

**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Metabolismo do nitrogênio e senescência em razão da aplicação de
níquel no cafeeiro arábica**

Tiago Tezotto

Tese apresentada para obtenção do título de
Doutor em Ciências. Área de concentração:
Fitotecnia

**Piracicaba
2015**

Tiago Tezotto
Engenheiro Agrônomo

**Metabolismo do nitrogênio e senescência em razão da aplicação de níquel no
cafeeiro arábica**

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **JOSÉ LAÉRCIO FAVARIN**

Tese apresentada para obtenção do título de
Doutor em Ciências. Área de concentração:
Fitotecnia

Piracicaba
2015

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - DIBD/ESALQ/USP**

Tezotto, Tiago

Metabolismo do nitrogênio e senescência em razão da aplicação de níquel no cafeeiro arábica / Tiago Tezotto. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2015.

146 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Etileno 2. Remobilização de N 3. Micronutriente 4. *Coffea arabica* L. I. Título

CDD 633.73
T354m

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

À minha família,
meus pais Geraldo Tezotto e Rosângela Aparecida Contesa Tezotto,
e meu irmão Guilherme Tezotto,
Às minhas avós Virgínia (*in memoriam*) e Ida

DEDICO

Ao meu Tio Marcos Tezotto,
incentivador maior da minha carreira acadêmica

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me dar forças e fazer acreditar que é possível sempre conquistar aquilo que sonhamos;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa de doutorado nos primeiros meses de trabalho, à Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp) pelo apoio financeiro e aos assessores *ad hoc* dos processos de bolsa de doutorado (2011/05928-6), bolsa de estágio em pesquisa no exterior (2011/22245-0) e auxílio regular à pesquisa (2012/01607-3);

À Gloriosa, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” por ser berço de conhecimento “...Desta Escola, por ele sonhada e dos jovens que a ela vêm ter, eis que surge a legião denodada de uma gente que aspira vencer. Cavaleiros que odeiam a guerra, bem armado de são ideais, converteram o humo da terra na **pujança dos seus cafezais...**” Ode à ESALQ Salvador de Toledo Piza Jr. (1921);

À Universidade de São Paulo, à Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, ao Departamento de Produção Vegetal e ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia pela oportunidade de realizar o curso de doutorado e pela infraestrutura oferecida;

Ao meu orientador e amigo **Prof. Dr. José Laércio Favarin**, que desde do início da minha carreira acadêmica, na iniciação científica, mestrado e doutorado, me presenteou com ensinamentos e valores de vida, e me despertou o prazer em ensinar. A sua paixão e dedicação em ensinar será sempre lembrada na minha carreira profissional. Agradeço também pela confiança nesses 9 anos de convivência. Obrigado PROFESSOR José Laércio e Graça Favarin;

Ao amigo e co-orientador **Prof. Dr. Paulo Mazzafera**, pela confiança e paciência durante todos esses anos. Agradeço pelo aprendizado e experiência ao longo destes anos que contribuíram para meu crescimento profissional e pessoal e que nossa amizade continue produtiva e duradoura. Conte comigo sempre !!!

Ao **Prof. Dr. Joe C. Polacco**, da University of Missouri - Columbia, supervisor da minha bolsa de estágio em pesquisa no exterior, pelos ensinamentos proporcionados no período de 8 meses de convivência. Estendo o agradecimento à sua esposa, Nancy Malugani-Polacco pelo acolhimento nesse período;

Aos professores Francisco Monteiro, José Lavres Junior e Ricardo Kluge, membros da banca de qualificação, por sugestões pertinentes apresentadas ao projeto de tese;

Ao Prof. Dr. Ricardo Antunes de Azevedo e à Dra. Salete Aparecida Gaziola por me acolher no Laboratório de Genética Bioquímica de Plantas, Esalq/Usp e proporcionar condições irrestritas ao desenvolvimento deste trabalho;

Ao Prof. Dr. Ricardo Kluge e a Cleucione de Oliveira Pessoa por me acolher no Laboratório de Fisiologia e Bioquímica de Pós-colheita, Esalq/Usp e auxiliar nas análises de etileno deste trabalho;

Ao Prof. David G. Mendoza-Cózatl e à Dra. Kristin Bilyeu, pelo apoio na condução dos trabalhos de estágio em pesquisa no exterior na University of Missouri;

Ao Paul A. Little e à Christine Cole do USDA pela ajuda na condução dos experimentos em Columbia-MO e a Cindy Kerr, por me receber e hospedar em sua casa durante meu estágio;

À Luciane Aparecida Lopes Toledo, pela paciência, carinho, respeito e pelo excelente trabalho realizado junto ao PPG-Fitotecnia;

Aos colaboradores do departamento de Produção Vegetal, Esalq/Usp, pela convivência agradável, amizade e suporte, permitindo o pleno desenvolvimento deste trabalho;

Ao Grupo de Experimentação Agrícola – GEA e ao Grupo de Ecofisiologia e Nutrição de Plantas em Sistemas de Produção – ENUSP, pela dedicação e apoio na condução das avaliações do projeto, e também pelas horas de descontração;

Aos amigos pós-graduandos do Laboratório Multiusuário em Produção Vegetal pelos momentos de trabalho e companheirismo, descontração e confraternizações. Em especial ao Bx. Leva-Prego (Pedro Paulo de Carvalho Teixeira) pela ajuda nas análises estatísticas do projeto e ao Kskata (Felipe Brendler Oliveira) e Karla Vilaça pela formatação da tese.

Aos amigos da grande Capivari, que mesmo distantes, sempre me incentivaram de alguma forma. “...*A amizade, nem mesmo a força do tempo pode destruir*”...”*Valeu por você existir Talaricos*”;

À bibliotecária Silvia Maria Zinsly pelas revisão das normas da tese;

Enfim, um ciclo que se encerra. Desde do início da graduação em engenharia agrônoma em 2004 até a conclusão do doutorado em 2015 na Esalq/Usp, muita gente passou, colaborou, fez a diferença e me ajudou a crescer pessoalmente e profissionalmente. Professores, funcionários, colegas de turma, estagiários, colegas da pós-graduação..... **MUITO OBRIGADO !!!**

“ Existem durante nossa vida, sempre dois caminhos a seguir: aquele que todo mundo segue, e aquele que a nossa imaginação nos leva a seguir.

O primeiro pode ser mais seguro, o mais confiável, o menos crítico, o que você encontrará mais amigos... mas, você será apenas mais um a caminhar.

O segundo, com certeza vai ser o mais difícil, mais solitário, o que você terá maiores críticas; mas também, o mais criativo, o mais original possível.

Não importa o que você seja, quem você seja, ou que deseje na vida, a ousadia em ser diferente reflete na sua personalidade, no seu caráter, naquilo que você é. E é assim que as pessoas lembrarão de você um dia.”

Ayrton Senna

SUMÁRIO

RESUMO	13
ABSTRACT	15
1 INTRODUÇÃO	17
1.1 Objetivo geral:	20
1.2 Objetivos específicos:.....	20
REFERÊNCIAS	21
2 BIOMETRIA, PARTIÇÃO DA BIOMASSA E ACÚMULO DE NUTRIENTES EM CAFEEIRO EXPOSTO À DOSES DE NÍQUEL EM RAZÃO DO NÍVEL DE NITROGÊNIO	25
2.1 Introdução.....	26
2.2 Material e métodos	28
2.2.1 Instalação e condução do experimento.....	28
2.2.2 Análise de solo	32
2.2.3 Avaliações biométricas.....	32
2.2.4 Amostragem das plantas.....	32
2.2.5 Análises de macro e micronutrientes do material vegetal	33
2.2.6 Acúmulo de macro e micronutrientes no cafeeiro	33
2.2.7 Índices de Eficiência do Uso de Nitrogênio (IEUN)	33
2.2.8 Coeficiente de transferência do Ni no cafeeiro.....	34
2.2.9 Análise estatística.....	34
2.3 Resultados.....	34
2.4 Discussão	92
REFERÊNCIAS	95
3 METABOLISMO DO NITROGÊNIO E SENESCÊNCIA EM CAFEEIRO EXPOSTO À DOSES DE NIQUEL EM RAZÃO DO NÍVEL DE NITROGÊNIO	100
3.1 Introdução.....	101
3.2 Material e métodos	103
3.2.1 Instalação do experimento	103
3.2.2 Análise de solo	105
3.2.3 Amostragem das plantas.....	105
3.2.4 Análise de Ni e N-total.....	106
3.2.5 Trocas gasosas	106

3.2.6 Extração para determinação de amônio e aminoácidos.....	106
3.2.7 Determinação das concentrações amônio e aminoácidos solúveis	106
3.2.8 Extração e determinação da concentração de proteína	107
3.2.9 Quantificação dos aminoácidos em HPLC	107
3.2.10 Determinação de clorofila <i>a</i> , clorofila <i>b</i> , clorofila total	107
3.2.11 Determinação da quantidade de carotenoides	108
3.2.12 Quantificação etileno foliar	108
3.2.13 Determinação da peroxidação de lipídeos	108
3.2.14 Determinação do conteúdo de peróxido de hidrogênio	109
3.2.15 Análise estatística.....	109
3.3 RESULTADOS	110
3.4 DISCUSSÃO.....	139
REFERÊNCIAS	141

RESUMO

Metabolismo do nitrogênio e senescência em razão da aplicação de níquel no cafeeiro arábica

O nitrogênio é o nutriente exigido em maior quantidade pelo cafeeiro e o segundo mais exportado pela planta. Usualmente se aplica ureia no cafeeiro e o N desta fonte é rapidamente metabolizado e incorporado na forma de aminoácidos e amidas. A assimilação do nitrogênio é afetada por diversos micronutrientes, entre eles o níquel (Ni), por ser este um constituinte da enzima urease, responsável pela degradação da ureia. O entendimento da interação do Ni com o metabolismo do N e o processo de senescência no cafeeiro é importante para o uso eficiente do nitrogênio pelas plantas. Pouco se sabe a respeito da nutrição com Ni no metabolismo do N, na senescência foliar e na interferência na absorção e transferência de outros nutrientes. A presente pesquisa foi realizada para avaliar se a aplicação de Ni (i) interferiria na absorção e transferência de outros nutrientes, bem como na partição de biomassa do cafeeiro e; (ii) aumentaria a eficiência de uso do N, tanto pela maior degradação da ureia, via atividade da urease, quanto pelo aumento da redistribuição de reservas de nitrogênio, por meio do incremento do catabolismo da arginina; e (iii) se o fornecimento de Ni atrasaria a senescência foliar, pela diminuição da produção de etileno endógeno na planta, o que aumentaria a duração foliar. A aplicação de Ni reduziu a biomassa do cafeeiro somente no maior teor do elemento disponível no solo (105 mg dm^{-3}), e essa redução na biomassa afetou a concentração e acúmulo, principalmente, dos macronutrientes (N, P, K, Ca e Mg). Com relação aos micronutrientes metálicos (Cu, Fe, Mn e Zn), o incremento gradual no teor de Ni disponível, reduziu ou elevou gradualmente a concentração desses micronutrientes no cafeeiro. Os coeficientes de eficiência de uso de N pelo cafeeiro foram afetados somente em razão do nível de N, sem alteração em função do Ni disponível no solo. A aplicação de Ni no solo até teores de 60 mg dm^{-3} não afetou o crescimento da planta de cafeeiro, mas aumentou a retenção foliar no nível deficiente de N. O Ni reduziu a biossíntese de etileno na planta, apesar das concentrações de MDA e prolina aumentarem com o teor disponível de Ni no solo na pré-antese. Com relação ao N, houve incremento na redistribuição de N dos órgãos de reserva (ramo) para atender a demanda de folha e fruto.

Palavras-chave: Etileno; Remobilização de N; Micronutriente; *Coffea arabica* L.

ABSTRACT
Nitrogen metabolism and senescence process in coffee plants exposed to nickel

Nitrogen is the nutrient required in greatest quantity by the coffee and the second most exported within the plant. Usually, N is applied as urea to coffee and urea-N is rapidly metabolized and incorporated into amino acids and amides. The assimilation of N is affected by several micronutrients, including nickel (Ni). Ni is a constituent of urease, the sole enzyme responsible for degradation (and subsequent assimilation) of urea. Understanding Ni interaction with N metabolism and the aging process is important for the efficient use of nitrogen by coffee, and by plants in general. Little is known about Ni nutrition as it relates to N metabolism in leaf senescence and its possible interference in the absorption and transfer of other nutrients. The present study was conducted in coffee to assess whether the application of Ni (i) interferes with the absorption and transfer of other nutrients as well as biomass partitioning; (ii) increases the nitrogen use efficiency, both for greater degradation of urea via urease activity, and increased redistribution of nitrogen reserves by increased catabolism of arginine; and (iii) delays leaf senescence by decreasing endogenous ethylene production, thereby increasing leaf duration. Ni application reduced biomass of coffee only at the highest level of soil availability (105 mg dm^{-3}). This level also brought about the reduction in biomass concentration and accumulation of macronutrients (N, P, K, Ca and mg). With respect to mineral micronutrients (Cu, Fe, Mn and Zn), gradual increases in available Ni content, either reduced or gradually increased the concentration of these micronutrients. N-use efficiency ratios in coffee were affected only by variations in management of N, and not by changes in available soil Ni. Soil Ni applications to 60 mg dm^{-3} did not affect the growth of the coffee plant, but increased foliar retention under N limitation. Ni reduced plant ethylene biosynthesis, in spite of the concentrations of MDA and proline increasing rising with increasing soil Ni during pre-anthesis. As Ni levels rose, there was an increase in the redistribution of N of storage organs (branch) to meet the demand of leaf and fruit.

Keywords: Ethylene; Nitrogen remobilization; Micronutrient; *Coffea arabica* L.

1 INTRODUÇÃO

As plantas possuem um conjunto de proteínas envolvidas na absorção e partição do nitrogênio (N), não somente para o nitrato e a amônia, mas também para ureia, aminoácidos, peptídeos e nucleotídeos (MOHLMANN et al., 2010; RENTSCH et al., 2007; KOJIMA et al., 2006). Entretanto, a contribuição quantitativa dessas fontes orgânicas de N presente no solo à nutrição de plantas ainda permanece em discussão (NASHOLM et al., 2009).

A ureia contida na planta pode vir tanto pela absorção radicular do fertilizante nitrogenado presente no solo, quanto do catabolismo da arginina (ZONIA et al., 1995). Nos últimos anos, vários aspectos moleculares do metabolismo da ureia em plantas têm sido investigados, como os transportadores passivos e ativos e, principalmente, a metaloenzima urease (WITTE, 2011).

Além da absorção, a redistribuição do N durante o desenvolvimento da planta é fundamental para o uso eficiente. Os processos de redistribuição são evidenciados durante a germinação e na senescência foliar, quando os órgãos fontes fornecem o nutriente para aos órgãos drenos. Assim, ureia é fonte de N quando absorvida da solução do solo e, também, quando proveniente do catabolismo da arginina. O catabolismo da ureia responde pela remobilização de N órgãos fonte (WITTE, 2011).

Recentemente Bohner et al. (2015) investigaram o papel de transportadores de alta afinidade para ureia (DUR3) na remobilização de N, e observaram que do total de N na forma de aminoácidos presente no exudato do pecíolo de folha de *Arabidopsis*, mais de 13% estavam na forma de ureia. Os autores concluíram que a ureia é um metabólito precoce que indica a senescência foliar.

O catabolismo da arginina é necessário para a mobilização de N de órgãos de reserva. Em árvores, o aminoácido arginina é um importante para o armazenamento e transporte de N (GERENDAS; SATTELMACHER, 1999). Altas concentrações de arginina também ocorrem em órgãos de acúmulo da parte subterrânea (NINOMIYA et al., 2004; BAUSENWEIN et al., 2001). A arginina é a principal forma de armazenar N em sementes (van ETTEN et al., 1967). Assim, a importância da urease na reciclagem de N da arginina durante a germinação é destacada pelo fato de sementes velhas de *Arabidopsis* não germinarem quando inibe-se a urease, recuperando a germinação pela adição externa de N (ZONIA et al., 1995). A arginina é sujeita a degradação também durante a senescência. Em

plantas deficientes de Ni, portanto, sem urease ativa, houve acúmulo de ureia proveniente do catabolismo da arginina nos tecidos senescentes (GERENDAS; SATTELMACHER, 1997, 1999). Tem sido reportado que o catabolismo da arginina é a única fonte de ureia comprovada em plantas, uma vez que os mecanismos enzimáticos de degradação de ureídeos não geram ureia (WITTE, 2011).

Um dos primeiros relatos sobre o metabolismo de ureia em folhas de cafeeiro normal e deficiente em N foi feito por Crocomo (1959). O autor observou aumento dos aminoácidos glutamina, citrulina, arginina e prolina quando as folhas foram pulverizadas com solução de ureia-C14 a 3%.

A assimilação da ureia na planta depende da enzima urease (EC 3.5.1.5., ureia amidohidrolase), a qual catalisa a hidrólise da ureia em NH_3 e CO_2 . Embora seja uma proteína de semente abundante em Fabaceae, Cucurbitaceae, Asteraceae e Pinaceae (BAILEY; BOULTER, 1971), a urease também é encontrada em níveis menores nos tecidos vegetativos de todas as plantas (HOGAN et al., 1983). A deficiência da urease leva ao acúmulo de ureia no tecido vegetal e subseqüentes lesões necróticas nas folhas (ESKEW et al., 1983, 1984; WALKER et al., 1985).

A urease necessita do metal Ni para ativá-la (DIXON et al., 1975; POLACCO, 1976, 1977; ESKEW et al., 1983, 1984). Os mutantes de *Arabidopsis* negativos nos genes At2g35035, At1g21840 e At2g34470 apresentaram ausência de atividade da urease in vivo, identificando que as proteínas AtUreD, AtUreF e AtUreG são componentes para ativação da urease na planta (WITTE et al., 2005).

Essa dependência da urease ao Ni reforça o papel deste metal como nutriente da planta. Provavelmente, o primeiro relato de resposta à aplicação de Ni foi de Roach e Barclay (1946), os quais observaram aumento na produção de batatas quando as plantas foram pulverizadas com soluções diluídas a base de sais de Ni. Os sintomas de deficiência de Ni em pomares de Pecan nos EUA já eram observados desde 1918. Porém, inicialmente pensou tratar-se de dano causado pelo frio da primavera, antes da abertura das gemas; depois foi atribuído a um vírus, à deficiência de manganês ou de cobre. Só recentemente foi descoberto que é resultado de deficiência severa de Ni (WOOD et al., 2004a, b, c). Witte et al. (2002) também observaram que a adição de Ni ao meio Murashige e Skoog ativa a enzima urease e, em consequência, reduz o estresse metabólico em plantas de batata cultivadas in vitro.

Além da enzima urease, o cátion Ni^{2+} é requerido na ativação da enzima glioxalase I, responsável pela desintoxicação do metabólito metilglioxal em D-lactato, produto não tóxico às células. Este metabólito é produzido pelas plantas sob estresse. Assim, o fornecimento de Ni^{2+} auxiliam a planta na adaptação ao estresse, em consequência da maior ativação da glioxalase I (MUSTAFIZ et al., 2014).

Os efeitos metabólicos da deficiência de Ni foram estudados em algumas espécies anuais, principalmente, soja, batata e *Arabidopsis* (POLACCO et al., 2013). Por exemplo, a deficiência de Ni provocou distúrbios no metabolismo de aminoácidos, malato e vários outros ânions inorgânicos em cevada (SO_4^- , Cl^- , Pi e NO_3^- ; Brown et al., 1990); em *Vigna unguiculata* afetou o metabolismo de aminoácidos (Walker et al., 1985). Em outras plantas como centeio, trigo, soja, mostarda (*Brassica tournefortii*), pepino e girassol reduziu a atividade da urease, prejudicou o metabolismo de N e modificou o perfil de aminoácidos e amidas (glutamina e asparagina), assim como dos intermediários do ciclo da ureia (arginina, ornitina, e citrulina) (GERENDÁS; SATTELMACHER, 1997). Em cafeeiro, não há relatos de deficiência deste nutriente, porém o aumento da biomassa em decorrência da aplicação de altas doses de N, acima de 300 kg por hectare, pode resultar na diluição da concentração de Ni na planta, com prejuízo ao metabolismo de ureídeos, aminoácidos e ácidos orgânicos (BAI et al., 2006).

O Ni além de ativar a urease, inibiu a biossíntese de etileno em *Vigna radiata* e macieira (LAU; YANG, 1976). O Ni^{2+} inibe a atividade da ACC oxidase pela substituição do Fe^{2+} , e formação de um complexo inativo de enzima-metal (McGARVEY; CHRISTOFFERSEN, 1992). Alguns trabalhos evidenciaram que o Ni^{2+} poderia inibir em 89% a atividade da ACC oxidase in vivo em frutos de caqui (ITAMURA et al., 1997) e em 75% in vitro (ZHENG et al., 2005).

Alguns autores relataram que a aplicação de Ni em condições de campo antes da colheita do fruto proporciona maior longevidade pós-colheita (ZHENG et al., 2006). Em campo, uma primeira evidência da interação do Ni com a maturação de frutos foi observada em cafeeiro submetidos a doses de Ni, em que 77% de frutos permaneceram verdes no momento da colheita, contra 27% no controle (TEZOTTO et al., 2012). Apesar de ser conhecida o envolvimento do etileno na resposta da planta a uma variedade de estresses bióticos e abióticos (ABELES et al., 1992), a interação do Ni com a síntese de etileno e os efeitos fisiológicos e bioquímicos no cafeeiro precisam ser elucidados.

Além de afetar a maturação de frutos, o atraso na senescência retarda a remobilização de carboidratos aos grãos, o que reduz a massa de grãos produzidos, com acúmulo de carboidrato não estrutural nas folhas e ramos (YANG et al., 1997; ZHU et al., 1997). Em cafeeiro, a redução na remobilização prejudicaria a qualidade do grão, uma vez que parte dos metabólitos responsáveis pela formação da qualidade da bebida do café, como a cafeína e açúcares, seriam reduzidas (SHIMIZU; MAZZAFERA, 2000a, b; MAZZAFERA, 1998; GEROMEL et al., 2006). Por sua vez, a maior duração das folhas poderia implicar em maior quantidade de frutos, e em maior produção (DaMATTA, 2004).

Pouco se sabe a respeito da nutrição com Ni no metabolismo do N e na senescência foliar, como também há necessidade de determinar os valores de referência para orientar a adubação com Ni no cafeeiro. A presente pesquisa foi realizada com base nas seguintes hipóteses: (i) a aplicação de Ni poderia aumentar a eficiência de uso do N, tanto pela maior degradação da ureia, via atividade da urease, quanto pelo aumento da redistribuição de reservas de nitrogênio, por meio do incremento do catabolismo da arginina; e (ii) O fornecimento de Ni atrasa a senescência foliar, pela diminuição da produção de etileno endógeno na planta, o que aumentaria a duração foliar.

1.1 Objetivo geral:

Compreender como a nutrição do cafeeiro com Ni pode contribuir para o aumento da eficiência no uso do N e/ou retardar a senescência foliar, caracterizar as respostas fisiológicas e bioquímicas, e ainda, definir se é válido recomendar a sua aplicação no cafeeiro.

1.2 Objetivos específicos:

- Avaliar a biometria, partição da biomassa e acúmulo de nutrientes em cafeeiro exposto à doses de níquel em razão do nível de nitrogênio.
- Quantificar parâmetros bioquímicos e fisiológicos que influenciam a assimilação do nitrogênio e a senescência da planta de cafeeiro exposta à doses de níquel em razão do nível de nitrogênio.

REFERÊNCIAS

- ABELES, F.B.; MORGAN, P.W.; SALTVEIT, M.E. **Ethylene in Plant Biology**. 2nd .ed. San Diego: Academic Press, 1992. 414p.
- BAI, C.; REILLY, C.C.; WOOD, B.W. Nickel deficiency disrupts metabolism of ureides, amino acids, and organic acids of young pecan foliage. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 140, n.2, p. 433-443, 2006.
- BAILEY, C.J.; BOULTER, D. Urease, a typical seed protein of the Leguminosae. In: HARBORNE, J.B.; BOULTER, D.; TURNER, B.L. (Ed.). **Chemotaxonomy of the Leguminosae**. New York: Academic Press, 1971. p. 485-502.
- BAUSENWEIN, U.; MILLARD, P.; THORNTON, B.; RAVEN, J.A. Seasonal nitrogen storage and remobilization in the forb *Rumex acetosa*. **Functional Ecology**, Oxford, v. 15, n.3, p. 370-377, 2001.
- BOHNER, A.; KOJIMA, S.; HAJIREZAEI, M.; MELZER, M.; WIRÉN, N. von. Urea retranslocation from senescing *Arabidopsis* leaves is promoted by DUR3-mediated urea retrieval from leaf apoplast. **The Plant Journal**, Oxford, v. 81, n. 3, p. 377-387, 2015.
- BROWN, P.H.; WELCH, R.M.; MADISON, J.T. Effect of nickel deficiency on soluble anion, amino acid and nitrogen levels in barley. **Plant and Soil**, The Hague, v. 125, n. 1, p. 19-27, 1990.
- CROCOMO, J.O. **Estudo sobre metabolismo da ureia C14 aplicada às folhas do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) normal e deficiente em nitrogênio**. 1959. 83p. Tese (Livre Docência) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1959.
- DaMATTA, F.M.; Ecophysiological constraints on the production of shaded and unshaded coffee: a review. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 86, p. 99-114, 2004.
- DIXON, N.E.; GAZZOLA, C.; BLAKELEY, R.L.; ZERNER, B. Jack Bean urease (EC 3.5.1.5). A metalloenzyme. A simple biological role for nickel? **Journal of the American Chemical Society**, Easton, v. 97, n. 14, p. 4131-4133, 1975.
- ESKEW, D.L.; WELCH, R.M.; CARY, E.E. Nickel: an essential micronutrient for legumes and possibly all higher plants. **Science**, New York, v. 222, n. 4624, p.621-623, 1983.
- ESKEW, D.L.; WELCH, R.M.; NORVELL, W.A. Nickel in higher plants: Further evidence for an essential role. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 76, n. 3, p. 691-693, 1984.
- GERENDAS, J.; SATTELMACHER, B. Influence of Ni supply on growth and nitrogen metabolism of *Brassica napus* L. grown with NH₄NO₃ or urea as N source. **Annals of Botany**, London, v. 83, p. 65-71, 1999.

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

GEROMEL, C.; FERREIRA, L.P.; GUERREIRO, S.M.C.; CAVALARI, A.A.; POT, D.; PEREIRA, L.F.P.; LEROY, T.; VIEIRA, L.G.E.; MAZZAFERA, P.; MARRACCINI, P. Biochemical and genomic analysis of sucrose metabolism during coffee (*Coffea arabica*) fruit development. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 57, n. 12, p. 3243-3258, 2006.

HOGAN, M.E.; SWIFT, I.E.; DONE, J. Urease assay and ammonia release from leaf tissue. **Phytochemistry**, Oxford, v. 22, n. 3, p. 663-665, 1983.

ITAMURA, H., OHNO, Y., YAMAMURA, H. Characteristics of fruit softening in Japanese persimmon. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 685, p. 37-44, 1997.

KOJIMA, S.; BOHNER, A.; von WIRÉN, N. Molecular mechanisms of urea transport in plants. **The Journal of Membrane Biology**, New York, v. 212, n. 2, p. 83-91, 2006.

LAU, O.L.; YANG, S.F. Inhibition of ethylene production by cobaltous ion. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 58, n. 1, p. 114-117, 1976.

MAZZAFERA, P. Chemical composition of defective coffee beans. **Food Chemistry**, Barking, v. 64, n. 4, p. 103-110, 1998.

MCGARVEY, D.J.; CHRISTOFFERSEN, R.E. Characterization and kinetic parameters of ethylene-forming enzyme from avocado fruit. **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 267, n. 9, p. 5964-5967, 1992.

MOHLMANN, T.; BERNARD, C.; HACH, S. Nucleoside transport and associated metabolism. **Plant Biology**, Stuttgart, v. 12, n. 1, p. 26-34, 2010.

MUSTAFIZ, A.; GHOSH, A.; TRIPATHI, A.K.; KAUER, C.; GANGULY, A.K.; BHAVESH, N.S.; TRIPATHI, J.K.; PAREEK, S.; SOPORY, S.K.; SINGLA-PAREEK, S.L. A unique Ni^{2+} and methylglyoxal-inducible rice glyoxalase I possesses a single active site and functions in abiotic stress response. **The Plant Journal**, Oxford, v. 78, p. 951-963, 2014.

NASHOLM, T.; KIELLAND, K.; GANETEG, U. Uptake of organic nitrogen by plants. **New Phytologist**, London, v. 182, n. 1, p. 31-48, 2009.

NINOMIYA, A.; MURATA, M.; TADA, M.; SHIMOISHI, Y. Change in allantoin and arginine contents in *Dioscorea opposita* 'Tsukuneimo' during the growth. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, Tokyo, v. 73, n. 6, p. 546-551, 2004.

POLACCO, J.C. Nitrogen metabolism in soybean tissue culture. I. Assimilation of urea. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 58, p. 350-357, 1976.

- POLACCO, J.C. Nitrogen metabolism in soybean tissue culture. II. Urea utilization and urease synthesis require Ni^{2+} . **Plant Physiology**, Lancaster, v. 59, p.827-830, 1977.
- POLACCO, J.C.; MAZZAFERA, P.; TEZOTTO, T. Opinion – Nickel and urease in plants: Still many knowledge gaps. **Plant Science**, Shannon, v. 199-200, p.79-90, 2013.
- RENTSCH, D.; SCHMIDT, S.; TEGEDER, M. Transporters for uptake and allocation of organic nitrogen compounds in plants. **FEBS Lett**, Netherlands, v. 581, n. 12, p. 2281-2289, 2007.
- ROACH, W.A.; BARCLAY, C. Nickel and multiple trace element deficiencies in agricultural crops. **Nature**, London, v. 157, n. 3995, p. 696, 1946.
- SHIMIZU, M.M.; MAZZAFERA, P. A role for trigonelline during imbibition and germination of coffee seeds. **Plant Biology**, Stuttgart, v. 2, n. 6, p. 605-611, 2000b.
- SHIMIZU, M.M.; MAZZAFERA, P. Compositional changes of proteins and amino acids in germinating coffee seeds. **Brazilian Archives of Biology Technology**, Curitiba, v. 43, n. 3, p. 259-265, 2000a.
- TEZOTTO, T.; FAVARIN, J.L.; AZEVEDO, R.A.; ALLEONI, L.R.F.; MAZZAFERA, P. Coffee is highly tolerant to cadmium, nickel and zinc: plant and soil nutritional status, metal distribution and bean yield. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 125, p. 25-34, 2012.
- Van ETTEN, C.H.; KWOLEK, W.F.; PETERS, J.E.; BARCLAY, A.S. Plant seeds as protein sources for food or feed. Evaluation based on amino acid composition of 379 species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 15, n. 6, p. 1077-1089, 1967.
- WALKER, D.W.; GRAHAM, R.D.; MADISON, J.T.; CARY, E.E.; WELCH, R.M. Effects of Ni deficiency on some nitrogen metabolites in cowpea (*Vigna unguiculata* L. Wap.). **Plant Physiology**, Lancaster, v. 79, n. 2, p. 474-479, 1985.
- WITTE, C.P. Urea metabolism in plants. **Plant Science**, Shannon, v. 180, n. 3, p. 431-438, 2011.
- WITTE, C-P.; TILLER, S.A.; TAYLOR, M.A.; DAVIES, H.V. Addition of nickel to Murashige and Skoog medium in plant tissue culture activates urease and may reduce metabolic stress. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, The Hague, v. 68, n. 1, p. 103-104, 2002.
- WITTE, C-P.; ROSSO, M.G.; ROMEIS, T. Identification of three urease accessory proteins that are required for urease activation in Arabidopsis. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 139, n. 3, p. 1155-1162, 2005.
- WOOD, B.W.; REILLY, C.C.; NYEZEPIR, A.P. Mouse-ear of pecan: I. Symptomatology and occurrence. **HortScience**, Alexandria, v. 39, n. 1, p. 87-94, 2004a.

WOOD, B.W.; REILLY, C.C.; NYEZEPIR, A.P. Mouse-ear of pecan: II. Influence of nutrient applications. **HortScience**, Alexandria, v. 39, n. 1, p. 95-100, 2004b.

WOOD, B.W.; REILLY, C.C.; NYEZEPIR, A.P. Mouse-ear of pecan: a nickel deficiency. **HortScience**, Alexandria, v. 39, n. 6, p. 1238-1242, 2004c.

YANG, J.; WANG, Z.; ZHU, Q. Photosynthetic characteristics, dry matter accumulation and its translocation in inter-subspecific hybrid rice. **Acta Agronomica Sinica**, Beijing, v. 23, p. 82-88, 1997.

ZHENG, Q.L., NAKATSUKA, A., ITAMURA, H. Extraction and characterization of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) synthase and ACC oxidase from wounded persimmon fruit. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, Tokyo v. 74, p. 159-166, 2005.

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

ZHU, Q.; ZHANG, Z.; YANG, J.; WANG, Z. Source-sink characteristics related with the yield of inter-subspecific hybrid rice. **Scientia Agricola Sinica**, Beijing, v. 30, p. 52-59, 1997.

ZONIA, L.E.; STEBBINS, N.E.; POLACCO, J.C. Essential role of urease in germination of nitrogen-limited *Arabidopsis thaliana* seeds. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 107, n. 4, p. 1097-1103, 1995.

2 BIOMETRIA, PARTIÇÃO DA BIOMASSA E ACÚMULO DE NUTRIENTES EM CAFEIEIRO EXPOSTO À DOSES DE NÍQUEL EM RAZÃO DO NÍVEL DE NITROGÊNIO

Resumo

As plantas cultivadas são importante via para entrada de minerais essenciais e não essenciais na cadeia alimentar. Assim, as informações sobre absorção e distribuição dos minerais nas plantas são necessárias para evitar que sejam inseridos na cadeia. Plantas de *Coffea arabica* L. cv. IAC 62 foram cultivadas em vasos enriquecidos com seis doses de Ni (0, 15, 30, 45, 90 e 180 mg dm⁻³ Ni). Após um ano, na pré-antese, as plantas foram submetidas a dois níveis de nitrogênio (suficiente e deficiente), em delineamento experimental fatorial e quatro repetições. As avaliações foram realizadas na colheita, onde foram determinadas a biometria, partição de biomassa, concentração e acúmulo de N, P, K, Ca, Mg, B, Cu, Fe, Mn, Ni e Zn em raiz, caule, ramo, folha, casca e grãos de café. A aplicação de Ni reduziu a biomassa do café somente no maior teor do elemento disponível no solo (105 mg dm⁻³), e essa redução na biomassa afetou a concentração e acúmulo, principalmente, dos macronutrientes (N, P, K, Ca e Mg). Com relação aos micronutrientes metálicos (Cu, Fe, Mn e Zn), o incremento gradual no teor de Ni disponível, reduziu ou elevou gradualmente a concentração desses micronutrientes no café. Os coeficientes de eficiência de uso de N pelo café foram afetados somente em razão do nível de N, sem alteração em função do Ni disponível no solo.

Palavras-chave: Macronutrientes; Micronutrientes; *Coffea arabica* L.; Metal pesado

Abstract

Field crops are an important pathway for entry of essential and non-essential minerals into the food chain. Thus, information on absorption and distribution of minerals in plants is necessary to ensure that they they enter the chain. *Coffea arabica* L. plants cv. IAC 62 were grown in pots containing substrate supplemented with six doses of Ni (0, 15, 30, 45, 90 and 180 mg dm⁻³ Ni). After a year in pre-anthesis, the plants were subjected to two nitrogen regimes (sufficient and insufficient), in a factorial experimental design with four replications. Evaluations, made at harvest, consisted of biometrics, biomass partitioning, concentration and accumulation of N, P, K, Ca, Mg, Cu, Fe, Mn, Ni and Zn in root, stem, branch, leaf, peel and coffee beans. Ni application reduced coffee plant biomass only at a higher soil availability (105 mg Ni dm⁻³), and this resulted in the reduction in biomass concentration and accumulation of macronutrients, mainly N, P, K, Ca and Mg. Regarding metal micronutrients (Cu, Fe, Mn and Zn), the gradual increase in available Ni content, either reduced or gradually increased the concentration of these micronutrients in coffee. The coefficients of N-use efficiency in coffee were affected only with respect to management of N, and not as a function of soil Ni availability.

Keywords: Macronutrient; Micronutrient; *Coffea arabica* L.; Heavy metal

2.1 Introdução

As plantas cultivadas são importantes via de transferência de macro e micronutrientes presente no ambiente (ar, água e solo) para a cadeia alimentar (HAMILTON, 1995). Ainda, se presente no ambiente, alguns contaminantes como As, Cd, Hg e Pb, serão transferidos por meio do consumo de alimentos contaminados (McLAUGHLIN et al., 1999). As culturas agrícolas, entre elas o cafeeiro, tem cada vez mais recebido resíduos urbanos e/ou industriais, os quais podem conter teores elevados de metais como Cd, Ni e Zn (TEZOTTO et al., 2012). Como o café é uma das bebidas mais consumidas no mundo, as informações sobre absorção e distribuição de metais são necessárias para garantir que estes não sejam ingeridos pelos consumidores.

As plantas apresentam diferentes estratégias de tolerância para se desenvolverem em solos com elevados teores de metais pesados disponíveis. Esta tolerância é baseada principalmente na exclusão do metal presente no solo ou na desintoxicação do metal pela parte aérea (BAKER, 1981). As plantas excludoras de metais previnem a absorção do metal pela raiz, e portanto a transferência e acúmulo na parte aérea é reduzida (De VOS et al., 1991). De outro modo, as plantas que desintoxicam o metal absorvido, formam complexos com fitoquelatinas (KRÄMER, 2010), ou sequestram esse metal na parte aérea (LASAT et al., 1998).

Algumas práticas agronômicas podem interferir no acúmulo de metais na planta, como por exemplo a fertilização nitrogenada. Em espécies de *Alyssum*, a aplicação de fertilizantes aumentou o acúmulo de Ni (BENNETT et al., 1998). Em plantas de alfafa observou que, além de favorecer a absorção do metal, a fertilização nitrogenada reduziu o estresse oxidativo em razão da exposição das plantas ao Hg (CARRASCO-GIL et al., 2012).

As espécies arbóreas diferem na habilidade em transferir metais da raiz para a parte aérea. Em plântulas de *Acer pseudoplatanus* L. cultivadas em solo com resíduo de esgoto, as concentrações de metais em ramo e folhas foram menores em relação aqueles quantificados na raiz (LEPP; EARDLEY, 1978). Já em plantas adultas, a maioria do Pb que não ficou retido na raiz remobilizou para os ramos, enquanto que o Zn foi transferido para as folhas (TURNER; DICKINSON, 1993). Morin (1981) encontrou que raízes de diversas espécies arbóreas que desenvolviam em solo contaminado apresentaram concentrações de Cd, Cu, Ni e Zn superiores às concentrações encontradas na parte aérea. Em arbóreas do gênero *Salix* sp.

cultivadas com resíduo de esgoto, Cu e Pb e Cr foram determinados principalmente nos ramos, enquanto que Zn, Cd e Ni foram determinados nas folhas (HASSELGREN, 1999). Em cafeeiro, Zn foi encontrado em maior concentração no ramo, folha e grãos; Ni em folha, ramo e grãos e; Cd em ramo e grãos, e ausente nas folhas (TEZOTTO et al., 2012).

A transferência do metal absorvido pela raiz para o destino final na parte aérea exige uma atividade coordenada de mobilização do metal, absorção, transporte em longas distâncias e distribuição celular (CLEMENS et al., 2002; PALMER; GUERINOT, 2009).

Essa coordenação de distribuição e transporte é realizada por várias moléculas orgânicas, as quais têm preferência de ligação com metais e obedecem a constante de estabilidade da série de Irving-Williams, a qual refere-se à estabilidade do cátion divalente às ligações no terminal S-, N- e O- das moléculas, cuja ordem de estabilidade é $Mn(II) < Fe(II) < Co(II), Ni(II), Cu(II) > Zn(II)$. Assim, o excesso de um íon metálico causa efeito tóxico e afeta a disponibilidade de outro íon metálico, prejudicando a interação com proteínas e outras moléculas orgânicas (CORNU et al., 2014).

As moléculas responsáveis pelo transporte de metal na planta desempenham papel fundamental na homeostase do metal por meio do poder tampão do citossol, facilidade na distribuição intra e inter celular e transporte a longas distâncias. Além disso, as moléculas presentes no vacúolo que sequestram os metais contribuem para a tolerância ao metal (HAYDON; COBBETT, 2007; KRÄMER et al., 2007). As principais moléculas responsáveis por ligar-se aos metais são as fitoquelatinas (CLEMENS, 2006; PERSSON et al., 2006; TENNSTEDT et al., 2009), glutathione (FREEMAN et al., 2004; NOCTOR et al., 2012), histidina e outros aminoácidos (KRÄMER et al., 1996; SHARMA; DIETZ, 2006), ácidos orgânicos (RAUSER, 1999; SARRET et al., 2002) e nicotianamina (CURIE et al., 2009).

Assim, este projeto teve como objetivo avaliar a biometria, a partição da biomassa e a concentração e o acúmulo de nutrientes em cafeeiro exposto à doses de Ni em razão do nível de nitrogênio.

2.2 Material e métodos

2.2.1 Instalação e condução do experimento

O experimento foi conduzido de fevereiro de 2012 a março 2014 na área experimental do Departamento de Produção Vegetal da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo, Brasil. A área situa-se a 22°42’00” de latitude Sul e 47°38’00” de longitude Oeste e 580 metros de altitude. De acordo com a classificação de Köppen o clima regional é do tipo Cwa, tropical de altitude com inverno seco, temperatura média anual de 22 °C e precipitação média de 1280 mm anuais.

A temperatura média, máxima e mínima (°C) e a umidade relativa média (Figura 1) durante o período de condução do experimento foram obtidas pela Estação Meteorológica do Departamento de Engenharia de Biosistemas da Esalq/Usp (LEB, 2015).

O experimento foi instalado em vasos de 50 dm³ preenchidos com mistura de solo argiloso, areia grossa e substrato para formação de mudas, na proporção volumétrica de 1:1:1, conforme atributos físicos apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Resultado da análise física das frações minerais da mistura de solo, areia grossa, e substrato (1:1:1)

Argila	Silte	Areia Total	Areia Grossa	Areia Fina
<0,002	0,053-0,002	-	2,00-0,210	0,210-0,053
mm	mm		mm	
210	70	720	450	270

As mudas de cafeeiro (*Coffea arabica* L. cv. IAC 62) foram transplantadas em fevereiro de 2012 no substrato descrito acima, o qual foi corrigido quimicamente para os teores de N – 50, P – 60, K – 50, S – 50, B – 1, Co – 0,1, Cu – 1, Mn – 5, Mo – 0,15 e Zn – 5 (mg dm⁻³). Ainda, para o N e o K foram aplicados em cobertura a quantidade de N - 200, K – 100 e S – 25 (mg dm⁻³) parcelados em quatro aplicações.

