

Toxicidade do níquel em plantas de feijão e efeitos sobre a microbiota do solo

Ronaldo Severiano Berton⁽¹⁾, Adriana Marlene Moreno Pires⁽²⁾, Sara Adrián López de Andrade⁽¹⁾, Cleide Aparecida de Abreu⁽¹⁾, Edmilson José Ambrosano⁽³⁾ e Adriana Parada Dias da Silveira⁽¹⁾

⁽¹⁾Instituto Agrônomo, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento em Solos e Recursos Ambientais, Caixa Postal 28, CEP 13001-970 Campinas, SP. E-mail: berton@iac.sp.gov.br, sara.adrian@gmail.com, cleide@iac.sp.gov.br, apdsil@iac.sp.gov.br ⁽²⁾Embrapa Meio Ambiente, Caixa Postal 69, CEP 13820-000 Jaguariúna, SP. E-mail: adriana@cnpma.embrapa.br ⁽³⁾Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Regional Centro Sul, Caixa Postal 28, CEP 13020-432 Piracicaba, SP. E-mail: ambrosano@aptaregional.sp.gov.br

Resumo – O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da adição de Ni ao solo (0, 2,3, 10,5, 47 e 210 mg kg⁻¹), na presença e ausência de calcário, sobre: o desenvolvimento do feijoeiro; a fitodisponibilidade de Ni e algumas características biológicas do solo. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, em Latossolo Vermelho distrófico. A dose de Ni de 210 mg kg⁻¹ causou a morte de todas as plantas, tanto na presença como na ausência de calcário. Houve aumento da produção de grãos de feijão no tratamento que recebeu calcário. A concentração de Ni dos grãos aumentou com o incremento de Ni no solo, ultrapassando o limite máximo permitido, de 5 mg kg⁻¹ de matéria fresca, na dose de 2,3 mg kg⁻¹, indicando que a aplicação de calcário não foi suficiente para reduzir os teores de Ni no grão de feijão a níveis apropriados para o consumo. Observou-se diminuição da biomassa microbiana do solo nos tratamentos com altas concentrações de Ni, que foi acompanhada por aumento no qCO_2 . O qCO_2 foi um indicador adequado do grau de estresse que teve a comunidade microbiana do solo com a adição de Ni.

Termos para indexação: absorção de Ni, DTPA, biomassa microbiana, respiração do solo, qCO_2 .

Nickel toxicity in common bean plants and effects on soil microbiota

Abstract – The aim of this work was to evaluate the effect of Ni addition (0, 2.3, 10.5, 47 and 210 mg kg⁻¹), in the presence and absence of lime, on: common beans development, Ni phytoavailability, and soil biological characteristics. A greenhouse experiment was conducted using a sample of a Rhodic Hapludox. Rate of 210 mg kg⁻¹ of Ni caused plant death in both the absence and the presence of lime. Grain yield of common beans was higher in treatments with lime addition. However, grain Ni concentration increased with Ni addition, exceeding the maximum admissible value, of 5 mg kg⁻¹ (fresh weight), already at rate of 2.3 mg kg⁻¹. Lime addition was not enough to reduce grain Ni concentrations to permissible levels for consumption. The addition of high concentrations of Ni decreased soil microbial biomass, and this reduction was accompanied by an increase in the metabolic quotient. The qCO_2 was an adequate indicator of the stress level caused by Ni addition on soil microbial community.

Index terms: Ni uptake, DTPA, microbial biomass, soil respiration, qCO_2 .

Introdução

O uso de plantas e microrganismos para avaliar o impacto causado pelos metais pesados no ambiente tem se tornado muito comum. O níquel (Ni) encontra-se entre os metais pesados mais comuns em solos. De acordo com Caridad Cancela (2002), os teores totais desse elemento em amostras de solos não contaminadas do Estado de São Paulo variaram de 14,8 a 50,2 mg kg⁻¹. Resultados semelhantes foram obtidos pela

Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (Cetesb, 2001), cuja faixa foi um pouco mais ampla, de 1,55 a 73,5 mg kg⁻¹.

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. A adição de lodo de esgoto ao solo contribui com 5 mil a 22 mil toneladas de Ni (Nriagu & Pacyna, 1988).

O fator mais importante que determina a distribuição de Ni entre a fase sólida e a solúvel do solo é o pH, sendo a disponibilidade de Ni inversamente relacionada com esse índice (Uren, 1992). Anton (1990), ao trabalhar com dois solos, Latossolo Roxo distrófico e Terra Roxa Estruturada, verificou que a calagem diminuía o teor de Ni extraível com extrator DTPA e reduzia o efeito tóxico de altas doses do elemento sobre o feijoeiro.

