



MATEUS OLÍMPYO TAVARES DE ÁVILA

**INTERAÇÃO NITROGÊNIO E NÍQUEL EM
FEIJOEIRO COMUM**

**LAVRAS-MG
2016**

MATEUS OLÍMPYO TAVARES DE ÁVILA

INTERAÇÃO NITROGÊNIO E NÍQUEL EM FEIJOEIRO COMUM

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, área de concentração Fertilidade do solo e nutrição de plantas, para obtenção do título de Mestre em Ciência do Solo.

Orientadora

Profa. Dr^a Maria Ligia de Souza Silva

Coorientador

Prof. Dr. Valdemar Faquin

LAVRAS – MG

2016

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Ávila, Mateus Olímpyo Tavares de.

Interação Nitrogênio Níquel em Feijoeiro Comum / Mateus
Olímpyo Tavares de Ávila. – Lavras : UFLA, 2016.

113 p. : il.

Dissertação (mestrado acadêmico)–Universidade Federal de
Lavras, 2016.

Orientador(a): Maria Ligia de Souza Silva.

Bibliografia.

1. Nutrição mineral de plantas. 2. Interação iônica. 3.
Disponibilidade de níquel. 4. Extração sequencial de níquel. 5.
Phaseolus vulgaris L. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

MATEUS OLÍMPYO TAVARES DE ÁVILA

INTERAÇÃO NITROGÊNIO NÍQUEL EM FEIJOEIRO COMUM

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, área de concentração Fertilidade do solo e nutrição de plantas, para obtenção do título de Mestre em Ciência do Solo.

APROVADA em 20 de abril de 2016.

Prof. Dr. Valdemar Faquin	UFLA
Prof. Dr. Adriano Teodoro Bruzi	UFLA
Prof. Dr. José Lavres Júnior	CENA/USP

Profa. Dra. Maria Ligia de Souza Silva
Orientadora

**LAVRAS
2016**

“Na luta pelo progresso, só vale o sucesso.”

Alberto Santos Dumont

“Alguns homens veem as coisas como são, e dizem ‘Por quê?’ Eu sonho com as coisas que nunca foram e digo ‘Por quê não?’

Geroge Bernard Shaw

“A menos que modifiquemos a nossa maneira de pensar, não seremos capazes de resolver os problemas causados pela forma como nos acostumamos a ver o mundo”

Albert Einstein

À Deus.

Aos meus pais Adenilson e Elisete,

Ao meu irmão Vinícius,

A toda minha família e amigos.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me dado força, sabedoria e ajudado a lidar com as dificuldades enfrentadas nesta jornada.

Aos meus pais, Adenilson e Elisete, pelo incentivo e apoio incondicional à minha formação acadêmica, pelos conselhos, amor, amizade e por me ensinarem a importância do estudo, do trabalho, da humildade e da família. Ao meu irmão Vinícius pelo apoio, companheirismo, incentivo e ajuda durante toda minha vida.

Ao Departamento de Ciência do Solo (DCS) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), pela oportunidade de cursar o mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos. À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro.

A minha orientadora, professora Maria Ligia de Souza Silva, pela oportunidade, confiança, paciência e aconselhamentos.

A todos os professores do DCS, que contribuíram para a minha formação acadêmica.

Aos pós-doutorandos Cleber e Anderson e aos estagiários, Miguel, Larah, Larissa, Tiago, Alessandro, Bárbara, Flaviane, Alex e Gabriel, por me ajudarem na realização deste trabalho.

Aos meus colegas do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Josimar, Deivisson, Ediu, Matias, Emanuely, Anderson, André e Franklin pelas dicas, pelas discussões, pela troca de experiência e a todos os meus colegas do curso, pela boa convivência.

Aos funcionários do DCS, Roberto, Geila, Dirce, Betânia, Pezão e a todos que contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma das culturas de grande importância econômica e nutricional, também tem destacada relevância do ponto de vista social no Brasil. O níquel (Ni) é um elemento essencial às plantas por ser componente estrutural da enzima urease, cuja função principal é permitir aos organismos o uso da ureia externa ou gerada internamente, como fonte de nitrogênio (N), entretanto, poucos são os estudos sobre seu efeito na cultura do feijão. Não existem critérios para adubação com Ni e são escassas as informações sobre sua disponibilidade no solo. A compreensão dos fenômenos da dinâmica do Ni no solo é importante para a tomada de decisão sobre a necessidade de adição e para a definição das doses e de aplicação de fertilizantes com este micronutriente. Desta forma, o objetivo foi verificar a resposta das plantas de feijoeiro comum às doses de N e Ni através de avaliações da fração do solo onde o Ni encontra-se ligado em maior quantidade, antes e após o cultivo do feijoeiro comum, da determinação da disponibilidade de Ni pelo extrator Mehlich-1 e comparar aos teores da fração solúvel + trocável do fracionamento antes e após o cultivo do feijoeiro comum, da atividade das enzimas urease e nitrato redutase em função das doses de N e Ni aplicadas e da interação N e Ni através da relação N/Ni. Foram utilizados dois tipos de solos, coletados na profundidade de 0 a 20 cm, classificados como Latossolo Vermelho distrófico e Neossolo Quartzarênico órtico. Foram realizados dois experimentos conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições, em esquema fatorial 2x5, duas doses de nitrogênio (50 e 100 mg dm⁻³) e 5 doses de Ni (0, 1, 2, 4 e 8 mg dm⁻³) aplicados no solo, totalizando 60 parcelas. As fontes de Ni e N utilizadas foram sulfato de níquel e ureia, respectivamente. Atributos físicos e químicos dos solos influenciaram nas respostas das variáveis estudadas. O Neossolo Quartzarênico órtico apresentou o maior teor de níquel disponível no solo, proporcionando efeito tóxico já nas menores doses, no entanto, o Latossolo Vermelho distrófico apresentou este efeito reduzido por adsorver o níquel em maior proporção por apresentar teores de argila e matéria orgânica. As maiores atividades das enzimas urease e nitrato redutase ocorrem nas plantas que receberam a maior dose de N em ambos os solos. A atividade da urease apresentou pequeno aumento nas menores doses de Ni no LVdf. Todas as variáveis analisadas apresentaram valores maiores na maior dose de N aplicada.

Palavras-chave: Interação iônica. Extração sequencial. Disponibilidade de níquel. *Phaseolus vulgaris* L.

ABSTRACT

The bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is a crop of great economic importance and nutrition, it has also highlighted the relevance of social perspective in Brazil. Nickel (Ni) is an essential element for plants to be structural component of urease enzyme, whose main function is to allow organizations the use of external urea or generated internally, as a nitrogen (N) source, however, there are few studies on its effect on bean crop. There are no criteria for fertilization with Ni and information is scarce on its availability in the soil. Understanding the dynamics of phenomena nickel in the soil is important for decision-making on the need to add and to define the dose and application of nickel-enriched fertilizers. Thus, the objective was to determine the response of plants of common beans to N and Ni through soil fraction assessments where Ni is connected in larger quantities before and after cultivation of the common bean, determining the availability of Ni by Mehlich -1 extractor and compare the levels of soluble + exchangeable fraction fractionation before and after the common bean cultivation, the activity of urease enzymes and nitrate reductase according to the N doses and Ni applied and interaction N and Ni by ratio N / Ni. Two soil types were used, collected in depth 0-20 cm, classified as Dystrophic Red Latossol and Entisol Quartzipsamment. We are done two experiments conducted in a completely randomized design with three replications in a 2x5 factorial scheme, two rates of N (50 and 100 mg dm⁻³) and 5 rates of Ni (0, 1, 2, 4, 8 mg dm⁻³) applied in two contrasting, totaling 60 plots. The Ni and N source used was nickel sulfate and urea. Physical and chemical properties of soils influenced the responses of the studied variables. The one with the largest content of Ni available in the soil, providing toxic effect already at a lower level, however, the Dystrophic Red Latossol had this delayed effect by nickel adsorb a greater extent due to its high content of clay and organic matter. The highest activities of urease enzyme and nitrate reductase occur with the highest dose of nitrogen in both soils. The urease activity had small increase in smaller doses in Ni Dystrophic Red Latossol. All the variables analyzed showed higher values at the highest dose of N applied.

Keywords: Ionic interaction. Sequential extraction. Availability of nickel. *Phaseolus vulgaris* L.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Teor de Ni no solo extraído por Mehlich-1 no RQo antes e após o cultivo de feijoeiro (** p<0,01).....	46
Figura 2 -	Correlação entre os teores disponíveis de Ni extraídos por Mehlich-1 e Sr (NO ₃) ₂ no RQo, antes do cultivo do feijoeiro (**p<0,01).....	50
Figura 3 -	Correlação entre os teores disponíveis de Ni extraídos por Mehlich-1 e Sr (NO ₃) ₂ no RQo, após o cultivo do feijoeiro (**p<0,01).....	51
Figura 4 -	Atividade da enzima urease em plantas de feijão cultivadas em RQo submetido à aplicação de Ni e N (*p < 0,05).....	52
Figura 5 -	Atividade da enzima NR em plantas de feijão cultivadas em RQo submetido à aplicação de doses de Ni (**p<0,01).....	55
Figura 6 -	Produção de massa seca da parte aérea de plantas de feijão cultivadas em RQo submetido às doses de Ni (**p<0,01)..	58
Figura 7 -	Teor de N na parte aérea de plantas de feijão cultivadas em RQo submetido às doses de Ni (** p < 0,05).....	60
Figura 8 -	Teor de Ni na parte aérea de plantas de feijão cultivadas em RQo submetidas às doses de Ni (** p < 0,01).....	62
Figura 9 -	Acúmulo de Ni na parte aérea de plantas de feijão cultivadas em RQo, submetido às doses de Ni (** p < 0,01).....	63
Figura 10 -	Relação N/Ni em RQo, submetido às doses de Ni (** p < 0,01).....	64
Figura 11 -	Teor de Ni no solo extraído por Mehlich-1 no LVdf antes do cultivo de feijoeiro (**p<0,01).....	65
Figura 12 -	Correlação entre os teores disponíveis de Ni extraídos por Mehlich-1 e a fração solúvel + trocável no LVdf, antes do cultivo do feijoeiro (**p<0,01).....	69
Figura 13 -	Correlação entre os teores disponíveis de Ni extraídos por Mehlich-1 e a fração solúvel + trocável no LVdf, após cultivo do feijoeiro (**p<0,01).....	70
Figura 14 -	Atividade da enzima urease em plantas de feijão cultivadas em LVdf submetido à aplicação de Ni e N (** p < 0,01)...	71
Figura 15 -	Atividade da enzima NR em plantas de feijão cultivadas em LVdf submetido à aplicação de doses de Ni (**p<0,01)....	74
Figura 16 -	Produção de massa seca da parte aérea de plantas de feijão cultivadas em LVdf submetido às doses de Ni (* p< 0,05). 76	76

Figura 17 -	Teor de N na parte aérea de plantas de feijão cultivadas em LVdf submetido às doses de Ni (** p < 0,05).....	78
Figura 18 -	Teor de Ni na parte aérea de plantas de feijão cultivadas em LVdf, submetido às doses de Ni (** p < 0,05).....	80
Figura 19 -	Acúmulo de Ni na parte aérea de plantas de feijão cultivadas em LVdf, submetido às doses de Ni (** p < 0,01).....	81
Figura 20 -	Relação N/Ni em LVdf, submetido às doses de Ni (** p < 0,01).....	82

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Atributos químicos e físicos do Latossolo Vermelho distrófico (LVdf) e Neossolo Quartzarênico ôrtico (RQo)..	34
Tabela 2 -	Teores de Ni, em mg dm^{-3} , extraídos em cada fração de amostras de RQo submetido às doses de Ni, antes (inicial) e após (final) o cultivo de feijão, para cada tratamento.....	48
Tabela 3 -	Médias da atividade da enzima NR em plantas de feijão cultivadas em RQo, submetido às doses de Ni e N.....	54
Tabela 4 -	Médias da produção de massa seca da parte aérea de plantas de feijão cultivadas em RQo submetida à aplicação de Ni e N.	56
Tabela 5 -	Médias do teor de N na parte aérea de plantas de feijão cultivadas em RQo, submetidas às doses de Ni e N.....	59
Tabela 6 -	Médias do acúmulo de N na parte aérea de plantas de feijão cultivadas em RQo, submetidas às doses de Ni e N.....	61
Tabela 7 -	Teores de Ni, em mg kg^{-1} , extraído em cada fração de amostras de Latossolo Vermelho distrófico (LVdf), submetido às doses de Ni, antes (inicial) e após (final) o cultivo de feijão, para cada tratamento.....	68
Tabela 8 -	Médias da atividade da enzima NR em plantas de feijão cultivadas em LVdf, submetido às doses de Ni e N.....	73
Tabela 9 -	Médias da produção de massa seca da parte aérea de plantas de feijão cultivadas em LVdf submetida à aplicação de Ni e N.....	75
Tabela 10 -	Médias do teor de N na parte aérea de plantas de feijão cultivadas em LVdf, submetidas às doses de Ni e N.....	77
Tabela 11 -	Médias do acúmulo de N na parte aérea de plantas de feijão cultivadas em LVdf, submetidas às doses de Ni e N.....	79

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	OBJETIVOS.....	15
2.1	Objetivo geral.....	15
2.2	Objetivos específicos.....	15
3	HIPÓTESE.....	17
4	REFERENCIAL TEÓRICO.....	19
4.1	Aspectos gerais da cultura do Feijoeiro.....	19
4.2	Nitrogênio no solo e na planta.....	20
4.3	Absorção e assimilação do nitrogênio nas plantas.....	22
4.4	Níquel no solo e na planta.....	23
4.5	4.5 Urease e a relação Ni/N.....	26
4.6	Nitrato Redutase (NR).....	28
4.7	Extrações sequenciais de metais.....	29
5	MATERIAL E MÉTODOS.....	33
5.1	Solo.....	33
5.2	Tratamentos e Delineamento experimental.....	33
5.3	Cultivar de feijoeiro avaliada.....	35
5.4	Instalação e condução do experimento.....	35
5.5	Variáveis analisadas.....	36
5.5.1	Determinação da atividade da enzima uréase.....	37
5.5.2	Determinação da atividade da enzima nitrato redutase.....	38
5.5.3	Análise do tecido vegetal.....	38
5.5.3.1	Teor e acúmulo de níquel.....	39
5.5.3.2	Teor e acúmulo de nitrogênio.....	39
5.5.4	Análise do solo.....	40
5.5.4.1	Disponibilidade de Ni em Mehlich-1.....	40
5.5.4.2	Extração sequencial de Ni.....	40
5.5	Análises estatísticas.....	43
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
6.1	Experimento com Neossolo Quartzarênico ôrtico (RQo).....	45
6.1.1	Fracionamento e disponibilidade de Ni.....	45
6.1.2	Atividade da enzima urease.....	51
6.1.3	Atividade da enzima nitrato redutase (NR).....	53
6.1.4	Massa seca da parte aérea.....	56
6.1.5	Teor de N na parte aérea.....	58
6.1.6	Acúmulo de N na parte aérea.....	60
6.1.7	Teor de Ni na parte aérea.....	61
6.1.8	Acúmulo de Ni na parte aérea.....	62

6.1.9	Relação N/Ni.....	63
6.2	Experimento com Latossolo Vermelho distrófico (LVdf).....	64
6.2.1	Fracionamento e disponibilidade de Ni.....	64
6.2.2	Atividade da enzima urease.....	70
6.2.3	Atividade da enzima nitrato redutase.....	72
6.2.4	Massa seca na parte aérea.....	74
6.2.5	Teor de N na parte aérea.....	76
6.2.6	Acúmulo de N na parte aérea.....	78
6.2.7	Teor de Ni na parte aérea.....	79
6.2.8	Acúmulo de Ni na parte aérea.....	80
6.2.9	Relação N/Ni.....	81
7	CONCLUSÕES.....	83
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	85
	REFERÊNCIAS.....	87
	APÊNDICES.....	105

1 INTRODUÇÃO

Na produção mundial de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.), o Brasil sempre se destacou como um dos maiores produtores. Dentre as espécies de feijão, o feijão comum tem especial importância no Brasil por ser considerado um dos mais importantes constituintes da dieta alimentar brasileira sendo uma excelente fonte de nutrientes.

O nitrogênio (N) é o nutriente requerido em maior quantidade pelo feijoeiro por ser componente de proteínas estruturais e enzimáticas, as quais são responsáveis pela síntese de outras proteínas e dos intermediários metabólicos e componentes da estrutura celular, como carboidratos e lipídios. No entanto, o N apresenta baixa disponibilidade nos solos brasileiros, tornando necessária a adição de fertilizantes nitrogenados ao solo com o objetivo de suprir a demanda da cultura.

O metabolismo do N compreende os processos de absorção e assimilação, os quais dependem dos níveis de N endógeno e exógeno, da energia disponibilizada, dependendo da forma disponível, bem como da localização e da regulação das enzimas envolvidas, as quais determinam os órgãos ou sítios de assimilação.

A ureia presente nas plantas é proveniente da absorção direta ou é gerada como um subproduto na síntese de poliaminas (KUSANO et al., 2007), ou sintetizada durante a degradação dos aminoácidos, purinas e ureídeos (TODD et al., 2006), podendo, então ser acumulada em tecidos fonte como folhas senescentes e sementes em germinação, nas quais o N é remobilizado após a hidrólise da ureia pela enzima urease, para sustentar o crescimento (POLACCO et al., 1993). No entanto, se a ureia não for hidrolisada, pode ocorrer toxidez por excesso de ureia, acarretando em perda de produtividade.

O níquel (Ni) era tido como elemento não essencial e tóxico às plantas. No entanto, após diversos estudos, comprovou-se sua essencialidade, demonstrada por Dixon et al. (1975), Eskew et al. (1983, 1984) e Brown et al. (1987). Esse elemento faz parte da urease, uma enzima cuja função é hidrolisar moléculas de ureia em NH_3 e CO_2 . Após essa descoberta, gerou interesse científico pela pesquisa referente ao papel do Ni em plantas superiores.

A eficiência da utilização do N adicionado ao solo está relacionada à alta assimilação do N pelas plantas, como também está relacionada à hidrólise da ureia na planta, a qual é mediada pela presença do Ni. A quantidade de sistemas biológicos dependentes do Ni é muito menor em relação a outros metais, tais como ferro, cobre e zinco. Porém, o pequeno número de biomoléculas contendo Ni encontrado nos sistemas vivos é compensado pela variedade de funções que estas moléculas desempenham. Dessa forma, são necessárias mais informações no que se refere ao Ni na adubação de plantas, na busca de uma melhor compreensão da resposta das plantas à aplicação desse micronutriente, informações estas ainda pouco relatadas na literatura.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Verificar a resposta das plantas de feijoeiro comum às doses de N e Ni.

2.2 Objetivos específicos

- a) avaliar em qual fração do solo o Ni encontra-se ligado em maior quantidade, antes e após o cultivo do feijoeiro comum;
- b) determinar a disponibilidade de Ni pelo extrator Mehlich-1 e comparar aos teores da fração solúvel + trocável do fracionamento antes e após o cultivo do feijoeiro comum;
- c) avaliar a atividade das enzimas urease e nitrato redutase (NR) em função das doses de N e Ni aplicadas;
- d) avaliar a interação N e Ni através da relação N/Ni.

3 HIPÓTESE

Devido à estreita relação entre o metabolismo do N e o Ni, espera-se que a aplicação de Ni maximize a assimilação de N pelas plantas.

4 REFERENCIAL TEÓRICO

4.1 Aspectos gerais da cultura do Feijoeiro

A cultura do feijão é praticada em aproximadamente 100 países, com elevado número de espécies e cultivares. O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de feijão-comum totalizando 3302,1 mil t na safra 2015/2016, e Minas Gerais é o segundo maior estado produtor, respondendo aproximadamente por 19% da produção nacional (CONAB 2016) e o sul de Minas Gerais sendo responsável por 16,6% da produção mineira (IMA, 2014). O Brasil é também o maior consumidor dessa leguminosa, com um consumo per capita, em 2012, de cerca de 14,94 kg/ano (SALVADOR, C. A., 2014).

A produtividade média brasileira, gira em torno de 910 kg ha⁻¹, considerada baixa, entretanto em alguns estados, essa média é superior a 2000 kg ha⁻¹, e os agricultores brasileiros que utilizam alta tecnologia já alcançaram a marca de 3000 kg ha⁻¹ (CONAB, 2016; BORÉM; CARNEIRO, 2008).

Além do arroz (*Oryza sativa*), o feijão-comum é um importante constituinte da dieta da população brasileira, por ser reconhecidamente uma excelente fonte proteica, além de ser rico em ferro, fibras e com seus reconhecidos efeitos hipocolesterolêmico e hipoglicêmico, aliado às vitaminas e aos carboidratos, torna o seu consumo um aliado para a prevenção de doenças (COELHO, 1991; GEIL, 1994).

Uma característica vantajosa desta leguminosa é sua ampla adaptação edafoclimática, permitindo seu cultivo durante todo o ano, em quase todos os estados brasileiros, nas diferentes épocas e sistemas de cultivo (CARNEIRO, 2002).

A busca por cultivares precoce tem sido o objetivo de muitos programas de melhoramento. A precocidade é definida como a capacidade das plantas em completar o seu ciclo, em período menor que aquele considerado normal ou médio (90 dias para feijoeiro) (COSTA; ZIMMERMANN, 1988). Apesar de existir variações na duração do ciclo da cultura em relação ao hábito de crescimento, as cultivares precoces apresentam ciclo com duração de aproximadamente 80 dias (ALMEIDA; BULISANI, 1980).

A característica precocidade em cultivares de feijão comum apresenta diversas vantagens, tais como: escape em relação à ocorrência de doenças; redução de perdas na colheita, fazendo-a coincidir com épocas menos chuvosas; menor consumo de água e de tempo de uso do solo em cultivos irrigados e intensivos.