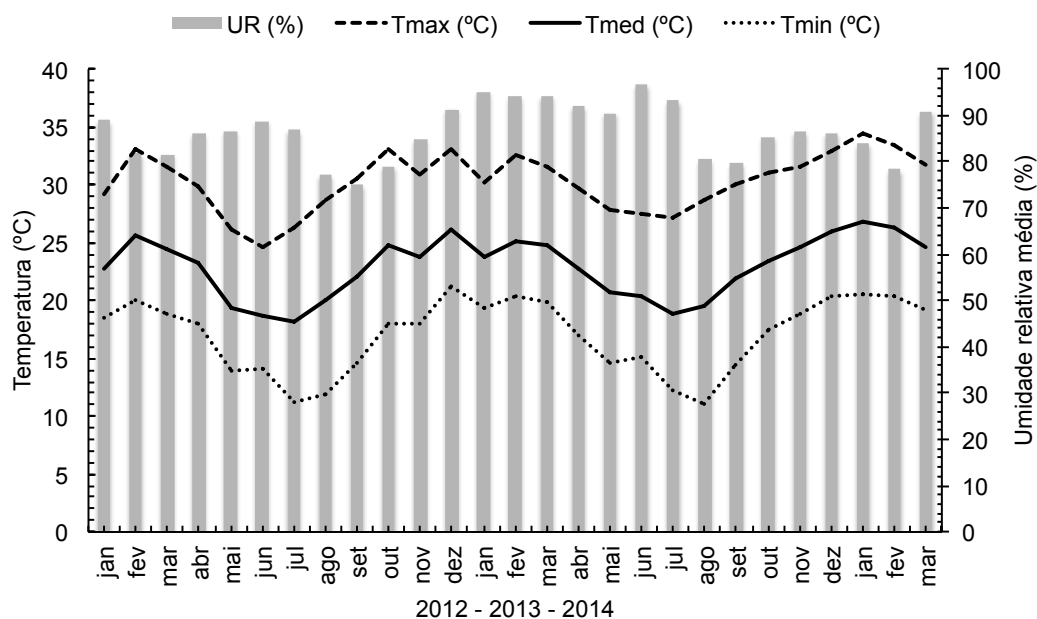


Figura 1 - Temperatura média, máxima, mínima (°C) e umidade relativa média (%) da área experimental da Esalq/Usp, em Piracicaba-SP, no período de janeiro de 2012 à março de 2014

Os tratamentos foram constituídos de seis doses de Ni (0; 15; 30; 45; 90; e 180 mg dm⁻³), aplicadas na forma de cloreto de níquel, quatro repetições em delineamento inteiramente casualizado, e cada parcela experimental foi constituída de dois vasos de cafeeiro (Figura 2). No primeiro ano do experimento, do plantio (fevereiro de 2012) até a antese (agosto de 2013), todas as plantas de cafeeiro receberam a mesma fertilização nitrogenada, equivalente à 250 mg dm⁻³ N, via ureia.



Figura 2 - Detalhe do experimento em fevereiro de 2012 e do porte das plantas em dezembro de 2013

A indução da deficiência de N no experimento iniciou-se na antese (agosto de 2013), em que metade do experimento recebeu 20% da dose de nitrogênio (deficiente) em relação ao cafeeiro suficiente em nitrogênio (Tabela 2). Ressalta-se que todas as adubações nitrogenadas realizadas foram feitas com ureia e o controle de pragas e doenças realizado de acordo com a recomendação fitotécnica para a cultura do cafeeiro e a irrigação foi realizada por sistema de irrigação via gotejo (Figura 2).

Tabela 2 - Descrição dos tratamentos aplicados no experimento

Teor Ni (mg dm^{-3})		Dose N (mg dm^{-3})	
		ANO 1: Plantio – Antese	ANO 2: Antese – colheita
0	N Suficiente	250	250
15		250	250
30		250	250
45		250	250
90		250	250
180		250	250
0	N Deficiente	250	50
15		250	50
30		250	50
45		250	50
90		250	50
180		250	50



Figura 3 - Plantas de cafeeiro em vasos de 50 dm^3 conduzidas em sistema de irrigação por gotejo expostas a doses de Ni e nível do nitrogênio (suficiente e deficiente)

2.2.2 Análise de solo

A fertilidade química do solo foi avaliada em amostras coletadas com auxílio de trado tipo sonda de 40 cm de profundidade antes da indução da deficiência de nitrogênio (agosto de 2013). Em cada vaso da parcela experimental coletou-se uma amostra, e depois foram combinadas e o solo seco em estufa a 35 °C, passadas em peneira com abertura de malhas de dois mm e posterior enviadas para análise química no Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Solos e Recursos Ambientais do Instituto Agronômico de Campinas – IAC para a determinação do pH; matéria orgânica (g dm^{-3}); P (mg dm^{-3}); K, Ca, Mg, H+Al, CTC ($\text{mmol}_c \text{dm}^{-3}$); B, Cu, Fe, Mn, Ni e Zn (mg dm^{-3}) (RAIJ et al., 2001).

2.2.3 Avaliações biométricas

O diâmetro do caule, a altura da planta e comprimento dos ramos plagiotrópicos foram avaliados por ocasião da colheita do experimento (março de 2014). O diâmetro do caule foi medido a dois cm da cicatriz das folhas cotiledonares do ramo ortotrópico com o auxílio de um paquímetro. A altura de planta foi medida da cicatriz das folhas cotiledonares do ramo ortotrópico até o ápice da planta e o comprimento dos ramos plagiotrópicos foram medidos em seis ramos distribuídos ao longo da planta de cafeeiro (3^a, 6^a e 9^a posição a partir da cicatriz cotiledonar), os quais foram medidos da base do ramo fixado no ramo ortotrópico até o ápice do ramo plagiotrópico com o auxílio de uma régua.

2.2.4 Amostragem das plantas

Após 25 meses da instalação do experimento, as plantas de cafeeiro foram destruídas e separadas em raiz, caule, ramos, folhas e frutos (casca + grãos). O material vegetal foi seco em estufa com circulação de ar a 65 °C por 72 h para obtenção da massa de matéria seca das raízes, do caule, dos ramos plagiotrópicos, das folhas e dos frutos (casca + grãos). A massa de matéria seca total foi obtida pelo somatório da matéria seca de todas as partes avaliadas.

As raízes, caule e ramos foram pré-moídos em triturador forrageiro de facas e uma parte do material armazenado para moagem em moinho de facas tipo Willey. As folhas, a casca e os grãos foram moídos em moinho multiuso de facas. Posteriormente, as amostras foram acondicionadas em frascos de acrílico com tampa plástica e armazenada até a realização das determinações analíticas.

2.2.5 Análises de macro e micronutrientes do material vegetal

Para a determinação da concentração de nitrogênio total em raiz, caule, ramo, folha, casca e grãos, o material vegetal foi submetido à digestão sulfúrica (JACKSON, 1958) e o nitrogênio quantificado de acordo com o método analítico semi-micro Kjeldahl (BREMNER, 1965).

As concentrações de P, K, Ca, Mg, B, Cu, Fe, Mn, Zn e Ni em raiz, caule, ramo, folha, casca e grãos foram determinadas de acordo com metodologia modificada de Chilimba et al. (2011). Aproximadamente 100 mg do material vegetal moído foi digerido sob aquecimento por microondas por 1 h em condição controlada de 20 bar de pressão em 2 mL de HNO₃ (70%), 2 mL H₂O milli-Q e 2 mL H₂O₂ (60%). Após a digestão, as amostras foram diluídas para 10 mL com água Milli-Q e armazenadas em temperatura ambiente para análise em ICP-OES.

2.2.6 Acúmulo de macro e micronutrientes no cafeeiro

O acúmulo (A) de macro e micronutriente em raiz, caule, ramo, folha e fruto foi calculado pelas expressões abaixo:

$$A_{\text{macronutriente}} = \frac{MS \text{ (gr)} \times \text{concentração (g kg}^{-1}\text{)}}{1000} = \text{g planta}^{-1}$$

$$A_{\text{micronutriente}} = \frac{MS \text{ (gr)} \times \text{concentração (mg kg}^{-1}\text{)}}{1000} = \text{mg planta}^{-1}$$

O acúmulo total de macro e micronutrientes foi calculado pelo somatório das partes da planta e expresso em gramas ou miligramas planta⁻¹.

2.2.7 Índices de Eficiência do Uso de Nitrogênio (IEUN)

Após a avaliação da massa de matéria seca das partes da planta e a concentração de nitrogênio foram calculados os índices de eficiência de utilização e absorção de N, em que:

- (i) Eficiência do Uso de Nitrogênio Absorvido (EUNA): concentração de N na folha/acúmulo total de N na planta;

- (ii) Eficiência de Absorção de Nitrogênio (EAN): concentração de N na planta/massa de matéria seca das raízes;
- (iii) Razão de Eficiência do Nitrogênio (REN): massa de matéria seca planta/acúmulo total de N.

2.2.8 Coeficiente de transferência do Ni no cafeeiro

Após a determinação das concentrações de Ni na matéria seca (raiz, caule, ramo, folha e fruto) foi calculada a razão entre a concentração de Ni nas partes da planta e as suas quantidades adicionadas.

2.2.9 Análise estatística

Os parâmetros avaliados foram submetidos à análise de variância considerando os dois fatores do experimento (nível de N x Dose de Ni). De acordo com o nível de significância no teste F, o nível de N foi submetido ao teste de Tukey, enquanto as doses de Ni foram submetidas a análise de regressão. Quando houve interação dos fatores, os dados foram desdobrados e procedeu-se a análise de regressão dos dois níveis de N em relação à dose de Ni. Para todas as análises estatísticas foi considerado o nível de significância de 5%.

2.3 Resultados

O solo apresentou os seguintes valores médios: 34 g dm⁻³ de matéria orgânica; 55 mmol_c dm⁻³ de soma de bases; 72% de saturação de bases (V%); 49 mg dm⁻³ de P; 1,7 mmol_c dm⁻³ de K; 33,5 mmol_c dm⁻³ de Ca; e 19,5 mmol_c dm⁻³ de Mg. Para esses atributos avaliados, não houve alteração dos valores em função da aplicação de doses crescente de Ni e nível de N fornecido às plantas (suficiente e deficiente) (Tabela 3).

Para os micronutrientes, o fornecimento de doses crescentes de Ni não alterou os teores disponíveis no solo de B (1,4 mg dm⁻³), Cu (5,9 mg dm⁻³), Mn (14,1 mg dm⁻³) e Zn (4,1 mg dm⁻³). No entanto, o nível de N fornecido às plantas alterou os teores disponíveis de Fe, cujos teores foram de 25,2 mg dm⁻³ (N suficiente) e 27,7 mg dm⁻³ (N deficiente) (Tabela 4).

Tabela 3 - Análise química do substrato em função da aplicação de Ni e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) (n=4)

N	Ni aplicado mg dm ⁻³	M.O g dm ⁻³	pH	CaCl ₂	P mg dm ⁻³	-----mmol _c dm ⁻³ -----						CTC	V %
						K	Ca	Mg	H+Al	SB			
Suficiente	0	33	5,4	52	1,7	37	19	21	21	57	78	74	
	15	34	5,3	43	1,9	30	18	21	21	50	71	71	
	30	36	5,4	50	1,6	35	21	20	20	58	78	74	
	45	34	5,3	49	2,0	34	20	21	21	57	78	73	
	90	32	5,3	52	2,0	36	24	23	23	62	84	73	
	180	32	5,2	55	1,3	34	18	23	23	53	76	69	
	Média	34	5,3	50	1,7	34	20	21	21	56	77	72	
Deficiente	0	33	5,5	49	1,7	35	20	20	20	56	76	73	
	15	34	5,4	47	1,6	33	19	21	21	53	74	72	
	30	34	5,2	46	1,9	30	17	24	24	48	71	67	
	45	32	5,3	48	1,4	33	17	21	21	51	72	71	
	90	34	5,2	51	1,8	34	22	22	22	58	80	72	
	180	34	5,2	51	1,7	36	21	24	24	58	82	71	
	Média	34	5,3	49	1,7	33	19	22	22	54	76	71	
P T	N	0,9170 ^{ns}	0,4705 ^{ns}	0,5458 ^{ns}	0,6526 ^{ns}	0,4689 ^{ns}	0,3047 ^{ns}	0,4229 ^{ns}	0,4229 ^{ns}	0,3635 ^{ns}	0,4352 ^{ns}	0,3287 ^{ns}	
	Ni	0,4709 ^{ns}	0,0002 ^{**}	0,4036 ^{ns}	0,4874 ^{ns}	0,2722 ^{ns}	0,1129 ^{ns}	0,0436 [*]	0,0436 [*]	0,2379 ^{ns}	0,0250 [*]	0,6042 ^{ns}	
	N x Ni	0,5153 ^{ns}	0,0633 ^{ns}	0,9353 ^{ns}	0,0952 ^{ns}	0,3811 ^{ns}	0,2411 ^{ns}	0,4169 ^{ns}	0,4169 ^{ns}	0,2920 ^{ns}	0,2054 ^{ns}	0,8488 ^{ns}	
CV%		8,0	1,9	6,5	46,5	13,1	17,2	3,2	3,2	13,4	8,1	6,2	

^{ns}, ^{*}, ^{**} = Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente

Os teores médios de Ni disponível no solo determinado pelo extrator DTPA foram iguais a 0,3 mg dm⁻³; 14 mg dm⁻³; 30 mg dm⁻³; 45 mg dm⁻³; 60 mg dm⁻³; e 105 mg dm⁻³ (Tabela 4, Figura 4). Na maior dose de Ni aplicada (180 mg dm⁻³) o teor no solo foi 350 vezes maior em relação à ocorrência natural no substrato preparado para instalação do experimento, cujo teor disponível foi de 0, 3 mg dm⁻³.

Tabela 4 - Análise dos teores de micronutrientes do substrato em função da aplicação de Ni e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) (n=4)

N	Ni aplicado	B	Cu	Fe	Mn	Zn	Ni
	mg dm ⁻³	-----mg dm ⁻³ -----					
Suficiente	0	1,3	6,0	25,5	14,4	3,5	0,4
	15	1,4	5,7	25,5	14,8	3,4	12,4
	30	1,4	5,6	24,8	11,6	4,3	28,0
	45	1,4	5,2	23,8	12,6	4,0	45,7
	90	2,0	6,5	26,3	13,7	4,5	61,5
	180	1,0	5,7	25,7	14,8	4,2	112,1
	Média	1,4	5,8	25,2	13,6	4,0	43,3
Deficiente	0	1,2	6,5	27,8	16,2	4,4	0,3
	15	1,1	6,0	28,0	15,0	4,0	15,5
	30	1,3	6,7	27,5	14,5	4,4	31,8
	45	1,1	5,9	26,5	13,9	4,1	43,5
	90	1,6	5,7	27,3	13,7	4,1	57,0
	180	1,2	5,3	29,0	14,6	4,3	97,7
	Média	1,3	6,0	27,7	14,6	4,2	41,0
Pr F	Nível N	0,2736 ^{ns}	0,3307 ^{ns}	0,0041 ^{**}	0,0593 ^{ns}	0,2328 ^{ns}	0,9900 ^{ns}
	Dose Ni	0,0578 ^{ns}	0,5160 ^{ns}	0,6795 ^{ns}	0,1553 ^{ns}	0,2993 ^{ns}	<0,0001 ^{**}
	N x Ni	0,8488 ^{ns}	0,3937 ^{ns}	0,9759 ^{ns}	0,7689 ^{ns}	0,6662 ^{ns}	0,3755 ^{ns}
	CV%	8,2	8,9	10,7	15,4	26,4	27,8

^{ns}, *, ** = Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente

Com relação à acidez do solo (pH em CaCl₂ – 0,01M), a acidez potencial (H+Al – mmol_c dm⁻³) e a capacidade de troca de cátions (CTC – mmol_c dm⁻³), os teores médios obtidos foram 5,3, 21,5 e 76,5, respectivamente (Tabela 3). O aumento da dose de Ni aplicado nos vasos reduziu o valor de pH de 5 observado no

controle (0 mg dm⁻³ Ni), para 5,2 na dose de 180 mg dm⁻³ de Ni e elevou a acidez potencial de 20,5 para 23,5 mmol_c dm⁻³ (Figura 4).

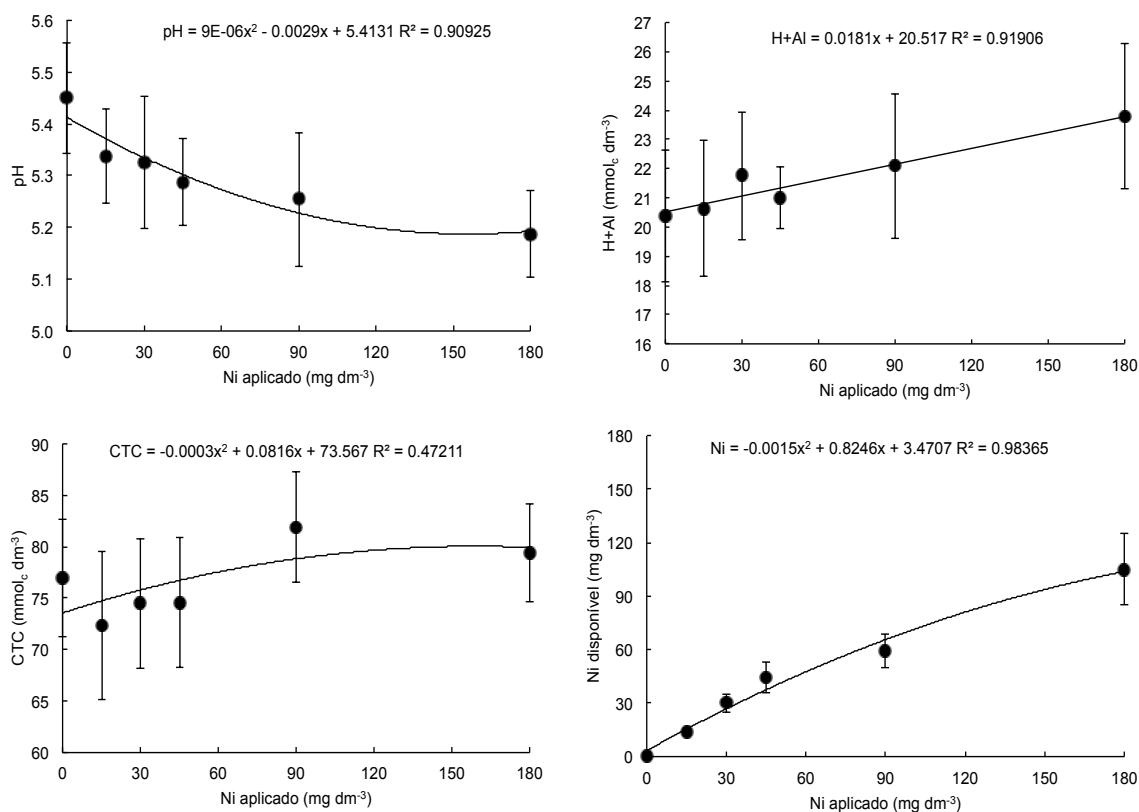


Figura 4 - pH, H+Al (mmol_c dm⁻³), CTC (mmol_c dm⁻³) e Ni disponível (mg dm⁻³ - DTPA) no substrato em função da aplicação de doses de Ni

As avaliações biométricas do diâmetro do caule (mm), altura do caule (cm) e comprimento do ramo plagiotrópico (cm) estão apresentadas na tabela 5. As plantas de café submetidas ao nível deficiente de N apresentaram diâmetro do caule 4% superior às que receberam nível suficiente de N (Tabela 5). Já, o incremento do teor disponível de Ni no solo aumentou o diâmetro do caule, o qual foi de 28,1 para 30,2 mm no nível suficiente de N, enquanto no nível deficiente de N, o diâmetro do caule reduziu de 30,2 para 28,8 mm, com a disponibilidade de 0,3 e 180 mg dm⁻³ Ni, respectivamente.

Tabela 5 - Diâmetro do caule (mm), altura do caule (cm) e comprimento do ramo plagiotrópico (cm) em cafeeiro em função do teor disponível de Ni (mg dm^{-3} – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) ($n=4$)

N	Ni disponível	Diâmetro do caule	Altura do caule	Comprimento do ramo
	mg dm^{-3}	mm	----- cm -----	-----
Suficiente	0,3	28,1	102,4	62,6
	14	28,8	104,9	58,2
	30	28,8	103,5	60,6
	45	28,7	100,9	63,8
	60	30,1	103,3	69,7
	105	30,2	94,5	64,9
	Média	29,1	101,6	63,3
Deficiente	0,3	30,2	100,5	57,3
	14	30,2	105,4	67,7
	30	31,8	103,3	67,3
	45	30,6	101,0	70,0
	60	30,2	104,1	66,9
	105	28,8	89,6	63,8
	Média	30,3	100,6	65,5
Pr F	N	0,0011**	0,5304 ^{ns}	0,2958 ^{ns}
	Ni	0,3917 ^{ns}	<0,0001**	0,2297 ^{ns}
	N x Ni	0,0073**	0,7723 ^{ns}	0,2479 ^{ns}
CV%		3,9	4,5	11,0

^{ns}, *, ** = Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente

O parâmetro altura de plantas não sofreu alteração em razão do nível de N fornecido às plantas. Porém, no maior teor disponível de Ni no solo (105 mg dm^{-3}) houve redução em 9,3% na altura das plantas (Tabela 5, Figura 5).

Apesar do fornecimento de Ni e nível de N alterarem o diâmetro e altura do caule, o comprimento do ramo plagiotrópico não sofreu alteração, e o comprimento médio observado foi de 64,4 cm (Tabela 5).

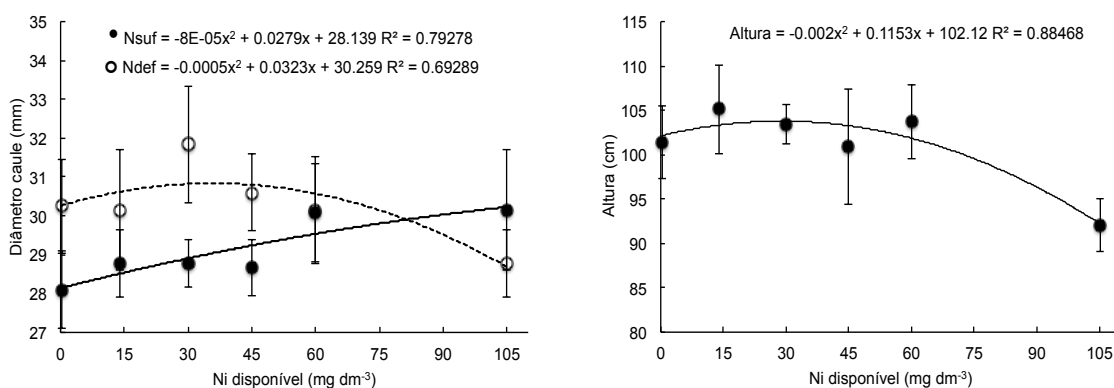


Figura 5 - Diâmetro do caule (mm) e altura (cm) do ramo ortotrópico de cafeeiro em função da disponibilidade de Ni e nível de nitrogênio

A condução do cafeeiro em nível deficiente de N reduziu em 14,3% a biomassa total da planta, em relação ao nível suficiente (Tabela 6). A raiz, caule e ramo não reduziu a biomassa em relação ao nível de N, enquanto que a biomassa de folha e fruto reduziu em 43% e 26,6%, nesta ordem (Tabela 6). O acúmulo de biomassa foi de 35,9% no fruto (casca + grão), 17,6% no ramo, 16,8% no caule, 16,5% na raiz e 13,2% na folha, para o nível suficiente de N, enquanto que no nível deficiente, a biomassa acumulada foi de 30,8% no fruto (casca + grão), 20,7% na raiz, 20% no ramo, 19,8% no caule e 8,7% na folha (Tabela 6).

A biomassa de raiz, caule, ramo e fruto do cafeeiro reduziu na maior disponibilidade de Ni no solo (105 mg dm⁻³) (Tabela 6, Figura 6). O maior acúmulo de raiz (175 g planta⁻¹), caule (165 g planta⁻¹) e ramo (170 g planta⁻¹) ocorreu no teor de 45 mg dm⁻³ de Ni disponível (Figura 6), enquanto que para o fruto (casca + grãos), o maior acúmulo observado foi de 360 g planta⁻¹ (N suficiente) e 275 g planta⁻¹ (N deficiente).

Tabela 6 - Partição da biomassa (g planta^{-1}) em raiz, caule, ramo, folha, fruto e total em cafeeiro em função do teor disponível de Ni (mg dm^{-3} – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) ($n=4$)

N	Ni disponível	Raiz	Caule	Ramo	Folha	Fruto	Total
	mg dm^{-3}						
Suficiente	0,3	179,5	164,8	167,5	130,1	354,8	996,7
	14	151,8	160,8	165,5	104,8	383,0	965,0
	30	164,3	170,8	174,0	121,1	359,8	990,0
	45	194,0	155,3	167,3	151,4	361,8	1029,8
	60	164,0	172,0	179,8	104,3	344,0	964,1
	105	82,8	132,3	147,3	137,0	243,8	743,2
	Média	156,1	159,3	166,9	124,8	341,2	948,3
Deficiente	0,3	194,3	155,8	158,3	53,2	259,8	821,3
	14	191,3	167,8	167,8	55,3	284,3	866,3
	30	179,0	161,5	167,8	45,0	250,3	788,8
	45	172,8	158,8	164,5	75,3	291,3	862,8
	60	173,0	177,3	172,3	82,0	282,5	887,0
	105	104,0	150,3	145,8	116,3	134,0	650,3
	Média	169,1	161,9	162,8	71,2	250,4	815,3
Pr F	N	0,1422 ^{ns}	0,5829 ^{ns}	0,3668 ^{ns}	<0,0001 ^{**}	<0,0001 ^{**}	<0,0001 ^{**}
	Ni	<0,0001 ^{**}	0,0067 ^{**}	0,0161 [*]	0,1353 ^{ns}	<0,0001 ^{**}	<0,0001 ^{**}
	N x Ni	0,5091 ^{ns}	0,5389 ^{ns}	0,9797 ^{ns}	0,0320 [*]	0,8161 ^{ns}	0,6426 ^{ns}
CV%		3,4	8,3	7,7	9,2	13,5	9,1

^{ns}, ^{*}, ^{**} = Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente

O nível deficiente de N reduziu a biomassa média de folhas no cafeeiro, quando comparado com a biomassa média de folhas no nível suficiente (Tabela 6). No entanto, o incremento no teor disponível de Ni no solo não alterou a biomassa de folhas quando a planta de cafeeiro recebeu o nível suficiente de N, mas no nível deficiente, observou aumento de 2,2 vezes na massa de folha no maior teor disponível de Ni (105 mg dm^{-3}), quando comparado com o teor de $0,3 \text{ mg dm}^{-3}$ de Ni disponível (Tabela 6, Figura 6).

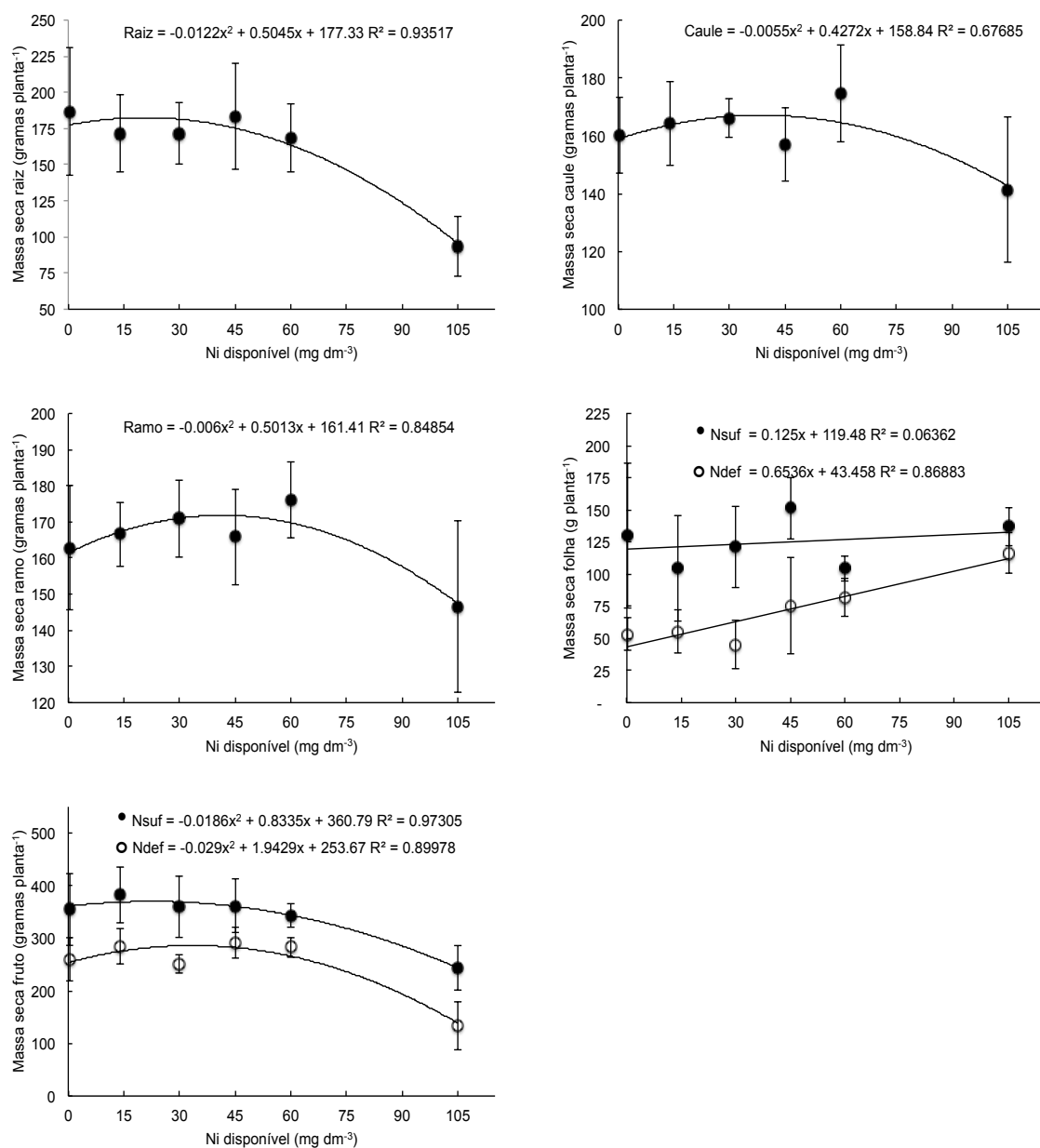


Figura 6 - Massa seca (g planta⁻¹) de raiz, caule, ramo folha e fruto de cafeeiro em função da disponibilidade de Ni e nível do nitrogênio

A diminuição de 26,6% na massa de fruto (casca + grão) ocorreu principalmente pela redução da biomassa de casca, a qual reduziu, em média, 26% no nível deficiente de N comparado com o nível suficiente, enquanto que a massa de grão e a massa de 1000 grãos não sofreram alteração em razão do nível de N (Tabela 7).

Tabela 7 - Massa seca (g planta⁻¹) de casca, grãos e massa de 1000 grãos (gramas) em cafeeiro em função do teor disponível de Ni (mg dm⁻³ – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) (n=4)

N	Ni disponível mg dm ⁻³	Casca ----- g planta ⁻¹ -----	Grãos -----gramas-----	M1000
Suficiente	0,3	312,7	37,3	62,4
	14	348,8	29,0	53,9
	30	319,6	31,9	57,4
	45	328,7	33,0	57,8
	60	320,4	23,6	57,6
	105	173,0	30,5	66,0
	Média		300,5	30,9
Deficiente	0,3	227,8	32,0	57,9
	14	242,8	41,5	56,2
	30	235,4	19,1	59,0
	45	258,7	32,6	58,9
	60	249,7	32,7	60,1
	105	117,0	20,0	70,0
	Média		221,9	29,6
Pr F	Nível N	<0,0001**	0,7300 ^{ns}	0,5356 ^{ns}
	Dose Ni	<0,0001**	0,2686 ^{ns}	0,0447*
	N x Ni	0,8664 ^{ns}	0,1609 ^{ns}	0,9147 ^{ns}
	CV%	15,4	37,0	3,1

^{ns}, *, ** = Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente

Com relação a aplicação de Ni, a massa seca de casca reduziu em ambos nível de N quando o cafeeiro foi submetido ao maior teor de Ni disponível no solo (105 mg dm⁻³), enquanto que nesta mesma condição, observou incremento de 13% na massa de 1000 grãos (Tabela 7, Figura 7).

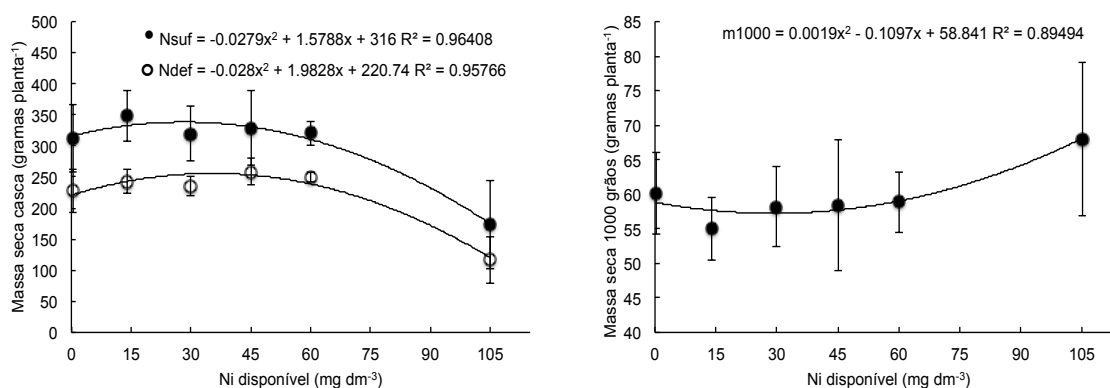


Figura 7 - Massa seca de casca e massa seca de 1000 grãos (g planta⁻¹) de cafeeiro em função da disponibilidade de Ni e nível do nitrogênio

O nível de nitrogênio suficiente no cafeeiro elevou as concentrações de N no caule, ramo, folha, casca e grãos em 8%, 11,7%, 16,8%, 19,2% e 11,5%, respectivamente, em relação ao nível deficiente (Tabela 8). Apenas a concentração de N da raiz não apresentou alteração para o nível de N. As maiores concentrações de N foram observadas nos grãos, folha, casca, ramo, raiz e caule, independente do nível de N aplicado no cafeeiro (Tabela 8).

A exposição ao Ni elevou em 2 vezes a concentração de N na raiz, 1,6 vez na folha, 1,4 vez no caule, 1,3 vez no ramo e nos grãos e, 1,2 vez na casca, quando comparado o teor disponível de 105 mg dm⁻³ em relação ao teor disponível de 0,3 mg dm⁻³ de Ni no solo (Tabela 8 e Figura 8).

Tabela 8 - Concentração (g kg^{-1}) de nitrogênio em raiz, caule, ramo, folha, casca, grãos e total em cafeeiro em função do teor disponível de Ni (mg dm^{-3} – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) ($n=4$)

N	Ni disponível	Raiz	Caule	Ramo	Folha	Casca	Grãos
	mg dm^{-3}	----- g kg^{-1} -----					
Suficiente	0,3	10,9	9,5	13,3	26,3	22,2	31,5
	14	10,9	9,2	14,2	27,3	23,7	30,7
	30	10,9	8,1	15,3	21,0	21,1	35,8
	45	13,3	8,9	13,3	24,3	23,2	35,9
	60	11,2	8,1	12,6	24,7	24,8	34,9
	105	19,2	13,4	17,3	39,0	26,4	34,7
	Média	12,7	9,5	14,3	27,1	23,6	33,9
Deficiente	0,3	8,2	8,9	13,3	20,1	20,2	26,6
	14	10,7	7,1	11,7	18,8	16,9	27,8
	30	11,7	7,4	11,9	24,5	19,2	29,4
	45	13,3	8,7	9,1	21,8	20,1	29,9
	60	10,7	8,5	13,6	20,7	18,7	27,6
	105	20,1	12,4	17,4	33,1	23,8	41,2
	Média	12,4	8,8	12,8	23,2	19,8	30,4
Pr F	N	0,4493 ^{ns}	<0,0001**	0,0124*	0,0001**	<0,0001**	<0,0001**
	Ni	<0,0001**	0,0062**	<0,0001**	0,0001**	0,0005**	<0,0001**
	N x Ni	0,4315 ^{ns}	0,9339 ^{ns}	0,0616 ^{ns}	0,6006 ^{ns}	0,0997 ^{ns}	<0,0001**
CV%		6,8	15,9	14,4	9,8	9,7	7,6

^{ns}, *, ** = Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente

Ao analisar a interação nível de N e teores de Ni disponível no solo, observa-se que no grão, a maior concentração de N (35 g kg^{-1}) foi observada no teor de $67,5 \text{ mg dm}^{-3}$ de Ni disponível no solo com o nível suficiente, enquanto no nível deficiente, a maior concentração de N avaliada (40 mg dm^{-3}) ocorreu no teor disponível de 105 mg dm^{-3} Ni no solo (Figura 8).

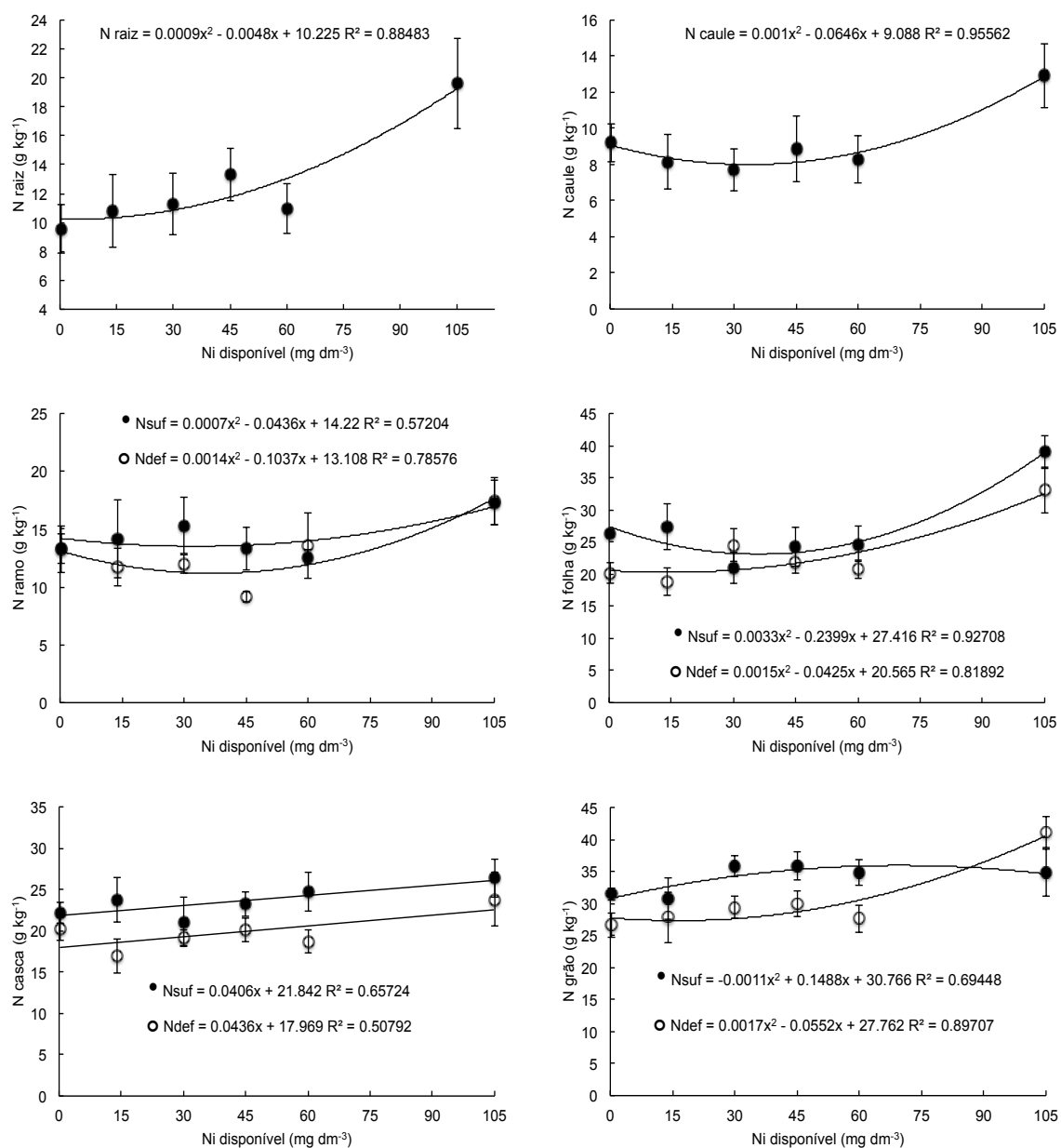


Figura 8 - Concentração de N (g kg⁻¹) em raiz, caule, ramo, folha, casca e grãos de café em função da disponibilidade de Ni e nível de nitrogênio.

Com relação ao acúmulo de N (g planta⁻¹) no ramo, folha, casca e acúmulo total de N na planta, apresentaram valores de 14,3%, 100%, 62,7% e 38,7%, respectivamente, no nível suficiente, comparado com o nível deficiente (Tabela 9). O acúmulo de N (g planta⁻¹) da raiz e caule não foram alterados quando comparados com o nível deficiente e suficiente de N.

Tabela 9 - Acúmulo (g planta^{-1}) de nitrogênio em raiz, caule, ramo, folha, casca, grãos e total em cafeeiro em função do teor disponível de Ni (mg dm^{-3} – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) ($n=4$)

N	Ni disponível	Raiz	Caule	Ramo	Folha	Casca	Grãos	Total
	mg dm^{-3}							
Suficiente	0,3	2,0	1,6	2,2	4,1	6,9	1,2	18,0
	14	1,6	1,5	2,3	2,9	8,2	0,9	17,4
	30	1,8	1,4	2,7	2,5	6,7	1,1	16,2
	45	2,6	1,4	2,2	3,1	7,6	1,2	18,1
	60	1,8	1,4	2,3	2,6	7,9	0,8	16,8
	105	1,6	1,8	2,5	5,3	4,6	1,1	16,9
	Média	1,9	1,5	2,4	3,4	7,0	1,0	17,2
Deficiente	0,3	1,6	1,4	2,1	1,1	4,6	0,8	11,6
	14	2,0	1,2	2,0	1,0	4,1	1,1	11,4
	30	2,1	1,2	2,0	0,7	4,5	0,6	11,1
	45	2,3	1,4	1,5	1,7	5,2	1,0	13,1
	60	1,9	1,5	2,3	1,7	4,7	0,9	13,0
	105	2,1	1,9	2,6	3,8	2,7	0,8	13,9
	Média	2,0	1,4	2,1	1,7	4,3	0,9	12,4
Pr F	N	0,4674 ^{ns}	0,2610 ^{ns}	0,0092 ^{**}	<0,0001 ^{**}	<0,0001 ^{**}	0,0773 ^{ns}	<0,0001 ^{**}
	Ni	0,1126 ^{ns}	0,0092 ^{**}	0,0132 [*]	<0,0001 ^{**}	<0,0001 ^{**}	0,6963 ^{ns}	0,4061 ^{ns}
	N x Ni	0,4037 ^{ns}	0,4633 ^{ns}	0,1279 ^{ns}	0,2744 ^{ns}	0,1618 ^{ns}	0,1869 ^{ns}	0,5192 ^{ns}
CV%		26,0	4,4	16,0	10,3	15,9	35,1	16,0

^{ns}, ^{*}, ^{**} = Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente

A aplicação de Ni alterou o acúmulo de N no caule, ramo, folha e casca (Tabela 9 e Figura 9), em que observou maior acúmulo de N no caule, ramo e folha em razão da maior disponibilidade de Ni no solo, enquanto que houve uma redução no acúmulo de N na casca do fruto do cafeeiro (Figura 9).