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 (Krupa et al., 1993). Os sintomas de toxidez de Ni não estão bem definidos para os estádios iniciais de toxicidade, porém nos estádios moderados e agudos, a toxidez produz clorose, geralmente semelhante aos sintomas de deficiência de Fe. Nos cereais as cloroses são brancas ou amarelo-claro, podendo se apresentar na forma de estrias nas folhas. Nas dicotiledôneas, aparecem manchas cloróticas entre as nervuras das folhas, semelhantemente à deficiência de Mg. Liu & Wang (1993) determinaram a fitotoxicidade de Ni em arroz e milho e concluíram que houve redução de produção com as doses de Ni entre 14 e 403 mg kg⁻¹ de solo, sendo este efeito mais acentuado para o milho. Piccini & Malavolta (1992) avaliaram a toxidez de Ni em diferentes cultivares de feijão, utilizando solução nutritiva. A produção de feijão foi inversamente proporcional à concentração de Ni na solução. Na dose máxima, 4 mg L⁻¹ de Ni em solução, as cultivares não produziram sementes. Os mesmos autores observaram queda na produtividade de arroz e feijão cultivados em vasos, quando a dose de Ni estava acima de 30 mg kg⁻¹.

Uma das principais preocupações sobre altas concentrações de metais pesados no solo é seu efeito sobre a microbiota, já que esta constitui um reservatório vivo de matéria orgânica, responsável pela reciclagem dos principais nutrientes (Jenkinson & Ladd, 1981). Os metais pesados podem ser tóxicos para os microrganismos do solo, chegando a causar redução na biomassa microbiana (McGrath et al., 1995; Andrade & Silveira, 2004). Microrganismos em solos contaminados com metais empregam mais energia para sua manutenção do que aqueles em solos não contaminados; isso resulta em maior respiração do solo e menor eficiência na incorporação de substratos frescos em nova biomassa microbiana (Anderson & Domsch, 1993; Fließbach et al., 1994; Chander & Joergensen, 2001).

Entre os microrganismos do solo, destacam-se os fungos micorrízico-arbusculares (FMA), pela sua extensa difusão e formação da simbiose micorrízica com grande parte das plantas superiores. Esse tipo de associação pode ser prejudicada pela presença de metais pesados no solo, produzindo mudanças na diversidade e na abundância das populações de FMA e na eficiência da simbiose (Gildon & Tinker, 1983; Val et al., 1999; Andrade et al., 2003, 2004). O desempenho dos FMA é fundamental para o estabelecimento e sobrevivência de muitas plantas, tanto em condições de solos naturais quanto em áreas degradadas.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da adição de Ni ao solo (0, 2,3, 10,5, 47 e 210 mg kg⁻¹), na presença e ausência de calcário, sobre: o desenvolvimento do feijoeiro; a fitodisponibilidade de Ni e algumas características biológicas do solo.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, no Instituto Agronômico (IAC), utilizando uma amostra de Latossolo Vermelho distrófico, coletada na camada 0–20 cm, secada ao ar e passada em peneira com abertura de 2 mm. A amostra apresentava: pH (CaCl₂), 4,6; 19 mg kg⁻¹ de matéria orgânica; 2 mg dm⁻³ de P; 1,1, 17 e 12 mmol_c dm⁻³ de K, Ca e Mg, respectivamente; 58 mmol_c dm⁻³ de CTC e 38% de saturação por bases.

O delineamento experimental foi em esquema fatorial 2x5, em blocos ao acaso, com quatro repetições. Os tratamentos consistiram na adição ou não de calcário ao solo, e na adição de cinco doses de Ni (0, 2,3, 10,5, 47 e 210 mg kg⁻¹), usando como fonte o sal NiSO₄.6H₂O. As doses de 10,5 e 210 mg kg⁻¹ correspondem à aplicação de 21 e 420 kg ha⁻¹ de Ni, as quais são, respectivamente, limites máximos para aplicação anual e acumulada de Ni, permitidos pela legislação norte-americana para a aplicação de lodo de esgoto (Usepa, 1994), e que foram adotados no Estado de São Paulo (Cetesb, 1999).

Nos tratamentos que receberam calagem, foi usado o calcário dolomítico (32% de CaO e 18% de MgO) com o objetivo de elevar a saturação por bases a 70% da CTC. Nos tratamentos que não receberam calcário, foram adicionados 200 mg de Ca e 100 mg de Mg na forma de CaSO₄ e MgSO₄.7H₂O, respectivamente.

Todos os tratamentos receberam adubação básica, e cada vaso recebeu: 1.050 mg de N, sendo 150 mg na forma de (NH₄)₂SO₄ e 900 mg na forma de NH₄NO₃;

500 mg de P como KH_2PO_4 ; 700 mg de K na forma de KCl e 1 mL de uma solução de micronutrientes, com 0,75 mg de B, 0,25 mg de Cu, 0,5 mg de Mn, 0,2 mg de Mo e 1,0 mg de Zn, nas respectivas formas de H_3BO_3 , $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ e $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Depois de 10 dias de incubação, uma amostra de solo de cada vaso foi retirada para análise de seus atributos químicos, sendo o Ni do solo extraído por meio do método DTPA-TEA (pH 7,3) (Abreu et al., 2001).

Foram semeadas dez sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), cultivar Goiano Precoce em cada vaso de 10 L de capacidade, que constituíram a parcela, deixando-se, depois do desbaste, cinco plantas. Essas plantas permaneceram no vaso por 60 dias, até a colheita dos grãos. Na época do florescimento, foram amostradas folhas para análise de Ni, que foram lavadas em água corrente, em solução 1% de HCl e com água destilada, e postas para secar em estufa a 70°C, com circulação de ar, até massa constante. Em seguida, foram trituradas em moinho tipo Wiley e submetidas à digestão por via seca (Bataglia et al., 1983). No extrato obtido, realizou-se a determinação de Ni, macronutrientes e micronutrientes, por espectrometria de emissão por plasma ICP-AES. De maneira semelhante determinou-se o Ni nos grãos.