Um dos fatores mais limitante à produtividade do feijoeiro é a baixa disponibilidade de nutrientes no solo, sobretudo fósforo (P) e nitrogênio (N). O feijoeiro é considerado uma planta exigente em nutrientes, em razão de possuir sistema radicular pequeno e superficial, além de apresentar ciclo curto, sendo fundamental que os nutrientes estejam disponíveis à planta em quantidade e tempo adequados, (MORAES, 1988; ROSOLEM; MARUBAYASHI, 1994).

4.2 Nitrogênio no solo e na planta

Dentre os processos fisiológicos vegetais mais importantes está o metabolismo do N. O N é considerado um elemento essencial para as plantas, pois está presente na composição das mais importantes biomoléculas como as proteínas, ácidos nucleicos e muitos outros constituintes celulares, incluindo membranas e diversos hormônios vegetais, por sua vez, integram complexas vias metabólicas altamente reguladas (TAIZ; ZEIGER, 2004). Além disso, o N é o macronutriente mais limitante ao crescimento das plantas já que, além da sua

concentração ser muito baixa no solo, é perdido facilmente por lixiviação e volatilização, dependendo de sua forma química e, ainda, pode ser consumido por microrganismos (MIFLIN; HABASH, 2002).

Sua deficiência causa um amarelecimento gradual das folhas mais velhas e redução do crescimento, inicialmente, em detrimento das reservas da parte aérea, a planta promove alongamento do sistema radicular, como uma tentativa de absorver o nutriente. Em casos de deficiência severa, as folhas adquirem coloração amarela podendo evoluir para a necrose, em casos mais graves, a deficiência de N pode ocasionar na morte das plantas (SOUZA; FERNANDES, 2006).

O fornecimento adequado de nutrientes por meio da adubação é uma das principais práticas de manejo adotada para a manutenção e aumento da produtividade do feijão. A exigência nutricional do feijoeiro, em ordem decrescente, é: N, K, Ca, Mg, S, P, Fe, Mn, B, Zn, Cu e Ni (ANDRADE et al., 2004). As principais fontes de N para a cultura do feijoeiro são o solo, por meio da decomposição da matéria orgânica, a aplicação de fertilizantes nitrogenados e a fixação biológica de N_2 atmosférico, pela associação do feijoeiro com bactérias do grupo dos rizóbios (HUNGRIA et al., 1997; MERCANTE et al., 1999). Para alta produtividade, são necessárias doses de N superiores a 100 kg ha^{-1} . Um adequado suprimento desse nutriente está associado à alta atividade fotossintética, crescimento vegetativo vigoroso e a folhas verde-escuras. As espécies vegetais diferem na sua preferência por fontes de N, mas o absorvem principalmente sob formas inorgânicas, como nitrato (NO_3^-) ou amônio (NH_4^+) (WILLIAMS; MILLER, 2001). Andreotti et al. (2005) verificaram que o uso dos fertilizantes nitrogenados como ureia, sulfato de amônio e nitrato de amônio, quando incorporados ao solo, apresentam produtividades semelhantes na cultura do feijão.

Além do elevado custo econômico, o uso de fertilizantes nitrogenados em solos tropicais pode provocar danos ao meio ambiente. Considera-se que as perdas de fertilizantes nitrogenados aplicados estão em torno de 50%, sendo ocasionadas principalmente por volatilização, na forma de amônia, e lixiviação na forma de nitrato e além do escoamento superficial, provocado pela água das chuvas e, ou, irrigação (STROLIOTTO et al., 2002).

4.3 Absorção e assimilação do nitrogênio nas plantas

Diversas formas de N podem ser absorvidas pelas plantas: N₂ através da fixação biológica de N que ocorre nas leguminosas, ureia e na forma inorgânica como amônio (NH₄⁺) e nitrato (NO₃⁻), sendo esta última forma predominante no solo devido ao processo de nitrificação.

A absorção do NO₃⁻ ocorre contra um gradiente de potencial eletroquímico e é mediada por dois sistemas de transporte através da membrana plasmática. O primeiro sistema é de baixa afinidade, que se torna funcional sob condições de elevadas concentrações externas de NO₃⁻. O segundo sistema é de alta afinidade, ocorrendo quando a concentração de NO₃⁻ são menores que 1 mmol L⁻¹. A absorção de NH₄⁺ também é mediada por dois sistemas. Quando as concentrações de NH₄⁺ no meio externo são baixas, predomina um sistema de absorção de alta afinidade, mediado por uma proteína transportadora do tipo uniporte. Já em concentração elevadas de NH₄⁺ no meio externo entra em funcionamento o sistema de baixa afinidade (SOUZA; FERNANDES, 2006).

O NO₃⁻ ao entrar na célula, pode ser reduzido a nitrito (NO₂⁻), no citosol, através da enzima nitrato redutase (NR) e, logo a seguir, convertido a NH₄⁺ no plastídio, através da enzima nitrito redutase (RNi). O NH₄⁺ absorvido ou proveniente da redução do NO₃⁻ é, então, incorporado em aminoácidos pelas enzimas glutamina sintetase-glutamato sintase (GS-GOGAT), formando

glutamina (GLM), glutamato (GLU) e outros aminoácidos e seus metabolitos (CRAWFORD, 1995).

As formas inorgânicas são absorvidas em curto intervalo de tempo pelas raízes das plantas e um dos fatores que determina qual forma mineral será mais absorvida em relação à outra é o pH. O pH do meio afeta a absorção do N da seguinte forma: o pH ácido inibe a absorção do NH_4^+ e favorece a do NO_3^- e em pH neutro/alcalino, o contrário é observado. Possivelmente, devido a efeitos competitivos do H^+ e OH^- , no processo de absorção do NH_4^+ e NO_3^- (FAQUIN, 2005).

Tanto a redução do NO_3^- , quanto à assimilação do NH_4^+ requerem energia na forma de ATP e poder redutor, como NADH, NADPH e a ferredoxina reduzida, bem como esqueletos de carbono derivados do ciclo de Krebs, como o α -cetoglutarato. Esses processos drenam tanto esqueletos de C quanto energia e doadores de elétrons, competindo com o metabolismo do C (SOUZA; FERNANDES, 2006).

Quando acontece a assimilação de N nas raízes, aminoácidos são transportados para as folhas via fluxo transpiratório, pelo xilema (Marschner et al., 1995). Segundo Gilliseen et al., 2000, o N também pode ser transportado através da membrana plasmática de certas células como na forma de peptídeo, bases purinas e pirimidinas e seus derivados.

4.4 Níquel no solo e na planta

O teor de níquel (Ni) na crosta terrestre é de aproximadamente, 160 mg kg^{-1} , como componente comum de rochas ígneas. Segundo Pais e Jones Junior (1996), os teores no solo variam entre 1 e 200 mg kg^{-1} . As fontes mais importantes de Ni são as pentandlitas, lodo de esgoto, calcários, adubos fosfatados, cloreto de níquel e sulfato de níquel.

Os teores disponíveis no solo correspondem a 0,001% dos teores totais (UREN, 1992). Segundo Vanselow (1966), é comum encontrar solos com teores abaixo de 1 mg dm^{-3} de Ni. Solos de alguns estados brasileiros, apresentaram teores disponíveis variando de $<0,013$ a $1,4 \text{ mg dm}^{-3}$, extraídos em DTPA, $<0,1$ a $0,27 \text{ mg.dm}^{-3}$, em Mehlich-1, e teor médio de $0,35 \text{ mg dm}^{-3}$, em Mehlich-3 (ROVER et al., 1983; MELO et al., 2007; RODAK, 2014).

Diversos fatores podem afetar os teores de Ni disponíveis no solo, como classe textural, matéria orgânica do solo (MOS), óxidos de Fe e Mn, pH, reações de complexação e competição pelos sítios de adsorção (KABATA-PENDIAS e PENDIA, 2011). Os teores totais de Ni, por outro lado, não apresentam comportamento definido em profundidade, podendo diminuir, aumentar ou manter-se. Rovers et al. (1983) sugerem que tais teores acompanham as variações dos teores de Fe no perfil.

A classe textural do solo é fator importante no comportamento do Ni, pois seu teor disponível é inversamente proporcional com os teores de argila, e proporcional com a fração areia (BETTINELLI et al., 2000; SENWO e TAZISONG, 2004; CARIDAD-CANCELA et al., 2005; RAJAIE et al., 2008). Entretanto, o fator que mais afeta o comportamento do Ni no solo é o pH. Siebielec e Chaney (2006) constataram redução dos teores disponíveis de Ni, ou seja, maior adsorção, com o aumento do pH, com redução drástica da disponibilidade do elemento em pH acima de 6,5.

O Ni é o elemento mais recentemente identificado como essencial para as plantas (BROWN et al., 1987). Os autores demonstraram que a enzima urease, responsável pela hidrólise da ureia, apresentava dois átomos de Ni na sua estrutura. Trabalho realizado por Eskew et al., (1983), cultivando soja (*Glycine max L. Merrill*) em solução nutritiva evidenciou o Ni como nutriente para as plantas superiores, a qual apresentou necrose nas extremidades dos folíolos devido ao acúmulo de ureia, ácido oxálico e ácido láctico em concentrações

tóxicas, consequência da baixa atividade da urease decorrente da deficiência de Ni. Trabalhos posteriores de Eskew et al. (1984) e Brown et al., (1987), com feijão (*Vigna unguiculata* L.) e cevada (*Hordeum vulgare* L.), confirmaram a essencialidade do Ni, e este foi inserido na lista de micronutrientes após os pesquisadores verificarem que as sementes das plantas de cevada cultivada em solução nutritiva com ausência de Ni, após três gerações, eram inviáveis e não germinavam adequadamente. Posteriormente, outras funções do Ni nas plantas também foram constatadas na produção de etileno (SMITH; WOODBURN, 1984), na resistência das plantas a doenças (GRAHAM et al., 1985), na germinação de sementes (BROWN et al. 1987), como componente estrutural da enzima hidrogenase (EVANS et al., 1987) e na conservação pós-colheita de frutos (ZHENG et al., 2006).

As plantas o absorvem em forma de cátion divalente (Ni^{2+}), sendo sua concentração na solução do solo muito pequena. Após entrar em contato com a raiz, o Ni é absorvido, principalmente por processo ativo, em canais não específicos, bem como por difusão passiva (YUSUF et al., 2011).

Com a diferença de potencial hídrico decorrente da transpiração das plantas, o Ni é transportado no xilema na forma iônica, sendo o transporte facilitando com a formação de quelatos com ácidos orgânicos, tais como citrato, malato e peptídios (WHITE, 2011).

Em elevadas concentrações o Ni pode causar fitotoxidez às plantas, no entanto, algumas espécies podem tornar o Ni inativo pela formação de complexos com ácidos orgânicos (SMITH, 2009; VIOLANTE et al., 2010).

Quanto à redistribuição do Ni na planta, este pode apresentar uma capacidade intermediária. Há, entretanto, pouca informação sobre sua redistribuição. Segundo Neumann e Charnel (1986), a capacidade de remobilização no Ni em gerânios foi de 0,01%, comparada com 0,04% para ^{86}Rb e 0,0% para ^{45}Ca .

As concentrações de Ni nas plantas variam entre 0,3 e 3,5 mg kg⁻¹ de matéria seca da planta, dependendo da parte amostrada e da espécie, considerando-se concentrações próximas a 1,5 mg kg⁻¹ como adequadas ao crescimento normal das plantas (BROWN et al., 1987).

4.5 Urease e a relação Ni/N

A urease é uma metaloenzima que catalisa a hidrólise da ureia para formar amônio e CO₂ (DIXON et al., 1975). É encontrada em vários organismos, como plantas, fungos e bactérias. A função principal da urease é permitir aos organismos o uso da ureia externa ou gerada internamente, como fonte de N (MOBLEY; ISLAND; HAUSINGER, 1995).

Em plantas, uma quantidade significativa do fluxo de N se dá via ureia, o qual é reciclado pela ação da urease (POLLACCO; HOLLAND, 1993). A ureia pode ser formada pelo catabolismo de ureídeo, alantoato e alantoína. Tem sido demonstrado que o ureídeo glicolato, um produto da degradação do alantoato é um precursor de ureia (TODD; POLLACCO, 2004).

Bloqueios genéticos e químicos da atividade da urease nas folhas causam necrose foliar, devido ao acúmulo de ureia, o que indica que a mesma tem uma significativa ação no metabolismo do N (KROGMEIER; MCCARTY; BREMNER, 1989; POLLACCO; HOLLAND, 1993). No entanto, a relevância fisiológica da urease na maioria das plantas não está esclarecida. Segundo Louis (1992), o estudo do metabolismo da ureia fica ainda mais relevante com o aumento do uso de fertilizantes à base de ureia.

A economia de N pelas plantas é altamente dependente da hidrólise da ureia, a qual é prejudicada em condições de deficiência de Ni. Este último proporciona redução do metabolismo do N, acúmulo de ureia e diminuição do pool de aminoácido (GERENDÁS; SATTELMACHER, 1997; 1999). Gerendás

e Sattelmacher (1997) verificaram que plantas deficientes em Ni acumulam ureia. Quando a atividade da urease é baixa, devido ao suprimento insuficiente de Ni, a ureia se acumula especialmente em plantas adubadas com ureia, o que, eventualmente, causa alteração na quantidade de intermediários do ciclo da ornitina. As folhas com teores tóxicos de ureia apresentam sintomas de necroses, mostrando concentrações de Ni superiores a 50 mg kg^{-1} , com exceção de plantas acumuladoras (ADRIANO, 1986). Folhas deficientes em Ni exibem altos níveis de três intermediários do catabolismo de ureídeos, como a xantina, ácido alantóico e ureideo-glicolato, uma evidência da redução da atividade enzimática nos três últimos passos do catabolismo de ureídeos (BAI; REILLY; WOOD, 2006). A atividade da arginase e da GS também são reduzidas por falta de Ni (GERENDÁS et al., 1998).

As leguminosas apresentam alta atividade da urease, pois os ureídeos, que realizam o transporte do N advindo da fixação biológica de N (FBN) no tecido vegetal, catalisam a molécula da ureia que posteriormente é metabolizada pela urease (McCLURE e ISRAEL, 1979). Segundo Dechen e Nachtigall (2006), cada molécula de urease contém dois átomos de Ni, a qual participa da hidrólise enzimática da ureia, transformando-a em NH_4^+ e CO_2 . Isso torna o Ni importante para as plantas que são adubadas com ureia ou com seus derivados (por exemplo, na adubação foliar), por aumentar a atividade da urease foliar, impedindo a acumulação de teores tóxicos de ureia, exercendo papel importante no metabolismo do N.

Segundo Kim e Maier, (1990); Sellstedt e Smith, (1990) e Stults et al., (1984), o Ni exerce outro papel importante na fixação biológica de nitrogênio (FBN), por ser componente estrutural da enzima nitrogenase. Durante o processo de FBN a enzima nitrogenase realiza a quebra da tripla ligação da molécula do gás nitrogênio (N_2), por consequência, ocorre à formação de NH_3 e do gás hidrogênio (H_2). A formação do H_2 indica uso ineficiente de energia que

poderia ser utilizada na fixação de N_2 . A enzima hidrogenase, a qual o Ni é constituinte estrutural, é capaz de reprocessar parte do H_2 em energia, essa energia por sua vez é realocada para a enzima nitrogenase, ou seja, ocorre a recuperação energética (EVANS et al., 1987).

4.6 Nitrato Redutase (NR)

O nitrato (NO_3^-) e o amônio (NH_4^+) são as principais formas de N inorgânicas absorvidas pelas raízes das plantas superiores. No entanto, para cumprir sua função nutricional o NO_3^- precisa ser reduzido a NH_4^+ e assimilado em compostos orgânicos. A assimilação do NO_3^- a NH_4^+ é mediada por duas enzimas: (i) a nitrato redutase (NR), que transforma NO_3^- em NO_2^- , processo que ocorre no citosol das células; e (ii) a nitrito redutase (RNi) que transforma NO_2^- a NH_4^+ , nos cloroplastos das células. Com a formação do NH_4^+ , o N é incorporado em aminoácidos (MARSCHNER, 2012).

O NO_2^- originado da redução do NO_3^- é rapidamente transportado do citosol para os cloroplastos foliares, e aos plastídios nas células das raízes por ser um íon potencialmente e altamente reativo. Nestas organelas, a RNi reduz o nitrito a amônio (TAIZ; ZEIGER, 2004). O amônio gerado pela redução assimilatória do nitrato proveniente do solo, fertilizante ou da fotorrespiração é convertido rapidamente a aminoácidos, num processo que envolve a ação sequencial da glutamina sintetase e da glutamato sintase, localizadas no citosol e nos plastídios nas células das raízes, e nos cloroplastos (LEA; BLACKWELL; JOY, 1992). Uma vez assimilado em glutamina ou glutamato, o N pode ser transferido para muitos outros compostos orgânicos por meio de diversas reações, como as transaminações. A interconversão entre a glutamina e a asparagina pela asparagina sintetase equilibra o metabolismo do carbono e do N na planta.

A regulação da NR acontece tanto a nível transcricional como pós-traducional, sendo esta última mais significativa. Estudos demonstraram que a regulação transcricional é mediada por NO_3^- , luz, fito-hormônios e fotoassimilados enquanto a regulação pós-traducional é medida por fosforilação/desfosforilação, luz, disponibilidade de oxigênio e gás carbônico (KAISER; HUBER; 1994). Fan et al. (2006) sugeriram que nesse tipo de regulação há uma mudança dos níveis de transcritos de transportadores de nitrato além da modificação pós-traducional da NR, mas a regulação ainda necessita de mais estudos.

4.7 Extrações sequenciais de metais

O conteúdo total dos metais no solo geralmente não é considerado um bom índice para estimar a absorção dos mesmos pelas plantas, pois somente uma fração desses metais estará disponível para a absorção por raízes (DAVIES, 1992). Para este propósito, a estimativa da biodisponibilidade, que é uma propriedade relacionada com a mobilidade e absorção pelas plantas, tem-se mostrado mais útil (McBRIDE, 1994).

Uma única extração pode refletir a disponibilidade de metais pesados para as culturas num dado momento. Porém, as extrações sequenciais fornecem informações mais detalhadas que permitem inferências sobre a mobilidade e estabilidade das frações dos metais no solo, indicando assim, sua mobilidade atual e potencial (CHANG et al., 1984).

Apenas as formas trocáveis e solúveis em água são consideradas prontamente disponíveis para plantas, enquanto metais adsorvidos nas entre camadas de argilas apresentam-se indisponíveis. Entretanto, os metais retidos em óxidos de Fe, Mn e Al, complexados com a matéria orgânica ou complexados nos carbonatos podem ser considerados firmemente ligados,

dependendo da combinação das propriedades químicas e físicas do solo (SPOSITO et al., 1982).

Nesse sentido, a textura do solo, pH, matéria orgânica e óxidos de Fe e Mn têm sido consideradas como as mais importantes variáveis que influenciam a mobilidade e biodisponibilidade dos metais pesados (MA e RAO, 1997).

Um momento crítico da extração é a escolha dos extratores e da marcha de extração. Caso o extrator seja de baixa seletividade, pode atacar mais de uma fração ao mesmo tempo, prejudicando o equilíbrio das extrações posteriores e a confiabilidade dos resultados (SPOSITO et. al, 1982). Dessa forma, têm sido propostas extrações sequenciais dos metais, que utilizam extratores com poder de extração crescente e fornecem informações a respeito das frações (GOMES, 1996).

Algumas técnicas de fracionamento têm sido empregadas para extrações sequenciais de metais pesados. Estas técnicas variam no número das frações extraídas, na ordem e no tipo de extrator utilizado. É comum o processo de fracionamento começar com o extrator mais fraco e terminar com o mais forte. A extração pode separar em até sete frações (KABALA e SINGH, 2001). Harrison et al. (1981) sugerem que a mobilidade dos metais diminui seguindo a ordem da sequência de extração, sendo que a fração solúvel/trocável, presente na maioria dos procedimentos de extração sequencial, é considerada a mais móvel e bio disponível (SASTRE et al., 2001).

Outros extratores são utilizados para a determinação do teor de Ni. A solução do agente quelante DTPA, as soluções ácidas Mehlich-3 e Mehlich-1 tem sido muito utilizados para extrair metais pesados (MULCHI et al., 1991; MANTOVANI et al. 2004), pois já são utilizados em alguns laboratórios para avaliação da disponibilidade de vários nutrientes, facilitando a análise de disponibilidade de metais pesados, uma vez que já são procedimentos rotineiros. Correlações entre os teores de Ni no solo extraídos por vários extratores e os

teores acumulados por algumas plantas tem sido feitos para se definir os extratores mais eficientes em prever a fitodisponibilidade deste elemento.

5 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação no Departamento de Ciência do Solo da Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG.

5.1 Solo

Foram utilizados dois tipos de solos, coletados na profundidade de 0 a 20 cm, classificados segundo EMBRAPA (2013), como Latossolo Vermelho distrófico (LVdf) e Neossolo Quartzarênico órtico (RQo), cujas características químicas e físicas encontram-se na Tabela 1.

5.2 Tratamentos e Delineamento experimental

Foram realizados dois experimentos em duas classes de solos com classificação textural distintas. Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x5 sendo duas doses de N (50 e 100 mg dm⁻³) e 5 doses de Ni (0, 1, 2, 4 e 8 mg dm⁻³), com três repetições, totalizando 30 parcelas para cada tipo de solo. As fontes de Ni e N foram sulfato de níquel e ureia, respectivamente. O Ni foi aplicado 30 dias antes do plantio, os vasos foram mantidos com umidade na capacidade de campo. As doses de Ni foram obtidas pela compilação das doses utilizadas por Rodak (2014) e Berton et al., (2006), ambos trabalhando com soja.

Tabela 1- Atributos químicos e físicos do Latossolo Vermelho distrófico (LVdf) e Neossolo Quartzarênico ôrtico (RQo).

