

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**MÉTODOS DE APLICAÇÃO DE NÍQUEL E SEUS EFEITOS SOBRE AS
CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS E TEOR DE PROTEÍNA DA SOJA**

MARIA JOSÉ ALVES DE MOURA

Engenheira Agrônoma

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**MÉTODOS DE APLICAÇÃO DE NÍQUEL E SEUS EFEITOS SOBRE AS
CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS E TEOR DE PROTEÍNA NA SOJA**

Maria José Alves de Moura

Orientador: Dr. Jairo Osvaldo Cazetta

Dissertação apresentada à
Faculdade de Ciências Agrárias
e veterinárias – UNESP,
Campus de Jaboticabal, como
parte das exigências para
obtenção do título de Mestre em
Agronomia (Ciência do solo).

M929m Moura, Maria José Alves de
Métodos de aplicação de níquel e seus efeitos sobre as
características agronômicas e teor de proteína da soja / Maria José
Alves de Moura. -- Jaboticabal, 2021
43 f.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientador: Jairo Osvaldo Cazetta

1. Glycine max. 2. fixação biológica. 3. urease. 4. proteína. 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.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: MÉTODOS DE APLICAÇÃO DE NÍQUEL E SEUS EFEITOS SOBRE AS CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS E TEOR DE PROTEÍNA NA SOJA

AUTORA: MARIA JOSÉ ALVES DE MOURA

ORIENTADOR: JÁIRO OSVALDO CAZETTA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AGRONOMIA (CIÊNCIA DO SOLO), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. JÁIRO OSVALDO CAZETTA (Participação Virtual)
Departamento de Tecnologia / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Dr. JHANSLEY FERREIRA DA MATA (Participação Virtual)
UEMG / Frutal/MG

Profa. Dra. LUCIANA CRISTINA SOUZA MERLINO (Participação Virtual)
Centro Universitário de Rio Preto / UNIRP - São José do Rio Preto/SP

Jaboticabal, 09 de outubro de 2020

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Maria José Alves de Moura, nascida em Joaquim Nabuco/PE, Brasil, em 10 de outubro de 1992, filha de Edvania Alves e José Francisco de Lima Moura. Possui curso de graduação em Engenharia Agrônômica (2018) pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco (IFPE), campus de Vitória de Santo Antão. Em 2013, ingressou no Grupo de Pesquisa Fertilidade do Solo e Agroenergia do IFPE/CVSA, realizando pesquisas relacionadas à adubação com macro e micronutrientes em cana-de-açúcar. Foi bolsista do Programa de Iniciação Científica do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia - IFPE de 2013 a 2017, na modalidade IC- A – Iniciação Científica para o desenvolvimento do projeto de pesquisa “Fixação biológica de nitrogênio em cana-de-açúcar sob adubação nitrogenada e molíbdica”. Em 2015, tornou-se integrante do projeto de pesquisa “Produção de Biomassa Vegetal como Alternativa Energética para o Polo Gesseiro do Araripe/PE” desenvolvendo pesquisas que visavam selecionar espécies vegetais exóticas de elevada capacidade de produção de energia pela sua biomassa, introduzindo-se estratégias de curto, médio e longo prazo para a preocupante situação energética do Polo Gesseiro do Araripe, além de avaliar o impacto ambiental destas plantas. Em março de 2018 ingressou no Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Ciência do Solo), nível mestrado pela FCAV/UNESP, Campus de Jaboticabal, sendo orientada pelo Prof. Dr. Jairo Osvaldo Cazetta.

**Aprender é a única coisa de que a mente
nunca se cansa, nunca tem medo e nunca
se arrepende**

Leonardo da Vinci

Dedico

Aos meus pais José Francisco de Lima Moura e Edvania Alves e aos meus irmãos Jailson Francisco Alves Moura e Wellington Francisco Alves de Moura, pelo apoio incondicional, pelos ensinamentos e por nunca desistirem de mim.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar comigo em todos os momentos de minha vida, sempre abençoando meu caminho com conquistas. Ao meu pai José Francisco de Lima Moura, minha mãe Edvania Alves e aos meus irmãos Jailson Francisco Alves Moura e Wellington Francisco Alves de Moura, por apoiarem a realização deste e vários outros sonhos, juntos vencemos todas as dificuldades que não foram poucas, mas graças a Deus e a vocês estou subindo mais um degrau que sem vocês nada disso seria possível. À minha avó Josefa Damiana de Lima e a minha tia Jacilene Josefa de Lima Moura, por serem como mães para mim e sempre me incentivarem acreditando em meu potencial. Ao meu orientador Prof. Dr. Jairo Osvaldo Cazetta, por toda paciência, dedicação e oportunidades dadas nestes anos de trabalho. À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, pela oportunidade de realização deste trabalho. À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos através do programa de pós-graduação em Agronomia (Ciência do Solo). Ao técnico do laboratório do Departamento de Tecnologia, Carlos, por todo apoio, ensinamentos. Aos meus amigos Nayara rose (minha irmã do coração), Jose de arruda (Juca), Victor Guedes, por estarem comigo em todos os momentos importantes de minha vida, sempre compartilhando sorrisos nas alegrias e apoio nas dificuldades. Ao meu querido orientador da graduação em agronomia Renato lemos dos Santos, que considero mais um pai, pela paciência, apoio e presença em momentos importantes de minha vida. Aos meus amigos Leonardo e Diego, por compartilharmos toda esta jornada da pós-graduação e sempre podermos encontrar apoio um no outro. A empresa Compass Minerals pela parceria e contribuição no desenvolvimento da pesquisa. Aos meus amigos, Bianca e Bruno por todo apoio na execução deste trabalho. A todos os que direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Muito Obrigada!

Sumário

Páginas

LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xi
 1. INTRODUÇÃO.....	 6
 2. REVISÃO DE LITERATURA.....	 8
2.1 Níquel na Agricultura.....	8
2.2 Soja, seu cultivo no Brasil e relações com o uso de níquel	9
2.3 Níquel: formas no solo, absorção, transporte e função nas plantas ---	11
2.4 Métodos de aplicação do níquel	14
 3. MATERIAL E MÉTODOS.....	 16
3.1 Condições experimentais:	16
3.2 Determinação da Atividade da Urease.....	19
3.4 Avaliação do teor de N-Total e Teor de Proteína	21
3.5 Determinação do teor de Lipídeos nos grãos	21
3.6 Determinação do teor de Carboidratos nos grãos	22
3.7 Avaliações das características agronômicas	22
3.8 Análises estatísticas dos resultados	23
 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	 24
 5 CONCLUSÃO	 31
 6 BIBLIOGRAFIA.....	 32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Descrição dos Tratamentos

Tabela 2. Teor de Clorofila A (C_a), Clorofila B (C_b), Clorofila Total (C_{a+b}) e Carotenoide (C_{x+c}) em plantas de soja submetida à ausência, aplicação de níquel via semente, foliar e aplicação via semente+foliar no experimento 1 e 2.

Tabela 3. Teor de Nitrogênio na Planta Inteira (N Plant. I), em Grão (N Grão) em planta de soja submetida à ausência, aplicação de níquel via semente, foliar e semente+foliar no experimento 1 e 2.

Tabela 4. Teores de Carboidrato (carb), óleo e proteína nos grãos de soja submetida a ausência, aplicação de níquel via semente, foliar e semente+foliar, no experimento 1 e 2.

Tabela 5. Número de vagem por planta (NVP), Número de Grão por Vagem (NGV) e Produção de Grão por Planta (PGP) em plantas de soja submetida a ausência, aplicação de níquel via semente, foliar e semente+foliar, no experimento 1 e 2.

Tabela 6. Massa Seca Parte aérea (MSPA), Massa Seca de Raiz (MSR), Numero de Nódulos (N° nódulos) em plantas de soja submetida a ausência, aplicação de níquel via semente, foliar e semente+foliar, no experimento 1 e 2.

Tabela 7. Altura da Planta (AP), Altura de Inserção da 1° vagem (AIPV), Diâmetro do Caule (DC), de soja submetida a ausência, aplicação de níquel via semente, foliar e semente+foliar, no experimento 1 e 2.

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1 – Distribuição dos vasos (A), realização do plantio (B) e planta germinada (C).

Figura 2 – Tratamento de semente com StandakTop e Profol CoMo, (A), Tratamento foliar (B).

(A), Tratamento foliar (B).

Figura 3 – Umidade Relativa do ar e temperatura máxima, média e mínima registradas durante o experimento 1, no período de 11 de novembro de 2018 a 25 de fevereiro de 2019, em Jaboticabal – SP.

Figura 4 – Umidade Relativa do ar e temperatura máxima, média e mínima registradas durante o experimento 2, no período de 10 de janeiro a 21 de abril de 2019, em Jaboticabal – SP.

Figura 5 – Planta de soja em R1 (A), discos foliares (A), curva padrão de NH_4Cl .

Figura 6 – Coleta e pesagem do material da parte aérea da planta.

Figura 7. Atividade da Urease em folhas de soja submetida à ausência, aplicação de via semente, aplicação foliar e aplicação via semente+foliar de níquel. No experimento 1 – A e no experimento 2 – B.

RESUMO

O Ni é um elemento traço essencial para as plantas. Nos sistemas biológicos de enzimas como a urease e hidrogenase, o Ni é componente metálico necessário para manter a atividade das mesmas. No que se refere ao modo de aplicação deste nutriente, são escassos os estudos na cultura da soja. Diante disso, o trabalho teve como objetivo avaliar os métodos de aplicação de níquel e seus efeitos sobre as características agronômica e teor de proteína na cultura da soja. Para isso, foi desenvolvido dois experimentos em casa de vegetação na UNESP-FCAV/Jaboticabal – SP, constituído de quatro tratamentos: Controle, Ni via sementes, Ni via foliar em V5 e V4 e Ni via semente+foliar, com 11 repetições, sendo 5 até R1 e 6 repetições até ciclo final, em delineamento inteiramente casualizado, totalizando 44 unidades experimentais. A fonte de Ni utilizada foi o quelato de Ni. A aplicação de níquel aumentou em 5,31% e 9,11% o teor de proteína no grão de, na primeira e segunda época do experimento, respectivamente. O Ni aplicado via semente e via semente+foliar aumentou a atividade da enzima urease nas folhas das plantas de soja, nas duas épocas do experimento. O tratamento com Ni, via foliar e via semente+foliar não aumentou o número de grãos por vagens, número de vagens por planta e diâmetro do caule. O tratamento da soja apenas via foliar não surte efeito.