As análises das características biológicas do solo e a contagem dos esporos de FMA, foram feitas utilizando-se 250 g de solo, acondicionadas em sacos de plástico e guardadas sob refrigeração a 4°C. O número de esporos de FMA foi determinado por contagem, depois do peneiramento úmido de 50 mL de solo (Gerderman & Nicolson, 1963) e centrifugação em solução de sacarose a 70%. A colonização micorrízica foi determinada pelo método da placa quadriculada (Giovanetti & Mosse, 1980), depois da despigmentação com KOH e coloração com azul tripano (Phillips & Hayman, 1970).

O carbono da biomassa microbiana (C_{mic}) foi determinado pelo método da fumigação-extração (Vance et al., 1987). As amostras de solo fumigadas foram incubadas por cinco dias a uma temperatura de 28±2°C. A extração do C orgânico do solo com K_2SO_4 0,5 mol L⁻¹ foi realizada por agitação por 30 minutos em agitador horizontal, utilizando relação 1:4 solo:extrator. O C orgânico foi quantificado pela oxidação ácida com dicromato de potássio (Joergensen, 1995). Foi usado um fator de correção de 0,38, e o resultado expresso em µg g⁻¹ de solo.

O CO₂ liberado de amostras de 100 g de solo reagiu com NaOH 0,1 mol L⁻¹ e foi determinado por titulação com HCl 0,1 mol L⁻¹, após nove dias de incubação à temperatura de 28±2°C (Alef, 1995). O CO₂ liberado foi expresso em µg g⁻¹ dia⁻¹. O quociente metabólico, $q\text{CO}_2$, que representa a quantidade de CO₂ (C) liberada por unidade de C_{mic} , foi calculado segundo Anderson (1994), e expresso em ng CO₂-C µg⁻¹ C_{mic} h⁻¹.

Os resultados foram submetidos à análise de variância com a realização das regressões, escolhendo-se a equação de melhor ajuste para as doses de Ni aplicadas ao solo. As médias dos tratamentos com e sem calcário, dentro de cada dose de Ni, foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. A eficiência do extrator DTPA foi avaliada por análise de correlação linear, e a significância dos valores dos coeficientes foi determinada pelo teste t a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

O tratamento correspondente à dose de 210 mg kg⁻¹ de Ni, independentemente da presença ou ausência de calcário, foi letal para as plantas de feijão, que morreram logo depois da emergência. Por isso, este tratamento foi excluído das avaliações realizadas. Resultados semelhantes foram observados por Poulik (1997) em plantas de aveia. Esse autor verificou que plantas com concentração de 168 mg kg⁻¹ apresentaram sintomas de toxicidade com subsequente morte. Por sua vez, concentrações de Ni no solo menores do que 56 mg kg⁻¹ não reduziram a produção de espigas de aveia mas, ao contrário, estimularam a produção. Outros autores observaram que a adição de 120 a 170 mg kg⁻¹ de Ni, na forma de cloreto, em dois tipos de solo (argiloso e arenoso), influenciou negativamente o crescimento do rabanete (Simon et al., 2000).

O comportamento das curvas obtidas para o teor de Ni nas folhas do feijoeiro de acordo com a adição crescente de Ni indica que, nos tratamentos sem calcário, as plantas tenderam a apresentar maiores teores de Ni do que as plantas cultivadas na presença do corretivo (Figura 1 A). Isto era esperado porque a disponibilidade deste elemento é maior em valores de pH mais baixos (Uren, 1992; Weng et al., 2004). É interessante observar que, na dose correspondente a 10,5 mg kg⁻¹, as plantas não apresentaram diferença no teor de Ni nas folhas, independentemente da presença ou não de calcário. Por sua vez, na dose de 47 mg kg⁻¹, a concentração de Ni nas folhas do feijoeiro cultivado no solo

sem adição de calcário foi cerca de duas vezes maior que a observada nos tratamentos com calcário.

