

**UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO
JEQUITINHONHA E MUCURI – UFVJM**

FRANCISCO VAGNER PEREIRA DE SOUZA

**CRESCIMENTO, TEORES, ACÚMULO E DISPONIBILIDADE DE
NÍQUEL EM GRAMÍNEAS FORRAGEIRAS**

**DIAMANTINA - MG
2014**

FRANCISCO VAGNER PEREIRA DE SOUZA

**CRESCIMENTO, TEORES, ACÚMULO E DISPONIBILIDADE DE NÍQUEL EM
GRAMÍNEAS FORRAGEIRAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Produção Vegetal da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri - UFVJM, como pré-requisito para a obtenção do grau de Mestre em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Enilson de Barros Silva

**Diamantina - MG
2014**

FRANCISCO VAGNER PEREIRA DE SOUZA

CRESCIMENTO, TEORES, ACÚMULO E DISPONIBILIDADE DE NÍQUEL EM
GRAMÍNEAS FORRAGEIRAS

Dissertação apresentada à Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, para a obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 26 de fevereiro de 2014

Prof. Dr. Paulo Henrique Graziotti – UFVJM
Membro

Prof. Dr. Luiz Arnaldo Fernandes – UFMG
Membro

Prof. Dr. Enilson de Barros Silva – UFVJM
Presidente

DIAMANTINA - MG
2014

Dedico

*Aos meus pais Geraldo Magela e Maria de
Lourdes, pelo zelo, amor e compreensão.*

AGRADECIMENTOS

A Deus por toda a força e coragem que a mim foi dado para suportar e executar todo este curso.

À Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM) pela oportunidade de realização do curso e pela contribuição com a minha formação acadêmica.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento do Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão de bolsa de estudo.

Ao professor Enilson de Barros Silva, pela orientação, respeito e bom convívio em todo esse curso de mestrado, os quais foram fonte de muito aprendizado.

Ao pessoal dos laboratórios de Fertilidade do Solo da UFVJM por todo o amparo na execução dos experimentos e também pela convivência.

Aos colegas do mestrado, Christiano, Amanda Miranda, Blenda, Diego Faustolo e Edimilson pelo companheirismo e apoio.

À Fabíola Meirelles que esteve comigo em grande parte desse tempo e me apoiou constantemente.

Às minhas irmãs, Viviane e Carla que me incentivaram a passar por isso.

A todos os meus amigos de Curvelo e Diamantina que tornaram alguns momentos mais fáceis nesse período.

A todos os familiares pelo incentivo e carinho.

RESUMO

SOUZA, Francisco Vagner Pereira de. **Crescimento, teores, acúmulo e disponibilidade de níquel em gramíneas forrageiras**, 2014. 49p. (Dissertação - Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2014.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento, teores, acúmulo e disponibilidade de níquel em cinco gramíneas forrageiras. Os experimentos foram instalados em condições de casa de vegetação do Departamento de Agronomia da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina-MG, Brasil. *Panicum maximum* cv. Aruana e cv. Tanzânia e *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk, *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés e cv. Marandu foram crescidas em solução nutritiva e em solo e adicionadas de 0, 20, 40, e 100 mg L⁻¹ e 0, 20, 40 e 120 mg kg⁻¹ de cloreto de níquel, constituindo ensaios independentes em delineamento experimental inteiramente casualizados com quatro repetições. O período experimental foi de 90 dias. Determinou-se a massa seca e os teores de Ni na parte aérea, coleto e raízes das gramíneas forrageiras. Os conteúdos de Ni foram calculados com base nos teores e nas produções de massa seca em cada parte da planta. O teor de níquel no solo foi determinado pelos extratores Mehlich-1, DTPA pH 7,3, teor semitotal - USEPA 3051 e teor total - USEPA 3052. O crescimento das gramíneas forrageiras reduziu linearmente em solução nutritiva com a adição de níquel, mas no solo aumentou até a dose de 40 mg kg⁻¹. Apesar da fitotoxicidade do Ni, as plantas responderam positivamente quando o metal foi aplicado em baixas doses no solo. A suscetibilidade ao Ni foi diferenciada para os experimentos, devido às variadas interações que ocorrem no sistema solo-planta. O teor de Ni nas gramíneas forrageiras aumentou em função das doses crescentes de Ni nos diferentes experimentos. Os métodos de extração analisados na aferição do Ni no solo apresentaram boa correlação com os teores de Ni encontrados nas plantas, sendo o DTPA mais eficiente. As gramíneas forrageiras avaliadas nestes experimentos não podem ser consideradas acumuladoras de Ni.

Palavras-chave: Contaminação ambiental. Fitorremediação. Metais pesados.

ABSTRACT

SOUZA, Francisco Vagner Pereira de. **Evaluation of growth, concentration, accumulation and availability of nickel in forage grasses**, 2014. 49 p. Dissertation (Master in Vegetable Production) – Federal University of the Jequitinhonha and Mucuri Valley, Diamantina, 2014.

The objective of this study was to evaluate the growth, concentrations, accumulation and availability of nickel in five forage grasses. The experiments were conducted under conditions of a greenhouse of the Department of Agronomy, Faculty of Agricultural Sciences, Federal University of the Jequitinhonha and Mucuri Valleys, Diamantina Minas Gerais, Brazil. *Panicum maximum* cv. Aruana e cv. Tanzânia e *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk, *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés e cv. Marandu were grown in nutrient solution and in soil and added 0, 20, 40, and 100 mg L⁻¹ and 0, 20, 40 and 120 mg kg⁻¹ of nickel chloride, constituting separate trials in a completely randomized experimental design with four replications. The experimental period was 90 days. Dry weight and the concentrations of Ni in shoots, stems base and roots of forage grasses were determined. The contents of Ni were calculated based on the amounts and in the production of dry matter in each plant. The nickel concentration in the soil was determined by Mehlich-1, DTPA pH 7.3, semitotal content - USEPA 3051 and total content - USEPA 3052. The growth in forage grasses in nutrient solution linearly decreased with the addition of nickel, but in the soil increased up to 40 mg kg⁻¹. The susceptibility to Ni was different for the experiments, due to the variety of interactions that occur in the soil-plant system. The Ni concentration in forage grasses increased as a function of increasing levels of Ni in the different experiments. The extraction methods analyzed in the measurement of Ni in soil correlated well with the Ni concentration found in plants, with the most efficient DTPA. The forage grasses evaluated in these experiments cannot be considered accumulative Ni.

Key words: Environment contamination. Phytoremediation. Heavy metal.

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO CIENTÍFICO I.		Pág.
Figura 1	Crescimento relativo da parte aérea, do coleto e das raízes de cinco gramíneas forrageiras em função de doses de Ni em solução nutritiva num período de 90 dias após o corte de uniformização. (** significativo ao nível de 1% pelo teste de t).....	11
Figura 2	Teor de Ni na massa seca da parte aérea, do coleto e das raízes de cinco gramíneas forrageiras em função de doses de Ni em solução nutritiva num período de 90 dias de exposição após o corte de uniformização. (** significativo a 1% pelo teste de t).....	13
Figura 3	Acúmulo de Ni na massa seca da parte aérea, do coleto e das raízes de cinco gramíneas forrageiras em função de doses de Ni em solução nutritiva num período de 90 dias de exposição após o corte de uniformização. (** significativo a 1% pelo teste de t).....	17
Figura 4	Índice de translocação de Ni na massa seca da parte aérea, no coleto e total de cinco gramíneas forrageiras em função de doses de Ni em solução nutritiva num período de 90 dias de exposição após o corte de uniformização. (** significativo a 1% pelo teste de t).....	19
ARTIGO CIENTÍFICO 2.		Pág.
Figura 1	Escore relativo da variável canônica (MSPA + MSC + MSR) da análise multivariada de cinco gramíneas forrageiras em função de doses de Ni aplicadas no solo e dose recomendada (DR) e crítica de toxidez (DCT) num período de 90 dias após o corte de uniformização. (** significativo a 1% pelo teste t).....	34
Figura 2	Distribuição percentual de acúmulo de Ni na massa seca na parte aérea, no coleto e nas raízes na dose de Ni (DNi _{Max}) de gramíneas no solo num período de 90 dias após o corte de uniformização.....	38
Figura 3	Relação entre o acumulado de Ni na massa seca da parte aérea (MSPA) das gramíneas forrageiras e os extratores químicos do solo (Mehlich-1, DTPA pH 7,3, USEPA 3051 e USEPA 3052) num período de 90 dias após o corte de uniformização. (**: significativo a 1% pelo teste t).....	42
Figura 4	Coeficiente de transferência (ct) [relação entre Ni na MST (parte aérea + coleto), mg kg ⁻¹ /total Ni no solo, mg kg ⁻¹) de gramíneas crescidas em solo contaminado com Ni. (** significativo a 1% pelo teste t).....	43

LISTA DE TABELAS

ARTIGO CIENTÍFICO I.

Pág.

Tabela 1	Dose crítica de toxidez (DCT) de Ni para reduzir 10 % da produção máxima de massa seca da parte aérea (MSPA), do coleto (MSC) e das raízes (MSR) e nível crítico de toxidez (NCT) correspondente a DCT de cinco gramíneas forrageiras crescidas 90 dias em solução nutritiva.....	15
----------	---	----

ARTIGO CIENTÍFICO II.

Tabela 1	Análise de química e de textura do solo antes da aplicação dos tratamentos.	30
Tabela 2	Equações de regressão ajustadas entre o teor de Ni nas diversas massas secas das gramíneas, como variável dependente (y) das doses de Ni aplicadas (x) no solo, e faixa de suficiência (FS) correspondente entre DR e DCT das gramíneas avaliadas por 90 dias em solo contaminado.....	35
Tabela 3	Equações de regressão ajustadas entre o acúmulo de Ni nas diversas massas secas de cinco gramíneas forrageiras, como variável dependente (y) das doses de Ni aplicadas (x) no solo, e a dose de Ni (DNi_{Max}) correspondente ao acúmulo de Ni máximo (ANi_{Max}) num período de 90 dias após o corte de uniformização.....	37
Tabela 4	Equações de regressão ajustadas entre os teores de Ni no solo extraído Mehlich 1, DTPA pH 7,3, USEPA 3051 e USEPA 3052 como variável dependente (y) das doses de Ni aplicadas (x) no solo, e faixa crítica (FC) correspondente entre DR e DCT das gramíneas avaliadas por 90 dias em solo contaminado.....	40

SUMÁRIO

	Pág.
RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
LISTA DE FIGURAS.....	iii
LISTA DE TABELAS.....	iv
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	3
ARTIGO CIENTIFICO I.....	4
1 Resumo.....	4
2 Abstract.....	5
3 Introdução.....	6
4 Material e métodos.....	8
5 Resultados e discussão.....	10
6 Conclusões.....	20
7 Agradecimentos.....	20
8 Referencias bibliográficas.....	20
ARTIGO CIENTIFICO II.....	25
1 Resumo.....	25
2 Abstract.....	26
3 Introdução.....	27
4 Material e métodos.....	29
5 Resultados e discussão.....	33
6 Conclusões.....	44
8 Agradecimentos.....	44
7 Referências bibliográficas.....	44
CONCLUSÃO GERAL.....	49

INTRODUÇÃO GERAL

O aumento das atividades industriais e de mineração aliado ao uso intensivo e inadequado de fertilizantes e pesticidas têm sido apontados como os principais responsáveis pela contaminação do solo, cursos de água e lençol freático por metais pesados (MALAVOLTA, 1994). Estas atividades degradam o ambiente e preocupam a sociedade em todo o mundo.

Contaminações ocorrem, quando os metais pesados provenientes de atividades antrópicas somam-se a aqueles de origem natural, causando efeitos adversos. Esses elementos interferem nos processos enzimáticos e, em consequência de sua baixa mobilidade, exercem efeitos acumulativos nos seres vivos. Isso faz com que provoquem alterações no metabolismo podendo levar até mesmo a morte do organismo.

Entre os metais pesados que possam contaminar e poluir o ambiente está o níquel (Ni), considerado um metal pesado por atender ao critério de densidade maior que 5 g cm^{-3} e encontrar-se entre os metais pesados mais comuns em solos. Estima-se que, em todo o mundo, anualmente são adicionadas aos solos 106 mil a 544 mil toneladas de Ni, com origem nas atividades metalúrgicas, na combustão de combustíveis fósseis e na adição de lodo de esgoto e de compostos industriais (BERTON et al., 2006).

O Ni é considerado também um micronutriente de plantas (BROWN et al., 1987) por ser constituinte do sítio ativo da enzima urease, que hidrolisa a ureia em amônia e bicarbonato, além de participar de mecanismos de defesa das plantas a ataques de pragas e doenças. Já a fitotoxicidade do Ni 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 escuro (NEDHI et al., 1990; KRUPA et al., 1993;).

A remediação de solos contaminados com metais pesados baseia-se, principalmente, em processos de engenharia, onde são induzidos a aumentar a capacidade de extração dos metais por meio, por exemplo, da aplicação de surfactantes ou ácidos, calor ou até mesmo pela manipulação física do solo contaminado. Essas técnicas porem, além de muito específicas, apresentam alto custo de aplicação. Uma alternativa é a biorremediação, que engloba processos microbianos e emprego de plantas, sendo esta última de grande interesse pelo baixo custo, facilidade de desenvolvimento e aplicação. O emprego de plantas, sua microbiota associada e de amenizantes do solo, além de práticas agronômicas podem remover, imobilizar ou tornar os contaminantes inofensivos ao ecossistema, sendo esse

processo conhecido como fitorremediação. Sua concepção funcional é baseada na fisiologia vegetal, na bioquímica do solo e na química dos contaminantes (ANDRADE et al., 2007).

A fitorremediação envolve, por ação direta da planta ou indireta pelo estímulo dessas sobre a microbiota rizosférica, a descontaminação, por meio da extração por diversos processos conceitualizados como: fitoextração, fitoestimulação, além de fitoestabilização (ACCIOLY e SIQUEIRA, 2000). No processo de fitoextração, as plantas acumulam em seus tecidos os contaminantes extraídos do solo, da água ou do ar, sem, no entanto, degradá-los. Nesse processo, as espécies são plantadas e posteriormente colhidas, com o intuito de reduzir as substâncias tóxicas do local. O destino do material vegetal dependerá da possibilidade ou não de seu aproveitamento, sendo decidido de acordo com a espécie vegetal cultivada, sua capacidade de bioacúmulo e o risco ambiental apresentado (ACCIOLY e SIQUEIRA, 2000 e ANDRADE et al., 2007).

O processo de fitoextração ocorre, principalmente, através de plantas hiperacumuladoras. Essas plantas são capazes de se desenvolver em ambientes contaminados, acumulando altas concentrações de metais como: acima de $10.000 \text{ mg kg}^{-1}$ de Mn e Zn; de 1.000 mg kg^{-1} de Cu, Ni e Pb; de 100 mg kg^{-1} de Cd, sem mostrar redução significativa no crescimento (ZEITTOUNI et al., 2007).

Plantas gramíneas apresentam-se como alternativas fitoextratoras. São, em sua maioria, plantas rústicas e de rápido crescimento e podem tolerar e acumular metais pesados. Estas espécies vegetais são amplamente utilizadas em todo o território brasileiro, principalmente na criação de animais, para obtenção de produtos como carne e leite, imprimindo portando grande relevância na economia do Brasil (BARCELOS et al., 2011).

Dessa forma, a seleção de espécies vegetais com potencial para hiperacumular Ni é essencial para o sucesso dos programas de fitorremediação de áreas contaminadas com este elemento. Para tanto, tornam-se imprescindíveis os estudos que visem a melhor compreensão dos mecanismos de crescimento, tolerância, translocação e de acumulação de Ni pelas plantas.

O conhecimento da tolerância e acúmulo de níquel (Ni) em plantas é essencial para o desenvolvimento de técnicas para remediação de áreas poluídas. Esse trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a crescimento, teores, acúmulo e disponibilidade de níquel (Ni) em cinco gramíneas forrageiras.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACCIOLY, A.M.A.; SIQUEIRA, J.O. Contaminação química e biorremediação do solo. In: NOVAIS, R.F., ALVAREZ, V.H.V., SCHAEFER, C.E.G.R. **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. v.1, 2000. p.299-352.
- BARCELOS, A.F.; LIMA, J.A.; PEREIRA, J.P.; GUIMARÃES, P.T.G.; EVANGELISTA, A.R.; GONÇALVES, C.C.M. **Adubação de capins do gênero *Brachiaria***. Belo Horizonte: EPAMIG, 2011. 84p.
- ANDRADE, J.C.M, TAVARES, R.S.L., MAHLER, C.F. **Fitorremediação: o uso de plantas na melhoria da qualidade ambiental**. São Paulo: Oficina de Textos, 2007. 176p.
- BERTON, R.S.; PIRES, A.M.M; ANDRADE, S.A.L.; ABREU, C.A.; AMBROSANO, E.J.; SILVEIRA, A.P.D. Toxicidade do níquel em plantas de feijão e efeitos na microbiota do solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.8, p.1305-1312, 2006.
- BROWN, P.H., WELCH,R.M., CARY, E.E. Nickel: a micronutrient essential for all higher plantas. **Plant Physiology**, Washington, v.85, n.3, p.801-803, 1987.
- 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.
- MALAVOLTA, E. **Fertilizantes e seu impacto ambiental: micronutrientes e metais pesados: mitos, mistificação e fatos**. São Paulo: Petroquímica, 1994. 153p.
- ZEITTOUNI, C.F., BERTON, R.S., ABREU, C.A. Fitoextração de cádmio e zinco de Latossolo Vermelho-Amarelo contaminado com metais pesados. **Bragantia**, Campinas, v.66, n.4, p.645-649, 2007.

