

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

NÍVEL CRÍTICO DE NÍQUEL NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE SOJA

CAIO SILVA SANTOS

Orientador: Prof. Dr. Renato de Mello Prado

Coorientadores: Dra. Gelza Carliane Marques Teixeira

M.Sc José Lucas Farias da Silva

Trabalho apresentado à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, Campus de Jaboticabal, para graduação em ENGENHARIA AGRÔNOMICA.

Jaboticabal - SP

1° semestre/2023

S237n Santos, Caio Silva
Nível crítico de níquel para tratamento de sementes de soja /
Caio Silva Santos. -- Jaboticabal, 2022
33 p. : tabs., fotos

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Engenharia
Agrônômica) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientador: Renato de Mello Prado
Coorientadora: Gelza Carliane Marques Teixeira

1. Níquel. 2. Soja. 3. Tratamento de sementes. 4. Nutrição
de plantas. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo
autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

DEPARTAMENTO: CIÊNCIAS DA PRODUÇÃO AGRÍCOLA

CERTIFICADO TRABALHO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

TÍTULO : NÍVEL CRÍTICO DE NÍQUEL NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE SOJA

ACADÊMICO: CAIO SILVA SANTOS

CURSO: ENGENHARIA AGRONÔMICA

ORIENTADOR : RENATO DE MELLO PRADO

PERÍODO : 11/2020 À 02/2022

Este trabalho é recomendado para compor a base de dados CAPELO. Sim Não

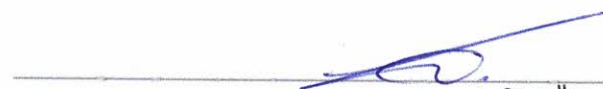
BANCA EXAMINADORA:

Presidente Renato de Mello Prado
Membro Dilier Olivera Viciedo
Membro Livia Tálita Da Silva Carvalho




Jaboticabal 11 / 09 / 2022

Aprovado em reunião do Conselho do Departamento em: 28 / 09 / 2022


Prof. Dr. Leonardo Bianco de Carvalho
Chefe do Depto. de Ciências da Produção Agrícola
FCAV/UNESP

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

CAIO SILVA SANTOS, natural de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil, com nascimento em 1 de janeiro de 1996, filho de Regina Mara e David Vitaliano. Nessa cidade do interior de São Paulo, cresceu e estudou no seu ensino fundamental e em parte do médio “Ateneu Barão de Mauá”, concluindo o ensino médio no “SEB COC – Unidade Lafaiete”. Em 2015 ingressou no curso de Engenharia Agrônômica pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Campus de Jaboticabal.

Dedico

Aos meus pais David Vitaliano dos Santos e Regina Mara Silva Santos, e à minha irmã Gabriela Silva Santos, por sempre estarem comigo, apoiando, ajudando, tanto fisicamente quanto emocionalmente e por sempre acreditarem no meu potencial.

AGRADECIMENTOS

À minha família, que me apoiou durante toda a minha graduação, nos momentos bons e ruins.

A Deus, a consciência superior inalcançável ordenadora, que me guia e preza pelo meu bem e me faz acreditar sempre que as coisas conspiram para uma espécie de melhor no qual muitas vezes ainda não compreendo.

Aos amigos que guardo no meu barco da vida passageira, com grandes lembranças do que foi vivido até aqui, meus irmãos de república, a gloriosa República Litrasso, lugar que para todo sempre será um lar pra mim.

Aos meus coorientadores que, mesmo com as adversidades da pandemia, não podendo ter o contato presencial, sempre foram atenciosos comigo, Gelza Carliane Marques Teixeira e José Lucas Farias da Silva. Agradeço por todo o apoio, orientação e por terem me ensinado tanto. Muito obrigado por me passarem seus conhecimentos, e me auxiliarem em todas as minhas dúvidas.

Ao Professor Doutor Renato de Mello Prado, pela orientação e pela oportunidade da realização deste trabalho, minha profunda admiração e respeito e inspiração em pessoa na área da Engenharia Agronômica e na vida.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, por ter toda a estrutura e oportunidade para adquirir o máximo de conhecimento, e por ter profissionais de excelência para nos passar todo seu conhecimento.

A todas as pessoas que fizeram parte da minha formação até aqui, meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

1. RESUMO	vi
2. ABSTRACT	vii
3. INTRODUÇÃO	8
4. REVISÃO DE LITERATURA	9
4.1 Níquel na fixação biológica de nitrogênio.....	9
4.2 Toxicidade de níquel em soja	10
4.3 Tratamento de sementes de soja.....	11
5. MATERIAL E MÉTODOS	12
5.1 Material vegetal e condições de crescimento	12
5.2 Tratamentos e delineamento experimental	12
5.3 Análises realizadas	13
5.3.1 Conteúdo de clorofilas e carotenoides.....	13
5.3.5 Compostos fenólicos.....	14
5.3.6 Altura da planta, diâmetro do caule, número de folhas e número de ramos	14
5.3.7 Massa seca da parte aérea e das raízes	15
5.3.8 Acúmulo de N na parte aérea	15
5.3.9 Eficiências de absorção, translocação e uso de N.....	15
5.4 Análise estatística	16
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
8. CONCLUSÕES	26
REFERÊNCIAS	26

1. RESUMO

A soja (*Glycine max* L.) é uma das culturas oleaginosas de maior importância econômica e mais cultivada no mundo. Diversos fatores podem influenciar a produtividade na cultura da soja, dos quais se destacam o suprimento inadequado de micronutrientes, principalmente relacionados à fixação biológica de nitrogênio (N). Entre eles, insere-se o níquel (Ni) que desempenha papéis essenciais no desenvolvimento, crescimento e mecanismos de defesa da planta, mas pode causar efeitos tóxicos em altas concentrações. O tratamento de sementes de soja com Ni visando a produtividade da cultura da soja vem se destacando. O objetivo deste estudo foi determinar o nível crítico de toxicidade do Ni aplicado via tratamento de sementes na nutrição e na produtividade da cultura. O experimento foi realizado em casa de vegetação. Os tratamentos consistiram na aplicação de 5 doses de Ni via tratamento de sementes: 0; 1,75; 3,5; 5,25 e 7 g ha⁻¹. Foram analisados o conteúdo de clorofilas e carotenoides, a eficiência quântica do fotossistema II (PSII) (Fv/Fm), os índices de coloração verde e de extravasamento de eletrólitos, compostos fenólicos, altura da planta, diâmetro do caule, número de folhas e número de ramos, massa seca da parte aérea e das raízes, acúmulo de Ni e N, bem como as eficiências de absorção, translocação e uso de N. A aplicação de doses 2,4 e 3,0 g ha⁻¹ de Ni aumentou o acúmulo de Ni na parte aérea das plantas. Foi observado efeito tóxico associado ao uso de altas doses de Ni, na eficiência de absorção de N que diminuiu em 0,35 e 8,4% nas doses de 5,25 e 7 g ha⁻¹. A aplicação do Ni diminuiu o índice de extravasamento de eletrólitos celulares até o valor de 7,83% na dose de 2,3 g ha⁻¹. O número de nódulos aumentou com a aplicação de 3,2 g ha⁻¹ de Ni e o aumento da dose diminuiu o número de folhas, diâmetro do caule e a altura das plantas, sendo recomendadas doses entre 2,4 e 2,5 g ha⁻¹. O nível crítico de toxicidade do nutriente em plantas de soja ocorre nas doses de 5,25 e 7 g ha⁻¹.

Palavras-chave: Fitotoxicidade, fixação biológica de nitrogênio, micronutrientes, nitrogênio, *Glycine max* L.

2. ABSTRACT

Soybean (*Glycine max* L.) is one of the most economically important and most cultivated oilseed crops in the world. Important factors can influence the efficiency of the culture, in which the important ones related to the harmful culture (N) stand out. Among them, protection (Ni) is inserted, which can work as a protection against development, but can cause toxic effects in high protection. The treatment of soybean seeds with Niterói the productivity of the soybean crop has been highlighted. The objective of this study was to determine the critical level of toxicity of Ni applied via seed treatment on nutrition and crop yield. The experiment was carried out in a forest house. The treatments consist of the application of 5 doses of Ni via seed treatment: 1.75; 3.5; 5.25 and 7 g ha⁻¹. The chloroid content, the quantum efficiency of photos II (PSII) (PSII), the identification indices, green number and extra diameters, carotenoids, height, electron stem diameters of leaves The application of doses 2, 4 and 3.0 g ha⁻¹ of Ni increased the accumulation of this micronutrient in the aerial part of the plants. It was associated with the use of high doses of Ni-Toxic in the absorption of N that had a toxic effect, in 8.4% and 8.4% of doses of 5.2 g ha⁻¹. The application of Ni8 the hydrolyte compound index of cell extravasation up to the value of 7.3% at a dose of 2.3 g ha⁻¹. The number of leaves increased, increasing the doses1 with the number of Ni plants and the height increased by 3.2 g with the number of plants of 1. The critical level of nutrient toxicity in soybean plants occurs at doses of 5.25 and 7 g ha⁻¹.

Keywords: Biological fixation, micronutrients, nitrogen, phytotoxicity, productivity

3. INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* L.) é uma das culturas oleaginosas mais cultivadas no mundo, devido ao alto teor de proteína (36-40%) e de óleo (18-20%) nas sementes (Lima et al., 2015). O cultivo da soja também é considerado uma das atividades mais econômicas do mercado nacional e internacional, e uma das maiores culturas produzidas voltadas ao consumo humano (Li et al., 2010; Nomura, 2019; Oliveira et al., 2018). Dessa forma, a soja tornou-se uma das mais importantes *commodities* em todo o mundo, desempenhando um papel fundamental na segurança do abastecimento alimentar global.