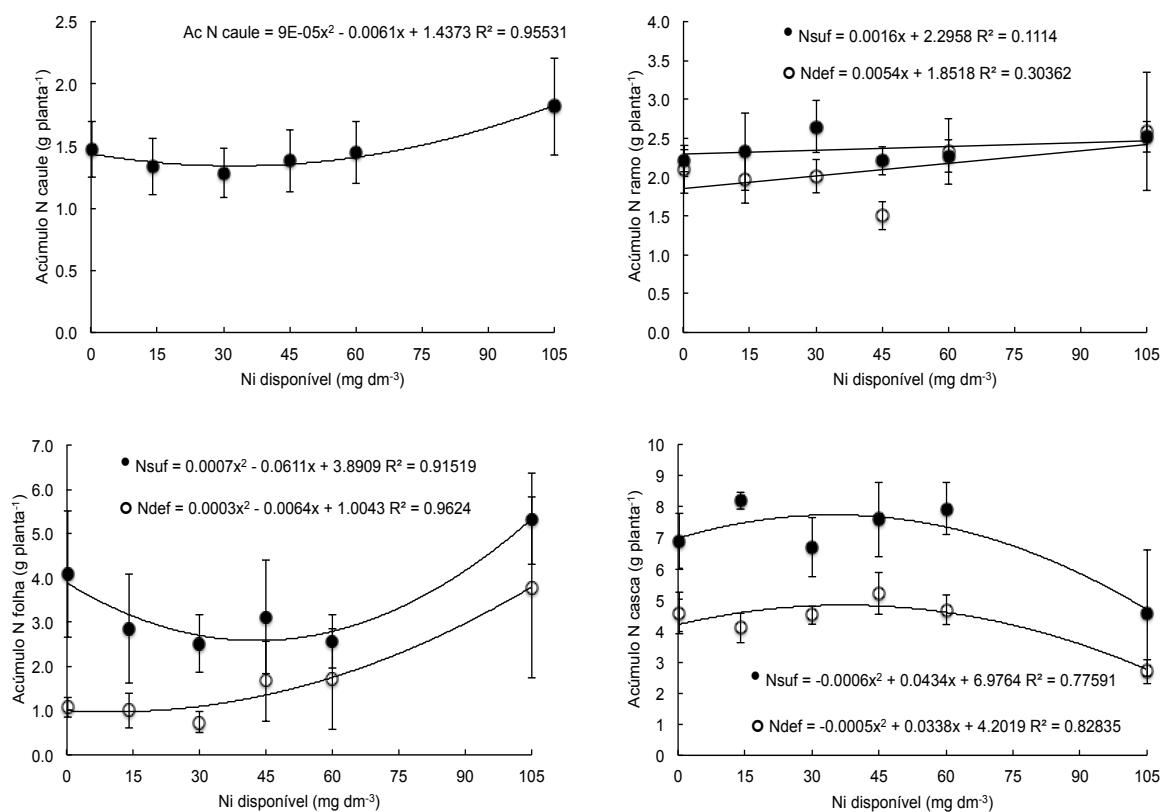


Figura 9 - Acúmulo de N (g planta⁻¹) no caule, ramo, folha e casca de cafeeiro em função da disponibilidade de Ni e nível de nitrogênio

As concentrações de P (g kg⁻¹) reduziram em 1,3 vez no caule e 1,2 vez no ramo e na casca, quando submetidos ao nível suficiente de N comparado com o deficiente em N (Tabela 10). As concentrações de P foram maiores nos grãos, casca, folha, caule, ramo e raiz, independentemente do nível de N aplicado. As concentrações na raiz, folha e grãos não alteraram com o nível de N aplicado ao cafeeiro (Tabela 10).

A aplicação de Ni alterou a concentração de P na raiz, caule, ramo, folha e grãos (Tabela 10, Figura 10), no entanto, nenhuma alteração foi observada para a concentração de P na casca do fruto. As maiores concentrações de P observados na raiz, caule, ramo e folha ocorreram quando as plantas de cafeeiro foram expostas ao teor disponível de 105 mg dm⁻³ de Ni (Figura 10).

Tabela 10 - Concentração (g kg^{-1}) de fósforo em raiz, caule, ramo, folha, casca, grãos e total em cafeeiro em função do teor disponível de Ni (mg dm^{-3} – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) ($n=4$)

N	Ni disponível	Raiz	Caule	Ramo	Folha	Casca	Grãos
	mg dm^{-3}	----- g kg^{-1} -----					
Suficiente	0,3	0,4	0,6	0,5	1,4	2,0	2,8
	14	0,4	0,7	0,5	1,2	2,1	2,7
	30	0,3	0,6	0,5	1,2	1,9	3,1
	45	0,4	0,5	0,5	1,2	1,7	2,6
	60	0,4	0,6	0,5	1,1	1,8	2,3
	105	0,6	0,8	0,7	1,5	2,0	2,5
	Média	0,4	0,6	0,5	1,2	1,9	2,7
Deficiente	0,3	0,3	0,8	0,5	1,2	2,4	2,8
	14	0,3	0,8	0,6	1,2	2,2	2,9
	30	0,4	0,8	0,6	1,3	2,1	3,0
	45	0,4	0,8	0,5	1,1	2,0	2,7
	60	0,5	0,8	0,5	1,0	2,3	2,7
	105	0,7	1,0	0,8	1,5	2,4	2,8
	Média	0,4	0,8	0,6	1,2	2,2	2,8
Pr F	N	0,9021 ^{ns}	<0,0001 ^{**}	0,0136 [*]	0,4235 ^{ns}	0,0003 ^{**}	0,1279 ^{ns}
	Ni	<0,0001 ^{**}	0,0062 ^{**}	<0,0001 ^{**}	<0,0001 ^{**}	0,0892 ^{ns}	0,0138 [*]
	N x Ni	0,1891 ^{ns}	0,9339 ^{ns}	0,9489 ^{ns}	0,3686 ^{ns}	0,6934 ^{ns}	0,5226 ^{ns}
CV%		20,3	16,6	17,5	13,5	11,2	12,7

^{ns}, ^{*}, ^{**} = Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente

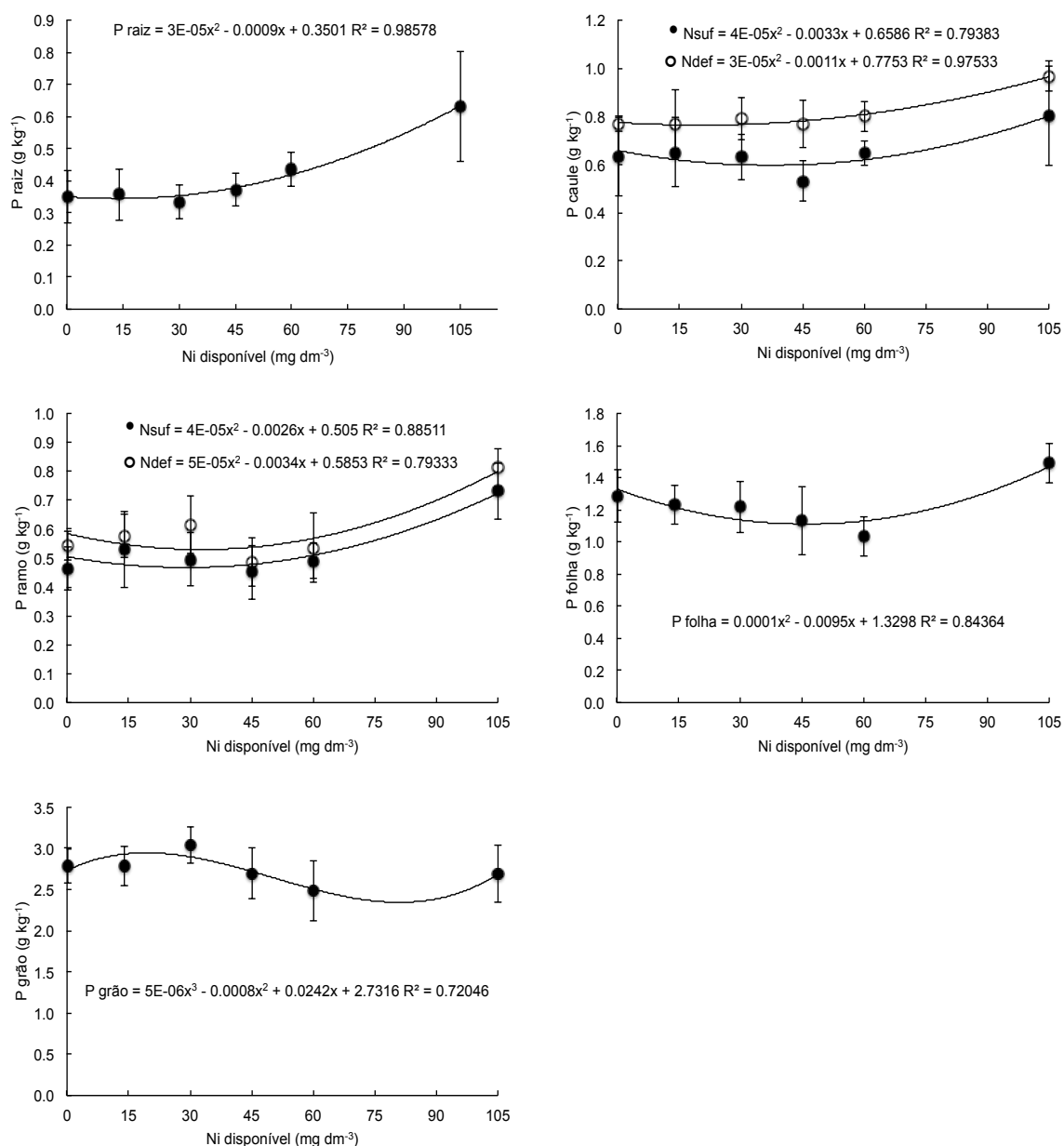


Figura 10 - Concentração de P (g kg⁻¹) na raiz, caule, ramo, folha e grãos de cafeeiro em função da disponibilidade de Ni e nível de nitrogênio

Com relação ao acúmulo de P (g planta⁻¹), o nível suficiente de N reduziu o acúmulo no caule, enquanto observou um aumento do acúmulo de P nas folhas, casca e no total da planta (Tabela 11). Ainda, no nível suficiente de N, a preferência de acúmulo de P no cafeeiro foi na casca, folha, caule, ramo, grãos e raiz, enquanto que no nível deficiente, o maior acúmulo ocorreu na casca, caule, ramo, folha e grãos e, na raiz (Tabela 11).

Tabela 11 - Acúmulo (g planta^{-1}) de fósforo em raiz, caule, ramo, folha, casca, grãos e total em cafeeiro em função do teor disponível de Ni (mg dm^{-3} – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) ($n=4$)

N	Ni disponível	Raiz	Caule	Ramo	Folha	Casca	Grãos	Total
	mg dm^{-3}							
Suficiente	0,3	0,07	0,11	0,08	0,22	0,64	0,10	1,22
	14	0,06	0,10	0,09	0,13	0,71	0,08	1,17
	30	0,05	0,11	0,09	0,14	0,60	0,10	1,09
	45	0,08	0,08	0,07	0,15	0,58	0,09	1,05
	60	0,07	0,11	0,09	0,12	0,56	0,05	1,00
	105	0,05	0,10	0,11	0,20	0,36	0,08	0,90
	Média	0,06	0,10	0,09	0,16	0,58	0,08	1,07
Deficiente	0,3	0,07	0,12	0,09	0,06	0,54	0,09	0,97
	14	0,06	0,13	0,10	0,07	0,52	0,12	1,00
	30	0,06	0,13	0,10	0,04	0,49	0,06	0,88
	45	0,06	0,12	0,08	0,08	0,53	0,09	0,96
	60	0,08	0,14	0,09	0,08	0,57	0,08	1,04
	105	0,08	0,14	0,12	0,17	0,27	0,06	0,84
	Média	0,07	0,13	0,10	0,08	0,49	0,08	0,95
Pr F	N	0,4520 ^{ns}	<0,0001**	0,1378 ^{ns}	<0,0001**	0,0067**	0,8207 ^{ns}	0,0166*
	Ni	0,5526 ^{ns}	0,1949 ^{ns}	0,0044**	0,0071**	<0,0001**	0,2117 ^{ns}	0,3712 ^{ns}
	N x Ni	0,4107 ^{ns}	0,7717 ^{ns}	0,9828 ^{ns}	0,1513 ^{ns}	0,6156 ^{ns}	0,1154 ^{ns}	0,1699 ^{ns}
CV%		31,6	18,4	20,6	10,9	17,2	15,0	12,2

^{ns}, *, ** = Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente

O aumento no teor disponível de Ni no solo reduziu a quantidade acumulada de P (g planta^{-1}) na casca do fruto do cafeeiro, em que a maior redução observada foi na exposição ao teor de 105 mg dm^{-3} de Ni, enquanto que no ramo e na folha houve um aumento de acúmulo de P nesse teor de Ni disponível (Figura 11).

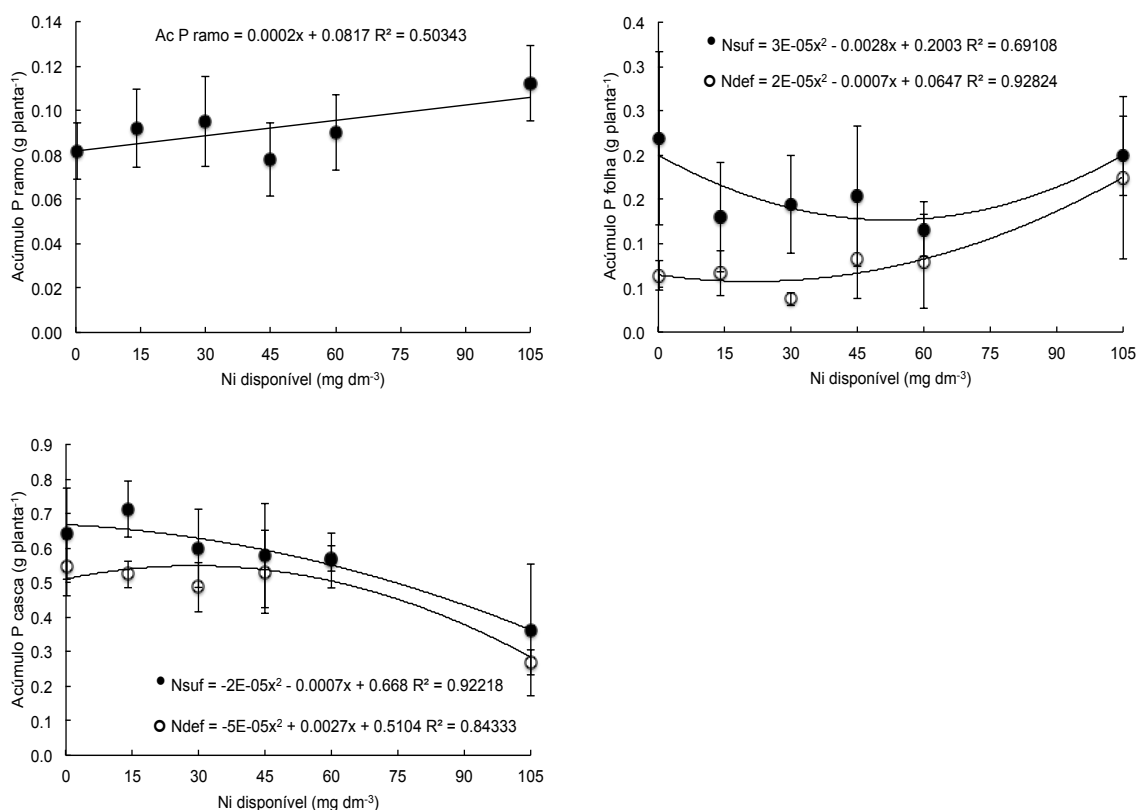


Figura 11 - Acúmulo de P (g planta⁻¹) no ramo, folha e casca de cafeeiro em função da disponibilidade de Ni e nível de nitrogênio

Na tabela e figura 12 estão apresentados as concentrações de K (g kg⁻¹) em raiz, caule, ramo, folha, casca e grãos do cafeeiro. A exposição do cafeeiro ao nível suficiente de N reduziu a concentração de K na raiz, folha, e grãos e, aumentou a concentração desse nutriente nos ramos (Tabela 12). Para o caule e casca do fruto as concentrações de K não foram alteradas em razão do nível de N.

As maiores concentrações de K foram observadas em grãos, casca, folha, ramo, caule e raiz, e essa ordem decrescente da concentração de K não sofreu alteração do nível de N (Tabela 12).

A aplicação de Ni alterou a concentração de K na raiz, ramo, folha e grãos (Tabela 12, Figura 12), no entanto, nenhuma alteração foi observada para a concentração de K no caule e casca do fruto. As maiores concentrações de K observadas na raiz, ramo e folha ocorreram quando as plantas de cafeeiro foram expostas ao teor disponível de 105 mg dm⁻³ de Ni (Figura 12).

Tabela 12 - Concentração (g kg^{-1}) de potássio em raiz, caule, ramo, folha, casca, grãos e total em cafeeiro em função do teor disponível de Ni (mg dm^{-3} – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) ($n=4$)

N	Ni disponível	Raiz	Caule	Ramo	Folha	Casca	Grãos
	mg dm^{-3}	----- g kg^{-1} -----					
Suficiente	0,3	1,6	4,7	8,1	7,7	26,6	31,9
	14	1,6	4,6	7,9	7,0	26,7	22,9
	30	1,3	4,6	7,4	7,4	24,3	27,9
	45	1,6	4,9	6,8	6,5	22,8	25,3
	60	2,0	4,8	6,7	7,4	18,8	25,5
	105	4,6	5,3	8,9	19,7	23,9	29,2
	Média	2,1	4,8	7,6	9,3	23,8	27,1
Deficiente	0,3	1,4	4,5	6,6	9,1	25,2	30,4
	14	1,4	4,6	6,7	9,2	25,7	31,8
	30	1,6	4,9	6,6	9,2	23,8	29,5
	45	1,7	4,9	6,7	8,7	22,9	29,1
	60	2,6	5,1	7,2	9,3	26,4	26,9
	105	6,6	5,5	8,0	19,0	24,7	33,5
	Média	2,6	4,9	7,0	10,7	24,8	30,2
Pr F	N	0,0456*	0,5943 ^{ns}	0,0125*	0,0223*	0,3230 ^{ns}	0,0058**
	Ni	<0,0001**	0,1889 ^{ns}	0,0062**	<0,0001**	0,1648 ^{ns}	0,0038**
	N x Ni	0,1328 ^{ns}	0,9695 ^{ns}	0,2270 ^{ns}	0,4182 ^{ns}	0,0849 ^{ns}	0,1725 ^{ns}
CV%		6,9	12,8	12,8	13,1	14,4	3,7

^{ns}, *, ** = Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente

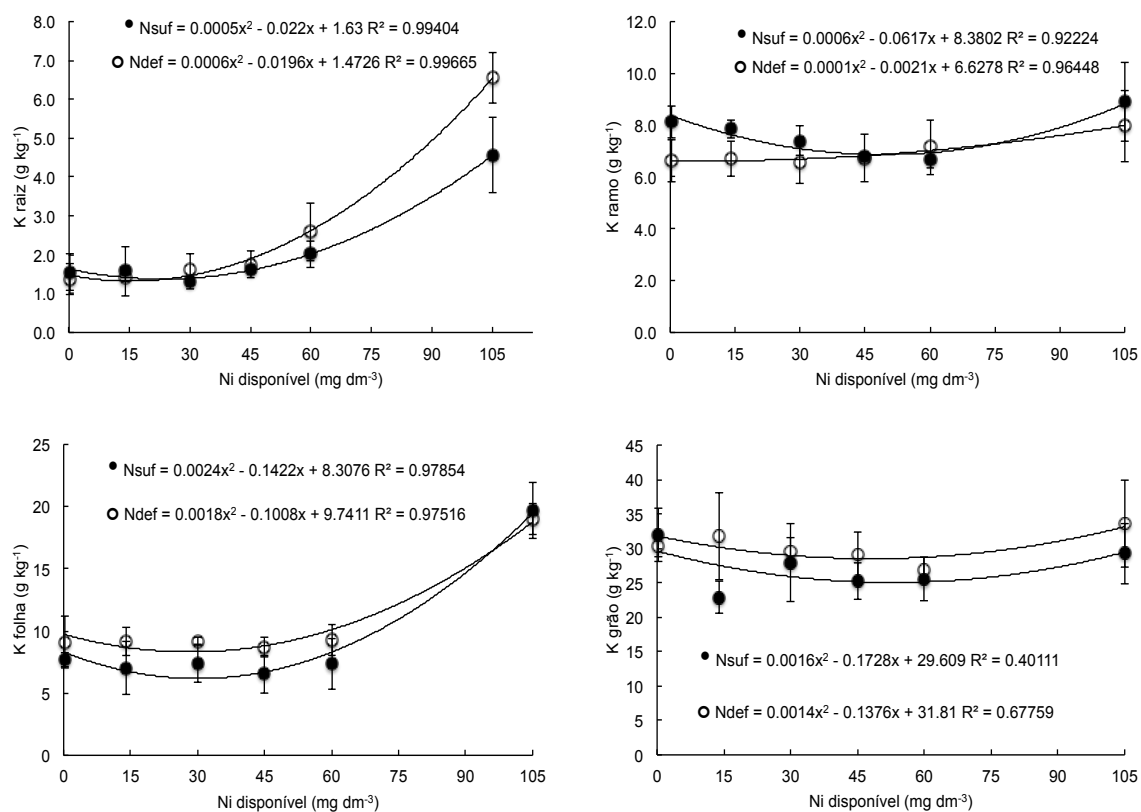


Figura 12 - Concentração de K (g kg⁻¹) na raiz, ramo, folha e grão de cafeeiro em função da disponibilidade de Ni e nível de nitrogênio.

Para o acúmulo de K na planta (g planta⁻¹), o nível de nitrogênio suficiente aumentou o acúmulo de K em ramo, folha, casca e total da planta (Tabela 13). A raiz, caule e os grãos do cafeeiro não apresentaram alteração no acúmulo de K em razão do nível de N (deficiente ou suficiente). Independentemente do nível de N adotado no experimento, os maiores acúmulos de K foram observados em casca, ramo, folha, caule/grão e, em menor quantidade na raiz (Tabela 13).

Tabela 13 - Acúmulo (g planta^{-1}) de potássio em raiz, caule, ramo, folha, casca, grãos e total em cafeeiro em função do teor disponível de Ni (mg dm^{-3} – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) ($n=4$)

N	Ni disponível	Raiz	Caule	Ramo	Folha	Casca	Grãos	Total
	mg dm^{-3}							
Suficiente	0,3	0,3	0,8	1,4	1,2	8,3	1,2	13,2
	14	0,2	0,7	1,3	0,8	9,3	0,7	13,0
	30	0,2	0,8	1,3	0,9	7,8	0,9	11,9
	45	0,3	0,8	1,1	0,8	7,5	0,8	11,3
	60	0,3	0,8	1,2	0,8	6,0	0,6	9,7
	105	0,4	0,7	1,3	2,7	4,1	0,9	10,1
	Média	0,3	0,8	1,3	1,2	7,2	0,8	11,5
Deficiente	0,3	0,3	0,7	1,1	0,5	5,8	1,0	9,3
	14	0,3	0,8	1,1	0,5	6,3	1,3	10,3
	30	0,3	0,8	1,1	0,3	5,6	0,6	8,6
	45	0,3	0,8	1,1	0,7	5,9	0,9	9,7
	60	0,5	0,9	1,2	0,8	6,6	0,9	10,9
	105	0,7	0,8	1,2	2,2	2,9	0,7	8,4
	Média	0,4	0,8	1,1	0,8	5,5	0,9	9,5
Pr F	N	0,0686 ^{ns}	0,3917 ^{ns}	0,0369*	0,0014**	0,0003**	0,7496 ^{ns}	0,0007**
	Ni	0,0012**	0,4828 ^{ns}	0,9052 ^{ns}	<0,0001**	<0,0001**	0,3672 ^{ns}	0,1894 ^{ns}
	N x Ni	0,5221 ^{ns}	0,7486 ^{ns}	0,5973 ^{ns}	0,3194 ^{ns}	0,1629 ^{ns}	0,0427*	0,1289 ^{ns}
CV%		17,9	15,3	15,8	40,5	20,6	14,6	18,3

^{ns}, *, ** = não significativo, significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente

O acúmulo de K em raiz e folha aumentou com o incremento do teor disponível de Ni no solo, em que observou que o maior acúmulo de K ocorreu na exposição ao teor de 105 mg dm^{-3} Ni. Diferentemente da raiz e folha, na casa do fruto do cafeeiro houve redução do acúmulo de K com o incremento do teor de Ni no solo (Figura 13).

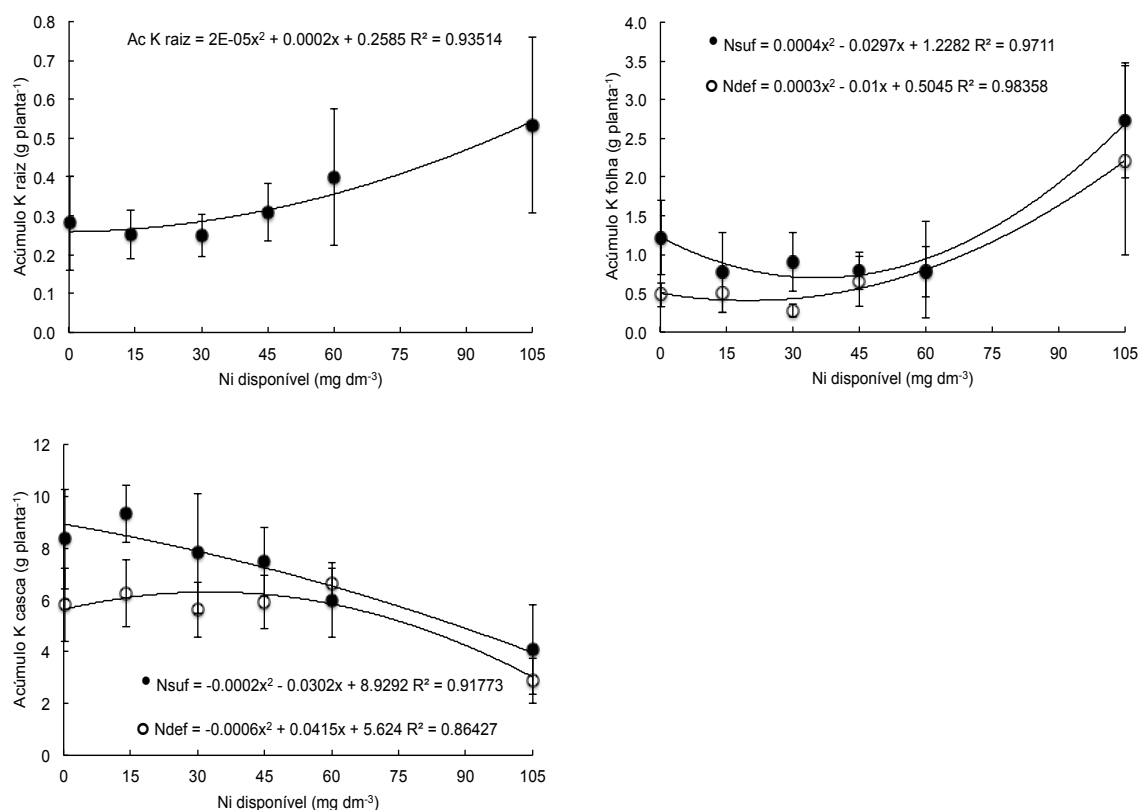


Figura 13 - Acúmulo de K (g planta⁻¹) na raiz, folha e casca de cafeeiro em função da disponibilidade de Ni e nível de nitrogênio

Na concentração de Ca observou redução na casca e no grãos do cafeeiro em razão do nível suficiente de N compara do com o nível deficiente. Para raiz, caule, ramo e folha, a aplicação de N (deficiente e suficiente) não alterou a concentração desse nutriente nesses órgãos (Tabela 14). As concentrações de Ca (g kg⁻¹) foram maiores na folha, ramo, casca, raiz/caule e grão do cafeeiro, independentemente do nível de N adotado (Tabela 14).

O aumento do teor disponível de Ni no solo elevou a concentração de Ca em raiz e caule no maior teor observado (105 mg dm⁻³ Ni), enquanto que na folha, a concentração de Ca reduziu, conforme observado na figura 14.

Tabela 14 - Concentração (g kg^{-1}) de cálcio em raiz, caule, ramo, folha, casca, grãos e total em cafeeiro em função do teor disponível de Ni (mg dm^{-3} – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) ($n=4$)

N	Ni disponível	Raiz	Caule	Ramo	Folha	Casca	Grãos
	mg dm^{-3}	----- g kg^{-1} -----					
Suficiente	0,3	2,4	2,7	5,7	13,0	3,5	2,1
	14	2,2	2,6	6,0	14,5	3,9	1,9
	30	2,3	2,5	6,4	14,4	3,3	2,0
	45	3,0	3,0	5,7	13,8	3,5	2,4
	60	3,0	3,2	5,7	13,3	3,4	2,3
	105	3,6	3,3	5,7	8,4	3,3	1,9
	Média	2,7	2,9	5,9	12,9	3,5	2,1
Deficiente	0,3	2,4	2,2	6,7	15,1	3,8	2,3
	14	2,2	2,7	6,2	15,0	4,1	2,2
	30	2,5	2,6	5,9	15,5	4,0	2,3
	45	3,1	2,8	5,3	13,5	3,4	2,3
	60	2,7	3,1	6,1	12,1	3,8	2,1
	105	4,0	3,4	5,7	10,1	3,7	2,1
	Média	2,8	2,8	6,0	13,5	3,8	2,2
Pr F	N	0,6103 ^{ns}	0,3826 ^{ns}	0,4739 ^{ns}	0,0570 ^{ns}	0,0151*	0,0354*
	Ni	<0,0001**	<0,0001**	0,0685 ^{ns}	<0,0001**	0,1674 ^{ns}	0,0529 ^{ns}
	N x Ni	0,8809 ^{ns}	0,2388 ^{ns}	0,0734 ^{ns}	0,0542 ^{ns}	0,5801 ^{ns}	0,0222*
CV%		20,4	17,9	12,2	3,5	11,7	16,6

^{ns}, *, ** = Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente

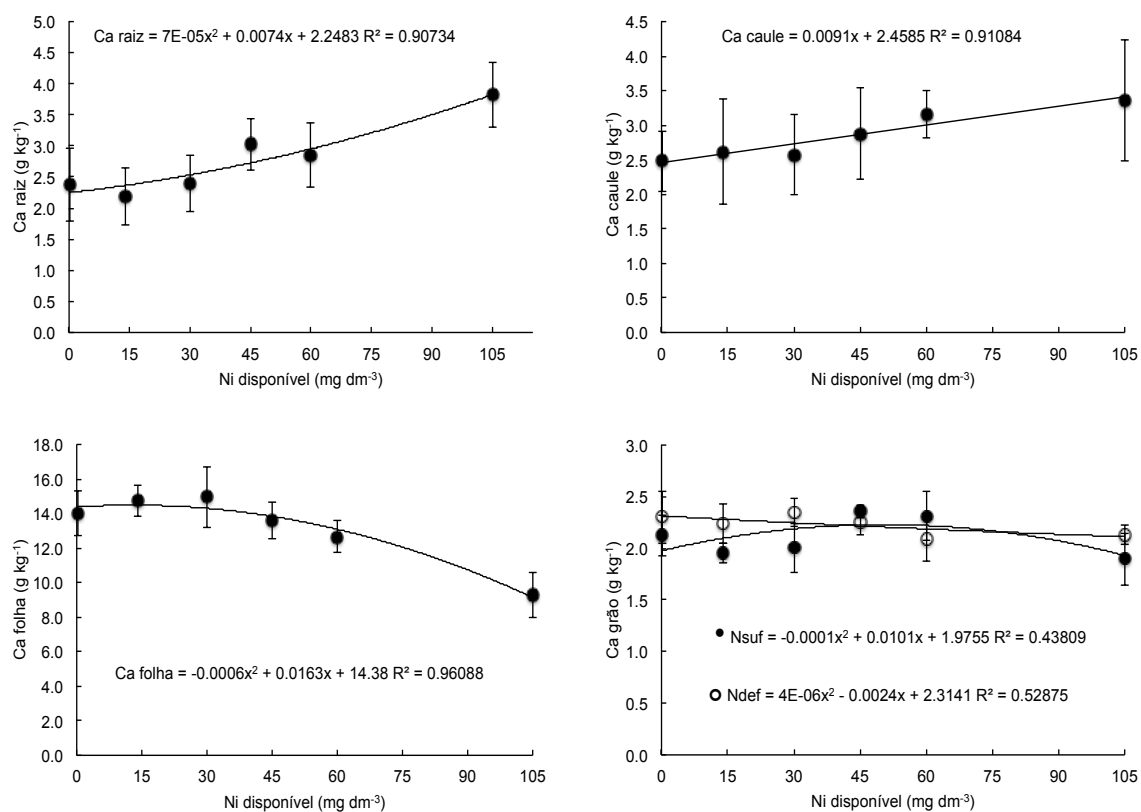


Figura 14 - Concentração de Ca (g kg⁻¹) na raiz, caule, folha e grão de cafeeiro em função da disponibilidade de Ni e nível de nitrogênio

O fornecimento de N suficiente às plantas de cafeeiro proporcionou maiores acúmulo de Ca (g planta⁻¹) em folha, casca e na planta, comparado com o nível deficiente de N (Tabela 15). No entanto, o acúmulo de Ca não alterou em raiz, caule, ramo e grãos em razão do nível suficiente e deficiente de N.

A condução das plantas de cafeeiro em nível suficiente proporcionou maior acúmulo de Ca em folhas, casca, ramo, caule, raiz e grãos. Para o nível deficiente, a ordem de acúmulo foi em ramo, folha, casca, caule/raiz e grão (Tabela 15).

Tabela 15 - Acúmulo (g planta^{-1}) de cálcio em raiz, caule, ramo, folha, casca, grãos e total em cafeeiro em função do teor disponível de Ni (mg dm^{-3} – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) ($n=4$)

N	Ni disponível	Raiz	Caule	Ramo	Folha	Casca	Grãos	Total
	mg dm^{-3}							
Suficiente	0,3	0,4	0,4	0,9	2,0	1,1	0,08	4,9
	14	0,3	0,4	1,0	1,5	1,4	0,06	4,7
	30	0,4	0,4	1,1	1,7	1,1	0,06	4,8
	45	0,6	0,5	1,0	1,7	1,2	0,08	5,1
	60	0,5	0,6	1,0	1,4	1,1	0,05	4,7
	105	0,3	0,4	0,8	1,1	0,6	0,06	3,3
	Média	0,4	0,5	1,0	1,6	1,1	0,06	4,7
Deficiente	0,3	0,5	0,3	1,1	0,8	0,9	0,07	3,7
	14	0,4	0,4	1,0	0,8	1,0	0,09	3,7
	30	0,5	0,4	1,0	0,5	0,9	0,04	3,3
	45	0,5	0,4	0,9	1,0	0,9	0,07	3,8
	60	0,5	0,6	1,0	1,0	0,9	0,07	4,1
	105	0,4	0,5	0,8	1,2	0,4	0,04	3,3
	Média	0,5	0,5	1,0	0,9	0,8	0,07	3,8
Pr F	N	0,1751 ^{ns}	0,9998 ^{ns}	0,8714 ^{ns}	<0,0001 ^{**}	0,0007 ^{**}	0,9958 ^{ns}	0,0001 ^{**}
	Ni	0,1016 ^{ns}	0,0003 ^{ns}	0,0087 ^{**}	0,6596 ^{ns}	<0,0001 ^{**}	0,2410 ^{ns}	0,0707 ^{ns}
	N x Ni	0,8444 ^{ns}	0,0992 ^{ns}	0,5044 ^{ns}	0,1119 ^{ns}	0,8370 ^{ns}	0,1812 ^{ns}	0,2374 ^{ns}
CV%		16,5	19,7	13,5	9,5	18,7	25,6	17,0

^{ns}, *, ** = Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente

A incremento no acúmulo de Ca por plantas de cafeeiro em função da disponibilidade de Ni no solo foi observado no caule, enquanto que a redução de acúmulo de Ca ocorreu em ramo e casca do fruto do cafeeiro (Figura 15). No entanto, a alteração do acúmulo de Ca foi observado somente no teor disponível de 105 mg dm^{-3} Ni.

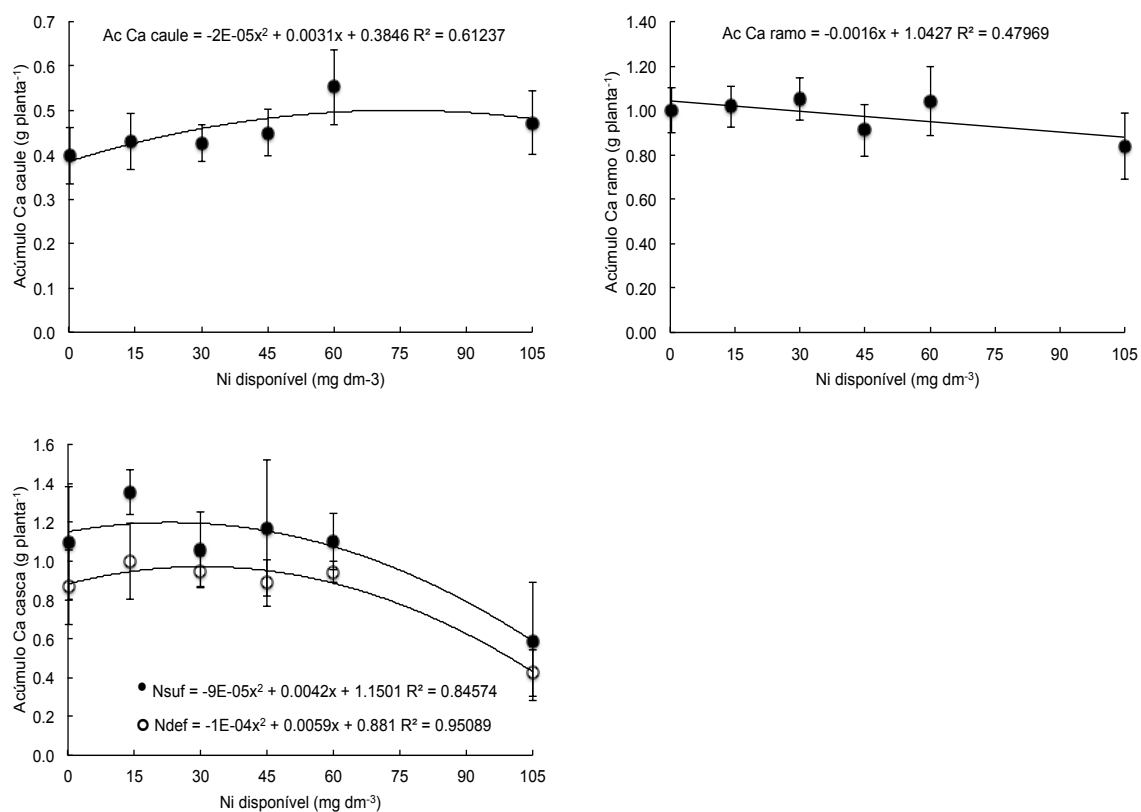


Figura 15 - Acúmulo de Ca (g planta⁻¹) no caule, ramo e casca de cafeeiro em função da disponibilidade de Ni e nível de nitrogênio

As concentrações de Mg em raiz, caule, ramo, folha, casca e grãos não foram afetados em razão do nível de N das plantas de cafeeiro (Tabela 16). No cafeeiro, as maiores concentrações de Mg (g kg⁻¹) ocorreram em folha, grãos, casca, ramo, raiz e caule (Tabela 16).

Tabela 16 - Concentração (g kg^{-1}) de magnésio em raiz, caule, ramo, folha, casca, grãos e total em cafeeiro em função do teor disponível de Ni (mg dm^{-3} – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) ($n=4$)

N	Ni disponível	Raiz	Caule	Ramo	Folha	Casca	Grãos
	mg dm^{-3}	----- g kg^{-1} -----					
Suficiente	0,3	1,1	0,7	1,8	5,7	2,8	3,3
	14	0,8	0,7	2,1	6,1	3,0	3,3
	30	0,8	0,8	2,2	6,0	2,7	3,7
	45	1,3	0,8	2,0	5,8	3,0	3,7
	60	1,2	0,9	2,1	5,9	2,8	3,2
	105	1,4	0,9	2,3	4,0	2,8	3,0
	Média	1,1	0,8	2,1	5,6	2,9	3,4
Deficiente	0,3	0,9	0,8	2,0	5,9	3,0	3,3
	14	0,9	0,7	2,0	6,2	2,9	3,5
	30	0,9	0,9	2,2	6,3	2,9	3,8
	45	1,2	0,8	1,9	5,9	2,8	3,5
	60	1,1	0,8	1,9	5,5	3,1	3,3
	105	1,7	1,0	2,3	4,9	2,6	3,2
	Média	1,1	0,8	2,0	5,8	2,9	3,4
Pr F	N	0,9573 ^{ns}	0,1301 ^{ns}	0,3657 ^{ns}	0,093 ^{ns}	0,6355 ^{ns}	0,5023 ^{ns}
	Ni	<0,0001 ^{**}	0,0002 ^{**}	0,018 [*]	<0,0001 ^{**}	0,8176 ^{ns}	0,0388 [*]
	N x Ni	0,6098 ^{ns}	0,7419 ^{ns}	0,6669 ^{ns}	0,0362 [*]	0,2486 ^{ns}	0,8675 ^{ns}
CV%		24,5	11,9	11,7	7,3	10,0	11,5

^{ns}, ^{*}, ^{**} = Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente

Apesar do nível de N não ter alterado a concentração de Mg na planta, o incremento de Ni no solo aumentou a concentração de Mg em raiz, caule e ramo no maior teor de Ni disponível (Figura 16), enquanto que houve redução na concentração de Mg na folha e grãos do cafeeiro.

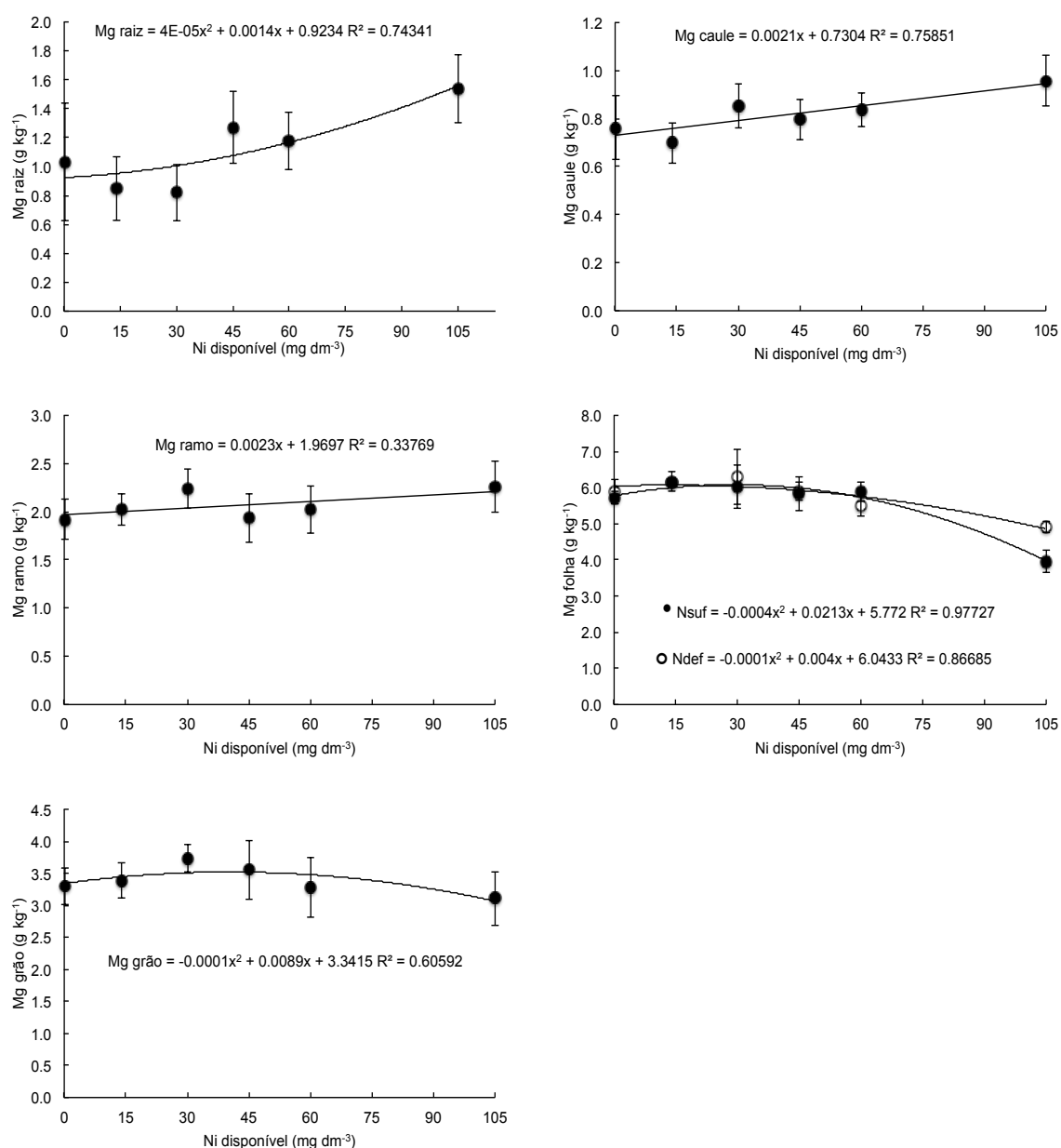


Figura 16 - Concentração de Mg (g kg⁻¹) na raiz, caule, ramo, folha e grão de cafeeiro em função da disponibilidade de Ni e nível de nitrogênio

Com relação ao acúmulo de Mg pelo cafeeiro, o nível suficiente de N aumentou o acúmulo de Mg em folha, casca e na planta total, quando comparado com o nível deficiente de N (Tabela 17). Em raiz, caule, ramo e grãos, o nível de N não interferiu no acúmulo de Mg pelo cafeeiro. Na planta, os maiores acúmulos de Mg foram observados em casca, folha, ramo, raiz, caule e grãos (Tabela 17).