ARTIGO CIENTÍFICO I

CRESCIMENTO, TOLERÂNCIA, ACÚMULO E TRANSLOCAÇÃO DE NÍQUEL EM GRAMÍNEAS FORRAGEIRAS EM SOLUÇÃO NUTRITIVA CONTAMINADA

RESUMO

O conhecimento da tolerância e acúmulo de níquel (Ni) em plantas é essencial para o desenvolvimento de técnicas para remediação de áreas poluídas com este elemento. O objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento, tolerância, acúmulo e translocação de Ni em gramíneas forrageiras cultivada em solução nutritiva. Um experimento foi conduzido em condições de casa de vegetação no Departamento de Agronomia da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina (MG). *Panicum maximum* cv. Aruana e cv. Tanzânia e *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk, *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés e cv. Marandu foram crescidas em solução nutritiva e adicionadas de 0, 20, 40, e 100 mg L⁻¹ de Ni na cloreto de níquel e constituíram ensaios independentes em delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições. Determinou-se a massa seca e os teores de Ni na parte aérea, coleto e raízes das gramíneas forrageiras. Os conteúdos de Ni foram calculados com base nos teores e nas produções de massa seca em cada parte da planta. A massa seca de todas as gramíneas diminuiu com o aumento das doses de Ni, sendo a Basilisk a que apresentou maior sensibilidade e a Xaraés a maior tolerância ao níquel. A sequência de suscetibilidade ao Ni de acordo com a dose crítica de toxidez entre as gramíneas forrageiras em ordem decrescente é Basilisk > Tanzânia > Aruana > Marandu > Xaraés. A translocação de Ni foi diferentemente influenciado pelas doses de Ni nas gramíneas forrageiras. Os teores e acúmulo de Ni também foram crescentes nas gramíneas forrageiras avaliadas com o aumento das concentrações de Ni em solução nutritiva. As gramíneas forrageiras foram incapazes de limitar a absorção de Ni, acarretando em toxicidade e redução do crescimento.

Palavras-chave: contaminação ambiental, fitorremediação, metais pesados.

ABSTRACT

GROWTH, TOLERANCE, ACCUMULATION, AND TRANSLOCATION OF NICKEL IN FORAGE GRASSES NUTRIENT SOLUTION IN CONTAMINATED

The knowledge of the tolerance and accumulation of nickel (Ni) in plants is essential for the development of techniques for remediation of areas polluted with this element. The objective of this study was to evaluate the growth, tolerance, accumulation and translocation of Ni in forage grasses cultivated in nutrient solution. An experiment was conducted in greenhouse conditions in the Department of Agronomy, Faculty of Agricultural Sciences, Federal University of the Jequitinhonha and Mucuri, Diamantina, Minas Gerais State, Brazil. *Panicum maximum* cv. Aruana and cv. Tanzânia and *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk, *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés and cv. Marandu were grown in nutrient solution and added 0, 20, 40, and 100 mg L⁻¹ of Ni in nickel chloride and were independent trials completely randomized design with four replications. Dry weight and the concentrations of Ni in shoots, stems base and roots of forage grasses were determined. The contents of Ni were calculated based on the amounts and in the production of dry matter in each plant. The dry mass of all grasses decreased with increasing doses of Ni, with the Basilisk had the greatest sensitivity and Xaraés greater tolerance to nickel. The sequence of susceptibility to Ni according to the critical dose toxicity among the forage grasses in descending order is Basilisk > Tanzania > Aruana > Marandu > Xaraés. The translocation of Ni was differently influenced by levels of Ni in forage grasses. Concentration and accumulation of Ni were also evaluated in forage grasses growing with increasing Ni concentrations in nutrient solution. The forage grasses were unable to limit the absorption of Ni, resulting in toxicity and reduced growth.

Keywords: environment contamination, phytoremediation, heavy metals

INTRODUÇÃO

O níquel (Ni) é um elemento de importância comprovada na nutrição de plantas, pois foi relatado como elemento essencial para várias espécies cultivadas (BROWN et al., 1987). É um constituinte da metaloenzima urease (LOPEZ e MAGNITSKI, 2011) que tem importante papel no metabolismo do nitrogênio nos vegetais. O Ni, porém, em quantidade excessiva nas plantas pode causar a toxidez, devido a vários processos danosos no metabolismo como: insuficiência do desenvolvimento, desordens fisiológicas no processo fotossintético, no transporte de fotoassimilados, na nutrição mineral, potencial hídrico das plantas, além de clorose, necrose e murcha (KRUPA et al., 1993; PANDEY e SHARMA, 2002).

O Ni é considerado um metal pesado e seu teor no solo varia entre 2 a 750 mg kg⁻¹ (SEREGIN e KOZHEVNIKOVA, 2006), alcançando os maiores teores em rochas básicas ígneas. Quando atingem níveis elevados no ambiente este elemento pode causar diversos problemas para micro-organismos, plantas e animais. Os níveis deste metal pesado no ambiente têm aumentado nas últimas décadas através de processos como: destinação incorreta de resíduos industriais, aplicação de fertilizantes e pesticidas agrícolas, aplicação de lodo de esgoto no solo, queima de combustíveis fósseis, etc. Muito se tem feito para despoluir áreas contaminadas com metais pesados como o Ni e uma alternativa que tem sido desenvolvida são a fitorremediação.

A fitorremediação consiste em utilizar plantas tolerantes e acumuladoras de metal pesado para imobilização ou extração do poluente e posterior descontaminação do ambiente. É tecnologia favorável ao meio ambiente envolvendo plantas vivas, de baixo custo para recuperar os solos contaminados por metais pesados (BHARGAVA et al., 2012). A planta ideal para fitoextração de metais pesados deve ser tolerante aos seus altos níveis; acumular grande quantidade na parte aérea (GARBISU e ALKORTA, 2000); ter boa capacidade de absorção; apresentar alta taxa de crescimento; possuir sistema radicular profundo; ser capaz de boa produção de biomassa; ter capacidade de desenvolver-se bem em ambientes diversos; ser de fácil colheita e resistência ao poluente.

As gramíneas são um grupo de plantas muito utilizadas em cultivos em vários países do mundo. As principais características destas plantas são, rápido crescimento, elevada produção de biomassa, boa adaptação ao clima tropical e grande tolerância a manejos adversos. Há relatos de trabalhos avaliando a tolerância e acúmulo de Ni com gramíneas (RUBIO et al., 1994; AHMAD et al., 2009; SOLEIMANI et al., 2009; SABIR et al., 2011) demonstrando variados graus de tolerância e acúmulo de Ni nos tecidos destas plantas.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento, tolerância, acúmulo e translocação níquel em cinco gramíneas forrageiras crescidas em solução nutritiva contaminada a fim de testar a aptidão destas plantas para fitorremediação de áreas poluídas.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, em casa de vegetação do Departamento de Agronomia da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), em Diamantina (MG) (18° 14' S, 43° 36' W).

Foram avaliadas cinco gramíneas forrageiras *Panicum maximum* cv. Aruana e *Panicum maximum* Jacq cv. Tanzânia, *Brachiaria brizantha* cv. Marandu e cv. Xaraés e, *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk e quatro doses de Ni (0, 20, 40 e 100 mg L⁻¹) na forma de cloreto de níquel p.a em solução nutritiva, sendo estes níveis de contaminação baseados pelos valores orientadores da CETESB (2005). A solução nutritiva consistiu de reagentes puros, e a composição química da solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950): 210,1 mg de N, 31 mg de P, 234,6 mg de K, 200,4 mg de Ca, 48,6 mg de Mg, 64,2 mg de S, 500 µg de B, 20 µg de Cu, 648 µg de Cl, 5.022 µg de Fe, 502 µg de Mn, 11 µg de Mo e 50 µg de Zn por litro.

Foram utilizadas sementes adquiridas em casa especializada do município de Diamantina (MG). As sementes foram semeadas em bandejas contendo areia lavada em sala de germinação e a irrigação com água destilada até o transplante definitivo nos vasos (20 dias após a semeadura). Após o transplante das plântulas, forneceu-se, inicialmente, 2,0 L de solução nutritiva. Utilizaram-se soluções com forças iônicas de 25, 50, 75 e 100 %. As plântulas permaneceram por três dias em cada concentração, em sistema de aeração artificial contínuo, com uso de compressor de ar. As plântulas foram mantidas nessa solução durante 30 dias após o período de adaptação até o corte de uniformização. A solução nutritiva foi renovada a cada 15 dias.

O período experimental foi de 90 dias, com início após o corte de uniformização das plantas. O corte (uniformização) da massa seca da parte aérea (MSPA) foi efetuado a 0,03 m do colo da planta, deixando uma planta por vaso, com a finalidade de uniformizar todo o experimento. Nesta época, foram aplicadas as doses crescentes de Ni na solução nutritiva. Durante todo o período experimental, o pH foi ajustado para $5,5 \pm 0,1$; por meio de correções diárias utilizando-se soluções diluídas de NaOH ou HCl, de acordo com a variação do pH da solução. O volume dos vasos foi completado, sempre que necessário, utilizando água deionizada. A renovação da solução nutritiva e das doses de Ni foi realizada a cada 15 dias.

As plantas foram cortadas a cada 30 dias após o corte de uniformização, a 0,03 m do colo das plantas, sendo que após primeiro (1^a) corte de avaliação, o segundo (2^o) corte ocorreu 30 dias após o primeiro, enquanto o terceiro (3^o) aos 30 dias após o segundo corte. Após

efetuar o último corte da parte aérea, aos 90 dias do corte de uniformização, foi coletado o restante das plantas: coleteo (parte da planta que liga as raízes à parte aérea) e as raízes.

Toda a massa vegetal coletada foi separada por tratamentos e repetições, lavadas na seguinte ordem: água de torneira, água destilada, detergente diluído, água destilada novamente, solução de HCl 0,1 mol L⁻¹ e finalizando em água deionizada, para retirada do excesso de metal que estava superficialmente em contato com a planta. Posteriormente, o material foi acondicionado em sacos de papel e seco em estufa com circulação forçada de ar, à temperatura de 65 °C, durante 72 horas. Após a secagem, obteve-se o peso de massa seca da parte aérea (MSPA), que se refere ao somatório da produção de massa seca dos três cortes; do coleteo (MSC) e das raízes (MSR), coletados após 90 dias do corte de uniformização. Assim, foram calculados os crescimentos relativos das diferentes partes das plantas em função das doses de Ni na solução nutritiva. Os materiais foram moídos e submetidos à análise química para determinação dos teores de Ni na massa seca. O material moído foi submetido à digestão nitroperclórica [ácido nítrico (65 % v/v) e ácido perclórico (70 % v/v), Merck - 2:1] segundo metodologia descrita por Malavolta et al. (1997) e o teor de Ni foi determinado por espectrometria de absorção atômica de forno de grafite (Perkin-Elmer Analyst 800). O controle de qualidade da análise de Ni foi verificado utilizando material de referência certificado (NIST SRM 1573a Folha de tomate).

Baseando-se no teor de Ni e massa seca produzida em cada parte das forrageiras, o acumulado de Ni foi calculado pela fórmula: $C = T \times MS$, onde C = acumulado de Ni (µg/vaso), T = teor de Ni (mg g⁻¹) e MS = massa seca (g). Por meio da quantidade acumulada foi calculado o índice de translocação (IT) (ABICHEQUER e BOHNEN, 1998) das forrageiras pela equação: $IT (\%) = \{[\text{quantidade acumulada de Ni na parte aérea, no coleteo e na massa seca total}]/(\text{quantidade acumulada do elemento na planta})\} \times 100$.

Os resultados foram submetidos à análise de variância conjunta de experimentos que constaram do estudo de doses de Ni dentro de cada forrageira. As equações de regressão foram ajustadas para as variáveis em função das doses de Ni. As doses críticas de toxidez (DCT) de Ni na solução que proporcionou a redução de 10 % (BECKETT e DAVIS, 1977) na produção da massa seca da parte aérea (MSPA), do coleteo (MSC) e das raízes (MSR) foram estimadas com base nas equações de regressão obtidas para cada forrageira. O nível crítico de toxidez (NCT) de Ni nas forrageiras, correspondente ao teor foliar de Ni requerido para inibir em 10 % a MSPA, MSC e MSR, foi estimado substituindo-se a DCT nas equações que relacionam as doses de Ni com essas variáveis.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O crescimento das gramíneas reduziu com o aumento das concentrações de Ni aplicadas em solução nutritiva ($p < 0,01$) como pode ser visto na Figura 1. O comportamento das plantas em resposta ao aumento do Ni na solução nutritiva varia para cada espécie de planta e ainda para os órgãos analisados (raízes, coleto e cortes). A cultivar Xaraés foi a mais tolerante ao aumento das concentrações de Ni para raízes e coleto, seguida da cultivar Marandu que apresenta uma tolerância um pouco menor, depois as cultivares Aruana, Tanzânia e Basilisk completam, em ordem decrescente de tolerância a lista das forrageiras avaliadas. O decréscimo da massa seca da parte aérea apresentou-se semelhante para todas as cinco cultivares avaliadas, onde houve redução de 80 % desta massa seca já na concentração estimada de 20 mg L^{-1} . A cultivar Aruana, na concentração estimada de 20 mg L^{-1} reduziu 40% da massa seca do coleto, sendo mais tolerante até mesmo que a cultivar Xaraés, que reduziu 60% da MS do coleto. Para termos de comparação, a concentração de 20 mg L^{-1} é uma dose considerada elevada de Ni em solução, pois para Taiz e Zeiger (2004), a concentração de Ni em solução nutritiva para as culturas em geral deve ficar por volta de $0,03 \text{ mg L}^{-1}$. A concentração de 20 mg L^{-1} sempre leva a reduções maiores que 10 % de massa seca em relação à testemunha (sem Ni) em todas as cultivares e órgãos.

O estudo sobre o efeito do Ni em gramíneas forrageiras ainda é escasso na literatura, porém ao analisarem o efeito do Ni^{2+} sobre *Brachiaria decumbens* e *Chloris gayana*, Kopittke et al. (2008) observaram resposta similar de ambas as plantas a atividade do Ni^{2+} . A concentração de $0,82 \text{ mg L}^{-1}$ foi suficiente para reduzir o crescimento das plantas em 50% em relação ao controle. Concentrações mais elevadas causaram perda da dominância apical nas raízes e deficiência de ferro induzida na parte aérea, sintoma visual observado neste trabalho.

Ao avaliarem os efeitos do Ni sobre a produtividade de duas variedades de girassol (*Helianthus annuus L.*), Ahmad et al. (2011) observaram que essas duas variedades de girassol mostraram uma diminuição significativa no crescimento do sistema radicular, parte aérea e massa de sementes dessas variedades com o aumento da concentração do Ni em solução nutritiva, corroborando os resultados deste trabalho. As maiores reduções foram registradas com a concentração de 40 mg L^{-1} de Ni, sendo estas perdas de até 50 % quando comparadas às plantas utilizadas como controle (sem aplicação de Ni). Entretanto não foi observado por esses autores perdas no crescimento e produtividade desses parâmetros para a menor concentração de Ni adicionada em solução nutritiva (10 mg L^{-1}).