Características	Unidade	LVdf	RQo
pH água		5,60	5,5
Potássio (K)	mg dm ⁻³	56,0	18,0
Fósforo (P)	mg dm ⁻³	0,84	5,14
Cálcio (Ca)	cmol _c dm ⁻³	1,20	0,30
Magnésio (Mg)	cmol _c dm ⁻³	0,20	0,10
Alumínio (Al)	cmol _c dm ⁻³	0,50	0,60
Acidez Potencial (H + Al)	cmol _c dm ⁻³	6,30	3,62
Soma de Bases (SB)	cmol _c dm ⁻³	1,54	0,45
Capacidade Troca Catiônica efetiva (t)	cmol _c dm ⁻³	2,04	1,05
Capacidade Troca Cationica (T)	cmol _c dm ⁻³	7,84	4,07
Saturação por Bases (V)	%	20	11
Saturação por Alumínio (m)	%	24	57
Matéria Orgânica (M. O.)	g kg ⁻¹	3,14	1,18
Fosforo remanescente (P-Rem)	mg L ⁻¹	7,62	25,07
Zinco (Zn)	mg dm ⁻³	0,66	0,43
Ferro (Fe)	mg dm ⁻³	179,64	37,20
Manganes (Mn)	mg dm ⁻³	19,96	5,66
Cobre (Cu)	mg dm ⁻³	2,67	0,63
Boro (B)	mg dm ⁻³	0,43	0,35
Enxofre (S)	mg dm ⁻³	13,08	2,97
Areia	g kg ⁻¹	170	930
Silte	g kg ⁻¹	110	0
Argila	g kg ⁻¹	720	70
Textura		Muito argiloso	Arenoso

pH (água); Ca, Mg e Al (KCl 1mol L⁻¹); P, K, Fe, Zn, Mn e Cu (Mehlich 1); Acidez potencial (SMP); Matéria orgânica (Na₂Cr₂O₇ 4 mol L⁻¹ + H₂SO₄ 5 mol L⁻¹) de acordo com metodologia de Silva (2009). Areia, silte e argila (Bouyoucos) modificado por Carvalho (1985).

5.3 Cultivar de feijoeiro avaliada

A cultivar utilizada foi a BRS Cometa, desenvolvida pela EMBRAPA, que apresenta porte ereto com boa resistência ao acamamento e ciclo reduzido (média de 78 dias, da emergência à maturação fisiológica). Foram semeadas 5 sementes, em vasos de 4 dm³, sendo que apenas as 3 plântulas mais vigorosas foram mantidas no vaso. As plantas foram, conduzidas até o início da floração (R4).

5.4 Instalação e condução do experimento

Para a determinação da necessidade de calagem, utilizou-se o método da neutralização do Al³⁺ e da elevação dos teores de Ca²⁺ + Mg²⁺. A calagem e a adição de gesso agrícola foram realizadas 35 dias antes do plantio. Para a calagem foram utilizados carbonato de cálcio (CaCO₃) e carbonato de magnésio (MgCO₃) com o objetivo de elevar a saturação por bases à 50%. O LVdf recebeu 1,5 g dm⁻³ na proporção de 1:3 e o RQo recebeu 1,85 g dm⁻³ na proporção 3:1. Após a adição, foi feita mistura mecânica e adição de água deionizada até atingir a capacidade de campo. Os vasos foram mantidos com umidade na capacidade de campo durante o período de incubação de 30 dias.

Foi adicionado ao RQo 0,23 g dm⁻³ de superfosfato triplo (SFT), 75 mg dm⁻³ de KCl, 0,21 mg dm⁻³ de gesso agrícola como fonte de enxofre (S), 7,2 mg dm⁻³ de sulfato de manganês (MnSO₄H₂O), 4,7 de sulfato de zinco (ZnSO₄7H₂O), 2,2 mg dm⁻³ de sulfato de cobre (CuSO₄5H₂O) e 0,06 mg dm⁻³ de molibdato de amônio ((NH₄)₆Mo₇O₂₄4H₂O).

O LVdf recebeu 0,23 g dm⁻³ de SFT, 100 mg dm⁻³ de KCl, 0,21 mg de gesso agrícola como fonte de S, 3,5 mg dm⁻³ de ZnSO₄7H₂O e 0,06 mg dm⁻³ de (NH₄)₆Mo₇O₂₄4H₂O.

Em ambos os experimentos foi aplicado boro (B) via foliar na concentração de 1 g L^{-1} .

Foram aplicadas as doses de As doses de 50 e 100 mg dm^{-3} de N, com o objetivo de avaliar a eficiência do Ni no metabolismo do N. A adubação de plantio foi realizada aplicando-se toda a dose recomendada de P, S e 35% da dose de N e 50% da dose de K. O SFT foi aplicado no centro dos vasos aproximadamente $1,5 \text{ cm}$ abaixo das sementes. Foram aplicadas na 1ª adubação de cobertura, 15 DAE (V2), 30% e 50% das doses recomendadas para N e K, respectivamente, além dos micronutrientes. A 2ª adubação de cobertura foi realizada com 30% da dose de N 30 DAE na abertura da terceira folha trifoliolada (V4). Para a aplicação de N, K e micronutrientes foram preparadas soluções, separadamente, e aplicadas ao solo.

A adubação com P, K, S e micronutrientes teve por finalidade atender a demanda da cultura seguindo as recomendações presentes no manual de recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais 5ª aproximação (ALVAREZ et al., 1999).

5.5 Variáveis analisadas

A colheita das plantas foi realizada no estágio R4, que ocorreu 41 DAE. A terceira e quarta folha do terço superior das plantas, foram separadas para quantificação das atividades das enzimas urease e nitrato redutase (NR). O restante da planta foi seca para determinação da massa seca da parte aérea e quantificação dos teores de N e Ni, seguindo metodologia de Malavolta et al. (1997) para diagnose foliar.

5.5.1 Determinação da atividade da enzima urease

Metodologia adaptada de Hogan et al. (1983) e McCullough (1967). Na extração foi utilizado 0,2 g de massa fresca vegetal, cortadas em fatias de 1 mm de largura evitando as nervuras e colocadas em tubos de ensaio contendo 8 mL de tampão fosfato com ureia (pH 7,4), para determinação do teor de NH_3 . O tampão foi preparado com fosfato monossódico (NaH_2PO_4 0,2 mol L^{-1}), fosfato de sódio dibásico (Na_2HPO_4 0,5 mol L^{-1}), n-propanol (0,66 mol L^{-1}) e ureia ($\text{CO}[\text{NH}_2]_2$ 0,21 mol L^{-1}). O n-propanol foi utilizado para aumentar a permeabilidade dos tecidos e evitar a formação de amônio (NH_4^+) pela presença de microrganismos. As amostras foram incubadas em banho maria a 30°C por 3 horas, protegidas da luz com folhas de Al ao redor dos tubos e foram efetuadas agitação em intervalos frequentes. Após a incubação foi retirada uma alíquota de 0,5 mL do extrato vegetal e a NH_3 retida nos tecidos foliares foi extraída pela adição de 2,5 mL do reagente I: fenol ($\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$ 0,1 mol L^{-1}) e nitroprussiato de sódio (SNP) ($\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]$ 170 $\mu\text{mol L}^{-1}$). Posteriormente foram adicionados aos tubos mais 2,5 mL do reagente II: hidróxido de sódio (NaOH 0,125 mol L^{-1}), fosfato dissódico ($\text{Na}_2\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 0,15 mol L^{-1}) e hipoclorito de sódio (NaOCl) (3% Cl_2). Os tubos foram tampados, para evitar a perda de NH_3 , recobertos com folhas de Al e mantidos em banho maria a 37°C por 35 minutos. Em seguida foi realizada a leitura da absorvância em espectrofotômetro a 625 nm. A atividade da enzima foi determinada pela quantidade de NH_4^+ produzido e, os valores obtidos, foram comparados com uma curva padrão, previamente estabelecida utilizando-se cloreto de amônio (NH_4Cl).

5.5.2 Determinação da atividade da enzima nitrato redutase

Metodologia adaptada de Hewitt & Smith (1975) e Mulder et al. (1959). Na extração foi utilizado 0,3 g de massa fresca vegetal, cortadas em fatias de 1 mm de largura e evitando as nervuras, sendo alocadas em tubos de ensaio contendo 4 mL de nitrato de potássio (KNO_3 0,25 mol L^{-1}) em tampão de fosfato (pH 7,4), composto por fosfato monossódico (NaH_2PO_4 0,20 mol L^{-1}) e fosfato de sódio dibásico (Na_2HPO_4 0,50 mol L^{-1}). O tampão continha nitrato (NO_3^-) para a enzima NR, presente na folha, reduzir NO_3^- em nitrito (NO_2^-). Em seguida, as amostras foram incubadas em banho maria a 37°C por 2 horas, protegidas da luz com folhas de Al que recobriam os tubos e efetuadas agitações em intervalos frequentes. Após a incubação foi retirada uma alíquota de 1 mL do extrato vegetal e para paralisar as reações químicas até então ocorridas foi adicionado 1 mL de ácido sulfanílico ($\text{C}_6\text{H}_7\text{HO}_3\text{S}$) a 1% em ácido clorídrico (HCl 2 N). Após repouso de 5 a 10 minutos foi adicionado 1 mL de alfa naftilamina ($\text{C}_{10}\text{H}_7\text{NH}_2$ 193 mmol L^{-1}) com objetivo de conferir coloração ao NO_2^- e efetuada leve agitação, seguida da aplicação de 1 mL de acetato de sódio (CH_3COONa 2 mol L^{-1}). Os tubos foram tampados, realizada nova agitação e a determinação da absorvância foi efetuada em espectrofotômetro modelo LAMBDA 25 UV/Vis a 540 nm. A atividade da enzima foi determinada pela quantidade de NO_2^- produzida, a qual foi comparada com os valores obtidos em uma curva padrão de NO_2^- , preparada previamente com nitrito de sódio (NaNO_2).

5.5.3 Análise do tecido vegetal

O material vegetal foi seco em estufa com circulação de ar forçada, com temperatura entre 60 a 65°C, até atingir peso constante. Após esse procedimento

foi determinada a massa seca da parte aérea. Posteriormente, o material foi moído em moinho tipo Willey, usando-se peneira de 20 mesh.

5.5.3.1 Teor e acúmulo de níquel

Para realizar a análise do teor de Ni na parte aérea foi feita a digestão nitro-perclórica. O reagente foi preparado na relação 3:1 ($\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$), misturaram-se 600 ml de HNO_3 65% p.a e 200 ml HClO_4 72% p.a. Pesou-se 0,5 g da amostra seca e moída. Transferiu-se para tubos de digestão de capacidade aferido para 80 mL, e acrescentou 8 ml da mistura ácida. A seguir colocaram-se os tubos em um bloco de digestor, aquecendo à temperatura de 120 °C até cessar o desprendimento do vapor castanho, aumentou-se a temperatura para 200 °C e manteve até cessar o desprendimento do vapor branco de HClO_4 (EMBRAPA, 2009). Ao termino da digestão as amostras foram diluídas para 25 mL utilizando água destilada. Após, foi feita a quantificação em espectrometria de emissão atômica.

O acúmulo de Ni nas plantas foi calculado a partir dos teores de Ni da parte aérea, multiplicando pela massa seca da parte aérea.

5.5.3.2 Teor e acúmulo de nitrogênio

A determinação do teor de N foi realizada a partir da digestão sulfúrica 0,1% (Malavolta et al., 2006). O N total foi determinado pelo método de Kjeldahl (Malavolta et al., 1997).

O acúmulo de N nas plantas foi calculado a partir dos teores de N da parte aérea, multiplicando pela massa seca da parte aérea.

5.5.4 Análise do solo

5.5.4.1 Disponibilidade de Ni em Mehlich-1

Foram adicionados 5 cm³ de solo e 50 mL da solução extratora de Mehlich-1, relação solo:solução 1:10 em erlenmeyers de 100 mL. Posteriormente as amostras foram agitadas por 10 minutos a 200 rpm. A suspensão foi deixada em repouso por 16 horas, para decantar. Uma alíquota do sobrenadante da amostra foi quantificada em espectrometria de emissão atômica. A solução extratora Mehlich-1 consistia da mistura de ácido clorídrico (HCl 0,05 mol L⁻¹) e ácido sulfúrico (H₂SO₄ 0,012 mol L⁻¹).

5.5.4.2 Extração sequencial de Ni

O procedimento de extração sequencial aplicado para o fracionamento de Ni presente nas amostras de solo antes e após o cultivo, foi proposto por Ahnstrom e Parker (1999).

O fracionamento consistiu de quatro extrações em sequencia, sendo a primeira ligada à fração solúvel + trocável, a segunda ligada à fração orgânica, a terceira ligada à fração oxídica e a quarta o residual.

As amostras foram moídas em almofariz de porcelana para promover melhor homogeneização de seus componentes, e facilitar a ação das soluções extratoras.

Fração 1 - Ni na fração solúvel e trocável

O fracionamento foi conduzido utilizando-se 2g de terra em tubos de centrifuga de 50mL.

Para a extração do Ni da fração solúvel + trocável, adicionaram-se 15mL de $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ aos tubos, agitando por 2 horas em baixa velocidade. Após, centrifugou à 2500 rpm durante 10 minutos e o sobrenadante, filtrado em papel de filtro quantitativo faixa amarela, foi recolhido em tubos de centrífuga de 50mL. Repetiu-se o procedimento. Subsequentemente, as amostras foram lavadas com 5mL de NaCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, centrifugado à 2500 rpm durante 10 minutos, e o sobrenadante recolhido. Ao final adicionou-se 1 mL de HNO_3 concentrado para a preservação do extrato, e completou-se o volume com água deionizada, sendo os teores de Ni determinados por espectrometria de emissão atômica.

Fração 2 - Ni na fração orgânica

Para a extração do Ni na fração orgânica foram utilizados 5 mL de NaOCl 5% com pH ajustado para 8,5 com HNO_3 concentrado. Os tubos foram colocados em banho-maria mantendo temperatura de 95°C durante 30 minutos sob agitação lenta. Após o tempo, as amostras foram centrifugadas a 2500 rpm durante 10 minutos e o sobrenadante, filtrado com papel de filtro quantitativo faixa amarela, recolhido em tubo de centrífuga de 50 mL. O procedimento foi repetido até a queima da matéria orgânica, que ocorreu quando cessou a formação de espuma. Subsequentemente, as amostras foram lavadas com 5 mL de NaCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, centrifugado a 2500 rpm durante 10 minutos, e o sobrenadante recolhido. Ao final adicionou-se 1 mL de HNO_3 concentrado para a preservação do extrato e completou-se o volume com água deionizada, sendo os teores de Ni determinados por espectrometria de emissão atômica.

Fração 3 - Ni na fração oxidica

Para a extração de Ni ligado à fração oxidica foram adicionados 20 mL de uma mistura de 0,2 mol L⁻¹ de oxalato de amônio, 0,2 mol L⁻¹ de ácido oxálico e 0,1 mol L⁻¹ de ácido ascórbico com pH ajustado para 3,0 com NH₄O concentrado. Os tubos foram colocados em banho-maria mantendo a temperatura de 95 °C durante 30 minutos sob agitação lenta. Após o tempo, as amostras foram centrifugadas a 2500 rpm durante 10 minutos e o sobrenadante, filtrado com papel quantitativo de filtro amarelo, recolhido em tubos de centrífuga de 50 mL. As extrações foram realizadas até a cor do solo ficar cinza (sem ferro) e o sobrenadante amarelo. Subsequentemente, as amostras foram lavadas com 5 mL de NaCl 0,1 mol L⁻¹, centrifugado a 2500 rpm durante 10 minutos, e o sobrenadante recolhido. Ao final adicionou-se 1 mL de HNO₃ concentrado para a preservação do extrato e completou-se o volume com água deionizada, sendo os teores de Ni determinados por espectrometria de emissão atômica.

Fração 4 - Ni na fração residual

As amostras de solo foram retiradas dos tubos de centrífuga e colocadas em tubos de ensaio.

Fez-se a extração residual com água régia (mistura de 4:1 de HCl/HNO₃), em sistema aberto, utilizando modificação do método descrito por McGrath e Cunliffe (1985). Adicionaram-se 12 mL de HCl e 3 mL de HNO₃, as amostras foram aquecidas por 3 horas à temperatura de 60°C, 1 hora à 105°C e 30 minutos à 140°C. Deixou-se esfriar e o sobrenadante, filtrado em papel de filtro quantitativo faixa amarela, foi recolhido em tubos de centrífuga de 50 mL.

Completo-se o volume com água deionizada e os teores de Ni determinados por espectrometria de emissão atômica.

5.5 Análises estatísticas

A análise estatística dos dados inclui as análises de variância, teste de Scott-Knott (para os tratamentos no fracionamento de Ni) e regressão, a 5% de significância (para as doses de Ni). Para doses de Ni foram ajustados modelos de regressão com base na significância dos parâmetros, coeficiente de determinação e capacidade do modelo de explicar biologicamente o fenômeno.

Para as análises estatísticas foi utilizado o programa SISVAR (FERREIRA, 2011). As análises estatísticas do solo arenoso e do argiloso foram realizadas de maneira independente. Entretanto, são comparadas de maneira descritiva em termos de resposta as variáveis avaliadas.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Experimento com Neossolo Quartzarênico ôrtico (RQo)

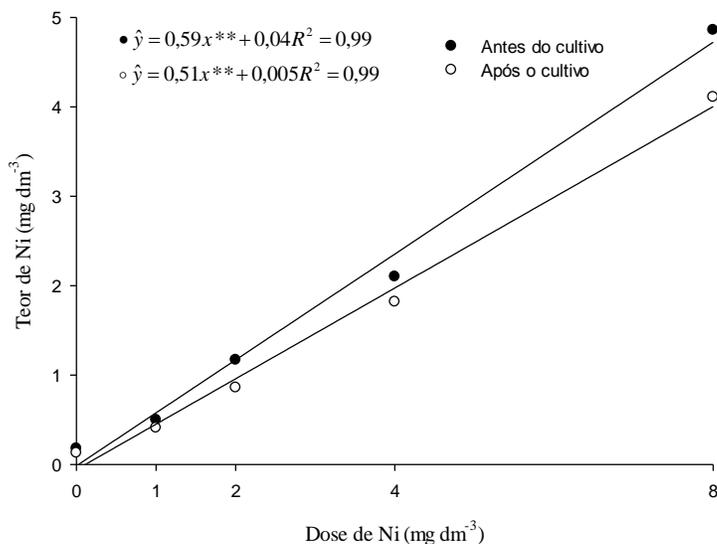
6.1.1 Fracionamento e disponibilidade de Ni

Apenas o fator isolado dose de Ni influenciou significativamente o teor de Ni disponível no solo, extraído por Mehlich-1, antes e após o cultivo do feijão (APÊNDICE E). Os tratamentos influenciaram significativamente nos teores de Ni na fração solúvel + trocável, fração orgânica, fração oxídica e fração residual, antes e após o cultivo do feijão (APÊNDICES A e B).

A disponibilidade do Ni está relacionada com características do solo. Os principais fatores que influenciam a disponibilidade do Ni no solo são: pH, textura, composição mineral como conteúdo e tipos de argilas e de óxidos de Fe, Al e Mn, CTC e o teor de matéria orgânica (ERNST, 1996; KABATA-PENDIAS e PENDIAS, 2011).

Os teores disponíveis de Ni, extraídos por Mehlich-1, antes do cultivo do feijoeiro, aumentaram com a aplicação das doses de Ni variando de 0,18 a 4,86 mg dm⁻³ (Figura 1). Após o cultivo do feijoeiro, os teores de Ni variaram de 0,13 a 4,11 mg dm⁻³ (Figuras 1).

Figura 1- Teor de Ni no solo extraído por Mehlich-1 no RQo antes e após o cultivo de feijoeiro (** p<0,01).



É evidente a maior disponibilidade de Ni na fração solúvel + trocável em relação às outras frações para todas as doses no RQo, resultado da baixa capacidade de retenção de cátions deste solo. Após o cultivo de feijão, ocorreu redução do teor nesta fração ocasionado pela absorção do nutriente pelas plantas (Tabela 2).

À medida que aumentaram as doses do elemento nos solos, aumentou também a sua presença nas frações solúvel e trocável (Figura 1 e Tabela 2). Esse comportamento pode ser explicado pelo fato de que em baixas concentrações, os metais são adsorvidos através de ligações específicas, preferencialmente em relação a cátions que apresentam maior raio iônico hidratado, como sódio, cálcio e magnésio. Porém, com o aumento da concentração do metal, passam a ocorrer ligações menos energéticas (eletrostáticas) e a competição com íons de maior

raio iônio hidratado e com outros metais torna-se importante (O'CONNOR et al., 1984).

O RQo utilizado apresenta baixo teor de matéria orgânica, conseqüentemente, a fração ligada à matéria orgânica apresentou os teores mais baixos entre as frações. Após o cultivo de feijão os teores foram ainda menores, o que pode ser explicado pela sua dessorção da matéria orgânica para repor o que foi absorvido da solução (Tabela 2).

Foram extraídas pela fração residual 107,3%, 566,2% e 327,5% em relação aos teores de Ni extraídos pelas frações solúvel + trocável, orgânica e oxídica, respectivamente, antes do cultivo do feijoeiro e 114,9%, 608,8% e 305,3% em relação aos teores de Ni extraídos pelas frações solúvel + trocável, orgânica e oxídica, respectivamente, após o cultivo do feijoeiro (Tabela 2). Costa (2005) observou os maiores teores de Ni na fração residual em um Argissolo Vermelho distrófico arênico (Pvd1) de 120 g kg⁻¹ de argila, ao estudar a biodisponibilidade de elementos traço em solos do Rio Grande do Sul.