Tabela 17 - Acúmulo (g planta⁻¹) de magnésio em raiz, caule, ramo, folha, casca, grãos e total em cafeeiro em função do teor disponível de Ni (mg dm⁻³ – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) (n=4)

N	Ni disponível	Raiz	Caule	Ramo	Folha	Casca	Grãos	Total
	mg dm ⁻³							
Suficiente	0,3	0,21	0,12	0,31	0,89	0,89	0,12	2,54
	14	0,13	0,11	0,34	0,64	1,03	0,09	2,34
	30	0,12	0,14	0,39	0,72	0,88	0,12	2,37
	45	0,27	0,12	0,33	0,72	0,98	0,12	2,54
	60	0,20	0,15	0,38	0,61	0,91	0,08	2,33
	105	0,12	0,12	0,33	0,54	0,48	0,09	1,68
	Média	0,17	0,13	0,35	0,69	0,86	0,10	2,30
Deficiente	0,3	0,20	0,12	0,32	0,32	0,68	0,10	1,74
	14	0,17	0,12	0,33	0,34	0,70	0,15	1,81
	30	0,16	0,15	0,37	0,19	0,68	0,07	1,62
	45	0,21	0,13	0,30	0,44	0,73	0,11	1,92
	60	0,20	0,15	0,33	0,46	0,78	0,11	2,03
	105	0,17	0,15	0,33	0,57	0,31	0,06	1,59
	Média	0,18	0,14	0,33	0,38	0,65	0,10	1,78
Pr F	N	0,3317 ^{ns}	0,1217 ^{ns}	0,5139 ^{ns}	<0,0001**	<0,0001**	0,9039 ^{ns}	0,0001**
	Ni	0,0552 ^{ns}	0,0316*	0,0341*	0,4831 ^{ns}	<0,0001**	0,1559 ^{ns}	0,0053**
	N x Ni	0,5035 ^{ns}	0,7966 ^{ns}	0,7483 ^{ns}	0,0550 ^{ns}	0,7510 ^{ns}	0,0782 ^{ns}	0,1890 ^{ns}
CV%		22,2	15,3	14,1	9,1	17,9	14,6	15,6

^{ns}, *, ** = Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente

A acúmulo de Mg no caule e ramo aumento em razão do incremento do teor de Ni disponível no solo, enquanto que na casca, o acúmulo de Mg reduziu com o fornecimento de Ni (Figura 17).

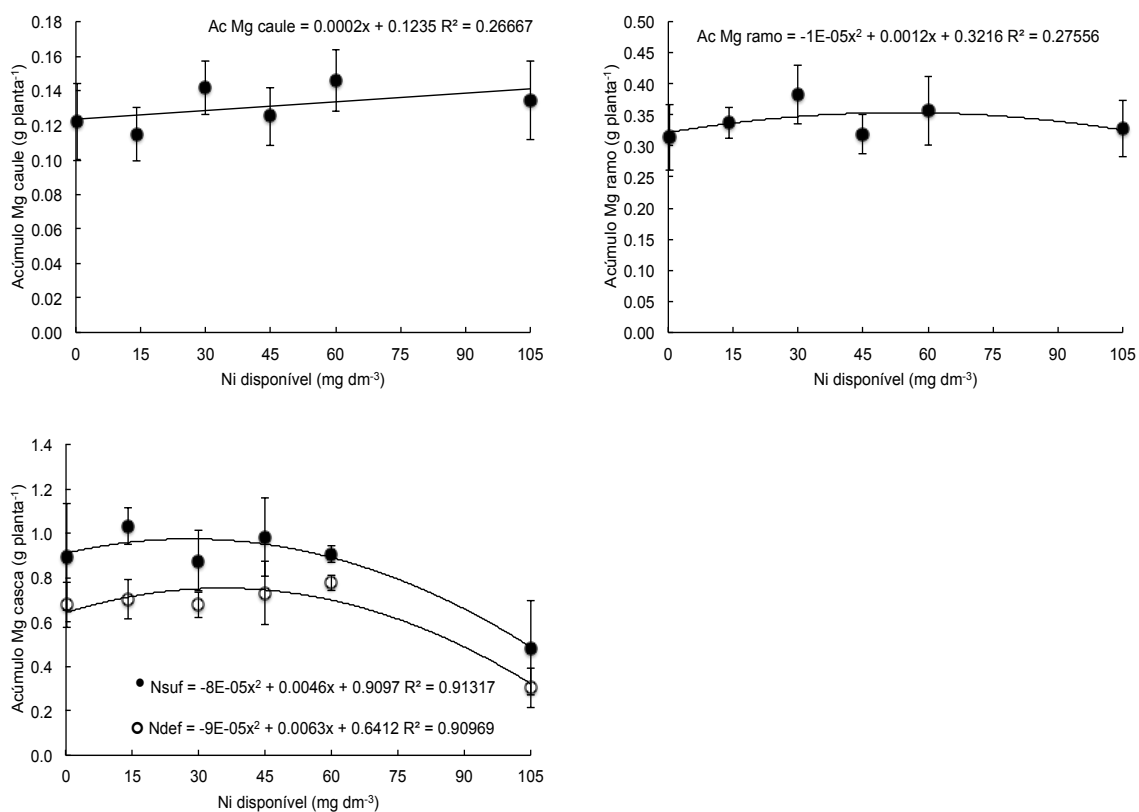


Figura 17 - Acúmulo de Mg (g planta^{-1}) no caule, ramo e casca de cafeeiro em função da disponibilidade de Ni e nível de nitrogênio

O nível suficiente e deficiente alterou a concentração de boro (mg kg^{-1}) no ramo e folha do cafeeiro, em que as concentrações de B foram superiores no ramo e inferiores na folha em plantas que receberam o nível suficiente de N, comparado com o nível deficiente de N (Tabela 18). As concentrações de B no cafeeiro foram superiores em folha, casca, grão, ramo, raiz e caule, independentemente do nível de N aplicado nas plantas (Tabela 18).

Com relação ao incremento do teor disponível de Ni no solo, este aumentou a concentração de B em raiz, caule e casca (Figura 18), enquanto a concentração de B nas folhas reduziu em função do teor de Ni disponível. No ramo, houve interação do nível de N e o teor de Ni disponível, em que no nível suficiente a concentração de B reduziu em função do aumento da disponibilidade de Ni, enquanto que no nível deficiente de N a concentração de B aumentou no ramo (Figura 18).

Tabela 18 - Concentração (mg kg^{-1}) de boro em raiz, caule, ramo, folha, casca, grãos e total em cafeeiro em função do teor disponível de Ni (mg dm^{-3} – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) ($n=4$)

N	Ni disponível	Raiz	Caule	Ramo	Folha	Casca	Grãos
	mg dm^{-3}	----- mg kg^{-1} -----					
Suficiente	0,3	13,7	11,3	24,8	149,6	26,7	27,0
	14	10,8	9,8	26,1	148,0	18,9	24,1
	30	10,9	11,8	25,9	170,8	15,2	27,2
	45	15,2	14,2	25,9	146,7	27,5	27,4
	60	13,4	17,3	23,1	148,3	36,2	28,2
	105	19,2	16,5	20,8	102,8	34,2	17,3
	Média	13,9	13,5	24,4	144,4	26,4	25,2
Deficiente	0,3	12,3	9,6	19,5	183,6	21,4	19,7
	14	10,1	8,5	19,7	195,7	19,5	32,0
	30	11,0	13,2	21,4	182,8	14,0	27,4
	45	16,1	13,0	18,9	193,0	37,7	25,8
	60	13,5	15,1	18,8	201,2	38,5	23,7
	105	19,8	16,0	24,1	144,1	43,9	26,8
	Média	13,8	12,6	20,4	183,4	29,2	25,9
Pr F	N	0,9016 ^{ns}	0,0598 ^{ns}	<0,0001 ^{**}	<0,0001 ^{**}	0,2524 ^{ns}	0,7139 ^{ns}
	Ni	<0,0001 ^{**}	<0,0001 ^{**}	0,4420 ^{ns}	0,0005 ^{**}	<0,0001 ^{**}	0,3918 ^{ns}
	N x Ni	0,8993 ^{ns}	0,3349 ^{ns}	0,0027 ^{**}	0,5708 ^{ns}	0,3561 ^{ns}	0,0730 ^{ns}
CV%		21,5	17,5	3,8	14,0	35,3	25,9

^{ns}, *, ** = Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente

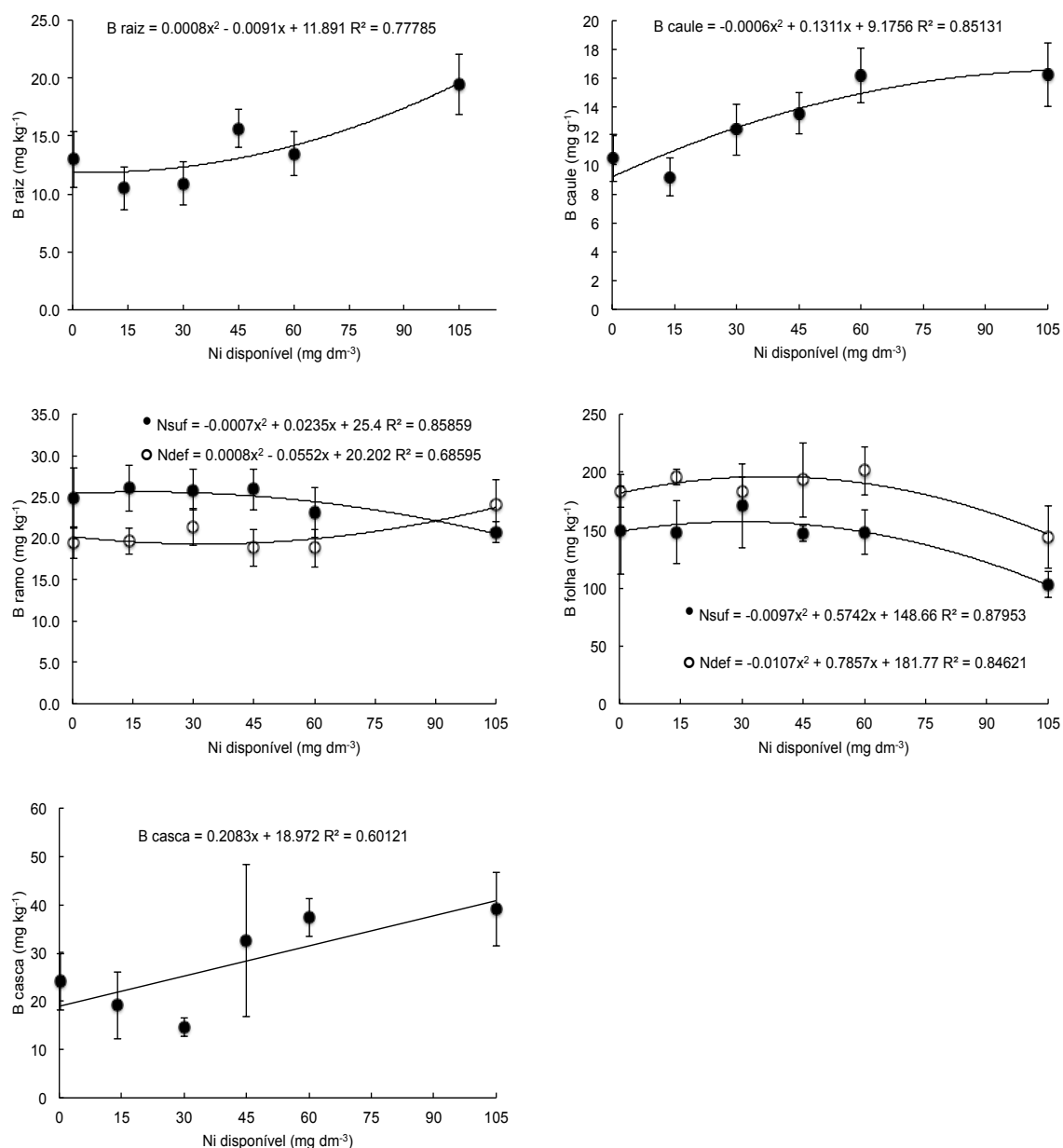


Figura 18 - Concentração de B (mg kg⁻¹) na raiz, caule, ramo, folha e casca de cafeeiro em função da disponibilidade de Ni e nível de nitrogênio

Para o acúmulo de B da planta de cafeeiro (mg planta⁻¹), o nível suficiente de N elevou o acúmulo de B no ramo, folha e na planta total, quando comparado com o nível deficiente de N (Tabela 19). Já o acúmulo de B em raiz, caule, casca e grãos não alterou em razão do nível de N. Na planta de cafeeiro, os maiores acúmulo de B foram observados em folha, casca, ramo, raiz, caule e grãos, independentemente do nível de N aplicado (Tabela 19).

Tabela 19 - Acúmulo (mg planta^{-1}) de boro em raiz, caule, ramo, folha, casca, grãos e total em cafeeiro em função do teor disponível de Ni (mg dm^{-3} – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) ($n=4$)

N	Ni disponível	Raiz	Caule	Ramo	Folha	Casca	Grãos	Total
	mg dm^{-3}							
Suficiente	0,3	2,4	1,9	4,2	24,2	8,2	1,0	41,9
	14	1,6	1,6	4,3	16,0	6,5	0,7	30,7
	30	1,8	2,0	4,5	19,8	4,8	0,9	33,8
	45	2,9	2,2	4,3	18,5	9,7	0,9	38,5
	60	2,2	3,0	4,2	15,4	11,6	0,6	37,0
	105	1,6	2,2	3,1	13,9	6,1	0,5	27,4
	Média	2,1	2,1	4,1	18,0	7,8	0,8	34,9
Deficiente	0,3	2,5	1,5	3,1	9,9	4,8	0,6	22,4
	14	1,9	1,4	3,3	10,8	4,7	1,3	23,4
	30	2,0	2,1	3,6	5,5	3,3	0,5	17,0
	45	2,8	2,1	3,1	13,8	9,8	0,9	32,5
	60	2,4	2,7	3,2	17,2	9,6	0,7	35,8
	105	2,1	2,4	3,5	17,7	5,0	0,5	31,2
	Média	2,3	2,0	3,3	12,5	6,2	0,8	27,1
Pr F	N	0,3684 ^{ns}	0,2444 ^{ns}	<0,0001**	0,0013**	0,1161 ^{ns}	0,7424 ^{ns}	0,0006**
	Ni	0,0107*	<0,0001**	0,2476 ^{ns}	0,4981 ^{ns}	0,0007**	0,1195 ^{ns}	0,0274*
	N x Ni	0,8634 ^{ns}	0,3229 ^{ns}	0,1108 ^{ns}	0,0535 ^{ns}	0,3857 ^{ns}	0,0370*	0,0386*
CV%		31,4	23,6	16,0	16,7	23,5	28,2	7,3

^{ns}, *, ** = Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente.

Com o aumento da disponibilidade de Ni no solo houve incremento no acúmulo de B no caule e na casca até o teor de 75 mg dm^{-3} de Ni, enquanto que no grão, o acúmulo reduziu em função da disponibilidade de Ni no solo (Figura 19).

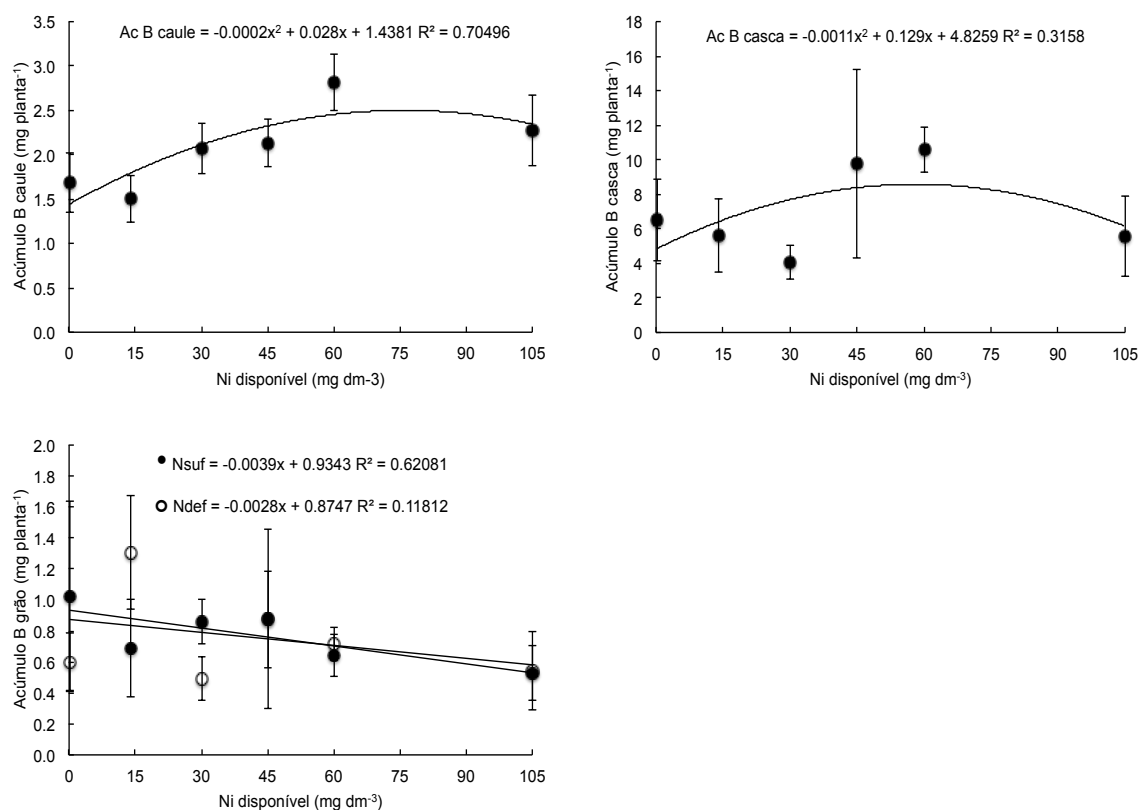


Figura 19 - Acúmulo de B (mg planta⁻¹) no caule, casca e grão de cafeeiro em função da disponibilidade de Ni e nível de nitrogênio

As concentrações de cobre avaliados na planta de cafeeiro estão apresentados na tabela 20 e figura 20. De modo geral, o nível suficiente e deficiente de N no cafeeiro alterou somente a concentração de Cu (mg kg⁻¹) nos grãos, em que observou um aumento de 23,2% na concentração de Cu nas plantas deficientes em N, quando comparado com as plantas suficientes em N (Tabela 20).

Para a concentração de Cu (mg kg⁻¹), os maiores valores foram verificados na folha, ramo, casca, caule raiz e grãos, quando submetidos ao N suficiente e, as maiores concentrações de Cu no nível deficiente de N foram avaliadas em folha, ramo, casca, caule, grãos e raiz (Tabela 20).

Tabela 20 - Concentração (mg kg^{-1}) de cobre em raiz, caule, ramo, folha, casca, grãos e total em cafeeiro em função do teor disponível de Ni (mg dm^{-3} – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) ($n=4$)

N	Ni disponível	Raiz	Caule	Ramo	Folha	Casca	Grãos
	mg dm^{-3}	----- mg kg^{-1} -----					
Suficiente	0,3	10,5	31,7	130,1	261,5	47,7	18,5
	14	11,5	26,1	167,2	327,7	41,6	10,0
	30	10,1	29,0	177,5	311,7	29,4	14,4
	45	15,9	32,3	130,6	311,7	26,9	17,9
	60	15,5	28,9	128,3	300,8	18,5	14,6
	105	26,5	28,3	120,2	252,8	26,0	7,5
	Média	15,0	29,4	142,3	294,3	31,7	13,8
Deficiente	0,3	11,1	23,0	158,4	256,7	42,3	15,7
	14	8,6	27,8	166,0	320,0	42,4	24,3
	30	10,1	42,0	173,5	301,2	36,0	16,7
	45	15,8	34,6	128,6	255,6	30,1	17,6
	60	13,3	38,7	159,2	323,6	37,1	16,6
	105	24,2	32,6	124,0	230,6	29,3	11,1
	Média	13,8	33,1	151,6	281,3	36,2	17,0
Pr F	N	0,4453 ^{ns}	0,0838 ^{ns}	0,4529 ^{ns}	0,4365 ^{ns}	0,1214 ^{ns}	0,0050 ^{**}
	Ni	<0,0001 ^{**}	0,1113 ^{ns}	0,1192 ^{ns}	0,0689 ^{ns}	0,0642 ^{ns}	0,0001 ^{**}
	N x Ni	0,9753 ^{ns}	0,0804 ^{ns}	0,9193 ^{ns}	0,883 ^{ns}	0,3612 ^{ns}	0,0064 ^{**}
CV%		17,8	37,7	7,6	6,1	12,7	25,6

^{ns}, *, ** = Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente

O incremento do teor disponível de Ni no solo elevou a concentração de Cu (mg kg^{-1}) na raiz, enquanto que no grão do cafeeiro houve redução da concentração de Cu em função do teor de Ni no solo (Figura 20).

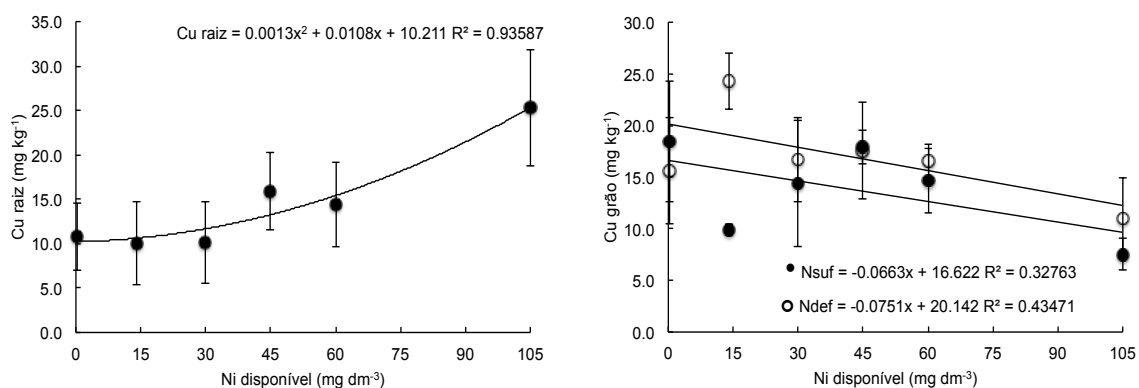


Figura 20 - Concentração de Cu (mg kg⁻¹) na raiz e grão de cafeeiro em função da disponibilidade de Ni e nível de nitrogênio

O acúmulo de Cu (mg planta⁻¹) foi superior em folha e no total da planta quando aplicado o nível suficiente em N, em comparação com o nível deficiente em N para o cafeeiro (Tabela 21). Na raiz, caule, ramo, casca e grãos o nível de N não alterou o acúmulo de Cu na planta.

Com relação a ordem de acúmulo de Cu no cafeeiro, as maiores quantidades de Cu pode foi observado nas folhas, ramo, casca, caule, raiz e grãos para N suficiente e em ramo, folha, casca, caule, raiz e grãos para o nível de N deficiente (Tabela 21).

Tabela 21 - Acúmulo (mg planta^{-1}) de cobre em raiz, caule, ramo, folha, casca, grãos e total em cafeeiro em função do teor disponível de Ni (mg dm^{-3} – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) ($n=4$)

N	Ni disponível	Raiz	Caule	Ramo	Folha	Casca	Grãos	Total
	mg dm^{-3}							
Suficiente	0,3	1,9	5,2	22,1	41,7	15,5	0,68	87,1
	14	1,7	4,2	27,3	34,1	14,3	0,29	81,9
	30	1,7	5,0	31,3	38,2	9,0	0,44	85,6
	45	3,2	5,0	21,6	36,4	8,8	0,58	75,6
	60	2,6	5,0	23,4	31,3	5,9	0,35	68,6
	105	2,2	3,7	17,5	33,5	4,8	0,24	61,9
	Média	2,2	4,7	23,9	35,9	9,7	0,43	76,8
Deficiente	0,3	2,4	3,6	25,8	13,6	9,9	0,48	55,8
	14	1,6	4,6	27,8	18,0	10,4	0,99	63,4
	30	1,9	6,8	29,1	9,5	8,6	0,29	56,2
	45	2,8	5,6	21,3	18,9	7,9	0,55	57,1
	60	2,3	6,8	27,5	24,9	9,3	0,53	71,3
	105	2,6	4,9	18,2	27,6	3,3	0,23	56,8
	Média	2,3	5,4	25,0	18,7	8,2	0,51	60,1
Pr F	N	0,8837 ^{ns}	0,0682 ^{ns}	0,6277 ^{ns}	<0,0001 ^{**}	0,4028 ^{ns}	0,1913 ^{ns}	0,0027 ^{**}
	Ni	0,1550 ^{ns}	0,0352 [*]	0,0445 [*]	0,4057 ^{ns}	0,0003 ^{**}	0,0007 ^{**}	0,6990 ^{ns}
	N x Ni	0,9857 ^{ns}	0,0965 ^{ns}	0,9630 ^{ns}	0,1173 ^{ns}	0,4384 ^{ns}	0,0017 ^{**}	0,3638 ^{ns}
	CV%	26,2	25,3	12,9	16,4	21,7	26,5	10,3

^{ns}, ^{*}, ^{**} = Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente

Com o aumento da disponibilidade de Ni no solo houve redução do acúmulo de Cu (mg planta^{-1}) na casca e nos grãos do cafeeiro, enquanto que no caule e no ramo observou um acúmulo de Cu até o teor de 60 mg dm^{-3} de Ni disponível, com decréscimo no acúmulo de Cu nesses órgãos a partir desse teor de Ni (Figura 21).

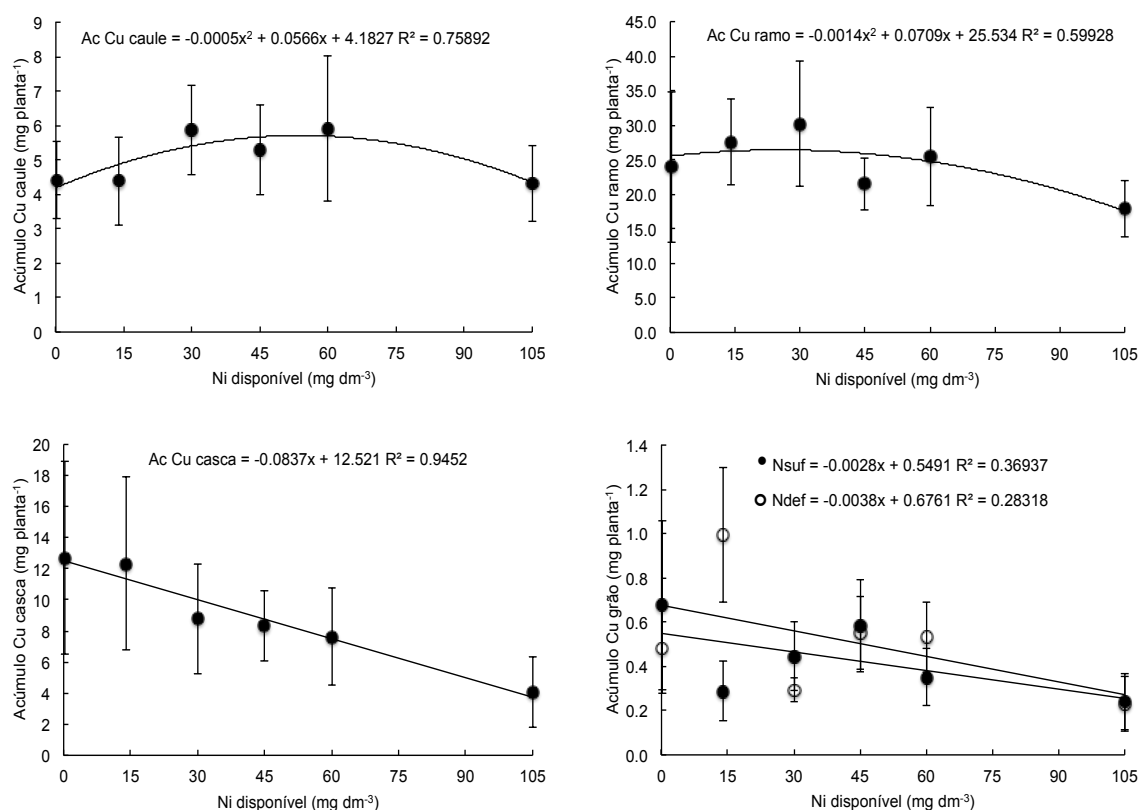


Figura 21 - Acúmulo de Cu (mg planta⁻¹) no caule, ramo, casca e grão de cafeeiro em função da disponibilidade de Ni e nível de nitrogênio

Com relação à concentração de Fe (mg kg⁻¹), apenas na folha houve aumento da concentração deste micronutriente em no nível deficiente em relação ao nível suficiente em N (Tabela 22). Para os demais órgãos da planta, raiz, caule, ramo, casca e grãos, o nível de N não interferiu na concentração de Fe e em ambos nível (suficiente e deficiente) as maiores concentrações de Fe foram observadas em raiz, folha, ramo, caule, casca e grãos (Tabela 22).

Um incremento na concentração de Fe na raiz e no caule foi observado em função do aumento do teor disponível de Ni no solo (Figura 22). No entanto, na folha houve redução da concentração de Fe a partir do teor de 45 mg dm⁻³ de Ni no solo.

Tabela 22 - Concentração (mg kg^{-1}) de ferro em raiz, caule, ramo, folha, casca, grãos e total em cafeeiro em função do teor disponível de Ni (mg dm^{-3} – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) ($n=4$)

N	Ni disponível	Raiz	Caule	Ramo	Folha	Casca	Grãos
	mg dm^{-3}	----- mg kg^{-1} -----					
Suficiente	0,3	366,1	71,8	180,6	213,4	49,6	30,3
	14	421,0	36,6	127,6	217,2	48,9	26,4
	30	516,2	46,3	168,4	211,1	36,2	34,1
	45	1296,3	65,8	159,8	214,6	40,8	35,7
	60	1057,2	56,1	148,8	210,2	46,1	29,1
	105	1722,3	98,7	128,0	167,6	47,9	24,4
	Média	896,5	62,6	152,2	205,7	44,9	30,0
Deficiente	0,3	475,4	47,3	148,9	221,4	52,8	28,5
	14	672,3	36,5	139,6	258,7	50,7	42,3
	30	635,1	59,4	147,3	248,9	44,3	35,5
	45	1621,6	58,2	154,9	235,9	39,3	34,5
	60	1040,1	71,8	158,3	230,6	43,2	31,4
	105	1958,7	77,0	158,3	196,6	44,8	29,4
	Média	1067,2	58,4	151,2	232,0	45,9	33,6
Pr F	N	0,0009**	0,2781 ^{ns}	0,9395 ^{ns}	0,0067**	0,8330 ^{ns}	0,0555 ^{ns}
	Ni	<0,0001**	<0,0001**	0,7435 ^{ns}	0,0229*	0,7320 ^{ns}	0,0615 ^{ns}
	N x Ni	0,3532 ^{ns}	0,0185*	0,7354 ^{ns}	0,9087 ^{ns}	0,7331 ^{ns}	0,0877 ^{ns}
CV%		10,0	6,9	8,3	15,1	20,6	6,2

^{ns}, *, ** = Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente

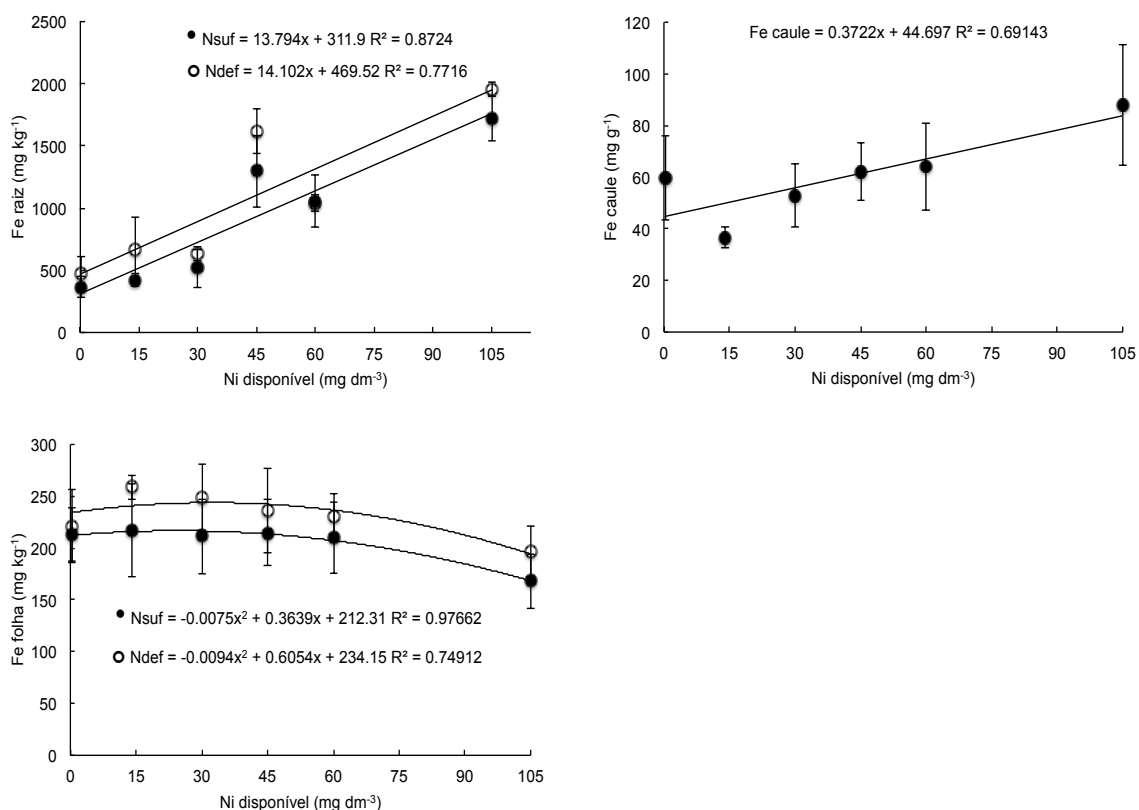


Figura 22 - Concentração de Fe (mg kg^{-1}) na raiz, caule e folha de cafeeiro em função da disponibilidade de Ni e nível de nitrogênio

Para o acúmulo de Fe (mg planta^{-1}), este foi superior em razão do nível suficiente de N para folha e casca, enquanto houve redução do acúmulo de Fe na raiz, comparado com o nível deficiente de N (Tabela 23). No cafeeiro, o maior acúmulo de Fe ocorreu na raiz, ramo, folha, casca, caule e grãos, independentemente do nível de N utilizado.

Com relação a exposição ao Ni e o acúmulo de Fe, houve aumento da quantidade acumulada de Fe até o teor de $60\ \text{mg dm}^{-3}$ de Ni na raiz, enquanto que no caule, este aumento ocorreu até o maior teor disponível ($105\ \text{mg dm}^{-3}$). Já na casca e nos grãos houve redução do acúmulo de Fe em função da disponibilidade de Ni no solo (Tabela 23).

Tabela 23 - Acúmulo (mg planta^{-1}) de ferro em raiz, caule, ramo, folha, casca, grãos e total em cafeeiro em função do teor disponível de Ni (mg dm^{-3} – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) ($n=4$)

N	Ni disponível	Raiz	Caule	Ramo	Folha	Casca	Grãos	Total
	mg dm^{-3}							
Suficiente	0,3	66,3	11,9	31,2	34,2	15,7	1,08	160,4
	14	63,8	5,9	20,9	24,1	16,9	0,77	132,4
	30	84,3	7,9	29,2	24,7	11,5	1,07	158,7
	45	249,1	10,2	26,9	26,2	13,7	1,12	327,2
	60	175,1	9,6	27,1	21,5	14,8	0,67	248,8
	105	141,5	12,9	19,0	22,6	8,5	0,73	205,2
	Média	130,0	9,7	25,7	25,5	13,5	0,91	205,3
Deficiente	0,3	89,6	7,5	23,3	12,1	12,0	0,88	145,4
	14	125,9	6,1	23,2	14,1	12,3	1,75	183,4
	30	112,7	9,6	24,8	7,3	10,4	0,66	165,5
	45	278,8	9,3	24,8	17,4	10,2	1,11	341,6
	60	180,0	12,9	27,1	18,5	10,8	0,99	250,3
	105	202,7	11,6	22,7	23,3	5,1	0,61	266,0
	Média	165,0	9,5	24,3	15,4	10,1	1,00	225,3
Pr F	N	0,0002**	0,5073 ^{ns}	0,5176 ^{ns}	<0,0001**	0,0010**	0,6290 ^{ns}	0,0881 ^{ns}
	Ni	<0,0001**	<0,0001**	0,3627 ^{ns}	0,3189 ^{ns}	0,0004**	0,0426*	<0,0001**
	N x Ni	0,2503 ^{ns}	0,0635 ^{ns}	0,6568 ^{ns}	0,0975 ^{ns}	0,9282 ^{ns}	0,0078**	0,2892 ^{ns}
CV%		15,5	13,8	12,7	15,1	25,8	24,8	53,9

^{ns}, *, ** = Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente

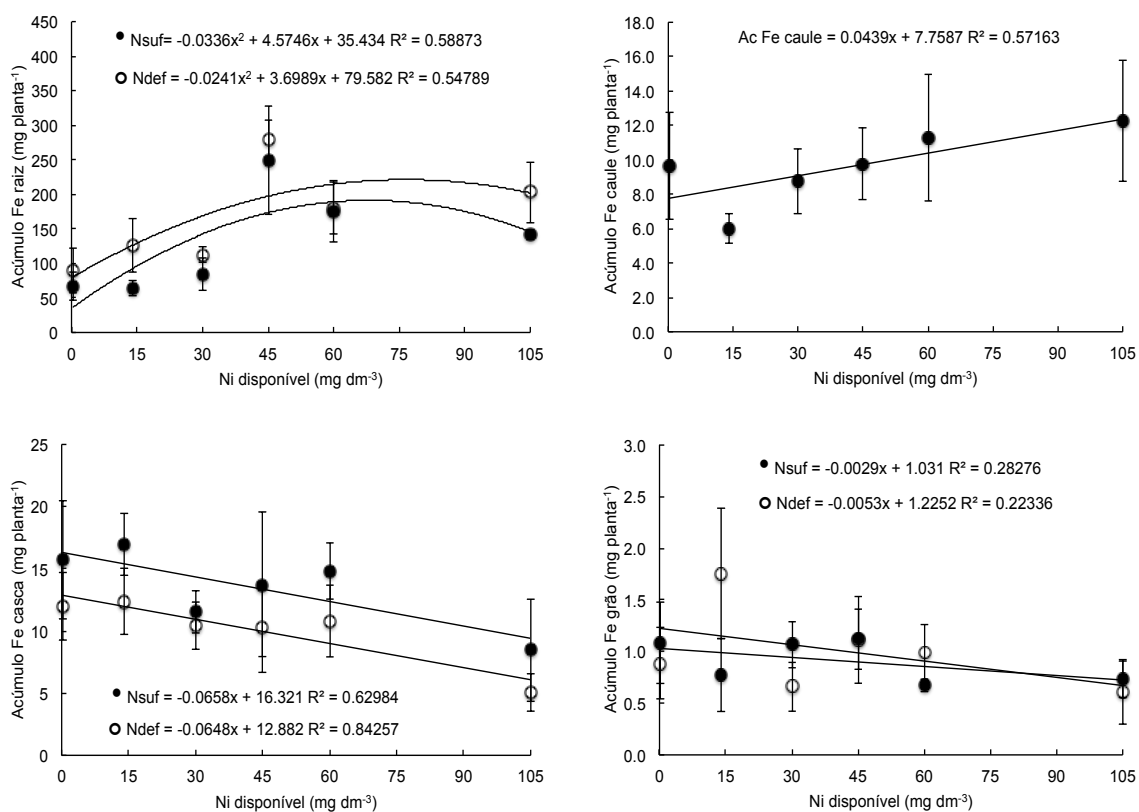


Figura 23 - Acúmulo de Fe (mg planta⁻¹) na raiz, caule, casca e grão de cafeeiro em função da disponibilidade de Ni e nível de nitrogênio

A concentração de Mn (mg kg⁻¹) em raiz e caule foram superiores no nível suficiente de N quando comparados com o nível deficiente de N. No ramo, folha, casca e grãos a concentração de Mn não alterou em razão do nível de N (Tabela 24). Em cafeeiro, as maiores concentrações de Mn foram observadas em folha, ramo, casca, raiz, grãos e caule, independentemente do nível de N aplicado.

A aplicação de Ni, e conseqüentemente o aumento do teor disponível de Ni no solo aumentou a concentração de Mn em raiz e caule, enquanto na folha, a concentração de Mn reduziu em função da disponibilidade de Ni (Figura 24).

Na casca houve interação entre o nível de N e o teor de Ni disponível com relação à concentração de Mn. No nível suficiente de N houve um incremento da concentração de Mn no teor 105 mg dm⁻³ Ni no solo, enquanto que no nível deficiente de N, neste teor de Ni disponível observou uma redução na concentração de Mn na casca (Figura 24).