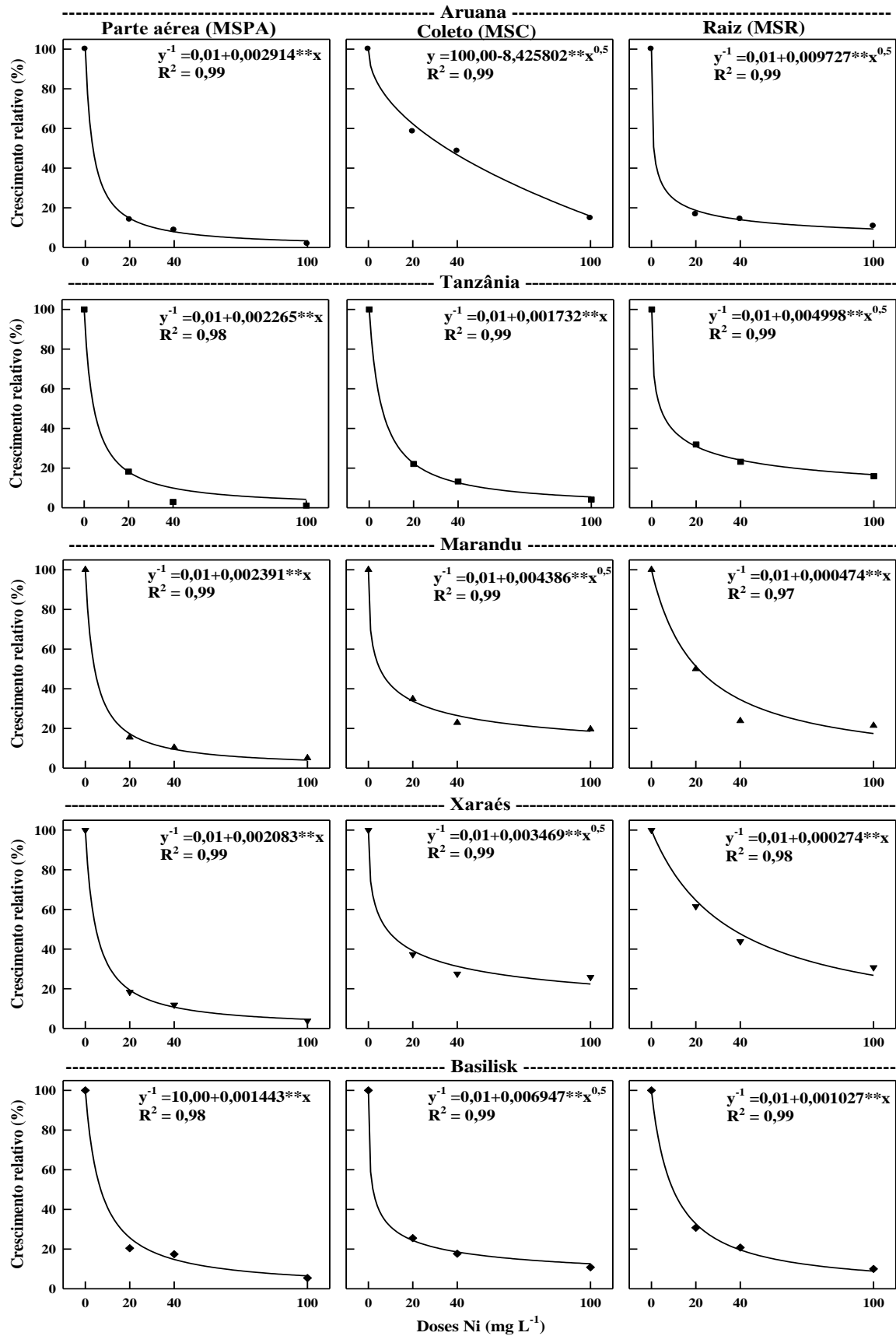


Figura 1. Crescimento relativo da parte aérea, do coletó e das raízes de cinco gramíneas forrageiras em função de doses de Ni em solução nutritiva num período de 90 dias após o corte de uniformização. (** significativo ao nível de 1% pelo teste de t)

Concentrações a partir de $1,47 \text{ mg L}^{-1}$ de cloreto de níquel reduziram a massa seca do sistema radicular e parte aérea de *Arabidopsis thaliana* crescida em solução nutritiva, além de produzir intensa clorose internerval. Máximas reduções foram observadas na concentração de $3,0 \text{ mg L}^{-1}$ de acompanhadas de clorose e necrose nas folhas jovens da planta. Esta concentração levou a redução de 50 % da massa fresca das raízes e parte aérea quando comparadas ao controle (NISHIDA et al., 2011).

A alta concentração de Ni em plantas tem sido relatada como causadora de efeitos deletérios no metabolismo, crescimento e produtividade de plantas cultivadas, sempre sendo visíveis sinais de toxicidade (RAHMAN et al., 2005). Estudos específicos de fisiologia e metabolismo mostram que o aumento da absorção do Ni causa, na maioria das plantas, alteração na absorção de nutrientes essenciais, redução na captação de CO_2 , distúrbios na troca de gases, alterações na absorção de água e geração de radicais livres, além da geração de espécies de oxigênio reativo que causam estresse oxidativo nas células vegetais (SEREGIN e KOZHEVNIKOVA, 2006; ALI et al., 2009).

A variação das respostas das gramíneas forrageiras avaliadas é resultado de todo o processo adaptativo das plantas ao Ni no ambiente de cultivo, que é uma característica individual de cada cultivar, visto que a tolerância depende de fatores genéticos. Diferentes graus de reduções no crescimento da parte aérea e raízes de cultivares de canola (*Brassica napus L.*) após 58 dias de cultivo em solução nutritiva contaminada com Ni já foi observado. As reduções variam de 25% a 60% nos parâmetros de crescimento desses órgãos de planta para as cultivares de canola avaliadas numa amplitude de concentração de Ni de 0 a 150 mg L^{-1} (ALI et al., 2009).

Quando o Ni é usado em concentrações excessivas causa perda de produtividade. Entretanto, em baixas concentrações consideradas não tóxicas, o Ni tem efeito significativo no aumento da produtividade de plantas cultivadas (MISHRA e KAR, 1974).

Teor de Ni na massa seca

Os teores de Ni de todas as gramíneas forrageiras avaliadas e todos os órgãos analisados aumentaram linearmente com o aumento das concentrações de Ni na solução nutritiva (Figura 2). A cultivar Marandu foi a que teve os maiores teores de Ni na MSPA, $2,93 \text{ mg kg}^{-1}$; seguido da cultivar Basilisk, $2,89 \text{ mg kg}^{-1}$; já o menor teor de Ni na MSPA foi observado na cultivar Aruana, $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$.

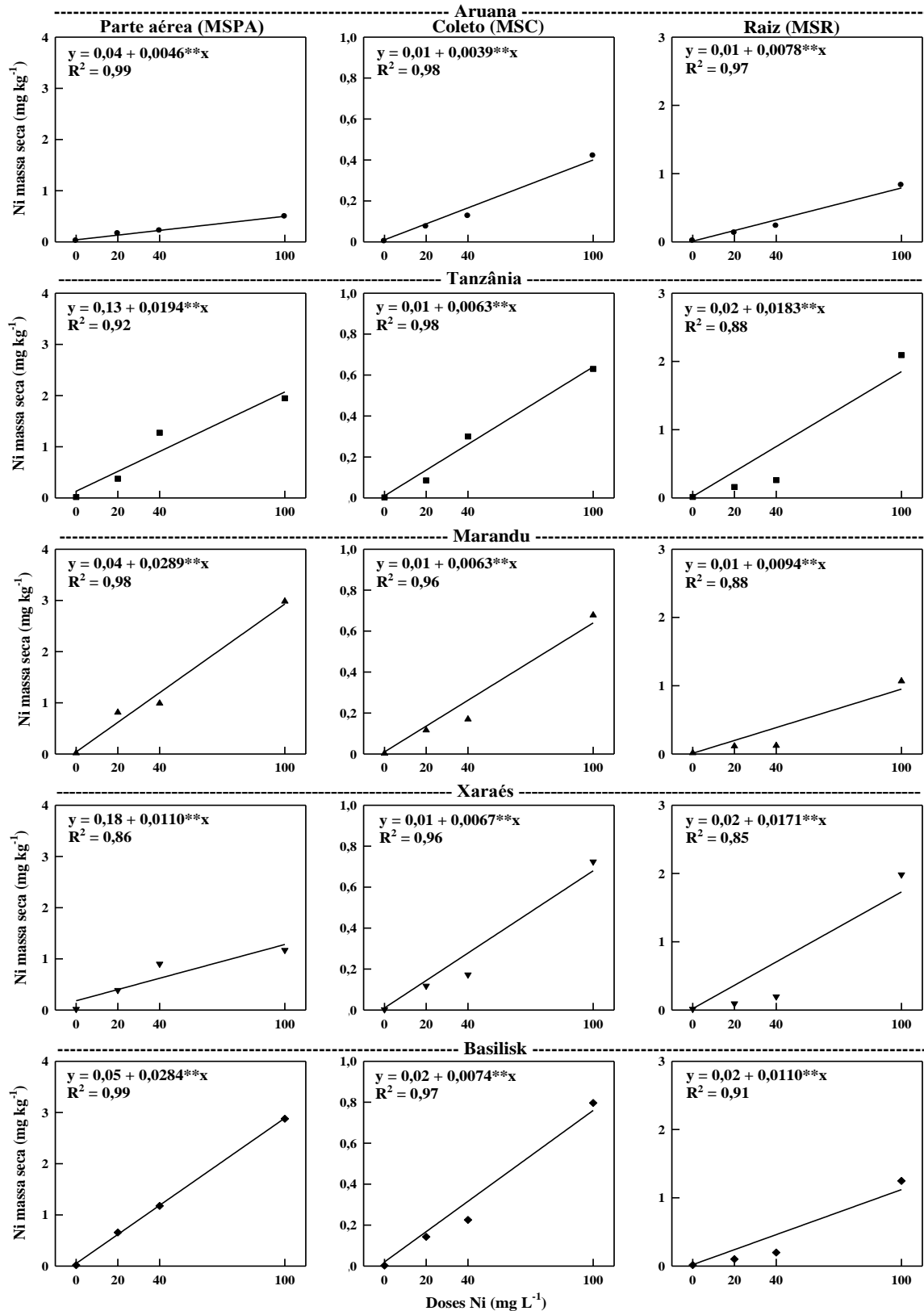


Figura 2. Teor de Ni na massa seca da parte aérea, do coletos e das raízes de cinco gramíneas forrageiras em função de doses de Ni em solução nutritiva num período de 90 dias de exposição após o corte de uniformização. (** significativo a 1% pelo teste de t)

Os teores de Ni na MSC foram menores que nos outros órgãos analisados, sendo encontrados os maiores teores na cultivar Basilisk, cerca de $0,76 \text{ mg kg}^{-1}$; seguido da cultivar Xaraés, $0,68 \text{ mg kg}^{-1}$; a cultivar Aruana também apresenta o menor teor Ni na MSC, $0,4 \text{ mg kg}^{-1}$. Nas raízes, MSR, os maiores teores de Ni são encontrados na cultivar Tanzânia, $1,85 \text{ mg kg}^{-1}$; seguido da cultivar Xaraés, cerca de $1,73 \text{ mg kg}^{-1}$; os menores teores neste órgão foi observado na cultivar Aruana, $0,79 \text{ mg kg}^{-1}$.

Os teores de Ni na parte aérea das cultivares avaliadas refletem a variação nas concentrações de Ni de maneira direta (Figura 2). Este tipo de comportamento já foi observado estudando mecanismo de tolerância a metais pesados (BAKER, 1981). De acordo com esse autor, quando as concentrações internas do metal na planta aumentam diretamente com o aumento das concentrações do ambiente de cultivo, estas plantas são tidas como “indicadoras”. Esse comportamento é observado para todas as gramíneas forrageiras avaliadas neste trabalho (Figura 2). A característica de planta indicadora é intermediário entre os dois tipos de comportamentos, o de planta “exclusora” e o de planta “acumuladora”. Baker (1981) classifica “planta exclusora” a que mantém a concentração do metal baixa na parte aérea sobre uma ampla gama de concentração no solo até chegar em uma concentração crítica, acima da qual o mecanismo de tolerância é quebrado e há transporte sem restrição para a parte aérea. Já a planta acumuladora transporta metais para a parte aérea em baixas ou altas concentrações no solo.

A dinâmica do Ni em *Arabidopsis thaliana* foi analisada após sete dias de cultivo em solução nutritiva contaminada com cloreto de níquel e a concentração do metal aumentava em raízes e parte aérea à medida que se aumentava a concentração na solução (NISHIDA et al., 2011). A concentração do Ni aumentava mais nas raízes que na parte aérea da planta estudada, sendo observadas concentrações até 10 vezes maiores nas raízes em relação à parte aérea. Os resultados observados por esses autores corroboram as tendências observadas apenas nas cultivares Xaraés e Tanzânia que tem também tiveram maiores teores nas raízes do que as outras três cultivares avaliadas neste trabalho.

Também foi avaliado o efeito do aumento das doses de Ni sobre mudas de umbuzeiro (*Spondias tuberosa*). Os teores de Ni nas folhas foram significativamente influenciados pelo Ni, sobretudo um aumento dos teores do Ni nas folhas desta planta até a concentração de $5,66 \text{ mg L}^{-1}$ na solução nutritiva, onde foi registrado um teor foliar de 342 mg kg^{-1} . A partir desta concentração em solução nutritiva, os teores de Ni foliar no umbuzeiro diminuíram até chegar por volta de 50% na maior concentração de Ni na solução ($58,7 \text{ mg L}^{-1}$). Os autores observaram necrose e abscisão foliar nas concentrações elevadas (NEVES et al., 2007).

Embora os teores de Ni na massa seca de todas as gramíneas forrageiras e de todos os órgãos analisados apresentem variações entre si, estes resultados são comuns, pois o Ni é considerado adequado na maioria das plantas numa faixa de 0,1 a 5,0 mg kg⁻¹ com base na massa seca vegetal (WELCH, 1981).

Os baixos teores de Ni nos órgãos das gramíneas forrageiras quando comparados a outras plantas (REEVES et al., 1996) são reflexo da baixa tolerância das plantas ao metal e da dificuldade em conviver com esse metal nos tecidos, devido aos vários distúrbios e alterações metabólicas que o excesso de Ni pode causar nestas plantas. Por outro lado o baixo teor desse metal nas folhas indica a possibilidade de uso dessas gramíneas para a alimentação animal, pois os níveis de metal pesado ainda estão dentro de uma faixa aceitável até 100 µg g⁻¹ para o consumo de animais ruminantes (NRC, 2005).

Dose e nível crítico de toxidez de Ni

A dose crítica de toxidez (DCT) foi dependente das gramíneas forrageiras e órgãos analisados (Tabela 1). A DCT reflete o grau de tolerância ou suscetibilidade da planta ou órgão à dose de Ni a qual foi exposta no ambiente de cultivo. A maior DCT para MSPA é observada na cultivar Basilisk (0,77 mg L⁻¹); seguida da cultivar Xaraés, (0,53 mg L⁻¹); a cultivar menos tolerante é a Aruana (0,38 mg L⁻¹). Para a MSC, a DCT mostra uma tendência contrária aos resultados da MSPA, tendo a cultivar Aruana a maior DCT (1,41 mg L⁻¹); seguida da cultivar Tanzânia (0,64 mg L⁻¹); a cultivar Basilisk apresenta uma DCT de 0,03 mg L⁻¹ neste caso. As DCT_s para a MSR são mais elevadas que nos outros órgãos da planta, sendo a cultivar Xaraés tolerante a maior dose, 4,06 mg L⁻¹; seguida da cultivar Marandu, 2,34 mg L⁻¹, depois a cultivar Basilisk, 1,08 mg L⁻¹; a cultivar Aruana apresenta a menor DCT (0,01 mg L⁻¹).

Tabela 1. Dose crítica de toxidez (DCT) de Ni para reduzir 10 % da produção máxima de massa seca da parte aérea (MSPA), do coleto (MSC) e das raízes (MSR) e nível crítico de toxidez (NCT) correspondente a DCT de cinco gramíneas forrageiras crescidas 90 dias em solução nutritiva.

Forrageira	DCT (mg L ⁻¹)			NCT (mg kg ⁻¹)		
	MSPA	MSC	MSR	MSPA	MSC	MSR
Aruana ⁽¹⁾	0,38	1,41	0,01	0,04	0,02	0,01
Tanzânia ⁽¹⁾	0,49	0,64	0,05	0,14	0,01	0,02
Marandu ⁽²⁾	0,46	0,06	2,34	0,05	0,01	0,03
Xaraés ⁽²⁾	0,53	0,10	4,06	0,19	0,01	0,09
Basilisk ⁽³⁾	0,77	0,03	1,08	0,07	0,02	0,03

(1) *P. maximum*; (2) *B. brizantha*; (3) *B. decumbens*.

As DCT_s para o Cedro (*Cedrela fissilis*) e ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa*) foram de 1,88 mg L⁻¹ e 1,11 mg L⁻¹ na MSPA para essas duas árvores, respectivamente. A partir desses trabalhos estes autores concluíram que nenhuma das espécies arbóreas avaliadas foram tolerantes ao Ni, não sendo interessantes para recomposição de áreas contaminadas com este poluente (PAIVA et al., 2000). Os dados de DCT na MSPA destes autores corroboram os dados observados para as gramíneas forrageiras avaliadas neste trabalho levando a crer que estas também apresentam pouca tolerância em ambientes contaminados com o Ni.

A DCT do Ni sobre a aroeira (*Miracrodouon urundeuva*) foi 1,02 mg L⁻¹ para a MSPA desta planta. Neste mesmo trabalho uma dose de 6,33 mg L⁻¹ levou esta planta a uma perda de 50 % da massa seca (PAIVA et al., 2001). Já a DCT observada para feijão-de-corda (*Vigna unguiculata*) foi de 0,082 mg L⁻¹ de atividade de Ni tanto para a parte aérea quanto para as raízes. A formação lateral de raízes do feijão-de-corda foi comprometida com as duas maiores concentrações (0,2 e 0,3 mg L⁻¹) (KOPITTKKE et al., 2007).

O nível crítico de toxidez (NCT) correspondente à DCT diferiu para as gramíneas forrageiras e órgãos analisados (Tabela 1). O NCT na MSPA variou de 0,19 mg kg⁻¹ na cultivar Xaraés para 0,04 mg kg⁻¹ na cultivar Aruana. Na MSC a NCT não variou. Na MSR a NCT variou de 0,09 mg kg⁻¹ na cultivar Xaraés para 0,01 mg kg⁻¹ na cultivar Aruana. Beckett e Davis (1977) definiram o nível crítico de toxidez como o teor de Ni na planta que diminuísse em 10 % a produção da matéria seca. Nesse mesmo trabalho eles observaram que o NCT de Ni para cevada (*Hordeum vulgare L.*) foi de 12 mg kg⁻¹ e o NCT para azevém (*Lolium multiflorum*) foi de 14 mg kg⁻¹, enquanto os teores considerados adequados para estas duas plantas foi de 2 mg kg⁻¹.