Segundo a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) a safra de soja é a quarta maior mundialmente com área de plantio de cerca de 123 milhões de hectares em 2021 (Feng et al., 2021). De acordo com os dados referentes ao ano de 2020, o Brasil se consagrou como o maior produtor mundial de soja, com produção de 124,9 milhões de toneladas de grãos sendo a região Centro-Oeste a maior produtora nacional, com 60,69 milhões de toneladas. (CONAB, 2020).

O suprimento inadequado de nutrientes, sobretudo, de nitrogênio (N) pode diminuir a produtividade na cultura da soja. A fixação biológica de nitrogênio (FBN) é o processo responsável por suprir a demanda de nitrogênio (N) a partir da absorção de N atmosférico (N₂) com participação de bactérias do gênero *Bradyrhizobium*, possui um papel importante na cultura da soja (Salvagiotti et al., 2008). A fixação máxima de N₂ ocorre entre os estágios R3 e R5 do desenvolvimento da soja, e problemas que eventualmente ocorram entre a demanda de N da cultura e o suprimento de N pela fixação de N₂, como a deficiência de níquel (Ni), limitam a eficiência desse processo biológico (Zapata et al., 1987; Zobiolo et al., 2010).

O Ni desempenha papéis essenciais no desenvolvimento, crescimento e mecanismos de defesa da planta (Fabiano et al., 2015; Rizwan et al., 2017). Constitui a metaloenzima urease, que é uma enzima que catalisa a degradação da ureia em dióxido de carbono (CO₂) e amônia (NH₃), desempenhando um papel importante para o metabolismo do N nas plantas, gerando mais eficiência e produtividade das culturas (Rodak et al., 2013). Segundo Murrer et al. (2012), o Ni pode atuar na síntese de fitoalexinas, na qual atua na planta como fator de resistência frente a doenças. Em contrapartida, o Ni em níveis elevados causa toxicidade e mostra efeitos adversos no

crescimento, impedindo a absorção de nutrientes, destruindo o fotossistema e a integridade da membrana, afetando o metabolismo do N e acelerando a clorose, necrose e senescência nas plantas (Yusuf et al., 2011; Küpper e Andresen, 2016).

A adição de Ni vem se mostrando como uma prática benéfica para a cultura da soja, levando em consideração a frequente escassez de níveis adequados deste nutriente no solo (Mercante et al., 2001). Os micronutrientes podem ser aplicados ao solo, pulverizados via foliar ou adicionados como tratamento de sementes (Farooq et al., 2012). O tratamento de sementes tem sido indicado como a melhor opção do ponto de vista econômico, especialmente pelo fato do uso de baixas doses do nutriente e por proporcionar maior facilidade e uniformidade nas aplicações (Conceição et al., 2020).

Por tanto, tendo em vista a importância do Ni para um bom desempenho da cultura da soja, aliado à necessidade de se estabelecer uma dosagem ideal para o seu uso no tratamento de sementes. O presente trabalho tem por objetivo determinar o nível crítico de toxicidade do nutriente aplicado via tratamento de sementes, visando proporcionar maior eficiência na nutrição e na produtividade da cultura.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1 Níquel na fixação biológica de nitrogênio (FBN)

O Ni é o 23^o elemento mais abundante na crosta terrestre. A concentração total de Ni nos solos varia amplamente, de 5 a 500 mg kg⁻¹, com um valor médio de 40 mg kg⁻¹ (Liu et al., 2011). O Ni foi recentemente incluído na regulamentação brasileira de fertilizantes pela Instrução Normativa nº 5 de 23 de fevereiro de 2007, emitida pelo Ministério da Agricultura (Brasil, 2014), mas até o momento não há recomendações oficiais para seu uso em programas de fertilização (Rodak et al, 2013).

Este elemento é um componente chave de enzimas selecionadas envolvidas no metabolismo e fixação biológica de N e é considerado um ultra-micronutriente que se acumula nos órgãos ou tecidos das plantas, como as folhas (Freyermuth et al., 2000). Esse micronutriente é constituinte funcional de sete enzimas, muitas das quais estão presentes em sistemas bacterianos e animais, sendo amplamente distribuído em plantas superiores (Marschner, 2003). A urease, a sétima enzima, catalisa a clivagem

hidrolítica da ureia para fornecer amônia e dióxido de carbono. O Ni funciona como um cofator para permitir que a urease catalise esta conversão (Kutman et al., 2013).

O Ni é essencial para o simbiote fixador de nitrogênio, *Bradyrhizobium* spp. A FBN é uma das alternativas mais eficazes para reduzir o uso excessivo de fertilizantes nitrogenados e melhorar a nutrição das plantas, bem como, para reduzir os impactos ambientais (Campo et al., 2009). As pesquisas têm avançado para melhorar a interação das plantas de soja com bactérias do gênero *Bradyrhizobium*, as quais são altamente eficientes na promoção da FBN. Através da infecção do sistema radicular, eles formam nódulos dentro dos quais os bradirizóbios reduzem o N₂ a NH₃ (González-Guerrero et al., 2014). O Ni está envolvido na expressão e biossíntese da hidrogenase, importante para a nodulação e a FBN em soja, sendo que um suprimento adequado de Ni pode aumentar ambos os processos na planta (Klucas et al., 1983; Ureta et al., 2005).

Mesmo com alguns trabalhos apontando a importância dos aspectos nutricionais do fornecimento de enxofre (S), ferro (Fe), cobalto (Co) e molibdênio (Mo) para a fixação biológica de nitrogênio (Hungria et al., 2006; Campo et al., 2009), poucos estudos reportam o efeito de Ni via sementes em soja.

4.2 Deficiência e toxicidade de níquel em plantas de soja

O Ni é um metal pesado, assim como o cádmio (Cd), o chumbo (Pb) e o mercúrio (Hg), mas, ao contrário destes elementos considerados tóxicos, ele é componente das enzimas vegetais. Pequenas quantidades de Ni (0,01 a 5 µg/g peso seco) são essenciais para algumas espécies de plantas. Porém, altas concentrações de Ni podem se tornar tóxicas para as plantas (Seregin e Kozhevnikova, 2006; Mir et al., 2018; Lavres et al., 2016).

A deficiência de Ni causa baixa atividade da urease levando à perturbação do metabolismo do N e ao acúmulo de níveis tóxicos de ureia na parte aérea. Isso promove necrose nas pontas das folhas ou clorose nas folhas mais velhas (Krogmeier et al., 1989). Por outro lado, o acúmulo excessivo de Ni nas plantas resulta em crescimento anormal da raiz e lesões necróticas, clorose e enrolamento nas folhas (Yusuf et al., 2011). Além disso, a toxicidade de Ni pode acelerar a produção de espécies reativas de oxigênio, as quais são responsáveis por induzir o estresse oxidativo, causando

danos a lipídios, proteínas e moléculas de DNA (Küppler e Andresen 2016; Sirhindi et al. 2016).

4.3 Tratamento de sementes de soja

A qualidade das sementes de soja vem recebendo cada vez mais atenção em todos os aspectos, sendo requerida e valorizada (Abrass, 2019). Fatores como as características fisiológicas (vigor e germinação), sanidade, pureza física e varietal das sementes podem influenciar na qualidade e no desempenho destas no campo, o que acaba tendo efeitos diretos sobre a produtividade (Krzyzanowski, 2018). Quando as sementes apresentam alto vigor, promovem rápida germinação e emergência de plântulas (França-Neto et al., 2016).

O tratamento de sementes pode ser feito de diversas formas, como com inseticidas que possuem atuação fisiológica nas plantas, fungicidas e nutrientes com tendência ao estabelecimento do crescimento vigoroso e com melhor aproveitamento do seu potencial produtivo (Parisi e Medina, 2013). Esse crescimento é conhecido como efeito fitotônico, que é caracterizado pelas vantagens no crescimento e no desenvolvimento das plantas (Castro et al., 2008). O surgimento de novos produtos para a incorporação de aditivos às sementes aumenta a cada ano. No entanto, pouco se sabe sobre o real efeito desses produtos à base de hormônios, micronutrientes, aminoácidos e vitaminas na qualidade fisiológica das sementes e na produtividade das culturas (Ferreira et al., 2007).

O tratamento de sementes com Ni tem sido recomendado para FBN, mas ainda não existe recomendação para doses de Ni ótimas e tóxicas para tratamento de sementes de soja (Lavres et al., 2016; Shahzad et al., 2018). A maioria dos estudos relata a adição desse elemento no solo ou solução nutritiva (Kutman et al., 2013), aplicação foliar (Nyczepir e Wood, 2012).

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Material vegetal e condições de crescimento

O experimento foi realizado em casa de vegetação na Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de Jaboticabal, com o plantio ocorrendo em novembro de 2020, utilizando sementes de soja da cultivar 74I77RSF IPROS2.

5.2 Tratamentos e delineamento experimental

Os tratamentos consistiram na aplicação de doses de Ni: 0; 1,75; 3,5; 5,25 e 7 g ha⁻¹ via tratamento de sementes. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com 4 repetições. As doses de Ni foram definidas conforme a usada por Lavres et al. (2016), que indica uso de 0,045 g kg⁻¹. A fonte utilizada foi o quelato de níquel com Ni: 5,25% (p/p) equivalente a 52,5 g kg⁻¹ com densidade de 1,25 kg L⁻¹.

A aplicação do produto foi realizada nas sementes previamente a semeadura, sendo o produto diluído em água destilada para melhorar o recobrimento da superfície das sementes e misturado de forma homogênea.