Tabela 24 - Concentração (mg kg^{-1}) de manganês em raiz, caule, ramo, folha, casca, grãos e total em café em função do teor disponível de Ni (mg dm^{-3} – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) ($n=4$)

N	Ni disponível	Raiz	Caule	Ramo	Folha	Casca	Grãos
	mg dm^{-3}	----- mg kg^{-1} -----					
Suficiente	0,3	48,7	35,6	103,1	385,9	88,4	55,8
	14	59,6	23,9	116,0	393,3	83,1	49,4
	30	84,0	32,7	129,8	397,8	68,9	57,6
	45	88,6	31,5	92,0	403,8	77,2	64,5
	60	87,4	35,3	84,3	301,5	62,7	43,2
	105	110,3	53,3	131,0	231,2	100,1	49,4
	Média	79,8	35,4	109,4	352,2	80,1	53,3
Deficiente	0,3	43,6	18,1	103,0	422,1	88,1	48,6
	14	35,4	21,7	111,9	432,9	89,1	64,4
	30	52,5	29,1	116,6	432,6	82,7	61,1
	45	63,4	29,8	87,8	416,4	73,4	57,4
	60	56,4	32,7	96,4	378,5	77,2	50,2
	105	105,2	42,0	114,3	220,9	69,1	47,2
	Média	59,4	28,9	105,0	383,9	79,9	54,8
Pr F	N	0,0060**	0,0043**	0,4850 ^{ns}	0,0711 ^{ns}	0,9774 ^{ns}	0,6456 ^{ns}
	Ni	0,0001**	<0,0001**	0,0055**	<0,0001**	0,1048 ^{ns}	0,0702 ^{ns}
	N x Ni	0,7642 ^{ns}	0,1164 ^{ns}	0,8049 ^{ns}	0,7791 ^{ns}	0,0407*	0,3137 ^{ns}
CV%		10,6	12,2	6,3	17,8	4,7	19,8

^{ns}, *, ** = Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente

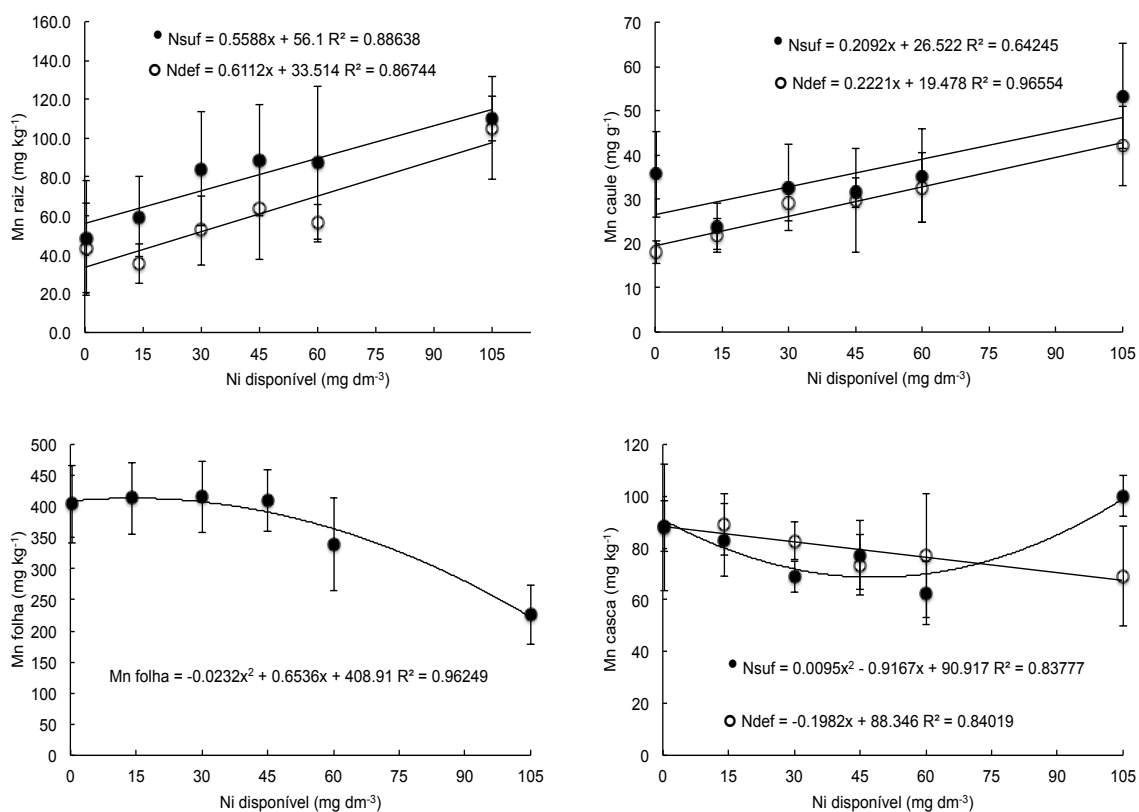


Figura 24 - Concentração de Mn (mg kg⁻¹) na raiz, caule, folha e casca de cafeeiro em função da disponibilidade de Ni e nível de nitrogênio

O nível de nitrogênio suficiente aumentou o acúmulo de Mn (mg planta⁻¹) no caule, folha, casca e na planta total, quando comparado com o acúmulo de Mn no nível deficiente de N (Tabela 25). No entanto, a raiz, ramo e os grãos do cafeeiro não apresentaram alteração no acúmulo de Mn em razão do nível de N. No cafeeiro o acúmulo de Mn foi maior em folha, casca, ramo, raiz, caule e grãos (Tabela 25).

Tabela 25 - Acúmulo (mg planta^{-1}) de manganês em raiz, caule, ramo, folha, casca, grãos e total em cafeeiro em função do teor disponível de Ni (mg dm^{-3} – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) ($n=4$)

N	Ni disponível	Raiz	Caule	Ramo	Folha	Casca	Grãos	Total
	mg dm^{-3}							
Suficiente	0,3	8,9	5,9	17,3	61,2	27,7	2,1	123,1
	14	8,9	3,8	19,1	43,6	28,8	1,5	105,7
	30	13,7	5,6	22,6	47,1	21,8	1,8	112,6
	45	18,0	4,9	15,3	51,5	24,8	2,2	116,7
	60	14,5	6,0	15,3	31,4	20,2	1,0	88,4
	105	9,1	7,2	19,2	31,4	17,3	1,5	85,7
	Média	12,2	5,6	18,1	44,4	23,4	1,7	105,4
Deficiente	0,3	9,5	2,8	16,7	23,2	20,6	1,5	74,3
	14	6,8	3,6	18,7	23,7	21,6	2,8	77,2
	30	9,7	4,7	19,6	12,8	19,5	1,2	67,5
	45	11,3	4,7	14,4	30,3	19,2	1,9	81,8
	60	9,7	5,7	16,7	33,0	19,3	1,6	86,0
	105	10,8	6,2	16,5	27,5	8,0	1,0	70,0
	Média	9,6	4,6	17,1	25,1	18,0	1,7	76,1
Pr F	N	0,1350 ^{ns}	0,0096 ^{**}	0,3632 ^{ns}	<0,0001 ^{**}	0,0006 ^{**}	0,7576 ^{ns}	0,0001 ^{**}
	Ni	0,1615 ^{ns}	0,0002 ^{**}	0,0532 ^{ns}	0,4349 ^{ns}	0,0002 ^{**}	0,1917 ^{ns}	0,4993 ^{ns}
	N x Ni	0,8213 ^{ns}	0,0523 ^{ns}	0,8931 ^{ns}	0,2013 ^{ns}	0,5382 ^{ns}	0,0901 ^{ns}	0,3756 ^{ns}
CV%		23,4	26,4	30,5	13,9	23,8	16,9	7,0

^{ns}, *, ** = Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente

O acúmulo de Mn no caule aumentou em função da disponibilidade de Ni no solo, enquanto que na casca houve redução do acúmulo de Mn (Figura 25).

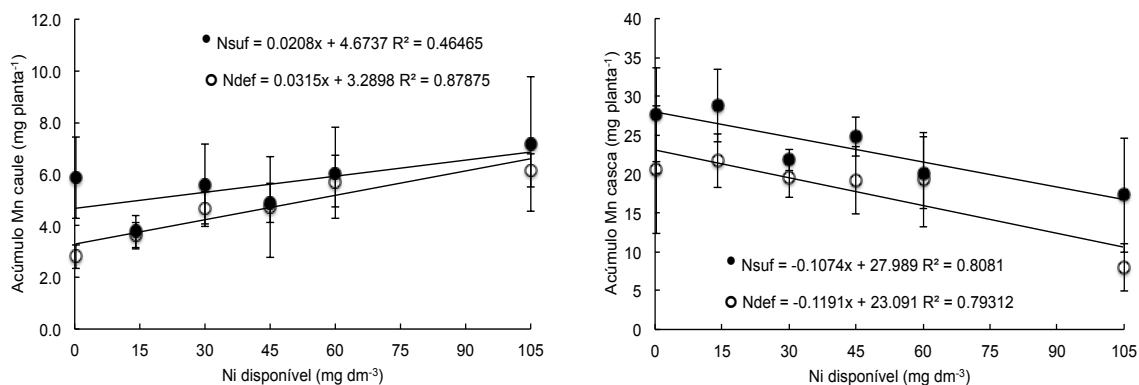


Figura 25 - Acúmulo de Mn (mg planta⁻¹) no caule e casca de cafeeiro em função da disponibilidade de Ni e nível de nitrogênio

O nível de nitrogênio suficiente no cafeeiro aumentou em 7% a concentração de Ni (mg kg⁻¹) no caule e reduziu em 3,7%, 13,4%, 10,2% e 13,4% a concentração de Ni em ramo, folha, casca e grãos respectivamente, quando comparado com o nível deficiente de N (Tabela 26). No cafeeiro, as maiores concentrações de Ni foram observadas em raiz, ramo, caule, folha, casca e grãos (N suficiente), enquanto em N deficiente, as maiores concentrações de Ni foram observadas em raiz, ramo, folha, caule, grãos e casca (Tabela 26). Apenas a concentração de Ni na raiz não foi alterada em razão do nível de N.

A aplicação de Ni no solo proporcionou um incremento médio de 50 vezes na raiz, 63 vezes no caule, 53 vezes no ramo, 35 vezes na folha, 11 vezes na casca e de 7,5 vezes no grão, quando comparado o teor disponível de Ni natural do solo (0,3 mg dm⁻³) e o máximo teor de Ni disponível (105 mg md⁻³) (Figura 26).

Tabela 26 - Concentração (mg kg^{-1}) de níquel em raiz, caule, ramo, folha, casca, grãos e total em cafeeiro em função do teor disponível de Ni (mg dm^{-3} – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) ($n=4$)

N	Ni disponível	Raiz	Caule	Ramo	Folha	Casca	Grãos
	mg dm^{-3}	----- mg kg^{-1} -----					
Suficiente	0,3	7,7	3,1	4,9	4,4	3,3	4,0
	14	13,0	5,5	10,7	16,9	7,2	8,1
	30	23,1	8,8	15,0	29,0	10,7	12,6
	45	56,7	12,4	18,6	37,5	12,8	17,1
	60	98,1	19,2	27,9	66,0	19,4	23,1
	105	411,2	192,4	233,3	70,9	36,2	24,6
	Média	101,6	40,2	51,7	37,4	14,9	14,9
Deficiente	0,3	7,3	2,8	4,3	4,7	3,5	3,5
	14	10,9	4,7	8,6	20,6	7,6	11,0
	30	20,7	6,5	11,2	34,7	11,1	14,9
	45	38,6	7,7	13,5	34,2	12,9	16,7
	60	69,6	15,3	27,2	78,1	25,0	25,3
	105	367,1	188,4	257,3	87,1	39,7	31,9
	Média	85,7	37,6	53,7	43,2	16,6	17,2
Pr F	N	0,1977 ^{ns}	<0,0001**	<0,0001**	0,0033**	0,0167*	0,0079**
	Ni	<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**
	N x Ni	0,9856 ^{ns}	0,1294 ^{ns}	0,0192*	0,1728 ^{ns}	0,7223 ^{ns}	0,0428*
CV%		14,8	13,8	5,4	4,7	4,8	5,7

^{ns}, *, ** = Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente

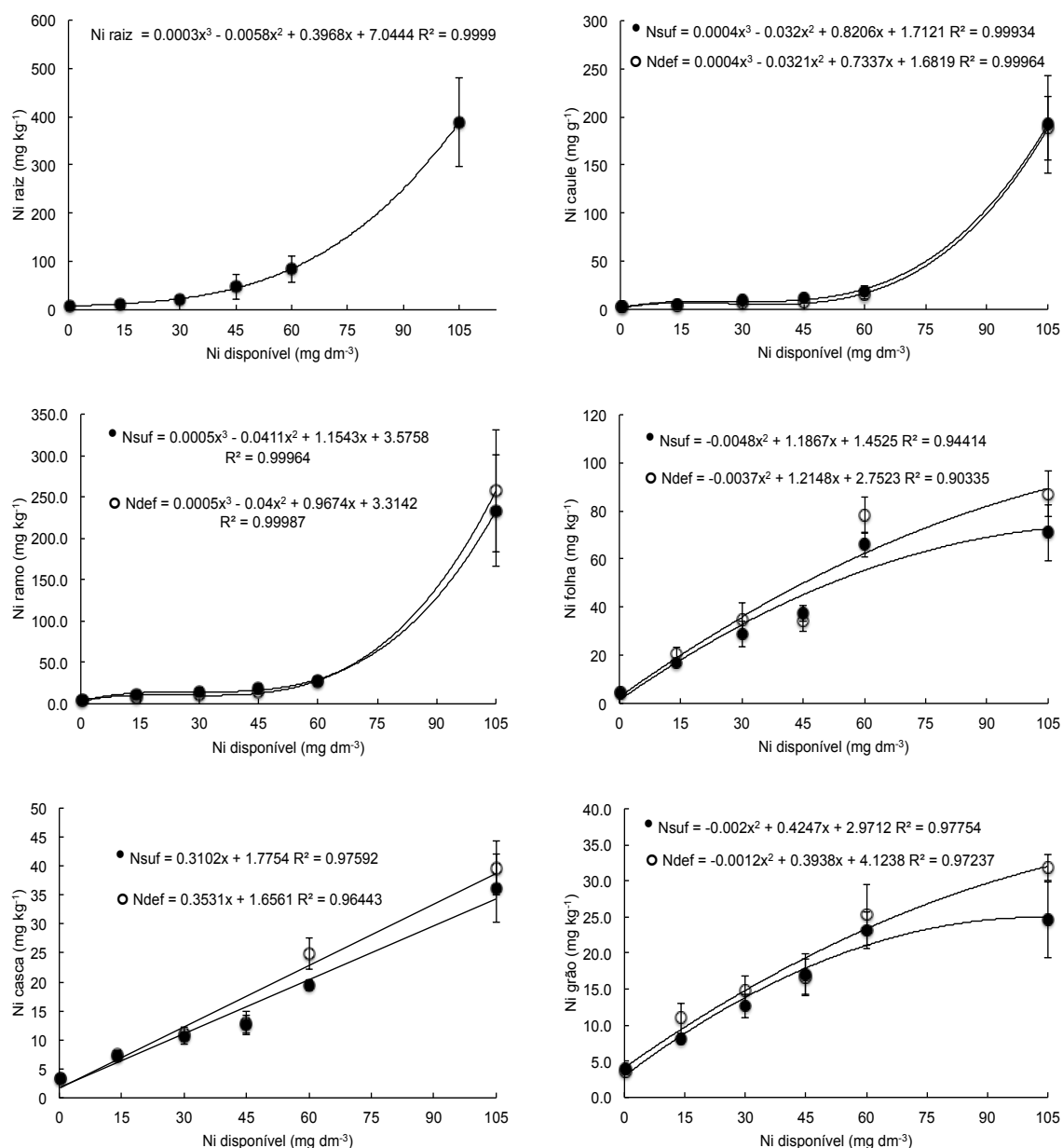


Figura 26 - Concentração de Ni (mg kg⁻¹) na raiz, caule, ramo, folha, casca e grão de cafeeiro em função da disponibilidade de Ni e nível de nitrogênio

O acúmulo de Ni no cafeeiro foi maior no nível deficiente de N para o caule, enquanto que no nível suficiente de N, o ramo, a folha, a casca e o total da planta acumularam quantidades superiores de Ni, quando comparado com o nível deficiente (Tabela 27). No cafeeiro, o acúmulo de Ni foi maior na raiz, ramo, caule, folha, casca e grãos, independente do nível (suficiente ou deficiente) de N aplicado nas plantas.

Tabela 27 - Acúmulo (mg planta^{-1}) de níquel em raiz, caule, ramo, folha, casca, grãos e total em cafeeiro em função do teor disponível de Ni (mg dm^{-3} – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) ($n=4$)

N	Ni disponível	Raiz	Caule	Ramo	Folha	Casca	Grãos	Total
	mg dm^{-3}	mg planta^{-1}						
Suficiente	0,3	1,5	0,5	0,8	0,7	1,0	0,15	4,5
	14	1,9	0,9	1,8	1,8	2,5	0,23	8,9
	30	3,8	1,5	2,6	3,4	3,4	0,40	14,7
	45	11,7	1,9	3,1	4,8	4,3	0,55	25,8
	60	16,3	3,3	5,0	6,9	6,2	0,54	37,7
	105	33,6	24,9	34,2	9,8	6,5	0,76	109,0
	Média	11,4	5,5	7,9	4,6	4,0	0,44	33,4
Deficiente	0,3	1,6	0,4	0,7	0,3	0,8	0,11	3,8
	14	2,1	0,8	1,4	1,1	1,8	0,46	7,2
	30	3,8	1,0	1,9	1,0	2,6	0,27	10,3
	45	6,8	1,2	2,2	2,6	3,4	0,53	16,2
	60	12,1	2,7	4,7	6,6	6,2	0,81	32,3
	105	37,5	28,4	36,0	10,5	4,5	0,63	116,9
	Média	10,7	5,8	7,8	3,7	3,2	0,47	31,2
Pr F	N	0,5313 ^{ns}	0,0011 ^{**}	0,0004 ^{**}	<0,0001 ^{**}	0,0013 ^{**}	0,617 ^{ns}	0,0031 ^{**}
	Ni	<0,0001 ^{**}	<0,0001 ^{**}	<0,0001 ^{**}	<0,0001 ^{**}	<0,0001 ^{**}	<0,0001 ^{**}	<0,0001 ^{**}
	N x Ni	0,7504 ^{ns}	0,2082 ^{ns}	0,1699 ^{ns}	0,1257 ^{ns}	0,6527 ^{ns}	0,0413 [*]	0,3057 ^{ns}
	CV%	13,8	10,0	4,1	67,6	4,2	25,6	9,9

^{ns}, ^{*}, ^{**} = Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente

O máximo acúmulo de Ni observado na raiz, caule e ramo ocorreu no teor disponível de Ni de 105 mg dm^{-3} , enquanto que para a folha, casca e grãos, o máximo acúmulo de Ni ocorreu no teor de 75 mg dm^{-3} de Ni disponível (Figura 27).

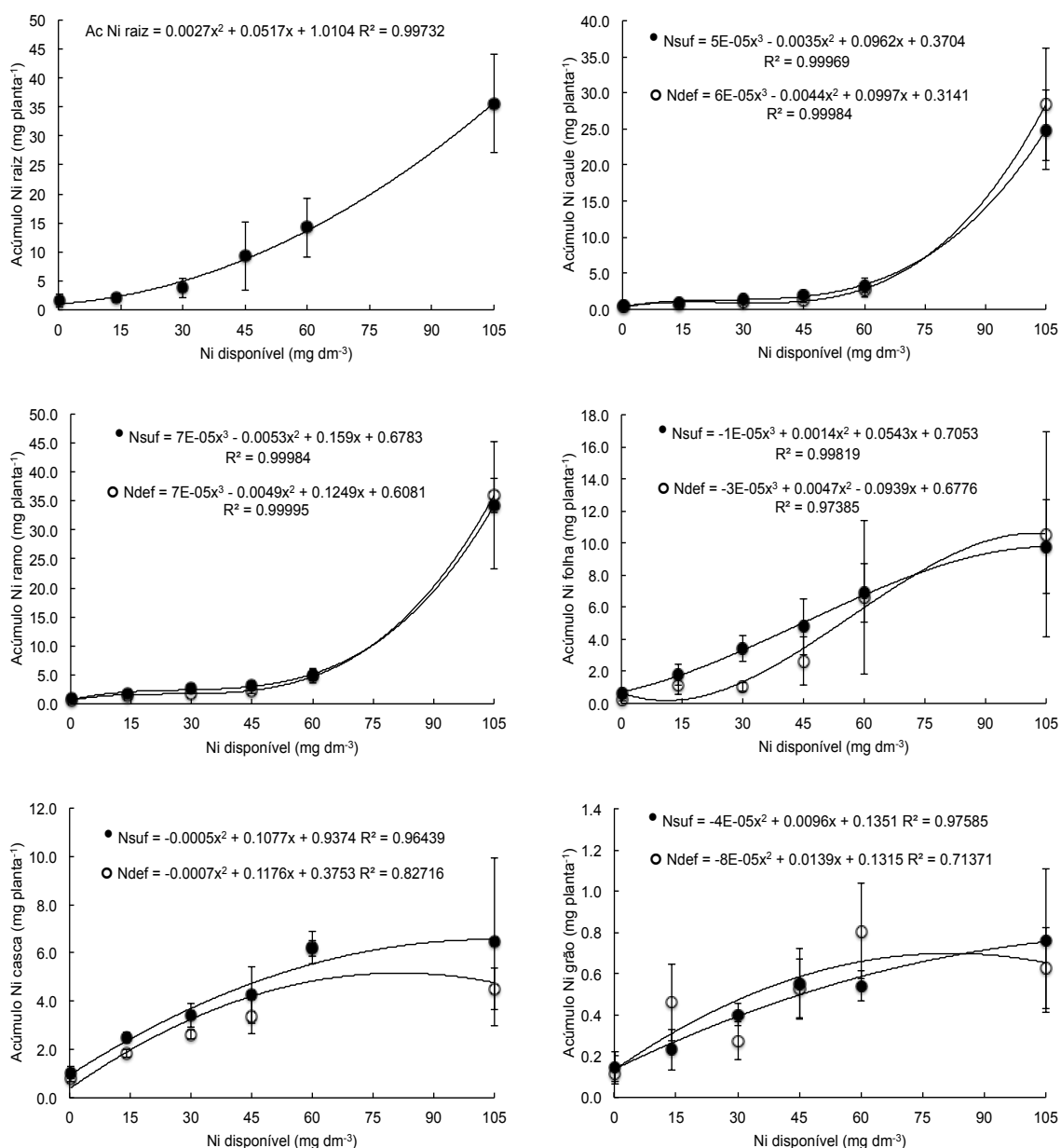


Figura 27 - Acúmulo de Ni (mg planta⁻¹) na raiz, caule, ramo, folha, casca e grão de café em função da disponibilidade de Ni e nível de nitrogênio

O nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) alterou as concentrações de Zn (mg kg⁻¹) na raiz e na folha, enquanto que no caule, ramo, casca e grãos, o nível de N não afetou as concentrações de Zn (Tabela 28). Na raiz observou um aumento na concentração de Zn em razão do nível suficiente de N e na folha reduziu a concentração de Zn neste mesmo nível (Tabela 28). No café, os órgãos que apresentaram maior concentração de Zn foram o ramo, folha, raiz, grão, casca e caule, independente do nível de N.

Tabela 28 - Concentração (mg kg^{-1}) de zinco em raiz, caule, ramo, folha, casca, grãos e total em cafeeiro em função do teor disponível de Ni (mg dm^{-3} – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) ($n=4$)

N	Ni disponível	Raiz	Caule	Ramo	Folha	Casca	Grãos
	mg dm^{-3}	----- mg kg^{-1} -----					
Suficiente	0,3	9,3	1,4	30,6	17,2	7,9	6,2
	14	6,9	1,7	32,6	14,2	6,1	6,0
	30	9,6	2,2	37,5	16,3	4,7	7,6
	45	12,3	1,8	30,8	18,4	4,2	7,9
	60	10,6	1,3	25,9	15,3	4,5	6,8
	105	30,3	2,9	30,3	12,2	4,8	4,1
	Média	13,2	1,9	31,3	15,6	5,4	6,4
Deficiente	0,3	6,0	1,8	34,2	17,4	6,0	5,7
	14	4,8	1,4	29,7	18,9	5,4	7,6
	30	7,3	1,8	31,2	17,5	4,9	8,1
	45	10,4	1,9	28,1	20,2	2,8	8,2
	60	8,5	2,3	31,0	17,6	4,9	7,3
	105	25,2	3,0	30,3	14,7	4,2	4,6
	Média	10,4	2,0	30,8	17,7	4,7	6,9
Pr F	N	0,0086**	0,3901 ^{ns}	0,7568 ^{ns}	0,0073**	0,1788 ^{ns}	0,3937 ^{ns}
	Ni	<0,0001**	0,0009**	0,3811 ^{ns}	0,0049**	0,0065**	0,0056**
	N x Ni	0,9295 ^{ns}	0,0894 ^{ns}	0,3774 ^{ns}	0,6240 ^{ns}	0,7490 ^{ns}	0,9455 ^{ns}
CV%		24,3	27,6	5,9	28,2	28,0	31,3

^{ns}, *, ** = Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente

A exposição do cafeeiro ao Ni alterou as concentrações de Zn em raiz, caule, em que a maior concentração de Zn observada ocorreu no teor de 105 mg dm^{-3} de Ni disponível (Figura 28). Na folha e grão do cafeeiro houve aumento da concentração de Zn até o teor de 45 mg dm^{-3} de Ni, e a partir desse teor ocorreu redução na concentração de Zn nesses órgãos (folha e grão). Já na casca do cafeeiro, a exposição ao teor crescente de Ni no solo reduziu a concentração de Zn (Figura 28).

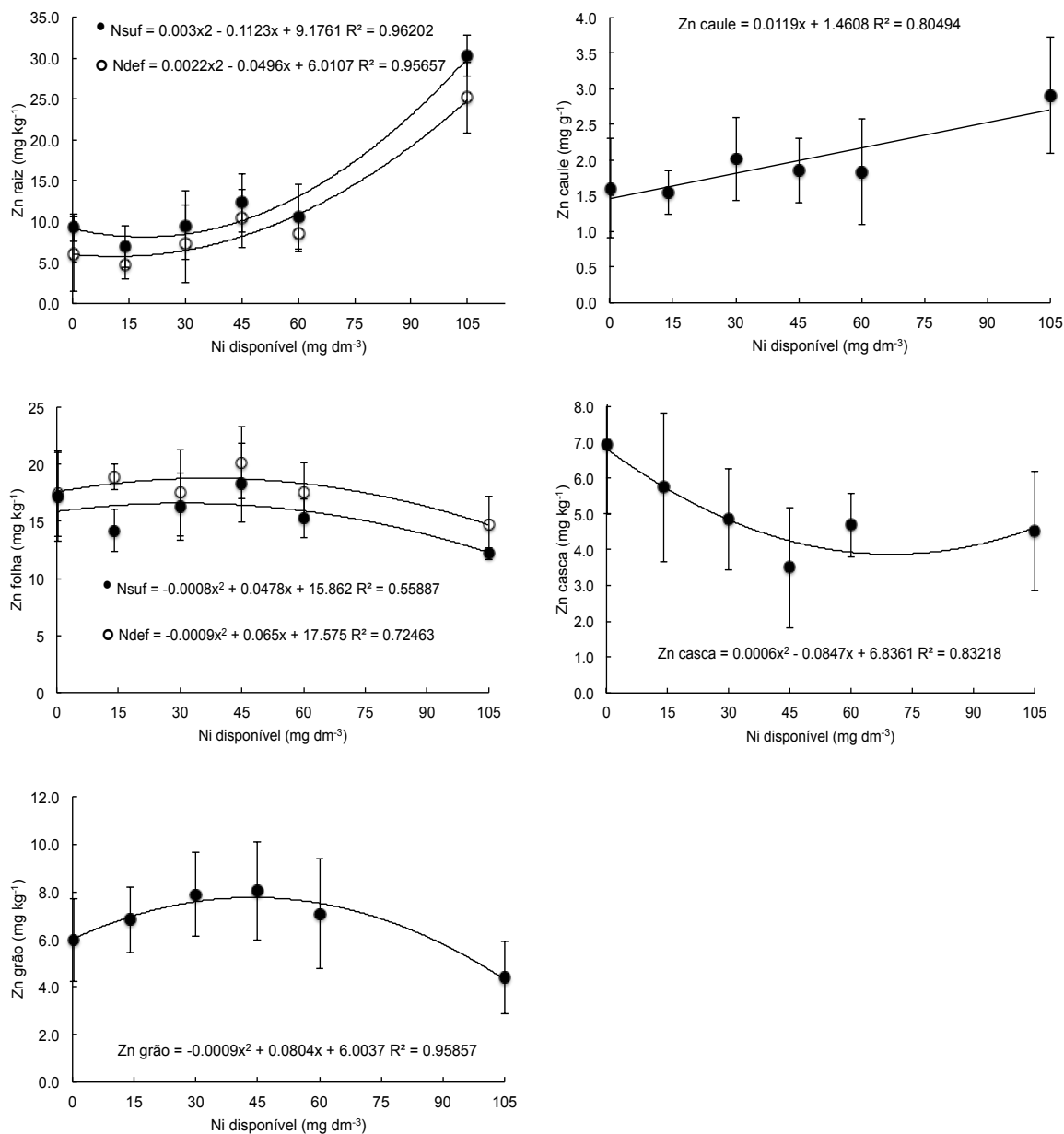


Figura 28 - Concentração de Zn (mg kg⁻¹) na raiz, caule, folha, casca e grão de cafeeiro em função da disponibilidade de Ni e nível de nitrogênio

Com relação ao acúmulo de Zn pelo cafeeiro em razão do nível deficiente e suficiente de N, a folha, casca e o total da planta apresentaram um acréscimo no acúmulo no nível suficiente, enquanto que a raiz, caule, ramo e grãos não alteraram o acúmulo de Zn, quando comparado com o nível deficiente em N (Tabela 29). No cafeeiro em nível suficiente de N, os maiores acúmulo ocorreram no ramo, folha,

raiz, casca, caule e grãos, enquanto que no nível deficiente, os maiores acúmulo foram observados no ramo, raiz, folha, casca, caule e grãos (Tabela 29).

Tabela 29 - Acúmulo (mg planta^{-1}) de zinco em raiz, caule, ramo, folha, casca, grãos e total em cafeeiro em função do teor disponível de Ni (mg dm^{-3} – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) ($n=4$)

N	Ni disponível	Raiz	Caule	Ramo	Folha	Casca	Grãos	Total
	mg dm^{-3}							
Suficiente	0,3	1,7	0,2	5,2	2,6	2,4	0,22	12,1
	14	1,0	0,3	5,4	1,5	2,1	0,17	10,3
	30	1,6	0,4	6,5	1,9	1,5	0,24	11,9
	45	2,5	0,3	5,1	2,4	1,5	0,24	11,8
	60	1,8	0,2	4,7	1,6	1,4	0,16	9,7
	105	2,5	0,4	4,4	1,7	0,9	0,13	9,9
	Média	1,8	0,3	5,2	1,9	1,6	0,19	10,8
Deficiente	0,3	1,4	0,3	5,5	1,0	1,4	0,18	9,6
	14	0,9	0,2	5,0	1,0	1,3	0,31	8,4
	30	1,4	0,3	5,2	0,5	1,2	0,15	8,6
	45	1,8	0,3	4,6	1,5	0,7	0,27	8,9
	60	1,5	0,4	5,3	1,4	1,2	0,23	9,8
	105	2,6	0,4	4,3	1,8	0,5	0,10	9,6
	Média	1,6	0,3	5,0	1,2	1,0	0,21	9,1
Pr F	N	0,1996 ^{ns}	0,2983 ^{ns}	0,4633 ^{ns}	<0,0001 ^{**}	0,0005 ^{**}	0,9038 ^{ns}	0,0109 [*]
	Ni	0,0049 ^{**}	0,0139 [*]	0,1184 ^{ns}	0,1363 ^{ns}	0,0002 ^{**}	0,0057 ^{**}	0,8121 ^{ns}
	N x Ni	0,9668 ^{ns}	0,0964 ^{ns}	0,5249 ^{ns}	0,0548 ^{ns}	0,7188 ^{ns}	0,0842 ^{ns}	0,5065 ^{ns}
CV%		15,1	7,0	22,6	12,6	19,9	13,9	31,9

^{ns}, ^{*}, ^{**} = Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente

O teor de Ni disponível no solo afetou o acúmulo de Zn na raiz e no caule do cafeeiro, em que observou que os maiores acúmulo de Zn ocorreram no teor de 105 mg dm^{-3} de Ni (Figura 29). Já na casca do fruto do cafeeiro houve redução do acúmulo de Zn em função do teor de Ni disponível no solo e nos grãos, somente a partir do teor de 60 mg dm^{-3} foi observado a redução no acúmulo de Zn (Figura 29).

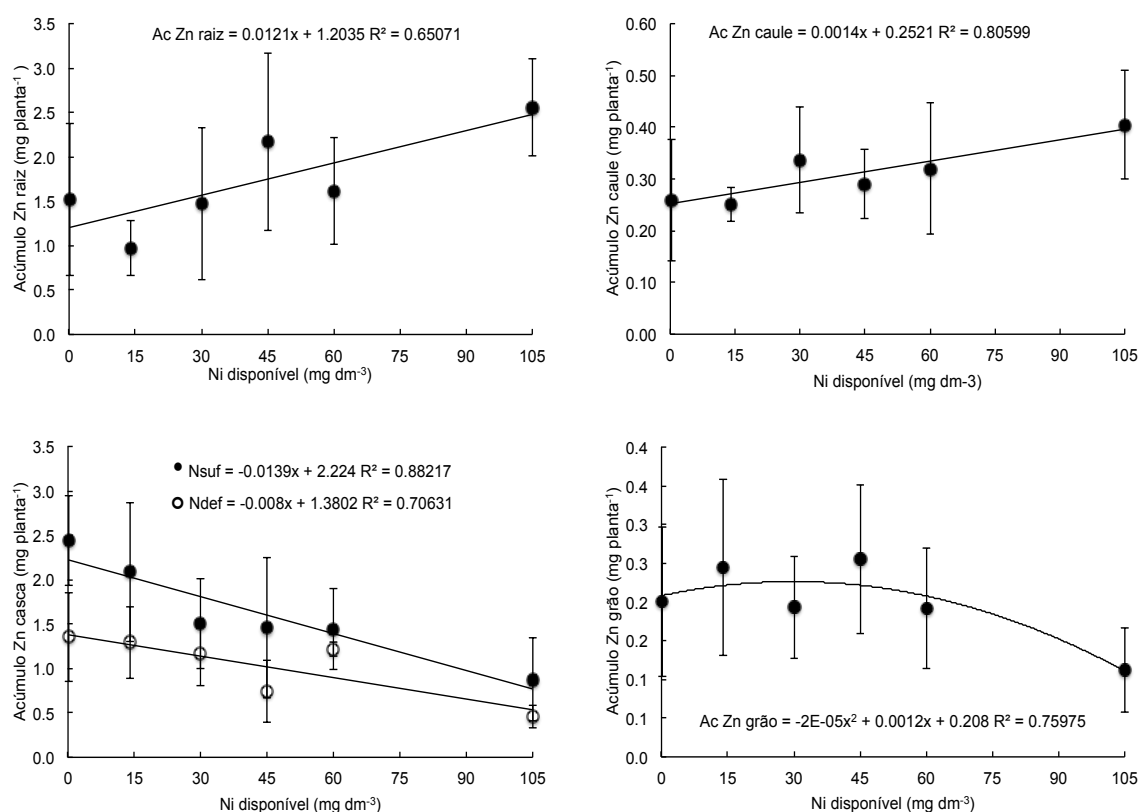


Figura 29 - Acúmulo de Zn (mg planta⁻¹) n raiz, caule, casca e grão de cafeeiro em função da disponibilidade de Ni e nível de nitrogênio

Os coeficientes para avaliar a eficiência de uso do nitrogênio estão apresentados na tabela e figura 30. A eficiência do uso do nitrogênio absorvido (EUN) e a eficiência de absorção do nitrogênio (EAN) foram superiores em razão do nível suficiente de N, enquanto que a razão da eficiência de nitrogênio (REN) reduziu neste nível (Tabela 30).

Com relação ao incremento no teor de Ni no solo, somente a partir do teor de 60 mg dm⁻³ observou alteração nos coeficientes para avaliar a eficiência de uso do N (Figura 30) e não foram observada interação entre o nível de nitrogênio e teores disponíveis de Ni disponível no solo (Tabela 30).

Tabela 30 - Coeficientes de eficiência do uso do nitrogênio absorvido (EUN), eficiência de absorção do nitrogênio (EAN) e razão da eficiência de nitrogênio (REN) em cafeeiro em função do teor disponível de Ni (mg dm^{-3} – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) ($n=4$)

N	Ni disponível mg dm^{-3}	EUN	EAN	REN
		-----%-----		
Suficiente	0,3	22,3	10,2	57,0
	14	15,9	11,8	55,3
	30	15,2	10,1	60,8
	45	20,8	10,9	52,1
	60	15,3	10,2	57,8
	105	36,9	18,1	41,5
	Média	21,1	11,9	54,1
Deficiente	0	9,5	6,1	72,4
	15	8,7	6,0	75,8
	30	6,9	6,1	72,8
	45	12,1	7,6	66,5
	90	12,6	7,5	69,5
	180	26,0	13,0	47,7
	Média	12,6	7,7	67,4
Pr F	Nível N	<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**
	Dose Ni	<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**
	N x Ni	0,4141 ^{ns}	0,2213 ^{ns}	0,2366 ^{ns}
	CV%	13,8	7,8	9,1

^{ns}, *, ** = Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente

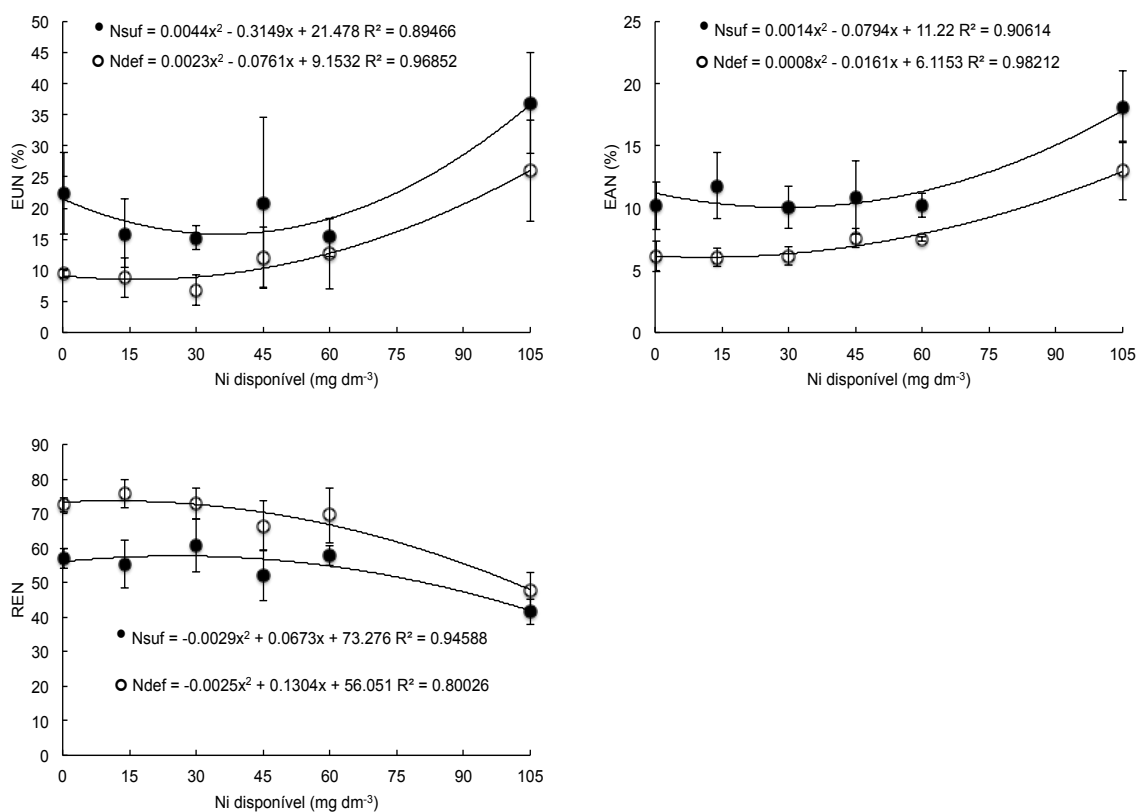


Figura 30 - Coeficientes de eficiência do uso do nitrogênio absorvido (EUN -%), eficiência de absorção do nitrogênio (EAN -%) e razão da eficiência de nitrogênio (REN -%) em cafeeiro em função do teor disponível de Ni (mg dm⁻³ – DTPA) e nível de nitrogênio

A taxa de recuperação de Ni aplicado no cafeeiro está apresentada na tabela e figura 31. O nível suficiente de nitrogênio foi 22% maior na recuperação do Ni total aplicado no cafeeiro, quando comparado com o nível deficiente de N (Tabela 31).

Com relação ao Ni aplicado observou uma redução na porcentagem de recuperação até a adição de 90 mg dm⁻³ de Ni no solo e esta aumenta na maior aplicação de Ni (180 mg dm⁻³) (Figura 31).

Tabela 31 - Taxa de recuperação do Ni em cafeeiro em função da aplicação de Ni (mg dm^{-3}) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) ($n=4$)

N	Ni aplicado mg dm^{-3}	Recuperação Ni	
		-----% -----	
Suficiente	0	.	
	15	1,2	
	30	1,0	
	45	1,2	
	90	0,9	
	180	1,2	
	Média	1,1	
Deficiente	0	,	
	15	1,0	
	30	0,7	
	45	0,7	
	90	0,7	
	180	1,3	
	Média	0,9	
Pr F	N	0,0048**	
	Ni	0,0001**	
	N x Ni	0,1075 ^{ns}	
CV%		15,8	

^{ns}, *, ** = Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente

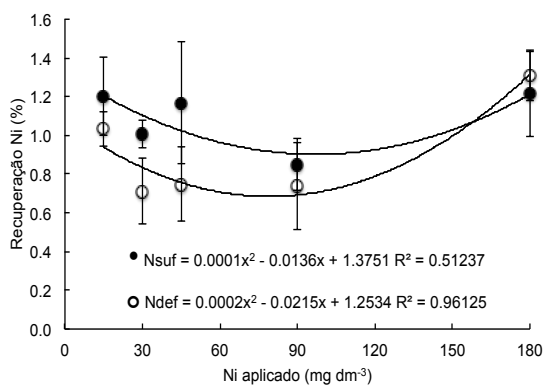


Figura 31 - Recuperação do Ni no cafeeiro em função da aplicação de Ni (mg dm^{-3}) e nível de nitrogênio

O cafeeiro não apresentou sintomas visuais de toxicidade de Ni até o teor disponível de 60 mg dm^{-3} . No entanto, o teor disponível de 105 mg dm^{-3} de Ni as folhas do primeiro par de folhas do ramo plagiotrópico apresentaram lesões necróticas pontuais, conforme observado na figura 32.



Figura 32 - Lesões pontuais em folhas novas de cafeeiro arábica exposto ao teor disponível de 105 mg dm^{-3} de Ni

2.4 Discussão

A aplicação de Ni reduziu o pH do substrato. Aplicação de sais metálicos, especialmente em altas concentrações, promove acidificação do solo (SPEIR et al., 1999). No entanto, os valores observados no experimento estão dentro da faixa recomendado para a cultura do cafeeiro, assim como para os teores de macros e micros nutrientes (RAIJ et al., 1997; RIBEIRO; GUIMARÃES; ALVAREZ., 1999).

Em cafeeiro, a aplicação de Ni, da ordem de 210 g planta⁻¹ não afetou a produção de grãos, e concentrações de Ni na folha (45 mg kg⁻¹), ramo (18 mg kg⁻¹) e grãos (5 mg kg⁻¹) foram observadas na ocasião da colheita (TEZOTTO et al., 2012).

Apesar da tolerância ao Ni observada nesse experimento, o cafeeiro não pode ser considerada uma planta hiperacumuladora desse metal, uma vez que para ser classificada como hiperacumuladora, as concentrações observadas na massa seca devem ser superiores a 1000 mg kg⁻¹ na parte aérea, valor superior daquele considerado a faixa crítica de deficiência (0,002 – 0,004 mg kg⁻¹ Ni) ou toxicidade (10 – 50 mg kg⁻¹ Ni) (KRÄMER, 2010; RASCIO; NAVARI-IZZO et al., 2011). O Ni é um dos metais que apresenta as maiores concentrações em plantas, e ainda, há um grande número de plantas hiperacumuladora para esse metal, por exemplo, *Sebertia acuminata* (Sapotacea), árvore endêmica de solos serpentinos, a qual acumula mais de 25% de Ni (massa seca) no látex (SAGNER et al., 1998).

