

# TOXIDEX DE METAIS EM PLANTAS

## II. CARACTERIZAÇÃO DA TOXIDEX DE NÍQUEL EM CAFEIROS<sup>1</sup>

MARCOS A. PAVAN<sup>2</sup> E FRANK T. BINGHAM<sup>3</sup>

**RESUMO** - A toxidez de Ni em mudas de café (*Coffea arabica*, L., cv. Catuai Vermelho) foi determinada em solução nutritiva contendo doses crescentes deste metal. O desenvolvimento das mudas de café decresceu progressivamente com a adição de Ni na solução, nas concentrações de 0,0, 0,5 e 1,0 mg/l. Uma análise termodinâmica da solução em estudo revelou a ausência de fases sólidas nas condições do experimento e que a espécie predominante de Ni formava ligações iônicas com EDTA. Esta forma iônica de Ni na solução nutritiva pode ser correlacionada com a absorção e transporte pelas raízes do cafeeiro. Concentrações de Ni no terceiro par de folhas de café, variando de 30 a 40 e de 70 a 80 µg/g foram associadas com sintomas de toxidez médio e muito severo, respectivamente. Os sintomas de toxidez de Ni em mudas de café foram caracterizados inicialmente por cloroses e muitos pontos necróticos nas folhas jovens e nos internódios. Em um estágio mais adiantado de toxidez, as plantas apresentavam, além dos sintomas acima descritos, diminuição no tamanho das folhas e internódios, manchas necróticas nos pecíolos das folhas, e nos caules, desfolha e fenecimento. Observou-se, também, que o excesso de Ni na solução aumentou a absorção de Mn, Fe e Zn diminuiu a absorção de Ca e não afetou o Mg e o N-total nas folhas. Provavelmente Ni causou certo dano no sistema radicular facilitando a absorção de outros metais pesados como Mn, Fe e Zn. A concentração de clorofila total nas folhas diminuiu com o aumento de Ni na parte aérea das plantas. A equação de regressão para clorofila total das folhas (Y = mg/g) em relação ao Ni foliar (µg/g de Ni) foi:  $Y = 2,10 - 0,006$  (Ni foliar). Foi observado que qualquer concentração de clorofila no terceiro par de folhas de café abaixo de 2,0 mg/g de tecido verde era associada com clorose foliárea.

Termos para indexação: nutrição, plantas de café, micronutrientes, Cloroses.

### TOXICITY OF METALS IN PLANTS

#### II. CHARACTERIZATION OF NICKEL TOXICITY IN COFFEE

**ABSTRACT** - The objective was to determine and characterize toxicities of Ni in coffee (*Coffea arabica* L., cv. Catuai Vermelho) seedlings growing in solution culture with different amounts of Ni. Coffee growth decreased upon adding Ni to the solution culture at rates of 0.0, 0.5, and 1.0 mg/l. The thermodynamic analysis of the nutrient solution predicts no solid phases under the conditions of the experiment and the most predominant species of Ni in solution was bound with EDTA. Such ionic form of Ni in the nutritive solution is supposed to be correlated with its absorption and translocation by the roots of the coffee tree. Leaf Ni concentration of 30 to 40 and 70 to 80 µg Ni/g were associated with medium and very severe leaf toxicity symptoms respectively. Nickel toxicity symptoms include chlorosis and necrotic spots on younger leaves and internodes; leaves fall prematurely, dieback, and streak necrosis of the leaves, petioles and branches. Excess of Ni in solution increased leaf Mn, Fe, and Zn, decreased leaf Ca, but did not affect leaf Mg and total N. It seems reasonable to speculate that the Ni caused root damage which facilitated Mn, Fe, and Zn uptake. Total leaf chlorophyll decreased as leaf Ni increased. The regression equation for total leaf chlorophyll (Y = mg/g) as related to leaf Ni (µg Ni/g) was:  $Y = 2,10 - 0,006$  (leaf Ni). It was found that any value of chlorophyll content in the third pair of coffee leaves below 2 mg/g of fresh tissue was associated with leaf chlorosis.