Termos para indexação: *Glycine max*, fixação biológica, urease, proteína

METHODS OF APPLICATION OF NICKEL AND ITS EFFECTS ON AGRICULTURAL CHARACTERISTICS AND PROTEIN CONTENT OF SOYBEANS

ABSTRACT

Ni is an essential trace element for plants. In biological systems of enzymes such as urease and hydrogenase, Ni is the metallic component necessary to maintain their activity. Regarding the application of this nutrient, studies on soybean culture are scarce. Therefore, the objective of this work was to evaluate nickel application methods and their effects on agronomic characteristics and protein content in soybean culture. For this, two experiments were carried out in a greenhouse at UNESP-FCAV / Jaboticabal - SP, consisting of four treatments: Control, Ni via seeds, Ni via leaves in V5 and V4 and Ni via seeds + leaves, with 11 repetitions, being 5 to R1 and 6 repetitions until the final cycle, in a completely randomized design, totaling 44 experimental units. The Ni source used was Ni chelate. The nickel application increased the protein content in the grain of 5.31% and 9.11% in the first and second season of the experiment, respectively. Ni applied via seed and via seed + leaf increased the activity of the enzyme urease in the leaves of the soybean plants, in the two periods of the experiment. The treatment with Ni, via leaf and via seed + leaf did not increase the number of grains per pod, number of pods per plant, the diameter of the stem. The treatment of soybeans only through the leaves has no effect.

Index terms: Glycine max, biological fixation, urease, protein

1. INTRODUÇÃO

A adubação é uma prática de manejo agrícola necessária às plantas, principalmente quando o solo não pode suprir os nutrientes que a cultura necessita para obtenção de uma produtividade que garanta retorno econômico satisfatório ao produtor. Quando se trata de micronutrientes e suas disponibilidades, há fatores que podem diminuir drasticamente o aproveitamento pelas plantas, entre eles, o método inadequado de aplicação. Atualmente, levando em consideração o histórico da área, a análise química do solo, a diagnose visual e a análise química de folha são realizadas as indicações dos micronutrientes para aplicações nas plantas.

Para Vitti (2005) a aplicação via semente consta elementos que estão envolvidos na fixação biológica do nitrogênio (N_2), como o molibdênio (Mo) e o cobalto (Co). Para aplicação via sulco de semeadura, existem diversas formas e fontes que podem ser utilizadas, visando o fornecimento principalmente de boro (B), manganês (Mg), zinco (Zn) e cobre (Cu). Já a aplicação via foliar permite disponibilizar para as plantas micronutrientes como Co, Mo, Mg e o Zn. Para isto, devem-se utilizar fontes altamente solúveis, que sejam rapidamente absorvidas. Entretanto, são escassas as informações que fundamentam os modos de aplicação de níquel, comparando as técnicas tradicionais de adubação via solo e foliar, principalmente, para a soja.

Apesar dos estudos com Ni no solo concentrarem, na grande maioria, em aspectos ambientais (Molas, 2002), o Ni exerce diversas funções nas plantas, tais como: interferência positiva no metabolismo de aminoácidos e de ácidos orgânicos (Bai et al., 2006), na produção de etileno (Singh et al., 1994), na germinação das sementes (Brown et al. 1987), na resistência das plantas a doenças (Wells e Wood, 2008) e como componente das enzimas hidrogenase e urease (Evans et al., 1987).

Dentre as culturas de grande importância econômica, a soja é uma leguminosa de ciclo anual considerada, a nível mundial, como principal fonte de produção de óleos e proteínas vegetais para alimentação humana e animal com seu cultivo expandido por diversas regiões do mundo (Manara, 1988). No Brasil, contribui significativamente para economia do país.

Em termos de agricultura, cerca de 80% e 95% do N necessário para o cultivo da soja é advindo do processo de Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) e há evidências de que a aplicação de Ni favoreça este processo, por aumentar a formação de nódulos nas raízes e propiciar maior presença das bactérias ativas Emerich et al. (1979); Camara, (2014). Por essa razão, acredita-se que a aplicação de Ni no cultivo da soja resulta em melhorias no processo de fixação de nitrogênio e, conseqüentemente, no teor de proteína do grão e que os métodos de aplicações do Ni podem influenciar nas características agronômicas da cultura.

A partir da determinação da atividade da enzima urease, bem como, a quantificação do N-total em folha, do teor de proteína no grão, da altura de planta e número de grão por planta, é possível comprovar a influência desse elemento no metabolismo do N. Assim, objetivou-se com este trabalho avaliar os métodos de aplicação de níquel e seus efeitos sobre as características agronômicas e o teor de proteína na cultura da soja.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Níquel na Agricultura

Apesar dos estudos com Ni no solo concentrarem, na grande maioria, em aspectos ambientais (Molas, 2002), abordagens deste elemento referentes à nutrição mineral de plantas remontam do início do século passado. Em 1918, nos Estados Unidos, desordens nutricionais relatadas em pecan (*Carya illinoensis*) foram inicialmente atribuídas a viroses, deficiências de Mn, Cu e só recentemente aceitas como deficiência de Ni pelas plantas (Wood et al., 2004).

Em 2007, o Ni foi inserido na legislação brasileira de fertilizantes na Instrução Normativa N° 05, a qual define que os fertilizantes mistos ou complexos que contenham micronutrientes devem apresentar, no mínimo, 60% do teor total solúvel nos seguintes extratores: solução de ácido cítrico a 2% para boro (B), cobalto (Co), ferro (Fe), molibdênio (Mo), níquel (Ni) e zinco (Zn); solução de Citrato Neutro de Amônio (CNA) + água (relação 1:1) para cobre (Cu) e manganês (Mn) (Brasil, 2007).

As fontes utilizadas para a aplicação de Ni na agricultura podem variar desde sais, como o sulfato, nitrato e cloreto, até formulações com ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), como quelatos (Neto, 2017). No Brasil, as principais fontes de Ni disponibilizadas no mercado de fertilizantes são: Cloreto de Ni (24% de Ni - solúvel), Nitrato de Ni (20% de Ni - solúvel), Sulfato de Ni (22% de Ni - solúvel), Carbonato de Ni (49% de Ni - insolúvel), Quelatos de Ni (Mínimo 2% de Ni - solúvel) e Silicato de Ni (Mínimo 0,1 de Ni total - insolúvel) (Neto, 2017).

Estudando a atividade da urease em resposta a aplicação de níquel, Kutman, Kutman e Cakmak (2013) observaram que nas sementes enriquecidas com altas doses de Ni ($8,32 \text{ mg kg}^{-1}$) a atividade da urease foi 10x superior a atividade da urease nas sementes com baixo enriquecimento ($0,04 \text{ mg kg}^{-1}$). Oliveira (2009), avaliando a aplicação do Ni em planta de alface, observou crescimento significativo na atividade da enzima em função das doses de Ni aplicadas. Krogmeier et al. (1991), cultivando soja em solução nutritiva, também observaram que a adição de Ni refletiu em aumento na atividade da urease nas

folhas da soja. Bai et al. (2006) ressaltam que a economia de N pelas plantas está correlacionada com a hidrólise da ureia, e que essa reação é desfavorecida quando a planta apresenta deficiência em níquel, por tudo, o metabolismo do N é minimizado e como consequência há o acúmulo de ureia.

Lopes (2016), avaliando a produtividade e composição mineral do feijão em resposta a aplicação de duas doses de molibdênio (0 e 80 g ha⁻¹) e cinco doses de Ni (0; 15; 30; 45 e 60 g ha⁻¹), observou que as doses de Ni aumentaram o teor de N da folha e, na presença do Mo, aumentaram o teor de Fe da semente. Sendo observado ainda que as doses de Ni aumentaram o número de sementes por vagem e a massa seca da parte aérea. Em trabalho realizado por Eskew et al. (1983), foi verificado que plantas com deficiência de Ni acumularam níveis tóxicos de ureia nas pontas foliares, ocasionando necrose das mesmas, e isso se deve à diminuição da atividade da enzima urease.

2.2 Soja, seu cultivo no Brasil e relações com o uso de níquel

A soja (*Glycine max* L. Merrill) é uma leguminosa de ciclo anual, originalmente a espécie foi classificada como subtropical, mas com avanços em melhoramento genético seu cultivo vem se expandido por diversas regiões do mundo. No Brasil, a cultura foi difundida com o incentivo dado pela política visando sua autossuficiência nacional. O que a estabeleceu como cultura economicamente importante para o país (Embrapa, 2003). A safra brasileira de soja em 2018/2019 alcançou a produção de 120,883 milhões de toneladas. A área cultivada de soja chegou a 36,945 milhões de hectares e produtividade média de 3.272 kg ha⁻¹ (Conab, 2019).

A planta da soja e seus derivados, que são resultantes do processamento industrial dos grãos, apresentam inúmeras utilizações. Entre elas temos a adubação verde; alimentação humana; nutrição animal; usos industriais e usos potenciais tais como, adesivos para madeira, plásticos biodegradáveis, agentes de controle de erosão, entre outros.

A importância econômica e social da soja reside, principalmente, no elevado teor proteico dos grãos, cerca de 40%. Como o nitrogênio (N) é um

elemento-chave na síntese de proteínas, sua demanda é elevada na cultura, que acumula cerca de 100 kg a 200 kg de N/ha, sendo 67% a 75% alocados nas sementes (Bohrer e Hungria, 1997). Esse nitrogênio pode ser absorvido pelas plantas diretamente do solo ou ser fornecido pela FBN, sendo este último realizado por bactérias da família Rhizobiaceae (Kuykendall et al., 1992).