Acúmulo de Ni

O acúmulo de Ni diferiu tanto para as gramíneas forrageiras avaliadas como para os órgãos da planta analisados separadamente (Figura 3). Para a MSPA o acúmulo de Ni segue uma tendência diferente dos outros dois órgãos analisados, sendo esses acúmulos maiores em geral, apresentando comportamento quadrático em função das concentrações de Ni em solução nutritiva. A concentração de 100 mg L⁻¹ não leva aos maiores acúmulos de Ni na MSPA. A ordem decrescente de acúmulo de Ni na MSPA é cultivar Basilisk, seguida pela cultivar Marandu, Tanzânia, Xaraés e Aruana. Para MSC e MSR o acúmulo de Ni nos tecidos é crescente com o aumento das concentrações de Ni em solução nutritiva, com exceção para as cultivares Aruana e Tanzânia na MSC que apresentam comportamento quadrático em função do aumento das concentrações de Ni em solução nutritiva.

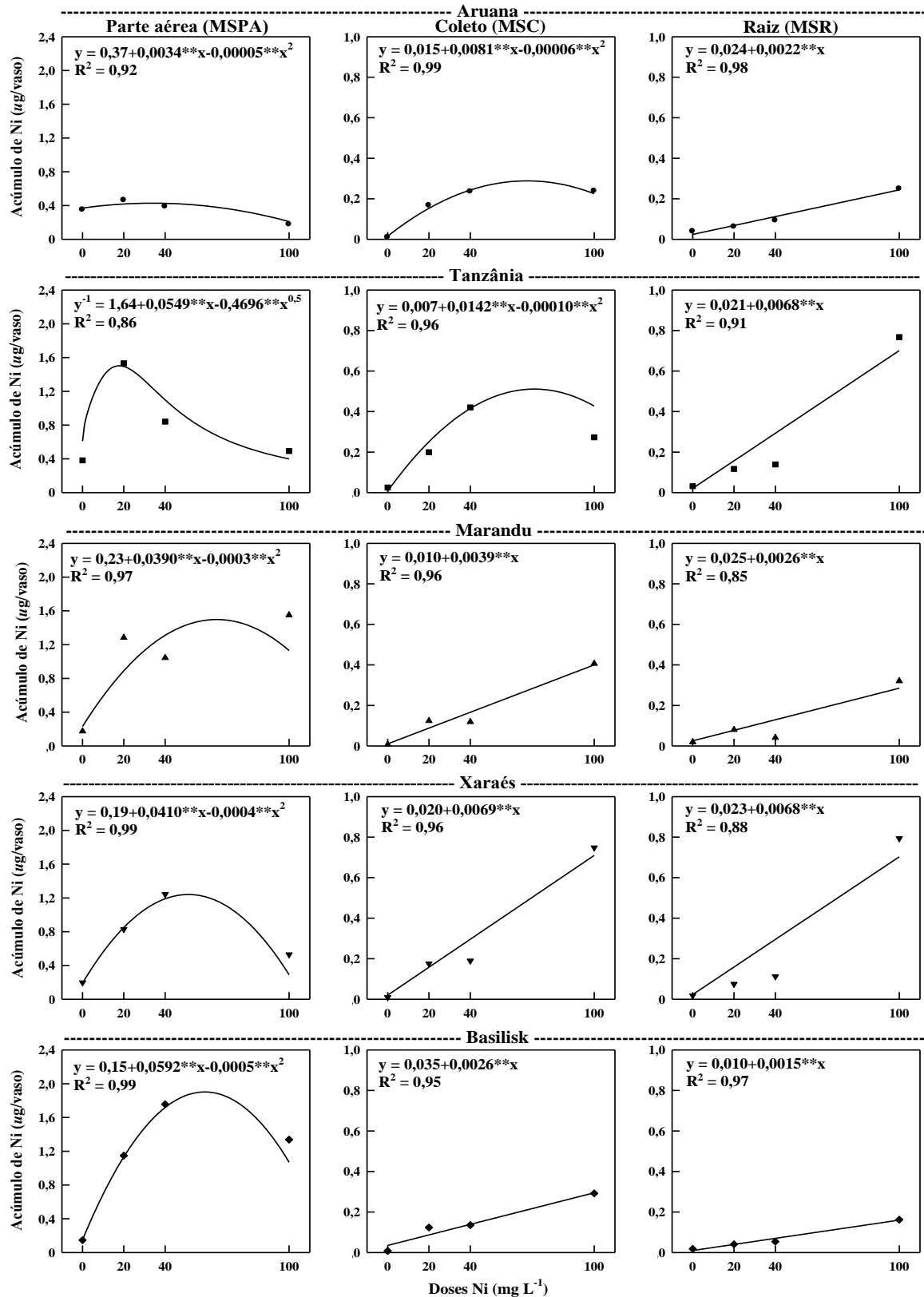


Figura 3. Acúmulo de Ni na massa seca da parte aérea, do coletó e das raízes de cinco gramíneas forrageiras em função de doses de Ni em solução nutritiva num período de 90 dias de exposição após o corte de uniformização. (** significativo a 1% pelo teste de t).

A ordem decrescente de acúmulo de Ni na MSC foi a cultivar Xaraés, seguida por Tanzânia, Marandu, Basilisk e Aruana. Na MSR, a ordem decrescente de acúmulo de Ni é a cultivar Xaraés, seguida por Tanzânia, Marandu, Aruana e Basilisk. As cultivares avaliadas apresenta acúmulo pouco expressivo em relação às plantas “hiperacumuladoras”. “Plantas hiperacumuladoras” foram classificadas por Brooks et al. (1977) como plantas que acumulam acima de 1.000 mg kg^{-1} de Ni na parte aérea. Já tendo sido observado acúmulos extremos de até $10.000 \text{ mg kg}^{-1}$ (1%) de Ni na parte aérea de *Alyssum bertolonii* em solos ultramáficos na Itália (KÜPPER et al., 2001).

O efeito do excesso de Ni sobre o acúmulo deste metal no repolho (*Brassica oleracea* var. capitata) foi avaliado na concentração de 30 mg L^{-1} e comparado com um controle (ausência de Ni^{2+}) (PANDEY e SHARMA, 2002). O maior acúmulo foi registrado nas folhas desta hortaliça ($91,5 \text{ mg kg}^{-1}$ de Ni), seguido do caule ($39,54 \text{ mg kg}^{-1}$ de Ni) e por último nas raízes ($27,64 \text{ mg kg}^{-1}$ de Ni^{2+}) na massa seca. Também compararam o acúmulo entre Ni com acúmulo de Cd e Co e verificaram que o repolho sempre acumulava mais Cd que o Ni em todos os órgãos da planta e que o Ni foi mais acumulado que o Co apenas nas folhas e caule.

Foi observado um maior acúmulo de Ni na parte aérea das cultivares em geral (Figura 3). Estes resultados diferenciam do observado em feijão-fava (*Vicia faba*) em solução nutritiva nas concentrações de 0, 5 e 15 mg L^{-1} de Ni na forma de cloreto de níquel (ENANY et al., 2000). Estes autores verificaram que o Ni se acumulava mais nas raízes que na parte aérea e em ambos os órgãos a maior parte do Ni estava na forma insolúvel. O maior acúmulo foi na concentração de 15 mg L^{-1} , registrando mais de 800 mg kg^{-1} de Ni na massa fresca das raízes.

Índice de translocação de Ni

O índice de translocação (IT) Ni para a MSPA e MSC e MST (MSPA + MSC) são afetados com o aumento das doses de Ni em solução nutritiva (Figura 4). O IT refere-se à capacidade da planta transportar o metal das raízes para a parte aérea (cortes e coletos) e está relacionado à mobilidade do metal na planta. Quanto maior for o índice de translocação, maior será a mobilização do metal das raízes para a parte aérea.

O IT na MSPA diminuiu com o aumento das doses de Ni em solução nutritiva para todas as cultivares. As cultivares Marandu e Basilisk tiveram seus ITs menos afetados do que as demais cultivares. As cultivares Tanzânia, Xaraés e Aruana diminuem 50 % nos seus respectivos ITs, da menor para a maior concentração de Ni em solução nutritiva.

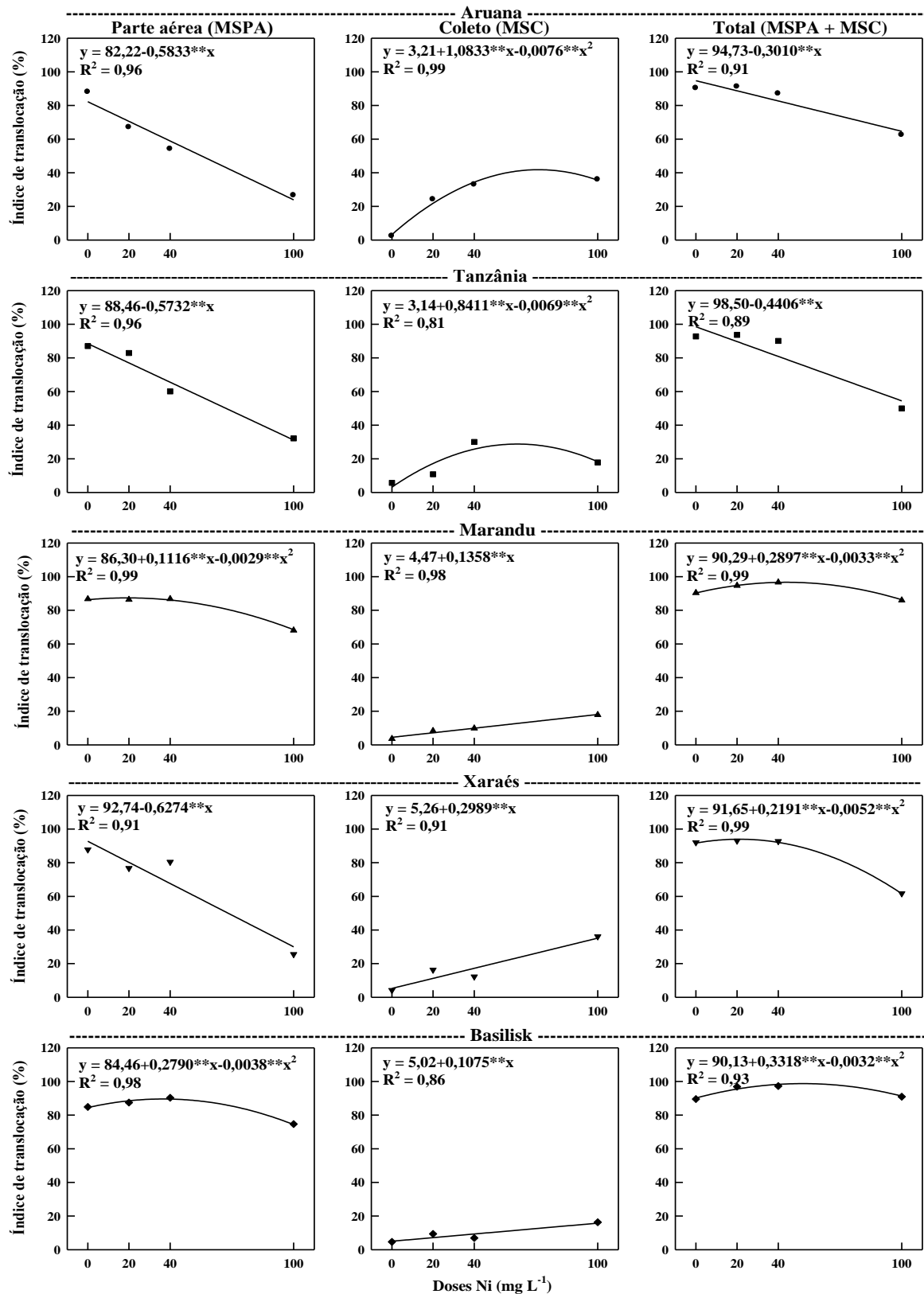


Figura 4. Índice de translocação de Ni na massa seca da parte aérea, no colete e total de cinco gramíneas forrageiras em função de doses de Ni em solução nutritiva num período de 90 dias de exposição após o corte de uniformização. (** significativo a 1% pelo teste de t)

Para a MSC o comportamento para este índice é diferente. O IT aumentou linearmente com o aumento das concentrações de Ni para as cultivares Marandu, Xaraés e Basilisk. Para as cultivares Aruana e Tanzânia, o IT apresenta comportamento quadrático com o aumento das concentrações de Ni em solução nutritiva. Para a MST há uma tendência de diminuição do IT com o aumento da concentração de Ni, sendo que a cultivar Tanzânia diminuiu 40 % no IT com o aumento da concentração de Ni, seguida da cultivar Aruana, 20 %.

Os resultados de IT (Figura 4) corroboram os resultados de crescimento relativo (Figura 1) para MSPA que diminui com o aumento da concentração de Ni em solução nutritiva, isso confirma ainda mais a suscetibilidade desse órgão ao excesso do metal no ambiente de cultivo. O aumento da dose de Ni compromete a mobilidade do metal da raiz para a parte aérea. Já o aumento do IT na MSC pode ser explicado pela permanência constante desse órgão em todo período experimental no ambiente de cultivo em relação à parte aérea que foi cortada de trinta em trinta dias (três vezes).

Os diferentes comportamentos de IT das gramíneas avaliadas são provavelmente devido a diferenças genéticas, fisiológicas e diferentes tolerâncias entre elas, onde alguns mecanismos típicos dessa tolerância são a regulação da absorção desses metais pela raiz, acúmulo na rizosfera, e baixa translocação para a parte aérea, ambos proporcionados pelo sistema radicular (ARDUINI et al., 1996).

A translocação de Ni das raízes para a parte aérea de capim-braquiária (*Brachiara decumbens*) e capim rhodes (*Chloris gayana*) resultou em concentrações que excederam as diretrizes para a toxicidade do Ni para animais de pasto (100 mg kg^{-1}) quando cultivadas com concentração maior ou igual a $0,64 \text{ mg L}^{-1}$ de Ni^{2+} em solução (KOPITTKKE et al., 2008). O transporte de Ni das raízes para a parte aérea de azevém (*Lolium multiflorum*) aumentou linearmente com o aumento das concentrações do Ni na solução, já em milho (*Zea mays* L.) não houve aumento evidente nesta translocação até uma concentração de $2,34 \text{ mg L}^{-1}$, ocorrendo aumento significativo em uma concentração de $4,68 \text{ mg L}^{-1}$ (YANG et al., 1997). Já Poulik (1997) registrou uma translocação de 88,8% do Ni absorvido pela aveia (*Avena sativa* L.) para as sementes, onde as concentrações neste cereal aumentavam com o aumento das doses de Ni aplicadas nos tratamentos e excedia o máximo permitido para consumo.

CONCLUSÕES

1. O crescimento relativo das gramíneas reduziu em função do aumento das doses de Ni em solução nutritiva.

2. Os teores de Ni aumentaram nos tecidos das plantas avaliadas com o aumento das doses de Ni.
3. A translocação de Ni para a parte aérea diminui com o aumento das doses de Ni em solução.
4. As plantas avaliadas apresentam baixo acúmulo de Ni.
5. A ordem decrescente de sensibilidade ao Ni em solução foi : Basilisk > Tanzânia > Aruana > Marandu > Xaraés

AGRADECIMENTOS

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela concessão de bolsa de mestrado. A Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, pela infraestrutura necessária para condução do experimento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABICHEQUER, A.D.; BOHNEN, H. Eficiência de absorção, translocação e utilização de fósforo por variedades de trigo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.22, n.1, p.21-26, 1998.
- AHMAD, K.; KHAN, Z.I.; ASHRAF, M.; VALLEM, E.E.; SHAH, Z.A.; McDOWELL, L.R. Determination of forage concentrations of lead, nickel and chromium in relation to the requirements of grazing ruminants in the Salt Range, Paquistan. **Pakistan Journal Botany**, Pakistan, v.41, n.1, p.61-65, 2009.
- AHMAD, M.S.A; ASHRAF, M; HUSSAIN, M. Phytotoxic effects of nickel on yield and concentration of macro- and micro-nutrients in sunflower (*Helianthus annuus* L.) achenes. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v.185, n.2-3, p.1295-1303, 2011.
- ALI, M.A; ASHRAF, M; ATHAR, H.R. Influence of nickel stress on growth and some important physiological/biochemical attributes in some diverse canola (*Brassica napus* L.) cultivars. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v.172, n.2-3, p.964-969, 2009.
- ARDUINI, I.; GODBOLD, D.L.; ONNIS, A. Cadmium and copper uptake and distribution in Mediterranean tree seedlings. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.97, n.1, p.111-117, 1996.
- BAKER, A.J.M. Accumulators and excluders: strategies in the response of plants to heavy metals. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v.3, n.1-4, p. 643-654, 1981.
- BECKETT, P. H. T., DAVIES, R. D. Upper critical levels of toxic elements in plants. **New Phytologist**, Oxon, v.79, p.95-106, 1977.

BHARGAVA, A.; CARMONA, F.F.; BHARGAVA, M.; SRIVASTAVA, S. Approaches for enhanced phytoextraction of heavy metals. **Journal of Environmental Management**, New York, v.105, p.103-120, 2012.

BROOKS, R.R.; LEE, J.; REEVES, R.D.; JAFFRE, T. Detection of nickeliferous rocks by analysis of herbarium species of indicator plants. **Journal of Geochemical Exploration**, v.7, p.49-57, 1977.