Tabela 2- Teores de Ni, em mg dm^{-3} , extraídos em cada fração de amostras de RQo submetido às doses de Ni, antes (inicial) e após (final) o cultivo de feijão, para cada tratamento.

Fração	Dose N (mg dm^{-3})	Dose Ni (mg dm^{-3})	Tratamento	Inicial	Final
Ni - solúvel + trocável	50	0	1	0,11 a	0,09 a
		1	2	0,31 a	0,20 a
		2	3	0,73 a	0,50 b
		4	4	1,48 b	1,24 c
		8	5	3,24 c	2,52 d
	100	0	6	0,09 a	0,06 a
		1	7	0,37 a	0,22 a
		2	8	0,66 a	0,44 b
		4	9	1,42 b	1,23 c
		8	10	3,46 c	2,51 d
Ni - orgânico	50	0	1	0,03 a	0,02 a
		1	2	0,11 b	0,09 c
		2	3	0,20 c	0,17 d
		4	4	0,37 e	0,29 e
		8	5	0,59 f	0,38 h
	100	0	6	0,03 a	0,01 a
		1	7	0,10 b	0,06 b
		2	8	0,17 c	0,14 d
		4	9	0,28 d	0,21 e
		8	10	0,37 e	0,33 e
Ni - oxídico	50	0	1	0,03 a	0,03 a
		1	2	0,18 b	0,16 b
		2	3	0,40 c	0,38 c
		4	4	0,52 d	0,46 d
		8	5	0,93 e	0,73 e
	100	0	6	0,05 a	0,03 a
		1	7	0,16 b	0,12 b
		2	8	0,38 c	0,30 c
		4	9	0,36 c	0,34 c
		8	10	0,88 e	0,84 f

“Tabela 2, conclusão”

Fração	Dose N (mg dm ⁻³)	Dose Ni (mg dm ⁻³)	Tratamento	Inicial	Final
Ni - residual	50	0	1	0,13 a	0,07 a
		1	2	0,42 b	0,30 b
		2	3	0,69 b	0,50 c
		4	4	1,66 c	1,35 d
		8	5	3,32 d	2,86 e
	100	0	6	0,11 a	0,08 a
		1	7	0,42 b	0,41 c
		2	8	0,74 b	0,59 c
		4	9	1,88 c	1,45 d
		8	10	3,37 d	2,74 e

Nota: Médias seguidas por letras iguais na coluna não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Scott-Knott.

Os teores disponíveis de Ni antes do cultivo do feijoeiro variaram de 0,18 a 4,86 mg dm⁻³ e 0,09 a 3,46 mg dm⁻³ em Mehlich-1 e na fração solúvel + trocável, extraídos pelo nitrato de estrôncio Sr(NO₃)₂, respectivamente, com correlação entre os extratores de $r = 0,98$ ($p < 0,01$) (Figuras 1 e 2, Tabela 2). Para o solo após o cultivo do feijoeiro os teores disponíveis de Ni variaram de 0,13 a 4,11 mg dm⁻³ e 0,06 a 2,52 mg dm⁻³ em Mehlich-1 e na fração solúvel + trocável, extraídos pelo nitrato de estrôncio Sr(NO₃)₂, respectivamente, com correlação entre os extratores de $r = 0,97$ ($p < 0,01$) (Figura 1 e 3, Tabela 2).

O extrator Mehlich-1 apresentou correlação significativa com a fração solúvel + trocável, tanto antes como após o cultivo do feijoeiro, evidenciando que ambos podem ser utilizados para quantificação da disponibilidade de Ni.

Figura 2- Correlação entre os teores disponíveis de Ni extraídos por Mehlich-1 e Sr (NO₃)₂ no RQo, antes do cultivo do feijoeiro (** $p < 0,01$).

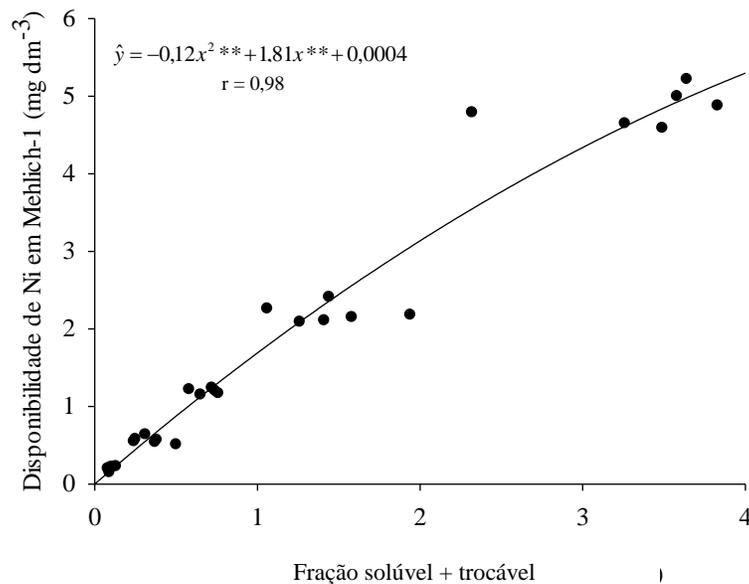
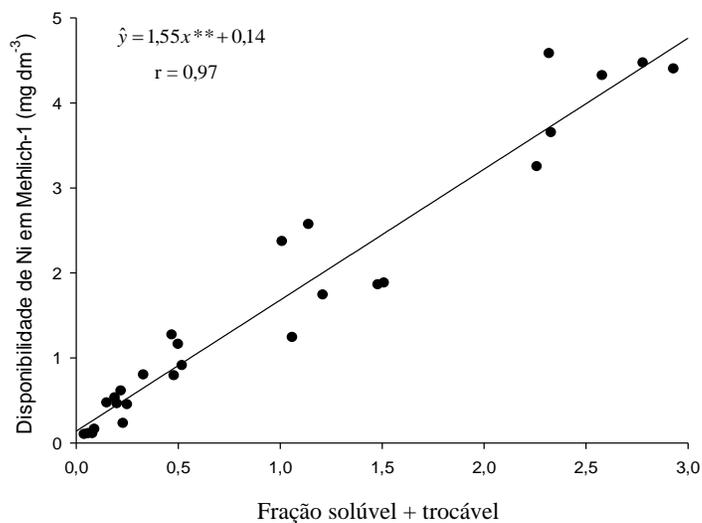


Figura 3- Correlação entre os teores disponíveis de Ni extraídos por Mehlich-1 e Sr (NO_3)₂ no RQo, após o cultivo do feijoeiro (**p<0,01).

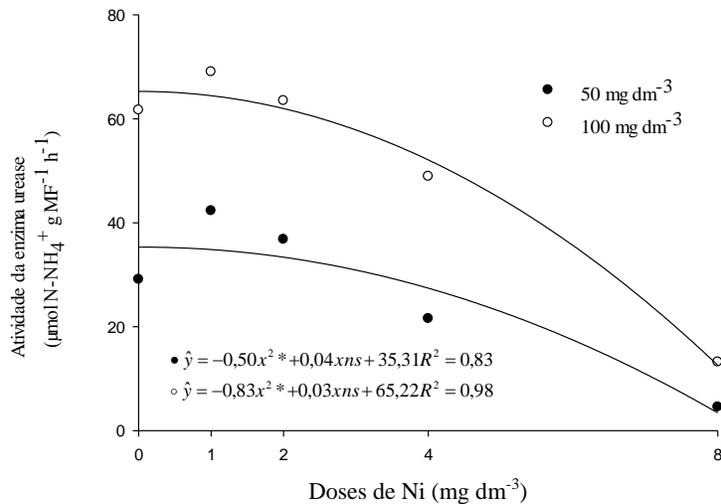


6.1.2 Atividade da enzima urease

A atividade da enzima urease foi influenciada significativamente pelos fatores doses de N e doses de Ni com interação entre os fatores estudados (APÊNDICE G).

De acordo com os resultados expressos na Figura 4, a atividade da enzima urease variou de 4,56 a 42,36 $\mu\text{mol N-NH}_4^+ \text{ g MF}^{-1} \text{ h}^{-1}$ e de 13,20 a 69,07 $\mu\text{mol N-NH}_4^+ \text{ g MF}^{-1} \text{ h}^{-1}$ nas plantas submetidas às doses de 50 e 100 mg dm^{-3} de N, respectivamente.

Figura 4- Atividade da enzima urease em plantas de feijão cultivadas em RQo submetido à aplicação de Ni e N (*p < 0,05).



A atividade da urease apresentou queda já a partir da primeira dose de Ni para as duas doses de N. A redução da atividade enzimática evidencia provável efeito tóxico desse micronutriente às plantas. Rodak (2014) observou redução da atividade da urease em plantas de soja a partir da dose $0,6 \text{ mg dm}^{-3}$ de Ni aplicado em um Latossolo Vermelho Distrófico típico (LVd) com classe textural franco arenosa.

A toxidez de Ni nas plantas é resultado de sua ação no fotossistema, causando distúrbios no ciclo de Calvin e inibição do transporte elétrico por causa das quantidades excessivas de ATP e NADPH acumuladas pela ineficiência das reações de carboxilação da fotossíntese (KRUPA et al., 1993).

O efeito tóxico já nas doses iniciais de Ni pode estar relacionado a associação de dois fatores: o teor inicial de Ni na semente do cultivar BRS Cometa, que era de $1,01 \text{ mg kg}^{-1}$ e a maior disponibilidade de Ni nesse solo.

Brown et al. (1987) verificaram em cevada, que apenas o conteúdo de Ni da semente foi suficiente para suprir até três gerações precedentes, sem que ocorra deficiência do mesmo.

As enzimas são proteínas com propriedades catalisadoras sobre as reações que ocorrem nos sistemas biológicos. Elas apresentam um elevado grau de especificidade sobre seus substratos acelerando reações específicas sem serem alteradas ou consumidas durante o processo. Vários fatores influenciam a atividade enzimática sendo um dos principais a quantidade de substrato. Na Figura 5 observa-se que as plantas que receberam a maior dose de N apresentaram atividade enzimática mais elevada. Até que a velocidade máxima (V_{max}) não seja atingida, enquanto houver aumento do substrato haverá também aumento da utilização dos sítios ativos da enzima, logo, aumento da velocidade da reação acarretando no aumento da atividade.

6.1.3 Atividade da enzima nitrato redutase (NR)

A análise de variância revelou que a atividade da enzima NR sofreu influência significativa apenas dos fatores isolados dose de N e dose de Ni (APÊNDICE G).

As plantas que receberam a dose de 100 mg dm^{-3} de N, apresentaram aumento de 43% na atividade da enzima NR comparado com as plantas que receberam 50 mg dm^{-3} de N (Tabela 3). Esse resultado pode ser explicado analisando as reações que ocorrem no solo com a adição de N mineral.

A ureia adicionada ao solo passa por hidrólise enzimática liberando N amoniacal, a partir de então, inicia-se o processo de nitrificação. A nitrificação é

a oxidação biológica da amônia, tendo como produto final o nitrato (RAIJ, 1991).

A NR foi o primeiro exemplo de enzima em planta que é induzida pelo substrato (BEEVERS et al., 1969). Esta indução é relativamente forte: na ausência de NO_3^- , a NR se apresenta em baixo nível.

O experimento foi mantido em condições adequadas para que o processo de nitrificação ocorresse normalmente, logo, podemos inferir que na dose de 100 mg dm^{-3} de N ocorreu incremento de NO_3^- no solo, que foi absorvido pelas plantas. O aumento da concentração do substrato proporcionou aumento da atividade da NR. Almeida (2010) observou aumento da atividade da NR em plantas de feijoeiro quando as parcelas foram submetidas ao tratamento com N mineral.

Tabela 3- Médias da atividade da enzima NR em plantas de feijão cultivadas em RQo, submetido às doses de Ni e N.

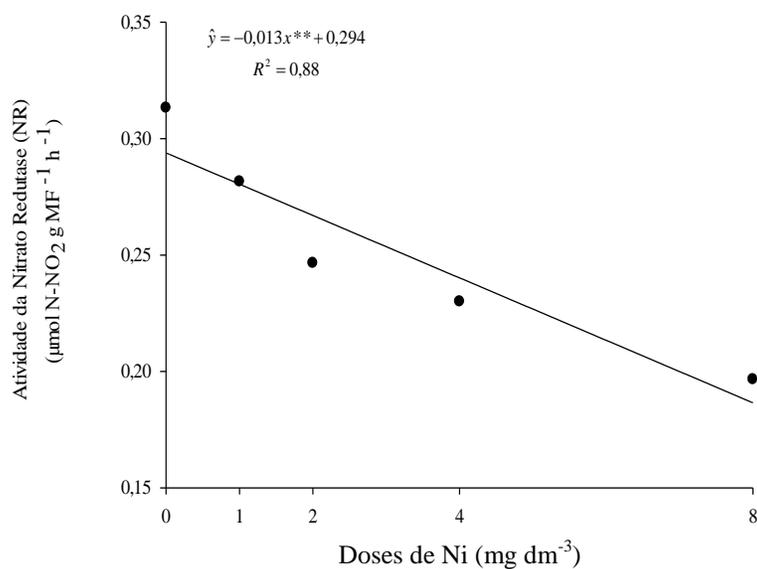
Dose N (mg dm^{-3})	Dose de Ni (mg dm^{-3})					Médias ($\mu\text{mol N-NO}_2^- \text{ g MF}^{-1} \text{ h}^{-1}$)
	0	1	2	4	8	
50	0,26b	0,22b	0,21b	0,19b	0,16b	0,21b
100	0,37a	0,34a	0,29a	0,27a	0,23a	0,30a
Média geral	0,32	0,28	0,25	0,23	0,20	0,26

Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo Teste de F a 1% de probabilidade.

Com a aplicação de Ni, foi observado redução na atividade da enzima NR (Figura 5). Esse resultado pode ter sido obtido uma vez que o Ni não pertence ao grupo prostético dessa enzima, além de ser um metal pesado podendo gerar toxidez e, conseqüentemente, afetar no metabolismo das plantas. Além disso, pode se tornar tóxicos para as bactérias nitrificantes, reduzindo sua

atividade, resultando na diminuição de NO_3^- (McGrath et al., 1995; Andrade; Silveira, 2004). Como se observou que as doses de Ni aplicadas foram tóxicas quando analisada a atividade da urease podemos afirmar que a atividade da NR também foi influenciada pelo caráter tóxico do Ni aplicado. Resultados opostos foram observados por Kevresan et al. (1998) que não verificaram influência do Ni sobre atividade da enzima NR.

Figura 5- Atividade da enzima NR em plantas de feijão cultivadas em RQo submetido à aplicação de doses de Ni (** $p < 0,01$).



6.1.4 Massa seca da parte aérea

A massa seca da parte aérea foi influenciada significativamente pelos fatores isolados dose de N e dose de Ni (APÊNDICE G).

Foi observado que as plantas que receberam a dose de 100 mg dm⁻³ de N apresentaram incremento de 55% na média de produção de massa seca da parte aérea em relação as que receberam a dose de 50 mg dm⁻³ de N (Tabelas 4).

Tabela 4- Médias da produção de massa seca da parte aérea de plantas de feijão cultivadas em RQo submetida à aplicação de Ni e N.

Dose N (mg dm ⁻³)	Dose de Ni (mg dm ⁻³)					Médias (g vaso ⁻¹)
	0	1	2	4	8	
50	6,33a	6,24a	6,11a	5,78a	5,05a	5,90a
100	9,89b	9,56b	9,22b	8,93b	8,17b	9,15b
Média geral	8,11	7,90	7,67	7,36	6,61	7,53

Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo Teste de F a 1% de probabilidade.

O N é um dos nutrientes mais exigidos em quantidade pelas plantas e, frequentemente, considerado o mais importante fator, após a deficiência de água, que limita a produção de biomassa. Faz parte de inúmeras proteínas, as quais têm importantes papéis funcionais e estruturais nas plantas, ácidos nucleicos, e diversos outros constituintes celulares. Quando a demanda da planta não é suprida, resulta em clorose gradual das folhas mais velhas e redução do crescimento das plantas (FERNANDES; SOUZA, 2006; MARSCHNER, 2012). Silveira e Damasceno (1993); Silva et al. (2004) também verificaram efeito positivo na massa seca com aplicação de N. Esse aumento é resultado da maior disponibilidade de N para a planta do feijão, ocorrendo assim um incremento na absorção do mesmo e, como consequência maior produção de massa seca, pois o

N tem influência direta na fotossíntese e crescimento da planta, sendo parte integrante da molécula de clorofila.

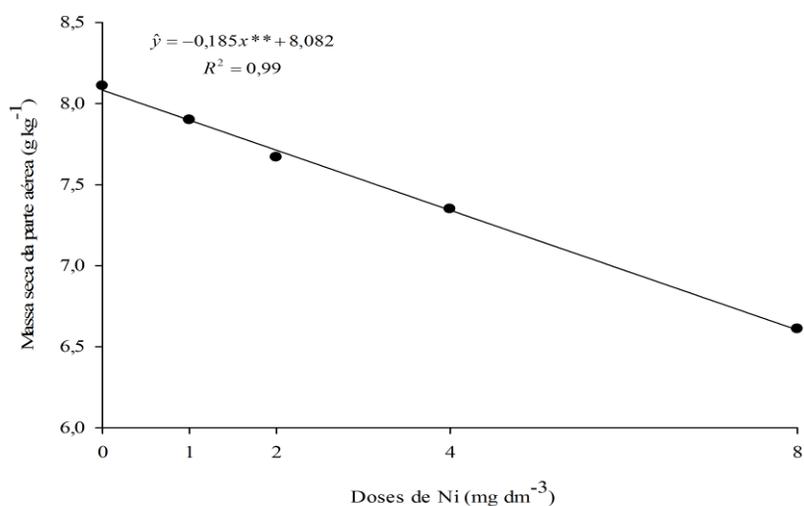
Foi observada redução gradual da massa seca da parte aérea submetido às doses de Ni. Essa redução pode ser explicada pela maior absorção de Ni pelas plantas visto que esse solo apresenta baixa CTC e teor de MO (Tabela 1), deixando-o disponível na solução do solo, provavelmente causando efeito tóxico desse micronutriente nas plantas.

Oliveira et al. (2013) e Gerendás; Sattelmacher (1997) não verificaram aumento significativo da massa seca de plantas de alface e centeio com o fornecimento de Ni.

Todavia, a influência do fornecimento de Ni proporcionando ganhos na produção de massa seca é relatada na literatura para tomate (NICOULAND; BLOOM, 1998); tomate (XUE et al., 2000); alface (KHOSHGOFTARMANESH et al., 2011).

Apesar da redução na produção da massa seca da parte aérea, não foi observado nenhum sintoma visual de deficiência nutricional ou toxidez.

Figura 6- Produção de massa seca da parte aérea de plantas de feijão cultivadas em RQo submetido às doses de Ni (**p<0,01).



6.1.5 Teor de N na parte aérea

O teor de N na parte aérea foi influenciado significativamente pelos fatores isolados dose de N e dose de Ni (APÊNDICE G).

As médias do teor de N na parte aérea foram de 27,22 e 30,57 g kg⁻¹ das plantas submetidas às doses de 50 e 100 mg dm⁻³ de N, respectivamente, o que representa aumento de 12,3% (Tabela 5).

Segundo Raij (2011), a faixa ótima de teor de N em folhas para o feijão é de 30 a 50 g kg⁻¹, portanto, apenas as plantas submetidas à dose de 50 mg kg⁻¹ de N, não apresenta teor adequado.

As plantas que receberam a maior dose de N apresentaram teor de N da parte aérea superiores aos encontrados nas plantas que receberam a menor dose. Este resultado já era esperado visto que o seu fornecimento em quantidade adequada propicia alta atividade fotossintética, crescimento vegetativo vigoroso

e folhas verde-escuras. Binotti (2010) constatou que com o aumento das doses de N houve incremento nos teores de N foliar em plantas de feijão. Silveira e Damasceno (1993) encontraram resultados semelhantes em feijoeiro irrigado.

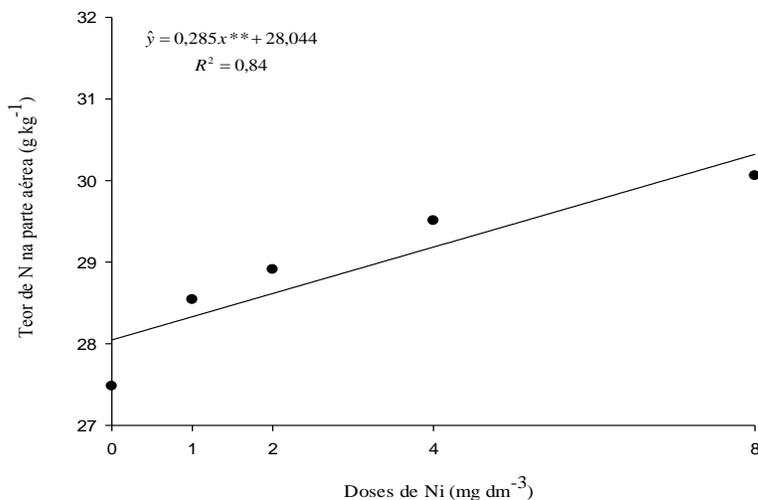
Tabela 5- Médias do teor de N na parte aérea de plantas de feijão cultivadas em RQo, submetidas às doses de Ni e N.

Dose N (mg dm ⁻³)	Dose de Ni (mg dm ⁻³)					Médias (g kg ⁻¹)
	0	1	2	4	8	
50	25,45b	26,97b	27,13b	27,89b	28,68b	27,22b
100	29,50a	30,11a	30,69a	31,13a	31,44a	30,57a
Média geral	27,48	28,54	28,91	29,51	30,06	28,89

Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo Teste de F a 1% de probabilidade.