Na soja, por exemplo, o Ni exerce influência direta no processo FBN, pois é constituinte da enzima hidrogenase (Sellstedt e Smith, 1990; KLucas et al., 1983). Nas leguminosas o transporte N, advindo da FBN, é realizado por ureídeos, que são compostos do metabolismo secundário das plantas, os quais catalisam, no final do transporte, a molécula da ureia que é metabolizada posteriormente pela enzima urease, da qual o Ni faz parte do grupo prostético (McClure e Israel, 1979).

As uréases são enzimas universais nas plantas que desdobra a ureia em gás carbônico e amônia formando o ácido carbâmico ($\text{H}_2\text{N}-\text{COOH}$) e amônia (NH_3) e, como produto final, o ácido carbônico (H_2CO_3) e duas moléculas de amônia (NH_3) (KRAJEWSKA, 2009; SUMNER; HAND, 1931). Ainda, a hidrólise da ureia pode ocorrer de forma não catalisada, onde forma como produto intermediário o cianato ($\text{HN}=\text{C}=\text{O}$) e amônia (NH_3), e como produto final ácido carbônico (H_2CO_3) e duas moléculas de amônia (NH_3) (Krajewska, 2009).

Ureta et al. (2005) demonstraram que baixo nível de níquel nos solos agrícolas pode limitar a atividade da hidrogenase simbiótica de *Rhizobium leguminosarum*, logo, o fornecimento adequado de Ni possibilita o aumento da atividade desta enzima, potencializando a nodulação e favorecendo a FBN (KLucas et al., 1983; Ureta et al., 2005). Neto (2017), avaliando as formas de aplicação de níquel, cobalto e molibdênio no sistema de plantio direto e seus efeitos nas características produtivas da soja, observou que a aplicação de micronutrientes proporcionou maior equilíbrio nutricional das plantas, sendo a dose de 280 g ha^{-1} do níquel, cobalto e molibdênio no tratamento vegetativo a que proporcionou maior produtividade de grãos de soja.

As hidrogenases são enzimas que catalisam a oxidação do hidrogênio molecular em prótons e elétrons (Shafaat et al., 2013); (Brazzolotto et al., 2016). As hidrogenases estão presentes nas bactérias dos gêneros *Rhizobium* e

Bradyrhizobium, responsáveis pela Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) em culturas como a soja (*Glycine max* L. Merrill), por exemplo. Pela ação da hidrogenase, parte do gás de H_2 gerado durante a FBN pode ser reoxidado e assim, essa energia pode ser utilizada para quebra de triplas ligações da molécula de N_2 atmosférico (Câmara, 2014); (Reis et al., 2014).

Estudos a respeito da utilização do Ni em programas de adubação ainda se encontram em fase inicial e concentram principalmente na cultura da soja (*Glycine max* L.), principal commodity produzida no Brasil (Hirakuri, 2014). Logo, o processo de FBN na cultura é uma técnica que atribui uma economia para o país de cerca de 1 bilhão de dólares por ano (Hungria et al., 1994). Por tudo, são necessárias pesquisas a respeito da função do Ni no metabolismo das plantas, na disponibilidade e interações com outros nutrientes que ocorrem no solo, no modo e fonte de utilização na agricultura.

2.3 Níquel: formas no solo, absorção, transporte e função nas plantas

O Ni é um metal de transição que pertence à família VIII B, com massa atômica 59, número atômico 28 e o vigésimo terceiro elemento mais abundante na crosta terrestre, com média de 75 mg de Ni por kg^{-1} (Filho, 2016). No geral, a quantidade de Ni nos solos variam de 2 a 2.000 $mg\ kg^{-1}$ (González-Álvarez, et al., 2013). Na natureza, este micronutriente pode ser encontrado em vários estados de oxidação (0, +1, +2, +3, +4), sendo o mais comum e absorvido pelas plantas o +2 (Fonte-bona, 2019).

O Ni possui grande afinidade com o ferro (Fe) e o enxofre (S), o que permite ser classificado como um elemento siderófilo e calcófilo. Pois, possui raio iônico muito similar ao do ferro (Fe) e do magnésio (Mg). Por este motivo, o níquel e o cobalto frequentemente substituem estes elementos na estrutura cristalina de alguns minerais ferromagnesianos, como olivina, piroxênio, anfibólio e serpentina. Minerais estes, componentes formadores das rochas constituintes do manto terrestre (Fonte-Boa, 2019).

O Ni satisfaz os critérios direto de essencialidade para as plantas, o que o caracteriza como micronutriente. Em geral, nos solos do Brasil, é mais comum

ser observada a toxidez do que a deficiência deste micronutriente. A sua fitodisponibilidade geralmente é influenciada por diversos fatores, entre eles o pH do solo, o teor de carbono orgânico, a capacidade de troca catiônica (CTC) e o teor de argila (Mattiazzo-Prezotto, 1994; Mellis, 2006). O fato é que os cátions metálicos, incluindo Cr^{3+} , Cr^{6+} , Co^{3+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} e Pb^{2+} , têm a tendência em estabelecer ligações químicas do tipo covalente para a formação de complexos, para a formação de precipitados insolúveis com ligantes inorgânicos como o Cl^- e o S^{2-} , bem como com sítios de adsorção dos minerais do solo que podem formar ligações covalentes (Soares, 2004), o tornando pouco disponível para as plantas.

Em sua forma solúvel (Ni^{2+}), o Ni é prontamente absorvido pelas raízes e sua mobilidade na planta irá depender da espécie vegetal (Sauerbeck e Hein, 1991). No solo, o Ni é móvel quando na sua forma iônica Ni^{2+} , principalmente em solos ácidos, sendo adsorvido fracamente pela argila e matéria orgânica (Environment Agency, 2002). Em solução aquosa, o Ni apresenta estado de oxidação Ni^{2+} como a mais importante, e reações de oxidação de Ni^{2+} para Ni^{3+} são pouco comuns (Souza, 2018). Para Seregin e Kozhevnikova (2006), a absorção do Ni pelas plantas é realizada pelo sistema radicular via difusão passiva e transporte ativo e sua forma de oxidação mais comum dentro dos sistemas biológicos é a bivalente, embora possa ocorrer também nas formas Ni^+ e Ni^{3+} (Dixon et al., 1975).

No solo, Yang et al. (1997), ressaltam que o Ni se desloca via xilema na forma iônica ou pode ser complexado com ácidos orgânicos (cítrico e málico) em meio com valores de $\text{pH} > 5$, ou mesmo em grupo de aminoácidos como a histidina em meio com valores de $\text{pH} > 6,5$ (Brown, 2006). As plantas o absorvem em forma de cátion divalente (Ni^{2+}), sendo sua concentração na solução do solo muito pequena. Após entrar em contato com a raiz, o Ni é absorvido, principalmente, por processo ativo em canais não específicos, bem como por difusão passiva (Yusuf et al., 2011). Com a diferença de potencial hídrico decorrente da transpiração das plantas, o Ni é transportado no xilema na forma iônica, sendo o transporte facilitado com a formação de quelatos com ácidos orgânicos, tais como citrato, malato e peptídios (White, 2011).

Pouco se sabe sobre a mobilidade do Ni dentro das plantas (Dechen e Nachtigal, 2006). Entretanto, o grande acúmulo específico de Ni em sementes, semelhante ao que ocorre para Mo, provavelmente requer alta regulação da mobilização e da retranslocação de Ni das folhas mais velhas e durante o estágio de enchimento de grãos. Mishra e Kar (1974), ressaltam que o Ni também pode ser móvel no floema em casos de deficiência, de modo que sua redistribuição ocorre de forma rápida.

O Ni desempenha importantes funções nos sistemas biológicos das plantas. Considerado um importante componente de enzimas fundamentais em rotas bioquímicas nas plantas. Entre os ciclos afetados pela deficiência ou ausência do Ni está o ciclo do carbono e do nitrogênio (N), além dos ciclos dos metabólitos secundários (Silva, 2006); (Wood, 2007; Krajewska, 2009). O Ni também exerce outras funções nas plantas, como a interferência no metabolismo de aminoácidos e de ácidos orgânicos por influenciar na disponibilidade de acetil-CoA, que é a chave para a conversão do oxaloacetato em ácido cítrico nas mitocôndrias (Bai et al. 2006), na produção de etileno (Singh et al. 1994), na germinação das sementes (Brown et al., 1987), na resistência das plantas a doenças (Wells e Wood, 2008) e como componente estrutural da enzima hidrogenase (Evans et al., 1987).

Embora comprovada a essencialidade do Ni nas plantas, suas funções são pouco conhecidas (Bai et al. 2006); (Nakagaki et al., 2006), ou seja, é esperado que com avanços tecnológicos e a busca por melhorias no meio agrícola tenha como impacto positivo pesquisas que busquem conhecer todas as funções e ações dos elementos denominados essenciais às plantas, entre eles, o níquel. Sua principal função na planta está relacionada com a ativação de diversas enzimas. Entre as enzimas dependentes do Ni são conhecidas a urease, hidrogenase de níquel, monóxido de carbono desidrogenase, metil coenzima M redutase, superóxido dismutase, NiFe hidrogenases, acetil coenzima A sintase, Rnase-A, entre outras.

Nas sementes, o Ni apresenta relação direta com a germinação, pois, pela degradação da arginina, principal forma de armazenamento de N em sementes de soja, ocorre liberação de ureia e ornitina, sendo a primeira catalisada pela

urease, a qual requer como cofator o Ni Witte, (2011); Costa et al. (2015). Trabalhos realizados por Kutman et al. (2012) mostram que quando as sementes de soja continham baixo teor de Ni, as plantas apresentaram menor crescimento e foram mais sensíveis aos danos causados pela aplicação de ureia via folha.

Na resistência da planta à doença, controle de ferrugem, por exemplo, acreditava-se que seu modo de ação ocorria diretamente sobre os patógenos, possuindo todas as características de um fungicida sistêmico (Mishra & Kar, 1974); (Moraes et al., 2010). Todavia, Graham et al. (1985) e Brown et al. (1987) demonstraram que o efeito do níquel no controle de doenças decorre, principalmente, devido às alterações metabólicas induzidas por meio da planta hospedeira.

2.4 Métodos de aplicação do níquel

Ni é um micronutriente extremamente importante para o metabolismo do nitrogênio (Jasmim *et al.*, 2002) e, portanto, capaz de afetar a produtividade de diversas culturas. Entretanto, há ainda deficiência de trabalhos com Ni, principalmente quando se trata dos métodos de aplicação.