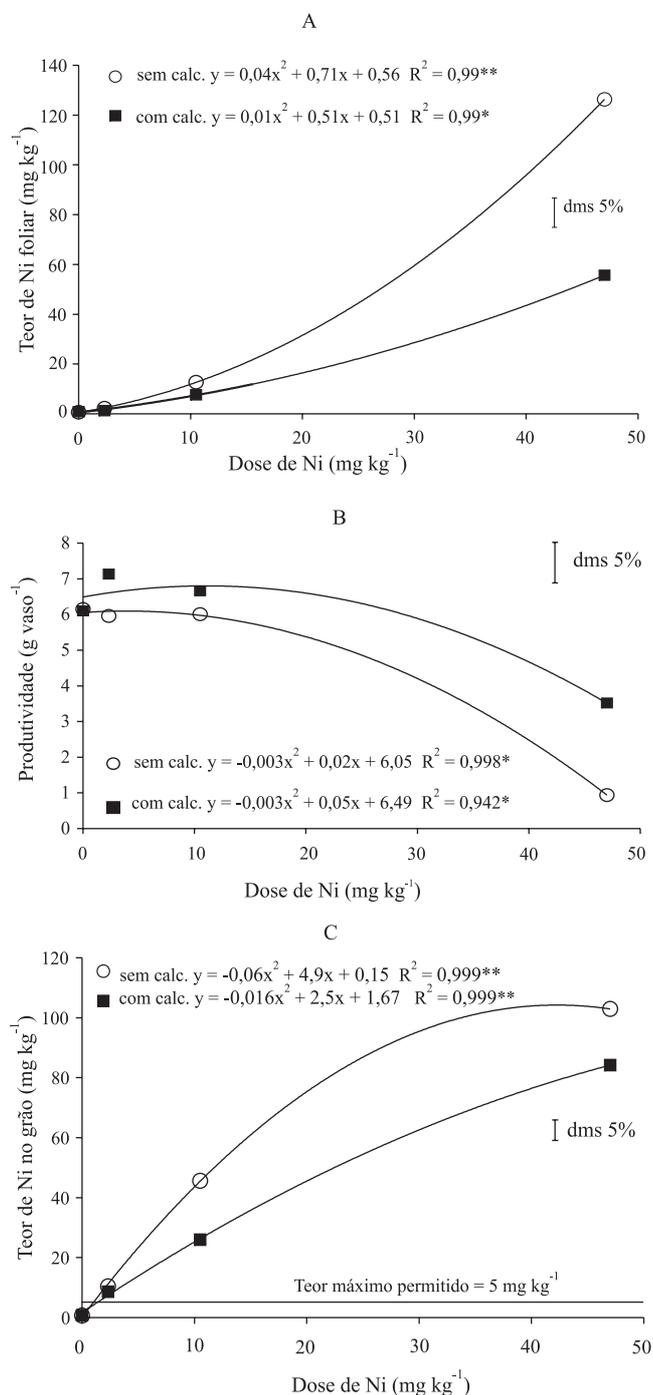


Figura 1. Teor de Ni foliar (A), produtividade (B) e teor de Ni nos grãos (C) do feijoeiro em solo com adição de diferentes doses de Ni e com aplicação e sem aplicação de calcário. dms a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey, comparando os tratamentos com e sem calcário, dentro de cada dose.

No caso de produtividade de grãos, as curvas obtidas indicam maior produção pelas plantas dos tratamentos com calcário (Figura 1 B). Entretanto, assim como para o teor de Ni nas folhas, houve diferença significativa apenas na dose de 47 mg kg^{-1} , onde se observou redução mais acentuada na produção de grãos pelas plantas cultivadas no solo sem calcário, sendo três vezes menor que no solo com o corretivo. Este resultado está de acordo com o encontrado por Liu & Wang (1993), que constatarem redução na produção de arroz e milho quando foram adicionadas doses de Ni entre 14 e 403 mg kg^{-1} .

Os tratamentos com correção da acidez do solo apresentaram menor quantidade de Ni nos grãos (Figura 1 C), de maneira semelhante ao observado para o teor de Ni nas folhas. Admitindo-se um teor médio de 13% de umidade nos grãos, infere-se que todos os tratamentos que receberam Ni, conterão concentração maior que 5 mg kg^{-1} desse elemento na matéria fresca. Como essa concentração é a máxima permitida pelo Ministério da Saúde (ANVISA – Decreto nº 55871, 26 de março de 1965), conclui-se que a elevação da concentração de Ni no solo para $2,3 \text{ mg kg}^{-1}$, adicionado na forma de sal inorgânico solúvel, foi suficiente para tornar os grãos colhidos impróprios para consumo, mesmo no tratamento que recebeu adição de calcário para elevação da saturação por bases para 70%.

A concentração de Ni nos grãos de feijão na dose $2,3 \text{ mg kg}^{-1}$ foi bem inferior à encontrada por Piccini & Malavolta (1992) para a dose de 2 mg L^{-1} de solução nutritiva, provavelmente devido às reações de adsorção e precipitação que ocorreram com este elemento, depois de ter sido adicionado ao solo (Camargo et al., 1989). Deve-se ressaltar que a fitodisponibilidade do Ni adicionado por meio do lodo de esgoto é menor que a do adicionado na forma de sal totalmente solúvel, empregado neste experimento. Dudka & Chlopecka (1990) observaram que apenas 8% do Ni no lodo está na forma solúvel + trocável, ou seja, prontamente disponível às plantas. Especial atenção deve ser dada aos componentes do lodo de esgoto responsáveis por manter o Ni numa forma indisponível. Caso o Ni adicionado via lodo de esgoto torne-se disponível em curto ou longo prazo, poderá ocorrer contaminação dos grãos. Estudos realizados nos Estados Unidos (Usepa, 1994), para que se determinassem esses limites, consideraram condições edafoclimáticas diferentes das do Brasil, o que pode resultar em menor ou maior disponibilidade quando extrapolados para condições brasileiras.

O mesmo comportamento identificado para o teor de Ni nas folhas, com o aumento da dose de Ni, ocorreu com o teor de Ni no solo, ao utilizar-se o extrator DTPA (Figura 2). O alto teor de Ni, extraído por DTPA, dos solos que receberam a dose correspondente a 210 mg kg⁻¹, explica o fato dessa dose ter sido letal para as plantas de feijão, logo depois da emergência.