A unidade experimental constitui-se de um vaso de 1,7 dm³ preenchido com amostras de um Neossolo Quartzarênico (Andrioli & Centurion, 1999), coletado do horizonte Ap. Realizou-se a análise química do solo para fins de fertilidade, de acordo com o método descrito por (Raij et al., 2001), apresentando os seguintes resultados: pH (CaCl₂): 4.3, matéria orgânica: 9.0 g dm⁻³, P (resina): 2 mg dm⁻³, B: <0.12 mg dm⁻³, Cu: 0.2 mg dm⁻³, Fe: 9.0 mg dm⁻³, Mn: 1.7 mg dm⁻³, Zn: 0.4 mg dm⁻³, Ca: 3.0 mmol_c dm⁻³, Mg: 1.0 mmol_c dm⁻³, K: 0.3 mmol_c dm⁻³, H+Al: 16.0 mmol_c dm⁻³, soma de bases (SB): 4.3 mmol_c dm⁻³, capacidade de troca de cátions (CTC): 20.3 mmol_c dm⁻³ e saturação por bases (V: SBx100/CTC): 21.0%. O teor de Si foi de 1.0 mg dm⁻³, determinado usando cloreto de cálcio a 0,01 mol L⁻¹ como extrator (Korndörfer et al., 2004).

Foi realizada aplicação de calcário (PRNT: 125; CaO: 48%; MgO: 16%) 60 dias antes da semeadura, objetivando elevar a saturação por bases (V) a 60%. O calcário foi incorporado ao volume total de solo e os vasos foram mantidos em 70% da capacidade de retenção de água no solo. Juntamente com aplicação do calcário foi realizado a incorporação de 200 mg dm⁻³ de P na forma de superfosfato simples.

A semeadura foi realizada diretamente nos vasos utilizando-se cinco sementes por vasos. Após o quinto dia, as plantas atingiram a fase de emergência plena, sendo realizado o desbaste e mantendo duas plantas por vaso. Na semeadura foi realizado a fertilização com K, B e Zn nas doses 150, 2 e 4 mg dm⁻³, utilizando cloreto de potássio, ácido bórico e sulfato de zinco, respectivamente. A aplicação desses fertilizantes foi realizada através de fertirrigação com lâmina de 5 mm.

Foi realizado aplicação de inoculante contendo estirpes de *Bradyrhizobium elkanii* (Biomax® premium) na dose de 720 mL por 200 L via sulco de semeadura. As plantas foram irrigadas diariamente mantendo o nível de saturação de água no solo em 70% da capacidade de retenção.

O período de condução dos experimentos foi de 30 dias avaliando os efeitos na fase de plântula e no crescimento inicial da cultura.

5.3 Análises realizadas

5.3.1 Conteúdo de clorofilas e carotenoides

Para a análise dos pigmentos, foram coletadas amostras de massa fresca do terço médio do limbo foliar da primeira folha completamente desenvolvida. As amostras foram pesadas e submersas em acetona à 80% contida em frascos previamente cobertos com papel alumínio, permanecendo nessa solução até a completa descoloração. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Beckman DU 640) a 663 nm para clorofila *a* (Chl *a*), 647 nm para clorofila *b* (Chl *b*) e 470 nm para carotenoides. Os valores obtidos foram utilizados para o cálculo de concentração dos pigmentos, seguindo as equações proposta por (Lichtenthaler, 1987), expressos em mg g⁻¹ de massa fresca.

5.3.2 Eficiência quântica do fotossistema II (PSII) (Fv/Fm)

As medições do rendimento quântico do PSII, representada pelos valores de Fv/Fm, foram realizadas entre 7 e 8 horas da manhã. Para tal, as folhas foram submetidas a um período de adaptação ao escuro usando pinças do aparelho por um período de 30 minutos. A fluorescência máxima e variável foi avaliada por excitação

desencadeada por uma luz vermelha pulsante com intensidade de saturação de 3500 μmol . A eficiência quântica do PSII foi determinada pelo cálculo da razão entre fluorescência máxima e variável, conforme proposto por Lichtenthaler et al. (2005). As medidas foram realizadas na primeira folha completamente desenvolvida utilizando um fluorômetro portátil (Opti-sciences – Os30P)

5.3.3 Índice de coloração verde

A estimativa do índice de coloração verde foi determinada usando o medidor de clorofila Opti-sciences® CCM – 200, considerando uma média de três leituras na porção mediana da primeira folha completamente desenvolvida.

5.3.4 Índice de extravasamento de eletrólitos

Na quantificação dos danos causados à integridade das membranas celulares, foi utilizado o método da determinação do índice de extravasamento de eletrólitos, proposto por (Dionisio-Sese and Tobita, 1998). Para tal, foram coletados dez discos foliares da primeira folha completamente desenvolvida e emergidos em água deionizada por 2 horas, sendo a condutividade elétrica (EC_1) da solução lida usando um medidor de condutividade (TDS-3). As amostras foram autoclavadas a 121°C por 20 min e após o resfriamento a condutividade elétrica final (EC_2) foi obtida. O extravasamento de eletrólitos foi determinado considerando a fórmula: $EC_1/EC_2 \times 100$.

5.3.5 Compostos fenólicos

A extração dos compostos fenólicos totais foi realizada utilizando amostras de folhas frescas, que foram imersas em metanol concentrado e mantida no escuro por 3 horas. O teor de fenóis totais foi determinado por reação colorimétrica induzida por folin-ciocalteau 2 N e carbonato de sódio 20%, com leitura em espectrofotômetro a 765 nm (Singleton & Rossi, 1965).

5.3.6 Altura da planta, diâmetro do caule, número de folhas e número de ramos

A altura de plantas foi avaliada utilizando régua graduada, considerando desde a base da planta até o topo das plantas. O diâmetro do caule foi determinado com o uso de paquímetro digital à 2 cm da base da planta. O número de folhas e de ramos foi obtido a partir da contagem das folhas completamente expandidas e dos ramos laterais.

5.3.7 Massa seca da parte aérea e das raízes

O material vegetal foi separado em parte aérea e raízes, lavado em água corrente e depois submerso em uma solução de detergente neutro (0,1% v/v) e solução de ácido clorídrico (0,3% v/v) e novamente em água deionizada. O material vegetal foi seco em estufa de circulação forçada de ar ($65 \pm 5^\circ\text{C}$) até atingir massa constante e foram pesados.

5.3.8 Acúmulo de Ni na parte aérea

O Ni foi determinado por espectrofotometria de absorção atômica com após digestão via seca. O material vegetal seco e moído foi pesado (0,5 g) em cadinhos de porcelana e levado à forno mufla a 500°C durante 6 horas. Posteriormente, as cinzas foram dissolvidas completando o volume final para 25 mL usando uma solução de ácido nítrico diluída (Merck®) (5% v/v) (300 mL de HCl e 100 mL de HNO_3 em 1 L de água pura) (Jones e Case, 1990).

No extrato obtido, realizou-se a determinação dos teores de Ni por espectrofotometria de emissão ótica em plasma induzido (ICPMS). Com base no teor e na matéria seca foram determinados o acúmulo em cada parte da planta.

5.3.9 Acúmulo de N na parte aérea

Os teores de N na parte aérea e raízes foram determinados a partir de digestão de amostras de material vegetal conforme os métodos descritos por (Bataglia et al., 1983). Com base no teor e na matéria seca foram determinados o acúmulo em cada parte da planta.

5.3.10 Eficiências de absorção, translocação e uso de N

As eficiências nutricionais das plantas foram obtidas utilizando dados de acúmulo e a massa seca, seguindo indicação de (Fageria and Baligar, 2005). Para isso, utilizaram-se fórmulas para cálculo da eficiência de absorção (acúmulo na planta inteira/massa da raiz), translocação ((acúmulo da parte aérea/acúmulo na planta inteira) x 100) e uso ((massa seca da planta inteira)²/ acúmulo da planta inteira).

5.4 Análise estatística

Os dados foram submetidos a uma análise de variância unidirecional (ANOVA) pelo teste F ($p \leq 0,05$) após verificação da normalidade (teste W de Shapiro-Wilks) e homogeneidade das variâncias (Teste de Bartlett).

As doses testadas foram analisadas por meio de modelos matemáticos de regressão polinomial e exponencial com três parâmetros (modificado por Gaussian):

$$\hat{y} = a e^{[\left(\frac{X-X_0}{b}\right)^2]}$$

em que: \hat{y} = parâmetro analisado; a = valor de máximo de \hat{y} ; X_0 = valor de X que proporciona o máximo em \hat{y} ; e b = amplitude no valor de X . Os gráficos foram elaborados usando o software SigmaPlot®.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A aplicação de doses de Ni via semente aumentou linearmente o acúmulo desse micronutriente na parte aérea das plantas de soja, variando de 4,6 a 12,7 μg por planta da dose de 0 a 7 g ha^{-1} de Ni. A taxa de acúmulo de Ni na parte aérea das plantas foi de 1,04 μg por planta por g ha^{-1} de Ni aplicado via semente (Figura 1). A concentração de Ni em soja é dependente do genótipo e da forma de aplicação (Yusuf et al., 2011; Freitas et al., 2018). A aplicação de Ni via tratamento de sementes resultou em aumento no acúmulo desse micronutriente, demonstrando que a estratégia de tratar as sementes de soja com Ni antes do plantio é eficiente para aumentar o acúmulo de Ni em soja na fase inicial de crescimento (Lavres et al., 2016).

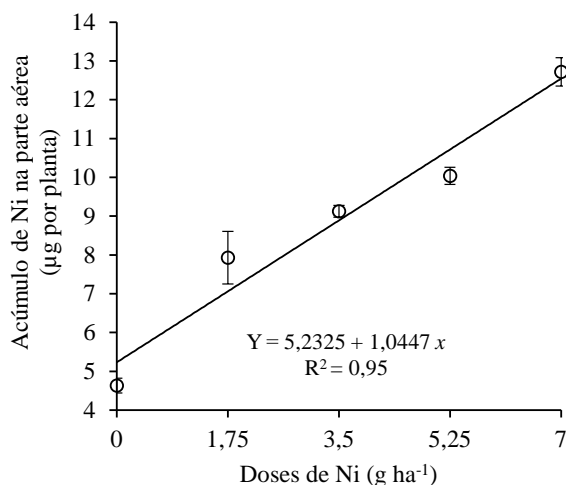


Figura 1. Acúmulo de níquel (Ni) na parte aérea de plantas de soja cultivadas sob doses de Ni: 0, 1,75, 3,5, 5,25 e 7 g ha⁻¹ aplicado via semente. Barras representam o erro padrão da média, $n=4$.