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

ENANY, A.E.; ATIA, M.A.; ABD-ALLA, M.H.; RMADAN, T. Response of bean seedlings to nickel toxicity: role of calcium. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Faisalabad, v.3, n.9, p.1447-1452, 2000.

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

GARBISU, C.; ALKORTA, I. Phytoextraction: a cost effective plant-based technology for the removal of metals from the environment. **Bioresource Technology**, Essex, v.77, p. 229-236, 2000.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. The water culture method for growing plant without soil. California Agri. Exp. Sta. Cir. **University of California Berkley Press**, CA, n.347, p.347, 1950.

KOPITTKE, P. M.; ASHER, C.J.; BLAMEY, F.P.C.; MENZIES, N.W. Tolerance of two perennial grasses to toxic levels of Ni²⁺. **Environmental Chemistry**, v.5, n.6, p.426-434, 2008.

KOPITTKE, P.M.; ASHER, C.J.; MENZIES, N.W. Toxic effects of Ni²⁺ on growth of cowpea (*Vigna unguiculata*). **Plant and Soil**, Dordrecht, v.292, n.01-02, p.283-289, 2007.

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

KÜPPER, H.; LOMBI, E.; ZHAO, F.J.; WIESHAMMER, G.; McGRATH, S.P. Cellular compartmentation of nickel in the hyperaccumulators *Alyssum lesbiacum*, *Alyssum bertolonii* and *Thlaspi goesingense*. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.52, n.365, p.2291-2300, 2001.

LOPEZ, M.Á.; MAGNITSKI, S. Nickel: the last of the essential micronutrients. **Agronomía Colombiana**, Bogotá, v.29, n.1, p.1-6, 2011

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

MISHRA, D; KAR, M. Nickel in plant growth and metabolism. **The Botanical Review**, New York, v.40, n.4, p.395-452, 1974.

NEDHI, A; SINGH, L.J; SINGH, S.I. Effect of cadmium and nickel on germination, early seedling growth and photosynthesis of wheat and pigeon pea. **International Journal of Tropical Agriculture**, Haryana, v.8, n.2, p.141-147, 1990.

NEVES, O.S.C; FERREIRA, E.V.O.; CARVALHO, J.G.; SOARES, C.R.F.S. Adição de níquel na solução nutritiva para o cultivo de mudas de umbuzeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.31, n.3, p.485-490, 2007.

NISHIDA, S.; TSUZUKI, C.; KATO, A.; AISU, A.; YOSHIDA, J.; MIZUNO, T. AtIRT1, the primary iron uptake transporter in the root, mediates excess nickel accumulation in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Cell Physiology**, Washington, v.52, n.8, p.1433-1442, 2011.

NRC. **Mineral tolerance of domestic animals**: second revised edition. 510 p, 2005.

PAIVA, H.N; CARVALHO, R.; PEREIRA, F.S.; GUEDES, J.C.; MELLONI, R. Influência de doses de níquel sobre o crescimento de mudas de aroeira (*Miracrodouon urundeuva* FR. ALL) em solução nutritiva. **Revista Cerne**, Lavras, v.7, n.1, p.114-121, 2001.

PAIVA, H.P.; CARVALHO, J.G.; SIQUEIRA, J.O. Efeito de Cd, Ni, Pb e Zn sobre mudas de cedro (*Cedrela fissilis* Vell.) e ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa* (Mart.) Standley) em solução nutritiva. **Revista Árvore**, Viçosa, v.24, n.4, p.369-378, 2000

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.

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

RAHMAN, H; et. al. Effects of nickel on growth and composition of metal micronutrients in barley plants grown in nutrient solution. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v.28, n.3, p.393-404, 2005.

REEVES, R.D; BAKER, A.J.M; BGRHIDI, A; BERAZAIN, R. Nickel-accumulating plants from the ancient serpentine soils of Cuba. **New Phytologist**, Oxon, v.133, n.2, p.217-224, 1996.

RUBIO, M.I.; ESCRIG, I.; MARTÍNEZ-CORTINA, C.; LÓPEZ-BENET, F.J. Cadmium and nickel accumulation in rice plants. Effect on mineral nutrition and possible interactions of abscisic and gibberellic acids. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v.14, n.2, p.151-157, 1994.

SABIR, M., SAIFULLAH, A.G.; REHMAN; M.Z.; AHMAD, H.R.; AZIZ, T. Growth and metal ionic composition of *Zea mays* as affected by nickel supplementation in the nutrient solution. **International Journal of Agriculture and Biology**, v.13, p.186-190, 2011.

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

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.

WELCH, R. M. The biological significance of Ni. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v.3, n.1-4, p.345-356, 1981.

YANG, X.E.; BALIGAR, V.C.; FOSTER, J.C.; MARTENS, D.C. Accumulation and transport in relation to organic acids in ryegrass and maize grown with different nickel levels. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.196, p. 271-276, 1997.

ARTIGO CIENTÍFICO II

CRESCIMENTO, TOLERÂNCIA, ACÚMULO E DISPONIBILIDADE DE NÍQUEL EM GRAMÍNEAS FORRAGEIRAS CRESCIDAS EM SOLO CONTAMINADO

RESUMO

A poluição do solo com metais pesados tem sido crescente em todo o mundo e a busca por plantas que possam ser usadas para remediação de áreas poluídas é uma alternativa interessante. O objetivo desse trabalho foi avaliar o crescimento, tolerância, acúmulo e disponibilidade de níquel (Ni) em gramíneas forrageiras crescidas em solo contaminado e avaliar a eficiência dos extratores Mehlich-1, DTPA pH 7,3, teor semitotal - USEPA 3051 e teor total - USEPA 3052 e a correlação entre os teores de Ni extraídos por eles e os teores absorvidos pelas gramíneas forrageiras. Por 90 dias, *Panicum maximum* cv. Aruana e cv. Tanzânia e *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk, *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés e cv. Marandu foram crescidas com adição de 0, 20, 40 e 120 mg kg⁻¹ de solo. Cada gramínea forrageira constituiu um experimento independente. As gramíneas forrageiras apresentaram resposta positiva à aplicação de doses de Ni. A ordem decrescente de tolerância ao aumento das doses de Ni foi: Basilisk > Xaraés > Marandu > Aruana > Tanzânia com base na dose crítica de toxidez. Os teores e acúmulo de Ni aumentaram em função das doses em todas as gramíneas forrageiras. Todos os extratores tiveram boa correlação com os teores de Ni encontrados nas plantas.

Palavras-chave: fitoextração, biorremediação, contaminação do solo, extrator

ABSTRACT

GROWTH, TOLERANCE, ACCUMULATION AND AVAILABILITY OF NICKEL IN FORAGE GRASSES GROWN IN CONTAMINATED SOIL

Soil pollution with heavy metals has been increasing around the world and search for plants that can be used for remediation of polluted areas is an interesting alternative. The aim of this study was to evaluate the growth, tolerance, accumulation and availability of nickel (Ni) in forage grasses grown in contaminated soil and evaluate the efficiency of Mehlich-1, DTPA pH 7.3, semitotal content - USEPA 3051 and total content - USEPA 3052 and the correlation between the concentrations of Ni extracted by them and the levels absorbed by forage grasses. For 90 days, *Panicum maximum* cv. Aruana and cv. Tanzânia and *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk, *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés and cv. Marandu and Ni doses were grown 0, 20, 40 and 120 mg kg⁻¹ of soil. Each forage grass was an independent experiment. The forage grasses showed positive response to treatment with doses of Ni. The order of decreasing tolerance to increasing doses of Ni was: Basilisk > Xaraés > Marandu > Aruana > Tanzania based on critical dose toxicity. Concentration and accumulation of Ni increased with the doses in all forage grasses. All extractors correlated well with the levels of Ni found in plants.

Key-words: phytoextraction, bioremediation, soil contamination, extractor.

INTRODUÇÃO

A contaminação do solo e da água através de substâncias tóxicas como metais pesados tem sido cada vez mais frequente. Isso em razão do aumento desenfreado das atividades antrópicas nas cidades depositando poluentes de forma indiscriminada em locais inadequados no meio ambiente. As principais atividades que têm aumentado os teores de metais pesados em solos são atividades industriais, como a indústria de produtos químicos, estações de serviço, indústria metalúrgica, fábricas de papel, curtumes, fábricas de têxteis, locais de eliminação de resíduos e agricultura intensiva (WONG, 2003; FREITAS et al., 2004).

O Ni é um metal pesado constantemente depositado no solo através das atividades antrópicas e a poluição com este elemento tem se tornado um problema de escala global. Embora o Ni seja um elemento essencial para as plantas (BROWN et al., 1987), teores inadequados deste metal no ambiente podem causar fitotoxicidade (GAJEWSKA et al., 2006; KOVÁCIK et al., 2009). Além disso, a elevação deste elemento no solo pode levá-lo a atingir a cadeia alimentar podendo afetar os animais e até o ser humano. A transferência do Ni do solo para as plantas dependerá em maior parte da sua biodisponibilidade.

A disponibilidade do Ni está relacionada com características do solo e das plantas. Os fatores que influenciam a fitodisponibilidade do Ni no solo são: pH, potencial redox, textura, composição mineral como conteúdo e tipos de argilas e de óxidos de Fe, Al e Mn, características do perfil, CTC, matéria orgânica, presença de outros metais pesados e outros fatores que afetam a atividade microbiana (ERNST, 1996; KABATA-PENDIAS e PENDIAS, 2001).

A solução do agente quelante DTPA, solução ácida Mehlich 1 e extrator Mehlich 3 e mistura de ácidos tem sido muito utilizadas 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. A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos recomenda a determinação do teor total presente na amostra (USEPA, 1993) para fazer o monitoramento da poluição do solo por metais pesados. Esta análise utiliza ácidos fortes e o ácido fluorídrico, que além de não ser rotina na análise de fertilidade do solo, nem sempre apresenta correlação com os teores absorvidos pelas plantas. 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.

As plantas que acumulam quantidades elevadas de Ni podem ser indicadas para fitorremediação . Plantas ideais para a fitorremediação devem apresentar várias habilidades como tolerar, crescer, e acumular metais sob as condições de clima e solo da área a ser remediada, rápido crescimento além de facilidade de colheita (JABEEN et al., 2009; SETH, 2012). Buscando uma abrangência de áreas e climas, a escolha dessas gramíneas teve proposito estratégico, uma vez que apresentam fácil adaptação a diversos ambientes, manejo relativamente fácil e proporcionam boa cobertura do solo, constituindo importantes componentes em sistemas agrícolas por melhorarem as condições físicas, químicas e biológicas do solo. As gramíneas forrageiras são, geralmente, pouco exigentes, com alta produção de biomassa e de crescimento rápido.

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento, tolerância, acúmulo e disponibilidade de níquel em gramíneas forrageiras crescidas em solo contaminado e avaliar a eficiência dos extratores Mehlich-1, DTPA pH 7,3, teor semitotal - USEPA 3051 e teor total - USEPA 3052 e a correlação entre os teores de Ni extraídos por eles e os teores acumulados nas gramíneas.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), em Diamantina (MG) (18° 14' S, 43° 36' W). O solo utilizado foi um Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico (EMBRAPA, 2006), por ser um solo com características representativas para a pecuária do Brasil Central, com textura Franco-Argilo-Arenoso, coletado na camada subsuperficial de 0,20-0,40 m, no município de Diamantina (MG), que foi destorroado, secado ao ar e passado em peneira de 5,0 mm de abertura. Foi tomada uma subamostra e passada em peneira de 2,0 mm de abertura, constituindo-se, assim, terra fina seca ao ar para análises químicas e de textura do solo (EMBRAPA, 1997) (Tabela 1). O teor de Ni no solo foi determinado, antes da aplicação das doses do Ni, pelos extratores Mehlich 1 (MEHLICH, 1978) e DTPA pH 7,3 (ABREU et al., 2001). O teor semitotal de Ni no solo foi definido pelo método da USEPA 3051 com digestão em forno de micro-ondas com HNO₃ (65 %) concentrado e de pureza analítica (USEPA, 1996) e teor total no solo pelo método da USEPA 3052, com digestão em forno de micro-ondas com H₂O₂+HNO₃+HF, e adição de H₃BO₃ (USEPA, 1994) obtendo-se o valor 0 (zero).

A calagem foi executada para elevar a saturação por bases para 45 % conforme recomendação de Alvarez V. e Ribeiro (1999) com calcário dolomítico. O solo permaneceu incubado por 30 dias, sob condição de umidade equivalente a 60 % do volume total de poros (VTP) (FREIRE et al., 1980), controlada por pesagem diária. A adubação básica de plantio foi conforme recomendação de Malavolta (1980) para experimento de vaso. Os nutrientes foram aplicados na forma de reagentes puros e misturados totalmente ao solo. As doses aplicadas consistiram de: 100 mg N (NH₄H₂PO₄, (NH₄)₂SO₄); 200 mg P (NH₄H₂PO₄); 150 mg K (KCl); 50 mg S ((NH₄)₂SO₄); 1 mg B (H₃BO₃), 1,5 mg Cu (CuCl₂), 5,0 mg Fe (FeSO₄.7H₂O-EDTA), 4,0 mg Mn (MnCl₂.H₂O) e 4 mg Zn (ZnCl₂) por kg de solo com incubação por 15 dias.

O delineamento foi inteiramente casualizado, com quatro repetições para cada gramínea forrageira. Foram utilizadas cinco gramíneas forrageiras (*Brachiaria decumbens* cv. Basilisk, *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés e cv. Marandu, *Panicum maximum* Jacq cv. Tanzânia e *Panicum maximum* cv. Aruana) e quatro doses de níquel (0, 20, 40 e 120 mg kg⁻¹ de solo) na forma de cloreto de níquel puro para análise. As doses de Ni foram baseadas nas diretrizes de uso e ocupação do solo conforme indicado pela CETESB (2005). O metal pesado foi aplicado após a calagem e a adubação básica de plantio, com incubação do solo por mais 15 dias sob condição de umidade equivalente a 60 % do VTP (FREIRE et al., 1980), controlada por pesagem diária.

Tabela 1. Análise de química e de textura do solo antes da aplicação dos tratamentos.

pH _{água}	P	K	Ca	Mg	Al	T	m	V	MO	Areia	Silte	Argila
	-- mg dm ⁻³ --		----- mmol _c dm ⁻³ -----				--- %----		g dm ⁻³	----- g kg ⁻¹ -----		
5,9	0,4	6	7	1	1	81	11	10	0,4	730	70	200

pH_{água} - Relação solo-água 1:2,5. P e K - Extrator Mehlich-1. Ca, Mg e Al - Extrator KCl 1 mol L⁻¹. T - Capacidade de troca de cátions a pH 7,0. m - Saturação de alumínio. V - Saturação por bases. MO - Matéria orgânica determinado através da multiplicação do resultado do carbono orgânico pelo método *Walkey-Black* por 1,724. Areia, silte e argila - Método da pipeta.

O plantio das forrageiras foi realizado com semeadura direta nos vasos plásticos contendo 4 kg de solo. A umidade do solo foi mantida em torno de 60 % do VTP, aferida diariamente através de pesagem, completando-se o peso com água deionizada. Após a germinação das plantas, foi efetuado desbaste, mantendo-se apenas uma planta por vaso. Depois de 30 dias após o desbaste foi feito um corte de uniformização a 0,03 m do colo da planta, dando início ao período de avaliação.

As plantas para avaliação foram cultivadas em três períodos de crescimento. Aos 30 dias do corte de uniformização, foi efetuado o primeiro (1^a) corte de avaliação, a 0,03 m do colo das plantas, o segundo (2^o) corte ocorreu 30 dias após o primeiro, enquanto o terceiro (3^o) aos 30 dias após o segundo corte. Foram feitas quatro adubações de cobertura com 50 mg N (uréia) por kg de solo a cada 5 dias, após o corte de uniformização no primeiro período de crescimento e cinco adubações de N com 60 mg N (uréia) por kg de solo para os dois últimos períodos de crescimento das forrageiras. Após efetuar o último corte, aos 90 dias do corte de uniformização, foi coletado o coleto (material de 0,03 m restante que recebeu os três cortes da parte aérea) e as raízes.

Após efetuar o último corte da parte aérea, aos 90 dias do corte de uniformização, foi coletado o restante da planta: coleto (parte da planta que liga as raízes à parte aérea) e as raízes. Todo o material vegetal coletado foi lavado na seguinte ordem: água de torneira, água destilada, detergente diluído, água destilada novamente, solução de HCl 0,1 mol L⁻¹ e finalizando em água deionizada, para retirada do excesso de metal que estava superficialmente em contato com a planta. Posteriormente, o material foi acondicionado em sacos de papel e seco em estufa com circulação forçada de ar, à temperatura de 65 °C, durante 72 horas. Após secagem, o material foi pesado em balança analítica, obtendo o peso de massa seca da parte aérea (MSPA), que se refere ao somatório da produção de massa seca dos três cortes, do coleto (MSC) e das raízes (MSR). Os materiais foram moídos e submetidos à análise química para determinação dos teores de Ni na massa seca. O material moído foi submetido à digestão nitroperclórica (ácido nítrico - 65 % v/v e ácido perclórico - 70 % v/v,

Merck) segundo metodologia descrita por Malavolta et al. (1997) e, o teor de Ni foi determinado por espectrometria de absorção atômica de forno de grafite (Perkin–Elmer Analyst 800). O controle de qualidade da análise de Ni foi verificado utilizando material de referência certificado (NIST SRM 1573a Folha de tomate).