O teor de N na parte aérea apresentou aumento em função das doses de Ni aplicadas (Figura 7). Este resultado foi provocado devido à redução na produção de massa seca da parte aérea (Tabela 4), logo, infere-se que o resultado obtido para o teor de N é consequência do efeito concentração. Resultado oposto foi encontrado por Palacios et al. (1998) que constataram redução no teor de N em folhas de tomateiro que receberam doses de Ni em solução nutritiva.

Figura 7- Teor de N na parte aérea de plantas de feijão cultivadas em RQo submetido à doses de Ni (** p < 0,05).



6.1.6 Acúmulo de N na parte aérea

Para o acúmulo de N na parte aérea foi observado diferença significativa apenas para as doses de N (APÊNDICE I). Com o aumento da dose de N houve incremento no acúmulo de N. As médias de produção de massa seca da parte aérea foram de 160,12 e 279,90 mg vaso⁻¹ nas plantas submetidas às doses de 50 e 100 mg dm⁻³ de N, respectivamente, representando aumento de 74,8% (Tabela 6).

O acúmulo de N na parte aérea foi maior na dose de 100 mg dm⁻³ de N devido a maior absorção deste nutriente, comportamento semelhante ao da massa seca da parte aérea. Dentre os nutrientes, o N é o mais absorvido e exportado para a parte aérea, além disso, é o elemento que, juntamente com o fósforo (P), tem apresentado as maiores respostas em produção.

Tabela 6- Médias do acúmulo de N na parte aérea de plantas de feijão cultivadas em RQo, submetidas às doses de Ni e N.

Dose N (mg dm ⁻³)	Dose de Ni (mg dm ⁻³)					Médias (mg vaso ⁻¹)
	0	1	2	4	8	
50	161,34a	167,55a	165,89a	161,09a	144,72a	160,12a
100	292,09b	288,28b	283,34b	277,78b	257,99b	279,90b
Média geral	226,72	227,92	224,62	219,44	201,36	220,01

Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo Teste de F a 1% de probabilidade.

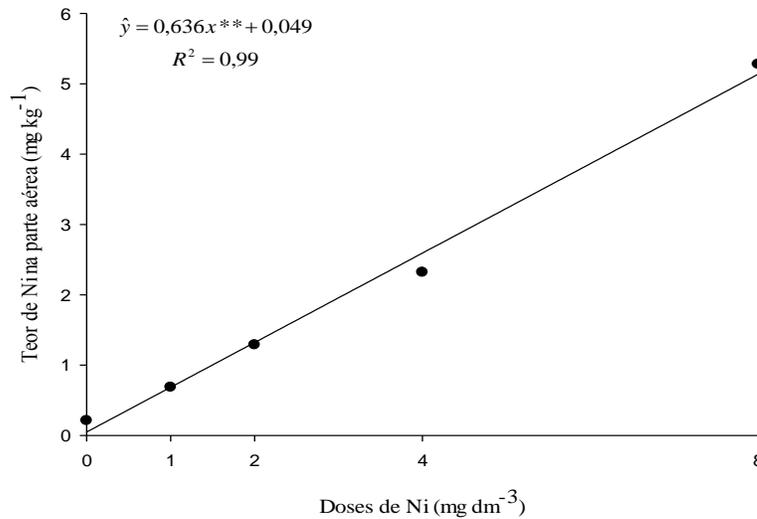
6.1.7 Teor de Ni na parte aérea

Apenas o fator isolado dose de Ni influenciou significativamente o teor de Ni na parte aérea (APÊNDICE I). O aumento das doses de Ni adicionadas ao solo acarretou no aumento linear do teor de Ni na parte aérea (Figura 8).

O Neossolo Quartzarênico ôrtico (RQo) utilizado neste experimento apresenta textura arenosa e baixo teor de matéria orgânica, conseqüentemente, menor capacidade de adsorção do elemento, e portanto deixando-o mais disponível para a absorção pelas plantas. Oliveira (2013) observou aumento linear do teor de Ni na parte aérea de alface, com o aumento das doses de Ni aplicadas no solo. O incremento nas doses de Ni, em solução nutritiva, induziu aumento no teor deste metal nas raízes, no caule e nas folhas das mudas de ipê-roxo (PAIVA et al., 2003).

Os teores de Ni na parte aérea encontrados neste trabalho ficaram abaixo do teor considerado fitotóxico para as plantas não acumuladoras (10 mg kg⁻¹) de acordo com Marshner, (2012). No entanto, os resultados encontrados neste trabalho apontam que o feijoeiro é sensível ao Ni em doses inferiores a 10 mg kg⁻¹ na massa seca. Os teores de Ni que causam fitotoxidez ainda são controversos na literatura e necessita de mais estudos.

Figura 8- Teor de Ni na parte aérea de plantas de feijão cultivadas em RQo submetidas às doses de Ni (** p < 0,01).

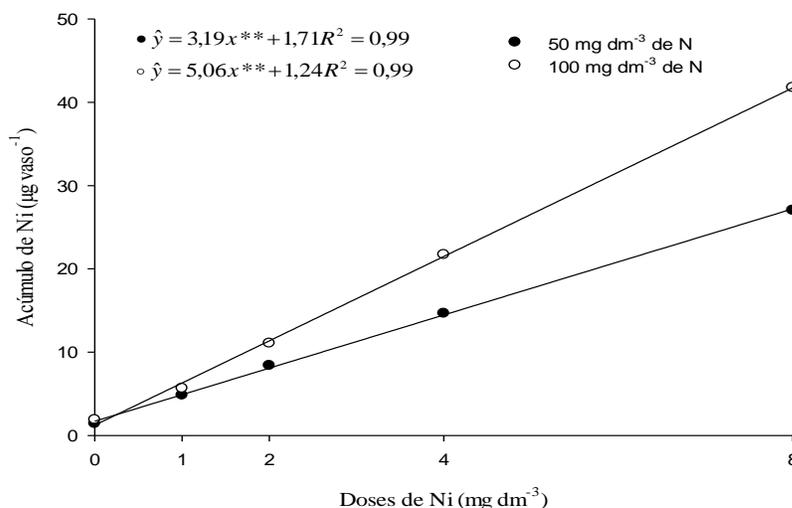


6.1.8 Acúmulo de Ni na parte aérea

O acúmulo de Ni foi influenciado significativamente pelos fatores doses de N e doses de Ni, indicando interação dupla entre os fatores (APÊNDICE K).

Foi observado efeito linear no acúmulo de Ni na parte aérea para as doses de 50 e 100 mg dm⁻³ de N seguindo a mesma tendência do teor de Ni na parte aérea (Figura 9). Os maiores acúmulos de Ni na parte aérea foram verificados nas parcelas que receberam a maior dose de N, possivelmente em decorrência do maior crescimento da parte aérea constatado nessas plantas. Campanharo (2010) também verificou aumento linear no acúmulo de Ni em função das doses de Ni aplicadas em feijoeiro comum.

Figura 9- Acúmulo de Ni na parte aérea de plantas de feijão cultivadas em RQo, submetido às doses de Ni (** p < 0,01).

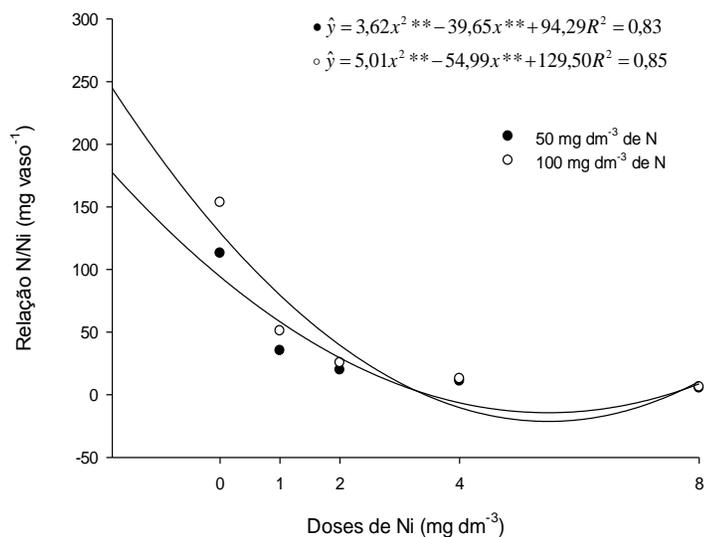


6.1.9 Relação N/Ni

A relação N/Ni foi influenciada significativamente pelos fatores doses de N e doses de Ni, indicando interação dupla entre os fatores (APÊNDICE K). De acordo com os resultados expressos na Figura 10, a relação N/Ni variou de 5,36 a 113,05 e de 6,15 a 153,53 mg vaso⁻¹ nas plantas submetidas às doses de 50 e 100 mg dm⁻³ de N, respectivamente.

A dose de 0 mg dm⁻³ de Ni apresentou a maior relação N/Ni. Este resultado já era esperado visto que nesta dose houve menor disponibilidade de Ni no solo e menor teor de Ni na parte aérea.

Figura 10- Relação N/Ni em RQo, submetido às doses de Ni (** p < 0,01).



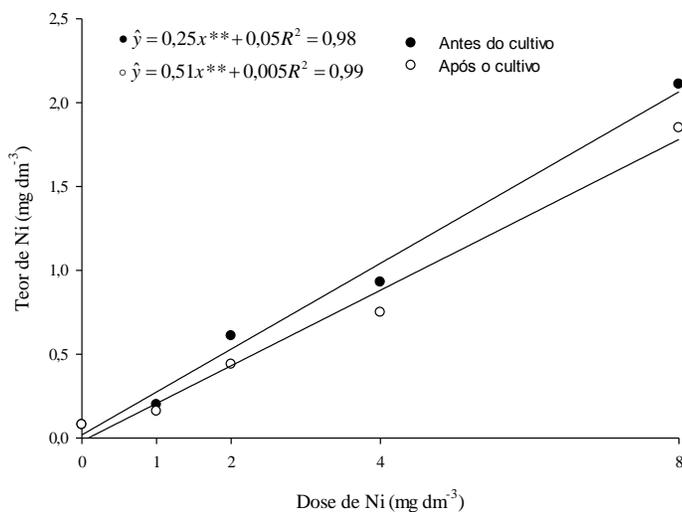
6.2 Experimento com Latossolo Vermelho distrófico (LVdf)

6.2.1 Fracionamento e disponibilidade de Ni

Apenas o fator isolado dose de Ni influenciou significativamente o teor de Ni disponível no solo, extraído por Mehlich-1, antes e após o cultivo do feijão (APÊNDICE F). Os tratamentos influenciaram significativamente nos teores de Ni na fração solúvel + trocável, fração orgânica, fração oxídica e fração residual, antes e após o cultivo do feijão (APÊNDICES C e D).

Os teores disponíveis de Ni no solo, extraídos por Mehlich-1, antes do cultivo do feijoeiro, aumentaram com a aplicação das doses de Ni, variando de 0,08 a 2,11 mg dm⁻³ (Figura 11). Após o cultivo variaram de 0,08 a 1,85 mg dm⁻³ (Figura 11).

Figura 11- Teor de Ni no solo extraído por Mehlich-1 no LVdf antes do cultivo de feijoeiro (**p<0,01).



Observando a fração ligada a óxidos de Fe e Al, verifica-se que a extração de Ni foi maior à medida que se aumentou as doses, antes e após o cultivo. Com o aumento da quantidade de Ni adicionada ao solo, possivelmente, ocorreu aumento da formação de complexos junto aos óxidos (Tabela 7).

Os maiores teores de Ni encontrados foram nas frações orgânica e na fração ligada aos óxidos (Tabela 7). Fica evidente nesse trabalho que o Ni apresenta grande afinidade com as frações orgânica e ligada aos óxidos. A fração argila e a matéria orgânica apresentam-se finamente divididas no solo, com partículas de tamanho reduzido, o que resulta em superfície específica de dezenas a centenas de m² g⁻¹. Embora a superfície específica, em geral, não seja determinada de forma rotineira, ela é refletida, pelo menos em parte, pelos teores de argila e na CTC (RAIJ, 2011).

A matéria orgânica, embora presente, na maioria dos solos, em teores baixos, apresenta alta capacidade de interagir com os demais componentes e contribui, significativamente, para o valor da superfície específica do solo, devido ao seu alto grau de subdivisão (NOVAIS E MELLO, 2007).

A matéria orgânica do solo possui uma importante propriedade que é a capacidade de gerar cargas elétricas na sua superfície pela desprotonação, em valores de pH superior a 3,0 – ponto de carga zero (PCZ) – de seus grupos carboxílicos (COOH), principal grupo funcional da MOS (CANELLA et al., 1999).

A CTC da matéria orgânica tem grande magnitude em comparação com a fração mineral do solo. Segundo Raij (2011), estudos realizados no estado de São Paulo mostram que, em amostras superficiais de solo, a maior parte da CTC é devido à matéria orgânica.

Segundo Schnitzer (1969) a maior retenção do Ni pela fração orgânica confirma a capacidade deste metal em formar complexos estáveis com a matéria orgânica, pelas reações com os grupos COOH e OH fenólicos. Berthelsen et al. (1995) relatam que, tradicionalmente, a retenção de metais em solos orgânicos tem sido associada com a formação de complexos ou com a adsorção deles pela matéria orgânica do solo.

Verifica-se que a fração ligada aos óxidos apresentou maior teor de Ni em relação às demais frações, antes e após o cultivo de feijão evidenciando a reação de adsorção entre o Ni e os óxidos (Tabela 7). Foram extraídas pela fração oxídica 516,4%, 150% e 284% em relação aos teores de Ni extraídos pelas frações solúvel + trocável, orgânica e residual, respectivamente, antes do cultivo do feijoeiro e 416,7%, 190,4% e 134,6% em relação aos teores de Ni extraídos pelas frações solúvel + trocável, orgânica e residual, respectivamente, após o cultivo do feijoeiro (Tabela 2). De acordo com Matos et al., (1996); Paccola, (1997); Mendonça, (1999), os metais podem ser adsorvidos ou oclusos

em óxidos de Fe, Al e Mn. Estes óxidos são importantes constituintes dos solos de regiões de clima tropical, têm sido atribuídas fortes interações com metais, notadamente na forma de adsorção específica.

Tabela 7- Teores de Ni, em mg kg^{-1} , extraído em cada fração de amostras de Latossolo Vermelho distrófico (LVdf), submetido às doses de Ni, antes (inicial) e após (final) o cultivo de feijão, para cada tratamento.

Fração	Dose N (mg dm^{-3})	Dose Ni (mg dm^{-3})	Tratamento	Inicial	Final
Ni - solúvel + trocável	50	0	1	0,03 a	0,03 a
		1	2	0,08 a	0,06 a
		2	3	0,21 b	0,17 b
		4	4	0,37 c	0,31 c
		8	5	0,66 d	0,80 e
	100	0	6	0,04 a	0,03 a
		1	7	0,10 a	0,04 a
		2	8	0,20 b	0,24 c
		4	9	0,34 c	0,33 c
		8	10	0,66 d	0,69 d
Ni - orgânico	50	0	1	0,10 a	0,06 a
		1	2	0,30 a	0,19 a
		2	3	0,58 b	0,43 b
		4	4	0,83 b	0,59 b
		8	5	2,67 c	1,57 c
	100	0	6	0,06 a	0,05 a
		1	7	0,32 a	0,15 a
		2	8	0,68 b	0,35 b
		4	9	0,85 b	0,64 b
		8	10	2,87 c	1,88 c
Ni - oxidico	50	0	1	0,14 a	0,09 a
		1	2	0,51 b	0,39 b
		2	3	1,09 c	0,86 c
		4	4	2,06 d	1,85 d
		8	5	3,22 e	2,54 e
	100	0	6	0,09 a	0,07 a
		1	7	0,47 b	0,38 b
		2	8	1,05 c	0,74 c
		4	9	2,03 d	1,80 d
		8	10	3,23 e	2,53 e
Ni - residual	50	0	1	0,06 a	0,05 a
		1	2	0,13 a	0,25 a
		2	3	0,17 a	0,40 a
		4	4	0,79 b	0,75 b
		8	5	1,34 c	2,50 c
	100	0	6	0,04 a	0,07 a
		1	7	0,09 a	0,31 a
		2	8	0,19 a	0,31 a
		4	9	0,75 b	0,87 b
		8	10	1,33 c	2,85 c

Nota: Médias seguidas por letras iguais na coluna não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Scott-Knott.

O extrator Mehlich-1 apresentou correlação com a fração solúvel + trocável, na previsão da disponibilidade de Ni, tanto antes como após o cultivo do feijoeiro (Figuras 12 e 13).

Figura 12- Correlação entre os teores disponíveis de Ni extraídos por Mehlich-1 e a fração solúvel + trocável no LVdf, antes do cultivo do feijoeiro (**p<0,01).

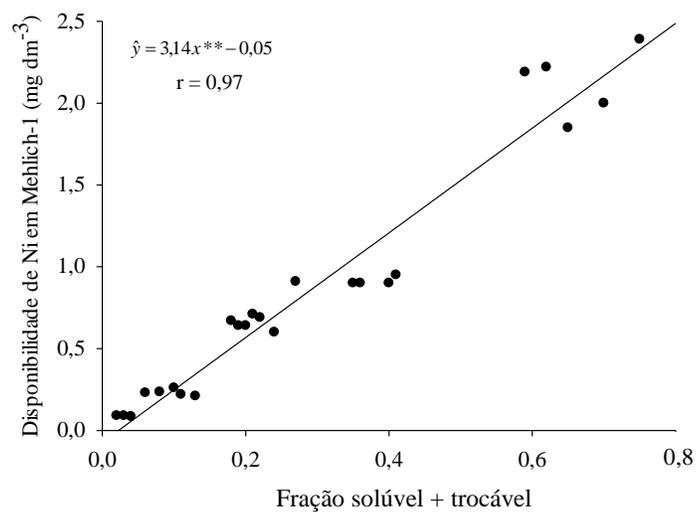
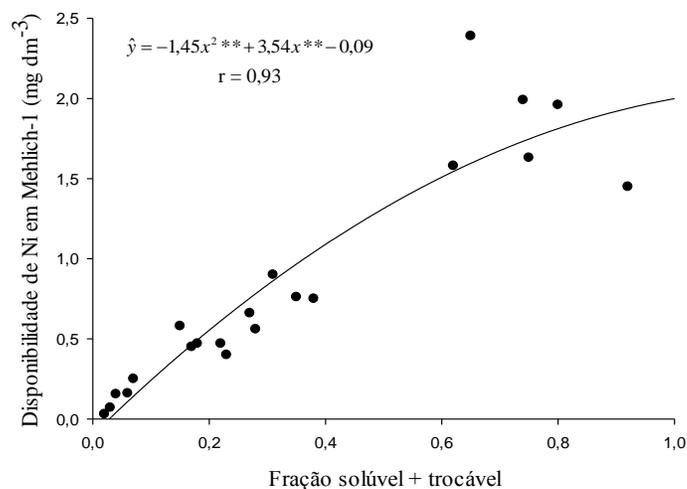


Figura 13- Correlação entre os teores disponíveis de Ni extraídos por Mehlich-1 e a fração solúvel + trocável no LVdf, após cultivo do feijoeiro (**p<0,01).

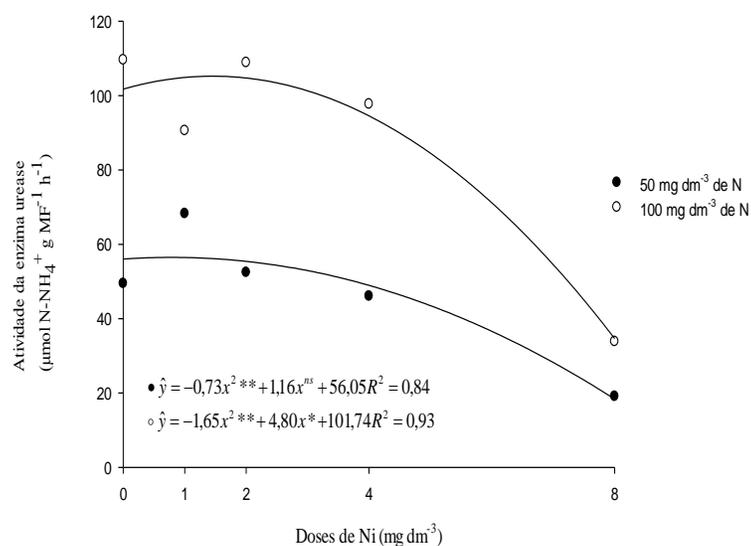


6.2.2 Atividade da enzima urease

A atividade da enzima urease foi influenciada significativamente pelos fatores doses de N e doses de Ni com interação entre os fatores estudados (APÊNDICE H).

A atividade enzimática variou de 19,10 a 68,26 $\mu\text{mol N-NH}_4^+ \text{ g MF}^{-1} \text{ h}^{-1}$ e de 33,81 a 109,58 $\mu\text{mol N-NH}_4^+ \text{ g MF}^{-1} \text{ h}^{-1}$ submetido às dose de 50 e 100 mg dm^{-3} de N, respectivamente (Figura 14).

Figura 24- Atividade da enzima urease em plantas de feijão cultivadas em LVdf submetido à aplicação de Ni e N (** p < 0,01).



Foi observado efeito quadrático da atividade da urease, em função dos tratamentos, sendo que a enzima apresentou pequeno aumento até a dose de 2 mg dm^{-3} e diminuindo a partir dessa dose, para as duas doses de N.

Apesar de os mecanismos de sua fitotoxicidade ainda serem pouco estudados, sabe-se que altos teores de Ni nos tecidos vegetais inibem a fotossíntese e a respiração. Os sintomas de efeitos tóxicos relacionam-se a lesões nos tecidos, retardamento de crescimento, cloroses e outros sintomas específicos para espécies vegetais (GUPTA, 2001).

Resultados opostos foram encontrados em cereais (BROWN et al., 1987), cucurbitáceas (GERENDÁS; SATTELMACHER, 1997), arroz (*Oryza sativa* L.) (GERENDÁS et al., 1998), tomate (*Solanum lycopersicum* L.) (GAD et al., 2007) e alface (*Lactuca sativa* L.) (KHOSHGOFTARMANESH et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2013) com o fornecimento de Ni.