Para Vitti (2005), a aplicação via semente consta elementos que estão envolvidos na fixação biológica do nitrogênio (N₂), o molibdênio (Mo) e o cobalto (Co), por exemplo, fazendo-se no mesmo momento que a aplicação do inoculante. Para aplicação via sulco de semeadura, pode ser aplicado juntamente com os macronutrientes recomendados. Existem diversas formas e fontes que podem ser utilizadas, visando ao fornecimento principalmente de boro (B), manganês (Mg), zinco (Zn) e cobre (Cu). A aplicação via foliar, por sua vez, permite disponibilizar os micronutrientes à planta de maneira rápida e eficaz. Podendo ser via herbicida ou via defensivo.

No contexto atual, o tratamento de sementes é uma técnica de manejo muito vantajosa, e pode garantir uma melhor expressão das características que determinam o potencial de desempenho da semente após a semeadura em campo, além disso, trata-se de uma prática simples, eficiente e de baixo custo. Porém, o tratamento de plantas via foliar, quando se trata de alguns micronutrientes, pode ser benéfico e trazer ganhos ao produtor. Segundo

Camargo & Silva (1975) o uso da adubação foliar suplementar apresenta as vantagens de conferir maior resistência às plantas contra pragas, doenças, frio e seca, além de aumentar a produtividade.

De fato, são muitos os trabalhos envolvendo pesquisas sobre os micronutrientes e suas funções nas plantas, mas quanto ao níquel ainda são poucas as informações sobre qual melhor forma a ser aplicada e quais componentes são beneficiados com aplicação deste micronutriente.

Kutman, Kutman e Cakmak (2013) observaram respostas à adubação com Ni e ureia, principalmente quando o teor de Ni era baixo e médio na semente ($0,04 \text{ mg kg}^{-1}$ e $0,62 \text{ mg kg}^{-1}$, respectivamente). Estes autores observaram que as reservas de Ni em sementes de soja juntamente com o seu fornecimento via foliar favoreceu o melhor aproveitamento do N-ureia aplicado via foliar.

Lopes et al. (2014) avaliando o efeito da aplicação foliar de Ni (0, 15, 30, 45 e 60 g ha^{-1}) e de Mo (0 e 80 g ha^{-1}), aos 25 dias após a semeadura, na forma de cloreto de níquel hexaidratado e de molibdato de amônio, respectivamente sobre componentes de rendimento, crescimento e composição mineral do feijoeiro comum Ouro Vermelho, observaram que as doses de Ni não influenciaram os teores foliares de N, P, K, Fe, Mo e Ni, entretanto, aumentaram os teores de N, Ni e de proteína bruta na semente. Além disso, não foi observado efeito significativo sobre a massa de sementes, no número de sementes por vagem, no número de vagens por planta e na massa seca de raiz do feijoeiro.

Campanharo (2010), avaliando a resposta do feijoeiro, aplicou cinco doses de níquel (0; 20; 40; 60 e 100 mg L^{-1} de Ni) via foliar em dois solos (Neossolo Quartzarênico Órtico típico e Argissolo Vermelho Amarelo distrófico Tb), o autor observou que os teores de ureia no tecido foliar diminuíram em resposta ao aumento das doses de Ni e que o aumento das doses de Ni promoveu redução dos teores foliares de N orgânico e de Mn. Entretanto, não afetou os teores dos demais nutrientes, com exceção do Ni, que sofreu aumento.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Condições experimentais:

Foram conduzidos dois experimentos em épocas distintas em casa de vegetação localizadas na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal–SP (latitude 21° 15' 22"S e longitude 48° 18' 58" WG, altitude de 575 m).

Os ensaios foram constituídos de 4 tratamentos que estão descritos na tabela 1, utilizando como fonte o quelato de níquel EDTA (13% Ni).

Tabela 1. Descrição dos Tratamentos:

Tratamentos	Métodos de Aplicação	
	1° Experimento	2° Experimento
T0	0 Ni	0 Ni
T1	Níquel via semente	Níquel via semente
T2	Níquel via foliar no estágio V5	Níquel via foliar no estágio V4
T3	Níquel via semente+foliar em V5	Níquel via semente+foliar em V4

O primeiro experimento foi desenvolvido no período de 10 de novembro de 2018 à 26 de fevereiro de 2019. O segundo ensaio, desenvolvido de 10 de janeiro à 18 de abril de 2019. Ambos os experimentos foram desenvolvidos no delineamento inteiramente casualizado, com 11 repetições, sendo 5 delas usadas para análises em R1 e 6 repetições para o ciclo final (Figura 1A), perfazendo um total de 44 unidades experimentais, que se constituíram de vasos com capacidade de 10 dm³ preenchidos com areia lavada. Em cada vaso, foram semeadas 7 sementes de soja cultivar RR2 Pro BS098065/185Jn (Figura 1B). Após 15 dias da emergência foi realizado o desbaste deixando 4 plantas por vaso (Figura 1C).



Figura 1 – Distribuição dos vasos (A), Plantio (B) e desbaste (C).

O tratamento das sementes com fungicida e inseticida de ação protetora, sistêmico, de contato e ingestão StandakTop 2,5 ml/kg⁻¹ semente foi realizado antes da respectiva inoculação, aplicando-se o produto nas sementes e procedendo a homogeneização para a uniforme distribuição. Independente dos tratamentos, as sementes foram tratadas com produto comercial líquido Masterflix, que contém estirpes de *Bradyrhizobium elkani* e *Bradyrhizobium japonicum*. As sementes também foram tratadas com Profol CoMo Fix 225 líquido, que contém 15% de molibdênio e 1,5% de cobalto - 2 mL kg⁻¹ semente. Os Tratamento T1 e T3 – receberam 0,3 g de de Ni ml kg⁻¹ semente (Figura 2A). Tratamento foliar: Tratamento T2 e T3 – 0,85 g L⁻¹ de quelato de Ni, considerando um volume de aplicação de 90 L ha⁻¹ e dose de 10 g de Ni ha⁻¹ (Figura 2B).



Figura 2 – Tratamento de semente com StandakTop e Profol CoMo, (A), Tratamento foliar (B).

As plantas foram nutridas diariamente com a solução de Hoagland & Arnon (1938) que, previamente foi ajustada para cultura da soja, com a omissão de N (garantida pela inoculação) objetivando evitar qualquer interferência no processo de fixação biológica de nitrogênio. Entretanto, aos 15 dias após a semeadura optou-se por realizar a aplicação de uma dose de N para nutrição

das plantas pela baixa concentração do nutriente no cultivo em areia. A dose utilizada correspondeu a 10% da dose indicada na solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1938). Durante o período experimental, a umidade relativa do ar, a temperatura máxima, temperatura média e a temperatura mínima foram registradas com um termo-hidrômetro (Figuras 3 e 4).

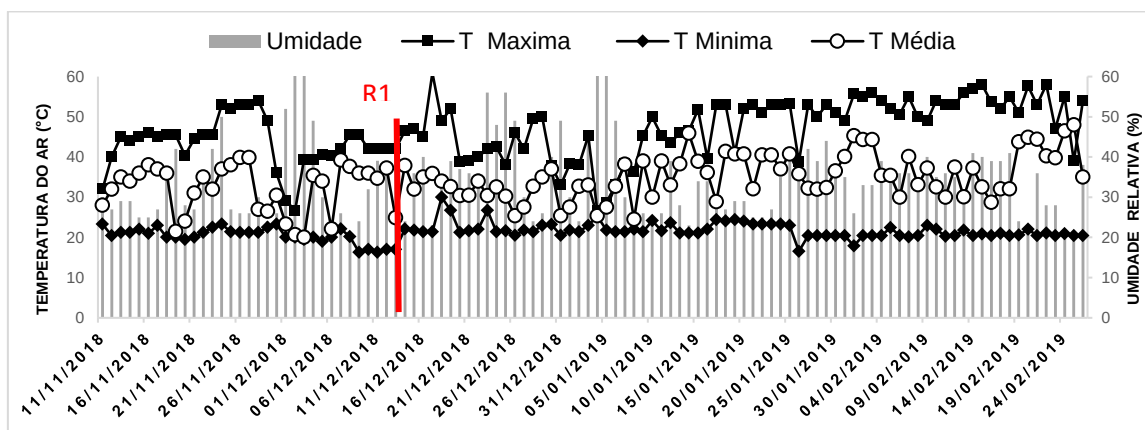


Figura 3 – Umidade Relativa do ar e temperatura máxima, média e mínima registradas durante o primeiro experimento, no período de 11 de novembro de 2018 a 25 de fevereiro de 2019, em Jaboticabal – SP.

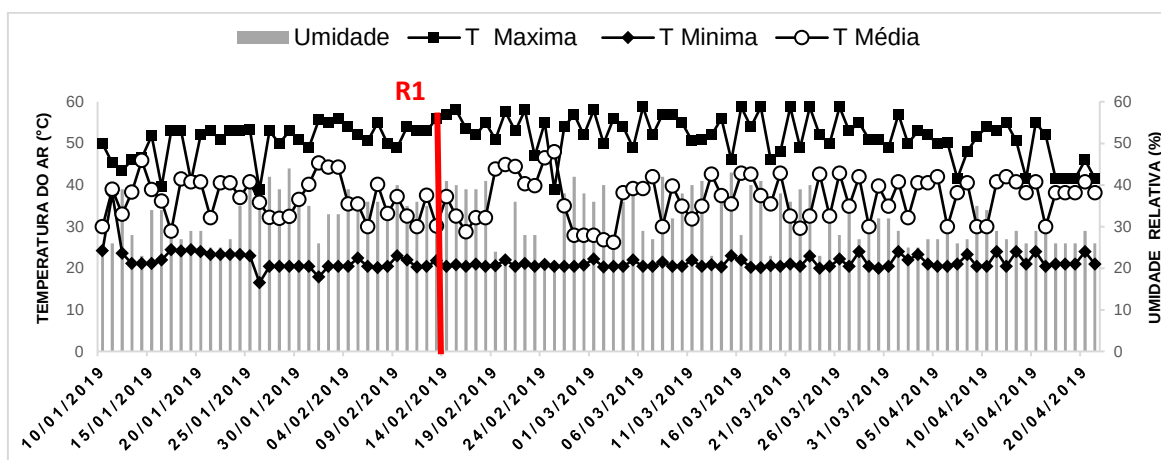


Figura 4 – Umidade Relativa do ar e temperatura máxima, média e mínima registradas durante o segundo experimento na época 2, no período de 10 de janeiro a 21 de abril de 2019, em Jaboticabal – SP.