Index terms: nutrition, coffee seedlings, micronutrients, chlorosis

### INTRODUÇÃO

Recentemente, tem aumentado o interesse em conhecer o efeito de metais de transições (microelementos e outros metais pesados) no meio ambiente, graças ao desenvolvimento de instrumentos para análises - como a absorção atômica - capazes de detectar traços desses metais que ocorrem na natureza.

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 10 de dezembro de 1981.

<sup>2</sup> Eng<sup>o</sup> Agr<sup>o</sup>, M.Sc., Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR), Caixa Postal 1331, CEP 86100 Londrina, PR.

<sup>3</sup> Ph.D., Professor of Soil Chemistry, Dept. of Soil Science, University of California, Riverside, CA 92521, USA.

A avaliação das interações metal-solo-planta é necessária para que se possam estabelecer condições adequadas para uma agricultura estável em solos ácidos com altos teores de metais em concentrações potencialmente tóxicas. Também deve ser considerada a possibilidade do uso, nos solos, de resíduos industriais e urbanos, que podem conter relativamente altas quantidades de Pb, Ni, Zn, Mn, Cu, Cr, Cd, Hg, Fe e Al, que são reciclados para o meio ambiente em formas mais solúveis.

Tem sido documentado que a toxidez de Ni em plantas ocorre mais freqüentemente em solos com reação ácida do que nos solos com reação neutra. Oertel (1946) sugeriu que a redução dos sintomas de toxidez e absorção de Ni produzido pela calagem dependem mais da redução da solubilidade de Ni na solução do solo com o aumento do pH, do que da nutrição de cálcio.

A interferência de Ni no metabolismo de ferro (Fe) induzindo deficiência deste metal tem sido bem documentada nos trabalhos de Chaney (1970) e Agarwala (1977). Aparentemente, o Ni interfere no aumento da absorção de Fe mas inibe o seu metabolismo.

Vanselow (1965) tabulou concentrações de Ni para várias espécies de plantas cultivadas. Ele publicou que, para a maioria das plantas em condições de campo, esses valores variavam de 0,05 a 5,0  $\mu\text{g}$  Ni/g de tecido vegetal. Bertrand & Mokragnatz (1930) publicaram que 0,38  $\mu\text{g}$  de Ni por grama de sementes de café era um valor típico da concentração deste metal no tecido analisado.

Como o uso de adubos orgânicos em cafezais é uma prática rotineira no programa de fertilização, têm-se feito muitas especulações quanto ao efeito, nas plantas, de resíduos industriais e urbanos que ora são produzidos no País. Esses resíduos podem conter concentrações altas de certos metais pesados, cuja solubilidade aumenta em pH ácido. Também tem-se especulado quanto ao efeito, nas plantas de café, de altas concentrações de certos metais, principalmente Al, Mn e Ni na solução de solos ácidos da região amazônica.

Embora haja algumas publicações referindo-se aos problemas de toxidez de metais em solos ácidos para muitas espécies de plantas cultivadas, são relativamente poucos os trabalhos publicados sobre o efeito tóxico desses elementos em cafeeiros. Por este motivo, planejou-se um experimento com mudas de café em solução nutritiva, objetivando-se estabelecer níveis críticos de Ni nos tecidos associados com o desenvolvimento da planta. Esses dados serão úteis para avaliar os possíveis danos na planta causados pelo me-

tal, que pode estar presente em formas solúveis e potencialmente tóxicas, tanto em certos solos ácidos como em resíduos industriais e urbanos aplicados em lavouras de café.

## MATERIAL E MÉTODOS

Mudas de café da cultivar Catuai Vermelho cresceram em solução nutritiva, intermitentemente aerada por um período de aproximadamente 12 meses em condições de casa de vegetação. As concentrações dos íons na solução nutritiva expressos em me/l foram: 8,0 NO<sub>3</sub>, 0,1 P, 3,0 K, 0,5 Ca, 0,25 Mg, 0,2 SO<sub>4</sub> e os micronutrientes expressos em mg/l foram: 0,05 B, 0,05 Mn, 0,005 Zn, 0,002 Cu e 0,005 Mo. Ferro foi adicionado na concentração de 2,5 mg/l na forma de EDTA. As soluções foram ajustadas diariamente no pH 4,5 ± 0,2 com adições de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> - ou HNO<sub>3</sub> e renovadas a cada 15 dias. As concentrações de Ni estudadas foram de 0,0, 0,5 e 1,0 mg/l adicionadas como NiSO<sub>4</sub>. Todos os reagentes químicos utilizados para este estudo eram puros para análises. Uma amostra de 50 ml de cada solução era coletada a cada três dias e uma apropriada alíquota utilizada para análise de Ni por absorção atômica com subsequente reajuste das concentrações de Ni aos níveis desejados. Os volumes das soluções nutritivas eram mantidos com adições automáticas de água deionizada. Esta técnica manteve as concentrações desejadas de Ni na solução com um erro padrão inferior a 5%.