No cafeeiro, a exposição ao teor de 105 mg dm⁻³ de Ni reduziu a altura de plantas, o diâmetro do caule no nível de N deficiente, a massa seca de raiz, do caule, do ramo e do fruto. O intervalo de concentração de Ni foi de 7,3 – 411,2 mg kg⁻¹ na raiz, 2,8 – 192,4 mg kg⁻¹ caule, 4,3 – 257,3 mg kg⁻¹ no ramo, 4,4 – 87,1 mg kg⁻¹ na folha, 3,3 – 39,7 mg kg⁻¹ na casca e 3,5 – 31,9 mg kg⁻¹ no grão. A redução no desenvolvimento da planta em razão à exposição ao Ni depende de inúmeros fatores como espécie, fase de desenvolvimento, teor disponível no solo e duração do tempo de exposição (KRUPA et al., 1993; XYLANDER; BRAUNE, 1994; MARSCHNER, 2011; KABATA-PENDIAS, 2010; ASSUNÇÃO et al. 2003).

A toxicidade de Ni nas plantas pode ser descrita por ação na inibição da divisão celular (RAO; SRESTY, 2000), redução no crescimento (MOLAS, 2002), fotossíntese e transpiração (CHEN et al., 2009), inibição de atividades enzimáticas (GAJEWASKA et al., 2009) e ainda interferência na absorção e transporte de outros nutrientes essenciais (CHEN et al., 2009).

As alterações nas concentrações de N, P, K, Ca e Mg (g kg^{-1} massa seca) em raiz, caule, ramo, folha, casca e grãos, e também no acúmulo (g planta^{-1}) desses nutrientes nesses órgãos ocorreram, principalmente, em razão da redução na massa seca produzida por esses órgãos do cafeeiro no teor de 105 mg dm^{-3} Ni, do que ao incremento gradual no teor de Ni no solo. O mesmo observou-se para os coeficientes de eficiência de uso de N no cafeeiro. A alteração na concentração de nutrientes pode ocorrer em razão da menor produção de massa seca, e conseqüentemente no aumento da concentração desse nutriente no tecido (JARREL; BEVERLY, 1981), ou ainda, pela competição por transportadores que podem aumentar ou reduzir a absorção dos nutrientes (CATALDO et al., 1978).

Com relação aos micronutrientes (B, Cu, Fe, Mn e Zn), as alterações nas concentrações nos órgãos do cafeeiro ocorreram, principalmente, pela interferência do Ni, uma vez que se observou um incremento ou redução gradual dos micronutrientes em função do aumento gradual no teor de Ni no solo. Alterações nas concentrações de micronutrientes tem sido reportada em função da aplicação de Ni, por exemplo em Zn (KHALID; TINSELY, 1980; METWALLY; RABIE, 1989; PARIDA et al., 2003); Fe (METWALLY; RABIE, 1989; NARWAL et al., 1994); e Cu (CATALDO et al., 1978; NARWAL et al., 1994).

A transferência de metais da raiz para a parte aérea é realizada principalmente por moléculas responsáveis por se ligar aos metais como fitoquelatinas (CLEMENS, 2006; PERSSON et al., 2006; TENNSTEDT et al., 2009), glutatona (FREEMAN et al., 2004; NOCTOR et al., 2012), histidina e outros aminoácidos (KRÄMER et al., 1996; SHARMA; DIETZ, 2006), ácidos orgânicos (RAUSER, 1999; SARRET et al., 2002) e nicotianamina (CURIE et al., 2009).

A presença de nicotianamina na planta confere tolerância ao Ni, uma vez que plantas de *Arabidopsis halleri* apresentaram maior sensibilidade à esse metal, em razão da supressão da síntese de nicotianamina na raiz (CORNU et al., 2014). Ainda, plantas hiperacumuladora de Ni, como *N. Caerulescens*, apresentam a formação de um complexo de Ni-nicotianamina em raiz e no xilema da planta (VACCHINA et al., 2003; MARI et al., 2006).

A exposição ao Ni leva a um aumento na concentração de nicotianamina na raiz, o que sugere que o complexo Ni-nicotianamina atua na transferência de Ni raiz parte aérea. Ainda há relatos do aumento na tolerância ao Ni em plantas que superexpressam nicotianamina sintase em *Arabidopsis thaliana* e em tabaco

(DOUCHKOV et al., 2005; KIM et al., 2005; PIANELLI et al., 2005). Assim, o aumento da exposição do cafeeiro ao Ni, e conseqüentemente a maior formação do complexo Ni-nicotianamina poderia afetar a transferência de outros micronutrientes metálicos para a parte aérea.

Em resumo, a aplicação de Ni reduziu a biomassa do cafeeiro somente no maior teor do elemento disponível no solo (105 mg dm^{-3}) e essa redução na biomassa afetou a concentração e acúmulo, principalmente, dos macronutrientes (N, P, K, Ca e Mg). Com relação aos micronutrientes metálicos (Cu, Fe, Mn e Zn), o incremento gradual no teor de Ni disponível no solo reduziu ou elevou gradualmente a concentração desses micronutrientes no cafeeiro. Os coeficientes de eficiência de uso de N pelo cafeeiro foram afetados somente em razão do nível de N, sem alteração em função do Ni disponível no solo.

REFERÊNCIAS

- ASSUNÇÃO, A.G.L.; SCHAT, H.; AARTS, M.G.M. *Thlaspi caerulescens*, an attractive model species to study heavy metal hyperaccumulation in plants. **New Phytologist**, London, v. 159, n. 2, p. 351-360, 2003.
- BAKER, A.J.M. Accumulators and excluders - strategies in the response of plants to heavy metals. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 3, p. 643-654, 1981.
- BENNETT, F.A.; TYLER, E.K.; BROOKS, R.R.; GREGG, P.E.H.; STEWART, R.B. Fertilisation of hyperaccumulators to enhance their potential for phytoremediation and phytomining. In: BROOKS, R.R. (Ed.). **Plants that hyperaccumulate heavy metals**. Wallingford: CAB International, 1998. p. 249-259.
- BREMNER, J.M. Total nitrogen. In: BLACK, C.A. (Ed.). **Methods of soils analysis**. Part 2. Chemical and microbiological properties. Madison: American Society of Agronomy, 1965. p. 1238-1255.
- CARRASCO-GIL, S.; ESTEBARANZ-YUBERO, M.; MEDEL-CUESTA, D.; MILLÁN, R.; HERNÁNDEZ, L.E. Influence of nitrate fertilization on Hg uptake and oxidative stress parameters in alfalfa plants cultivated in a Hg-polluted soil. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 75, p. 16-24, 2012.
- CATALDO, D.A.; GARLAND, T.R.; WILDUNG, R.E. Nickel in plants. I. Uptake kinetics using intact soybean seedlings. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 62, n. 4, p. 563-565, 1978.
- CHEN, C.; HUANG, D.; LIU, J. Functions and toxicity of nickel in plants: recent advances and future prospects. **Clean**, Brighton, v. 37, n. 4/5, p. 304-313, 2009.
- CHILIMBA, A.D.C.; YOUNG, S.D.; BLACK, C.R.; ROGERSON, K.B.; ANDER, E.L.; WATTS, M.J.; LAMMEL, J.; BROADLEY, M.R. Maize grain and soil surveys reveal suboptimal dietary selenium intake is widespread in Malawi. **Scientific Reports**, London, v. 1, n. 72, p. 1-9, 2011.
- CLEMENS, S. Evolution and function of phytochelatin synthases. **Journal of Plant Physiology**, Washington, v. 163, n. 3, p. 319-332, 2006.
- CLEMENS, S.; PALMGREN, M.G.; KRÄMER, U. A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 7, n. 7, p. 309-315, 2002.
- CORNU, J.Y.; DEINLEIN, U.; HÖRETH, S.; BRAUN, M.; SCHMIDT, H.; WEBER, M.; PERSSON, D.P.; HUSTED, S.; SCHJOERRING, J.K.; CLEMENS, S. Contrasting effects of nicotianamine synthase knockdown on zinc and nickel tolerance and accumulation in the zinc/cadmium hyperaccumulator *Arabidopsis halleri*. **New Phytologist**, Cambridge, v. 1, p. 1-13, dez. 2014.

CURIE, C.; CASSIN, G.; COUCH, D.; DIVOL, F.; HIGUCHI, K.; JEAN, M.; MISSON, J.; SCHIKORA, A.; CZERNIC, P.; MARI, S. Metal movement within the plant: contribution of nicotianamine and yellow stripe 1-like transporters. **Annals of Botany**, London, v. 103, n. 1, p. 1-11, 2009.

DE VOS, C.H.R.; SCHAT, H.; DE WAAL, M.A.M.; VOOIJS, R.; ERNST, W.H.O. Increased resistance to copper-induced damage of the root cell plasmalemma in copper tolerant *Silene cucubalus*. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 82, p. 523-528, 1991.

DOUCHKOV, D.; GRYCZKA, C.; STEPHAN, U.W.; HELL, R.; BAUMLEIN, H. Ectopic expression of nicotianamine synthase genes results in improved iron accumulation and increased nickel tolerance in transgenic tobacco. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 28, n. 3, p. 365-374, 2005.

ENGENHARIA DE BIODIVERSIDADE - LEB. **Série de Dados Climatológicos de Piracicaba, São Paulo**. Departamento de Engenharia de Biosistemas - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, 2010. Disponível em: <<http://www.leb.esalq.usp.br/posto>>. Acesso em: 14 jan. 2015.

FREEMAN, J.L.; PERSANS, M.W.; NIEMAN, K.; ALBRECHT, C.; PEER, W.; PICKERING, I.J.; SALT, D.E. Increased glutathione biosynthesis plays a role in nickel tolerance in *Thlaspi* nickel hyperaccumulators. **The Plant Cell**, Rockville, v. 16, n. 8, p. 2176-2191, 2004.

GAJEWSKA, E.; WIELANEK, M.; BERGIER, K.; SKŁODOWSKA, M. Nickel-induced depression of nitrogen assimilation in wheat roots. **Acta Physiologiae Plantarum**, Kraków, v. 31, p. 1291-1300, 2009.

HAMILTON, E.I. State of the art of trace element determinations in plant matrices: determination of the chemical elements in plant matrices, an overview. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 176, n. 1/3, p. 3-14, 1995.

HASSELGREN, K. Utilization of sewage sludge in short-rotation energy forestry: a pilot study. **Waste Management and Research**, London, v. 17, n. 4, p. 251-252, 1999.

HAYDON, M.J.; COBBETT, C.S. Transporters of ligands for essential metal ions in plants. **New Phytologist**, Cambridge, v. 174, n. 3, p. 499-506, 2007.

JACKSON, M.L. **Soil chemical analysis**. New Jersey: Prentice Hall, 1958. 498p.

JARRELL, W.M.; BEVERLY, R.B. The dilution effect in plant nutrition studies. **Advance Agronomy**, New York, v. 34, p. 197-224, 1981.

KABATA-PENDIAS, A. **Trace elements in soils and plants**. 4th ed. Boca Raton: CRC Press, 2010. 548p.

KHALID, B.Y.; TINSELY, J. Some effect of nickel toxicity on rye grasses. **Plant and Soil**, The Hague, v. 55, n. 1, p. 139-144, 1980.

KIM, S.; TAKAHASHI, M.; HIGUCHI, K.; TSUNODA, K.; NAKANISHI, H.; YOSHIMURA, E.; MORI, S.; NISHIZAWA, N.K. Increased nicotianamine biosynthesis confers enhanced tolerance of high levels of metals, in particular nickel, to plants. **Plant and Cell Physiology**, Kyoto, v. 46, n. 11, p. 1809-1818, 2005.

KRÄMER, U. Metal hyperaccumulation in plants. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v.61, p. 517-534, 2010.

KRÄMER, U.; COTTER-HOWELLS, J.D.; CHARNOCK, J.M.; BAKER, A.J.M.; SMITH, A.C. Free histidine as a metal chelator in plants that accumulate nickel. **Nature**, London, v. 379, p. 635-638, 1996.

KRÄMER, U.; TALKE, I.N.; HANIKENNE, M. Transition metal transport. **FEBS Letters**, Amsterdam, v. 581, n. 12, p. 2263-2272, 2007.

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

LASAT, M.M.; BAKER, A.J.M.; KOCHIAN, L.V. Altered Zn compartmentation in the root symplasm and stimulated Zn absorption into the leaf as mechanisms involved in Zn hyperaccumulation in *Thlaspi caerulescens*. **Plant Physiology**, Washington, v. 118, n. 3, p. 875–883, 1998.

LEPP, N.W.; EARDLEY, G.T. Growth and trace metal content of European sycamore seedlings grown in soil amended with sewage sludge. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 7, n. 3, p. 413-416, 1978.

MARI, S.; GENDRE, D.; PIANELLI, K.; OUERDANE, L.; LOBINSKI, R.; BRIAT, J.F.; LEBRUN, M.; CZERNIC, P. Root-to-shoot long-distance circulation of nicotianamine and nicotianamine-nickel chelates in the metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 57, n. 15, p. 4111-4122, 2006.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 3rd ed. New York: Academic Press, 2011. 672p.

McLAUGHLIN, M.J.; PARKER, D.R.; CLARKE, J.M. Metals and micronutrients: food safety issues. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 60, n. 1/2, p. 143-163, 1999.

METWALLY, A.I.; RABIE, M.H. Effect of nickel addition on plant growth and nutrient uptake in two soils. **Egyptian Soil Science Society**, Greater Cairo, v. 29, p. 261-274, 1989.

MOLAS, J. Changes of chloroplast ultrastructure and total chlorophyll concentration in cabbage leaves caused by excess of organic Ni (II) complexes. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 47, p. 115-126, 2002.

MORIN, M.D. Heavy metal concentrations in three-year old trees grown on sludge-amended surface mine spoil. In: SYMPOSIUM ON SURFACE MINING HYDROLOGY, SEDIMENTOLOGY AND RECLAMATION, 1981, Lexington. **Proceedings...** Lexington: University of Kentucky, 1981. p. 297–306.

NARWAL, R.P.; SINGH, M.; GUPTA, A.P.; KHUSAD, M.S. Nickel and Zn interaction in corn grown on sewer irrigated soil. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 7, p. 366-372, 1994.

NOCTOR, G.; MHAMDI, A.; CHAOUCH, S.; HAN, Y.; NEUKERMANS, J.; MARQUEZ-GARCIA, B.; QUEVAL, G.; FOYER, C.H. Glutathione in plants: an integrated overview. **Plant, Cell and Environment**, Malden, v. 35, n. 2, p. 454-484, 2012.

PALMER, C.M.; GUERINOT, M.L. Facing the challenges of Cu, Fe and Zn homeostasis in plants. **Nature Chemical Biology**, New York, v. 5, p. 333-340, 2009.

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.

PERSSON, D.P.; HANSEN, T.H.; HOLM, P.E.; SCHJOERRING, J.K.; HANSEN, H.C.B.; NIELSEN, J.; CAKMAK, I.; HUSTED, S. Multi-elemental speciation analysis of barley genotypes differing in tolerance to cadmium toxicity using SEC-ICP-MS and ESI-TOF-MS. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, London, v. 21, n. 10, p. 996-1005, 2006.

PIANELLI, K.; MARI, S.; MARQUES, L.; LEBRUN, M.; CZERNIC, P. Nicotianamine over-accumulation confers resistance to nickel in *Arabidopsis thaliana*. **Transgenic Research**, London, v. 14, n. 5, p. 739-748, 2005.

RAIJ, B van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2. ed. Campinas: IAC, 1997. 285p. (IAC. Boletim Técnico, 100).

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. 284p.

RAO, K.V.M.; SRESTY, T.V.S. Antioxidative parameters in the seedlings of pigeonpea (*Cajanus cajan* L. Millspauga) in response to Zn and Ni stress. **Plant Science**, Shannon, v. 157, p. 113-128, 2000.

RASCIO, N.; NAVARI-IZZO, F. Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting? **Plant Science**, Limerick, v. 180, n. 2, p. 169-181, 2011.

RAUSER, W.E. Structure and function of metal chelators produced by plants: the case for organic acids, amino acids, phytin, and metallothioneins. **Cell Biochemistry and Biophysics**, Totowa, v. 31, n. 1, p. 19-48, 1999.

RIBEIRO, A.C.; GUIMARÃES, P.T.G.; ALVAREZ V.; V.H. (Ed.). **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5a aproximação**. Viçosa: Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais, 1999. 359p.

SAGNER, S.; KNEER, R.; WANNER, G.; COSSON, J.P.; DEUS-NEUMANN, B.; ZENK, M.H. Hyperaccumulation, complexation and distribution of nickel in *Sebertia acuminata*. **Phytochemistry**, New York, v. 47, n. 3, p. 339-347, 1998.

SARRET, G.; SAUMITOU-LAPRADE, P.; BERT, V.; PROUX, O.; HAZEMANN, J.L.; TRAVERSE, A.S.; MARCUS, M.A.; MANCEAU, A. Forms of zinc accumulated in the hyperaccumulator *Arabidopsis halleri*. **Plant Physiology**, Washington, v. 130, n. 4, p. 1815-1826, 2002.

SHARMA, S.S.; DIETZ, K.J. The significance of amino acids and amino acid-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 57, n. 4, p. 711-726, 2006.

SPEIR, T.W.; KETTLES, H.A.; PERCIVAL, H.J., PARSHOTAM, A. Is soil acidification the cause of biochemical responses when soils are amended with heavy metal salts? **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 31, p. 1953-1961, 1999.

TENNSTEDT, P.; PEISKER, D.; BÖTTCHER, C.; TRAMPCZYNSKA, A.; CLEMENS, S. Phytochelatin synthesis is essential for the detoxification of excess zinc and contributes significantly to the accumulation of zinc. **Plant Physiology**, Washington, v. 149, n. 2, p. 938-948, 2009.

TEZOTTO, T.; FAVARIN, J.L.; AZEVEDO, R.A.; ALLEONI, L.R.F.; MAZZAFERA, P. Coffee is highly tolerant to cadmium, nickel and zinc: plant and soil nutritional status, metal distribution and bean yield. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 125, p. 25-34, 2012.

TURNER, A.P.; DICKINSON, N.M. Survival of *Acer pseudoplatanus* L. (sycamore) seedlings on metalliferous soils. **New Phytologist**, Cambridge, v. 123, n. 3, p. 509-521, 1993.

VACCHINA, V.; MARI, S.; CZERNIC, P.; MARQUES, L.; PIANELLI, K.; SCHAUMLOFFEL, D.; LEBRUN, M.; LOBINSKI, R. Speciation of nickel in a hyperaccumulating plant by high-performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry and electrospray MS/MS assisted by cloning using yeast complementation. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 75, n. 11, p. 2740-2745, 2003.

XYLÄNDER, M.; BRAUNE, W. Influence of nickel on the green alga *Haematococcus lacustris* Rostafinski in phases of its life cycle. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 144, n. 1, p. 86-93, 1994.

3 METABOLISMO DO NITROGÊNIO E SENESCÊNCIA EM CAFEIEIRO EXPOSTO À DOSES DE NIQUEL EM RAZÃO DO NÍVEL DE NITROGÊNIO

Resumo

O Ni, essencial às plantas, é requerido na ativação da enzima urease, a qual catalisa a hidrólise da ureia, derivada do catabolismo da arginina, ou ainda, da absorção direta do solo ou aplicação foliar via fertilizante nitrogenado. A presente pesquisa foi realizada com base na hipótese que a aplicação de Ni poderia aumentar a eficiência de uso do N, tanto pela maior degradação da ureia, via atividade da urease, quanto pelo aumento da redistribuição de reservas de nitrogênio, por meio do incremento do catabolismo da arginina; e ainda, que o fornecimento de Ni atrasaria a senescência foliar, pela diminuição da produção de etileno endógeno na planta, o que aumentaria a duração foliar. Plantas de *Coffea arabica* L. cv. IAC 62 foram cultivadas em vasos enriquecidos com seis doses de Ni (0, 15, 30, 45 e 90 mg dm⁻³ Ni). Após um ano, na pré-antese, as plantas foram submetidas a dois níveis de nitrogênio (suficiente e deficiente), em delineamento experimental fatorial e quatro repetições. As avaliações foram realizadas na pré-antese, fase chumbinho e na colheita, onde foram mensurados parâmetros do metabolismo do nitrogênio e do processo de senescência. Em resumo, a aplicação de Ni no solo até teores de 60 mg dm⁻³ não afeta o crescimento da planta de cafeeiro, mas aumenta a retenção foliar no nível deficiente de N. O Ni reduz a biossíntese de etileno na planta, apesar das concentrações de MDA e prolina aumentarem com o teor disponível de Ni no solo na pré-antese. Com relação ao N, há incremento na redistribuição de N dos órgãos de reserva (ramo) para atender a demanda de folha e fruto.

palavras-chave: Redistribuição de N; Etileno; Abscisão foliar ; Estresse oxidativo

Abstract

Ni, essential plant micronutrient is required in the activation of the enzyme urease, which catalyzes the hydrolysis of urea. Urea in turn, is derived from the catabolism of arginine, or by direct absorption from soil or foliar applications of urea. This research tested the hypothesis that the application of Ni could increase N use efficiency both by improved urease-catalyzed degradation of urea, and by increased distribution of nitrogen reserves, through the increase of catabolism of arginine. Further, the provision of Ni could delay leaf senescence by decreasing endogenous ethylene production, thereby increasing leaf duration and viability. *Coffea arabica* L. plants cv. "IAC 62" were grown in pots supplemented with Ni at six doses (0, 15, 30, 45 and 90 mg dm⁻³ Ni). After a year in pre-anthesis, the plants were subjected to two nitrogen managements (sufficient and insufficient), a factorial experimental design with four replications. The evaluations were performed in the pre-anthesis and pellet phases and at harvest, in which were measured parameters of nitrogen metabolism and senescence. In summary, increased soil Ni content, to 60 mg dm⁻³, does not affect the growth of the coffee plant, but increases retention of leaves under conditions of low-N management. Ni applications to the soil appeared to reduce plant ethylene biosynthesis, despite increased concentrations MDA and proline during pre-

anthesis. With respect to N, there was an increase in the redistribution of N of storage organs (branch) to meet the demand of leaf and fruit.

Keyword: Nitrogen redistribution; Ethylene; Leaf Abscission; Oxidative stress

3.1 Introdução

O Ni, essencial às plantas, é requerido na ativação da enzima urease, a qual catalisa a hidrólise da ureia para formar NH_3 e CO_2 (DIXON et al., 1975) e cuja função principal é permitir aos organismos o uso da ureia absorvida externa ou gerada internamente como fonte de nitrogênio (MOBLEY; HAUSINGER, 1989; MOBLEY, 1995; ANDREWS et al., 1984).

Além da urease, o Ni também é requerido na ativação da enzima glioxalase I, responsável pela desintoxicação do metabólito metilglioxal em D-lactato, o qual é produzido pelas plantas sob estresse (MUSTAFIZ et al., 2014).

A ureia em plantas é derivada do catabolismo da arginina, ou ainda, da absorção direta do solo ou aplicação foliar via fertilizante nitrogenado (POLACCO, 1993; ZONIA et al., 1995; WITTE, 2011). A redução da atividade da urease, seja por deficiência de Ni ou bloqueio genético leva a um acúmulo de ureia na folha, e conseqüentemente uma necrose foliar com prejuízo ao ciclo da ornitina na planta (KROGMEIER, 1989; POLACCO, 1993).

A deficiência de Ni afetou o metabolismo dos aminoácidos em feijão-caupi (WALKER et al., 1985), reduziu a atividade da urease, induziu deficiência no metabolismo do nitrogênio, afetou aminoácidos, amidas glicina e asparagina e os intermediários do ciclo da ornitina (arginina, ornitina e citrulina) em diversas espécies (GERENDAS; SATTELMACHER, 1997).

Assim, a urease e portanto o Ni, podem desempenhar um importante papel no uso eficiente do nitrogênio pela planta sob diferentes níveis de nitrogênio, em razão da reciclagem da ureia, a qual é gerada endogenamente pela ação exclusiva do catabolismo da arginina pela enzima arginase, e ainda conectar os diferentes compartimentos metabólicos em situações de estresse, principalmente de N (POLACCO et al., 2013). A arginina é um dos aminoácidos livres predominantes no caule de plantas perenes e é considerada o maior composto de armazenamento de nitrogênio (SUZUKI, 1984).

No cafeeiro, a remobilização de nitrogênio ocorre mesmo em condições de fornecimento adequado de nitrogênio via fertilização, para atender a vegetação a

produção de frutos e é intensificada quando há limitação de N para a planta (LIMA FILHO; MALAVOLTA, 2003). Portanto, o fornecimento de Ni poderia aumentar a assimilação da ureia proveniente do catabolismo da arginina, contribuindo para maior eficiência do uso de N pelo cafeeiro durante esse processo.

Porém, o processo de remobilização de N também pode ocorrer em situações de estresse, como por exemplo seca ou deficiência nutricional (GUO; GAN, 2005; WINGLER; ROITSCH, 2008; GREGERSEN et al., 2008; GUIBOILEAU et al., 2010), o qual pode acelerar o processo de senescência por meio da produção de etileno (LIM et al., 2007).

Conforme já observado em *Vigna radiata* e macieira (LAU; YANG, 1976), caqui (ITAMURA et al., 1997; ZHENG et al., 2005) e em frutos de cafeeiro (TEZOTTO et al., 2012), o Ni inibe a atividade da ACC oxidase pela substituição do Fe^{2+} , e formação de um complexo inativo de enzima-metal (McGARVEY; CHRISTOFFERSEN, 1992), reduzindo assim a biossíntese de etileno pela planta, e em consequência a maturação dos frutos.

Além de afetar a maturação de frutos, o atraso na senescência retarda a remobilização de carboidratos aos grãos, o que reduz a massa de grãos produzidos, com acúmulo de carboidrato não estrutural nas folhas e ramos (YANG et al., 1997; ZHU et al., 1997). Em cafeeiro, a redução na remobilização prejudicaria a qualidade do grão, uma vez que parte dos metabólitos responsáveis pela formação da qualidade da bebida do café, como a cafeína e açúcares, seriam reduzidas (SHIMIZU; MAZZAFERA, 2000a, b; MAZZAFERA, 1998; GEROMEL et al., 2006). Por sua vez, a maior duração das folhas poderia implicar em maior quantidade de frutos, e em maior produção (DaMATTA, 2004).

Pouco se sabe a respeito da nutrição com Ni no metabolismo do N e na senescência foliar. A presente pesquisa foi realizada com base na hipótese que a aplicação de Ni poderia aumentar a eficiência de uso do N, tanto pela maior degradação da ureia, via atividade da urease, quanto pelo aumento da redistribuição de reservas de nitrogênio, por meio do incremento do catabolismo da arginina; e ainda, que o fornecimento de Ni atrasaria a senescência foliar, pela diminuição da produção de etileno endógeno na planta, o que aumentaria a duração foliar.

3.2 Material e métodos

3.2.1 Instalação do experimento

O experimento foi conduzido de fevereiro de 2012 a março 2014 na área experimental do Departamento de Produção Vegetal da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo, Brasil. A área situa-se a 22°42'00” de latitude Sul e 47°38'00” de longitude Oeste e 580 metros de altitude. De acordo com a classificação de Köppen o clima regional é do tipo Cwa, tropical de altitude com inverno seco, temperatura média anual de 22 °C e precipitação média de 1280 mm anuais.

A temperatura média, máxima e mínima (°C) e a umidade relativa média (Figura 1) durante o período de condução do experimento foram obtidas por meio da série de dados climatológicos do Campus Luiz de Queiroz de Piracicaba.

O experimento foi instalado em vasos de 50 dm³ preenchidos com mistura de solo argiloso, areia grossa e substrato para formação de mudas, na proporção volumétrica de 1:1:1.

As mudas de cafeeiro (*Coffea arabica* L. cv. IAC 62) foram transplantadas em fevereiro/2012 no substrato, o qual foi corrigido quimicamente para os teores de N – 50, P – 60, K – 50, S – 50, B – 1, Co – 0,1, Cu – 1, Mn – 5, Mo – 0,15 e Zn – 5 (mg dm⁻³). Ainda, para o N e o K foram aplicados em cobertura a quantidade de N - 200, K – 100 e S – 25 (mg dm⁻³) parcelados em quatro aplicações.

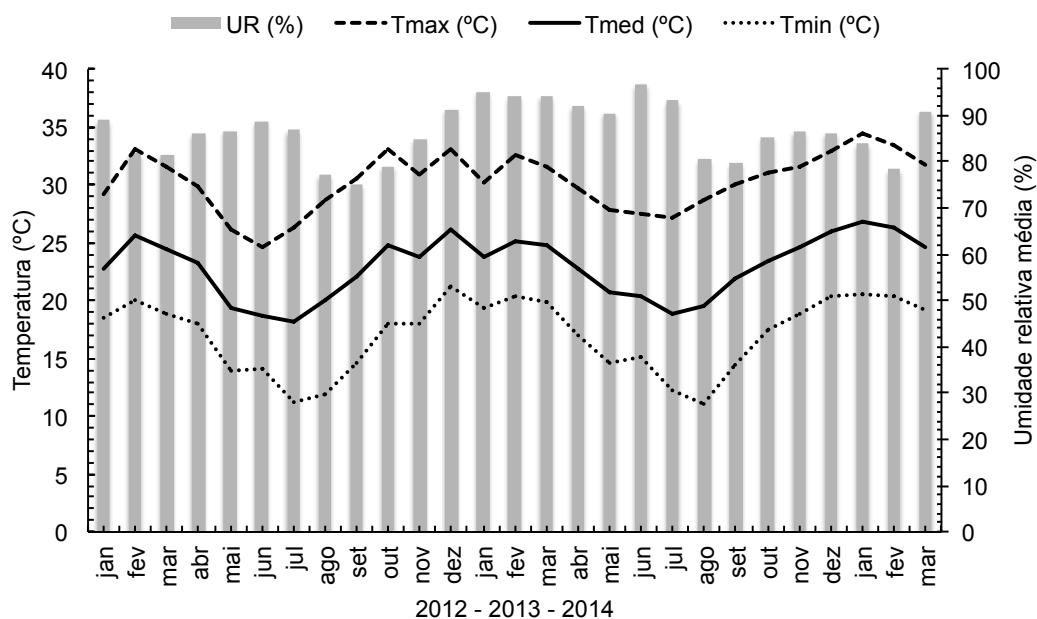


Figura 1 - Temperatura média, máxima, mínima (°C) e umidade relativa média (%) da área experimental da Esalq/Usq, em Piracicaba-SP, no período de janeiro/2012 à março/2014

Os tratamentos foram constituídos de cinco doses de Ni (0; 15; 30; 45 e 90 mg dm⁻³), aplicadas na forma de cloreto de níquel, 4 repetições em delineamento inteiramente casualizado, e cada parcela experimental foi constituída de dois vasos de cafeeiro. No primeiro ano do experimento, do plantio (fevereiro/2012) até a antese (agosto/2013), todas as plantas de cafeeiro receberam a mesma fertilização nitrogenada, equivalente à 250 mg dm⁻³ N, via ureia.

A indução da deficiência de N no experimento iniciou-se na antese (agosto/2013), em que metade do experimento recebeu 20% da dose de nitrogênio (deficiente) em relação ao cafeeiro suficiente em nitrogênio, o qual recebeu 250 mg dm⁻³, via ureia, totalizando 500 mg dm⁻³ N, no suficiente e 300 mg dm⁻³ no deficiente. Ressalta-se que todas as adubações nitrogenadas realizadas foram feita com ureia e o controle de pragas e doenças realizado de acordo com a recomendação fitotécnica para a cultura do cafeeiro e a irrigação foi realizada por sistema de irrigação via gotejo.

3.2.2 Análise de solo

A fertilidade química do solo foi avaliada em amostras coletadas com auxílio de trado tipo sonda de 40 cm de profundidade antes da indução da deficiência de nitrogênio (agosto/2013). Em cada vaso da parcela experimental coletou-se uma amostra, e depois foram combinadas e o solo seco em estufa a 35 °C, passadas em peneira com abertura de malhas de 2 mm e posterior enviadas para análise química no Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Solos e Recursos Ambientas do Instituto Agronômico de Campinas – IAC para a determinação do pH; matéria orgânica (g dm^{-3}); P (mg dm^{-3}); K, Ca, Mg, H+Al, CTC ($\text{mmol}_c \text{dm}^{-3}$); B, Cu, Fe, Mn, Ni e Zn (mg dm^{-3}) (Raij et al., 2001).

3.2.3 Amostragem das plantas

No início da restrição do fertilizante nitrogenado, fase da pré-antese (agosto/2013) e na fase de chumbinho (dezembro/2013) foi coletado o terceiro par de folhas a partir do ápice do ramo plagiotrópico após a leitura com SPAD-502. Uma parte das folhas foram armazenadas em - 80 °C para análise de MDA e H_2O_2 , enquanto que a outra parte foram liofilizadas e utilizadas para a determinação de Ni, aminoácidos solúveis, aminoácidos qualitativo (glutamina, glutamato, arginina e prolina), N-total, clorofilas e carotenóides.

Ao final do experimento, na colheita dos frutos, foram obtidas a massa de matéria seca das raízes, do caule, dos ramos plagiotrópicos, das folhas, dos frutos e total (somatório das partes), após secagem em estufa com circulação forçada à 65 °C. O material foi moído e utilizado para determinação de Ni, N-total, amônio, aminoácidos solúveis, aminoácidos qualitativos (glutamina, glutamato, arginina e prolina) e proteína total.

Para isolar o efeito tóxico no Ni na amostragem, e conseqüentemente, alteração dos parâmetros bioquímicos e fisiológicos avaliados, as amostragem foram realizadas nos vasos que receberam 0; 15; 30; 45 e 90 mg dm^{-3} , em razão da redução da massa seca do cafeeiro na exposição ao maior teor disponível no solo (180 mg dm^{-3}), conforme discutido no capítulo 2.

3.2.4 Análise de Ni e N-total

Para a determinação da concentração do nitrogênio total, o material vegetal foi submetido à digestão sulfúrica (JACKSON, 1958) e o nitrogênio quantificado de acordo com o método analítico semi-micro Kjeldahl (BREMNER, 1965).

A concentrações de Ni foi determinada de acordo com metodologia modificada de Chilimba et al. (2011). Aproximadamente 100 mg do material vegetal moído foi digerido sob aquecimento por micro ondas por 1 h em condição controlada de 20 bar de pressão em 2 mL de HNO₃ (70%), 2 mL H₂O milli-Q e 2 mL H₂O₂ (60%). Após a digestão, as amostras foram diluídas para 10 mL com água milli-Q e armazenadas em temperatura ambiente para análise em ICP-OES.

3.2.5 Trocas gasosas

A concentração interna de CO₂ (Ci - $\mu\text{mol mol}^{-1}$), transpiração (E - $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e a taxa de assimilação de CO₂ (A - $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$) foram avaliadas em pré-antese e na fase chumbinho, no terceiro par de folhas do ramo plagiotrópico do terço médio da planta por meio de um medidor portátil de fotossíntese (LC pro+, ADC bioscientific Ltda).

3.2.6 Extração para determinação de amônio e aminoácidos

Aproximadamente um grama de material seco (raiz, caule, ramo, folha, casca e grãos) foram extraídos em 10 mL de metanol:clorofórmio:água (MCW) (12:5:3) sob agitação durante 3 h. Após esse período, os tubos foram centrifugados a 3.000 x g por 15 minutos e a cada 4 mL do sobrenadante foram acrescentado 1 mL de clorofórmio e 1,5 mL de água Milli-Q. Após agitação, os tubos foram centrifugados a 3.000 x g por 15 minutos e a fase aquosa retirada e levada para banho-maria a 40 °C por 18 h. Após esse período, uma alíquota foi utilizada para análise de amônio e aminoácidos solúveis e o restante liofilizado para análise de aminoácidos qualitativo em HPLC.

3.2.7 Determinação das concentrações amônio e aminoácidos solúveis

O NH₄⁺ foi determinado a partir da extração MCW e foi quantificado pelo método colorimétrico descrito por Krom (1980). Já a concentração de aminoácidos solúveis foi determinada pelo método descrito por Cocking e Yemm (1954) utilizando leucina como padrão.

3.2.8 Extração e determinação da concentração de proteína

Aproximadamente 0,1 grama de material vegetal seco foi extraído em solução 0,1 M NaOH em agitação constante por 24 h. Após esse período, o material foi centrifugado a 3.000 x g por 15 minutos e o sobrenadante utilizado para quantificação de proteínas de acordo com metodologia proposta por Bradford (1976), utilizando BSA como padrão.

3.2.9 Quantificação dos aminoácidos em HPLC

Os extratos liofilizados foram solubilizados em 500uL de metanol 80% em água e uma alíquota de 7 µL foi injetada em um espectrômetro de massas Acquity UPLC-MS (Micromass-Waters, Manchester, Inglaterra) acoplado a um TDQ triplo-quadrupolo. A separação cromatográfica foi realizada utilizando uma coluna Acquity UPLC C18BEH (2,1 x 150 mm, 1.7 µm) e a eluição foi feita com um gradiente estendendo-se de 0 a 5% em 3,5 min seguido de 5 a 100% de solvente B (metanol) em 5,5 min, usando água contendo 0,1% ácido fórmico como solvente A. Foi utilizado um fluxo de 0,200 µL min⁻¹ e temperatura da coluna de 30 °C. As análises foram realizadas no modo MRM (Multiple reaction monitoring), acompanhando as transições para glutamina (147>84; 147>56; 147>51), ácido glutâmico (148>102; 148>84; 148>41), prolina (116>70) e arginina (175>116; 175>70; 175>60). Utilizou-se ionização por electrospray em modo positivo sob as seguintes condições: capilar 3,0 kV e cone 30 V, temperatura na fonte de ionização de 150 °C e temperatura de dessolvatação de 350 °C. Para calcular o conteúdo dos analitos nas amostras comparou-se as áreas dos picos cromatográficos, referentes a cada aminoácido, com picos obtidos a partir de padrões comerciais.

3.2.10 Determinação de clorofila a, clorofila b, clorofila total

A determinação da quantidade de clorofila foi baseada na metodologia modificada de Lee, Brammeier e Smith (1987) e Moran (1982). Para tanto, foram usados 10 discos foliares, os quais totalizaram aproximadamente 0,1 g de material vegetal fresco de cada amostra. Os discos foram incubados no escuro a temperatura ambiente em eppendorf com 1,0 mL de N,N-Dimetilformamida, durante 72 h. Após este período os pigmentos diluídos na solução foram obtidos em espectrofotômetro a 646,8 e 663,8 nm. Os valores de absorbância foram aplicados

nas eqs. (1) e (2) para determinação da quantidade de clorofila *a*, clorofila *b* e clorofila total de cada amostra. A quantidade de pigmento foi expressa em mg g⁻¹ MS.

$$\text{Clorofila } a = 12 \times \text{ABS } 663,8 - 3,11 \times \text{ABS } 646,8$$

(1)

$$\text{Clorofila } b = 20,78 \times \text{ABS } 646,8 - 4,88 \times \text{ABS } 663,8$$

(2)

$$\text{Clorofila Total} = \text{Clorofila } a + b$$

3.2.11 Determinação da quantidade de carotenóides

Para determinação da quantidade de carotenóides foram realizados os mesmos procedimentos adotados na determinação da clorofila com exceção do comprimento de onda para leitura no espectrofotômetro, que neste caso foi 480 nm. Para determinar a quantidade de carotenóides foi utilizada a eq. (3) e o resultado obtido, foi expresso em mg g⁻¹ MS.

$$\text{Carotenóides} = 1.000 \times \text{ABS } 480 - 1,12 \times \text{Chlor } a - 34,07 \times \text{Chlor } b/245 \quad (3)$$

3.2.12 Quantificação etileno foliar

As amostras de folhas foram armazenadas em frascos de vidro de 300 mL e armazenadas em câmara a 35° C por 40 minutos para aumentar a produção de etileno. Após esse período foi retirada uma amostra de 0,5 mL de ar e injetado em cromatógrafo a gás para quantificação do etileno produzido (Sestari, 2010). A quantidade de etileno foi expressa em nL g⁻¹ massa fresca (MF) h⁻¹.

3.2.13 Determinação da peroxidação de lipídeos

A peroxidação de lipídeos foi determinada por meio da produção de metabólitos reativos a ácido 2-tiobarbitúrico (TBA), principalmente o malondialdeído (MDA), segundo Health e Packer (1968). As amostras armazenadas em freezer -80 °C foram maceradas com 1 mL de TCA 0,1% (ácido tricloroacético) juntamente com 20% de PVPP. Após homogeneização foi transferida para tubos e centrifugada a 10,000 x g por cinco minutos. Do sobrenadante foi retirado 250 µL ao qual foi adicionado 1 mL de TCA 20% e TBA 0,5%. A mistura foi colocada em banho seco a 95° C por 30 minutos e resfriada em gelo em sequência. As amostras foram centrifugadas por 10 minutos a 10,000 x g. A leitura foi realizada em

espectrofotômetro a 535 e 600 nm. A quantidade de MDA foi expressa em mmol g^{-1} de matéria fresca.

3.2.14 Determinação do conteúdo de peróxido de hidrogênio

O conteúdo de peróxido de hidrogênio foi determinado por meio da reação com iodeto de potássio (KI), segundo Alexieva et al. (2001). As amostras armazenadas em freezer $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ foram maceradas com 1 mL de TCA 0,1%. Após homogeneização foi transferida para tubos e centrifugada a $10,000 \times g$ por 15 minutos a 4°C . Do sobrenadante foi retirado 200 μL ao qual foi adicionado 200 μL de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,5) e 800 μL de solução 1 M de KI. O branco consiste na mesma mistura descrita acima, porém, ao invés do sobrenadante da amostra, colocou-se 200 μL de TCA 0,1%. Os tubos com a reação foram colocados em gelo e permaneceram no escuro durante uma h. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 390 nm. A quantidade de H_2O_2 foi expressa em $\mu\text{mol g}^{-1}$ de matéria fresca.

3.2.15 Análise estatística

Os parâmetros avaliados foram submetidos à análise de variância considerando os dois fatores do experimento (nível de N x Dose de Ni). De acordo com o nível de significância no teste F, o nível de N foi submetido ao teste de Tukey, enquanto as doses de Ni foram submetidas a análise de regressão. Quando houve interação dos fatores, os dados foram desdobrados e procedeu-se a análise de regressão dos dois níveis de N em relação à dose de Ni. Para todas as análises estatísticas foi considerado o nível de significância de 5%.

3.3 Resultados

O índice SPAD, concentração de clorofila *a*, clorofila *b*, carotenóides e clorofila total da amostragem em pré-antese estão apresentados na Tabela 1. Esses parâmetros não apresentaram alteração em razão do nível suficiente e deficiente em nitrogênio.

Tabela 1 - Índice SPAD, concentração de clorofila *a*, clorofila *b*, carotenóides e clorofila total (mg g^{-1} MS) na pré-antese em cafeeiro em razão do teor disponível de Ni (mg dm^{-3} – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) ($n=4$)

	Ni disponível	SPAD	Clorofila <i>a</i>	Clorofila <i>b</i>	Carotenóide	Clorofila Total
	mg dm^{-3}		----- mg g^{-1} MS -----			
Suficiente	0,3	42	1,6	0,5	0,5	2,1
	14	42	1,7	0,5	0,5	2,2
	30	40	2,1	0,6	0,6	2,7
	45	43	1,9	0,7	0,5	2,6
	60	38	2,2	0,6	0,6	2,9
	Média		41	1,9	0,6	0,5
Deficiente	0,3	42	1,8	0,5	0,5	2,4
	14	40	1,9	0,6	0,5	2,5
	30	40	2,0	0,6	0,5	2,6
	45	44	2,2	0,7	0,6	2,9
	60	42	2,0	0,6	0,6	2,6
	Média		41	2,0	0,6	0,5
Pr F	N	0,8184 ^{ns}	0,3684 ^{ns}	0,2667 ^{ns}	0,1434 ^{ns}	0,4096 ^{ns}
	Ni	0,7438 ^{ns}	0,0039 ^{**}	0,0008 ^{**}	0,0005 ^{**}	0,0031 ^{**}
	N x Ni	0,8759 ^{ns}	0,1072 ^{ns}	0,1455 ^{ns}	0,0792 ^{ns}	0,1646 ^{ns}
	CV%	14,2	11,2	10,9	8,24	11,2

^{ns}, *, ** = Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente

Com relação ao incremento no teor de Ni disponível no solo, a concentração de clorofila *a*, carotenóides e clorofila total apresentam aumento de 23,5%, 20% e 22,2%, respectivamente, no maior teor de Ni disponível no solo (60 mg dm^{-3}),

quando comparado com o teor disponível de Ni natural do solo ($0,3 \text{ mg dm}^{-3}$). Para a concentração de clorofila b, um incremento de 40% foi observado quando as plantas de cafeeiro foram expostas ao teor de 45 mg dm^{-3} de Ni disponível no solo (Figura 1).