O fornecimento de doses de Ni via semente interferiu no acúmulo de N na parte aérea e nas raízes. O maior acúmulo de N na parte aérea e nas raízes foi de 105,4 e 15 mg por planta nas doses de 2,4 e 3 g ha⁻¹ de Ni, respectivamente (Figura 2a-b). A dose de Ni é um fator importante no aumento da concentração de N em folhas ou grãos de soja, além do aumento na eficiência da atividade da urease (De Macedo et al., 2016). Lavres et al. (2016) observaram que a aplicação de Ni em soja via sementes aumenta a concentração de macronutrientes, sendo o aumento da concentração de N ocorrendo de forma linear.

As maiores doses utilizadas causaram efeito tóxico as plantas, com diminuição no acúmulo de N na parte aérea de 2,2 e 17,3% nas doses de 5,25 e 7 g ha⁻¹ de Ni, respectivamente, em relação as plantas oriundas de sementes não tratadas com Ni (Figura 2a). Já no acúmulo de N nas raízes as perdas foram de 16,1% na dose de 7 g ha⁻¹ de Ni, em relação as plantas da dose 0 g ha⁻¹ (Figura 2b). De acordo com Freitas et al. (2018), a taxa de translocação de N e Ni são dependentes das propriedades específicas do fenótipo de soja. Nesta pesquisa, pode-se mostrar que a dose de Ni também tem papel importante no acúmulo de N. Contudo, o uso de altas doses de Ni causam efeitos prejudiciais ao metabolismo de N nas plantas de soja.

As eficiências nutricionais de N também sofreram efeito do tratamento das sementes de soja com doses de Ni. A eficiência de absorção de N aumentou até o valor de 4.148,6 mg g⁻¹ na dose de 2,7 g ha⁻¹ (Figura 2c). A máxima eficiência de translocação

de N observada foi de 88,3% na dose de 2,4 g ha⁻¹ (Figura 2d). Já a maior eficiência de uso de N foi de 154,9 g g⁻¹ obtida na dose de 2,0 g ha⁻¹ (Figura 2e). O Ni é móvel em plantas e pode aumentar a eficiência de utilização e remobilização de N em soja (Kutman et al., 2013; Page e Feller, 2015).

O efeito tóxico associado ao uso de altas doses de Ni aplicadas nas sementes também foi evidenciando na eficiência de absorção de N que diminuiu em 0,35 e 8,4% nas doses de 5,25 e 7 g ha⁻¹ (Figura 2c), na eficiência de translocação com diminuição de 2,2% na dose de 7 g ha⁻¹ (Figura 2d), e na eficiência de uso, em que as perdas foram de 9 e 28% nas doses de 5,25 e 7 g ha⁻¹ (Figura 2e), em comparação as eficiências obtidas em plantas que não receberam aplicação de Ni via semente.

a)

b)

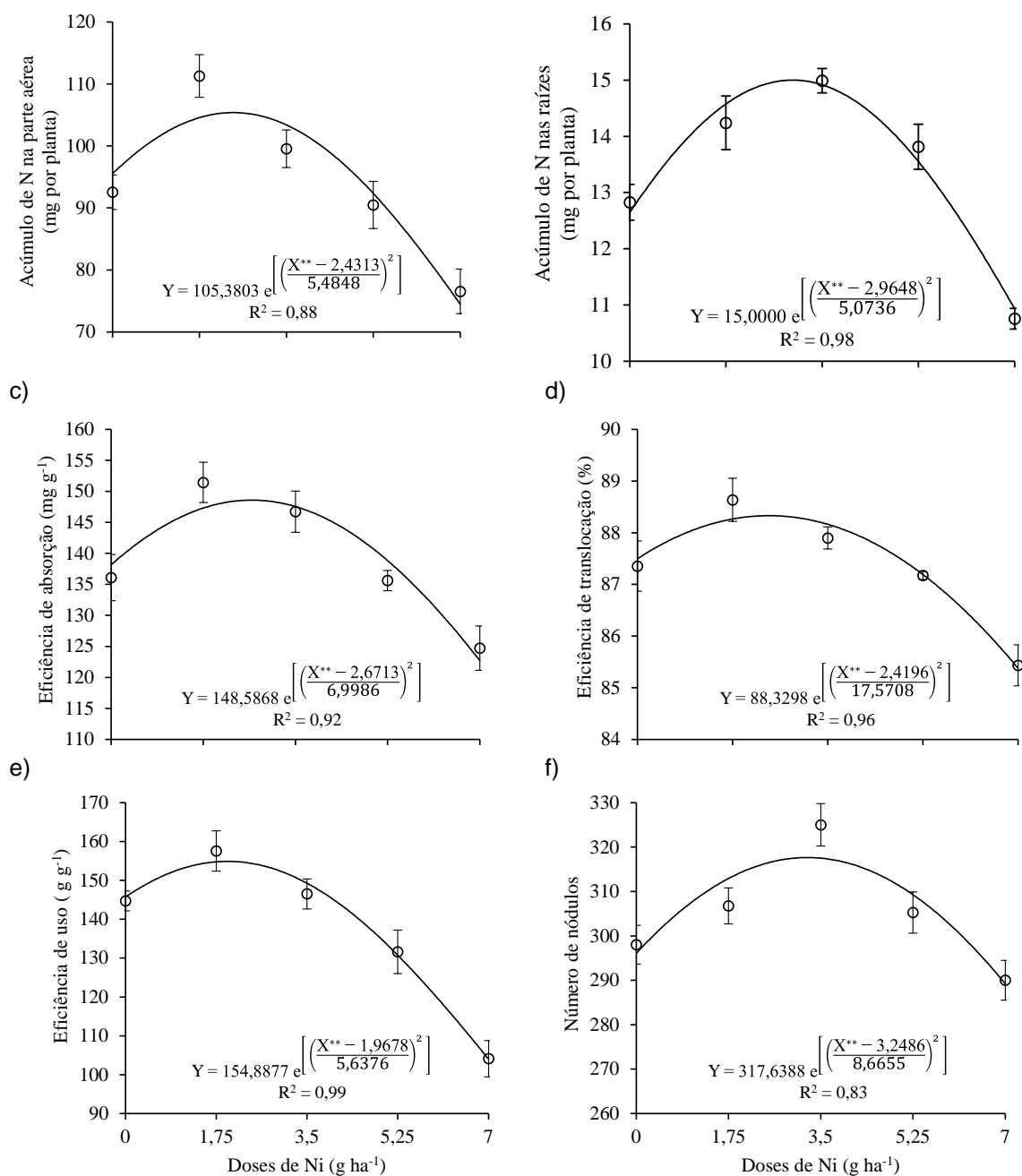


Figura 2. Acúmulo de nitrogênio (N) na parte aérea (a) e raízes (b), eficiência de absorção (c), translocação (d) e uso (e) de N e número de nódulos (f) em plantas de soja cultivadas sob doses de níquel (Ni): 0, 1,75, 3,5, 5,25 e 7 g ha⁻¹ aplicado via semente. Barras representam o erro padrão da média, $n=4$.

Os dados nutricionais referentes ao acúmulo e eficiências de N são um reflexo dos efeitos causados no número de nódulos nas plantas. O maior número de nódulos foi de 318 nódulos por planta obtido na dose de 3,2 g ha⁻¹ de Ni, mas a aplicação da dose de 7 g ha⁻¹ nas sementes de soja causou diminuição de 2,7%, em comparação

a dose de 0 g ha⁻¹ (Figura 2f). O aumento da dose de Ni aumentou a concentração desse elemento nos nódulos radiculares, dessa forma, o menor número de nódulos pode estar associado aos efeitos fitotóxicos do Ni na planta ou aos efeitos tóxicos nos microrganismos fixadores de N (Rajkumar e Freitas, 2008; Jayakumar et al., 2008; De Macedo et al., 2016). Ishtiaq e Mahmood (2011) mostraram que a nodulação de espécies de *Vigna* responderam de forma diferente ao aumento da concentração de Ni, sendo que algumas delas diminuem o número de nódulos.

O tratamento das sementes com Ni diminuiu o índice de extravasamento de eletrólitos celulares até o valor de 7,83% na dose de 2,3 g ha⁻¹. As doses de 5,25 e 7 g ha⁻¹ foram tóxicas porque aumentaram esse parâmetro fisiológico em 15 e 73,2%, respectivamente, em relação as plantas da dose de 0 g ha⁻¹ (Figura 3a). O conteúdo de compostos fenólicos totais nas plantas de soja aumentou até atingir o valor de 24,28 g EAG 100⁻¹ proporcionado pela dose de 3,1 g ha⁻¹.

Contudo, na maior dose de Ni (7 g ha⁻¹) foi observado uma diminuição de 11% no teor de fenóis totais nas plantas, se comparado ao de plantas que não receberam o Ni via tratamento de sementes (Figura 3b). Doses excessivas de Ni, induzem efeitos tóxicos diretos para as plantas, como a toxicidade do metal acumulado nos tecidos, e/ou indiretos, como a alteração do estado da água da planta, o comprometimento do processo fotossintético, a perturbação ou desequilíbrio da nutrição mineral/nitrogênio e o estresse oxidativo (Amari et al., 2017).