No estágio R1, cerca de 45 dias após a emergência das plântulas, foram realizadas as análises da atividade da urease (AU), teor de clorofila, teor de carotenoide e N-total na folha, massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca de raiz (MSR), número de nódulos (Nº Nódulos). Para a realização desta etapa,

foram utilizadas 5 repetições de cada tratamento. Ao final do ciclo foram realizadas as avaliações de número de vagem por planta (NVP), número de grão por vagem (NGV), produção de grão por planta (PGPP), altura da planta (AP), diâmetro do caule (DC), altura de inserção da primeira vagem (AIPV), lipídeo e carboidrato no grão. Também foi realizada a análise do teor de proteína no grão.

3.2 Determinação da Atividade da Urease

Para determinação da atividade da Urease (aU) em R1, (Figura 5A) foram coletadas pela manhã amostras de tecido fresco (Figura 5B), estas foram acondicionadas em sacos plásticos, e colocadas em caixas de isopor contendo gelo para manter a baixa temperatura e atividade enzimática. A determinação do N-NH_4^+ foi realizada conforme método de McCullough (1967) e Hogan et al. (1983). Foram incubados 200g de disco foliar (Figura 5A), adicionadas em 8 ml do meio tampão NaH_2PO_4 com ureia pH 7,4, durante três horas à temperatura de 30°C e na ausência da luz e sob agitação constante.

Após a incubação foram coletados 0,5 ml do extrato, adicionando-se 2,5 ml do Reagente I (fenol $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e nitoprussiato de sódio $-170 \mu\text{mol L}^{-1}$) e 2,5 ml do Reagente II ($\text{NaOH } 125 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{NaHPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O } 0,15 \text{ mol L}^{-1}$ e $\text{NaOCl} - 3\% \text{ Cl}_2$). Os tubos foram fechados para evitar perda de NH_3 e colocados em banho-maria a 37°C por 35 min. Posteriormente, foi realizado a leitura colorimétrica em espectrofotômetro a 625 nm. Os resultados foram correlacionados com uma curva padrão de NH_4Cl (Figura 5c), e atividade da urease expressa em $\mu\text{mol NH}_3 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

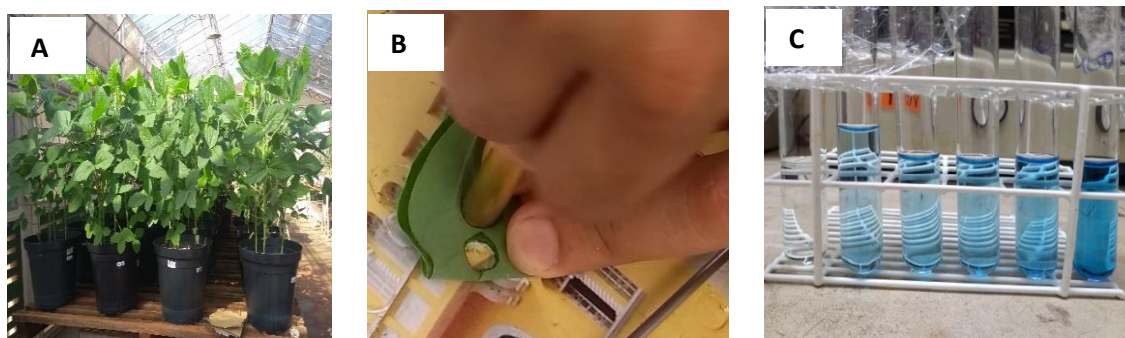


Figura 5 – Planta de soja em R1 (A), Discos foliares (B), Soluções para Curva padrão de NH_4Cl (C).

3.3 Avaliações do teor de clorofilas e de carotenoides

As avaliações de clorofila a, b e do carotenoide seguiram a metodologia proposta por Lichtenthaler & Buschmam (2001). Entre as 07:00 e 10:00 h as folhas foram coletadas (terço médio), inseridas em caixas de isopor com gelo e levadas ao laboratório. No laboratório, as amostras foram cortadas em fragmentos de 1 mm e pesou-se 0,1 g do tecido foliar que, depois foram postos em recipientes de plástico de cor preta (evitando o contato com a luz), contendo 10 ml de acetona a 80%, permanecendo incubados por 24 h, sob refrigeração.

A determinação da clorofila a, b e total e do carotenoide foi realizada na solução incubada. A leitura realizada em espectrofotômetro nos comprimentos de onda 663 nm e 647 nm para clorofila a e b, respectivamente e 447 nm para carotenoide. Os teores dos pigmentos foram calculados pela equação a seguir, proposta por Lichtenthaler & Buschmam (2001).

$$CT = (7,15 \times A_{663}) + (18,71 \times A_{647}) \quad (1)$$

Onde: CT é a clorofila total em $\mu\text{g.gMF}$ e A é a absorbância obtida no espectrofotômetro para os respectivos comprimentos de onda de 663 e 647 nm.

Para determinação do carotenoide foi utilizado as seguintes equações acetona a 80% (v/v):

$$C_a (\mu\text{g/ml}) = 12,25 A_{663} - 2,79 A_{647} \quad (2)$$

$$C_b (\mu\text{g/ml}) = 21,50 A_{647} - 5,10 A_{663} \quad (3)$$

$$C_{(x+c)} (\mu\text{g/ml}) = (1000 A_{470} - 1,82 C_a - 85,02 C_b) / 214 \quad (4)$$

No qual: C_a é o valor da clorofila A, C_b o valor da clorofila B e $C_{(x+c)}$ é o valor obtido do carotenoide.

3.4 Avaliação do teor de N-Total e Teor de Proteína

Para auxiliar na compreensão dos resultados da atividade da enzima urease, fez-se a avaliação dos teores de N- total nas plantas e nos grãos. Para determinação do teor de N, o material devidamente identificado foi acondicionado em sacos de papel, secos em estufa a 65° C até atingir massa constante, e pesado em balança de precisão.

O material foi triturado em moinho tipo faca. Após triturado, a subamostra foi submetida a digestão sulfúrica e em seguida realizou-se a destilação do extrato em destilador de Kjeldahl, conforme metodologia descrita em Malavolta (1997). O teor de proteína bruta foi determinado conforme método descrito por Galvani e Gaertner (2006). Previamente, foi realizada análise de nitrogênio pelo princípio de Kjeldahl, seguido da destilação e posterior titulação com ácido. Para o cálculo de conversão de proteína bruta, multiplicou-se o valor do nitrogênio total encontrado pelo método de Kjeldahl pelo fator 6,25 obtendo assim a porcentagem de proteína com base na matéria seca.

3.5 Determinação do teor de Lipídeos nos grãos

As determinações de lipídeos nos grãos foram realizadas conforme o método de Bligh e Dyer (1959). Pesou-se entre 2,0 e 2,5 g da amostra moída e homogeneizada. Posteriormente, foram transferidos para um tubo de 70 ml no qual foi adicionado 10 ml de clorofórmio, 20 ml de metanol e 8 ml de água destilada.

O material foi agitado em um agitador rotativo por 30 minutos. Em seguida, adicionou-se 10 ml de clorofórmio e 10 ml de solução de sulfato de sódio 1,5%. Posteriormente, foi submetido a agitação vigorosa por 2 min e deixado em repouso até separar as camadas naturalmente. Após o repouso, realizou-se a sucção da camada metonólica superior a qual foi descartada e a camada inferior foi filtrada.

Foram coletados 5 ml do material filtrado o qual foi transferido para um becker de 50 ml previamente tarado. O becker foi levado a uma estufa a 80° C até evaporar o solvente (15 – 20 minutos). O material foi colocado para resfriar

em dessecador e pesado em uma balança analítica. Em seguida procedeu-se o seguinte cálculo:

$$\% \text{ de lipídios totais} = \frac{\text{peso dos lipídios (g)} \times 4 \times 100}{\text{Peso da amostra (g)}}$$

3.6 Determinação do teor de Carboidratos nos grãos

Para a quantificação dos carboidratos (açúcares solúveis totais (AST)) no grão, empregou-se o método fenol-sulfúrico de Dubois et al. (1956). Para a extração dos carboidratos solúveis foram utilizados 200 mg de grãos depositados em um frasco Erlenmeyer de 250 ml e adicionou-se 200 ml de água destilada. Os frascos com as amostras em água foram colocados em incubadora com mesa de agitação orbital (200 rpm), à temperatura ambiente, durante uma hora para que ocorra a solubilização dos açúcares. Posteriormente, foi colocada uma alíquota de 0,5 ml da solução em tubo de ensaio mais 0,5 ml de fenol 5% e 2,5 ml de ácido sulfúrico, sendo que as amostras de soja foram diluídas em água (0,25 ml da amostra para 0,25 ml de água) a fim de diminuir as concentrações de açúcares solúveis para evitar problemas na leitura. Após o resfriamento, foi feita leve agitação e em seguida a leitura em espectrofotômetro a 490 nm.

3.7 Avaliações das características agronômicas

Ao final do ciclo, foi realizada a contagem do número de vagens por planta (NVP) e número de grão por vagem (NGV), altura de planta (AP), diâmetro do caule (DC) e altura de inserção da primeira vagem (AIPV). Posteriormente, o material foi colocado (Figura 6A) em sacos de papel identificados e secos em estufa a 65° C até atingir massa constante, a aferição foi realizada em balança de precisão (Figura 6B). Além das análises do teor de N e Ni na planta e no grão, realizou-se também a análise de teor de proteína no grão. Os grãos foram pesados e padronizados com 13% de umidade em base úmida.