As enzimas são proteínas que catalisam reações químicas por meio do aumento na taxa de conversão de um substrato específico em um produto específico. Para que uma enzima funcione como catalizador, ela deve primeiramente ligar o substrato e, depois, diminuir a energia de ativação, de modo que a reação acontecerá a uma velocidade maior do que a reação aconteceria na ausência do catalisador. Assim, à medida que a concentração do substrato aumenta, a velocidade da reação aumenta o que explica o aumento da atividade da urease nos dois solos na maior dose de N aplicada. Teixeira (2013), observou aumento gradual da atividade da urease em razão da dose de 80, 100 e 120 mg kg⁻¹ de N.

A ureia é um produto originado do metabolismo secundário do N em plantas, principalmente na remobilização, e não pode ser metabolizado por outras rotas (WITTE, 2011). O acúmulo de ureia em condições extremas causa necrose no ápice foliar, interferindo no metabolismo do N. Dessa forma, a presença de concentrações suficientes de Ni é essencial para as plantas, sendo que na condição de baixa disponibilidade ou ausência deste elemento, a planta pode não completar o ciclo de vida (DIXON et al., 1975, GERENDAS et al., 1999).

6.2.3 Atividade da enzima nitrato redutase

A análise de variância revelou que a atividade da enzima nitrato redutase (NR) sofreu influência apenas dos fatores isolados dose de N e dose de Ni (APÊNDICE H).

À medida que se elevou o teor de N, a atividade da enzima NR apresentou uma variação de 0,39 a 0,59 $\mu\text{mol N-NO}_2^- \text{ g MF}^{-1} \text{ h}^{-1}$, o que representa aumento de 33% na atividade enzimática em virtude dos incrementos da adubação nitrogenada (Tabela 8).

Isso sugere que a enzima possa ter sido ativada pelo substrato, ou seja, pelo N uma vez que é considerada como sendo um dos melhores exemplos de enzima induzida pelo substrato em plantas superiores (CAMARGOS, 2007). Silva (2009) também observou que a atividade da NR apresentou maiores valores nas plantas de milho que receberam N mineral.

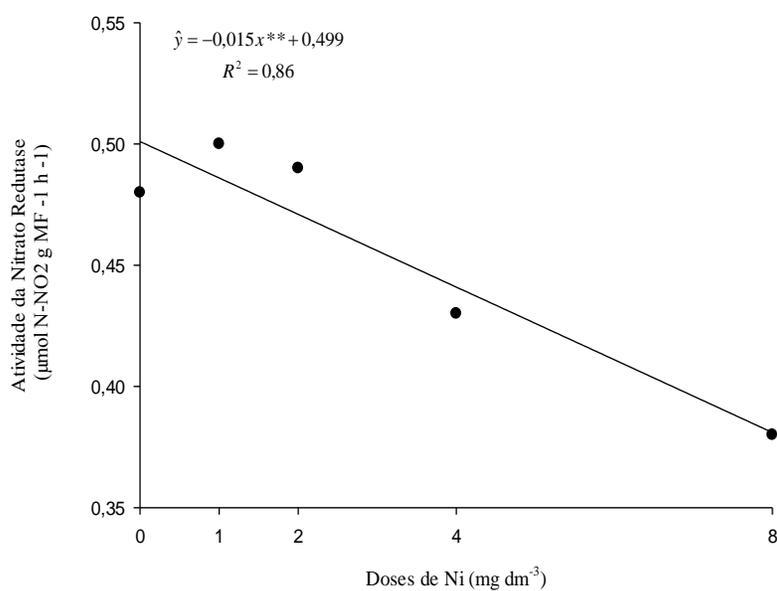
Tabela 8- Médias da atividade da enzima NR em plantas de feijão cultivadas em LVdf, submetido às doses de Ni e N.

Dose N (mg dm ⁻³)	Dose de Ni (mg dm ⁻³)					Médias ($\mu\text{mol N-NO}_2^- \text{ g MF}^{-1} \text{ h}^{-1}$)
	0	1	2	4	8	
50	0,43b	0,44b	0,41b	0,35b	0,32b	0,39b
100	0,53a	0,57a	0,57a	0,50a	0,44a	0,52a
Média geral	0,48	0,51	0,49	0,43	0,38	0,46

Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo Teste de F a 1% de probabilidade.

Devido à aplicação de Ni, ocorreu redução na atividade enzimática a partir da primeira dose (Figura 15). Possivelmente o teor do Ni foi tóxico prejudicando o metabolismo das plantas. Estudos sobre os efeitos do Ni no metabolismo de plantas demonstraram que o metal é capaz de inibir enzimas do Ciclo de Calvin, a biossíntese de clorofila (VAN ASSCHE et al., 1990), o metabolismo do N (BOUSSAMA et al., 1999), a glicólise (CHUGH; SAWHNEY, 1999) e a assimilação do sulfato (LEE; LEUSTEK, 1999). O Ni é capaz de modificar a absorção e o transporte do NO_3^- , alterando a atividade da enzima NR, essencial para a síntese de aminoácidos (PALACIOS; MATAIX, 1999).

Figura 15- Atividade da enzima NR em plantas de feijão cultivadas em LVdf submetido à aplicação de doses de Ni (**p<0,01).



6.2.4 Massa seca na parte aérea

A massa seca da parte aérea foi influenciada significativamente pelos fatores isolados dose de N e dose de Ni (APÊNDICE H).

Foi observado que as plantas que receberam a dose de 100 mg dm^{-3} de N apresentaram incremento de 55% na média de produção de massa seca da parte aérea em relação as que receberam a dose de 50 mg dm^{-3} de N (Tabela 9).

Tabela 9- Médias da produção de massa seca da parte aérea de plantas de feijão cultivadas em LVdf submetida à aplicação de Ni e N.

Dose N (mg dm ⁻³)	Dose de Ni (mg dm ⁻³)					Médias (g vaso ⁻¹)
	0	1	2	4	8	
50	11,27a	11,55a	11,65a	10,55a	8,22a	10,65a
100	15,65b	17,55b	16,62b	15,45b	13,29b	15,71b
Média geral	13,46	14,55	14,14	13,00	10,76	13,18

Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo Teste de F a 1% de probabilidade.

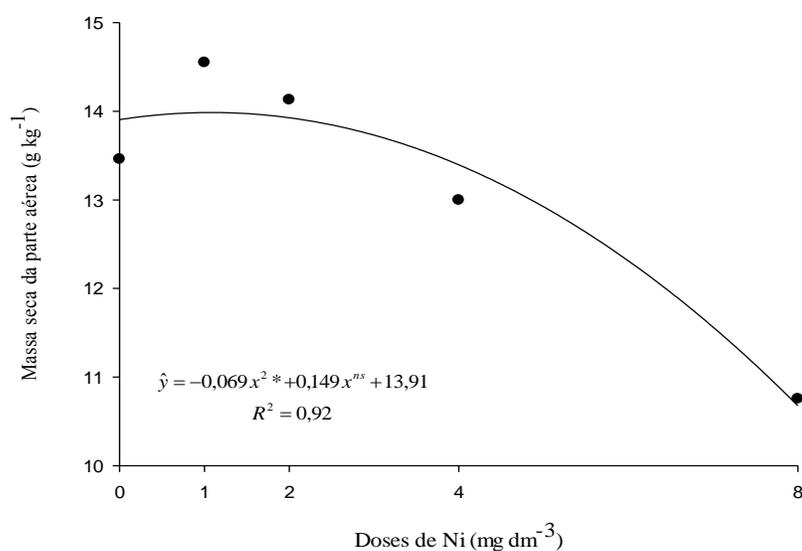
A adubação nitrogenada é muito importante, não somente para a cultura do feijão, mas para todas as culturas, pois além de promover aumentos consideráveis no crescimento das plantas, produtividade e qualidade de grãos, o N exerce muitas funções essenciais na planta. O N faz parte da molécula de clorofila, está presente nos aminoácidos, proteínas, DNA, RNA e em outras estruturas celulares. Soratto et al. (2001); Chidi et al. (2002); Binotti et al. (2009) também verificaram efeito positivo na massa seca da parte aérea de feijoeiro com aplicação de N.

O maior valor de produção de massa seca da parte aérea ocorreu na dose de 0,93 mg dm⁻³ de Ni. Lembrando que a maior atividade da enzima urease variou entre as doses de 0,79 e 1,46 mg dm⁻³ de Ni (Figura 16). Podemos inferir que o aumento da atividade da urease elevou o aproveitamento do N proveniente da ureia levando ao aumento da massa seca.

Campanharo (2010) constatou que aplicação de Ni, não afetou de forma significativa a massa seca do ramo, das folhas e da parte aérea das plantas de feijão. Rabie et al. (1992), que aplicaram 0; 15; 30; 45 e 60 mg L⁻¹ de Ni na forma de sulfato de níquel, via foliar, em feijão fava, trigo e sorgo aos 25 dias do plantio e não observaram alteração na massa seca do tecido foliar dessas plantas com o aumento das doses de Ni aplicadas.

Apesar da redução na produção da massa seca da parte aérea, não foi observado nenhum sintoma de deficiência nutricional ou toxidez.

Figura 16- Produção de massa seca da parte aérea de plantas de feijão cultivadas em LVdf submetido às doses de Ni (* p< 0,05).



6.2.5 Teor de N na parte aérea

O teor de N na parte aérea foi influenciado significativamente pelos fatores isolados dose de N e dose de Ni (APÊNDICE H).

As médias do teor de N na parte aérea foram de 30,67 e 34,37 g kg⁻¹ das plantas submetidas às doses de 50 e 100 mg dm⁻³ de N, respectivamente, o que representa aumento de 12% (Tabela 10).

As doses de N influenciaram o teor de N, proporcionado incremento nos teores. Também, Carvalho et al. (2003) e Binotti et al. (2009) obtiveram dados semelhantes. O teor de N na parte aérea ficou dentro da faixa ótima sugerida por Raij (2011) para as folhas de feijão, que varia de 30 a 50 g kg⁻¹.

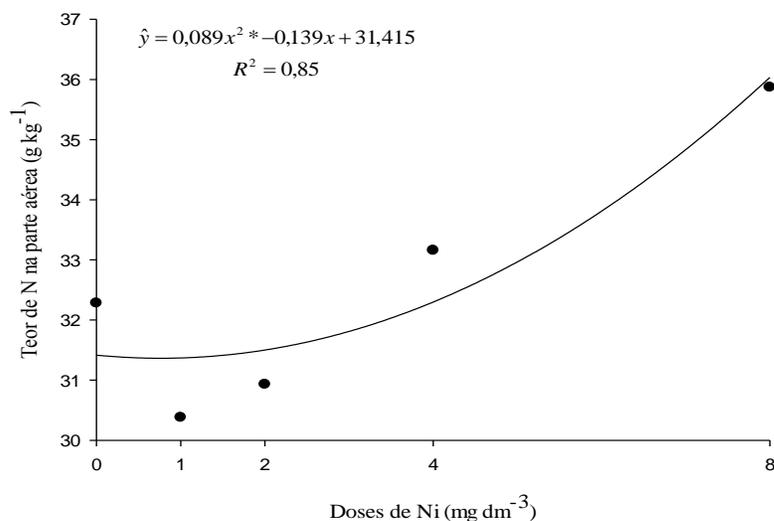
Tabela 10- Médias do teor de N na parte aérea de plantas de feijão cultivadas em LVdf, submetidas às doses de Ni e N.

Dose N (mg dm ⁻³)	Dose de Ni (mg dm ⁻³)					Médias (g kg ⁻¹)
	0	1	2	4	8	
50	30,02b	29,19b	28,97b	31,53b	33,65b	30,67b
100	34,54a	31,56a	32,88a	34,78a	38,09a	34,37a
Média geral	32,28	30,38	30,93	33,16	35,87	32,52

Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo Teste de F a 1% de probabilidade.

O teor de N sofreu incremento a partir da dose de 1,3 mg dm⁻³ de Ni. O teor de N não sofreu grandes alterações nas primeiras doses de Ni devido ao efeito diluição, visto que, nas primeiras doses de Ni foram observados os maiores valores de produção de massa seca da parte aérea variando de . A influência do fornecimento de Ni proporcionando aumento no teor de N em plantas é relatado por vários pesquisadores, para diversas espécies vegetais. Tan et al. (2000) verificaram aumento no teor de N total em tomate com aplicação de Ni.

Figura 17- Teor de N na parte aérea de plantas de feijão cultivadas em LVdf submetido às doses de Ni (** p < 0,05).



6.2.6 Acúmulo de N na parte aérea

Para o acúmulo de N na parte aérea foi observado diferença significativa apenas para as doses de N (APÊNDICE I). Com o aumento da dose de N houve incremento no acúmulo de N. As médias de produção de massa seca da parte aérea foram de 324,09 e 537,1 mg vaso⁻¹ nas plantas submetidas às doses de 50 e 100 mg dm⁻³ de N, respectivamente, representando aumento de 65,7% (Tabela 11).

O acúmulo de N na parte aérea foi superior na maior dose de N devido a maior absorção deste nutriente, o mesmo comportamento observado na produção de massa seca da parte aérea. Esse dado corrobora com Farinelli et al. (2006), que obtiveram resposta linear no acúmulo de N até a dose de 160 kg ha⁻¹.

Tabela 11- Médias do acúmulo de N na parte aérea de plantas de feijão cultivadas em LVdf, submetidas às doses de Ni e N.

Dose N (mg dm ⁻³)	Dose de Ni (mg dm ⁻³)					Médias (mg vaso ⁻¹)
	0	1	2	4	8	
50	337,91b	337,27b	337,40b	331,72b	276,20b	324,09b
100	539,37a	553,45a	548,23a	537,77a	506,70a	537,10a
Média geral	438,64	445,36	442,82	434,75	391,45	430,60

Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo Teste de F a 1% de probabilidade.

6.2.7 Teor de Ni na parte aérea

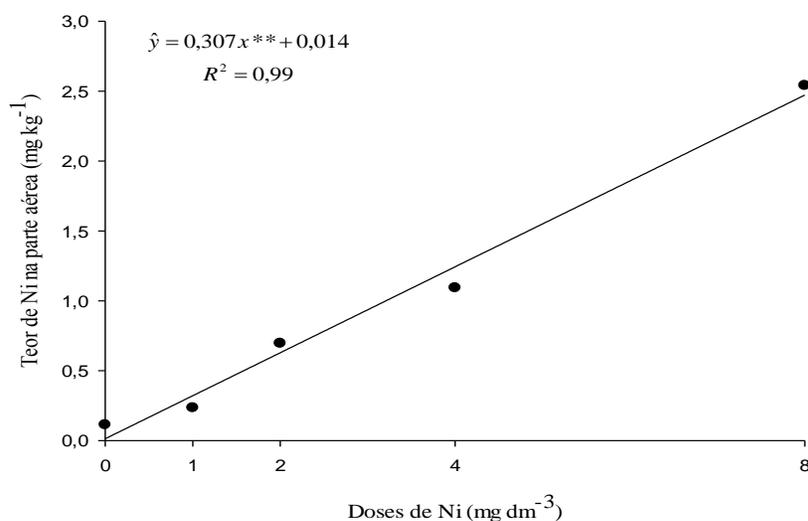
Apenas o fator isolado dose de Ni influenciou significativamente o teor de Ni na parte aérea (APÊNDICE I). O aumento das doses de Ni adicionadas ao solo acarretou no aumento linear do teor de Ni na parte aérea.

O Latossolo Vermelho distrófico (LVdf) utilizado neste experimento apresenta textura argilosa e elevado teor de matéria orgânica, consequentemente, maior capacidade de adsorção do elemento, e portanto deixando-o menos disponível para a absorção pelas plantas. Ainda assim, parte do Ni adicionado ao solo ficou disponível na solução do solo, possibilitando a sua absorção. Berton et al. (2006) constataram incremento no teor de Ni foliar em feijoeiro com o aumento das doses de Ni aplicado via solo. Tokura Alovisi et al. (2011) também observaram incremento no teor de Ni foliar em experimento com soja com o aumento de doses de Ni via foliar.

Segundo Marshner (2012), o teor de Ni considerado fitotóxico para as plantas é de 10 mg kg⁻¹ de massa seca. No presente trabalho os teores de Ni na parte aérea ficaram abaixo deste valor, evidenciando que o feijoeiro comum possa ser considerado sensível ao Ni em doses inferiores a 10 mg kg⁻¹ devido a redução na massa seca e redução na atividade das enzimas urease e NR. Os

teores de Ni que causam fitotoxidez ainda são controversos na literatura e demanda de mais estudos.

Figura 18- Teor de Ni na parte aérea de plantas de feijão cultivadas em LVdf, submetido às doses de Ni (** p < 0,05).



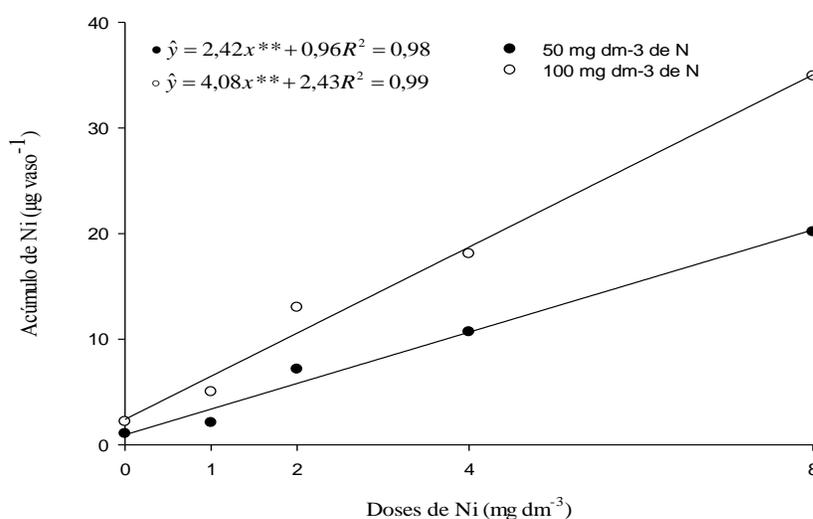
6.2.8 Acúmulo de Ni na parte aérea

O acúmulo de Ni foi influenciado significativamente pelos fatores doses de N e doses de Ni, indicando interação dupla entre os fatores (APÊNDICE K).

Foi observado efeito linear no acúmulo de Ni na parte aérea para as doses de 50 e 100 mg dm⁻³ de N seguindo a mesma tendência do teor de Ni na parte aérea (Figura 19). Os maiores acúmulos de Ni na parte aérea foram verificados nas parcelas que receberam a maior dose de N, possivelmente em decorrência do maior crescimento da parte aérea que apresentou média de 15,71 mg vaso⁻¹ contra os 10,65 mg vaso⁻¹ das parcelas que receberam a menor dose.

Campanharo (2010) também verificou aumento linear no acúmulo de Ni em função das doses de Ni aplicadas em feijoeiro comum.

Figura 19- Acúmulo de Ni na parte aérea de plantas de feijão cultivadas em LVdf, submetido às doses de Ni (** p < 0,01).

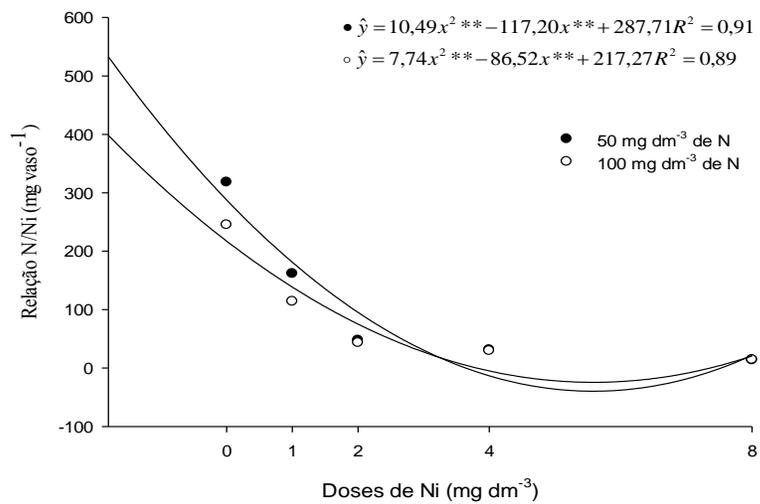


6.2.9 Relação N/Ni

A relação N/Ni foi influenciada significativamente pelos fatores doses de N e doses de Ni, indicando interação dupla entre os fatores (APÊNDICE K). De acordo com os resultados expressos na figura 20, a relação N/Ni variou de 13,77 a 318,40 e de 14,45 a 245,25 mg/vaso nas plantas submetidas às doses de 50 e 100 mg dm⁻³ de N, respectivamente.

A dose de 0 mg dm⁻³ de Ni apresentou a maior relação N/Ni. Este resultado é consequência da menor disponibilidade de Ni no solo e menor teor de Ni na parte aérea observados nesta dose.

Figura 20- Relação N/Ni em LVdf, submetido às doses de Ni (** p < 0,01).



7 CONCLUSÕES

Neossolo Quartzarênico ôrtico (RQo)

O Ni encontra-se mais ligado às frações solúvel + trocável e residual antes do cultivo e após o cultivo;

Os extratores Mehlich-1 e a fração trocável + solúvel apresentaram correlação significativa e positiva, evidenciando que ambos podem ser utilizados para quantificação da disponibilidade de Ni;

As maiores atividades das enzimas urease e NR ocorrem com a maior dose de N e doses menores que 1 mg dm^{-3} de Ni;

A relação N/Ni variou de 5,36 a $153,53 \text{ mg vaso}^{-1}$ em função das doses e tratamentos aplicados;

A massa seca da parte aérea diminuiu de 9,15 a 5,90 g com a aplicação de Ni, refletindo efeito fitotóxico na cultura.