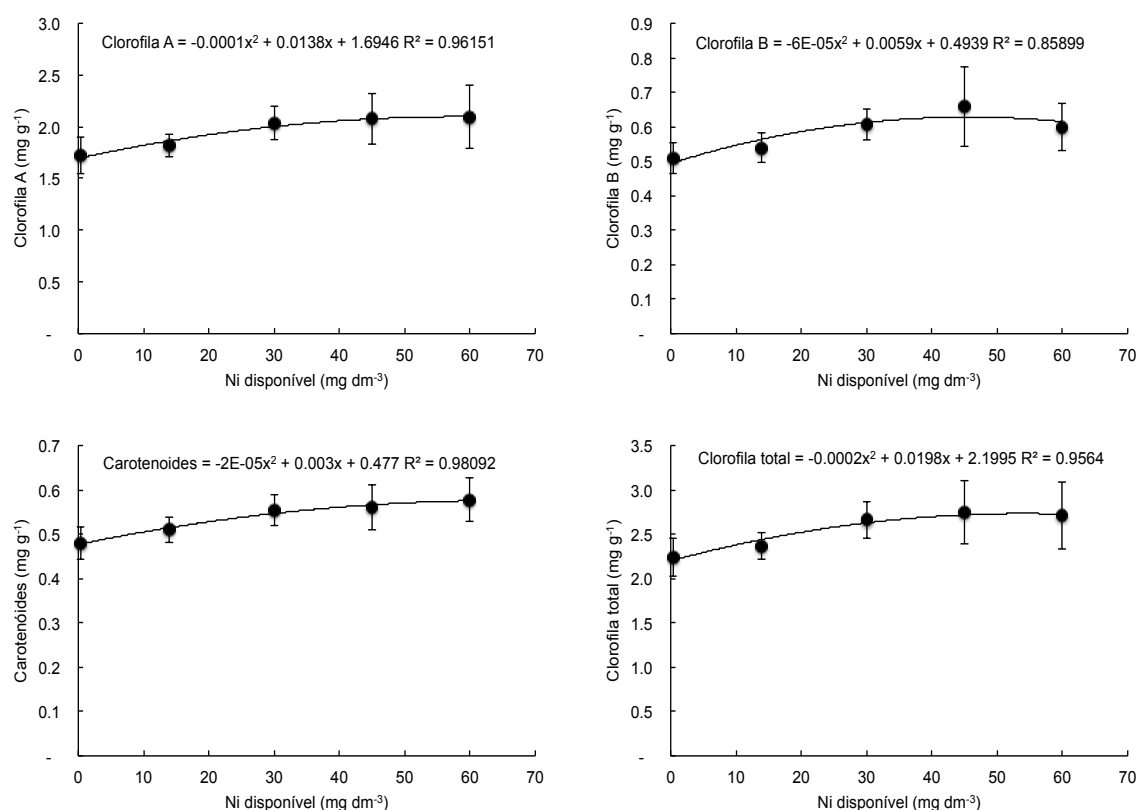


Figura 1 - Concentração de clorofila a, clorofila b, carotenóides e clorofila total (mg g^{-1} MS) em folha de cafeeiro na pré-antese em função da disponibilidade de Ni

A exposição às doses crescente de Ni no solo elevou a concentração foliar deste micronutriente em 2,6 vezes (6 mg kg^{-1}), 4,1 vezes ($9,4 \text{ mg kg}^{-1}$), 5,1 vezes ($11,7 \text{ mg kg}^{-1}$) e 26,7 vezes ($61,4 \text{ mg kg}^{-1}$) em relação à concentração foliar de Ni observado no controle ($2,3 \text{ mg dm}^{-3}$) (Tabela 2, Figura 2). Ainda, as concentrações de Ni foliares observadas não alteraram em razão do nível de N.

A concentração de N foliar na pré-antese não diferiu em relação ao nível de N e às doses de Ni aplicada (Tabela 2). No entanto, a concentração de aminoácidos solúveis apresentou um incremento de 35% no maior teor de Ni disponível no solo quando comparado com a concentração de aminoácidos solúveis das folhas do tratamento controle (Figura 2).

Tabela 2 - Concentração de Ni (mg g^{-1} MS), N (g kg^{-1} MS) e aminoácidos solúveis ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MS) em folha de cafeeiro na pré-antese em razão do teor disponível de Ni (mg dm^{-3} – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) ($n=4$)

N	Ni disponível mg dm^{-3}	Ni foliar mg kg^{-1}	N total g kg^{-1}	Aminoácidos solúveis $\mu\text{mol g}^{-1}$
Suficiente	0,3	2,4	18,1	13,3
	14	5,0	17,8	11,9
	30	9,6	15,9	14,5
	45	11,4	15,3	12,1
	60	58,0	19,2	16,6
	Média		17,3	17,3
Deficiente	0,3	2,2	15,9	11,3
	14	7,0	18,0	12,2
	30	9,2	15,8	11,5
	45	12,0	16,3	13,5
	60	64,7	15,4	16,5
	Média		19,0	16,3
Pr F	N	0,2073 ^{ns}	0,0714 ^{ns}	0,3564 ^{ns}
	Ni	<0,0001 ^{**}	0,0669 ^{ns}	0,0020 ^{**}
	N x Ni	0,2180 ^{ns}	0,0590 ^{ns}	0,2768 ^{ns}
	CV%	9,11	9,83	8,78

^{ns}, ^{*}, ^{**} = Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente

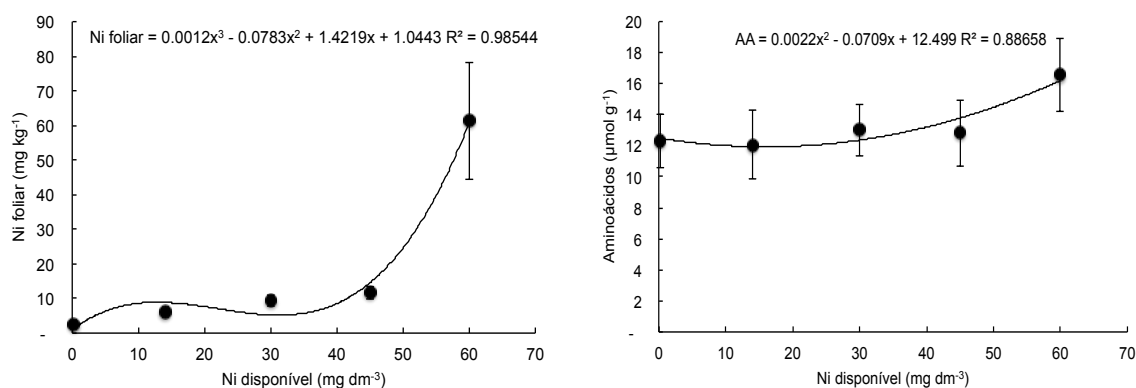


Figura 2 - Concentração de Ni (mg kg^{-1} MS) e aminoácidos solúveis ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MS) em folha de cafeeiro na pré-antese em função da disponibilidade de Ni e nível de nitrogênio

Na fase de pré-antese, os aminoácidos glutamina e arginina não foram detectados na amostragem das folhas. Já para o glutamato, tanto o nível de N quanto as doses de Ni no solo não alteraram os valores observados nas folhas (Tabela 3).

A concentração de prolina na folha coleta na fase de pré-antese não diferiu em razão do nível de N. No entanto, o incremento do teor disponível de Ni no solo elevou em 84,4% a concentração de prolina no maior teor de Ni disponível (60 mg dm^{-3}), em relação ao controle, cujo teor de Ni disponível no solo foi de $0,3 \text{ mg dm}^{-3}$ (Figura 3).

Tabela 3 - Concentração de glutamina, glutamato, arginina e prolina ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS) em folhas de cafeeiro na pré-antese em razão do teor disponível de Ni (mg dm^{-3} – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) ($n=4$)

N	Ni disponível	Glutamina	Glutamato	Arginina	Prolina
	mg dm^{-3}	$\mu\text{g g}^{-1}$ MS			
Suficiente	0,3	-	18,6	-	42,5
	14	-	21,8	-	50,6
	30	-	24,5	-	56,4
	45	-	24,6	-	50,0
	60	-	20,8	-	70,8
	Média	-	22,1	-	54,1
Deficiente	0,3	-	18,7	-	35,9
	14	-	20,0	-	35,7
	30	-	27,6	-	53,5
	45	-	21,0	-	49,9
	60	-	20,9	-	73,8
	Média	-	21,6	-	49,7
Pr F	N	-	0,8048 ^{ns}	-	0,3287 ^{ns}
	Ni	-	0,1048 ^{ns}	-	0,0004 ^{**}
	N x Ni	-	0,7780 ^{ns}	-	0,7274 ^{ns}
	CV%	-	24,7	-	26,4

- , ^{ns} , * , ** = Não detectado; Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F

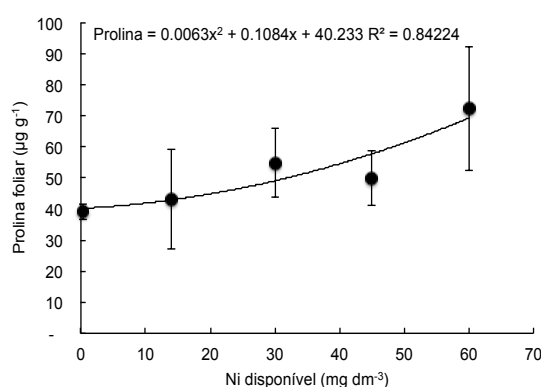


Figura 3 - Concentração de prolina ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS) em folha de cafeeiro na pré-antese em função da disponibilidade de Ni

Em pré-antese, a concentração interna de CO₂, transpiração, condutância estomática e a taxa de assimilação de CO₂ não alteraram para o nível de N e para as doses de Ni aplicado (Tabela 4).

Na tabela 5 estão apresentados as concentrações de MDA, H₂O₂ e etileno, referente a coleta de folhas na fase de pré-antese do cafeeiro exposto a doses crescente de Ni no solo. A concentração de H₂O₂ não diferiu em razão do nível de N e aos teores crescentes de Ni no solo. Já a concentração de MDA apresentou um aumento de 39,5% em relação ao controle, quando o cafeeiro foi exposto ao teor de 45 mg dm⁻³ de Ni disponível no solo (Figura 4).

Para a concentração de etileno foliar observou redução significativa em razão da exposição do cafeeiro ao Ni, em que a concentração de etileno no maior teor de Ni disponível no solo (60 mg dm⁻³) foi 75% menor com relação ao controle, cujo teor de Ni disponível foi de 0,3 mg dm⁻³ (Figura 4).

Tabela 4 - Concentração interna de CO₂ (Ci - μmol mol⁻¹), transpiração (E - mmol H₂O m⁻² s⁻¹), condutância estomática (gs – mmol m⁻² s⁻¹) e taxa de assimilação de CO₂ (A - μmol CO₂ m⁻² s⁻¹) em folhas de cafeeiro na pré-antese em razão do teor disponível de Ni (mg dm⁻³ – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) (n=4)

	Ni disponível	Ci	E	gs	A
N	mg dm ⁻³	μmol mol ⁻¹	mmol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹	mmol m ⁻² s ⁻¹	μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹
Suficiente	0,3	305	1,2	0,09	4,3
	14	296	1,5	0,09	4,6
	30	285	1,4	0,09	5,3
	45	303	1,2	0,08	4,5
	60	282	1,6	0,09	5,4
	Média	294	1,4	0,09	4,8
Deficiente	0,3	306	1,3	0,08	4,3
	14	289	1,4	0,09	4,5
	30	294	1,2	0,08	4,6
	45	291	1,3	0,08	4,6
	60	301	1,4	0,08	4,3
	Média	296	1,3	0,08	4,5
Pr F	N	0,7169 ^{ns}	0,6133 ^{ns}	0,3432 ^{ns}	0,3314 ^{ns}
	Ni	0,7610 ^{ns}	0,5709 ^{ns}	0,9834 ^{ns}	0,7486 ^{ns}
	N x Ni	0,7355 ^{ns}	0,8869 ^{ns}	0,9984 ^{ns}	0,7759 ^{ns}
	CV%	7,70	28,1	27,0	23,1

^{ns}, *, ** = Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente

Tabela 5 - Concentração de MDA (mmol g^{-1} MF), H_2O_2 ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) e etileno (nL g^{-1} MF h^{-1}) em folhas de cafeeiro na pré-antese em razão do teor disponível de Ni (mg dm^{-3} – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) ($n=4$)

N	Ni disponível mg dm^{-3}	MDA mmol g^{-1} MF	H_2O_2 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF	Etileno nL g^{-1} MF h^{-1}
Suficiente	0,3	444	2.282	0,12
	14	407	2.109	0,05
	30	516	2.058	0,05
	45	582	2.438	0,04
	60	443	2.433	0,03
	Média		478	2.264
Deficiente	0,3	429	2.095	0,16
	14	408	1.939	0,06
	30	639	2.654	0,05
	45	636	2.524	0,04
	60	451	1.941	0,04
	Média		512	2.231
Pr F	N	0,4308 ^{ns}	0,8189 ^{ns}	0,3972 ^{ns}
	Ni	0,0158*	0,3385 ^{ns}	<0,0001**
	N x Ni	0,8488 ^{ns}	0,2032 ^{ns}	0,5789 ^{ns}
	CV%	27,3	20,3	19,6

^{ns}, *, ** = Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente

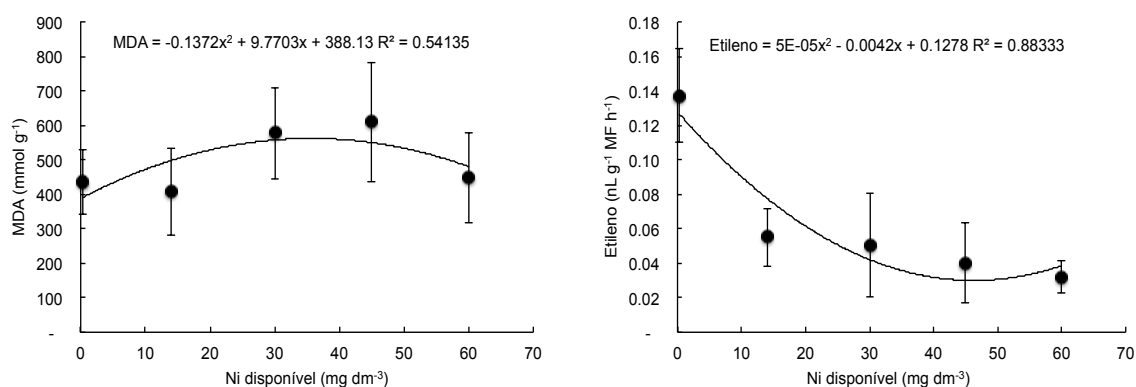


Figura 4 - Concentração de MDA (mmol g^{-1} MF) e etileno (nL g^{-1} MF h^{-1}) em folhas de cafeeiro na pré-antese em função da disponibilidade de Ni

Na tabela 6, estão apresentados a concentração de clorofila a, clorofila b, carotenoides e clorofila total de folhas de cafeeiro amostradas na fase chumbinho, os quais não alteraram em razão da aplicação de Ni no solo e do nível de N (Tabela 6). Para o índice SPAD observou um incremento em 11% em razão do nível suficiente de N comparado com o manjão deficiente (Tabela 6).

Tabela 6 - Índice SPAD, concentração de clorofila a, clorofila b, carotenóides e clorofila total (mg g^{-1} MS) na fase de chumbinho em cafeeiro em razão do teor disponível de Ni (mg dm^{-3} – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) ($n=4$)

N	Ni disponível	SPAD	Clorofila a	Clorofila b	Carotenóides	Clorofila Total
	mg dm^{-3}		----- mg g^{-1} MS -----			
Suficiente	0,3	60	2,3	0,7	0,6	3,0
	14	63	2,2	0,6	0,6	2,9
	30	60	2,4	0,7	0,6	3,1
	45	63	2,8	1,0	0,8	3,8
	60	59	2,9	0,8	0,8	3,7
	Média	61	2,5	0,8	0,7	3,3
Deficiente	0,3	55	2,6	0,8	0,7	3,4
	14	52	2,6	0,8	0,7	3,4
	30	56	2,6	0,8	0,7	3,3
	45	56	2,6	0,8	0,7	3,4
	60	58	2,8	0,8	0,8	3,6
	Média	55	2,6	0,8	0,7	3,4
Pr F	N	0,0031**	0,5030 ^{ns}	0,4812 ^{ns}	0,4139 ^{ns}	0,4963 ^{ns}
	Ni	0,9289 ^{ns}	0,45521 ^{ns}	0,2707 ^{ns}	0,4639 ^{ns}	0,4121 ^{ns}
	N x Ni	0,4019 ^{ns}	0,5228 ^{ns}	0,1841 ^{ns}	0,6681 ^{ns}	0,4220 ^{ns}
	CV%	9,50	17,9	16,8	16,1	17,6

^{ns}, *, ** = Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente.

A concentração de Ni foliar aumentou 2,7; 4,3; 6,4; e 26 vezes em folhas de cafeeiro coletado na fase chumbinho em razão do teor disponível de 14; 30; 45; e 60 mg dm^{-3} de Ni, nesta ordem. Na fase chumbinho, para o teor disponível de 0,3 mg dm^{-3} de Ni solo foi observado uma concentração foliar de 4 mg kg^{-1} de Ni (Tabela 7, Figura 5).

A concentração de nitrogênio foliar na fase de chumbinho foi 13% superior no nível suficiente quando comparado com o nível deficiente de N (Tabela 7). Com relação à aplicação Ni no solo, a concentração de N foliar foi 10,8% superior no maior teor de Ni disponível (60 mg dm^{-3}) em relação ao controle ($0,3 \text{ mg dm}^{-3}$) (Tabela 7, Figura 5).

Para aminoácidos solúveis avaliado na folha do cafeeiro na fase de chumbinho, o nível suficiente de N elevou em 35% a concentração quando comparado com o nível deficiente de N (Tabela 7). No entanto, houve interação da concentração de aminoácidos em relação ao nível de N e os teores de Ni disponível no solo (Tabela 7). No nível suficiente observou uma redução de 51% na concentração de aminoácidos solúveis no maior teor de Ni no solo, enquanto que no nível deficiente houve um aumento de 15,7% (Figura 5).

Tabela 7 - Concentração de Ni (mg g^{-1} MS), N (g kg^{-1} MS) e aminoácidos solúveis ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MS) em folha de cafeeiro na fase de chumbinho em razão do teor disponível de Ni (mg dm^{-3} – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) ($n=4$)

N	Ni disponível mg dm^{-3}	Ni foliar mg g^{-1}	N total g kg^{-1}	Aminoácidos solúveis $\mu\text{mol g}^{-1}$
Suficiente	0,3	3,9	18,2	24,3
	14	10,3	17,9	23,2
	30	18,3	19,7	19,4
	45	21,0	23,6	15,1
	60	53,4	20,5	12,4
	Média	21,4	20,0	18,9
Deficiente	0,3	4,0	17,1	12,1
	14	11,5	17,5	14,0
	30	15,7	15,8	13,2
	45	30,2	19,3	16,7
	60	50,7	18,5	14,0
	Média	22,4	17,7	14,0
Pr F	N	0,1867 ^{ns}	0,0023 ^{**}	0,0004 ^{**}
	Ni	<0,0001 ^{**}	0,0048 ^{**}	0,0543 ^{ns}
	N x Ni	0,0215 [*]	0,3244 ^{ns}	0,0016 ^{**}
	CV%	5,43	11,6	16,0

^{ns}, ^{*}, ^{**} = Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente.

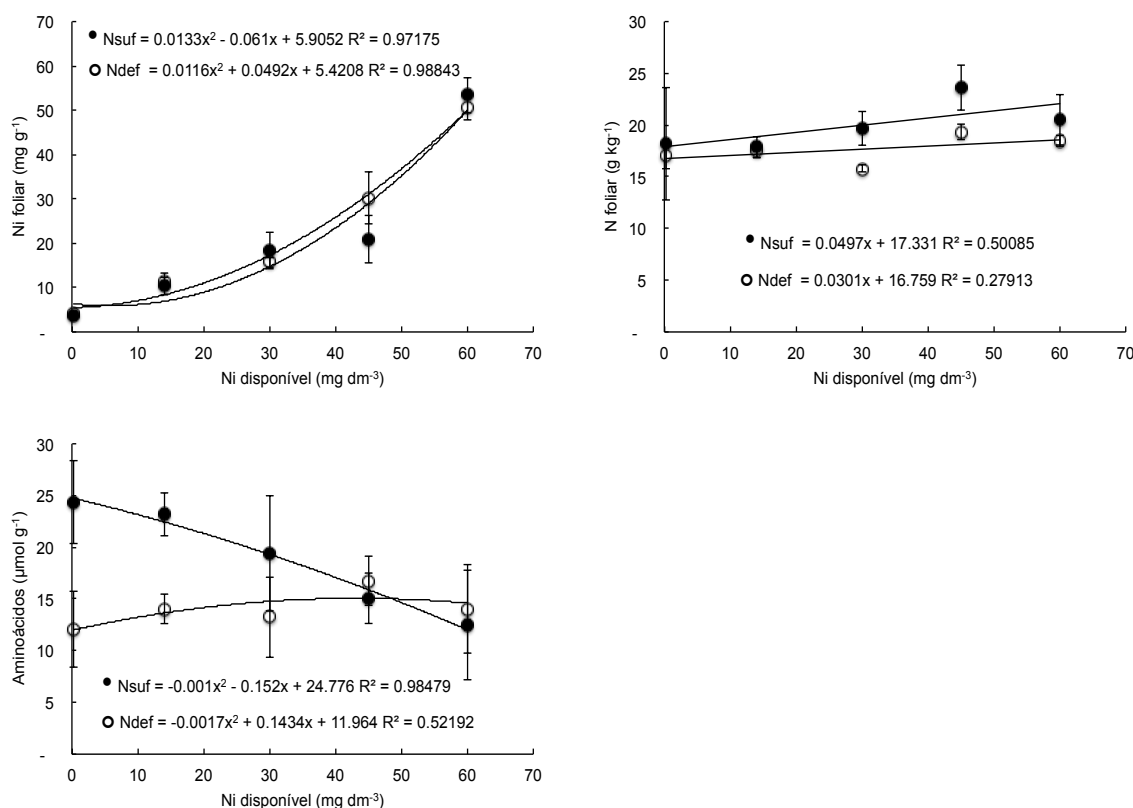


Figura 5 - Concentração de Ni (mg kg^{-1} MS), N (g kg^{-1} MS) e aminoácidos solúveis ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MS) em folha de cafeeiro na fase chumbinho em função da disponibilidade de Ni e nível de nitrogênio

Na tabela 8 estão apresentados as concentrações de aminoácidos em folhas de cafeeiro na fase chumbinho. O nível suficiente de N alterou as concentrações de glutamato e prolina, onde observou uma redução de 31,1% e 51,1%, respectivamente, comparado com o nível deficiente (Tabela 8). Com relação ao teor de Ni disponível no solo, as concentrações de glutamato não foram alteradas.

Para a prolina, o incremento do teor disponível de Ni para 60 mg dm^{-3} no solo reduziu a concentração de prolina foliar em 21,5%, quando comparado com o teor disponível de $0,3 \text{ mg dm}^{-3}$ no nível suficiente. No entanto, a concentração de prolina não alterou em função da disponibilidade de Ni no nível deficiente em N (Figura 6).

Como observado na coleta de folhas em pré-antese, os parâmetros de concentração foliar de CO_2 , transpiração, condutância estomática e taxa de assimilação de CO_2 não alteraram em razão do nível de N e incremento do teor de Ni disponível no solo na fase de chumbinho (Tabela 9).

Tabela 8 - Concentração de glutamina, glutamato, arginina e prolina ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS) em

folhas de cafeeiro na fase chumbinho em razão do teor disponível de Ni (mg dm^{-3} – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) ($n=4$)

N	Ni disponível	Glutamina	Glutamato	Arginina	Prolina
	mg dm^{-3}	----- $\mu\text{g g}^{-1}$ MS -----			
Suficiente	0,3	-	29,0	1,2	99,9
	14	-	30,8	-	103,7
	30	-	35,0	0,3	96,9
	45	-	41,6	0,7	69,0
	60	-	58,3	1,8	78,4
	Média	-	38,9	0,8	89,6
Deficiente	0,3	-	24,4	-	47,6
	14	-	21,3	-	43,8
	30	-	23,7	-	33,1
	45	-	30,2	0,6	49,8
	60	-	34,6	-	44,6
	Média	-	26,8	0,1	43,8
Pr F	N	-	0,0153*	0,0927 ^{ns}	<0,0001**
	Ni	-	0,0825 ^{ns}	0,6011 ^{ns}	0,5285 ^{ns}
	N x Ni	-	0,9615 ^{ns}	0,6026 ^{ns}	0,0489*
	CV%	-	10,8	50,6	5,67

^{ns}, *, ** = Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente.

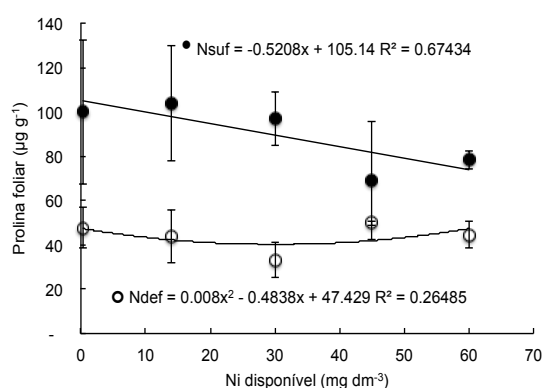


Figura 6 - Concentração de prolina ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS) em folha de cafeeiro na fase chumbinho em função da disponibilidade de Ni

Tabela 9 - Concentração interna de CO₂ (Ci - $\mu\text{mol mol}^{-1}$), transpiração (E- $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), condutância estomática (gs - $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e taxa de assimilação de CO₂ (A - $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$) em folhas de cafeeiro na fase chumbinho em razão do teor disponível de Ni (mg dm^{-3} - DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) ($n=4$)

	Ni disponível	Ci	E	gs	A
N	mg dm^{-3}	$\mu\text{mol mol}^{-1}$	$\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$	$\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	$\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$
Suficiente	0,3	242	1,5	0,1	5,9
	14	252	1,4	0,1	5,2
	30	250	1,7	0,1	5,6
	45	247	1,6	0,1	5,8
	60	263	1,8	0,1	5,4
	Média	251	1,6	0,1	5,6
Deficiente	0,3	253	1,4	0,1	5,1
	14	250	1,3	0,1	5,0
	30	267	1,5	0,1	4,9
	45	253	1,5	0,1	5,4
	60	246	1,3	0,1	4,8
	Média	254	1,4	0,1	5,0
Pr F	N	0,5646 ^{ns}	0,2038 ^{ns}	0,2762 ^{ns}	0,2306 ^{ns}
	Ni	0,6904 ^{ns}	0,8251 ^{ns}	0,9439 ^{ns}	0,9447 ^{ns}
	N x Ni	0,2691 ^{ns}	0,9128 ^{ns}	0,9414 ^{ns}	0,9933 ^{ns}
	CV%	6,25	30,2	37,6	27,8

^{ns}, *, ** = Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente.

As concentrações de MDA e H₂O₂ alteraram significativamente com o nível suficiente e deficiente de N (Tabela 10), em que observou um aumento em 20,3% e 29,8% da concentração de MDA e H₂O₂, respectivamente, em razão do nível deficiente em N (Tabela 10).

Com o incremento no teor disponível de Ni no solo, as concentrações de H₂O₂ não foram alteradas, no entanto, a maior disponibilidade de Ni no solo (60 mg dm^{-3}) reduziu em 21,5% no nível suficiente e em 13,6% no nível deficiente de N a concentração de MDA (Tabela 10, Figura 7).

Tabela 10 - Concentração de MDA (mmol g^{-1} MF) e H_2O_2 ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) em folhas de cafeeiro na fase chumbinho em razão do teor disponível de Ni (mg dm^{-3} – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) ($n=4$)

N	Ni disponível mg dm^{-3}	MDA mmol g^{-1} MF	H_2O_2 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF
Suficiente	0,3	557	2.153
	14	561	2.293
	30	445	1.891
	45	479	2.040
	60	437	2.242
	Média	496	2.124
Deficiente	0,3	689	2.687
	14	691	2.592
	30	666	2.630
	45	580	2.552
	60	595	2.320
	Média	644	2.556
Pr F	N	<0,0001**	0,0025**
	Ni	0,0491*	0,8532 ^{ns}
	N x Ni	0,7665 ^{ns}	0,5708 ^{ns}
	CV%	16,4	17,7

^{ns}, *, ** = Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente.

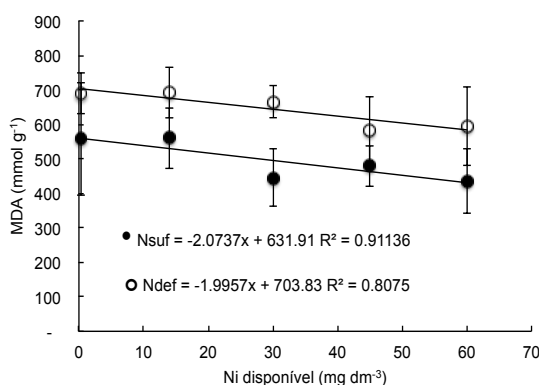


Figura 7 - Concentração de MDA (mmol g^{-1} MF) em folhas de cafeeiro na fase chumbinho em função da disponibilidade de Ni e nível de nitrogênio

No final do experimento, fase da colheita, o nível de nitrogênio suficiente aumentou em 53,6% a massa seca de folha, 24,1% de fruto e em 15% a massa

seca total do cafeeiro (Tabela 11). A raiz, caule e ramo não apresentaram variação na massa seca final em razão do nível suficiente e deficiente de N.

A raiz, caule, ramo, fruto e a massa seca total do cafeeiro não alterou significativamente em função da maior disponibilidade de Ni no solo (Tabela 11). No entanto, a massa seca de folha aumentou em 52,8% com a exposição ao teor de 60 mg dm⁻³ de Ni no solo no nível deficiente de N, enquanto que no nível suficiente, não houve alteração na massa seca de folhas em função do incremento do teor de Ni disponível (Tabela 11, Figura 8).

Tabela 11 - Massa seca de raiz, caule, ramo, folha, fruto e massa seca total (g planta⁻¹) em cafeeiro na colheita em razão do teor disponível de Ni (mg dm⁻³ – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) (n=4)

N	Ni disponível mg dm ⁻³	Raiz	Caule	Ramo	Folha g planta ⁻¹	Fruto	Total
Suficiente	0,3	179,4	164,8	167,6	130,1	354,9	1,022,7
	14	151,7	160,8	165,6	104,8	382,8	965,7
	30	164,0	170,9	173,8	121,1	359,8	989,6
	45	193,8	155,3	167,4	151,4	361,6	1,029,4
	60	163,9	172,1	179,9	104,4	343,9	964,2
	Média	170,5	164,8	170,8	127,5	360,6	994,3
Deficiente	0,3	194,3	155,8	158,1	53,2	259,8	821,1
	14	191,3	167,7	167,6	55,3	284,2	866,2
	30	179,0	161,5	167,9	45,0	250,4	788,8
	45	172,9	158,9	164,5	75,3	291,3	862,9
	60	173,1	177,3	172,6	81,8	282,5	887,3
	Média	182,1	164,2	166,1	59,1	273,6	845,2
Pr F	N	0,2592 ^{ns}	0,9024 ^{ns}	0,2600 ^{ns}	<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**
	Ni	0,8020 ^{ns}	0,1320 ^{ns}	0,3003 ^{ns}	0,1165 ^{ns}	0,6189 ^{ns}	0,7475 ^{ns}
	N x Ni	0,4759 ^{ns}	0,6075 ^{ns}	0,9134 ^{ns}	0,0420*	0,7758 ^{ns}	0,4437 ^{ns}
	CV%	3,36	8,30	7,70	9,20	13,5	9,08

^{ns}, *, ** = Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente.

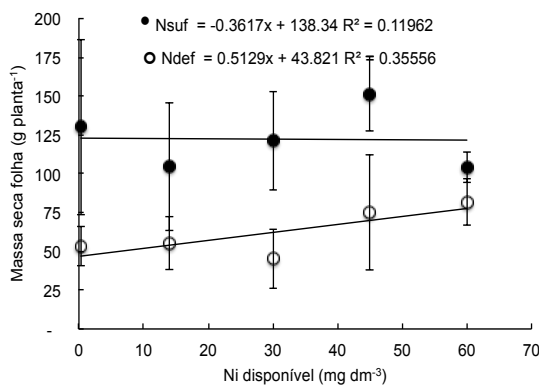


Figura 8 - Massa seca de folha (g planta⁻¹) de cafeeiro na colheita em função da disponibilidade de Ni e nível de nitrogênio

A concentração média de Ni no caule e ramo foi 32,4% e 18,4% superior no nível suficiente de N, enquanto que na folha e casca, a concentração de Ni foi 15,6% e 12,1% superior no nível deficiente de N (Tabela 12). Já para a raiz e o grãos o nível de nitrogênio não afetou a concentração de Ni. As maiores concentrações de Ni no nível suficiente foram observadas na raiz, folha, ramo, grãos, casca e caule, enquanto que no nível deficiente, as maiores concentrações de Ni foram observadas na folha, raiz, grãos, ramo, casca e caule (Tabela 12).

Na raiz, caule, ramo, folha, casca e grãos o aumento para 60 mg dm⁻³ de Ni disponível no solo elevou em 11,2; 5,9; 6; 7,3; 6,5; e 6,5 vezes a concentração de Ni respectivamente (Figura 9).

Tabela 12 - Ni em raiz, caule, ramo, folha, casca e grãos (mg kg^{-1} MS) em cafeeiro na colheita em razão do teor disponível de Ni (mg dm^{-3} – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) ($n=4$)

N	Ni disponível	Raiz	Caule	Ramo	Folha	Casca	Grãos
	mg dm^{-3}	----- mg kg^{-1} MS -----					
Suficiente	0,3	7,7	3,1	4,9	4,4	3,3	4,0
	14	13,0	5,5	10,7	16,9	7,2	8,1
	30	23,1	8,8	15,0	29,0	10,7	12,6
	45	56,7	12,4	18,6	37,5	12,8	17,1
	60	98,1	19,2	27,9	66,0	19,4	23,1
	Média	39,7	9,8	15,4	30,7	10,7	13,0
Deficiente	0,3	7,3	2,8	4,3	4,7	3,5	3,5
	14	10,9	4,7	8,6	20,6	7,6	11,0
	30	20,7	6,5	11,2	39,7	11,1	14,9
	45	38,6	7,7	13,5	34,2	12,9	16,7
	60	69,6	15,3	27,2	78,1	25,0	25,3
	Média	29,4	7,4	13,0	35,5	12,0	14,3
Pr F	N	0,2231 ^{ns}	<0,0001**	<0,0001**	0,0182*	0,0324*	0,0738 ^{ns}
	Ni	<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**
	N x Ni	0,9734 ^{ns}	0,6761 ^{ns}	0,1703 ^{ns}	0,1975 ^{ns}	0,6344 ^{ns}	0,0536 ^{ns}
	CV%	14,9	13,9	5,38	3,65	4,82	5,67

^{ns}, *, ** = Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente.

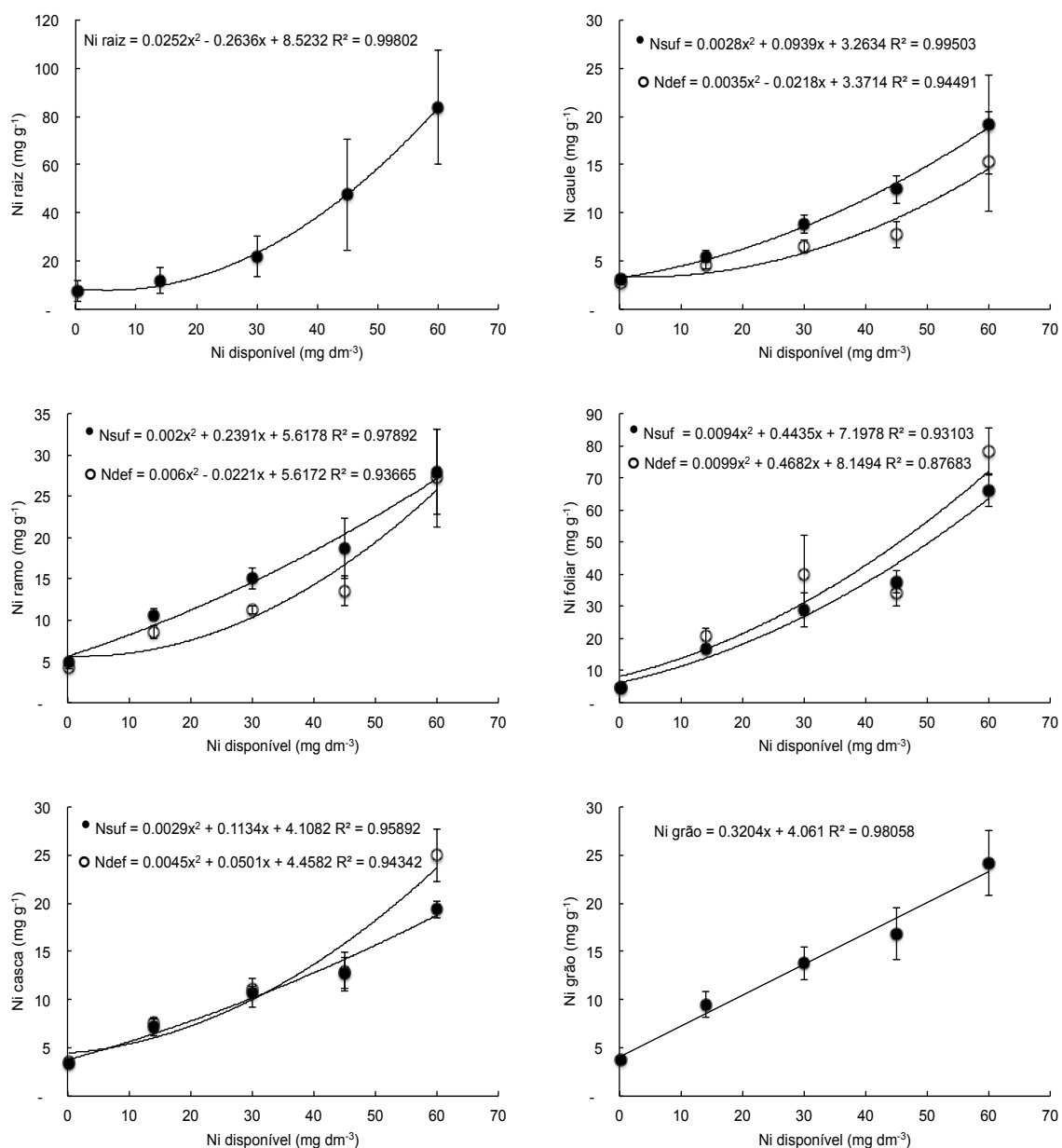


Figura 9 - Concentração de Ni (mg kg^{-1} MS) na raiz, caule, ramo, folha, casca e grão de cafeeiro na colheita em função da disponibilidade de Ni e nível de nitrogênio

O nível suficiente em N aumentou em 15,1%, 16,5%, 21% e 19% a concentração de N em ramo, folha, casca e grãos, respectivamente, quando comparado com as concentrações no nível deficiente em N (Tabela 13). A ordem crescente de concentração de N nos órgãos foram grãos, folha, casca, ramo, raiz e caule.

Com relação ao maior teor de Ni disponível no solo, este elevou em 15,8% a concentração de N na raiz no maior teor de Ni (60 mg dm^{-3}), com relação à

concentração de N na raiz do controle (0,3 mg dm⁻³ Ni) (Tabela 13). No ramo, no nível suficiente de N observou uma elevação na concentração do N até o teor de 35 mg dm⁻³ de Ni no solo, enquanto que no nível deficiente houve uma redução na concentração de N até este teor (Figura 10). Já na folha, a exposição ao maior teor de Ni no solo reduziu em 4% a concentração de N no nível suficiente, enquanto no nível deficiente observou um incremento em 8,4% na concentração do N foliar (Tabela 13, Figura 10).

Tabela 13 - N em raiz, caule, ramo, folha, casca e grãos (g kg⁻¹ MS) em cafeeiro na colheita em razão do teor disponível de Ni (mg dm⁻³ – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) (n=4)

N	Ni disponível mg dm ⁻³	g kg ⁻¹ MS					
		Raiz	Caule	Ramo	Folha	Casca	Grãos
Suficiente	0,3	10,9	9,5	13,3	26,3	22,2	31,5
	14	10,9	9,2	14,2	27,3	23,7	30,7
	30	10,9	8,1	15,3	21,0	21,1	35,8
	45	13,3	8,9	13,3	24,3	23,2	35,9
	60	11,2	8,1	12,6	24,7	24,8	34,9
	Média	11,4	8,8	13,7	24,7	23,0	33,7
Deficiente	0,3	8,2	8,9	13,3	20,1	20,2	26,6
	14	10,7	7,1	11,7	18,8	16,9	27,8
	30	11,7	7,4	11,9	24,5	19,2	29,4
	45	13,3	8,7	9,1	21,8	20,1	29,9
	60	10,7	8,5	13,6	20,7	18,7	27,6
	Média	10,9	8,1	11,9	21,2	19,0	28,3
Pr F	N	0,4115 ^{ns}	0,1559 ^{ns}	0,0029 ^{**}	<0,0001 ^{**}	<0,0001 ^{**}	<0,0001 ^{**}
	Ni	0,0175 [*]	0,2609 ^{ns}	0,0566 ^{ns}	0,9915 ^{ns}	0,3361 ^{ns}	0,0037 ^{**}
	N x Ni	0,5305 ^{ns}	0,4685 ^{ns}	0,0373 [*]	0,0002 ^{**}	0,0542 ^{ns}	0,3801 ^{ns}
	CV%	18,2	16,4	5,65	10,1	9,16	7,43

^{ns}, ^{*}, ^{**} = Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente.