Após o último corte das forrageiras, amostras de solo foram coletadas para quantificação do teor de Ni extraídos com Mehlich 1 (MEHLICH, 1978) e com DTPA pH 7,3 (ABREU et al., 2001). O teor semitotal de Ni pelo método da USEPA 3051 com digestão em forno de micro-ondas com HNO₃ (65 %) concentrado e de pureza analítica (USEPA, 1996), e os teores totais no solo definidos pelo método da USEPA 3052, com digestão em forno de micro-ondas com H₂O₂ + HNO₃ + HF, e posteriormente a adição de H₃BO₃ (USEPA, 1994). O teor de Ni foi determinado por espectrometria de absorção atômica de forno de grafite (Perkin–Elmer Analyst 800). O controle de qualidade da análise de Ni no solo foi realizado com amostras certificadas de solo (NIST SRM 2709 San Joaquin soil).

Para a determinação da dose recomendada (DR) e crítica de toxidez (DCT) de Ni que proporcionou 90% do máximo e redução de 10% (BECKETT e DAVIS, 1977) respectivamente no crescimento máximo das forrageiras estudadas, utilizou-se um procedimento multivariado por meio do processo da variável canônica (MORRISON, 1967). Com a variável canônica de maior autovalor obtiveram-se os escores a partir do vetor observação de cada unidade experimental das variáveis de crescimento das forrageiras estudadas, reduzindo-o para um único valor. Tais escores foram submetidos à análise de variância univariada conjunta e estudo de regressão das doses de Ni. A partir das equações obtidas, estimaram-se as doses de Ni que proporcionou 90% do máximo (DR) e redução de 10% (DCT) no valor da variável canônica. Na análise estatística foi utilizado o programa SAS for Windows pelos procedimentos PROG GLM e REG.

A faixa de suficiência (FS) de Ni na MSPA, MSC e MSR das forrageiras e de Ni extraídos pelos métodos de extração do solo (Mehlich 1, DTPA pH 7,3, USEPA 3051 e USEPA 3052) foi obtida substituindo-se a DR e DCT nas equações que relacionam as doses de Ni com essas variáveis. Para o acumulado de Ni, foi feita a distribuição percentual na MSPA, MSC e MSR para as forrageiras na dose de Ni para o máximo (DNi_{Max}) crescimento das forrageiras.

Estudos de correlação foram feitos para avaliar as relações entre as concentrações de Ni pelos extratores químicos do solo (Mehlich-1 e DTPA pH 7,3) e métodos (USEPA 3051 e USEPA 3052) e o acúmulo de Ni na MSPA das forrageiras para fins de definição de melhor extrator para avaliação de disponibilidade de Ni no solo.

A transferência Ni do solo para a massa seca total (MST), que se refere à parte aérea (MSPA) + coletor (MSC), para cinco forrageiras foi calculada utilizando o coeficiente de transferência (ct) por meio da fórmula (USEPA, 1992): $ct = TC/SC$; onde ct: coeficiente de transferência de Ni do solo para as plantas; TC: o teor de Ni na MST (MSPA + MSC) em $mg\ kg^{-1}$ e SC: concentração de Ni total no solo ($mg\ kg^{-1}$). Para esta variável foi realizado à análise de variância conjunta que constaram do estudo de doses de Ni dentro de cada forrageira. As equações de regressão foram ajustadas para a variável em função das doses de Ni.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O crescimento das gramíneas foi influenciado pelas doses crescentes de Ni aplicadas ao solo ($p < 0,01$). Pelos escores de crescimento das gramíneas forrageiras da variável canônica ($VC = 0,1225 \cdot MSPA + 0,3239 \cdot MSC + 0,1344 \cdot MSR$ com autovalor = 95%) verifica-se que houve aumento do crescimento das gramíneas forrageiras nas primeiras doses de Ni no solo e posterior diminuição com a elevação dessas doses (Figura 1).

As cultivares avaliadas apresentou uma resposta positiva ao aumento das doses de Ni aplicadas ao solo, apresentando resposta raiz quadrática (Aruana e Xaraés) e cúbica (Tanzânia, Marandu e Basilisk) ao aumento da concentração de Ni (Figura 1). Observa-se resposta positiva no crescimento das cultivares Aruana e Tanzânia até a dose de 20 mg kg^{-1} e Marandu, Xaraés e basilisk até a dose de 40 mg kg^{-1} .

As cultivares apresenta exigência suscetibilidade distinto umas das outras à concentração de Ni no solo. A partir da dose recomendada (DR) obtém-se a ordem decrescente de exigência de Ni no solo é Marandu, Basilisk, Xaraés, Tanzânia e Aruana. Já a ordem decrescente de tolerância ao Ni no solo com base na dose crítica de toxidez (DCT) é Basilisk, Xaraés, Marandu, Aruana e Tanzânia.

As respostas positivas das gramíneas ao Ni no solo corroboram os resultados de Parida et al. (2003), que avaliaram o efeito do aumento do teor de Ni no solo sobre o feno-grego (*Trigonella corniculata* L.) constatando que o Ni aumentou ligeiramente os rendimentos da massa seca até uma dose de 20 mg kg^{-1} de solo, porém reduziu a matéria seca desta planta a partir de doses maiores que 40 mg kg^{-1} de Ni aplicados ao solo. Ambos os resultados podem ser explicados pelo fato de que o Ni, apesar de ser tóxico em doses elevadas para as plantas, seja um nutriente essencial para as plantas em doses adequadas (BROWN et al., 1987), podendo elevar o crescimento e produtividade.

Outra avaliação mostra o efeito do Ni em crescentes doses no solo sobre o crescimento aveia (*Avena sativa* L.). As doses aplicadas ao solo foram: 0; 14; 28; 56; 84 e 168 mg kg^{-1} de Ni. Foi observado um aumento de até 25% na produção de sementes até a dose de 56 mg kg^{-1} ao passo que a dose de 168 mg kg^{-1} de Ni foi tóxico levando as plantas à morte (POULIK, 1997).

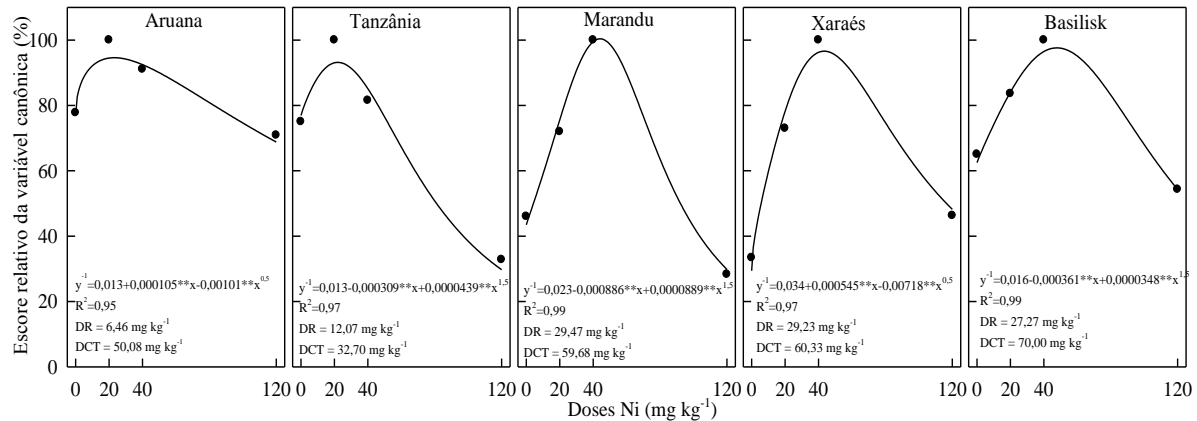


Figura 1. Escore relativo da variável canônica (MSPA + MSC + MSR) da análise multivariada de cinco gramíneas forrageiras em função de doses de Ni aplicadas no solo e dose recomendada (DR) e crítica de toxicidade (DCT) num período de 90 dias após o corte de uniformização. (** significativo a 1% pelo teste t)

O Ni é essencial para as plantas: como constituinte de várias metaloenzimas, entre elas a urease, algumas superóxidos dismutases (SOD), NiFe hidrogenases, metil coenzima M redutase, acetil coenzima A sintase, RNase A, entre outras. Portanto a deficiência de Ni reduz a atividade da urease e altera a assimilação de nitrogênio (N), reduz a atividade da SOD, diminuindo a eliminação de radicais livres superóxidos. Outro papel importante do Ni nas plantas é sua contribuição para a síntese de fitoalexinas, aumentando a resistência da planta a vários tipos de estresse (AHMAD et al., 2011).

Revoredo e Melo (2006), analisaram a produção de MS de plantas de sorgo (*Sorghum bicolor* L.) em um experimento onde se aplicava crescentes doses de Ni via lodo de esgoto ao solo. Esses autores observaram diferença significativa entre a produção de MS das folhas e colmo, onde as folhas produziram mais MS que os colmos. Em um tratamento onde se adicionou 746 mg kg⁻¹ de Ni, via lodo de esgoto, a produção de MS pelas folhas foi maior que as demais partes da planta. Gad et al. (2007) ao avaliarem o efeito de crescentes doses de Ni em um solo arenoso sobre o tomateiro (*Lycopersicon esculentum* L.) aos 105 dias após transplantio, também observaram aumento significativo nos pesos secos das raízes, parte aérea e frutos numa dose de 30 mg kg⁻¹ de Ni, melhorando inclusive aspectos visuais e bioquímicos do tomateiro. Doses 45 e 60 mg kg⁻¹ fizeram esses parâmetros decrescerem.

Teor de Ni na massa seca

Foi verificado aumento do teor de Ni em todas as cultivares avaliadas e em todos os órgãos das plantas analisados na medida em que se elevaram as doses de Ni aplicadas ao solo (Tabela 1). Os coeficientes das equações ajustadas mostram que os maiores teores Ni são

observados na MSC, seguido da MSR e MSPA. O maior teor de Ni foi observado na MSC, 62,8 mg kg⁻¹, na maior dose aplicada (120 mg kg⁻¹ de solo).

Analisando os órgãos das plantas (Tabela 2), pode-se observar que a cultivar Tanzânia apresenta os maiores teores de Ni na MSPA e MSC, seguida da cultivar Basilisk. A cultivar Aruana apresenta os menores teores de Ni na MSPA e MSC. Já para MSR a cultivar Basilisk apresenta os maiores teores de Ni, seguido da cultivar Aruana, uma vez que a cultivar Tanzânia apresenta os menores teores de Ni neste órgão.

Uma faixa de suficiência é observada quando os teores de Ni na planta estão entre os teores correspondentes à DR e da DCT no solo. Teores abaixo da faixa de suficiência indicam deficiência e acima dela a planta apresenta toxidez. A maioria das plantas apresentam uma faixa de suficiência de 0,05-5 mg kg⁻¹ de Ni nas folhas e teores maiores que 10 mg kg⁻¹ são considerados tóxicos para a grande maioria de plantas (LIU, 2001). A faixa adequada é de 0,22-10,3 mg kg⁻¹ para feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) (WALKER et al., 1985). Já a soja (*Glycine max*), quando apresentou teor de Ni abaixo de 0,04 mg kg⁻¹ estava deficiente deste nutriente (ESKEW et al., 1984).

Tabela 2. Equações de regressão ajustadas entre o teor de Ni nas diversas massas secas das gramíneas, como variável dependente (y) das doses de Ni aplicadas (x) no solo, e faixa de suficiência (FS) correspondente entre DR e DCT das gramíneas avaliadas por 90 dias em solo contaminado.

Forrageira	Equação de regressão	R ²	FS mg kg ⁻¹
Massa seca da parte aérea (MSPA)			
Aruana	$y = 0,77 + 1,0259**x^{0,5}$	0,98	3,4 - 8,0
Tanzânia	$y = 1,48 + 0,2873**x$	0,99	4,9 - 10,9
Marandu	$y = 1,45 + 0,1856**x$	0,99	6,9 - 12,5
Xaraés	$y = 1,50 + 1,6322**x^{0,5}$	0,99	10,3 - 14,2
Basilisk	$y = 0,10 + 0,2415**x$	0,99	6,7 - 17,0
Massa seca do coleto (MSC)			
Aruana	$y = 0,62 + 1,3824**x^{0,5}$	0,94	4,1 - 10,4
Tanzânia	$y = 1,86 + 0,6095**x$	0,98	9,2 - 21,8
Marandu	$y = 2,65 + 0,4386**x$	0,99	15,6 - 28,8
Xaraés	$y = 1,70 + 3,0146**x^{0,5}$	0,99	18,0 - 25,1
Basilisk	$y = 0,11 + 0,5806**x$	0,97	15,9 - 40,8
Massa seca de raízes (MSR)			
Aruana	$y = 0,08 + 3,5736**x^{0,5}$	0,98	9,2 - 25,4
Tanzânia	$y = 2,35 + 3,025**x^{0,5}$	0,99	12,9 - 19,6
Marandu	$y = 0,86 + 3,2676**x^{0,5}$	0,99	18,6 - 26,1
Xaraés	$y = 0,88 + 3,5423**x^{0,5}$	0,99	20,0 - 28,4
Basilisk	$y = 0,18 + 0,6253**x$	0,99	17,2 - 44,0

** Significativo a 1% pelo teste de t.

Os teores de Ni nos órgãos das plantas são dados importantes principalmente para informações de interesse zootécnico. Caso as concentrações de Ni não excedam o máximo permitido nas folhas, o consumo pelos animais poderia ser permitido, isso aliado ao interesse ambiental, onde as plantas poderiam ser cultivadas em áreas poluídas com o metal pesado. Valores entre 30,0 a 68 mg kg⁻¹ de Ni foram observados em folhas de leguminosas e gramíneas gramíneas utilizadas para alimentação animal em Soone Valley, Salt Range no Paquistão (AHMAD et al., 2009), estando abaixo dos 100 mg kg⁻¹ aceitáveis para animais ruminantes (NCR, 2005).

Gad et al. (2007) avaliaram o efeito do aumento da concentração do Ni no solo sobre a parte aérea e frutos do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* L.), onde foram usadas as concentrações de 0; 15; 30; 45 e 60 mg kg⁻¹ de solo. Foi observado aumento significativo nos teores de Ni tanto nas folhas quanto nos frutos com o aumento das concentrações do metal no solo. O valor máximo atingido nas folhas foi de 42 ppm de Ni e nos frutos este valor foi de 11,5 ppm. Netty et al. (2013) compararam os teores de Ni de raízes e parte aérea em 5 espécies de plantas em solo contaminado (94 mg kg⁻¹) com este metal. A espécie (*Sarcotheca celebica*) foi a planta que apresentou o maior teor, 39,94 mg kg⁻¹ de Ni na matéria seca, além de ter sido a planta mais tolerante ao elevado teor de Ni no solo. *Tephrosia sp* foi a planta que apresentou o menor teor, 1,85 mg kg⁻¹. Em geral os teores de Ni foram maiores nas raízes do que na parte aérea das plantas, uma vez que os teores de Ni na parte aérea não diferiram significativamente entre as espécies estudadas.

Acúmulo de Ni nas gramíneas

O comportamento foi diferenciado em resposta ao incremento das doses de Ni ao solo (Tabela 3). Em média os maiores acúmulos do Ni foram observados na MSPA, seguido pela MSR e os menores acúmulos são registrados na MSC. O maior acúmulo de Ni é observado na cultivar Basilisk, na MSPA (325,7 µg/vaso), seguido da cultivar Tanzânia (185,6 µg/vaso), cultivar Aruana (159,4 µg/vaso), cultivar Marandu (151,7 µg/vaso), e finalmente na cultivar Aruana na MSR (125,5 µg/vaso). A dose correspondente ao maior acúmulo de Ni foi de 120 mg kg⁻¹ de solo, observado na cultivar Basilisk. O menor acúmulo de Ni é observado na MSC da cultivar Xaraés, de acordo com os coeficientes das equações de regressão ajustadas. Esta mesma cultivar demonstra pequeno acúmulo para a MSR quando comparado às outras cultivares. A cultivar Aruana também apresenta baixo acúmulo de Ni na MSC quando comparada às outras cultivares.

Tabela 3. Equações de regressão ajustadas entre o acúmulo de Ni nas diversas massas secas de cinco gramíneas forrageiras, como variável dependente (y) das doses de Ni aplicadas (x) no solo, e a dose de Ni (DNi_{Max}) correspondente ao acúmulo de Ni máximo (ANi_{Max}) num período de 90 dias após o corte de uniformização.