Latossolo Vermelho distrófico (LVdf)

O Ni encontra-se mais ligado às frações solúvel + trocável e residual antes do cultivo e após o cultivo;

Os extratores Mehlich-1 e a fração trocável + solúvel apresentaram correlação significativa e positiva, evidenciando que ambos podem ser utilizados para quantificação da disponibilidade de Ni;

As maiores atividades das enzimas urease e NR ocorrem com a maior dose de N e doses menores que 1 mg dm^{-3} de Ni;

A relação N/Ni variou de 13,77 a $245,25 \text{ mg vaso}^{-1}$ em função das doses e tratamentos aplicados;

A massa seca da parte aérea diminuiu de 15,71 a 10,65 g vaso⁻¹ com a aplicação de Ni, refletindo efeito fitotóxico na cultura.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Comparando os solos, o que não foi intuito principal deste trabalho, podemos observar resultados que até certo ponto eram esperados, devido a diferença considerável dos valores de capacidade de troca catiônica (CTC), teor de matéria orgânica e de argila existente entre os solos, fatores estes que interferem diretamente na adsorção de íons (Tabela 1).

A definição de doses de Ni para as culturas ainda estão em fase de estudos. Um trabalho demonstrando o efeito de doses em solos contrastante, como no trabalho em questão, nos leva a pensar se poderá haver padronização para todos os tipos de solo. Neste trabalho, podemos observar que em solos mais arenosos o Ni ficou mais disponível, conseqüentemente poderá ser mais absorvido pelas plantas e ter caráter tóxico para essas plantas.

No entanto, não podemos deixar de destacar que as doses avaliadas, mesmo a mais baixa, já apresentou caráter tóxico às plantas, não visual, mas no metabolismo. Portanto, outros estudos nesta linha, e com doses menores, são necessários para comprovar ou discordar dos resultados obtidos.

REFERÊNCIAS

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

AHNSTROM, Z.S., PARKER, D.R. 1999. **Development and assessment of a sequential extraction procedure for the fractionation of soil cadmium**. Soil Science Society of America Journal 63, Madison, 1650–1658p.

ALMEIDA, F. F. D. **Atividade das enzimas nitrogenase e nitrato redutase em plantas de feijoeiro oriundas de sementes com diferentes teores de molibdênio**. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2010.

ALMEIDA, L.D.; BULISANI, E.A. Técnicas para aumentar a rentabilidade do feijoeiro. **Correio Agrícola**, São Paulo, v.1, p.236-243, 1980.

ALOVISI, T.; ALESSANDRA M.; MAGRI, J.; DUTRA, J. E.; MAGRA. E.; DOS SANTOS, M. J. G.; ALOVISI, A. A. Adubação foliar com sulfato de níquel na cultura da soja Ensaio e Ciência: **Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, Campo Grande vol. 15, n. 2, 2011, p. 25-32, 2011.

ALVARES V. V.H.; NOVAES, R. F.; BARROS, N. F.; CANTARUTTI, R. B.; LOPES, A.S. Interpretação dos resultados das análises de solos. In: RIBEIRO, A.C.; GUIMARAES, P.T.G.; ALVAREZ V., V.H. (Ed.). **Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5. Aproximação**. Viçosa: Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais. p. 25-32, 1999.

ALVES, E.M. **Redução do nitrato, assimilação do amônio e transporte do nitrogênio em plantas jovens de seringueira**. 2001. 57p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2001.

ANDRADE, C.A. de B; PATRONI, S.M.S.; CLEMENTE, E.; SCAPIN, C.A. Produtividade e qualidade nutricional de cultivares de feijoeiro em diferentes adubações, **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.28, p.1077-1086, 2004.

ANDREOTTI, M.; NETO, I. A. N. L. W.; GUIMARAES, V. F.; JUNIOR, E. F. Fontes de nitrogênio e modos de adubação em cobertura sobre a produtividade de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) na "safra das águas". **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, Brasil, vol. 27, núm. 4, p. 595-602, 2005.

ARKOUN, M.; JANNIN, L.; LAÎNÉ, P.; ETIENNE, P.; MASCLAUX-DAUBRESSE, C.; CITERNE, S.; GARNICA, M.; GARCIA-MINA, J.M.; YVIN, J.C. & OURRY, A. A physiological and molecular study of the effects of nickel deficiency and phenylphosphorodiamidate (PPD) application on urea metabolism in oilseed rape (*Brassica napus* L.). **Plant and Soil**, Washington, v. 362, p. 79-92, 2013.

BAI, C.; REILLY, C.C. & WOOD, B.W. Nickel deficiency disrupts metabolism of ureides, amino acids, and organic acids of young pecan foliage. **Plant Physiology**, Lancaster, v.140(2), p.433-443, 2006.

BEEVERS, L.; SHRADER, L.E.; FLISCHER, D.; HAGEMAN, R.H. The role of light and nitrate in the induction of nitrate reductase in radish cotyledons and maize seedlings. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 40, p. 691-698, 1969.

BERTHELSEN, B.O. AND E. STEINNES. Accumulation patterns of heavy metals in soil profiles as affected by forest clear-cutting. **Geoderma**, Amsterdam, v. 66, p. 1-14, 1995.

BETTINELLI, M. BEONE, G. M.; SPEZIA, S.; BAFFI, C. Determinations of heavy metals in soils and sediments by microwave-assisted digestion and inductively coupled plasma optical emission spectrometry analysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 424, p. 289-296, 2000.

BINOTTI, F. F. S.; ARF, O.; CARDOSO, E. D.; SÁ, M. E.; BUZETTI, S.; NASCIMENTO, V. Fontes e doses de nitrogênio em cobertura no feijoeiro de inverno irrigado no sistema plantio direto. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 26, n. 5, p. 770 -778, Sept./Oct. 2010.

BINOTTI, F.F. S.; ARF, O.; SÁ, M.E.; BUZETTI, S., ALVAREZ, A. C. C.; KAMIMURA, K. M. Fontes, doses e modo de aplicação de nitrogênio em feijoeiro no sistema plantio direto. *Bragantia*, Campinas, v. 68, p. 473-481, 2009.

BORÉM, A.; CARNEIRO, J.E.S. **A cultura do Feijão**. Viçosa: editora UFV, 2008. P.13-16.

BOUSSAMA, N., O. QUARITI, M.H. GHORBAL. Changes in growth and nitrogen assimilation in barley seedlings under cadmium stress. **Journal of Plant Nutrition**, London, v. 2, p. 731-752, 1999.

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

CAMPANHARO, M. **Resposta do feijoeiro à aplicação de níquel**. Fevereiro 2010. 138p. Tese (Doutorado em Produção vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, 2010.

CANELLAS, L. P.; SANTOS, G. A; AMARAL SOBRINHO, N. M. B. Reações da matéria orgânica. In: SANTOS, G. A; CAMARGO, F. A. O., eds. **Fundamentos da matéria orgânica do solo: Ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre, Genesis, p. 69-90, 1999.

CARDOSO, S. M. **Fontes e doses de nitrogênio na nutrição, produção e qualidade do feijoeiro**. 20p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP, Botucatu, 2011.

CARIDAD-CANCELA, R.; PAZ-GONZÁLEZ, A.; ABREU, C. A. Total and extractable nickel and cadmium contents in natural soils. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 36, p. 241-252, 2005.

CARNEIRO, J.E.S. **Alternativas para obtenção e escolha de populações segregantes no feijoeiro**. 2002. 134 p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2002.

CHANG, A.C.; WARNEKE, J. W.; PAGE, A. L. Accumulation of heavy metals in sewage sludge-treated soils. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 13, p. 87-91, 1984.

COELHO, R.G. Considerações sobre as proteínas do feijão. **Revista de Nutrição da PUCCAMP**, Campinas, v.4, n.1/2, p.122-145, 1991.

CONAB – Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos 2015/2016 – **Sexto Levantamento** – Março 2016. Disponível em <http://www.conab.gov.br>. Data de acesso em: 01/04/2016, 2016.

COSTA, C. N. **Biodisponibilidade de metais pesados em solos do rio Grande do Sul**. Agosto 2015. 110p. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2015.

COSTA, J. C. G.; ZIMMERMANN, M. J. O. Melhoramento genético. In: ZIMMERMANN, M. J. O.; ROCHA, M.; YAMADA, T. (Ed.). **A cultura do feijoeiro: fatores que afetam a produtividade**. Piracicaba: Potafós. p. 229-245, 1988.

DAVIES, B.E. Inter-relationships between soil properties and the uptake of cadmium, copper, lead and zinc from contaminated soil by radish (*Raphanus sativus* L.), **Water, Air, and Soil Pollution**, Dordrecht, v.63, p. 331-342, 1992.

DECHEN, A.R.; NACHTIGALL, G.R. Micronutrientes: micronutrientes catiônicos: níquel. **Nutrição Mineral de Plantas**. Viçosa: Editora SBCS, 2006. 339-340p.

DIXON, N.E.; GAZZOLA, C.; BLAKELEY, R.L. & ZERNER, B. Jack bean urease (EC 3.5.1.5) a metalloenzyme: simple biological role for nickel. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, v. 97(14), p. 4131-4133, 1975.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2.ed. Brasília, EMBRAPA Informações Tecnológicas, 2009. 77 p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3.ed. Brasília, 2013, 353 p.

ERNST, W.H.O. Bioavailability of heavy metals and decontamination of soils by plants. **Applied Geochemistry**, Penglais, v.11, p.163-167, 1996.

ESKEW, D. L.; WELCH, R. M.; CARY, E. E. Nickel: an essential micronutrient for legumes and possibly all higher-plants. **Science Journal**, Washington, v. 222, n.4624, p. 621-623, 1983.

ESKEW, D. L.; WELCH, R. M.; NORVELL, W.A. Nickel in higher plants: further evidence for an essential role. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 76, n. 3, p. 691-693, 1984.

EVANS, H.J.; HARKER, A.R.; PAPEN, H.; RUSSELL, S.A.; HANUS, F.J. & ZUBER, M. Physiology, biochemistry and genetics of the uptake hydrogenase in rhizobia. **Annual Review of Microbiology**, v. 41, p.335-361, 1987.

FACHINI, C.; BARROS, V.L.N.P.; RAMOS JUNIOR, E.U.; ITO, M.A.; CASTRO, J.L. Importância do feijão no agronegócio brasileiro. **In: Resumos do 22º Dia de Campo de Feijão**. Capão Bonito, p.1-7, 2006.

FAN, X.; GORDO, W. R.; SHEN, Q.; MILLER, A.J. Glutamine transport and feedback regulation of nitrate reductase activity in barley roots leads to changes in cytosolic nitrate pools. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 57, p. 1333–1340, 2006.

FAQUIN, V. **Nutrição Mineral de Plantas: Exigências Nutricionais e Funções dos Nutrientes**. Lavras: UFLA/FAEPE, p.84, 2005.

FERNANDES, M. S.; SOUZA, S. R. **Nutrição Mineral de Plantas**. Edição: 2006. Viçosa: Manlio Silvestre Fernandes, Viçosa, p. 201-252, 2006.

FERREIRA, D.F. Sisvar: A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, nov./dez. 2011.

FRANCO, G. C. **Tratamento de sementes de soja com níquel para aumento da fixação biológica e atividade da urease**. 22p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Piracicaba, 2015.

GAD, N; EL-SHERIF, M.H.; EL GERREEDLY, N.H.M. Influence of nickel on some physiological aspects of tomato plants. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, Amman, v.1, n.3, p.286-293, 2007.

GEIL, P.B., ANDERSON, J.W. Nutrition and health implications of dry beans: a review. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.13, n.6, p.549-558, 1994.

GEPTS, P. L. & DEBOUCK, D. Origin, **Domestication and Evolution of the Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.)**. In: SCHOONHOVEN, A. V. & VOYSEST, O. (eds.) **Common Beans: Research for Crop Improvement**, C. A.B. Internatinal/CIAT, Cali, 1991. p. 7-53.

GERENDÁS, J. & SATTELMACHER, B. Influence of Ni supply on grown and nitrogen metabolism of *Brassica napus* L. grown with NH_4NO_3 or urea as N source. **Annals of Botany**, Oxford, v.83, p. 65-71, 1999.

GERENDÁS, J. & SATTELMACHER, B. Significance of N source (urea vs. NH_4NO_3) and Ni supply for growth, urease activity and nitrogen metabolism of zucchini (*Cucurbita pepo* convar. *giromontiina*). **Plant and Soil**, Washington, v. 196, p. 217-222, 1997.

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**, Oxford, v. 49, p. 1545-1554, 1998.

GOMES, P.C. **Fracionamento e biodisponibilidade de metais pesados por calagem e concentrações de metais em Latossolo Vermelho-amarelo**. Viçosa : UFV, 1996. 161f. Tese (Doutorado em Solos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1996.

GRAHAM, R. D.; WELCH, R. M.; WALKER, C.D. **A role for nickel in the resistance in plants to rust**. In: AUSTRALIAN AGRONOMY CONFERENCE, 3, 1985, Hobart. Annals... Hobart: Australian Society of Agronomy, 1985. 337p.

HARRISON, R.M.; LAXEN, D.P.H.; WILSON, S.J. Chemical associations of lead, cadmium, copper and zinc in street dust and roadside soils. **Environmental Science and Technology**, Oxford, v. 15, p. 1378-1383, 1981.

HEWITT, E.J. & SMITH, T.A. Plant mineral nutrition. **The English Universities Press**, London, 1975. 298p.

HOGAN, M.E.; SWIFT, I.E. & DONE, J. Urease assay and ammonia release from leaf tissues. **Phytochemistry**, London, v.22(3), p. 663-667, 1983.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M.A.T. & ARAUJO, R.S. Fixação biológica de nitrogênio em feijoeiro. In: VARGAS, M.A.T. & HUNGRIA, M., eds. **Biologia dos solos dos cerrados**. Planaltina, Embrapa-CPAC, p. 189-294, 1997.

HUPPE, H.C.; TURPIN, D.H. Integration of carbon and nitrogen metabolism in plant and algal cells. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 45, p. 577-607, 1994.

IMA - INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA: **Safra mineira de feijão de alcaçar 598,9 mil toneladas**. Disponível em: <<http://www.ima.mg.gov.br/destaques>>. 4 out. 2014.

IMSANDE, J., TOURAINÉ, B. N Demand and regulation of nitrate uptake. **Plant Physiology**, Lancaster, v.105, p.3-7, 1994.

JESUS, S. V.; MARENCO, R. A. O SPAD-502 como alternativa para a determinação dos teores de clorofila em espécies frutíferas. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 38, n. 4, p. 815-818, 2008.

KABALA, C.; SINGH, B.R. Fractionation and mobility of copper, lead, and zinc in soil profiles in the vicinity of a copper smelter. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 30, p. 485-492, 2001.

KAISER, W. M.; HUBER, S. C. Modulations of nitrate reductase in vivo in vitro: effects of phosphoprotein phosphatase inhibitors, free Mg^{2+} na 5-AMP. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 91, p. 970-974, 1994.

KEVRESAN, S., N. PETROVIC, M. POPOVIC, AND J. KANDRAC. Effect of heavy metals on nitrate and protein metabolism in sugar beet. **Biologia Plantarum**, Prague, v. 41, p. 235-240, 1998.

KHOSHGOFTARMANESHA, A.H.; HOSSEINIB, F. & AFYUNIA, M. Nickel supplementation effect on the growth, urease activity and urea and nitrate concentrations in lettuce supplied with different nitrogen sources. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 130, p. 381-385, 2011.

KIM, H. & MAIER, R.J. Transcriptional regulation of hydrogenase synthesis by nickel in *Bradyrhizobium japonicum*. **The Journal of Biological Chemistry**, Rockville, v. 265(31), p. 16729-16732, 1990.

KROGMEIER, M. J.; Mc CARTY, G. W.; BREMNER, J. M. Phytotoxicity of foliar applied urea. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Rockville, v. 21, p. 8189-8191. 1989.

KRUPA, Z.; SIEDLECKA, A.; MAKSYMIEC, W.; BASZYNSKI, Y.T. In vivo response of photosynthetic apparatus of *Phaseolus vulgaris* L. to nickel toxicity. **Journal of Plant Physiology**, Wageningen, v.142, n.6, p.664-668, 1993.

KUSANO, T.; YAMAGUCHI, K.; BERBERICH, T.; TAKAHASHI, Y. Advances in polyamine research. **Journal of Plant Research**, St. Louis, v. 120, p. 345-350, 2007.

LEA, P. J.; BLACKWELL, R. D.; JOY, K. W. In nitrogen metabolism in plants (K. Mengel & D.H Pilbeam, eds). p. 153-186. Clarendon Press, Oxford, 1992.

LEJAY, L.; GANSEL, X.; CEREZO, M.; TILLARD, P.; MULLER, C.; KRAPP, A.; VON WIRE, N.N.; DANIEL-VEDELE, F.; GOJON, A. Regulation of root ion transporters by photosynthesis: functional importance and relation with hexokinase. **The Plant Cell**, Rockville, v. 15, p. 2218-2232, 2003.

LEMOS, G.B. de; DELÚ-FILHO, N.; OLIVEIRA, L.E.M. de; PURCINO, A.A.C. Atividade das enzimas de assimilação do nitrogênio em plantas jovens de seringueira cultivadas com diferentes relações de nitrato e amônio. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Rio Claro, v.11, p.113-118, 1999.

LOVATT, C.J., Y. ZHENG, AND K.D. HAKE. Demonstration of a change in nitrogen metabolism influencing flower initiation in Citrus. **Israel Journal of Botany**, Rehovot, v. 37, p. 181-188, 1988.

MA, L.Q.; RAO, G.N. Chemical fractionation of cadmium, copper, nickel and zinc in contaminated soils. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 26, p. 259-264, 1997.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo, Agronômica Ceres. p.631, 2006.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2ed. Piracicaba> POTAFOS. P. 319, 1997.

MANTOVANI, J.R.; CRUZ, M.C.P.; FERREIRA, M.E.; ALVES, W.L. Extratores para avaliação da disponibilidade de metais pesados em solos adubados com vermicomposto de lixo urbano. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.4, p.371-378, 2004.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 3.ed London: Elsevier, 2012. p. 643.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. Academic Press., San Diego, p. 889, 1995.

MATOS, A.T., FONTES, M.P.F., JORDÃO, C.P., COSTA, L.M. Mobilidade e formas de retenção de metais pesados em latossolo vermelho-amarelo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.20, p.379-86, 1996.

Mc GRATH, S.P.; CUNLIFFE, C. H.A simplified method for the extraction of metals Fe, Zn, Cu, Ni, Cd, Pb, Cr, Co and Mn from soils and sewage asudges. **Jornal of Science of Food and Agriculture**, Barking, v. 36, p. 794-798, 1985.

McBRIDE, M.B. **Environmental chemistry of soils**. Oxford University, New York, p. 406, 1994.

McCLURE, P.R.; ISRAEL, D.W. Transport of nitrogen in the xylem of soybean. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 64, p. 411-416, 1979.

McCULLOUGH, H. Determination of ammonia in whole blood by a direct colorimetric method. *Clinica Chimica Acta*, Amsterdam, v. 17(2), p. 297-304, 1967.

McGRATH, S.P.; CUNLIFFE, C.H. A simplified method for the extraction of metals Fe, Zn, Cu, Ni, Cd, Pb, Cr, Co and Mn from soils and sewage sludges. *Journal of Science of Food and Agriculture*, Barking, v.36, p.794- 798, 1985.

MELO, W. J.; AGUIAR, P. S.; MELO, G. M. P.; MELO, V. P. Nickel in a tropical soils treated with sewage sludge and cropped with maize in a long term fiel study. **Soil Biology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 39, p. 1341-1347. 2007.

MENDONÇA, C.C.T.N. **Oxi-redução de minerais de Ferro pela ação microbiana, com a adição de sacarose em condições de laboratório, no latossolo vermelho escuro, coletados de diversos tipos de culturas.** 77p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Energia na Agricultura) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1999.

MERCANTE, F.M.; TEIXEIRA, M.G.; ABBOUD, A.C.S. & FRANCO, A.A. Avanços biotecnológicos na cultura do feijoeiro sob condições simbióticas. *Revista da Universidade Rural: Série Ciência Vida*, Seropédica, v. 21, p. 127-146, 1999.

MIFLIN, B.J.; LEA, P.J. The pathway of nitrogen assimilation in plants. **Phytochemistry**, London, v. 15, p. 873-885, 1976.

MINOLTA CAMERA Co. **Manual for chlorophyll meter Spad-502.** Osaka, 1989, 22 p.

MOBLEY, H. L. T., M. D. ISLAND, AND R. P. HAUSINGER. Molecular biology of microbial ureases. **Microbiology Reviews**, Washington, v. 59, p. 451-480, 1995.

MORAES, J.F.V. Calagem e adubação. In: ZIMMERMANN, M.J.O.; ROCHA, M.; YAMADA, T. (Eds.). **Cultura do feijoeiro: fatores que afetam a produtividade**, Associação Brasileira para Pesquisa de Potássio e do Fósforo, Piracicaba, p. 261-301, 1998.

MOREIRA, G. B. L. **Rendimento de grãos e absorção de nutrientes em feijoeiro em função de doses de nitrogênio em semeadura e cobertura**. 57-62 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, 2011.

MULCHI, C.L.; ADAMU, C.A.; CHANEY, R.L.; BELL, P.F. Residual heavy metal concentrations in sludge-amended coastal plain soils: I. Comparison of extractants. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v.22, n.9-10, p.919-941, 1991.

MULDER, E.G.; BOXMA, R. & VEEN, W.L.V. The effect of molybdenum and nitrogen deficiencies on nitrate reduction in plant tissues. **Plant and Soil**, Washington, v. 10, p. 335-355, 1959.

NEUMANN, P.M. & CHAMEL, A. Comparative phloem mobility of nickel in nonsenescent plants. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 81, p. 689-691, 1986.
NICOULAND, B.A.L. & BLOOM, A.J. Nickel supplements improve growth when foliar urea is the sole nitrogen source for tomato. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 123, p. 556-559, 1998.