Os coeficientes de correlação do teor de Ni extraído do solo por DTPA e os teores encontrados na folha e nos grãos de plantas de feijão foram de 0,96 e 0,95, respectivamente, sendo ambos significativos a 5% de probabilidade pelo teste t. Essas altas correlações indicam a eficiência do DTPA em estimar teores fitodisponíveis de Ni nas condições estudadas. Oliveira (1995) também encontrou boa correlação ao estudar teores de Ni em folhas de milho com os teores extraídos por DTPA em solos tratados com lodo de esgoto. Por sua vez, Berton et al. (1997), ao avaliar a disponibilidade de Cu, Zn e Ni para milho cultivado em Latossolo com lodo de esgoto, observaram que o DTPA apresentou baixa eficiência em estimar os teores fitodisponíveis de Ni.

No ecossistema edáfico, a biomassa e atividade microbianas são parâmetros particularmente importantes na avaliação dos efeitos dos metais pesados sobre os microrganismos do solo. A adição de Ni influenciou essas características biológicas do solo, afetando negativamente a microbiota do solo. Tanto o C_{mic} quanto o CO₂ liberado pelo solo foram influenciados pelo aumento na concentração de Ni no solo (Figura 3 A e C), enquanto a aplicação do calcário não os influenciou. Na dose 10,5 mg kg⁻¹ de Ni, o C_{mic} do solo foi 30% menor do que na dose 0; e no solo sem adição de calcário

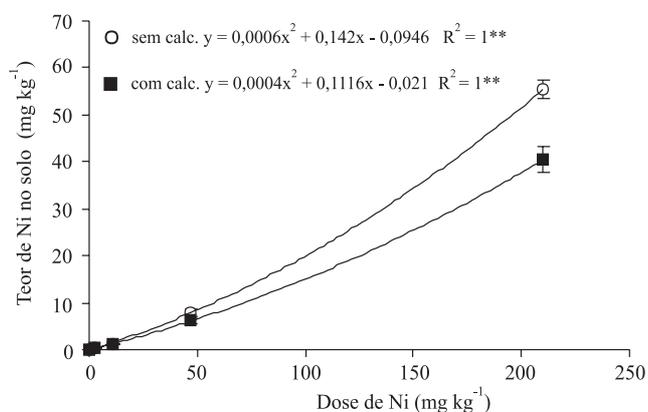


Figura 2. Teor de Ni extraído por DTPA em solo com diferentes doses de Ni, na presença ou ausência de calcário.

na dose de 47 mg kg⁻¹ de Ni, a redução chegou a 70% (Figura 2 A e B), evidenciando o efeito tóxico do Ni para a microbiota edáfica. A respiração do solo seguiu o padrão contrário ao observado no C_{mic}, ou seja, aumentou com o incremento do Ni (Figura 3 C).

A diminuição do C_{mic} do solo nos tratamentos com altas concentrações de Ni foi acompanhada por um aumento no qCO₂. Chander & Brookes (1991) também encontraram menor biomassa e maiores valores do qCO₂ em solos contaminados com metais pesados. Chander & Joergensen (2001) observaram que, em solos com altas concentrações de metais, a relação ¹⁴C respirado:¹⁴C incorporado na biomassa foi maior do que em solos com baixas concentrações de metais. Os resultados desses autores demonstraram que microrganismos em solos contaminados com metais direcionaram maior quantidade de substrato para processos catabólicos em detrimento dos processos anabólicos. Neste trabalho, quando as diferenças no C_{mic} foram pequenas, não houve efeito substancial sobre o qCO₂ (Figura 3 E), sugerindo que, somente quando a biomassa microbiana do solo foi reduzida substancialmente, aconteceu uma resposta fisiológica ao excesso de Ni no solo, aumentando, assim, o qCO₂. Infere-se que a redução da biomassa nos solos com altas doses de Ni ocorre em razão, principalmente, da síntese ineficiente de biomassa. Assim, o aumento na demanda de energia para funções de manutenção ou de reparação pode ter sido a principal razão para o aumento na respiração do solo com menor síntese de biomassa microbiana (Anderson, 1994). Portanto, neste trabalho o qCO₂ foi um indicador adequado do grau de estresse sobre a comunidade microbiana do solo com a adição de Ni.

A partir da avaliação do estabelecimento dos FMA nativos na raiz do feijoeiro e do efeito do Ni sobre a perpetuação desses fungos no solo, observou-se que a colonização radicular do feijoeiro pelos FMA diminuiu linearmente com o aumento da concentração de Ni no solo, o que evidenciou certa toxicidade do Ni para a simbiose micorrízica (Figura 4 A). Há exemplos de redução da colonização radicular assim como da eficiência da simbiose micorrízica causadas pelas altas concentrações de metais no solo (Val et al., 1999; Andrade et al., 2003, 2004). Há relatos de redução no número de esporos produzidos por FMA devido ao excesso de metais no solo (Díaz & Honrubia, 1993; Andrade et al.,

2004). Isto, no entanto, não foi observado neste trabalho. A contribuição de FMA na nutrição mineral de plantas e na tolerância de plantas a condições de estresse

está bem documentada (Leyval et al., 1997). Por isso, é importante o reconhecimento do papel desses simbiontes na hora de avaliar os efeitos de metais pesados sobre o