Figura 6 – coleta e pesagem da parte áreas da soja

3.8 Análises estatísticas dos resultados

Os dados foram analisados preliminarmente através de parâmetros descritivos: média, desvio padrão e coeficiente de variação. Os resultados obtidos foram submetidos ao teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade para comparação das médias dos tratamentos. Para as análises estatísticas foi utilizado o programa AgroEstat® (Barbosa e Maldonado Júnior, 2010)

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

De acordo com os resultados das análises (Figura 7), observou-se que houve efeito significativo para a atividade da urease, seja para a aplicação de Ni via semente, e via semente+foliar quando comparada ao controle.

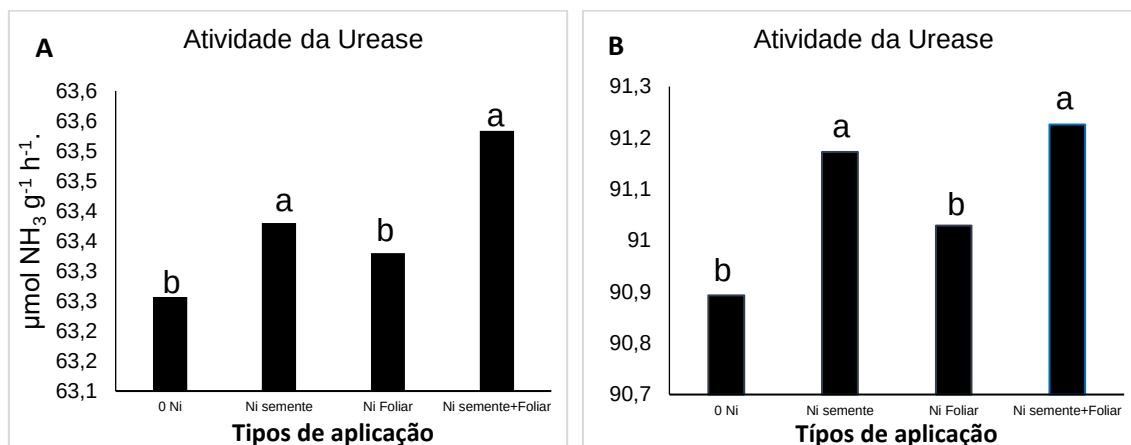


Figura 7 Atividade da Urease em folhas de soja em R1 submetida aos tipos de aplicação de Ni (controle, aplicação via semente, foliar e semente+foliar) no experimento 1 – A e experimento 2 – B.

A presença do Ni influenciou diretamente na atividade da urease que variou de 63,25 a 63,46 $\mu\text{mol NH}_3 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ e de 90,89 a 91,22 $\mu\text{mol NH}_3 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$, respectivamente, no primeiro e no segundo experimento. Entretanto, se avaliamos que a aplicação via semente não diferiu da aplicação via semente+foliar, o tratamento da semente com Ni pode auxiliar na atividade da urease e também se apresenta como método de manejo acessível e prático.

A baixa atividade no tratamento controle pode ser resultante da ausência do Ni, pois, Alcarde et al. (2002) já ressaltava que na ausência do Ni a urease pode não ser ativa, ou apresentar baixa atividade. Resultados semelhantes aos desses experimentos foram obtidos por Kutman et al. (2013) em experimento com plantas de soja suplementadas com Ni observaram que as sementes enriquecidas com altas doses de Ni (8,32 mg kg^{-1}) a atividade da urease foi 10x superior a atividade da urease nas sementes com baixo enriquecimento (0,04 mg kg^{-1}). Oliveira (2009), em experimento avaliando a aplicação do Ni em planta de alface obteve maior atividade da enzima urease quando a plantas suplementadas com Ni.

Neste trabalho, não foram observados sintomas de fitotoxidez na soja e a falta de resposta a aplicação apenas foliar do Ni na atividade da enzima urease pode ser resultante da dose utilizada via foliar não tenha sido suficiente para expressar de forma positiva aumento na atividade da enzima, ou seja, a suplementação a necessidade da aplicação via semente para que a soja responda positivamente em atividade enzimática afetada positivamente.

Para o teor de clorofila a, clorofila b, clorofila total e carotenoide (Tabela 2), não houve diferença significativa ($p>0,05$), em função dos modos de aplicação do Ni. O conteúdo de clorofila determinado no estágio R1 pode não ter sofrido alteração por não se ter diferença entre o teor de N na planta, resultado esse que pode ser comprovado na análise N planta.

Tabela 2. Teor de Clorofila A (C_a), Clorofila B (C_b), Clorofila Total (C_{a+b}) e Carotenoide (C_{x+c}) em folhas de soja em R1 submetida aos tipos de aplicação de Ni (controle, aplicação via semente, foliar e semente+foliar) no experimento e experimento 2.

Tratamentos	C_a (Ep. 1)	C_b (Ep. 1)	C_{a+b} (Ep. 1)	C_{x+c} (Ep. 1)	C_a (Ep. 2)	C_b (Ep. 2)	C_{a+b} (Ep. 2)	C_{x+c} (Ep. 2)
-----mg.gMF-----								
0 Ni	0,20 a	0,06 a	0,25 a	0,10 a	0,31 a	0,10 a	0,40 a	0,15 a
Ni semente	0,20 a	0,06 a	0,25 a	0,10 a	0,30 a	0,09 a	0,39 a	0,15 a
Ni foliar	0,20 a	0,06 a	0,26 a	0,10 a	0,23 a	0,08 a	0,31 a	0,12 a
Ni semente+foliar	0,23 a	0,07 a	0,27 a	0,12 a	0,28 a	0,09 a	0,36 a	0,14 a
Teste F	0,42 ^{ns}	0,56 ^{ns}	0,47 ^{ns}	0,62 ^{ns}	0,91 ^{ns}	0,56 ^{ns}	0,83 ^{ns}	0,84 ^{ns}
Média Geral	0,20	0,06	0,26	0,10	0,28	0,09	0,36	0,14
CV (%)	23,91	28,37	24,39	25,96	29,14	24,02	27,70	27,52

Letras iguais na coluna não diferem pelo teste de Tukey; ^{ns} não significativo.

Diferentemente dos resultados encontrados neste trabalho Franco (2015), avaliando a concentração de clorofila em folhas de soja pelo método indireto, observou que as doses de Ni via semente influenciaram positivamente no índice SPAD. Kutman et al. (2013) também constataram efeito positivo do Ni nos valores de SPDA em relação aos níveis de níquel utilizados na semente. Observando ainda que as maiores leituras foram encontradas nas plantas que receberam aplicações de Ni na solução. Reis et al. (2014) ressaltam que já foi verificado aumento no conteúdo de clorofila em função dos teores iniciais de Ni

nas sementes e também pelo seu fornecimento via foliar, o que não foi verificado neste experimento em nenhum dos experimentos.

Avaliando o teor de N na planta não foi observado resultado significativo na planta. Considerando-se a ausência de efeito das plantas de soja à aplicação do Ni, sobre os teores de N na planta inteira e o seu efeito positivo no teor do N no grão experimento 2 (Tabela 3), provavelmente, o Ni colaborou para translocação do N para as sementes da soja. Além disso, o Ni pode ter proporcionado maior atividade das enzimas urease e nitrogenase, promovendo maior acúmulo de N pelo grão (Pessoa et al., 2001); (Kubota et al., 2008).

Tabela 3. Teor de Nitrogênio na Planta Inteira parte aérea (N Plant. I), em Grão (N Grão) em folhas de soja em R1 submetida aos tipos de aplicação de Ni (controle, aplicação via semente, foliar e semente+foliar) no experimento 1 e experimento 2.

Tratamentos	N Plant. I (Exp. 1)	N Plant. I (Exp. 2)	N grão Exp. 1	N grão Exp. 2
	----- g kg ⁻¹ -----			
0 Ni	25,88 a	32,45 a	52,14 b	53,59 c
Ni semente	25,26 a	43,70 a	55,07 a	55,42 bc
Ni foliar	25,12 a	34,74 a	53,27 ab	57,10 ab
Ni semente+foliar	25,88 a	35,45 a	54,35 ab	58,96 a
Teste F	0,11 ^{ns}	1,53 ^{ns}	3,53*	8,39**
Média Geral	25,53	34,09	53,71	56,27
CV (%)	10,40	6,93	3,10	3,45

Letras iguais na coluna não diferem pelo teste de Tukey; ^{ns} não significativo; *, ** significativos, respectivamente, aos níveis de 5 e 1 % de probabilidade.

A concentração de N nos grãos apresentou valores na ordem de 52,14 a 55,07 g kg⁻¹ no experimento na época 1 e de 53,59 a 58,96 g kg⁻¹ no experimento na época 2. O ganho de 5,62% e 10,02%, respectivamente para o primeiro e segundo experimentos comprando o controle a o tratamento que apresentou maior teor de N. Cabe salientar que, a aplicação do Ni via semente no primeiro experimento e via semente+foliar no segundo experimento foram os que apresentaram maior teor de N, o que sugere a influência do níquel no ciclo do nitrogênio.

Os dados obtidos na análise da enzima urease tendem a confirmar que a suplementação deste micronutriente via semente e via semente+foliar proporcionam ganhos em atividade enzimática e consequentemente em teor de N nos grãos no experimento 1. Entretanto, o experimento 2 apenas o tratamento

via semente+foliar que pode ser justificado pelo aumento da atividade da enzima urease.

Os resultados obtidos para o teor de carboidratos no experimento no experimento 1 para cultura da soja (Tabela 4) mostram efeito significativo, observando maiores valores no tratamento Ni semente+foliar. Entretanto, no experimento 2, não foi observado efeito significativo. As aplicações de Ni não influenciaram significativamente ($p < 0,05$) os teores de óleo nos grãos de soja (Tabela 4).

Tabela 4. Teores de Carboidrato (carb), óleo e proteína nos grãos de soja submetida aos tipos de aplicação de Ni (controle, aplicação via semente, foliar e semente+foliar) no experimento 1 e experimento 2.