NOVAIS, R.F.; MELLO, J.W.V. Relação solo-planta. In: Novais, R.F.; ALVAREZ V., V.H.; BARROS, N.F. DE; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L. (Ed.). Fertilidade do solo. Viçosa: **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, 2007, p.133-204.

O'CONNOR, G.A. et al. Sorption of cadmium by calcareous soils: influence of solution composition. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 48, p. 1244-1247, 1984.

OLIVA, S.R; RAITIO, H.; MINGORANCE, M.D. Comparison of two wet digestion procedures for multi-element analysis of plant sample. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 34 p. 2913-2923, 2003.

OLIVEIRA, T.C.; FONTES, R.L.F.; REZENDE, S.T. & VICTOR HUGO, A.V. Effects of nickel and nitrogen soil fertilization on lettuce growth and urease activity. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 37(3), p. 698-706, 2013.

PACCOLA, A.A. **Transformações e neogênese de minerais em um latossolo vermelho escuro por ação antrópica de cultivo e ação química**. Tese (Livre Docência em Agronomia/ Ciências Ambientais) - Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1997.

PAIS, I. & JONES JUNIOR, J.B. **The handbook of trace elements**. Boca Raton, St. Lucie Press, 1996. 223p.

PAIVA, H. N.; CARVALHO, J. G.; SIQUEIRA, J. O.; FERNANDES, A. R.; MIRANDA, J. R. P. Efeito da aplicação de doses crescentes de níquel sobre o teor e o conteúdo de nutrientes em mudas de ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa* (Mart.) Standley). **Scientia Forestalis**. Piracicaba, n. 63, p. 158-166, jun. 2003.

PALACIOS, G. et al. Effect of nickel concentration on tomato plant nutrition and dry matter yield. **Journal of Plant Nutrition**, London, v. 21, n. 10, p. 2179-2191, 1998.

PANDEY, N.; SHARMA, C. P. Effect of heavy metals Co^{2+} , Ni^{2+} and Cd^{2+} on growth and metabolism of cabbage. **Plant Science**, Limerick, v.163, n.4, p.753-758, 2002.

POLACCO, J. C.; HOLLAND, M. A. Roles of urease in plant cells. **International Review of Cytology a Survey of Cell Biology**, Alexandria, v. 145, p. 65-103, 1993.

Rabie, M. H.; Abdel Latif, E. A.; Asy, K. G.; Eleiwa, M. E. The effect of nickel on plants. III. The effect of foliar nickel on yield and elemental content of some crops. **Journal King Abdulaziz University Science**, Jeddah, v.4, p.15-21. 1992.

RAIJ, B. VAN & BATAGLIA, O.C. Análise química do solo. In: Ferreira, M.E. & Cruz, M.C.P. (eds.). **Micronutrientes na agricultura**. Piracicaba, Potafos. p. 333-355, 1991.

RAIJ, B. VAN. Avaliação da fertilidade do solo. Piracicaba: POTAFOS, 1981. TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, p. 848, 2009.

RAIJ, B. VAN. **Fertilidade do solo e manejo de nutrientes**. Piracicaba: International Plant Nutrition Institute, p. 420, 2011.

RAJAIE, M. KARIMIAM, N.; YASREBI, J. Nickel transformation in two calcareous soil textural classes as affected by applied nickel sulfate. **Geoderma**, Amsterdam, v. 144, p. 344-351, 2008.

RODAK, B. W. **Níquel em Solos e na Cultura de Soja**. 2014. p. 88. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2014.

ROSOLEM, C.A.; MARUBAYASHI, O.M. Seja o doutor do seu feijoeiro. **Informações Agrônomicas**, Piracicaba, n.68, p.1-16, 1994.

ROVERS, H.; CAMARGO, O. A.; VALADARES, J. M. A. S. Níquel total e solúvel em DTPA em solos do estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 7, n. 3, p. 217-220, 1983.

RUFTY, T.W., MACKOWN, C.T., VOLK, R.J. Effects of altered carbohydrate availability on whole-plant assimilation of $^{15}\text{NO}_3^-$. **Plant Physiology**, Lancaster, v.89, p.457-463, 1989.

SALVADOR, C. A. Feijão - Análise da Conjuntura Agropecuária. Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento do Estado do Paraná. Disponível em: <http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/feijao_2014_15.pdf> . Acesso: 21 Fev. 2015, Curitiba, 2014.

SASTRE, I.; VICENTE, M.A.; LOBO, M.C. Behavior of cadmium and nickel in a soil amended with sewage sludge. **Land degradation and development**, SCHNITZER, M. Reactions between fulvic acid, a soil humic compound and inorganic soil constituents. **Soil Science Society of America**; Madison v. 33(1), p. 75-81, 1969.

SELLSTEDT, A. & SMITH, G.D. Nickel is essential for active hydrogenase in free-living Frankia isolated from Casuarina. **Federation of European Microbiological Societies Microbiology Letters**, Delft, v. 70, p. 137-140, 1990.

SEWNO, Z. N.; TAZISONG, L. A. Metal contents in soils of Alabama. **Communications in Soil Science and Plant Physiology**, London, v.53, n.2, p. 257-277, 2006.

SIEBIELEC, G.; CHANEY, R. I. Manganese deficiency when liming to remedied Ni- phytotoxic soils. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, London, v. 37, p. 1-17, 2006.

SILVA, M. L. S. **Avaliação do Comportamento de Elementos Traço Essenciais e Não Essenciais em Solo Contaminado sob Cultivo de Plantas**. 2006. 112 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Solos e Nutrição de Plantas). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2006.

SILVA, S. M. **Atividade da enzima redutase do nitrato em milho cultivado sob diferentes níveis de nitrogênio e potássio**. 2009. 12p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Produção Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

SMITH, N. G. WOODBURN, J. Nickel and ethylene involvement in the senescence of leaves and flowers. **Naturwissenschaften**, v. 71, n. 4. p. 210-211, 1984.

SMITH, S. R. A critical review of the bioavailability and impacts of heavy metals in municipal solid waste composts compared to sewage sludge. **Environment International**, Amsterdam, v.35, p.142- 156, 2009.

SORATTO, R.P.; SILVA, T.R.B.; ARF, O. & CARVALHO, M.A.C. Níveis e épocas de aplicação de nitrogênio em cobertura no feijoeiro irrigado em plantio direto. **Cult. Agron.**, v. 10, p. 89-99, 2001.

SOUZA, S.R.; FERNANDES, M.S. Nitrogênio: O Nitrogênio na Natureza. **Nutrição Mineral de Plantas**. Viçosa: Editora SBCS, p. 215-252, 2006.

SPOSITO, G.; LUND, L.J.; CHANG, A.C. Trace metal chemistry in arid zone field soils amended with sewage sludge: fractionation of Ni, Cu, Zn, Cd and Pb in solid phases. **Soil Science Society America Journal**, Madison, v. 46, p. 260-264, 1982.

STRALIOTTO, R.; TEIXEIRA, M.G. & MERCANTE, F.M. Fixação biológica de nitrogênio. In: AIDAR, H.; KLUTHCOUSKI, J. & STONE, L.F. Produção de feijoeiro comum em várzeas tropicais. **Embrapa Arroz e Feijão**, Santo Antônio de Goiás, 2002.

STULTS, L.W.; O'HARA, E.B. & MAIER, R.J. Nickel is a component of hydrogenase in *Rhizobium japonicum*. **Journal Bacteriology**, Washington, v. 159(1), p. 153-158, 1984.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, p.449-484, 2004.

TAN, X.W.; IKEDA, H. & ODA, M. 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**, Amsterdam, v. 84, p. 265-273, 2000.

TODD C. D.; POLACCO J. C. Soybean cultivars ‘Williams 82’ and ‘Maple Arrow’ produce both urea and ammonia during ureide degradation. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 55, p. 867 – 877, 2004.

TODD, C. D.; TIPTON, P. A.; BLEVINS, D. G.; PIEDRAS, P.; PINEDA, M.; POLACCO, J. C. Update on ureide degradation in legumes. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 57, p. 5-12, 2006.

UREN, N. C. Forms reaction and availability of nickel in soils. **Advances in Agronomy**, Newark, v. 48, p.141-203, 1992.

VANSELOW, A. P. Nickel. In: CHAPMAN, H. D. (Ed). **Diagnostic criteria for plants and soils**. University of California, Riverside, p. 302-309, 1966.

VIOLANTE, A.; COZZOLINO, V.; PERELOMOV, L.; CAPORALE, A. G.; PIGNA, M. Mobility and bioavailability of heavy metals and metalloids in soil environments. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, Santiago, v.10, p.268-292 2010.

WHITE, P. J. **Long distance transport in the xylem and phloem**. In: MARSCHNER, P. (Ed.). Mineral nutrition of higher plants. San Diego, 3 ed. United States of American: Elsevier. p. 49-70,2012.

WILLIAMS, L.E & MILLER, A.J. Transporters responsible for the uptake and partitioning of nitrogenous solutes. **Annual Review Plant Physiology Biology**. Davis, v. 52, p. 659-688, 2001.

WITTE, C. P. Urea metabolismo in plantas. **Plant Science**, Cambridge, v. 180, p. 431-438, 2011.

XUE, W.T.; HIDEO, I. & MASYUKI, O. Effects of Ni concentration in the nutrient solution on the N assimilation and growth of tomato seedlings in hydroponic culture supplied with urea or nitrate as the sole N source. **Scientia Horticulturae**, Amsterdan, v. 84, p. 265-273, 2000.

YUSUF, M. FARIDUDDIN, Q.; HAYAT, S.; AHMAD, A. Nickel: An overview of uptake, essentiality and toxicil in plants. **Bulletin of Enviromental Contamination and Toxicology**, New York, v. 86, p. 1-17, 2011.

ZHENG, Q. L.; NAKATSUKA, A.; MATSUMOTO, T.; ITAMURA, H. Pre harvest nickel application to the calyx of "Saijo" persimmom fruit prolongs postharvest shelf life. **Postharvest Biology and technology**, Amsterdan, v. 42, p. 98-103, 2006.

APÊNDICES

APÊNDICE

APÊNDICE A -	Resumo da análise de variância para teor de Ni na fração 1 antes do cultivo (F1A), na fração 1 depois do cultivo (F1D), na fração 2 antes do cultivo (F2A) e na fração 2 depois do cultivo de feijoeiro (F2D), em RQo.....	108
APÊNDICE B -	Resumo da análise de variância para teor de Ni na fração 3 antes do cultivo (F3A), na fração 3 depois do cultivo (F3D), na fração 4 antes do cultivo (F4A) e na fração 24depois do cultivo de feijoeiro (F4D), em RQo.....	108
APÊNDICE C -	Resumo da análise de variância para teor de Ni na fração 1 antes do cultivo (F1A), na fração 1 depois do cultivo (F1D), na fração 2 antes do cultivo (F2A) e na fração 2 depois do cultivo de feijoeiro (F2D), em LVdf.....	109
APÊNDICE D -	Resumo da análise de variância para teor de Ni na fração 3 antes do cultivo (F3A), na fração 3 depois do cultivo (F3D), na fração 4 antes do cultivo (F4A) e na fração 24depois do cultivo de feijoeiro (F4D), em LVdf.....	109
APÊNDICE E -	Resumo da análise de variância para teor de Ni em no solo antes do cultivo de feijoeiro (NiAC) e para o teor de Ni no solo depois do cultivo de feijoeiro (NiAD), após a adição de doses de N e Ni em RQo.....	110
APÊNDICE F -	Resumo da análise de variância para teor de Ni no solo antes do cultivo de feijoeiro (NiAC) e para o teor de Ni no solo depois do cultivo de feijoeiro (NiAD), após a adição de doses de N e Ni em LVdf.....	110
APÊNDICE G -	Resumo da análise de variância para atividade da enzima urease, atividade da enzima NR, massa seca da parte aérea (MSPA) e para teor de N na parte aérea (TNPA) após a adição de doses de N e Ni em RQo.....	111

APÊNDICE H -	Resumo da análise de variância para atividade da enzima urease, atividade da enzima NR, massa seca da parte aérea (MSPA) e para teor de N na parte aérea (TNPA) após a adição de doses de N e Ni em LVdf.....	111
APÊNDICE I -	Resumo da análise de variância para teor de Ni na parte aérea (TNiPA) e para acúmulo de N na parte aérea (ANPA), após a adição de doses de N e Ni em RQo.....	112
APÊNDICE J -	Resumo da análise de variância para teor de Ni na parte aérea (TNiPA) e para acúmulo de N na parte aérea (ANPA), após a adição de doses de N e Ni em LVdf.....	112
APÊNDICE K -	Resumo da análise de variância para acúmulo de Ni no RQo (ANiR), acúmulo de Ni no LVdf (ANiL), relação N/Ni no RQo e relação N/Ni no LVdf, após a adição de doses de N e Ni em RQo.....	113

APÊNDICE A - Resumo da análise de variância para teor de Ni na fração 1 antes do cultivo (F1A), na fração 1 depois do cultivo (F1D), na fração 2 antes do cultivo (F2A) e na fração 2 depois do cultivo de feijoeiro (F2D), em RQo.

	GL	Quadrado Médio			
		F1A (mg dm ⁻³)	F1D (mg dm ⁻³)	F2A (mg dm ⁻³)	F2D (mg dm ⁻³)
Tratamentos	9	4,61**	2,71**	0,096**	0,051**
Resíduo	20	0,094	0,034	0,001	0,0006
CV (%)		25,83	20,72	16,31	14,64
Média		1,19	0,9	0,23	0,17

** significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

APÊNDICE B - Resumo da análise de variância para teor de Ni na fração 3 antes do cultivo (F3A), na fração 3 depois do cultivo (F3D), na fração 4 antes do cultivo (F4A) e na fração 24depois do cultivo de feijoeiro (F4D), em RQo.

	GL	Quadrado Médio			
		F1A (mg dm ⁻³)	F1D (mg dm ⁻³)	F2A (mg dm ⁻³)	F2D (mg dm ⁻³)
Tratamentos	9	4,61**	2,71**	0,096**	0,051**
Resíduo	20	0,094	0,034	0,001	0,0006
CV (%)		25,83	20,72	16,31	14,64
Média		1,19	0,9	0,23	0,17

** significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

APÊNDICE C - Resumo da análise de variância para teor de Ni na fração 1 antes do cultivo (F1A), na fração 1 depois do cultivo (F1D), na fração 2 antes do cultivo (F2A) e na fração 2 depois do cultivo de feijoeiro (F2D), em LVdf.

	GL	Quadrado Médio			
		F1A (mg dm ⁻³)	F1D (mg dm ⁻³)	F2A (mg dm ⁻³)	F2D (mg dm ⁻³)
Tratamentos	9	0,17**	0,23**	3,08**	0,96**
Resíduo	20	0,001	0,002	0,03	0,02
CV (%)		14,69	18,62	18,39	29,12
Média		0,27	0,27	0,92	0,55

** significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F, e não significativo, respectivamente.

APÊNDICE D - Resumo da análise de variância para teor de Ni na fração 3 antes do cultivo (F3A), na fração 3 depois do cultivo (F3D), na fração 4 antes do cultivo (F4A) e na fração 24depois do cultivo de feijoeiro (F4D), em LVdf.

	GL	Quadrado Médio			
		F3A (mg dm ⁻³)	F3D (mg dm ⁻³)	F4A (mg dm ⁻³)	F4D (mg dm ⁻³)
Tratamentos	9	4,31**	2,83*	0,82**	2,30**
Resíduo	20	0,024	0,020	0,019	0,394
CV (%)		11,20	12,66	28,44	25,66
Média		1,39	1,12	0,49	0,77

** significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

APÊNDICE E - Resumo da análise de variância para teor de Ni, extraído por Mehlich-1, em no solo antes do cultivo de feijoeiro (NiAC) e para o teor de Ni no solo depois do cultivo de feijoeiro (NiAD), após a adição de doses de N e Ni em RQo.

	GL	Quadrado Médio	
		NiAC (mg dm ⁻³)	NiDC (mg dm ⁻³)
Dose - N	1	0,098 ^{ns}	0,086 ^{ns}
Dose - Ni	4	21,244**	15,181**
N x Ni	4	0,009 ^{ns}	0,004 ^{ns}
Resíduo	20	0,015	0,143
CV (%)		6,86	24,69
Média		1,79	1,53

** , * e ^{ns} significativo ao nível de 1% e 5% de probabilidade pelo teste F, e não significativo, respectivamente.

APÊNDICE F - Resumo da análise de variância para teor de Ni no solo antes do cultivo de feijoeiro (NiAC) e para o teor de Ni no solo depois do cultivo de feijoeiro (NiAD), após a adição de doses de N e Ni em LVdf.

	GL	Quadrado Médio	
		NiAC (mg dm ⁻³)	NiDC (mg dm ⁻³)
Dose - N	1	0,0004 ^{ns}	0,040 ^{ns}
Dose - Ni	4	2,9400**	3,956**
N x Ni	4	0,0027 ^{ns}	0,002 ^{ns}
Resíduo	20	0,0003	0,017
CV (%)		0,0004 ^{ns}	0,040 ^{ns}
Média		2,9400**	3,956**

** , * e ^{ns} significativo ao nível de 1% e 5% de probabilidade pelo teste F, e não significativo, respectivamente.

APÊNDICE G - Resumo da análise de variância para atividade da enzima urease, atividade da enzima NR, massa seca da parte aérea (MSPA) e para teor de N na parte aérea (TNPA) após a adição de doses de N e Ni em RQo.

	GL	Quadrado Médio			
		Urease ($\mu\text{mol N-NH}_4^+$ g $\text{MF}^{-1} \text{h}^{-1}$)	NR ($\mu\text{mol N-NO}_2$ g $\text{MF}^{-1} \text{h}^{-1}$)	MSPA (g vaso ⁻¹)	TNPA (mg kg ⁻¹)
Dose – N	1	4463,98**	0,0607**	79,28**	84,2**
Dose - Ni	4	2047,99**	0,0123**	2,04*	5,8*
N x Ni	4	125,16**	0,0008 ^{ns}	0,05 ^{ns}	0,3 ^{ns}
Resíduo	20	12,76	0,0008	0,67	1,6
CV (%)		9,14	0,25	7,52	4,4
Média		39,06	11,17	10,87	28,9

** , * e ^{ns} significativo ao nível de 1% e 5% de probabilidade pelo teste F, e não significativo, respectivamente.

APÊNDICE H - Resumo da análise de variância para atividade da enzima urease, atividade da enzima NR, massa seca da parte aérea (MSPA) e para teor de N na parte aérea (TNPA) após a adição de doses de N e Ni em LVdf.

	GL	Quadrado Médio			
		Urease ($\mu\text{mol N-NH}_4^+$ g $\text{MF}^{-1} \text{h}^{-1}$)	NR ($\mu\text{mol N-NO}_2$ g MF $^{-1} \text{h}^{-1}$)	MSPA (g vaso ⁻¹)	TNPA (mg kg ⁻¹)
Dose – N	1	12644,42**	0,1293**	192,2**	102,6**
Dose - Ni	4	3244,72**	0,0152*	13,2**	28,2**
N x Ni	4	659,84**	0,0043 ^{ns}	0,5 ^{ns}	1,21 ^{ns}
Resíduo	20	33,25	0,0009	1,2	2,5
CV (%)		8,53	14,5	8,2	4,9
Média		67,58	0,5	13,2	32,5

** , * e ^{ns} significativo ao nível de 1% e 5% de probabilidade pelo teste F, e não significativo, respectivamente.

APÊNDICE I - Resumo da análise de variância para teor de Ni na parte aérea (TNiPA) e para acúmulo de N na parte aérea (ANPA), após a adição de doses de N e Ni em RQo.

	GL	Quadrado Médio	
		TNiPA (mg dm ⁻³)	ANPA (mg dm ⁻³)
Dose -N	1	0,05 ^{ns}	107601*
Dose - Ni	4	24,45**	715,37 ^{ns}
N x Ni	4	0,12 ^{ns}	66,98 ^{ns}
Resíduo	20	0,19	796,84
CV (%)		22,44	12,83
Média		1,95	220,00

**, * e ^{ns} significativo ao nível de 1% e 5% de probabilidade pelo teste F, e não significativo, respectivamente.

APÊNDICE J - Resumo da análise de variância para teor de Ni na parte aérea (TNiPA) e para acúmulo de N na parte aérea (ANPA), após a adição de doses de N e Ni em LVdf.

	GL	Quadrado Médio	
		TNiPA (mg dm ⁻³)	ANPA (mg dm ⁻³)
Dose - N	1	0,133 ^{ns}	340282*
Dose - Ni	4	5,729**	2972,54 ^{ns}
N x Ni	4	0,004 ^{ns}	188,52 ^{ns}
Resíduo	20	0,004	1731,43
CV (%)		7,52	9,66
Média		0,94	430,60

**, * e ^{ns} significativo ao nível de 1% e 5% de probabilidade pelo teste F, e não significativo, respectivamente.

APÊNDICE K - Resumo da análise de variância para acúmulo de Ni no RQo (ANiR), acúmulo de Ni no LVdf (ANiL), relação N/Ni no RQo e relação N/Ni no LVdf, após a adição de doses de N e Ni em RQo.

	GL	Quadrado Médio			
		ANiR ($\mu\text{g vaso}^{-1}$)	ANiL ($\mu\text{g vaso}^{-1}$)	N/NiR	N/NiL
Dose - N	1	198,8**	309,2**	1251,3**	4731,85**
Dose - Ni	4	1021,0**	642,5**	16380,9**	74504,72**
N x Ni	4	53,3**	41,6**	408,1**	1674,1**
Resíduo	20	5,1	0,8	10,66	120,41
CV (%)		16,7	7,73	7,54	10,77
Média		13,9	11,45	43,33	101,9

** significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.