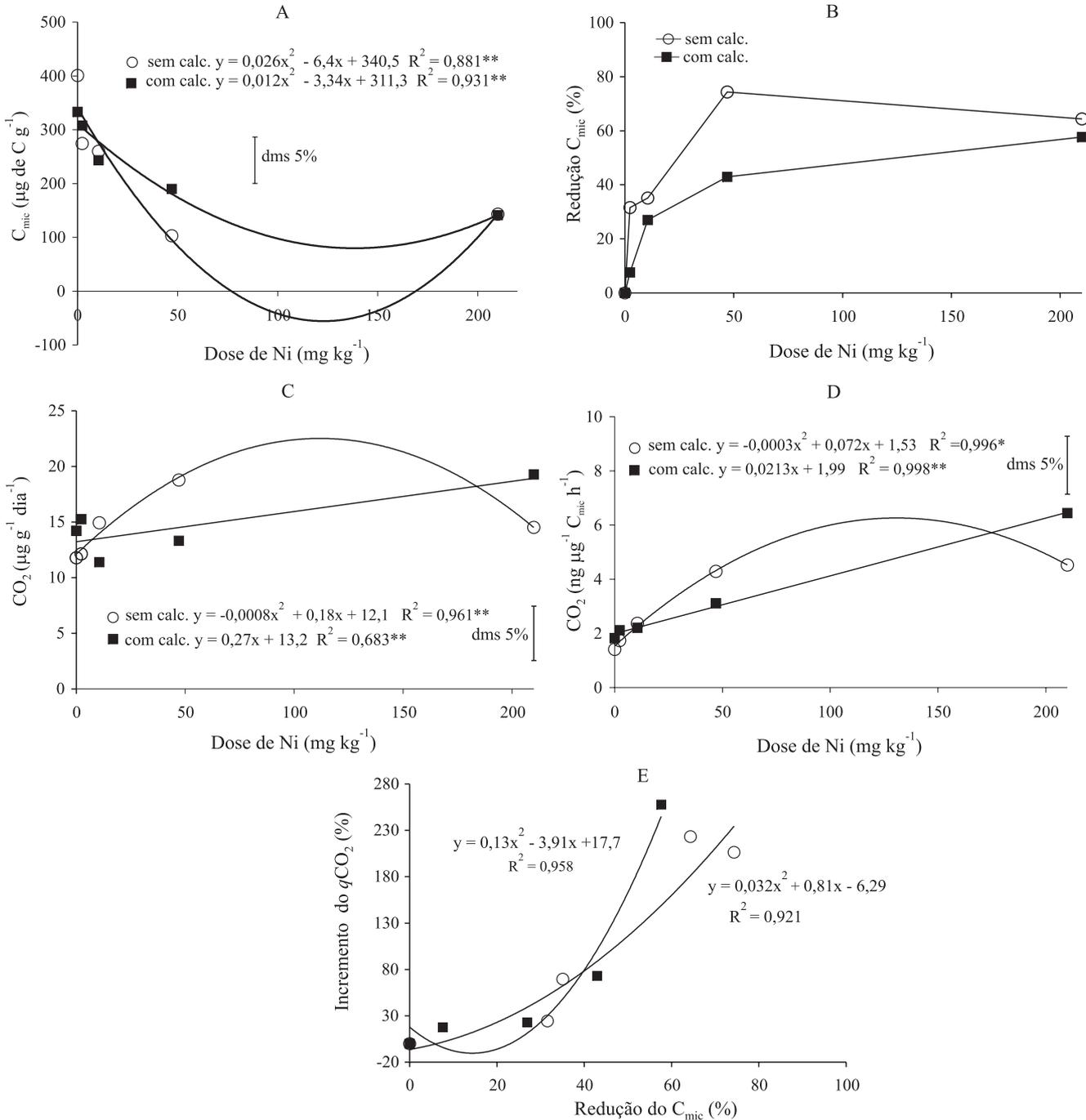


Figura 3. Carbono da biomassa microbiana do solo (C_{mic}) (A), redução do C_{mic} (B), respiração do solo (C), quociente metabólico ($q\text{CO}_2$) (D) e incremento do $q\text{CO}_2$ em função da redução no C_{mic} (E) no solo com adição de diferentes doses de Ni e com aplicação e sem aplicação de calcário. dms a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey, comparando os tratamentos com calcário e sem calcário, dentro de cada dose.