Forrageira	Equação de regressão	R^2	DNi_{Max} mg kg ⁻¹	ANi_{Max} µg/vaso
Massa seca da parte aérea (MSPA)				
Aruana	$y = 10,89 + 3,1776**x - 0,0170**x^2$	0,99	93,5	159,4
Tanzânia	$y = 9,23 + 4,0547**x - 0,0233**x^2$	0,99	87,0	185,6
Marandu	$y = 7,83 + 3,8383**x - 0,0256**x^2$	0,92	75,0	151,7
Xaraés	$y = 2,50 + 2,3742**x - 0,0166**x^2$	0,97	71,5	87,4
Basilisk	$y = 15,80 + 2,5825**x$	0,99	120,0	325,7
Massa seca do colmo (MSC)				
Aruana	$y = 2,57 + 1,0657**x - 0,0063**x^2$	0,98	84,6	47,6
Tanzânia	$y = 5,70 + 13,0770**x^{0,5} - 0,5456**x$	0,99	39,5	66,3
Marandu	$y = 1,53 + 2,0158**x - 0,0134**x^2$	0,93	75,2	77,3
Xaraés	$y = 0,15 + 0,4839**x - 0,0031**x^2$	0,93	75,7	17,3
Basilisk	$y = 7,56 + 0,6572**x$	0,98	120,0	86,4
Massa seca de raízes (MSR)				
Aruana	$y = 5,10 + 2,9846**x - 0,0185**x^2$	0,99	80,7	125,5
Tanzânia	$y = 9,89 + 2,4592**x - 0,0203**x^2$	0,87	60,6	84,4
Marandu	$y = 1,93 + 2,4806**x - 0,0192**x^2$	0,92	64,6	82,1
Xaraés	$y = 0,35 + 0,6801**x - 0,0048**x^2$	0,99	70,8	24,4
Basilisk	$y = 3,83 + 2,5201**x - 0,0171**x^2$	0,95	73,7	96,7

** Significativo a 1% pelo teste de t.

As cultivares Xaraés e Basilisk são as que apresentam os menores percentuais de acúmulo de Ni nas raízes, sendo de 19 % neste compartimento para as duas cultivares (Figura 2). Do ponto de vista zootécnico, a respeito à alimentação animal, estas seriam as cultivares menos recomendadas para este fim, pois a probabilidade de contaminação dos animais seria maior neste caso. O maior percentual de acúmulo de Ni na MSR é observado na cultivar Aruana (38 %), o que promoveria esta forrageira como a mais recomendada para alimentação animal em área contaminada, se fosse observado apenas este critério.

As cultivares que acumulam os maiores percentuais de Ni na parte aérea (cortes) seguem a seguinte ordem decrescente: Xaraés > Basilisk > Tanzânia > Marandu > Aruana (Figura 2). Se fosse seguir apenas esse critério, esta seria também a ordem de recomendação para fitorremediação de áreas contaminadas ou poluídas com o Ni. Os maiores percentuais de acúmulo de Ni estão concentrados na parte aérea para todas as cultivares, mantendo-se uma distribuição mais equilibrada apenas na cultivar Aruana. Esta distribuição percentual do MP entre os órgãos da planta reflete bem a mobilidade do mesmo e permite assegurar com maior clareza a finalidade de uso das cultivares para processos de fitorremediação de áreas contaminadas.

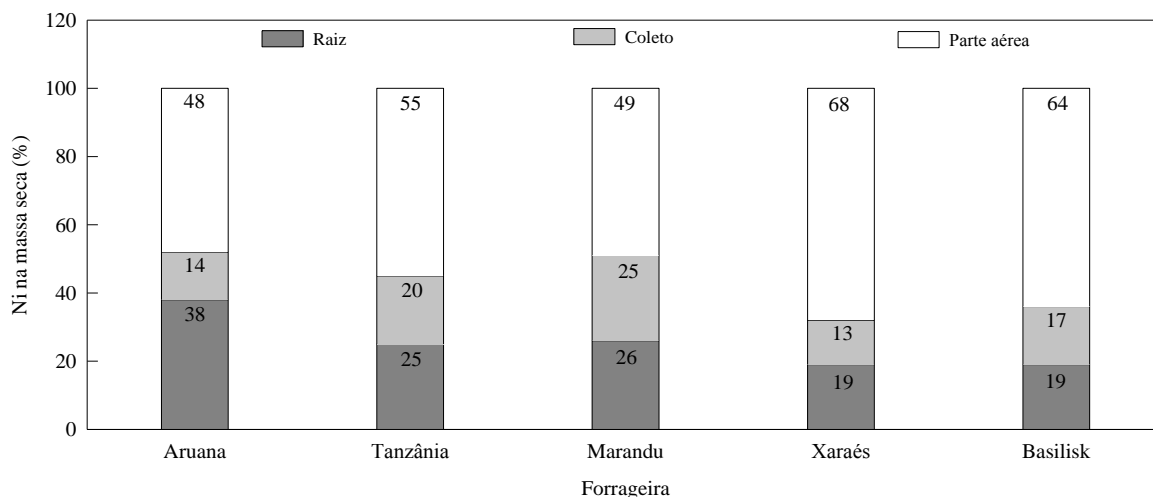


Figura 2. Distribuição percentual de acúmulo de Ni na massa seca na parte aérea, no coletor e nas raízes na dose de Ni (DNi_{Max}) de gramíneas no solo num período de 90 dias após o corte de uniformização.

Ao comparar o acúmulo de Ni nas doses de 50 e 100 mg kg⁻¹ de solo pela grama bermuda (*Cynodon dactylon*) e capim festuca (*Festuca arundinacea*) nas raízes e parte aérea, Soleimani et al. (2009) observaram que o capim festuca acumulou mais Ni nas raízes do que a grama bermuda. Já a grama bermuda acumulou mais Ni na parte aérea do que o capim festuca em pelo menos um dos solos avaliados. Os maiores acúmulos foram registrados nas raízes do capim festuca (25-30 mg kg⁻¹) e também na parte aérea da grama bermuda (25-30 mg kg⁻¹). Estes autores concluíram que estas espécies não podem ser consideradas hiperacumuladoras de Ni.

A capacidade de acúmulo de metais pesados varia muito entre as espécies de plantas. Naser et al. (2011) avaliando três espécies de plantas, *Spinacia oleracea*, *Amaranthus oleraceus* e *Amaranthus tricolor* em um solo com teor total de Ni de 14,4 mg kg⁻¹, observaram acúmulo diferenciado para as espécies, encontrando valores de 3 a 6 mg kg⁻¹ de Ni na MS num período de 50 dias após plantio. Em solos com elevadas concentrações de Ni, a exemplo dos solos ultramáficos, plantas com elevada tolerância e capacidade de acúmulo de metal pesado (hiperacumuladoras), podem apresentar acúmulo muito superiores que ao das cultivares testadas neste experimento. Mizuno et al. (2003), ao avaliarem o acúmulo e distribuição de Ni em *Thlaspi japonicum*, uma planta hiperacumuladora de Ni, em um solo com teor total deste elemento de 2,0 g kg⁻¹ de solo, observaram um acúmulo de Ni de até 2700 mg kg⁻¹ de massa seca foliar, onde a maior parte do Ni era encontrado na epiderme das folhas.

Teores de Ni no solo

Os teores de Ni obtidos no solo pelos extratores Mehlich-1, DTPA pH 7,3, USEPA 3051 e USEPA 3052, de acordo com as equações de regressão ajustadas, aumentaram linearmente com aumento das doses de Ni aplicadas ao solo (Tabela 4), sendo notado maiores teores de Ni no solo extraídos pelo método de extração total (USEPA 3052), seguido pelo método semitotal (USEPA 3051), depois Mehlich-1 e DTPA pH 7,3. Os teores de referência para metais pesados no solo comumente são atribuídos pelos métodos de extração total e semitotal (USEPA 3052 e 3051), como nas tabelas da CETESB (2005), por exemplo. Já o extrator quelante DTPA é utilizado como extrator oficial nas rotinas de laboratório para micronutrientes no estado de São Paulo, enquanto o Mehlich-1 é utilizado em Minas Gerais.

Os maiores teores de Ni extraídos do solo por todos extratores foram na maior dose do metal aplicado ao solo (120 mg kg^{-1}), com 118,8; 104,56; 56,73 e $39,65 \text{ mg kg}^{-1}$ de Ni para USEPA 3052, USEPA 3051, Mehlich-1 e DTPA pH 7,3.

Os maiores teores de Ni do solo extraídos pelo método USEPA 3052, ocorreu devido este extrator ser composto de uma mistura de ácidos concentrados ($\text{H}_2\text{O}_2 + \text{HNO}_3 + \text{HF} + \text{H}_3\text{BO}_3$), e esta solução consegue recuperar quase todo o Ni aplicado ao solo, por ter a capacidade de atacar todas as formas a que o metal se encontra, solubilizando e extraíndo as formas mais difíceis.

A biodisponibilidade de metais pesados no solo depende de vários fatores intrínsecos ao solo, como pH, teor de matéria orgânica, teor de argila, potencial redox, entre outros. Alguns autores relataram a influencia de alguns destes fatores sobre vários metais catiônicos como o Ni, Zn, Pb, Cu, Cd (ALBASEL e COTTENIE, 1985; HOODA e ALLOWAY, 1996) e concluíram que a variação nestes fatores altera a disponibilidade de metais pesados no solo tornando-os mais ou menos disponíveis. Portanto a disponibilidade do Ni para as plantas fica sujeita à interação destes fatores do solo apresentando comportamento diferente do observado em solução nutritiva.

O teor superior obtido na FC que corresponde à DCT com o extrator total (USEPA 3052) é maior que o teor preconizado como referência de qualidade pela CETESB (CETESB, 2005) para todas as cultivares de gramíneas estudadas (Tabela 4). O referido teor de referência de qualidade é de 13 mg kg^{-1} , enquanto os teores superiores na FC obtidos pelo USEPA 3052 para as cultivares Aruana, Tanzânia, Marandu, Xaraés e Basilisk são: 43,6; 32,6; 49,2; 55,4 e $60,0 \text{ mg kg}^{-1}$. Esses teores são maiores até que o teor preconizado como de prevenção, que é de 30 mg kg^{-1} (CETESB, 2005).

Tabela 4. Equações de regressão ajustadas entre os teores de Ni no solo extraído Mehlich 1, DTPA pH 7,3, USEPA 3051 e USEPA 3052 como variável dependente (y) das doses de Ni aplicadas (x) no solo, e faixa crítica (FC) correspondente entre DR e DCT das gramíneas avaliadas por 90 dias em solo contaminado.

Forrageira	Equação de regressão	R ²	FC mg kg ⁻¹
Mehlich 1			
Aruana	$y = 0,17 + 0,4514^{**}x$	0,99	3,1 - 22,8
Tanzânia	$y = 0,15 + 0,4714^{**}x$	0,99	5,8 - 15,6
Marandu	$y = 0,14 + 0,4631^{**}x$	0,99	13,8 - 27,8
Xaraés	$y = 0,19 + 0,4224^{**}x$	0,99	12,5 - 25,7
Basilisk	$y = 0,10 + 0,4341^{**}x$	0,99	11,9 - 30,5
DTPA pH 7,3			
Aruana	$y = 0,08 + 0,2866^{**}x$	0,99	1,9 - 14,4
Tanzânia	$y = 0,05 + 0,3360^{**}x$	0,99	4,1 - 11,0
Marandu	$y = 0,07 + 0,3059^{**}x$	0,99	9,1 - 18,3
Xaraés	$y = 0,05 + 0,2909^{**}x$	0,99	8,6 - 17,6
Basilisk	$y = 0,03 + 0,3170^{**}x$	0,99	8,7 - 22,2
USEPA 3051			
Aruana	$y = 0,01 + 0,7744^{**}x$	0,99	5,0 - 38,8
Tanzânia	$y = 0,01 + 0,8714^{**}x$	0,99	10,5 - 28,5
Marandu	$y = 0,01 + 0,7773^{**}x$	0,99	22,9 - 46,4
Xaraés	$y = 0,01 + 0,7702^{**}x$	0,99	22,5 - 46,5
Basilisk	$y = 0,01 + 0,7687^{**}x$	0,99	21,0 - 53,8
USEPA 3052			
Aruana	$y = 0,01 + 0,8704^{**}x$	0,96	5,6 - 43,6
Tanzânia	$y = 0,01 + 0,9965^{**}x$	0,99	12,0 - 32,6
Marandu	$y = 0,01 + 0,8238^{**}x$	0,96	24,3 - 49,2
Xaraés	$y = 0,01 + 0,9186^{**}x$	0,98	26,9 - 55,4
Basilisk	$y = 0,01 + 0,8566^{**}x$	0,97	23,4 - 60,0

** Significativo a 1% pelo teste de t.

O método USEPA 3052 é adequado para monitorar os teores de Ni nesse solo para essas cultivares de gramíneas. O teor de referência de qualidade também está dentro da FC obtida com os outros extratores aqui estudados, com exceção do DTPA na cultivar Tanzânia.

Na comparação de quatro métodos de extração para prever disponibilidade de Ni em solos calcários em não calcários poluídos com este metal, utilizaram-se 0,005 mol L⁻¹ DTPA, 1 mol L⁻¹ NH₄Cl, 0,01 mol L⁻¹ CaCl₂, 0,01 mol L⁻¹ SrCl₂, todos os métodos a 20 °C de temperatura. O extrator DTPA extraiu mais Ni em solos calcários do que os extratores na forma de cloretos, embora o cloreto de amônio tenha extraído mais Ni em pelo menos dois dos três solos não calcários avaliados (AYDINALP e KATKAT, 2004). Já em latossolos (LATOSSOLO VERMELHO Distrófico e LATOSSOLO AMARELO Distrófico) tratados com lodo de esgoto foi observado que os extratores, solução 0,1 mol L⁻¹ de HCl, Mehlich 3 e

DTPA pH 7,3, não foram eficientes na previsão da disponibilidade de Ni (ANJOS e MATTIAZZO, 2001).

Extratores químicos e acúmulo de Ni na MSPA

As correlações foram positivas entre o acúmulo de Ni nas cultivares de gramíneas forrageiras e os teores de Ni extraídos pelos extratores químicos estudados (Figura 3). Todos os extratores avaliados podem ser considerados bons para prever a disponibilidade de Ni para as cultivares avaliadas.

Os extratores Mehlich-1 e DTPA pH 7,3 se correlacionam bem com o acúmulo de Ni nas plantas da mesma forma que os extratores USEPA 3051 e USEPA 3052 após o período de 90 dias da aplicação do Ni ao solo, estes dois últimos utilizados mundialmente como referência de qualidade em relação a teores de metais pesados no solo. A CETESB utiliza o método de extração total (USEPA 3052) na tabela de referência da qualidade dos solos (CETESB, 2005).

A eficiência de nove diferentes extratores químicos em extrair o Ni e as correlações desses extratores com a absorção de Ni pelo sorgo (*Sorghum bicolor*) já foi avaliada em diferentes amostras de solos aluviais, utilizando 0,02 mol L⁻¹ EDTA; NH₄ OAc 1 mol L⁻¹ a pH 7,0; H₂SO₄ 0,05 mol L⁻¹; HCl 0,1 mol L⁻¹; HNO₃ 0,1 mol L⁻¹; CH₃COOH 0,5 mol L⁻¹; ácido cítrico 1%; K₄ P₂O₇ 0,1 mol L⁻¹ e reagente de Grigg. Os extratores que melhor se correlacionaram com a absorção de Ni pelo sorgo foram o reagente de Grigg (r= 0,94) e o HCl (r=0,74) (MISRA e PANDE, 1974).

O extrator DTPA apresentou alta correlação entre os teores de Ni por este extraído e os teores de Ni observado nas folhas e nos grãos de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*), mostrando uma elevada eficiência deste extrator para estimar a fitodisponibilidade de Ni (BERTON et al., 2006). O extrator Mehlich-3 foi o que mais se correlacionou com as quantidades de Ni extraídas por plantas de sorgo (REVOREDO e MELO, 2006). Esses resultados levam a crer que cada planta absorve o Ni de maneira particular, dependendo de fatores genéticos e ambientais, o que leva à necessidade de estudos de extratores específicos para cada planta e tipo de solo. Soleimani et al. (2009) observaram uma alta correlação (r=0,94) entre o acúmulo de Ni na grama bermuda e capim festuca (*Festuca arundinacea*) e o Ni extraído pelo DTPA, mostrando relação direta entre Ni extraído no solo e absorção deste metal por estas gramíneas.

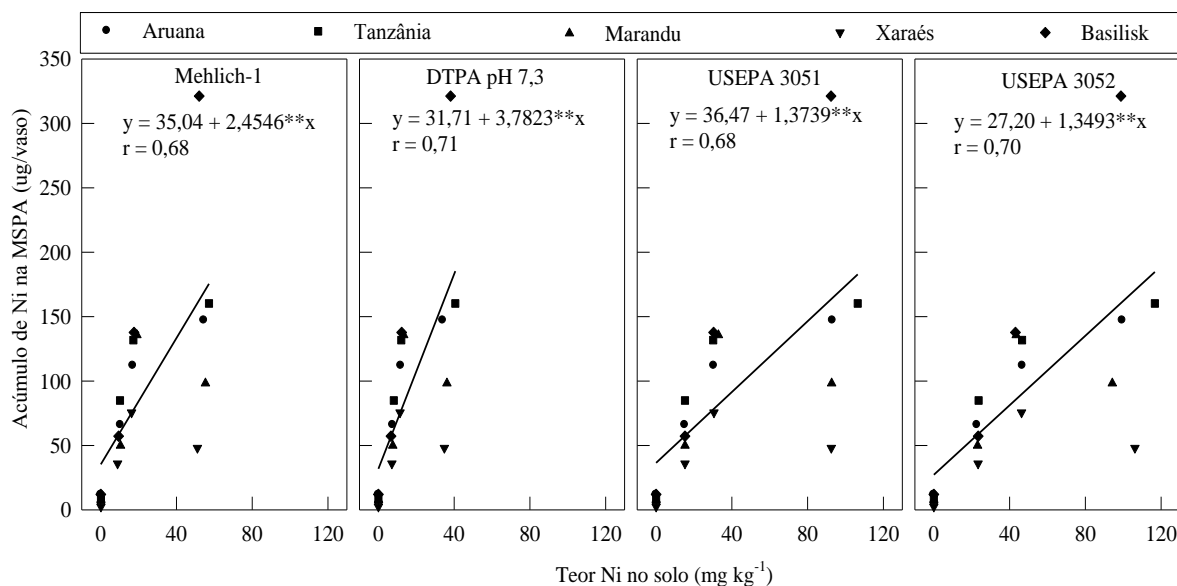


Figura 3. Relação entre o acumulado de Ni na massa seca da parte aérea (MSPA) das gramíneas forrageiras e os extratores químicos do solo (Mehlich-1, DTPA pH 7,3, USEPA 3051 e USEPA 3052) num período de 90 dias após o corte de uniformização. (**: significativo a 1% pelo teste t).