Tratamentos	Carb (Exp. 1)	Carb. (Exp. 2)	Óleo (Exp. 1)	Óleo (Exp.2)	Proteína (Exp. 1)	Proteína (Exp. 2)
	-----%-----					
0 Ni	14,73 b	15,08 a	12,90 a	14,51 a	32,58 b	33,49 b
Ni semente	14,80 b	14,98 a	13,13 a	13,56 a	34,41 a	34,87 ab
Ni foliar	14,85 b	14,27 a	13,39 a	13,39 a	33,29 ab	35,69 a
Ni semente+foliar	15,87 a	14,95 a	13,26 a	13,26 a	34, 00 ab	36,85 a
Teste F	6,07**	3,16 ^{ns}	0,37 ^{ns}	1,80 ^{ns}	3,58*	7,81**
Média Geral	15,06	14,82	13,17	13,68	33,57	35,22
CV (%)	3,58	3,44	6,39	7,53	3,10	3,51

Letras iguais na coluna não diferem pelo teste de Tukey; ^{ns} não significativo; *, ** significativos, respectivamente, aos níveis de 5 e 1% de probabilidade.

Os teores de proteína no grão de soja apresentaram resposta positiva à aplicação de Ni (Figuras 4). O incremento máximo observado 5,62% e 10,03%, respectivamente, no experimento 1 e 2, comparado com a controle (0 Ni). Por este motivo, acredita-se que o aumento no teor de N e de proteína na semente seja consequência da maior atividade enzimática da urease, proporcionada pelo Ni no experimento 1. Além disso, a influência do Ni no complexo enzimático hidrogenase, pode aumentar a eficiência da fixação de nitrogênio em leguminosas (Klucas et al. 1983), o que pode ter contribuído para incremento no teor de N.

Resultados semelhantes foram obtidos por Lopes et al. (2014) em experimento avaliando a influência do Ni e do Mo sobre os componentes de rendimento, crescimento e composição mineral do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Ouro Vermelho. Além disso, o teor de proteína bruta encontrados

nos experimentos ficaram próximos aos descritos pela Embrapa (2015). E semelhantes aos encontrados por Souza et al. (2009) avaliando o teor de proteína nos grãos de soja em função do tratamento de sementes com fungicida, inoculante e aplicação de micronutrientes.

É interessante destacar a relevância de pesquisas que avaliem a eficiência e contribuição da aplicação de níquel em plantas, uma vez que este poderá contribuir para o aumento do teor de proteína no grão de soja. Sendo o Ni é um micronutriente responsável pela ativação de enzimas indispensáveis para o metabolismo do Nitrogênio (N) na planta. É o N, um dos macronutrientes exigidos em maiores quantidades pela cultura da soja, a aplicação do Ni pode contribuir na redução de custos com fertilizantes. Segundo Dobereiner (1997), o processo de Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) permite que o cultivo de soja atinja alta produtividade e corrobora para não utilização de adubos nitrogenados no solo, resultando na economia de bilhões de dólares em fertilizantes.

As variáveis, número de grão por vagem, peso médio de cada grão e produção de grão por planta não apresentaram resultados significativos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (Tabela 5).

Tabela 5. Número médio de grãos por planta (n° grãos/planta), produção de grãos por planta (gramas/planta) e peso médio de cada grão (mg/grão), em plantas de soja submetida aos tipos de aplicação de Ni (controle, aplicação via semente, foliar e semente+foliar) no experimento 1 e experimento 2.

Tratamentos	N° grãos/ planta (Exp. 1)	N° grãos/ planta (Exp. 2)	Peso médio mg/grão (Exp. 1)	Peso médio mg/grão (Exp. 1)	Produção grãos g/planta (Exp. 1)	Produção grãos g/planta (Exp. 2)
0 Ni	20,47 a	22,61 a	147,48 a	134,50 a	8,52 a	9,14 a
Ni semente	17,91 a	24,05 a	144,98 a	130,10 a	7,76 a	8,64 a
Ni foliar	17,55 a	22,22 a	149,33 a	135,00 a	7,87 a	9,06 a
Ni Semente+foliar	18,20 a	20,17 a	135,21 a	135,00 a	7,27 a	9,14 a
Teste F	2,78 ^{NS}	1,43 ^{NS}	0,99 ^{NS}	2,24 ^{NS}	1,36 ^{NS}	0,72 ^{NS}
Média Geral	18,53	22,26	144,25	131,57	7,85	8,74
CV (%)	10,44	14,77	10,72	7,97	13,69	15,03

Letras iguais na coluna não diferem pelo teste de Tukey; ^{NS} não significativo;

Alovisi et al. (2011) analisando o efeito da aplicação de sulfato de Ni, em folhas de soja, observou-se que apesar da aplicação foliar elevar o teor de Ni na

planta, não houve efeito na produção da soja, assim como foi verificado neste experimento. Embora alguns autores também tenham relatado o mesmo comportamento, em que a produção não foi alterada pela aplicação do Ni, nem pelo modo de aplicação, Reis et al. (2014) ressaltam que o Ni é extremamente importante para o metabolismo do nitrogênio nas plantas, e pode aumentar a eficiência e a produção das culturas.

As variáveis Massa Seca Parte Aérea (MSPA), Numero de Nódulos (N° Nódulos) no experimento na época 1 não apresentaram resultados significativos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (Tabela 6). Entretanto, a variável Massa Seca de Raiz (MSR) apresentou efeito significativo em função do tratamento com Ni quando comparado ao controle (0 Ni).

Tabela 6. Massa Seca Parte aérea (MSPA), Massa Seca de Raiz (MSR), Numero de Nódulos (N° nódulos) em plantas de soja submetida aos tipos de aplicação de Ni (controle, aplicação via semente, foliar e semente+foliar) no experimento 1 e experimento 2.

Tratamentos	MSPA (Ep.1)	MSPA (Ep.2)	MSR (Ep.2)	MSR (Ep.2)	N° Nódulos (Ep.1)	N° Nódulos (Ep.2)
-----g planta ⁻¹ -----						
0 Ni	5,65 a	3,50 a	3,99 b	1,48 a	141,90 a	11,20 b
Ni semente	6,28 a	3,67 a	6,68 a	1,51 a	135,20 a	17,49 a
Ni foliar	5,79 a	3,64 a	7,62 a	1,84 a	149,30 a	13,80 ab
Ni semente+foliar	5,51 a	3,25 a	7,20 a	1,64 a	158,70 a	15,00 ab
Teste F	1,35 ^{ns}	6,84 ^{**}	6,84 ^{**}	089 ^{ns}	0,42 ^{ns}	4,33 [*]
Média Geral	5,81	6,37	6,37	1,62	146,27	14,35
CV (%)	11,05	21,89	21,89	23,78	23,74	19,30

Letras iguais na coluna não diferem pelo teste de Tukey; ^{ns} não significativo; *, ** significativos, respectivamente, aos níveis de 5, 1% de probabilidade.

Entretanto, não segundo experimento para massa número de nódulos observa-se que as plantas de soja que não receberam aplicação do Ni tiveram menor desempenho. Principalmente, quando comparada as plantas que receberam a aplicação do micronutriente via semente à controle (0 Ni).

Para a altura de plantas e altura de inserção da 1° vagem no primeiro ensaio foi verificado efeito dos tratamentos nas condições testadas, ou seja, na presença da aplicação do Ni (Tabela 7), via semente+foliar a planta de soja teve maior desenvolvimento. Já no experimento época 2, não foi observado diferença

em função do método de aplicação do Ni quando comparado com a testemunha (0 Ni). Para o diâmetro do colmo, não foi verificado efeito significativo em nenhuma das épocas do experimento.

Tabela 7. Altura da Planta (AP), Altura de Inserção da 1ª vagem (AIPV), Diâmetro do Caule (DC), em plantas de soja submetida aos tipos de aplicação de Ni (controle, aplicação via semente, foliar e semente+foliar) no experimento 1 e experimento 2.

Tratamentos	AP Ep.1	AP Ep. 2	AIPV Ep. 1	AIPV Ep. 2	DC Ep. 1	DC Ep. 2
	----- cm -----		----- cm -----			
0 Ni	102 b	49,19 a	28,00 b	23,75 a	5,51 a	3,07 a
Ni semente	107 ab	50,11 a	28,83 ab	23,13 a	5,59 a	3,38 a
Ni foliar	106 b	51,08 a	27,42 b	24,83 a	5,15 a	3,24 a
Ni semente+foliar	114 a	49,19 a	32,42 a	25,15 a	5,44 a	3,07 a
Teste F	8,05**	0,45 ^{ns}	4,24*	1,21 ^{ns}	2,35 ^{ns}	1,97 ^{ns}
Média	1,48	49,93	29,17	24,21	5,42	3,19
CV (%)	2,94	6,35	9,14	8,59	5,66	8,18

Letras minúsculas iguais na coluna não diferem pelo teste de Tukey.; ^{ns} não significativo; *, ** significativos, respectivamente, aos níveis de 5% de probabilidade.

A altura de inserção da 1ª vagem e o diâmetro do colmo normalmente sofrem influência da altura da planta, pois plantas que crescem mais tendem a ter suas vagens inseridas em maior altura e diâmetro do colmo menor. Entretanto, nos dois experimentos não foram encontradas diferenças entre o diâmetro do colmo.

Verneti e vernetti Junior (2009), destacam que a altura de plantas é uma característica geneticamente controlada, portanto, se as condições do meio onde ela está inserida forem ótimas o seu tamanho será próximo ao descrito pelo detentor do material. Oliveira et al. (2018) avaliando a aplicação foliar de nitrogênio, enxofre, molibdênio e níquel em plantas de soja, não observaram efeito positivo na altura da planta na presença da aplicação do Ni.

Considerando-se o baixo custo para aquisição do produto (Ni) para a sua aplicação foliar e via semente, visto que as doses empregadas são bem pequenas, deve-se estudar técnicas das recomendações desse micronutriente nas diferentes condições de solo e clima. Além disso, há necessidade de pesquisas que visem a análises das fontes mais adequadas.

5 CONCLUSÕES

A aplicação foliar não surtiu efeito em nenhuma das variáveis analisadas.

A aplicação de níquel via semente+foliar apresentou efeito significativos no teor de carboidrato e de proteína, na altura de inserção da 1ª vagem, no número de grãos por planta.