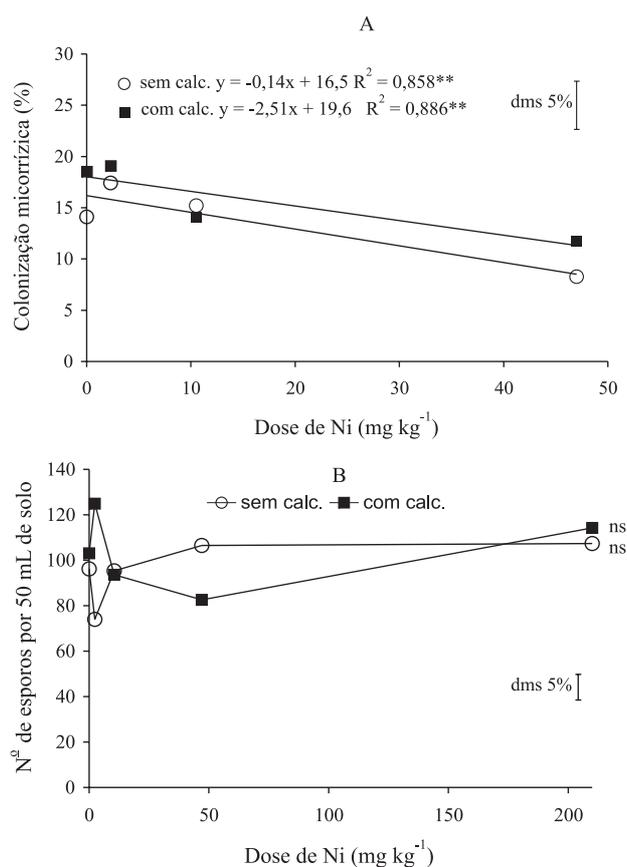


Figura 4. Colonização micorrízica da raiz do feijoeiro (A) e esporulação dos fungos micorrízicos nativos no solo (B) em solo com adição de diferentes doses de Ni e com aplicação e sem aplicação de calcário. dms a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey, comparando os tratamentos com calcário e sem calcário, dentro de cada dose.

desenvolvimento e absorção de metais pesados pelas plantas.

Segundo Odum (1985), qualquer estresse detectável no ecossistema é uma causa real para alerta, podendo ser um sinal de perda na homeostase do sistema.

Conclusões

1. A aplicação de 210 mg kg⁻¹ de Ni na forma de NiSO₄.6H₂O é letal para plantas de feijão, quando semeado poucos dias depois da adição desse elemento ao solo, independentemente da elevação ou não da saturação por bases para 70% da CTC.

2. A elevação da concentração de Ni no solo para 2,3 mg kg⁻¹ é suficiente para aumentar a concentração desse metal nos grãos acima de 5 mg kg⁻¹ de matéria

fresca, tornando-os impróprios para o consumo humano.

3. O método que utiliza o extrator DTPA é eficiente no diagnóstico da disponibilidade do Ni para o feijoeiro.

4. A biomassa microbiana é negativamente influenciada pela adição de Ni.

Agradecimentos

Às técnicas de apoio à pesquisa Rosana Gonçalves Giertz e Maria Tereza Mangussi Bueno, pela colaboração nas análises microbiológicas.

Referências

- ABREU, C.A.; ABREU, M.F. de; ANDRADE, J.C. Determinação de cobre, manganês, zinco, cádmio, cromo, 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. (Ed.). **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agronômico, 2001. p.240-250.
- ALEF, K. Soil respiration. In: ALEF, K.; NANNIPIERI, P. (Ed.). **Methods in applied soil microbiology and biochemistry**. London: Academic Press, 1995. p.219.
- ANDERSON, T.H. Physiological analysis of microbial communities in soil: applications and limitations. In: RITZ, K.D.; GILLER, K.E. (Ed.). **Beyond the biomass**. London: British Society of Soil Science, 1994. p.67-76.
- ANDERSON, T.H.; DOMSCH, K.H. The metabolic quotient for CO₂ (q_{CO_2}) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v.25, p.393-395, 1993.
- ANDRADE, S.A.L.; ABREU, C.A.; ABREU, M.F. de; SILVEIRA, A.P.D. Influence of lead additions on arbuscular mycorrhiza and *Rhizobium* symbioses under soybean plants. **Applied Soil Ecology**, v.26, p.123-131, 2004.
- ANDRADE, S.A.L.; ABREU, C.A.; ABREU, M.F. de; SILVEIRA, A.P.D. Interação de chumbo, da saturação por bases do solo e de micorriza arbuscular no crescimento e nutrição mineral da soja. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.27, p.945-954, 2003.
- ANDRADE, S.A.L.; SILVEIRA, A.P.D. Biomassa e atividades microbianas do solo sob influência de chumbo e da rizosfera da soja micorrizada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, p.1191-1198, 2004.
- ANTON, D.F.P. **Toxidez do níquel em arroz e feijão**. 1990. 144p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.
- BATAGLIA, O.C.; FURLANI, A.M.C.; TEIXEIRA, J.P.F.; FURLANI, P.R.; GALLO, J.R. **Métodos de análise de plantas**. Campinas: Instituto Agronômico, 1983. 48p. (Boletim técnico, 78).