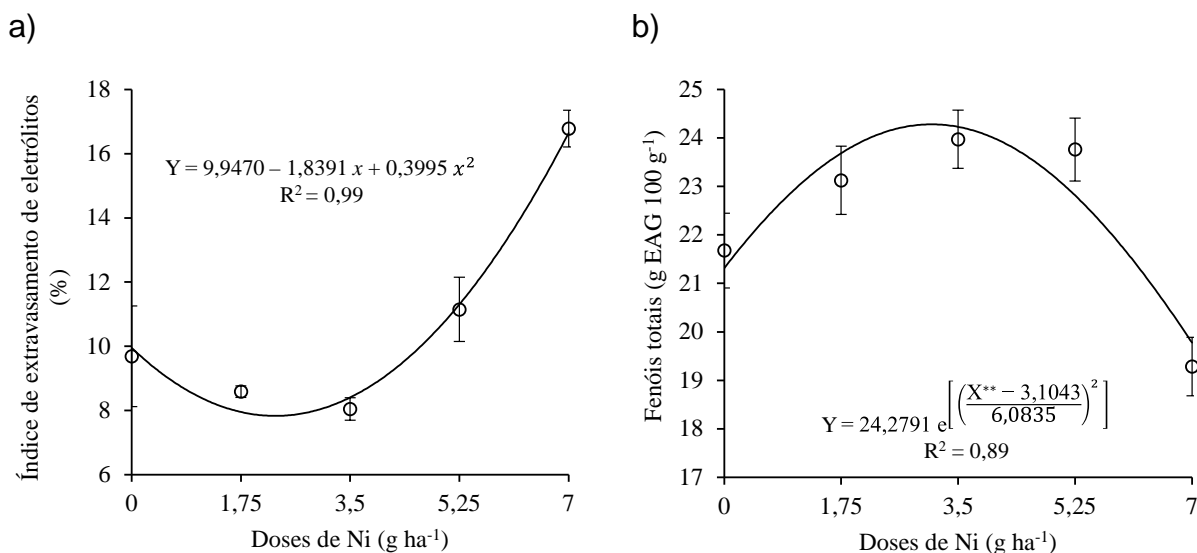


Figura 3. Índice de extravasamento de eletrólitos (a) e fenóis totais (b) em plantas de soja cultivadas sob doses de níquel (Ni): 0, 1,75, 3,5, 5,25 e 7 g ha⁻¹ aplicado via semente. Barras representam o erro padrão da média, $n=4$.

Os parâmetros fotossintéticos de plantas de soja foram modificados pelo tratamento fornecido as sementes. O índice de cor verde aumentou até o valor de 20,2 na dose de 1,65 g ha⁻¹, no entanto, houve diminuição de 3 e 6,45% nas doses de 5,25 e 7 g ha⁻¹ (Figura 4a). O aumento do índice de cor verde em função do uso de Ni pode ser justificado pela melhoria do metabolismo do N (incorporação da ureia) (Kutman et al., 2013) induzindo aumento da intensidade da cor verde nas folhas da planta (Barreto e Cruz, 2021).

O teor de clorofila *a* aumentou até a dose de 2,8 g ha⁻¹ proporcionando um valor de 0,47 mg g⁻¹, mas também houve diminuição de 5,5% na dose de 7 g ha⁻¹ (Figura 4b). O conteúdo de clorofila *b* e *a+b* aumentaram até os valores de 0,47 e 1,9 mg g⁻¹ nas doses de 2,8 e 2,5 g ha⁻¹ de Ni (Figura 4c-d). Na clorofila *b* a dose de 7 g ha⁻¹ causou diminuição de 5% em relação ao de plantas não tratadas (Figura 4c).

Na clorofila *a+b* foi observado diminuição de 1,3 e 6,7% nas doses de 5,25 e 7 g ha⁻¹, comparando-se com plantas da dose de 0 g ha⁻¹ (Figura 4d). Mujeeb et al. (2019) também observaram diminuição do teor e clorofila *a* em *Vigna unguiculata* (L.) em função de concentrações de Ni aplicadas em plântulas. O declínio nos pigmentos fotossintéticos pode estar associado a diversos fatores, tais como o dano oxidativo

das membranas do cloroplasto, a inibição da biossíntese de clorofila ou a substituição de íons Mg em anéis de tetrapiról da planta em resposta ao estresse por metais pesados, como o Ni (Nagajyothi et al., 2009; Talukdar, 2011).

O teor de carotenoides também aumentou até 0,83 na dose de 2,8 g ha⁻¹, contudo, sofreu diminuição de 2,8% na dose de 7 g ha⁻¹, em relação as plantas da dose 0 g ha⁻¹ (Figura 4e). Altas concentrações de Ni também diminuíram os conteúdos de fenóis e carotenoides em *V. unguiculata* e *V. mungo* L. (Singh et al., 2012; Mujeeb et al., 2019). Diversos estudos apontam que metais pesados diminuem o teor de carotenoides em plantas, incluindo leguminosas (Panda e Khan, 2008; Aldoobie e Beltagi, 2012; De Souza et al., 2012). O Ni deve causar dano oxidativo no sistema de membranas do cloroplasto (Baccouch et al., 1998).

Os efeitos combinados na concentração de clorofilas e carotenoides refletiram na eficiência fotossintética das plantas. A maior eficiência quântica do fotossistema II (Fv/Fm) observada foi de 0,80 na dose de 2,5 g ha⁻¹, havendo perdas de 0,7 e 7,45% nas doses de 5,25 e 7 g ha⁻¹, respectivamente, em comparação as plantas que não receberam Ni via semente (Figura 4f).

a)

b)

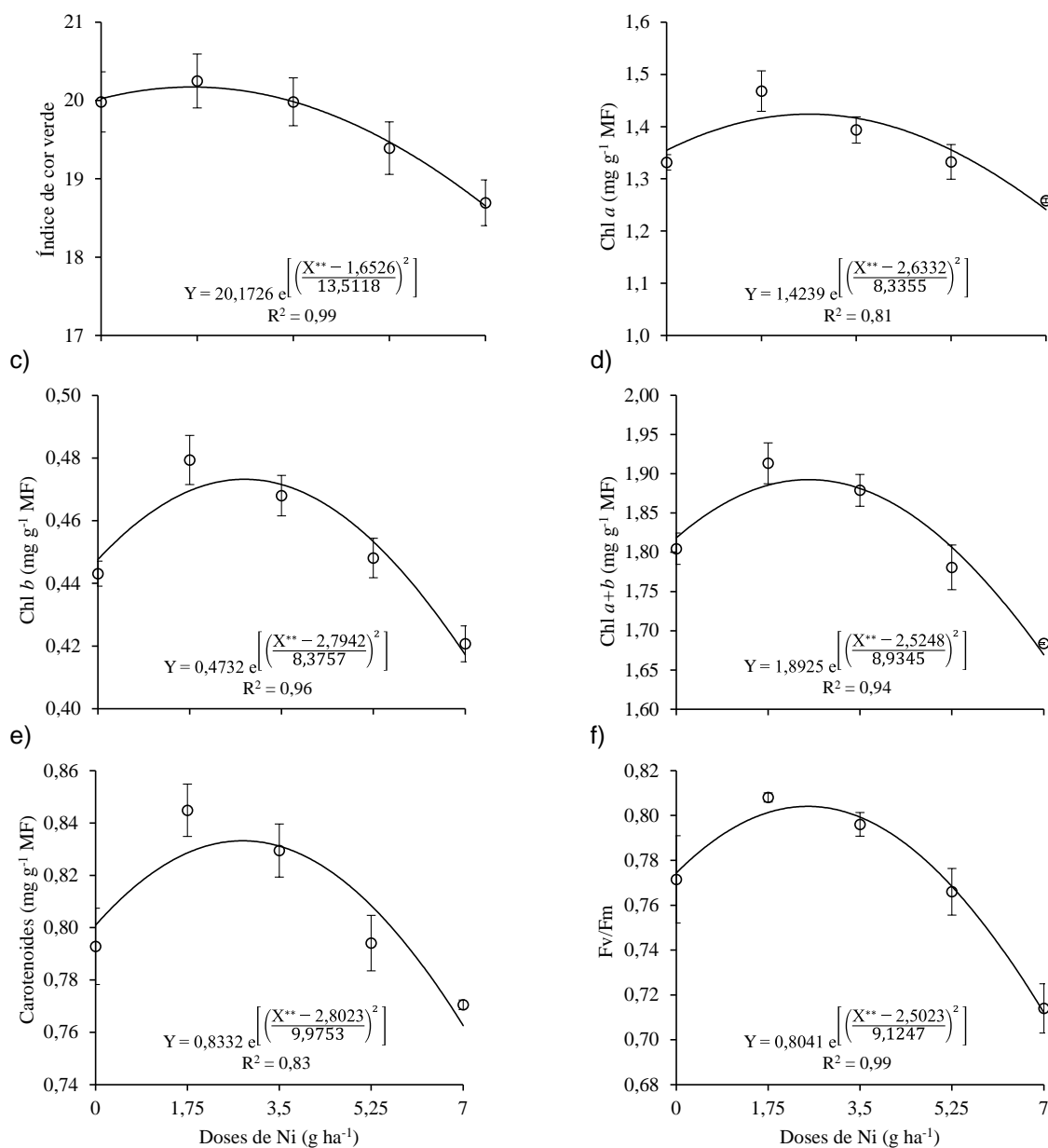


Figura 4. Índice de cor verde (a), clorofila a (Chl a) (b), clorofila b (Chl b) (c), clorofila a+b (Chl a+b) (d), carotenoides (e) e eficiência quântica do fotossistema II (Fv/Fm) (f) de plantas de soja cultivadas sob doses de níquel (Ni): 0, 1,75, 3,5, 5,25 e 7 g ha⁻¹ aplicado via semente. Barras representam o erro padrão da média, $n=4$.