Coefficiente de transferência

O potencial das plantas em extrair o Ni do solo foi avaliado pelo coeficiente de transferência (ct). O movimento ou transferência do metal pesado do local de absorção para as outras partes da planta pode ser obtido pelo ct, neste caso, avaliando a capacidade das plantas em absorver e transportar o Ni do solo para a parte aérea das gramíneas. Este ct pode ser usado como um indicador de aptidão de plantas para a função de fitoextratoras de metais pesados em áreas contaminadas ou poluídas.

O ct de Ni na MST variou com as gramíneas e com as doses do metal no solo (Figura 4). O maior ct foi observado na cultivar Tanzânia e o menor na cultivar Aruana, sendo que este parâmetro apresentou resposta quadrática com o aumento das doses de Ni no solo. O ct decresce a partir da dose de 40 mg kg⁻¹ de Ni para todas as cultivares avaliadas. Esse declínio do ct pode ser explicado pela fitotoxicidade do Ni nas gramíneas. A toxidez do Ni nas plantas tende a reduzir as atividades metabólicas e funcionamento fisiológico normal do vegetal, acarretando em menor absorção do metal do solo e diminuição da transferência para a parte aérea.

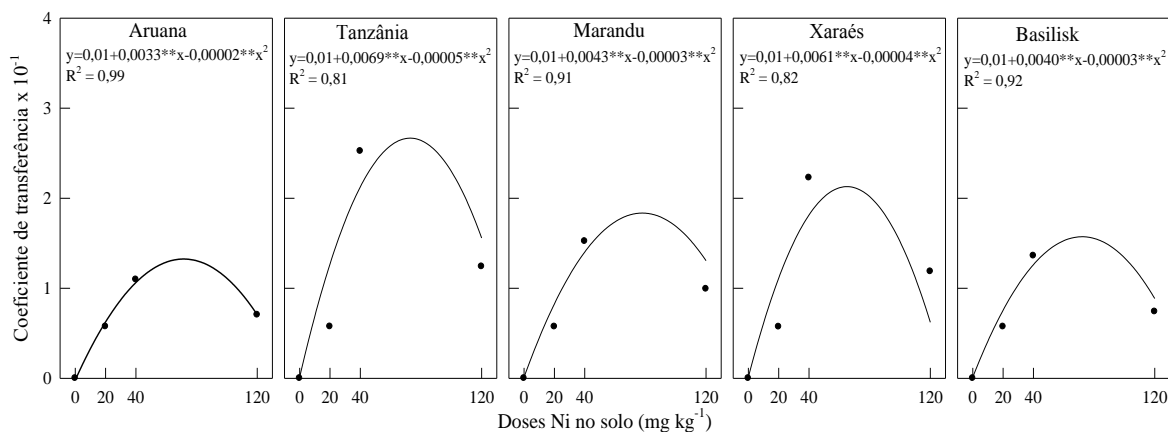


Figura 4. Coeficiente de transferência (ct) [relação entre Ni na MST (parte aérea + coleto), mg kg⁻¹/total Ni no solo, mg kg⁻¹) de gramíneas crescidas em solo contaminado com Ni. (** significativo a 1% pelo teste t)

O comportamento observado na Figura 4 mostra um ct variável entre as cultivares e espécie de plantas avaliadas. Estes resultados estão de acordo com a afirmação de Accioly e Siqueira (2000) que assegura que a capacidade de transferência de metais do solo para a planta é alta com baixas concentrações de metais e baixa com altas concentrações.

O ct relaciona-se diretamente com a fração disponível do metal pesado no solo, pois quanto maior o ct maior será a biodisponibilidade do elemento em relação ao seu teor total no solo. Porém o ct pode variar muito com um grande número de parâmetros do solo uma vez que algumas regressões entre propriedades do solo e absorção de metais pesados já foram observadas (PUSCHENREITER e HORAK, 2000). Como exemplo, a textura do solo influenciou no ct de níquel do solo para o trevo vermelho (*Trifolium partense* L.) observando-se maior ct em solo franco-arenoso (15% de argila), seguido de arenoso (5% de argila) e por último siltoso (45% de argila) (ABDEL-SABOUR, 1991).

Os ct_s observados para as cinco plantas aqui avaliadas são em geral maiores que os observados por Jolly et al. (2013) que calcularam a transferência de vários metais pesados para várias plantas. No trabalho destes autores o Ni apresentou um ct maior que o Pb e menor que o Cd. O ct do Ni em rabanete (*Raphanus sativus*) foi 0,037 e na couve-flor (*Brassica oleracea*) 0,039, enquanto o ct de Pb foi de 0,034 em rabanete e 0,015 em couve-flor; já o Cd apresentou FT de 0,778 para rabanete e 0,192 para couve-flor.

A transferência de metal pesado do solo para a planta também pode ser calculada com base em outro extrator, em vez de ser relacionada ao teor total do metal no solo. Luo et al. (2010) avaliaram a transferência de Ni com base no extrator DTPA (FT_{DTPA}). Esse fator sofreu variação de 0,001 a 2,478, mostrando a diferença entre a capacidade de acúmulo Ni em diferentes plantas como o arroz (*Oriza sativa*), feijão-caupi, batata-doce (*Ipomoea batatas*),

couve-flor, e rabanete. Os valores médios de algumas hortaliças foram: batata doce obteve o maior FT_{DTPA} (1,324), seguido do feijão-caupi (0,427), arroz (0,214), couve-flor (0,078) e rabanete (0,011). O FT_{DTPA} foi calculado por estes autores levando em conta o teor de Ni nas partes comestíveis destas plantas.

CONCLUSÕES

1. As gramíneas forrageiras avaliadas aumentaram o crescimento relativo nas menores doses de Ni aplicadas ao solo e diminuíram o crescimento relativo nas maiores.
2. Os teores de Ni nas gramíneas forrageiras avaliadas foram crescentes em função do aumento das aplicadas ao solo.
3. Houve uma boa correlação entre os teores obtidos por todos os extratores no solo e os teores verificados nas gramíneas, sendo o extrator DTPA o melhor.
4. As gramíneas forrageiras avaliadas não são acumuladoras de Ni.
5. A ordem decrescente de tolerância ao Ni no solo como base na dose crítica de toxidez foi: Basilisk > Xaraés > Marandu > Aruana > Tanzânia.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de mestrado. Ao Departamento de Ciência do Solo da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ/USP) pelas análises laboratoriais de amostras de solo. A Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, pela infraestrutura necessária para condução do experimento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDEL-SABOUR, M.F. Nickel accumulation parameters, coefficients of transfer, tolerance index, and nutrient uptake by red clover grown on nickel polluted soils. **International Journal of Environmental Studies**, Tehran, v.37, n.1-2, p.25-34, 1991.
- ABREU, C.A.; ABREU, M.F.; ANDRADE, J.C. Determinação de cobre, ferro, manganês, zinco, cádmio, níquel e chumbo em solos usando a solução de DTPA em pH 7,3. In: RAIJ, B.van; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. (eds.) **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2001. p.240-250.

ACCIOLY, A.M.A.; SIQUEIRA, J.O. Contaminação química e biorremediação do solo. In: NOVAIS, R.F; ALVAREZ V.; V.H; SCHAEFER, C.E.G.R **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de ciência do solo. v.1, 2000, p.299-352

AHMAD, K.; KHAN, Z.I.; ASHRAF, M.; VALLEM, E.E.; SHAH, Z.A.; McDOWELL, L.R. Determination of forage concentrations of lead, nickel and chromium in relation to the requirements of grazing ruminants in the Salt Range, Paquistan. **Pakistan Journal Botany**, Pakistan, v.41, n.1, p.61-65, 2009.

AHMAD, M.S.A.; ASHRAF, M. Essential roles and hazardous effects of nickel in plants. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, Summerfield, v.214, p.125-167, 2011.

ALBASEL, N.; COTTENIE, A. Heavy metals uptake from contaminated soils as affected by peat, lime, and chelates. **Soil Science Society of American Journal**, Madison, v.49, n.2, p.386-390, 1985.

ALDINALP, C.; KATKAT, A.V. The comparison of extraction methods for evaluating some heavy metals in polluted soils. **Plant Soil Environment**, Prague, v.50, n.5, p.212-217, 2004.

ALVAREZ V., V. H.; RIBEIRO, A. C. Calagem. In: RIBEIRO, A.C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ V., V. H. (ed.). **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais**. Viçosa: CFSEMG, 1999. p.43-60.

ANJOS, A. R. M.; MATTIAZZO, M. E. Extratores para Cd, Cu, Cr, Mn, Ni, Pb e Zn em Latossolos tratados com biossólido e cultivados com milho. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.58, n.2, p. 337-344, 2001.

BECKETT, P. H.T.; DAVIS, R.D. Upper critical levels of toxic elements in plants. **New Phytologist**, Oxon, v.79, p.95-106, 1977.

BERTON, R.S.; PIRES, A.M.M.; ANDRADE, S.A.L.; ABREU, C.A.; AMBROSANO, E.J.; SILVEIRA, A.P.D. Toxicidade do níquel em plantas de feijão e efeitos sobre a microbiota do solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.8, p.1305-1312, 2006.

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

CETESB. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Valores orientadores para solos e águas subterrâneas no estado de São Paulo**. Decisão de diretoria nº 195-2-005-E. (CETESB). 2005.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos (Rio de Janeiro, RJ). **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: SPI, 2006. 306p.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos (Rio de Janeiro, RJ). **Manual de métodos de análise do solo**. Brasília: Produção de Informação, 1997. 212p.

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

FREIRE, J.C.; RIBEIRO, M.A.V.; BAHIA, G.V.; LOPES, A.S.; AQUINO, L.H. Resposta do milho cultivado em casa de vegetação a níveis de água em solo da região de Lavras, MG. **Rev. Bras. Ci. Solo**, Campinas, v.4, n.1, p.5-8, 1980.

FREITAS, H.; PRASAD, M.N.; PRATAS, J. Plant community tolerant to trace elements growing on the degraded soils of Sao Domingos mine in the south east of Portugal: environmental implications. **Environment International**, Oxford, v.30, n.1, p.65-72, 2004.

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

GAJEWSKA, E.; SLABA, M.; ANDRZEJEWSKA, R.; SKLODOWSKA, M. Nickel-induced inhibition of wheat root growth is related to H₂O₂ production, but not to lipid peroxidation, **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v.49, n.1, p.95-103, 2006.

HOODA, P.S.; ALLOWAY, B.J. The effect of liming on heavy metal concentrations in wheat, carrots and spinach grown on previously sludge-applied soils. **The Journal of Agricultural Science**, v.127, n.3, p.289-294, 1996.

JABEEN, R.; AHMAD, A.; IQBAL, M. Phytoremediation of heavy metals: physiological and molecular mechanisms. **The Botanical Review**, New York, v.75, n.4, p.339-364, 2009.

JOLLY, Y.N.; ISLAM, A.; AKBAR, S. Transfer of metals from soil to vegetables and possible health risk assessment. **SpringerPlus**, Heidelberg, v.2, p.385-392, 2013.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants**. 3. ed. Boca Raton: CRC Press, 2001. 413p.

KOVÁČIK, J.; KLEJDUS, B.; KADUKOVÁ, J.; BACKOR, M. Physiology of *Matricaria chamomilla* exposed to nickel excess. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v.72, n.2, p.603-609, 2009.

LIU, G.D. A new essential mineral element – nickel. **Plant Nutrition and Fertilizer Science**, Beijing, v.7, n.1, p.101-103, 2001.

LUO, D.; CHEN, Y.; WANG, G. Transfer of soil nickel to crops in suburban areas and their healthy risk in Fujian Province, Southeast China. **Molecular Environmental Soil Science at the Interfaces in the Earth's Critical Zone**, v.5, p.301-303, 2010.

MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Ceres, 1980. 251p.

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

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.

MEHLICH, A. New extractant for soil test evaluation of phosphorus, potassium, magnesium, calcium, sodium, manganese and zinc. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v.9, n.6, p.477-492, 1978.

MISRA, S.G.; PANDE, P. Evaluation of a suitable extractant for available nickel in soils. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.41, n.3, p.696-700, 1974.

MIZUNO, N.; NOSAKA, S.; MIZUNO, T.; HORIE, K.; OBATA, H. Distribution of Ni and Zn in the leaves of *Thlaspi japonicum* growing on ultramafic soil. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v.49, n.1, p.93-97, 2003.

MORRISON, D.F. **Multivariate statistical methods**. New York: Mc Graw-Hill Book CO., 1967. 415p.

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.

NASER, H.M.; SULTANA, S.; MAHMUD, N.U.; GOMES, R.; NOOR, S. Heavy metal levels in vegetables with growth stage and plant species variations. **Bangladesh Journal of Agricultural Research**, Bangladesh, v.36, n.4, p.563-574, 2011.

NETTY, S.; WARDIYATI, T.; MAGHFOER, M.D.; HANDAYANTO, E. Bioaccumulation of nickel by five wild plant species on nickel contaminated soil. **Journal of Engineering**, v.3, n.5, p.1-6, 2013.

NRC. **Mineral tolerance of domestic animals**: second revised edition. 510 p, 2005.

PARIDA, B.K.; CHHIBBA, I.M.; NAYYAR, V. K. Influence of nickel-contaminated soils on fenugreek (*Trigonella corniculata* L.) growth and mineral composition. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.98, n.2, p.113-119, 2003.

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

PUSCHENREITER, M.; HORAK, O. Influence of different soil parameters on the transfer factor soil to plant of Cd, Cu and Zn for wheat and rye. **Die Bodenkultur**, v.51, n.1, p.3-10, 2000.

REVOREDO, M.D.; MELO, W.J. Disponibilidade de níquel em solo tratado como lodo de esgoto e cultivado com sorgo. **Bragantia**, Campinas, v.65, n.4, p.679-685, 2006.

SETH, C.S. A review on mechanisms of plant tolerance and role of transgenic plants in environmental clean-up. **The Botanical Review**, New York, v.78, n.1, p.32-62, 2012.

SOLEIMANI, M., HAJABBASI, M.A.; AFYUNI, M.; CHARKHABI, A. H.; SHARIATMADARI, H. Bioaccumulation of nickel and lead by bermuda grass (*Cynodon dactylon*) and tall fescue (*Festuca arundinacea*) from two contaminated soils. **Caspian Journal of Environmental Sciences**, v.7, n.2, p.59-70, 2009.

USEPA. Microwave Assisted Acid digestion of sediments, sludges, soils and oils – Method 3052 – SW – 846, 1994. Disponível em: <<http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test/3052.pdf>>. Acesso em [2014].

USEPA. UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Soil screening guidance: technical background document**. Washington DC: EPA, Office of Solid Waste and Emergency Response, 1996. 168p.

USEPA. UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **The technical support document for land application of sewage sludge**. Washington: Office of Water, EPA 822/R-93- 001a and 001b, 1992.

USEPA. UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Title 40 CFR – Part 503. Final rules: Standards for the use or disposal of sewage sludge. **Federal Register**, v.58, p.9387-9415, 1993.

WALKER, C.D.; GRAHAM, R.D.; MADISON, J.T.; CARY, E.E.; WELCH, R.M. Effects of nickel deficiency on some nitrogen metabolites in cowpeas (*Vigna unguiculata* L. Walp.). **Plant Physiology**, Washington, v.79, n.2, p.474-479, 1985.

WONG, M.H. Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils. **Chemosphere**, Oxford, v.50, p.775-780, 2003.

CONCLUSÃO GERAL

As gramíneas forrageiras estudadas reduziram o crescimento relativo com aumento das doses de Ni aplicadas em solução nutritiva, uma vez que no solo houve resposta positiva no crescimento das plantas nas menores doses e diminuição do crescimento nas maiores doses, configurando a fitotoxicidade do Ni com o aumento das doses nessas plantas. A suscetibilidade ao Ni foi diferenciada para os experimentos, devido às variadas interações que ocorrem no sistema solo-planta. O teor de Ni nas forrageiras aumentou em função das doses crescentes de Ni nos diferentes experimentos. Os métodos de extração analisados na aferição do Ni no solo apresentaram boa correlação com os teores de Ni encontrados nas forrageiras. As gramíneas forrageiras avaliadas nestes experimentos não podem ser consideradas acumuladoras de Ni e não são interessantes para fins de fitorremediação.