- BERTON, R.S.; VALADARES, J.M.A.S.; CAMARGO, O.A.; BATAGLIA, O.C. Peletização do lodo de esgoto e adição de CaCO₃ na produção de matéria seca e absorção de Zn, Cu e Ni pelo milho em três latossolos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.21, p.685-691, 1997.
- CAMARGO, O.A.; ROVERS, H.; VALADARES, J.M.A.S. Adsorção de níquel em latossolos paulistas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.13, p.125-129, 1989.
- CARIDAD CANCELA, R. **Contenido de macromineros, metales pesados y otros elementos en suelos naturales de São Paulo (Brasil) y Galicia (España)**. 2002. 573p. Tesis (Doctorado) - Universidad de A Coruña, A Coruña, España.
- CETESB (São Paulo, SP). **Aplicação de biossólidos em áreas agrícolas**: critérios para projeto e operação: manual técnico, norma P4230. São Paulo, 1999. 32p.
- CETESB (São Paulo, SP). **Relatório de estabelecimento de valores orientadores para solos e águas subterrâneas no Estado de São Paulo**. São Paulo, 2001. 232p.
- CHANDER, K.; BROOKES, P. Microbial biomass dynamics during the decomposition of glucose and maize in metal-contaminated and non contaminated soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v.23, p.917-925, 1991.
- CHANDER, K.; JOERGENSEN, R.G. Decomposition of ¹⁴C glucose in two soils with different amounts of heavy metal contamination. **Soil Biology and Biochemistry**, v.33, p.1811-1816, 2001.
- DÍAZ, G.; HONRUBIA, M. Infectivity of mine soils from Southeast Spain. **Mycorrhiza**, v.4, p.85-88, 1993.
- DUDKA, S.; CHLOPECKA, A. Effect of solid-phase speciation on metal mobility and phytoavailability in sludge-amended soil. **Water, Air, and Soil Pollution**, v.51, p.153-160, 1990.
- FLIEßBACH, A.; MARTENS, R.; REBER, H.H. Soil microbial biomass and microbial activity in soils treated with heavy metal contaminated sewage-sludge. **Soil Biology and Biochemistry**, v.26, p.1201-1205, 1994.
- GERDERMAN, J.W.; NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet-sieving and decanting. **Transactions of the British Mycological Society**, v.46, p.235-244, 1963.
- GILDON, A.; TINKER, P.B. Interactions of vesicular arbuscular mycorrhizal infection and heavy metals in plants. I. The effect of heavy metals on the development of vesicular-arbuscular mycorrhizas. **New Phytologist**, v.95, p.247-261, 1983.
- GIOVANETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist**, v.84, p.482-500, 1980.
- JENKINSON, D.S.; LADD, J.N. Microbial biomass in soil: measurement and turnover. In: PAUL, E.A.; LADD, J.N. (Ed.). **Soil biochemistry**. New York: Marcel Dekker, 1981. p.415-471.
- JOERGENSEN, R. The fumigation extraction method. In: ALEF, K.; NANNIPIERI, P. (Ed.). **Methods in applied soil microbiology and biochemistry**. London: Academic Press, 1995. p.382-387.
- 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**, v.142, p.664-668, 1993.
- LEYVAL, C.; TURNAU, K.; HASELWANDTER, K. Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function: physiological, ecological and applied aspects. **Mycorrhiza**, v.7, p.139-153, 1997.
- LIU, C.L.; WANG, Y.P. Effect of nickel contamination in different soils on the growth of crops. **Journal of the Chinese Agricultural Chemical Society**, v.31, p.172-182, 1993.
- McGRATH, S.P.; CHAUDRI, A.M.; GILLER, K.E. Long term effects of metals in sewage sludge on soils, microorganisms and plants. **Journal of Industrial Microbiology**, v.14, p.94-104, 1995.
- NRIAGU, J.O.; PACYNA, J.M. Quantitative assessment of worldwide contamination of air, waters, and soils with trace metal. **Nature**, v.333, p.134-139, 1988.
- ODUM, E. Trends expected in stressed ecosystems. **BioScience**, v.35, p.419-422, 1985.
- OLIVEIRA, F.C. **Metais pesados e formas nitrogenadas em solos tratados com lodo de esgoto**. 1995. 90p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.
- PHILLIPS, J.M.; HAYMAN, D.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. **Transactions of the British Mycological Society**, v.55, p.158-161, 1970.
- PICCINI, D.F.; MALAVOLTA, E. Effect of nickel on two common bean cultivars. **Journal of Plant Nutrition**, v.15, p.2343-2350, 1992.
- POULIK, Z. The danger of accumulation of nickel in cereals on contaminated soil. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.63, p.25-29, 1997.
- SIMON, T.; EBERHARD, A.; ROHR, R. Effect of Ni and As on radish tuber cultivated on artificially polluted soils. **European Journal of Soil Biology**, v.36, p.73-80, 2000.
- UREN, N.C. Forms, reaction and availability of nickel in soils. **Advances in Agronomy**, v.48, p.141-203, 1992.
- VAL, C. del; BAREA, J.M.; AZCÓN-AGUILAR, C. Assessing the tolerance to heavy metals of arbuscular mycorrhizal fungi isolated from sewage sludge-contaminated soils. **Applied Soil Ecology**, v.11, p.261-269, 1999.
- VANCE, E.D.; BROOKES, P.C.; JENKINSON, D. An extraction method for measuring microbial biomass carbon. **Soil Biology and Biochemistry**, v.19, p.703-707, 1987.
- USEPA (Washington, Estados Unidos). **Land application of sewage sludge**: a guide for land appliers on the requirements of the federal standards for the use or disposal of sewage sludge, 40 CFR Part 503. Washington, 1994. 104p. (USEPA, 831B93002b).
- WENG, L.P.; WOLTHOORN, A.; LEXMOND, T.M.; TEMMINGHOFF, E.J.M.; RIEMSDIJK, W.H. van. Understanding the effects of soil characteristics on phytotoxicity and bioavailability of nickel using speciation models. **Environmental Science and Technology**, v.38, p.156-162, 2004.

Recebido em 10 de junho de 2005 e aprovado em 29 de março de 2006