Periódicamente, eram coletadas folhas de café e preparadas para análises de Ca, Mg, Mn, Zn e Ni por absorção atômica e B pelo método colorimétrico com solução de carmim (Bingham 1980). No mesmo período eram coletados tecidos frescos para análises de clorofila total, utilizando-se o método descrito em Association of Official Agricultural Chemists, Washington, EUA. (1950). No final do experimento, as mudas de café foram colhidas, separadas as folhas, caules e raízes, e lavadas em água deionizada, secadas, pesadas, moidas e preparadas para análises. Os tecidos foram digeridos em ácido nítrico e perclórico concentrados, segundo o método descrito por Gange & Page (1974) e analisados os mesmos elementos descritos acima.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso com dez repetições e as mínimas significâncias das médias foram determinadas pelo teste de Duncan.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Diferentes programas para computadores são disponíveis para a pesquisa, os quais podem calcular as

concentrações iônicas de metais e ligantes em uma solução aquosa. Um desses programas para computador, GEOCHEM (Sposito & Mattigod 1979), foi usado para calcular as concentrações das prováveis espécies iônicas na solução nutritiva em estudo, sendo as mesmas correlacionadas com a absorção pelas raízes do cafeeiro. Na Tabela 1 são apresentados os resultados das concentrações dos metais em forma livre e complexados com os principais ligantes na solução nutritiva usada para o presente estudo. Esses dados revelam que a forma predominante de Ni na solução formava um complexo com EDTA. Praticamente todos os cátions metais podem formar complexos muito estáveis com EDTA, cuja estabilidade pode ser alterada com a mudança da composição da solução. Por exemplo, - como no presente experimento -, quando as soluções são mantidas em pH 4,5 contendo o complexo Ni-EDTA, a dissociação aumenta, e o Ni pode formar diferentes complexos com outros ligantes. Portanto, as concentrações dos ligantes - principalmente daqueles que formam ligações químicas covalentes com Ni (ver o conceito de ácido-bases de Lewis, em Huheey 1972) em solução mantida em pH 4,5 - foram calculadas de modo que os complexos formados fossem minimizados.

Absorção de Ni pelas raízes do cafeeiro pode, portanto, ser correlacionada com a espécie iônica predominante na solução, ou seja Ni-EDTA, sendo a mesma proporcional à quantidade de Ni adicionada ao meio (Fig. 1). Esse resultado é oposto ao publicado por Dekock (1956), que mostrou que Ni, quando presente em forma de quelato, não era apreciavelmente absorvido pelas plantas. Com base nos resultados do presente experimento, podemos concluir que Ni em solução formando complexo com EDTA foi absorvido pelas raízes do cafeeiro, e que era altamente móvel na planta, acumulando-se primariamente nas folhas jovens. Tem sido publicado que o pH do fluido do xilema das plantas varia de 5,4 a 6,5 (Springer 1975).

Este valor de pH implicaria que uma grande porção dos grupos carboxílicos dos vasos do xilema estariam na forma R-COOH, e não na forma básica R-COO<sup>-</sup>. Este fato evidencia que seria de esperar que eles ocorressem com metais pesados ácidos relativamente menos complexos. Os dados do presente experimento mostraram também que Ni movimentou-se livremente no xilema como seria esperado de acordo com a teoria. Este fato não elimina a possibilidade de Ni ter sido transportado no xilema também na forma de quelato. Por outro lado, pH do floema varia usualmente de 7,8 a 8,4 (Springer 1975), o que sugeriria a forma