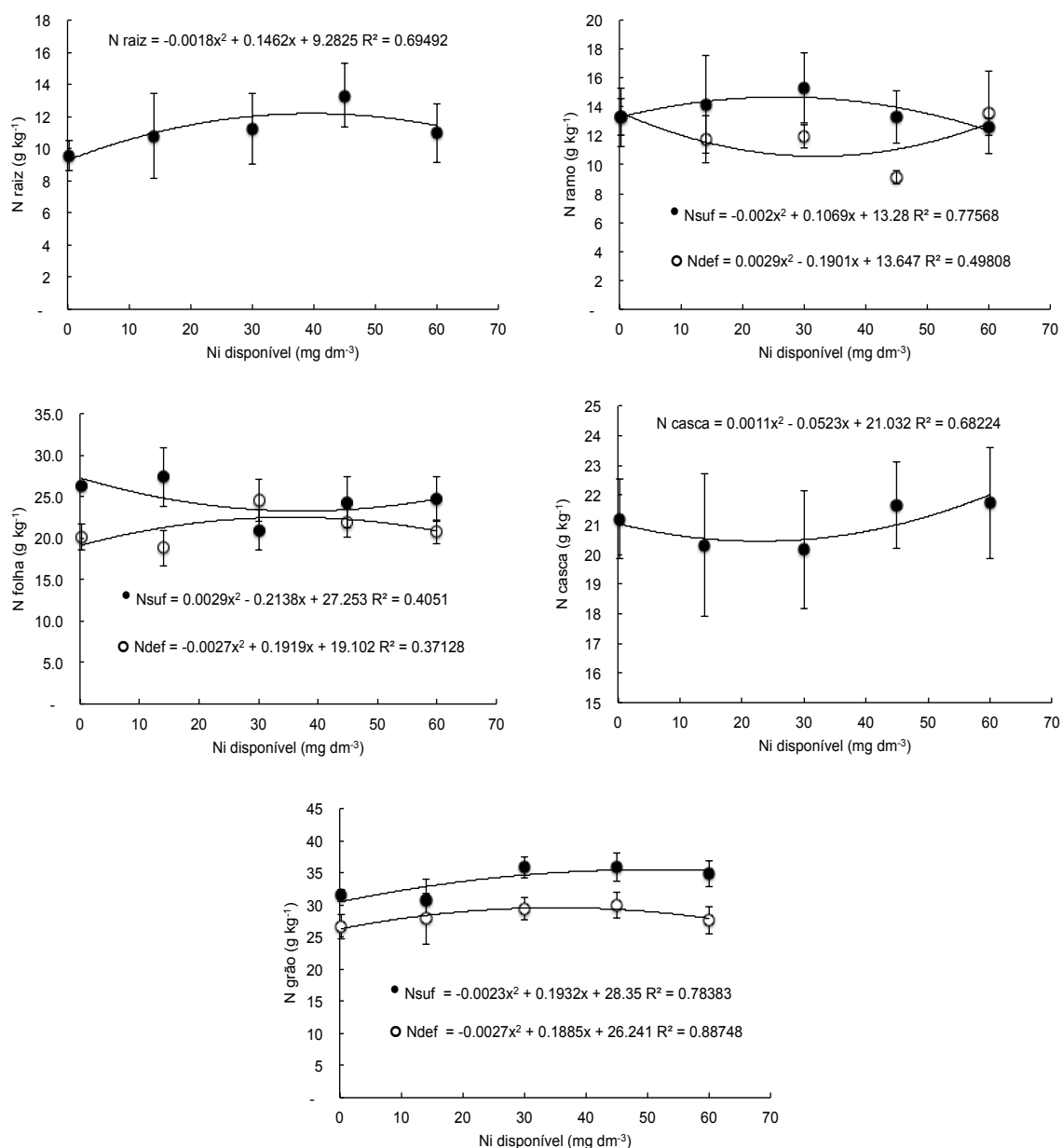


Figura 10 - Concentração de N (mg kg^{-1}) na raiz, ramo, folha, casca e grão de cafeeiro em função da disponibilidade de Ni e nível de nitrogênio

A avaliação da concentração de amônio foi superior no nível suficiente de N para raiz, caule, ramo, casca e grãos, em relação ao nível deficiente em N (Tabela 14).

O incremento do teor de Ni na planta não alterou a concentração de amônio na raiz e nos grãos do cafeeiro (Tabela 14). No ramo observou um incremento de 50% na concentração de amônio no maior teor de Ni no solo, em relação ao teor natural de Ni (Figura 11).

Para o caule, a concentração de amônio elevou até o teor de 40 mg dm⁻³ de Ni no nível suficiente, enquanto que no nível deficiente, a maior concentração de amônio foi observada no teor de 60 mg dm⁻³ de Ni (Figura 11). Já para a concentração de amônio observada na casca, o incremento no teor de Ni disponível no solo reduziu em 21,2% no nível suficiente, enquanto que no nível deficiente em N observou um aumento de 27,3% (Figura 11).

Tabela 14 - Amônio (NH₄⁺) em raiz, caule, ramo, casca e grãos (mM g⁻¹ MS) em cafeeiro na colheita em razão do teor disponível de Ni (mg dm⁻³ – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) (n=4)

	Ni disponível mg dm ⁻³	Raiz	Caule	Ramo	Folha	Casca	Grãos
Suficiente	0,3	4,7	12,1	3,6	-	9,7	6,9
	14	5,2	15,4	3,3	-	7,4	3,0
	30	4,4	13,8	3,5	-	7,6	5,9
	45	4,6	16,7	4,9	-	7,1	3,0
	60	4,2	14,0	5,3	-	8,0	3,0
	Média	4,6	14,4	4,1	-	8,0	4,3
Deficiente	0,3	1,4	5,2	1,7	-	5,5	2,5
	14	1,4	6,3	1,8	-	5,5	2,5
	30	1,2	6,0	1,8	-	5,6	2,0
	45	1,4	6,9	2,4	-	6,3	2,2
	60	1,3	7,0	2,4	-	7,0	2,6
	Média	1,3	6,3	2,0	-	6,0	2,3
Pr F	N	<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**	-	<0,0001**	0,0003**
	Ni	0,5211 ^{ns}	0,0001**	<0,0001**	-	0,0861 ^{ns}	0,4007 ^{ns}
	N x Ni	0,7692 ^{ns}	0,0365*	0,8488 ^{ns}	-	0,0291*	0,2227 ^{ns}
	CV%	19,2	8,36	14,7	-	10,1	10,1

-, ^{ns}, *, ** = Não detectado, Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F.

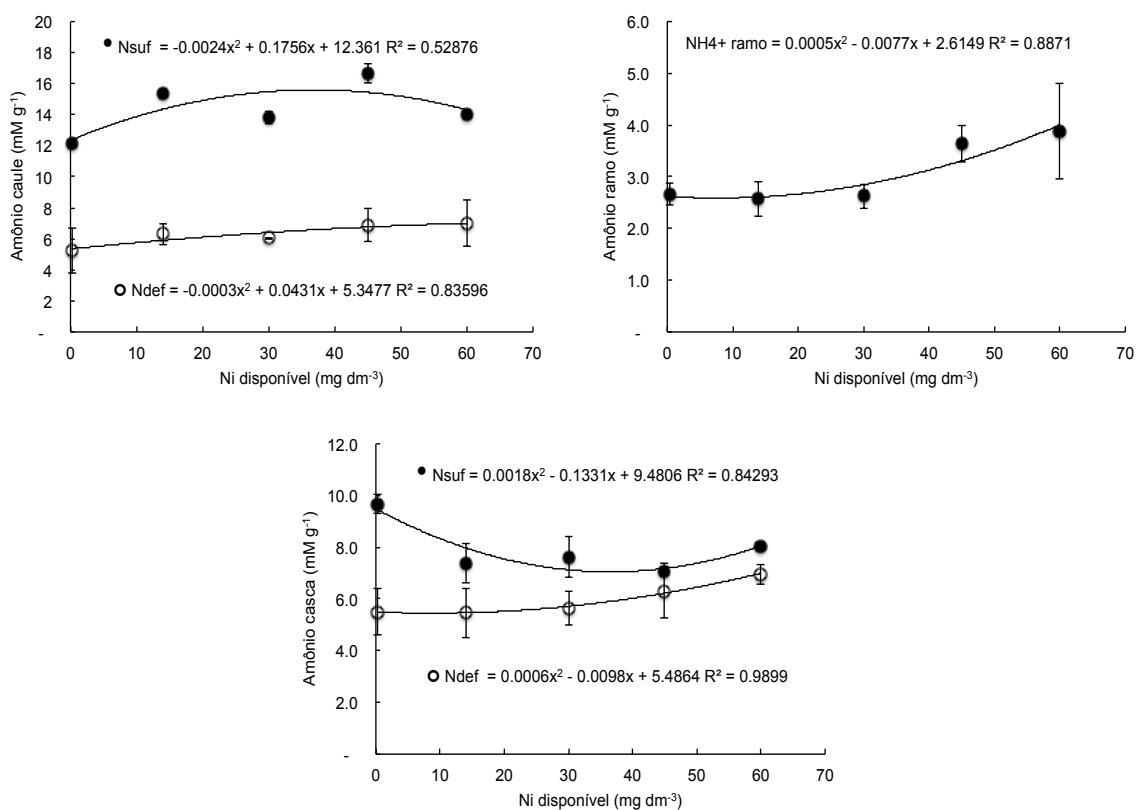


Figura 11 - Amônio (NH₄⁺) em caule, ramo e casca (mM g⁻¹ MS) em cafeeiro na colheita em função da disponibilidade de Ni e nível de nitrogênio

O suprimento suficiente de N nas plantas de cafeeiro elevou a concentração de aminoácidos solúveis em raiz, caule, ramo, folha, casca e grãos, quando comparado com as concentrações do nível deficiente em N (Tabela 15).

Com o aumento no teor de Ni disponível no solo observou-se uma redução na concentração de aminoácidos solúveis na raiz, caule e ramo em razão do nível suficiente de N, enquanto no nível deficiente houve um incremento na concentração de aminoácidos nesses órgãos (Figura 12). No entanto, para a concentração de aminoácidos na casca observou-se redução em ambos os níveis de N aplicados nas plantas de cafeeiro (Figura 12).

Tabela 15 - Aminoácidos solúveis em raiz, caule, ramo, folha, casca e grãos (mM g^{-1} MS) em cafeeiro na colheita em razão do teor disponível de Ni (mg dm^{-3} – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) ($n=4$)

N	Ni disponível mg dm^{-3}	Raiz	Caule	Ramo	Folha	Casca	Grãos
Suficiente	0,3	5,2	11,8	8,1	33,2	48,8	40,0
	14	4,9	13,0	5,6	33,7	36,1	41,9
	30	4,1	12,6	4,7	31,7	41,0	40,9
	45	4,9	11,8	8,1	31,4	36,2	44,2
	60	3,7	8,8	6,0	31,4	37,6	46,7
	Média	4,6	11,6	6,5	32,3	39,9	42,7
Deficiente	0,3	1,2	3,4	1,7	28,9	34,5	38,2
	14	1,0	4,9	1,9	24,7	34,4	34,2
	30	1,2	3,0	1,7	25,1	32,4	34,6
	45	1,1	6,7	2,5	23,9	27,9	31,3
	60	1,8	5,4	3,0	21,8	26,1	33,8
	Média	1,2	4,7	2,1	24,9	31,0	34,4
Pr F	N	<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**	0,0002**	0,0002**	0,0002**
	Ni	0,7588 ^{ns}	0,1297 ^{ns}	0,0016**	0,5609 ^{ns}	0,0180*	0,8904 ^{ns}
	N x Ni	0,0267*	0,0110*	0,0043**	0,8720 ^{ns}	0,3624 ^{ns}	0,3382 ^{ns}
	CV%	12,3	12,9	16,8	18,6	4,10	15,2

^{ns}, *, ** = Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente.

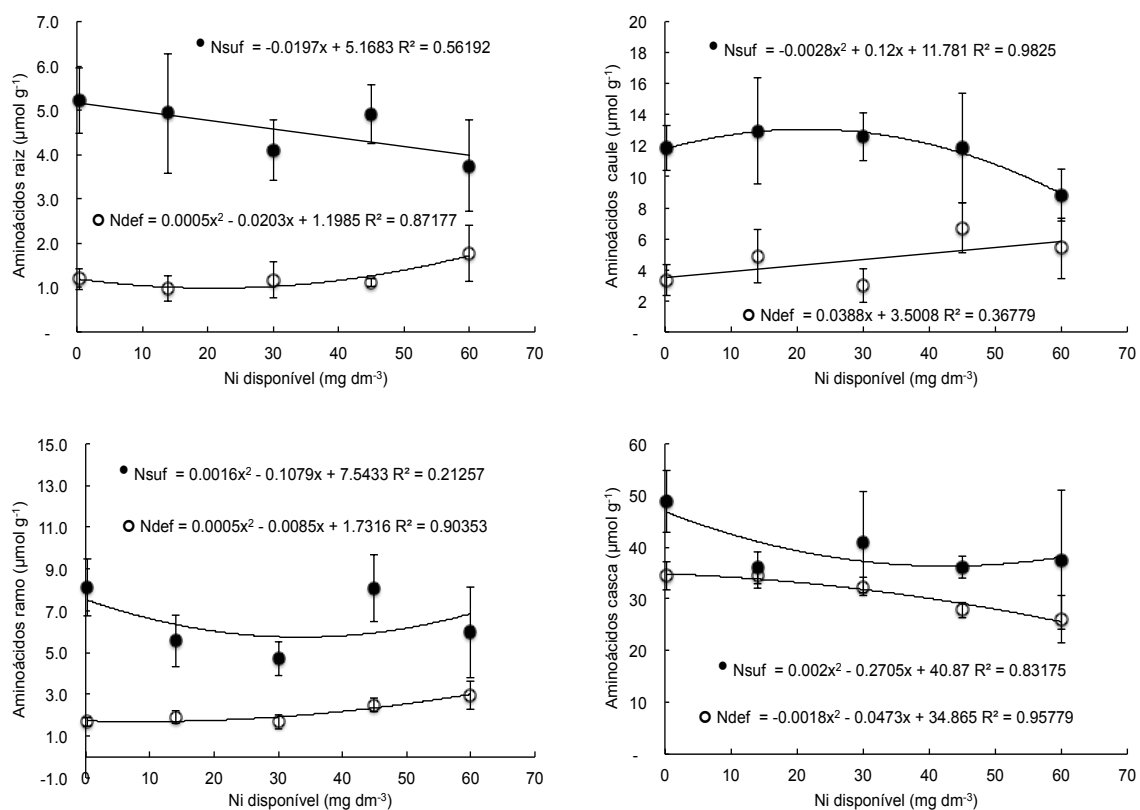


Figura 12 - Aminoácidos solúveis em raiz, caule, ramo e casca (mM g^{-1} MS) em cafeeiro na colheita em função da disponibilidade de Ni e nível de nitrogênio

Na tabela 16 estão apresentados as concentrações de proteína em raiz, caule, ramo, casca e grãos. O nível suficiente em N elevou as concentrações de proteína na raiz, caule, ramo e casca, em relação ao nível deficiente de N.

Com o incremento no teor de Ni disponível no solo observou um aumento na concentração de proteínas em 15,7% na raiz, 11,8% no caule e 22,8% na casca (Figura 13). A concentração de proteínas no ramo e nos grãos não alterou em função da maior disponibilidade de Ni no solo (Tabela 16).

Tabela 16 - Proteína em raiz, caule, ramo, folha, casca e grãos (mg g^{-1} MS) em cafeeiro na colheita em razão do teor disponível de Ni (mg dm^{-3} – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) ($n=4$)

	Ni disponível mg dm^{-3}	Raiz	Caule	Ramo	Folha	Casca	Grãos
Suficiente	0,3	5,2	5,6	12,0	-	19,6	44,3
	14	5,5	5,3	11,6	-	19,7	44,4
	30	5,6	5,4	10,9	-	15,9	46,6
	45	6,1	5,6	9,9	-	24,9	45,0
	60	6,4	6,0	11,6	-	25,2	46,6
	Média	5,8	5,6	11,2	-	21,1	45,4
Deficiente	0,3	5,0	4,6	8,7	-	19,5	43,3
	14	4,5	4,4	10,0	-	17,7	42,4
	30	4,6	4,9	9,2	-	19,2	42,7
	45	5,1	5,0	9,3	-	13,1	47,6
	60	5,5	5,4	10,4	-	20,3	41,6
	Média	4,9	4,9	9,5	-	17,9	43,5
Pr F	N	<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**	-	0,0070**	0,3312 ^{ns}
	Ni	0,0049**	0,0063**	0,0595 ^{ns}	-	0,0467*	0,8787 ^{ns}
	N x Ni	0,6711 ^{ns}	0,7713 ^{ns}	0,0685 ^{ns}	-	0,0015**	0,7246 ^{ns}
	CV%	9,67	8,05	7,97	-	14,5	12,9

-, ^{ns}, *, ** = Não detectado, Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F.

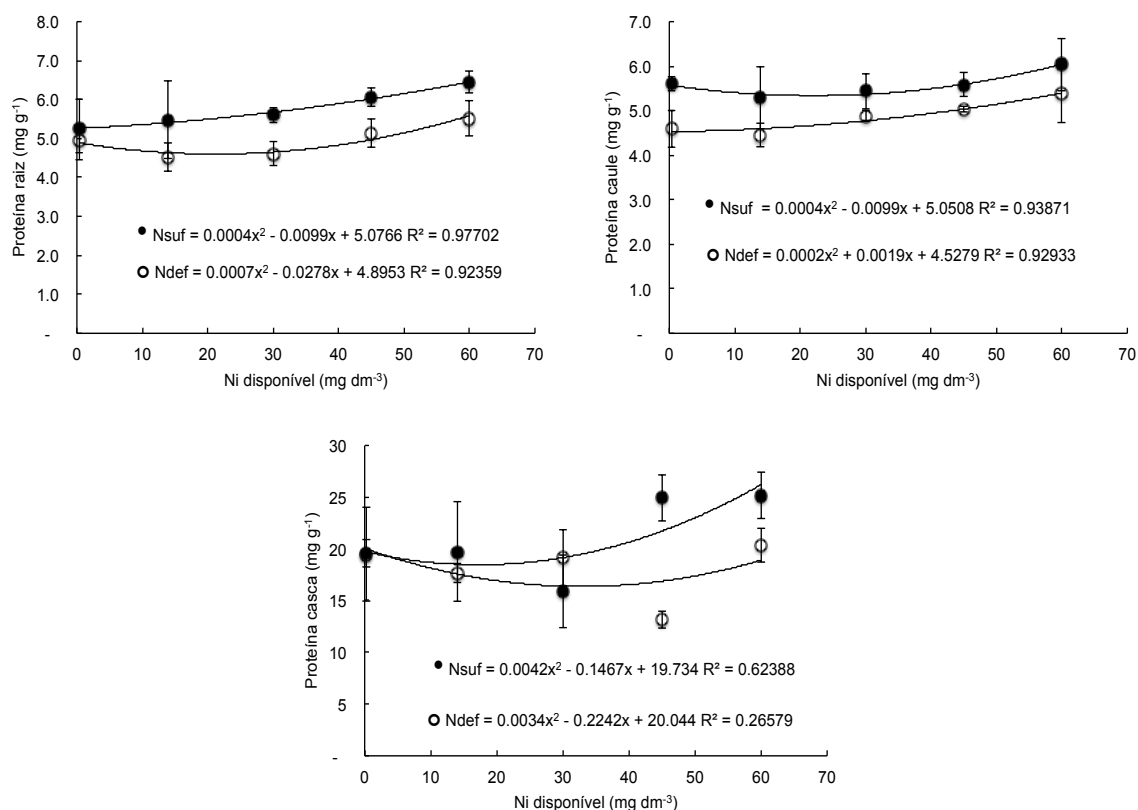


Figura 13 - Proteína em raiz, caule e casca (mg g^{-1} MS) em cafeeiro na colheita em função da disponibilidade de Ni e nível de nitrogênio

Nas tabelas 17 e 18 estão apresentados as concentrações de glutamina, glutamato, arginina e prolina em ramos e grãos de cafeeiro, respectivamente. O nível de nitrogênio elevou as concentrações de arginina em 5,1 vezes no ramo e em 1,8 vezes nos grãos em relação ao nível deficiente de N. Já a concentração de prolina aumentou aproximadamente em 4,7 vezes no ramo e 2 vezes nos grãos no nível suficiente quando comparado com o nível deficiente em N (Tabela 17 e 18).

A disponibilidade de 60 mg dm^{-3} de Ni no solo reduziu em 30% a concentração de glutamina nos ramos (Figura 14), enquanto que para os aminoácidos glutamato, arginina e prolina não observou alteração nas concentrações no ramo em função do aumento do teor de Ni disponível no solo (Tabela 17).

Nos grãos, o incremento no teor de Ni no solo afetou somente a concentração do aminoácido prolina (Figura 15), em que reduziu em 39,4% no teor de 60 mg dm^{-3} de Ni no nível suficiente e 27% no nível deficiente em N (Figura 15).

Tabela 17 - Concentração de glutamina, glutamato, arginina e prolina ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS) em ramos de cafeeiro na colheita em razão do teor disponível de Ni (mg dm^{-3} – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) ($n=4$)

N	Ni disponível mg dm^{-3}	----- $\mu\text{g g}^{-1}$ MS -----			
		Glutamina	Glutamato	Arginina	Prolina
Suficiente	0,3	8,4	12,7	5,9	79,4
	14	11,7	28,2	5,7	115,0
	30	13,8	30,2	3,4	67,6
	45	5,4	27,4	7,7	151,3
	60	6,0	33,8	5,2	76,2
	Média		7,4	26,5	5,6
Deficiente	0,3	8,4	34,9	1,2	14,9
	14	11,2	38,7	0,5	13,5
	30	12,9	52,6	1,0	22,2
	45	4,4	26,2	1,1	22,2
	60	5,7	31,1	1,7	31,2
	Média		8,5	36,7	1,1
Pr F	N	0,1469 ^{ns}	0,0411*	<0,0001**	<0,0001**
	Ni	0,0012**	0,1765 ^{ns}	0,6192 ^{ns}	0,3632 ^{ns}
	N x Ni	0,0661 ^{ns}	0,2286 ^{ns}	0,4807 ^{ns}	0,2679 ^{ns}
	CV%	41,4	31,1	41,6	34,3

^{ns}, *, ** = Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F, respectivamente.

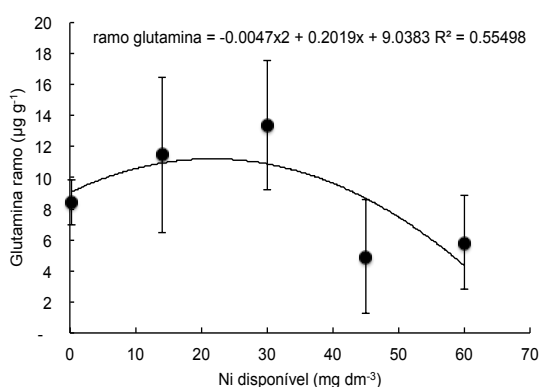


Figura 14 - Concentração de glutamina ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS) em ramo de cafeeiro na colheita em função da disponibilidade de Ni

Tabela 18 - Concentração de glutamina, glutamato, arginina e prolina ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS) em grãos de cafeeiro na colheita em razão do teor disponível de Ni (mg dm^{-3} – DTPA) e nível de nitrogênio (suficiente e deficiente) ($n=4$)

N	Ni disponível mg dm^{-3}	----- $\mu\text{g g}^{-1}$ MS -----			
		Glutamina	Glutamato	Arginina	Prolina
Suficiente	0,3	-	2,6	2,7	69,0
	14	-	2,6	4,3	60,2
	30	-	1,3	3,5	40,1
	45	-	1,4	4,0	66,3
	60	-	1,3	4,0	41,8
	Média		-	1,8	3,7
Deficiente	0,3	-	2,2	2,3	33,4
	14	-	1,2	1,9	28,7
	30	-	1,7	2,8	28,5
	45	-	1,3	1,8	25,1
	60	-	0,9	1,9	24,4
	Média		-	1,5	2,1
Pr F	N	-	0,2975 ^{ns}	<0,0001**	<0,0001**
	Ni	-	0,1705 ^{ns}	0,6575 ^{ns}	0,0108*
	N x Ni	-	0,7330 ^{ns}	0,1630 ^{ns}	0,3076 ^{ns}
	CV%	-		48,2	33,5

-, ^{ns}, *, ** = Não detectado, Não significativo, Significativo a 5% e 1% pelo teste F.

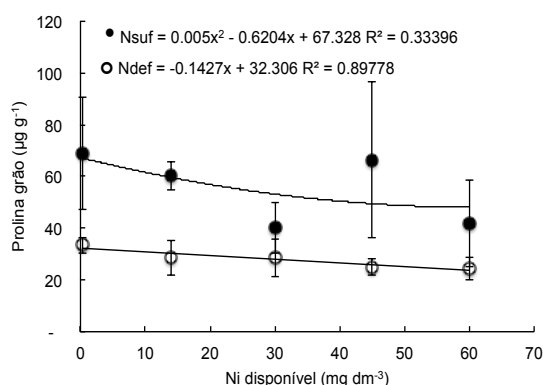


Figura 15 - Concentração de prolina ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS) em grãos de cafeeiro na colheita em função da disponibilidade de Ni e nível de nitrogênio

3.4 Discussão

O metabolismo de nitrogênio relaciona com o processo de senescência durante o processo de granação dos frutos, em que parte do nitrogênio deslocado para este órgão é proveniente da remobilização de N-aminoácidos de tecidos senescentes (OKUMOTO; PILOT, 2011; OKUMONO et al., 2002).

Na folha, a senescência é marcada por um aumento na degradação de proteínas, o que provoca um aumento na geração de ureia via conversão da arginina em ornitina + ureia, processo que ocorre na mitocôndria (WITTE, 2011). No entanto, durante a senescência da folha (fonte) e a remobilização de N para grãos e parte vegetativas em crescimento (dreno), uma parte do N é transportado na forma de ureia (BOHNER et al., 2015). Porém, o acúmulo de ureia é tóxico para o tecido vegetal (GERENDAS; SATTELMACHER, 1997 ; GERENDAS et al. 1998; TAN et al. 2000; ARKOUN et al., 2013) e poderia prejudicar o processo de remobilização de N.

Contudo, ao mesmo tempo em que ocorre o incremento da atividade da urease pela aplicação de Ni (POLACCO et al., 2013), há redução na evolução do etileno em razão da substituição do Fe na enzima ACC oxidase pelo Ni, o que atenuaria a senescência e/ou maturação das plantas (TEZOTTO et al., 2012; LAU; YANG, 1976; ZHENG et al., 2005; McGARVEY; CHRISTOFFERSEN, 1992). O etileno sob diferentes ambientes, é um dos fatores que levam a senescência prematura das partes das plantas (ABELES et a., 1992).

Alguns autores relatam que o aplicações de N na planta também pode retardar a senescência e a evolução de etileno (LEGE et al., 1997; IQBAL et al., 2011).

Este estudo demonstrou que as folhas de cafeeiro coletadas em pré-antese, cujas plantas estavam sob o mesmo nível de nitrogênio, apresentaram incremento nas concentrações de clorofila e aminoácidos solúveis totais em função do suprimento com Ni. No entanto a concentração de nitrogênio total não foi alterada. Cafeeiro exposto a doses crescente de Ni apresentou incremento na concentração de proteína foliar (TEZOTTO, 2010).

Apesar de ser observado uma redução na evolução do etileno foliar, as concentrações de MDA e prolina aumentaram em função do teor de Ni disponível no solo. O MDA é um produto secundário da peroxidação de lipídios e indica o grau de estresse oxidativo da planta (IRIGOYEN et al., 1992; DELONG; STEFFEN, 1997; HODGES et al., 1999), enquanto que a concentração de clorofila e proteínas

solúveis estimam a duração da senescência (KAR; FEIRABEND, 1984; PHILOSOPH-HADAS et al., 1991; MEIR et al., 1995). O aumento da biossíntese de etileno correlaciona-se com o incremento da peroxidação lipídica (LESHEM, 1988; BARTOLI et al., 1996; PELL et al., 1997). Além de MDA, houve incremento na concentração de prolina nas folhas do cafeeiro em pré-antese. As plantas acumulam prolina em condições de estresse, principalmente o hídrico (LEHMANN et al., 2010).

No nível deficiente de N, o aumento no teor de Ni disponível no solo aumentou a massa seca de folhas do cafeeiro. Isso ocorreu devido a redução na produção de etileno observada neste estudo, uma vez que o excesso de etileno leva a queda de folhas nas plantas (WINSTON et al., 1992; SUTTLE; HULTSTRAND, 1991).

Apesar da redução na evolução do etileno pelas folhas do cafeeiro, as concentrações de MDA e prolina permaneceram elevadas, indicando que o cafeeiro estava sob estresse oxidativo. No entanto, houve uma maior retenção foliar, ou seja, redução na queda de folhas do cafeeiro. O maior enfolhamento e/ou duração das folhas implica em maior quantidade de frutos, e em maior granação para o cafeeiro (DaMATTA, 2004).

Na fase de chumbinho, houve incremento na concentração foliar de N, independente do nível de N, em função do aumento no teor disponível de Ni no solo enquanto que as concentrações de prolina e MDA reduziram. O incremento na concentração de nitrogênio foliar reduz o dano oxidativo em folhas de cafeeiro e, conseqüentemente, redução nos níveis de MDA, prolina e peróxido de hidrogênio (NUNES et al., 1993; POMPELLI et al., 2010).

A aplicação de N no nível suficiente elevou as concentrações de nitrogênio total, aminoácidos, proteínas e amônio nos órgãos do cafeeiro. Nos órgãos drenos, como casca e grãos, a aplicação de Ni aumentou a concentração de N nessas partes, independente do nível de N aplicado na planta. Isso corrobora com a hipótese formulada inicialmente, que a aplicação de Ni acentuaria a redistribuição de N no cafeeiro.

O Ni promoveu maior redistribuição dos órgãos de reserva de N (ramo) para as folhas e os frutos (casca e grão). Essa redistribuição foi mais acentuada quando o nível de N no cafeeiro foi deficiente, ou seja, houve maior remobilização de N do ramo. A remobilização mais acentuada de N dos ramos com nível deficiente de N permitiu que a concentração foliar de N dessas plantas se aproximassem à

concentração de N das folhas no nível suficiente. Em cafeeiro, a remobilização de N ocorre independente do estado nutricional da planta, sendo mais acentuada em plantas deficientes (LIMA FILHO; MALAVOLTA, 2003).

Em resumo, a aplicação de Ni no solo até teores de 60 mg dm⁻³ não afeta o crescimento da planta de cafeeiro, mas aumenta a retenção foliar no nível deficiente de N. O Ni reduz a biossíntese de etileno na planta, apesar das concentrações de MDA e prolina aumentarem com o teor disponível de Ni no solo na pré-antese. Com relação ao N, há incremento na redistribuição de N dos órgãos de reserva (ramo) para atender a demanda de folha e fruto.

REFERÊNCIAS

- ABELES, F.B.; MORGAN, P.W.; SALTVEIT, M.E. **Ethylene in Plant Biology**. 2nd .ed. San Diego: Academic Press, 1992. 414p.
- ALEXIEVA, V.; SERGIEV, I.; MAPELLI, S.; KARANOV, E. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 24, p. 1337-1344, 2001.
- ANDREWS, R.K.; BLAKELEY, R.L.; ZERNER, B. Urea and urease. **Advances in Inorganic Biochemistry**, New York, v. 6, p. 245-283, 1984.
- ARKOUN, M.; JANNIN, L.; LAINE, P.; ETIENNE, P.; MASCLAUX-DAUBRESSE, C.; CITERNE, S.; GARNICA, M.; GARNIA-MINA, J.M.; YVIN, J. C.; OURRY, A. A physiological and molecular study of the effects of nickel deficiency and phenylphosphorodiamidate (PDD) application on urea metabolism in oilseed rape (*Brassica napus* L.). **Plant and Soil**, The Hague, v. 362, p.79-92, 2013.
- BARTOLI, C.G.; SIMONTACCHI, M.; MONTALDI, E.; PUNTARULO, S. Oxidative stress, antioxidant capacity and ethylene production during ageing of cut carnation (*Dianthus caryophyllus*) petals. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.297, p. 595-601, 1996.
- BOHNER, A.; KOJIMA, S.; HAJIREZAEI, M.; MELZER, M.; VON WIRÉN, N. Urea retranslocation from senescing Arabidopsis leaves is promoted by DUR3-mediated urea retrieval from leaf apoplast. **PLANT J**, Oxford, v. 81, p. 377-387, 2015.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 72, p. 248-259, 1976.
- BREMNER, J.M. Total nitrogen. In: BLACK, C.A. (Ed.). **Methods of soil analysis**. Madison: American Society of Agronomy, p. 1149-1178, 1965.

CHILIMBA, A.D.C.; YOUNG, S.D.; BLACK, C.R.; ROGERSON, K.B.; ANDER, E.L.; WATTS, M.J.; LAMMEL, J.; BROADLEY, M.R. Maize grain and soil surveys reveal suboptimal dietary selenium intake is widespread in Malawi. **Scientific Reports**, London, v. 1, n. 72, p. 1-9, 2011.

COCKING E.C.; YEMM E.W. Estimation of amino acids by ninhidrin. **Biochemistry Journal**, London, v. 58, p.12-13, 1954.

DaMATTA, F.M.; Ecophysiological constraints on the production of shaded and unshaded coffee: a review. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 86, p. 99-114, 2004.

DELONG, J.M.; STEFFEN, K.L. Photosynthetic function, lipid peroxidation and α -tocopherol content in spinach leaves during exposure to UV-B radiation. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 77, p.453-459, 1997.

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

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

GERENDAS J.; ZHU, Z.; SATTELMACHER, B. Influence of N and Ni supply on nitrogen metabolism and urease activity in rice (*Oryza sativa* L). **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.49, p. 1545-1554, 1998.

GEROMEL, C.; FERREIRA, L.P.; GUERREIRO, S.M.C.; CAVALARI, A.A.; POT, D.; PEREIRA, L.F.P.; LEROY, T.; VIEIRA, L.G.E.; MAZZAFERA, P.; MARRACCINI, P. Biochemical and genomic analysis of sucrose metabolism during coffee (*Coffea arabica*) fruit development. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 57, p. 3243-3258, 2006.

GREGERSEN P.L.; HOLM P.B.; KRUPINSKA K. Leaf senescence and nutrient remobilisation in barley and wheat. **Plant Biology**, Stuttgart, v.10,p 37-49, 2008.

GUIBOILEAU A.; SORMANI R.; MEYER C.; MASCLAUX-DAUBRESSE C. Senescence and death of plant organs: nutrient recycling and developmental regulation. **Comptes Rendus Biologies**, Paris, v. 333, p. 382-391, 2010.

GUO Y.; GAN S. Leaf senescence: signals, execution, and regulation. **Current Topics in Developmental Biology**, New York, v. 71, p 83-112, 2005

HEATH, R.L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplast. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives in Biochemistry and Biophysics**, New York, v. 125, p. 2141-2145, 1968.

HODGES, D.M.; DELONG, J.M.; FORNEY, C.; PRANGE, R.K. Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. **Planta**, Berlin, v. 207, p. 604-611, 1999.

- IQBAL, N.; RAZAR, N.; SYEED, S.; MASOOD, A.; KHAN N. A.; Exogenously-sourced ethylene increases stomatal conductance, photosynthesis, and growth under optimal and deficient nitrogen fertilization in mustard, **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.62, p. 4955-4963, 2011.
- IRIGOYEN, J.J.; EMERICH, D.W.; SÁNCHEZ-DIAZ, M. Alfalfa leaf senescence induced by drought stress: photosynthesis, hydrogen peroxide metabolism, lipid peroxidation and ethylene evolution. **Physiologia Plantarum**, Lund, v.84, p.67-72, 1992.
- ITAMURA, H.; OHNO, Y.; YAMAMURA, H. Characteristics of fruit softening in Japanese persimmon. **Acta horticulturae**, The Hague, v. 685, p. 37-44, 1997.
- JACKSON, M.L. **Soil chemical analysis**. New Jersey: Prentice Hall, 1958. 498p.
- KAR, M.; FEIERABEND, J. Metabolism of activated oxygen in detached wheat and rye leaves and its relevance to the initiation of senescence. **Planta**, Berlin, v. 160, p.385-391, 1984.
- KROGMEIER, M.J.; MCCARTY, G.W.; BREMNER, J.M. Phytotoxicity of foliar-applied urea. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, v. 86, p. 81-89, 1989.
- KROM, M.D. Spectrophotometric determination of ammonia: study of a modified Berthelot reaction using salicylate and dichloroisocyanurate. **Analyst**, Cambridge, v. 105, p. 305-316, 1980.
- LAU, O.L.; YANG, S.F. Inhibition of ethylene production by cobaltous ion. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 58, p. 114-117, 1976.
- LAWLOR, D.W. Photosynthesis, productivity and environment. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 46, p. 1449-1461, 1995.
- LEE, D.W.; BRAMMEIER, S.; SMITH, A.P. The selective advantages of anthocyanins in developing leaves of mango and cacao. **Biotropica**, Washington, v. 19, n. 1, p. 40-49, 1987.
- LEGE, K.E.; COTHREN, J.T.; MORGAN, P.W.; Nitrogen fertility and leaf age effects on ethylene production of cotton in a controlled environment. **Plant Growth Regulation**, The Hague, v. 22, p.23-28, 1997.
- LEHMANN S.; FRANCK D.; SZABADOS L.; Proline metabolism and transport in plant development. **Amino Acids**, Wien, v 39, 949-962, 2010.
- LESHEM, Y.Y. Plant senescence processes and free radicals. In: PRYOR, W.A. (Ed.). **Free radical biology and medicine**. New York: Pergamon Press, 1988. p.39-49.
- LIM, P.O.; KIM, H.J.; NAM, H.G. Leaf senescence. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v 58, p.115-136, 2007.

- LIMA FILHO, O.F.; MALAVOLTA, E. Studies on mineral nutrition of the coffee plant (*Coffea arabica* L. cv. Catuaí Vermelho): LXIV. Remobilization and re-utilization of nitrogen and potassium by normal and deficient plants. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 63, n. 3, p. 481-490, Aug. 2003.
- MAZZAFERA, P. Chemical composition of defective coffee beans. **Food Chemistry**, Barking, v. 64, n. 4, p. 103-110, 1998.
- McGARVEY, D.J.; CHRISTOFFERSEN, R.E. Characterization and kinetic parameters of ethylene-forming enzyme from avocado fruit. **Journal of Biology Chemistry**, Baltimore, v. 267, p. 5964-5967, 1992.
- MEIR, S.; KANNER, K.; AKIRI, B.; PHILOSOPH-HADAS, S. Determination and involvement of aqueous reducing compounds in oxidative defense systems of various senescing leaves. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 43, p. 1813-1819, 1995.
- MOBLEY, H.L.T.; HAUSINGER, R.P. Microbial ureases: Significance, regulation, and molecular characterization. **Microbiological Reviews**, Washington, v. 53, n. 1, p. 85-108, 1989.
- MOBLEY, H.L.T.; ISLAND, M.D.; HAUSINGER, R.P. Molecular biology of microbial ureases. **Microbiological Reviews**, Washington, v.59, n. 3, p. 451-480. 1995.
- MORAN, R. Formulae for determination of chlorophyllous pigments extracted with N,N,-dimethylformamide. **Plant Physiology**, Rockville, v. 69, p. 1376-1381, 1982.
- MUSTAFIZ, A.; GHOSH, A.; TRIPATHI, A. K.; KAUER, C.; GANGULY, A. K.; BHAVESH, N. S.; TRIPATHI, J. K.; PAREEK, S.; SOPORY, S. K.; SINGLA-PAREEK, S. L. A unique Ni²⁺ and methylglyoxal-inducible rice glyoxalase I possesses a single active site and functions in abiotic stress response. **The Plant Journal**, Oxford, v. 78, p. 951-963, 2014.
- NUNES, M.A.; RAMALHO, J.D.C.; DIAS, M.A. Effect of Nitrogen Supply on the Photosynthetic Performance of Leaves from Coffee Plants Exposed to Bright Light. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v 44, n. 5, p. 893-899, 1993.
- OKUMOTO, S.; PILOT, G. Amino acid export in plants: a missing link in nitrogen cycling. **Molecular plant**, Oxford. v.4, p.453-463, 2011.
- OKUMOTO, S.; SCHMIDT, R.; TEGEDER, M.; FISCHER, W.N.; RENTSCH, D. High affinity amino acid transporters specifically expressed in xylem parenchyma and developing seeds of *Arabidopsis*. **Journal of Biology Chemistry**, Baltimore, v. 277, p. 45338-45346, 2002.
- PELL, E.J.; SCHLAGNHOUFER, C.D.; ARTECA, R.N. Ozone-induced oxidative stress: mechanism of action and reaction. **Physiologia Plantarum**, Lund, v.100, p. 264-273, 1997.
- PHILOSOPH-HADAS, S.; MEIR, S.; AHARONI, N. Effect of wounding on ethylene biosynthesis and senescence of detached spinach leaves. **Physiologia Plantarum**, Lund, v.83, p. 241-246, 1991.

POLACCO, J.C.; MAZZAFERA, P.; TEZOTTO, T. Opinion – Nickel and urease in plants: Still many knowledge gaps. **Plant Science**, Shannon, v. 199-200, p.79-90, 2013.

POLACCO, J.C.; HOLLAND, M.A. Roles of urease in plant cells. **International Review of Cytology**, New York, v. 145, p. 65-103, 1993.

POMPELLI, M.F.; MARTINS, S.C.V.; ANTUNES, W.C.; CHAVES, A.R.M.; DAMATTA, F.M. Photosynthesis and photoprotection in coffee leaves is affected by nitrogen and light availabilities in winter conditions. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 167, n. 13, p. 1052–1060, 2010.

RAIJ, B.; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Secretaria de Agricultura e Abastecimento, APTA e IAC, 2001. 284p.

SESTARI, I. **Indução de tolerância de frutos às injúrias de frio: aspectos fisiológicos e bioquímicos**. 2010. 142p. Tese (Doutorado em Fisiologia e Bioquímica de plantas) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP. 2010.

SHIMIZU, M.M.; MAZZAFERA, P. A role for trigonelline during imbibition and germination of coffee seeds. **Plant Biology**, Stuttgart, v. 2, n. 6, p. 605-611, 2000b.

SHIMIZU, M.M.; MAZZAFERA, P. Compositional changes of proteins and amino acids in germinating coffee seeds. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 43, n. 3, p. 259-265, 2000a.

SUTTLE, J.C.; HULTSTRAND, J.F. Ethylene-induced leaf abscission in cotton seedlings: The physiological bases for age-dependent differences in sensitivity. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 95, n. 1, p. 29-33, 1991.

SUZUKI, T. Total nitrogen and free amino acids in *Morus alba* stems from autumn through spring. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 60, p. 473, 1984.

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

TEZOTTO, T. **Metabolismo e qualidade da bebida em cafeeiro expostos ao cádmio, níquel e zinco**. 2010. 123p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

TEZOTTO, T.; FAVARIN, J.L.; AZEVEDO, R.A.; ALLEONI, L.R.F.; MAZZAFERA, P. Coffee is highly tolerant to cadmium, nickel and zinc: plant and soil nutritional status, metal distribution and bean yield. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 125, p. 25-34, 2012.

WALKER, D.W.; GRAHAM, R.D.; MADISON, J.T.; CARY, E.E.; WELCH, R.M. Effects of Ni deficiency on some nitrogen metabolites in cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp). **Plant Physiology**, Lancaster, v.79 p. 474-479, 1985.

WINGLER, A.; ROITSCH, T. Metabolic regulation of leaf senescence: interactions of sugar signalling with biotic and abiotic stress responses. **Plant Biology**, Stuttgart, v. 10, p. 50-62 2008.

WINSTON E.C.; HOULT, M.; HOWITT, C.J.; SHEPHERD, R.K. Ethylene-induced fruit ripening in arabica coffee (*Coffea arabica* L.). **Australian Journal of Experimental Agriculture**, East Melbourne, v. 32 , p. 401-408, 1992. Disponível em : < <http://dx.doi.org/10.1071/EA9920401> >. Acesso em: 19 mar.2015.

WITTE, C.P. Urea metabolism in plants. **Plant Science**, Shannon, v. 180, p. 431-438, 2011.

YANG, J.; WANG, Z.; ZHU, Q. Photosynthetic characteristics, dry matter accumulation and its translocation in inter-subspecific hybrid rice. **Acta Agronomica Sinica**, Beijing, v. 23, p. 82-88, 1997.

ZHENG, Q.L.; NAKATSUKA, A.; ITAMURA, H. Extraction and characterization of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) synthase and ACC oxidase from wounded persimmon fruit. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, Tokyo. v. 74, p. 159-166, 2005.

ZHU, Q.; ZHANG, Z.; YANG, J.; WANG, Z. Source-sink characteristics related with the yield of inter-subspecific hybrid rice. **Acta Agronomica Sinica**, Beijing, v. 30, p. 52-59, 1997.

ZONIA, L.E.; STEBBINS, N.E.; POLACCO, J.C. Essential role of urease in germination of nitrogen-limited *Arabidopsis thaliana* seeds. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 107, p. 1097-1103, 1995.