Com a influência nos atributos fisiológicos, foi observado efeitos semelhantes nos parâmetros de crescimento avaliadas nas plantas de soja. A altura das plantas aumentou até 38,1 cm na dose de 2,55 g ha⁻¹ de Ni, mas também foi observado diminuição de 2,9% com o fornecimento de 7 g ha⁻¹ de Ni via semente, em comparação as que não receberam aplicação de Ni (Figura 5a). O diâmetro do caule

aumentou até o valor de 4,15 mm na dose de 2,43 g ha⁻¹, mas diminuiu em 1,2 e 10,3% nas doses de 5,25 e 7 g ha⁻¹ de Ni, em comparação as plantas da dose 0 g ha⁻¹ (Figura 5b). As doses 2,4 e 2,5 g ha⁻¹ de Ni foram mais eficientes no aumento da altura da planta, diâmetro do caule, número de folhas e ramos. As doses mais altas causaram diminuição dos valores destes parâmetros. De acordo com Lavres et al. (2016) doses de Ni acima de 180 mg kg⁻¹ no tratamento de sementes podem ser tóxicas.

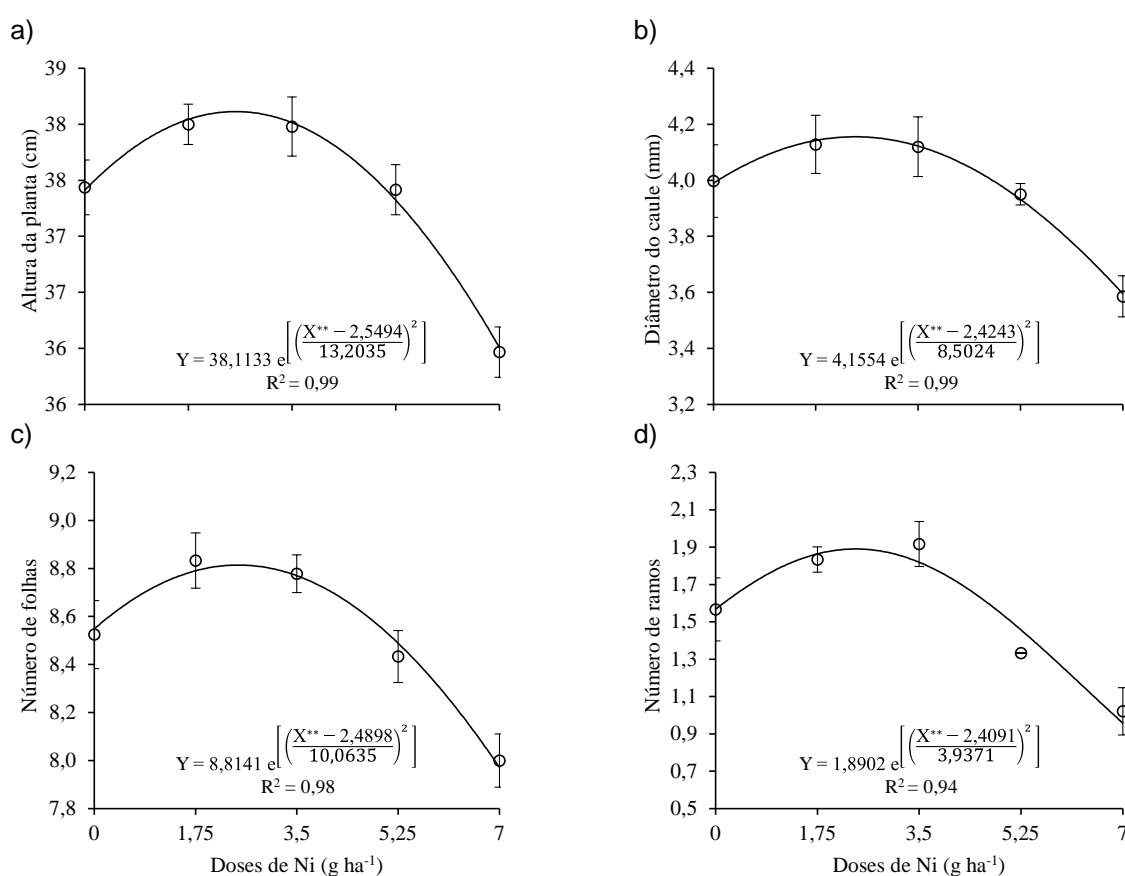


Figura 5. Altura da planta (a), diâmetro do caule (b), número de folhas (c) e número de ramos (d) de plantas de soja cultivadas sob doses de níquel (Ni): 0, 1,75, 3,5, 5,25 e 7 g ha⁻¹ aplicado via semente. Barras representam o erro padrão da média, n= 4.

A massa seca da parte aérea e das raízes aumentou até atingir os valores de 3,4 e 0,85 g nas doses de 2,4 e 2,5 g ha⁻¹ de Ni, respectivamente (Figura 6a-b), estando assim relacionado com a melhoria dos parâmetros fisiológicos em doses adequadas. Contudo houve diminuição de 1,9 e 16,8% na massa seca da parte aérea com o fornecimento das doses de 5,25 e 7 g ha⁻¹, em relação a dose de 0 g ha⁻¹ de Ni (Figura

6a), observando assim um efeito tóxico quando o nutriente se encontra em excesso. Na massa seca das raízes, as perdas foram de 23,5% na dose de 7 g ha⁻¹ de Ni, em relação a dose de 0 g ha⁻¹ (Figura 6b). Também houve maior perda de folhas nas maiores doses de Ni, sobretudo na dose de 7 g ha⁻¹ (Figura 6c). A aplicação de Ni por diferentes vias: foliar, sementes e solo; podem influenciar de forma diferente na produtividade da soja (Rodak et al., 2015; Barcelos et al., 2017).

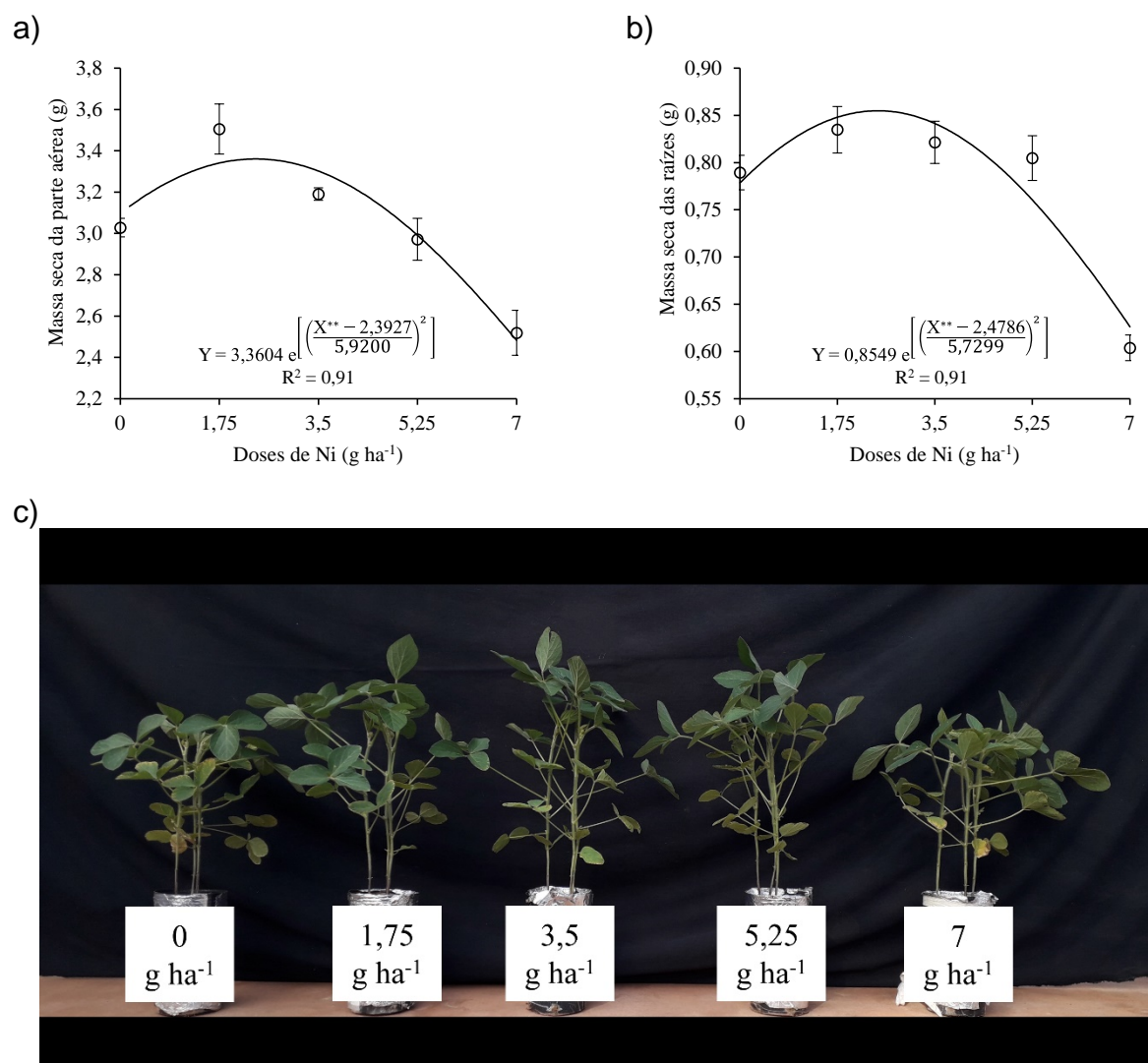


Figura 6. Massa seca da parte aérea (a), das raízes (b) e imagens das plantas de soja (c) cultivadas sob doses de níquel (Ni): 0, 1,75, 3,5, 5,25 e 7 g ha⁻¹ aplicado via semente. Barras representam o erro padrão da média, $n=4$.

Os efeitos observados nas plantas de soja submetidas ao tratamento com doses de Ni via semente são evidenciados na imagem demonstrada na Figura 6c, com

plantas bem mais desenvolvidas nas doses menores, havendo uma diminuição da estatura e número de folhas.