TABELA 1. Distribuição de Ni e ligantes na solução nutritiva mantida em pH 4,5 e PCO<sub>2</sub> = 10<sup>-3,5</sup> atm. Os dados são expressos em μM/l

Ni. adic. Solução mg/l	Ligações de Ni com						Espécies de Ni ligado/EDTA				Ni como metal livre	
	CO <sub>3</sub>	SO <sub>4</sub>	Cl	PO <sub>4</sub>	BOH <sub>4</sub>	NO <sub>3</sub>	OH	Ni EDTA <sup>-2</sup>	NiH EDTA <sup>-</sup>	NiOH EDTA <sup>-3</sup>		
.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
0,5	3,6 x 10 <sup>-10</sup>	6,0 x 10 <sup>-8</sup>	8,7 x 10 <sup>-15</sup>	2,0 x 10 <sup>-8</sup>	2,9 x 10 <sup>-11</sup>	6,2 x 10 <sup>-9</sup>	9,8 x 10 <sup>-12</sup>	6,3 x 10 <sup>-6</sup>	2,6 x 10 <sup>-7</sup>	17,0	17,0	2,7 x 10 <sup>-6</sup>
1,0	1,0 x 10 <sup>-9</sup>	1,9 x 10 <sup>-7</sup>	2,6 x 10 <sup>-14</sup>	5,4 x 10 <sup>-8</sup>	8,5 x 10 <sup>-11</sup>	1,8 x 10 <sup>-8</sup>	2,8 x 10 <sup>-11</sup>	1,3 x 10 <sup>-5</sup>	5,4 x 10 <sup>-7</sup>	34,7	34,7	7,8 x 10 <sup>-6</sup>

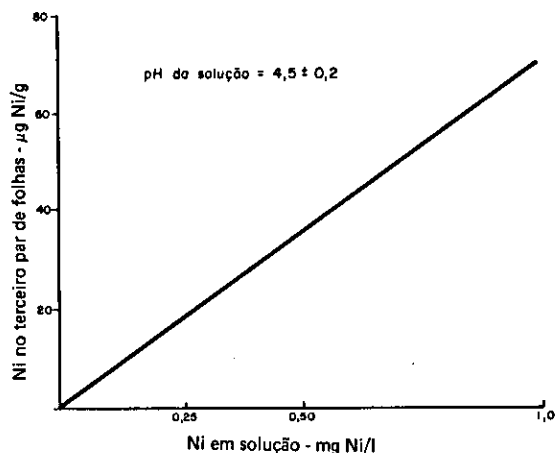


FIG. 1. Concentrações de Ni nas folhas em relação à concentração de Ni na solução nutritiva.

carboxílica predominante como R-COO, bem como formas básicas de grupos de proteínas e aminoácidos. Com base nesses dados, poder-se-ia pensar em uma relativa imobilização dos metais no floema. Este fato foi observado no experimento com o acúmulo de Ni nas folhas jovens. Além de uma imobilização orgânica no floema, ânions inorgânicos como  $\text{PO}_4^{3-}$  podem também precipitar alguns metais como Ni em condições alcalinas (Springer 1975).

Além dos efeitos diretos de Ni na planta, observou-se também que o aumento da concentração deste metal na solução resultou em um aumento da absorção de Mn, Fe e Zn, e na diminuição da absorção de Ca, sem afetar contudo, o B, Mg e N-total nas folhas (Tabela 2). As equações de regressão para Mn na folha ( $Y = \text{g Mn/g}$ ) e para Fe na folha ( $Y = \mu\text{g Fe/g}$ ) em função da concentração de Ni na solução ( $\mu\text{g Ni/l}$ ) foram, respectivamente, estas:

$$Y (\mu\text{g Mn/g}) = 232,06 + 241,07 (\text{Ni sol.}) (R = 0,971^{***})$$

$$Y (\mu\text{g Fe/g}) = 146,0 + 40,13 (\text{Ni sol.}) (R = 0,655^*)$$

Estes resultados permitem especular que Ni causou algum dano no sistema radicular, provavelmente na endoderme, facilitando a absorção de outros metais como Mn, Fe e Zn. Assim, o Ni, "per se", não apenas pode afetar o desenvolvimento normal das mudas de café, mas também pode aumentar significativamente a absorção e acúmulo de Mn nos tecidos foliares em concentrações tóxicas. Resultados similares do efeito de Ni no aumento da absorção de outros metais foram publicados por Williams (1967).