Nesta pesquisa pode-se comprovar que a aplicação de Ni via tratamento de sementes em soja pode aumentar o acúmulo de N na parte aérea, aumentar o número de nódulos e melhorar o crescimento de plantas de soja. Entretanto, deve-se atentar à dose do nutriente, visto que o aumento da dose pode causar fitotoxicidade na planta, reduzindo a eficiência no crescimento. Estudos posteriores e mais detalhados podem avaliar o efeito na produtividade de soja em função da aplicação de Ni via semente.

8. CONCLUSÕES

O uso de doses entre 2 e 2,7 g ha⁻¹ de Ni via semente aumenta o acúmulo de N em folhas e raízes de soja;

O número de nódulos em soja aumenta com a aplicação de 3,2 g ha⁻¹ de Ni via semente;

O aumento da dose de Ni via semente diminui o número de folhas, diâmetro do caule e a altura das plantas de soja, sendo recomendadas doses entre 2,4 e 2,5 g ha⁻¹;

O nível crítico de toxicidade do nutriente em plantas de soja ocorre nas doses a partir de 5,25 g ha⁻¹.

REFERÊNCIAS

ALDOOBIE, N. F., BELTAGI, M. S. Physiological, biochemical and molecular responses of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants to heavy metals stress. **African Journal of Biotechnology**, v. 12, n. 29, 2013. Disponível em: <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/133866> Acesso em: 17 out. 2021.

AMARI, T., GHNAYA, T., ABDELLY, C. Nickel, cadmium and lead phytotoxicity and potential of halophytic plants in heavy metal extraction. **South African Journal of Botany**, v. 111, p. 99-110, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110593> Acesso em: 15 out. 2021.

BACCOUCH, S., CHAOUI, A., FERJANI, E.E. Nickel toxicity; effects on growth and metabolism of maize. **Journal of Plant Nutrition**, v. 21, n. 3, p. 577-588, 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/01904169809365425> Acesso em: 17 out. 2021.

BARCELOS, J. P. Q., OSORIO, C. R. W. S., LEAL, A. J. F., ALVES, C. Z., SANTOS, E. F., REIS, H. P. G., REIS, A. R. Effects of foliar nickel (Ni) application on mineral nutrition status, urease activity and physiological quality of soybean seeds. **Australian Journal of Crop Science**, v. 11, p. 184-192, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.21475/ajcs.17.11.02.p240> Acesso em: 17 out. 2021.

BARRETO, R. A., CRUZ, F. J. R. Nickel. In: PRADO, R. M. (Ed.) **Mineral nutrition of tropical plants**. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-3-030-71262-4> Acesso em: 17 out. 2021.

BROWN, P. H., WELCH, R. M., CARY, E. E. Nickel: a micronutrient essential for higher plants. **Plant Physiology**, v. 85, n. 3, p. 801–803, 1987. Disponível em: <https://doi.org/10.1104/pp.85.3.801m> Acesso em: 17 out. 2021.

CAMPO RJ, ARAUJO RS, HUNGRIA M. Nitrogen fixation with the soybean crop in Brazil: compatibility between seed treatment with fungicides and bradyrhizobial inoculants. **Symbiosis**, v. 48, p. 154–163, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF03179994> Acesso em 03 Dez 2021.

CAMPO, R. J., ARAUJO, R. S., HUNGRIA, M. Nitrogen fixation with the soybean crop in Brazil: compatibility between seed treatment with fungicides and bradyrhizobial inoculants. **Symbiosis**, v. 48, p. 154–163, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00754> Acesso em: 17 out. 2021.

CASTRO GSA, BOGIANI JC, SILVA MG, GAZOLA E. Tratamento de sementes de soja com inseticidas e um bioestimulante. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, p. 1311-1318, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2008001000008> Acesso em 03 Dez 2021.

CONCEIÇÃO, G. M.; CUNHA, V. D. S.; FIPKE, G. M.; BRUNING, L. A.; ROSSATO, A. DA C.; MARTIN, T. N. Mineral Supplementation of Soybean Seeds with Different Initial Nutrient Levels. **Acta Scientiarum - Agronomy**, 2020, 42, 1–9. Disponível em: <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v42i1.42484>. Acesso em: 17 out. 2021.

DE MACEDO, F. G., BERSOLIN, J. D., SANTOS, E. F., FURLAN, F., SILVA, W. T. L., POLACCO, J. C., LAVRES, J. Nickel availability in soil as influenced by liming and its role in soybean nitrogen metabolism. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 1358, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01358> Acesso em: 17 out. 2021.

DE SOUZA, S. C. R., ANDRADE, S. A. L., SOUZA, L. A., SCHIAVINATO, M. A. Lead tolerance and phytoremediation potential of Brazilian leguminous tree species at the seedling stage. **Journal of Environmental Management**, v. 110, p. 299-307, 2012.

Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.06.015> Acesso em: 17 out. 2021.

FAROOQ, M.; WAHID, A.; SIDDIQUE, K. H. M. Micronutrient Application through Seed Treatments - a Review. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, 2012, 12 (1), 125–142. Disponível em: <https://doi.org/10.4067/S0718-95162012000100011>. Acesso em: 17 out. 2021.

FABIANO, C., TEZOTTO, T., FAVARIN, J. L., POLACCO, J. C., MAZZAFERA, P. Essentiality of nickel in plants: a role in plant stresses. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 754, 2015. Disponível em: <https://ojs.openagrar.de/index.php/JABFQ/article/view/1835> Acesso em: 17 out. 2021.

FENG, L., WANG, H., PENG, H., SHAN, J. Modeling the current land suitability and future dynamics of global soybean cultivation under climate change scenarios. **Field Crops Research**, v. 263, p. 108069, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2021.108069> Acesso em: 17 out. 2021.

FERREIRA LA, OLIVEIRA JA, VON PINHO EVDR, QUEIROZ DLD. Bioestimulante e fertilizante associados ao tratamento de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, p. 80-89, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0101-31222007000200011> Acesso em: 03 Dez 2021.

FRANÇA-NETO, J. B., KRZYZANOWSKI, F. C., HENNING, A. A., PÁDUA, G. P.; LORINI, I.; HENNING, F. A. Tecnologia da produção de sementes de soja de alta qualidade. Embrapa Soja, Londrina, 84 p, 2016. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/151223/1/Documentos-380-OL1.pdf> Acesso em: 17 out. 2021.

FREITAS, D. S., RODAK, W., REIS, A. R., REIS, F. B., CARVALHO, T. S., SCHULZE, J., CARBONE, M. A., GUILHERME, L. R. G. Hidden nickel deficiency? Nickel fertilization via soil improves nitrogen metabolism and grain yield in soybean genotypes. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, n. 1, p. 614, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00614> Acesso em: 17 out. 2021.

FREYERMUTH SK, ACANAMWO M, POLACCO JC. The soybean Eu3 gene encodes an Ni-binding protein necessary for urease activity. **Plant Journal**, v. 21, p. 53-60, 2000. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10652150/> Acesso em 04 Dez 2021.

GONZÁLEZ-GUERRERO M, MATTHIADIS A, SÁEZ A, LONG TA. Fixating on metals: new insights into the role of metals in nodulation and symbiotic nitrogen fixation. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, p. 45, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00045> Acesso em 03 Dez 2021.

HUNGRIA, M., FRANCHINI, J., CAMPO, R., CRISPINO, C., MORAES, J., SIBALDELLI, R., et al. Nitrogen nutrition of soybean in Brazil: contributions of biological N₂ fixation and N fertilizer to grain yield. **Canadian Journal of Plant Science**. v. 86, p.

927–939, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.4141/P05-098> Acesso em: 17 out. 2021.

ISHTIAQ, S., MAHMOOD, S. Phytotoxicity of nickel and its accumulation in tissues of three *Vigna* species at their early growth stages. **Journal of Applied Botany and Food Quality**, v. 84, n. 2, p.223-228, 2011. Disponível em: <https://ojs.openagrar.de/index.php/JABFQ/article/view/1835> Acesso em: 17 out. 2021.

JAYAKUMAR, K., VIJAYARENGAN, P., ZHAO, C. X., JALEEL, C.A.: Soil applied cobalt alters the nodulation, leg-haemoglobin content and antioxidant status of *Glycine max* (L.). Merr. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 67, n. 2, p. 272-275, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2008.08.012> Acesso em: 17 out. 2021.

JONES, J. B., & CASE, V. W. (1990). Sampling, Handling, and Analyzing Plant Tissue Samples. **In Soil Testing and Plant Analysis** (pp. 389–427). <https://doi.org/10.2136/sssabookser3.3ed.c15> Acesso em: 06 abr. 2022

KLUCAS RV, HANUS FJ, RUSSELL SA, EVANS HJ. Nickel: a micronutrient element for hydrogen-dependent growth of *Rhizobium japonicum* and for expression of urease activity in soybean leaves. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 80, p. 2253, 1983. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.80.8.2253> Acesso em 04 Dez 2021.

KORNDÖRFER, G.H., PEREIRA, H.S., NOLLA, A. **Análise de silício no solo, planta e fertilizantes**, 2nd ed. UFU, Uberlândia. 2004.

KOZLOV, M. V. Pollution resistance of mountain birch, *Betula pubescens* subsp. *czerepanovii*, near the copper–nickel smelter: natural selection or phenotypic acclimation?. **Chemosphere**, v. 59, n. 2, p. 189-197, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.11.010> Acesso em: 15 out. 2021.

KROGMEIER MJ, MCCARTY GW, BREMNER JM. Phytotoxicity of foliar-applied urea. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 86, p. 8189–8191, 1989. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.86.21.8189> Acesso em 03 Dez 2021.

KRZYZANOWSKI, F. C., FRANÇA-NETO, J. B.; HENNING, A. A. A alta qualidade das sementes de soja: fator importante para a produção da cultura. Embrapa Soja, 24 p., 2018. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/177391/1/CT136-online.pdf> Acesso em: 16 out. 2021.