Observou-se, também, um efeito negativo de Ni nas folhas de café na concentração de clorofila total (Fig. 2). A equação de regressão para clorofila total no

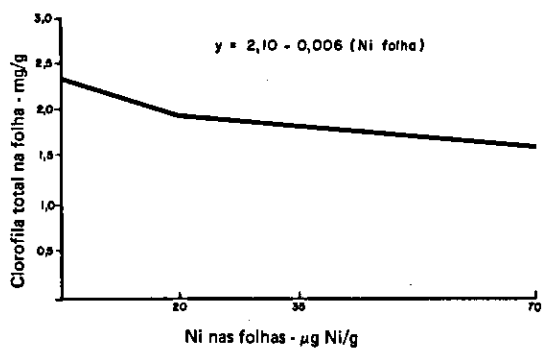


FIG. 2. Concentrações de clorofila total em relação à concentração de Ni no terceiro par de folhas de plantas de café.

terceiro par de folhas de ( $Y = \text{mg/g}$  de tecido verde) em função da concentração de Ni na folha ( $\mu\text{g Ni/g}$ ) foi  $Y = 2,10 - 0,006 (\text{Ni folha}) (R = 0,661^*)$ .

Uma concentração de Ni de  $36 \mu\text{g/g}$  no terceiro par de folhas foi associada com cloroses e reduzida concentração de clorofila total. Estas folhas, quando analisadas, apresentaram altos teores de Fe, os quais provavelmente estavam em uma forma metabolicamente não ativa (Bar-Akiva & Lavon 1968).

As mudas de café crescendo em solução nutritiva contendo 0,5 ou 1,0 mg Ni/l apresentavam concentrações de Ni no terceiro par de folhas, variando de 30 a 35 e 67 a  $70 \mu\text{g Ni/g}$ , respectivamente. Em ambos os casos, a concentração de clorofila no terceiro par de folhas foi sempre inferior a  $2 \text{ mg/g}$  de tecido verde e foi associada com sintomas de cloroses nas folhas. Concentrações de Ni no terceiro par de folhas de café de 30 a  $70 \mu\text{g/g}$  produziram sintomas de toxidez, médio e muito severo, respectivamente. Esses resultados são favoravelmente comparados com os valores críticos de Ni em folhas de citros publicados por Vanselow (1965). Ele observou que concentrações de  $55 \mu\text{g Ni/g}$  em folhas jovens eram tóxicas para os citros.

A altura e o peso seco das plantas diminuíram significativamente com o aumento da concentração de Ni na solução (Tabela 2). A equação de regressão para a altura das mudas de café ( $Y = \text{cm}$ ) em função da concentração de Ni na solução ( $\text{mg Ni/l}$ ) foi:

$$Y = 58,64 - 10,91 (\text{Ni sol.}) (R = 0,724^{**})$$

Os sintomas de toxidez de Ni incluem cloroses e muitos pontos necróticos nas folhas. Os sintomas cloróticos iniciaram nas folhas mais jovens e progrediram rapidamente para as folhas mais velhas, com o acúmulo de Ni na parte aérea das plantas. Os sinto-

TABELA 2. Análise da variância e médias das concentrações de Ni, Fe, Mn, B, Zn, Ca, Mg e N total no terceiro par de folhas, peso seco e incremento em altura das mudas de café em função das concentrações de Ni adicionadas na solução nutritiva.

Ni sol. mg/l	Concentrações no terceiro par de folhas								Peso seco g/planta	Incremento altura cm
	Ni µg/g	Fe µg/g	Mn µg/g	B µg/g	Zn µg/g	Ca %	Mg %	N-total %		
0,0	0,4 a	157 a	208 a	118 a	20,3 a	1,30 a	0,28 a	3,54 a	206,4 a	70,4 a
0,5	32,0 b	165 b	475 b	118 a	22,0 a	1,02 b	0,30 a	3,12 a	205,9 a	54,0 b
1,0	70,0 c	184 c	685 c	118 a	24,1 b	0,96 c	0,32 a	3,64 a	186,6 b	44,0 c

Fontes de  
variação

Ni sol.	***	***	***	NS	*	***	NS	NS	*	***
C.V. (%)	8,6	10,4	8,9	8,3	11,1	10,4	9,7	11,9	15,4	11,7

NS - Indica não significativo

\* - Indica significância ao nível de 0,05% de probabilidade.