KÜPPER H, ANDRESEN E. Mechanisms of metal toxicity in plants. **Metallomics**, v. 8, n. 3, p. 269-285, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c5mt00244c> Acesso em: 03 Dez 2021

KÜPPER, H., ANDRESEN, E. Mechanisms of metal toxicity in plants. **Metallomics**, v. 8, n. 3, p. 269-285, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c5mt00244c> Acesso em: 16 out. 2021.

KUTMAN, B. Y., KUTMAN, U. B., ÇAKMAK, I. Nickel-enriched seed and externally supplied nickel improve growth and alleviate foliar urea damage in soybean. **Plant Soil**, v. 363, n. 1, p. 61–75, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1284-6> Acesso em: 10 out. 2021.

LAVRES, J., CASTRO FRANCO, G., CÂMARA, G. M. S. Soybean seed treatment with nickel improves biological nitrogen fixation and urease activity. **Frontiers in Environmental Science**, v. 4, p. 37, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fenvs.2016.00037> Acesso em: 10 out. 2021.

LEVY, C. C. B., MELLIS, E. V., MURRER, M. K., INGLÉS, C. R., DAYNES, C. N., CAVALLI, E., CHIBA, M. K. Effects of nickel fertilization on soybean growth in tropical soils. **Bragantia**, v. 78, n. 3, p. 432-443, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1678-4499.20180242> Acesso em: 10 out. 2021

LI, X., ESKER, P. D., PAN, Z., DIAS, A. P., XUE, L., YANG, X. B. The uniqueness of the soybean rust pathosystem: An improved understanding of the risk in different regions of the world. **Plant Disease**, v. 94, n. 7, p. 796-806, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1094/pdis-94-7-0796> Acesso em: 15 out. 2021.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzymology**. v. 148, p. 350–382, 1987. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1) Acesso em: 16 out. 2021.

LICHTENTHALER, H.K., BUSCHMANN, C., KNAPP, M. How to correctly determine the different chlorophyll fluorescence parameters and the chlorophyll fluorescence decrease ratio Rfd of leaves with the PAM fluorometer. **Photosynthetica**, v. 43, p. 379–393, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11099-005-0062-6> Acesso em: 16 out. 2021.

MARSCHNER P, BAUMANN K. Changes in bacterial community structure induced by mycorrhizal colonization in split-root maize. **Plant and Soil**, v. 251, p. 279-289, 2003. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1023034825871> Acesso em 04 Dez 2021.

MIR MA, SIRHINDI G, ALYEMENI MN, ALAM P, AHMAD P. Jasmonic acid improves growth performance of soybean under nickel toxicity by regulating nickel uptake, redox balance, and oxidative stress metabolism. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 37, n. 4, p. 1195-1209, 2018. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00344-018-9814-y> Acesso em: 03 Dez 2021.

MUJEEB, A., IQBAL, M. Z., SHAFIQ, M., KABIR, M., FAROOQI, Z. U. R. Effects of nickel toxicity on seedling growth, photosynthetic pigments, carotenoids and phenols contents of cowpea *Vigna unguiculata* (L.). **International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology**, v. 4, n. 2, p. 341-347, 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.22161/ijeab/4.2.12> Acesso em: 12 out. 2021.

NAGAJYOTHI, P. C., DINAKAR, N., SURESH, S., UDAYKIRAN, Y., SURESH, C., DAMODHARAM, T. Effect of industrial effluent on the morphological parameters and chlorophyll content of green gram (*Phaseolus aureus* Roxb.). **Journal of Environmental Biology**, v. 30, n. 3, p. 385-388, 2009. Disponível em: http://jeb.co.in/journal_issues/200905_may09/paper_12.pdf Acesso em: 15 out. 2021.

NYCZEPIR, A. P.; WOOD, B. W. Foliar nickel application can increase the incidence of peach tree short life and consequent peach tree mortality. **HortScience**, v. 47, p. 224–227, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.47.2.224> Acesso em: 18 mar. 2022.

OLIVEIRA, G. L. T. The battle of the beans: How direct Brazil-China soybean trade was stillborn in 2004. **Journal of Latin American Geography**, v. 17, n. 2, p. 113-139, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1353/lag.2018.0024> Acesso em: 15 out. 2021.

PAGE, V., FELLER, U. Heavy metals in crop plants: Transport and redistribution processes on the whole plant level. **Agronomy**, v. 5, n. 3, p. 447-463, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/agronomy5030447> Acesso em: 16 out. 2021.

PANDA, S. K., KHAN, M. H. Antioxidant efficiency in rice (*Oryza sativa* L.) leaves under heavy metal toxicity. **Journal of Plant Biology**, v. 30, n. 1, p. 23-29, 2003. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/234700211_Antioxidant_efficiency_in_rice_Oryza_sativa_L_leaves_under_heavy_metal_toxicity Acesso em: 15 out. 2021.

PARISI JJD, MEDINA PF. **Tratamento de sementes**. Instituto Agronômico de Campinas, 2013. Disponível em: http://www.iac.sp.gov.br/imagem_informacoestecnologicas/81.pdf Acesso em: 03 Dez 2021.

RAJKUMAR, M., FREITAS, H. Effects of inoculation of plant-growth promoting bacteria on Ni uptake by Indian mustard. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 9, p. 3491-3498, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.07.046> Acesso em: 16 out 2021

RIZWAN, M., IMTIAZ, M., DAI, Z., MEHMOOD, S., ADEEL, M., LIU, J., TU, S. Nickel stressed responses of rice in Ni subcellular distribution, antioxidant production, and osmolyte accumulation. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 25, p. 20587-20598, 2017. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-017-9665-2> Acesso em: 16 out 2021

RODAK, B. W., MORAES, M. F., PASCOALINO, J. A. L., OLIVEIRA JUNIOR, A., CASTRO, C., PAULETTI, V. Methods to quantify nickel in soils and plant tissues. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 39, p. 788-793, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/01000683rbcS20140542> Acesso em: 15 out. 2021.

RODAK, B. W., PASCOALINO, J. A. L., ALVES, S. J. F., OLIVEIRA JUNIOR, A., CASTRO, C., MORAES, M. F. **Disponibilidade de níquel associada a características químicas e texturais de solos destinados ao cultivo de soja**. In: Embrapa Soja-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 34., 2013, Florianópolis. Ciência do solo: para quê e para quem? Anais... Florianópolis: SBCS, 2013., 2013. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/986654/1/Disponibilidadedeni%20quelasociadaacaracteristicasquimicasetexturaisdesolosdestinadosaocultivodesoja.pdf> Acesso em: 14 out. 2021.

SALVAGIOTTI, F., CASMAN, K. G., SPECHT, J. E., WALTERS, D. T., WEISS, A., DANIEL T. Nitrogen uptake, fixation and response to fertilizer N in soybeans: A review. **Field Crops Research**, v. 108, n. 1, p. 1-13, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2008.03.001> Acesso em: 14 out. 2021.

SEREGIN IV, KOZHEVNIKOVA AD. Physiological role of nickel and its toxic effects on higher plants. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 53, n. 2, p. 257-277, 2006. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1134/S1021443706020178> Acesso em 03 Dez 2021.

SHAHZAD, Babar et al. Nickel; whether toxic or essential for plants and environment-A review. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 132, p. 641-651, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.10.014> Acesso em: 18 Mar 2022.

SINGH, G., AGNIHOTRI, R. K., RESHMA, R. S., AHMAD, M. Effect of lead and nickel toxicity on chlorophyll and proline content of Urd (*Vigna mungo* L.) seedlings. **International Journal of Plant Physiology and Biochemistry**, v. 4, n. 6, p. 136-141, 2012. Disponível em: <http://www.academicjournals.org/ijppb> Acesso em: 12 out. 2021.

SINGLETON VL, ROSSI JR JA. Colorimetry to total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 48, p. 144–158, 1965. Disponível em: <https://www.ajevonline.org/content/16/3/144> Acesso em: 03 dez. 2021.

SIRHINDI G, MIR MA, SHARMA P, GILL SS, KAUR H, MUSHTAQ R. Modulatory role of jasmonic acid on photosynthetic pigments, antioxidants and stress markers of *Glycine max* L. under nickel stress. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 21, n. 4, p. 559-565, 2015. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12298-015-0320-4> Acesso em: 03 Dez 2021.

TALUKDAR, D. Effect of arsenic-induced toxicity on morphological traits of *Trigonella foenum-graecum* L. and *Lathyrus sativus* L. during germination and early seedling growth. **Current Research Journal of Biological Sciences**, v. 3, n. 2, p. 116-123, 2011. Disponível em:

<http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.1071.3521&rep=rep1&type=pdf> Acesso em: 15 out. 2021.

van KESSEL, C., HARTLEY, C. Agricultural management of grain legumes: has it led to an increase in nitrogen fixation? **Field Crops Research**, v. 65, n. 2-3, p. 165-181, 2000. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(99\)00085-4](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(99)00085-4) Acesso em: 16 out. 2021.

YUSUF, M., FARIDUDDIN, Q., HAYAT, S., AHMAD, A. Nickel: an overview of uptake, essentiality and toxicity in plants. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 86, n. 1, p. 1-17, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00128-010-0171-1> Acesso em: 16 out. 2021.

URETA, A. C., IMPERIAL, J., RUIZ-ARGÜESO, T., AND PALACIOS, J. M. *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* symbiotic hydrogenase activity and processing are limited by the level of nickel in agricultural soils. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, p. 7603-7606, 2005. Disponível em: Acesso em: 18 Mar 2022

ZOBIOLE LHS, OLIVEIRA JR RS, KREMER RJ, CONSTANTIN J, YAMADA T, CASTRO C, OLIVEIRA FA, OLIVEIRA JR A. Effect of glyphosate on symbiotic N₂ fixation and nickel concentration in glyphosate-resistant soybeans. **Applied Soil Ecology**, v. 44, n. 2, p. 176-180, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2009.12.003> Acesso em: 03 dez. 2021.