\*\* - Indica significância ao nível de 0,01% de probabilidade.

\*\*\* - Indica significância ao nível de 0,001% de probabilidade.

As médias dentro da mesma coluna que não têm as letras em comum são significativamente afetadas pela adição de Ni na solução. Valores acompanhados da mesma letra, dentro da mesma coluna, não diferem significativamente entre si.

mas de toxidez tardios incluem, além da clorose foliar, pequenos pontos necróticos espalhados por todo o limbo; as folhas e entrenós ficam pequenos e insinuam deficiência de zinco, desfolha prematura e fenecimento. Observou-se, também, que as folhas que caíam prematuramente apresentavam manchas escuras tanto externamente como internamente por todo o pecíolo. Quando esses tecidos foram separados das folhas e analisados, os mesmos apresentavam concentrações de Ni superiores a 20% em relação às folhas.

Os resultados deste experimento indicaram que concentrações relativamente baixas de Ni em solução podem afetar o metabolismo normal da planta, e ser altamente tóxicos para mudas de café.

## REFERÊNCIAS

- AGARWALA, S.C.; BISCHT, S.S. & SHARMA, C.P. Relative effectiveness of certain heavy metals in producing toxicity and symptoms of iron deficiency in barley. *Can. J. Bot.*, 55:1299-307, 1977.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS, Washington, EUA. *Official*

*methods of analysis*. Washington, Henry A. Lepper, 1950. p.111-5.

- BAR-AKIVA, A. & LAVON, R. Peroxidase activity as an indicator of the iron requirement of citrus trees. *Israel J. Agric. Res.*, 18:144-53, 1968.
- BERTRAND, G. & MOKRAGNATZ, M. On the distribution of nickel and cobalt in plants. *Bull. Soc. Chem. France (4 ser)*, 47(3):326-31, 1930.
- BINGHAM, F.T. Boron. In: American Society of Agronomy, Madison, EUA. *Methods of soil Analysis*. Madison, Wisc., 1980 (ASA Monograph 9).
- CHANEY, R.L., Effect of nickel on iron metabolism by soybeans. Lafayette, Ind, Purdue University, 192p. Ph.D. Thesis. *Diss. Abstr. Int.* 31: 1692-3, 1970.
- DEKOCK, P.C. Heavy-Metal toxicity and iron chlorosis. *Ann. Botany, London* 20:133-41, 1956.
- GANGE, T.J., & PAGE, A.L. Rapid acid dissolution of plant tissue for cadmium determination by atomic absorption Spectrophotometry. *At. Absorpt. News*, 13:131-4, 1974.
- HUHEEY, J. *Inorganic Chemistry. Principles of Structure and reactivity*. N.Y., Harper and Row, Publishers, 1972.

- OERTEL, A.C.; PRESCOTT, J.A. & STEPHEN, C.G. The influence of soil reactions in the availability of Mo to clover. *Aust. J. Soil* 9:27-8, 1946.
- SPOSITO, G. & MATTIGOD, S.V. GEOCHEM; A computer program for the calculations of chemical equilibria in soil solutions and other natural water systems. Cincinnati, Ohio, U.S.E.P.A. Ppt., Environmental Protection Agency, 1979. Inpress.
- SPRINGER, V. *Encyclopedia of Plant Physiology. Transport in Plants - Phloem Transport*. Zimmermann, Milburn, editors, 1975. v.1. New Series
- VANSELOW, A.P. Nickel. In: CHAPMAN, H.D. ed. *Diagnostic Criteria for Plants and Soils*. Abilene, Texas, Quality Printing Co., Inc., 1965. p.302-9.
- WILLIAMS, P.C. Nickel, iron, and manganese in the metabolism of the oat plant. *Nature*, 214:628, 1967