O tratamento com Ni, via foliar e via semente+foliar não aumentou o número de grãos por vagens, número de vagens por planta, o diâmetro do caule.

O níquel aplicado via semente e via semente+foliar aumentou a atividade da enzima urease nas folhas das plantas de soja, nos dois experimentos.

6 BIBLIOGRAFIA

Alcarde, J.C.; Guidolin, J.A. & Lopes A.S. **Os adubos e a eficiência das adubações**. 3.ed. São Paulo, Associação Nacional para Difusão de Adubos – ANDA, 1998. 35p. (Boletim Técnico).

Alovisi, A.M.T.; Magri, J.; Dutra, J.E.; Magri, E.; Santos M.J.G.; Alovisi, A. A. Adubação foliar com sulfato de níquel na cultura da soja. **Ensaios e Ciência**, Campo Grande, v. 15. N. 2, p. 25-32. 2011.

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**, Rockville, v.140, p.433-443. 2006.

Barbosa, J.C.; Maldonado, J.W. **AgroEstat: sistema para análises estatísticas de ensaios agrônômicos**. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp (2010).

Bligh EG, Dyer WJ, Can J (1951) A rapid method of total lipid extraction and purification. **Biochem. Physiol.** 37, 911.

Fonte-Boa, T. M. R. Recursos minerais de minas gerais – níquel e cobalto. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/330728763>. Acesso em 01/02/2020.

BOHRER, T.R.J. & HUNGRIA, M. Avaliação de cultivares de soja quanto à fixação biológica do nitrogênio. *Pesq. Agropec. Bras.*, 33:937-952, 1998.

BRASIL. Instrução Normativa n.17, de 21 de maio de 2007. Aprova os Métodos Analíticos Oficiais para Análise de Substratos e Condicionadores de Solos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 24 maio de 2007. Seção 1, p. 8.

Brazzolotto D. et al. (2016). Nickel-centred proton reduction catalysis in a model of [NiFe] hydrogenase. **Nature Chemistry**. 8, 1054–1060.10.1038/nchem.2575

Brown, P.H.; Welsh, R.M.; Cary, E.E. Nickel: A micronutrient essential for higher plants. **PLANT PHYSIOL.**, 85:801-803, 1987.

Camargo, P.N.; Silva, O. **Manual de adubação foliar**. São Paulo: Herba, 1875. 258p.

Câmara, G.M.S. Fixação biológica do nitrogênio em soja. **Informações Agrônômicas**, n. 147, p. 1-9, 2014.

Campanharo M (2010) **Resposta do feijoeiro à aplicação de níquel**. Tese de Doutorado. Universidade Estadual Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, RJ, 138p.

Costa, DF et al. Utilização níquel na cultura da soja. **Cerrado Agrociências**, n. 6, dez. 2015, 31-44 p.

Castro, F. G. **Tratamento de sementes de soja com níquel para aumento da fixação biológica e atividade da uréase**. Dissertação (Mestrado- Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Química na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo.

Dechen, A. R.; Nachtigall, G. R. Micronutrientes. In: Fernandes, M. S. (ed.). *Nutrição mineral de plantas*. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p.327-354.

Dixon NE, Gazzola C, Blakeley RL & Zerner B (1975) Jack bean urease (EC 3.5.1.5), a metalloenzyme. A simple biological role for nickel? **Journal of the American Chemistry Society**, 97:4131-4133.

Dobereiner, J. Biological nitrogen fixation in the tropics: social and economic contributions. **Soil Biology and Biochemistry**. 29:771-774. .1997

Dubois, M. et al. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances, **Nature**, v.28, n. 3, p. 350, 1956.

EMBRAPA. Tecnologias de produção de soja região central do Brasil 2003. Sistema de Produção, n. 1. Londrina: Embrapa Soja, 2003. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Soja/SojaCentralBrasil2003/importancia.htm>>. Acesso em: 02 jan. 2020

Emerich, DW et al. Hydrogen-dependent nitrogenase activity and ATP formation in *Rhizobium japonicum* bacteroids. **Journal of Bacteriology**, v. 137, p. 153-160, 1979.

Eskew, D. L.; et al. An essential micronutrient for legumes and possibly all **higher plants**. *Science*, New York, v. 222, n. 4624, p. 621-623, 1983.

Evans, H. J.; Harker, A. R.; Papen, H.; Russell, S. A.; Hauns, F. J.; Zuber, M. Physiology, biochemistry and genetics of the uptake of hydrogenase in rhizobia. **Annual Review of Microbiology**. Palo Alto; v. 41, p. 335-361, 1987.

ENVIRONMENT AGENCY. Contaminants in soil: collation of toxicological data and intake values for humans. Nickel. Swindon: Environment Agency, 2002. 26 p.

Galvani, F; Gaertner, E. (2006) **Adequação da metodologia Kjeldahl para determinação de nitrogênio total e proteína bruta**. Embrapa Pantanal-Circular Técnica (INFOTECA-E), 9 p. 2006.

González-Álvarez I., Pirajno F., Kerrich R. 2013. Hydrothermal nickel deposits: Secular variation and diversity. **Ore Geology Reviews**, 52:1-3. doi: 10.1016/j.oregeorev.2012.11.006

Graham, R. D.; Welch, R. M.; Walker, C.D. A role for nickel in the resistance in plants to rust. In: AUSTRALIAN AGRONOMY CONFERENCE, 3, 1985, Hobart. Annals... Hobart: Australian Society of Agronomy, 1985. 337p.

Hirakuri, M. H. **O agronegócio da soja nos contextos mundial e brasileiro.** (Documentos/ Embrapa Soja, ISSN 2176-2937; n. 349). Londrina: Embrapa Soja, 2014. 70p

Hoagland, D.R.; Arnon, D.I. The water culture method for growing plants without soils. California Agricultural Experimental Station, 1938, circ.347, p.1-39.

Hogan, ME; Swift, IE; Done, J. Urease assay and ammonia release from leaf tissues. **Phytochemistry**, 22(3):663-667, 1983.

HUNGRIA, M.; ARAUJO, R. S. **Manual de métodos empregados em microbiologia agrícola.** Brasília: Embrapa, 1994. 542p.

Jasmim JM, Monnerat PH & Rosa RCC (2002) Efeito da omissão de N, Ni, Co e S sobre os teores de N e S em feijoeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 26:967-975.

Klucas, R. V.; Hanus, F. J.; Russell, S. A., Evans, H. J. 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 of the United States of America, Washington, v. 8, n. 80, p. 2253-2257, 1983.

Krajewska, B. Ureases I: functional, catalytic and kinetic properties: a review. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, Amsterdam, v. 59, n. 1, p. 9-21, jun. 2009.

Krogmeier, M. J.; McCarty, G. W.; Shogren, D. R.; Bremner, J. M. Effect of nickel deficiency in soybeans on the phytotoxicity of foliar-applied urea. **Plant and Soil**, Netherland, v. 135, n. 2, p. 283-286, 1991.

Kroner, L. E.; Moller, I. M.; Jesén, P. Effects of Ca^{2+} and other divalent cations on uptake of Ni^{2+} by excised barley roots. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 71, p. 49-54. 1987.

Kubota, F.Y.; Neto, A.C.A.; Araujo, A.P. e Teixeira, M.G. Crescimento e acumulação de nitrogênio de plantas de feijoeiro originadas de sementes com alto teor de molibdênio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 32:1635-1641. 2008.

Kutman, B.Y.; Kutman, U.B.; Cakmak, I. Nickel-enriched seed and externally supplied nickel improve growth and alleviate foliar urea damage in soybean. **Plant and Soil**, 1007:1-15, 2012.

KUYKENDALL, L.D.; SAXENA, B.; DEVINE, T.E.; UDELL, S.E. Genetic diversity in *Bradyrhizobium japonicum* Jordan 1982 and a proposal for *Bradyrhizobium elkanii* sp. nov. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v.38, p.501-505, 1992.

Lichtenthaler, H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods of Enzymology*, v.148, p.350-382. 1987.

Lopes, J. F. et al. Adubação foliar com níquel e molibdênio no feijoeiro comum cv. Ouro Vermelho. **Revista Ceres** vol.61 no.2 Viçosa Mar./Apr. 2014

LOPES, J. F. Produtividade e composição mineral do feijão em resposta às adubações com molibdênio e níquel. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 63, n.3, p. 419-426, mai/jun, 2016

Malavolta, E.; Vitti, G.C.; Oliveira, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas**: princípios e aplicações. Piracicaba: POTAFOS, 1997. 201p.

Manara, N.T.F. Origem e expansão. IN: SANTOS, O.S. (Coord.) A cultura da soja 1 – Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná. **Globo**, 1988. p. 13-23

Mattiazzo-Prezotto, M. E. **Comportamento de cobre, cádmio, crômio, níquel e zinco adicionado a solos de clima tropical em diferentes valores de pH**. 1994. 197p. (Tese de livre Docência) Escola superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1994.

McCLURE, P.R.; ISRAEL, D.W. Transport of nitrogen in the xylem of soybean. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 64, p. 411-416, 1979.

Mellis, E. V. **Adsorção e dessorção de Cd, Cu, Ni e Zn, em solo tratado com lodo de esgoto**. 2006. 174p. (Tese de Doutorado) Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2006.

McCullough, H. Determination of ammonia in whole blood by a direct colorimetric method. **Clinica Chimica Acta**, 17: 297-304, 1967.

Mishra, D.; Kar, M. Nickel in plant growth and metabolism. *Botanical Review*, v. 40, n. 4, p. 395-452, 1974.

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**, Kidlington, v. 47, p. 115-126, 2002.

MORAES, M. F.; ABREU JUNIOR, C. H.; LAVRES JUNIOR, J. Micronutrientes. In: PROCHNOW, L. I. C., V.; STIPP, S. R. (Ed.). Boas práticas para uso eficiente de fertilizantes: nutrientes. Piracicaba: IPNI, 2010. 362 p.

Mundstock, C. M.; Thomas, A. L. Soja: fatores que afetam o crescimento e o rendimento de grãos. Porto Alegre: Departamento de plantas de lavouras da Universidade Federal do Rio Grande do Sul: **Evangraf**, 2005.

Nakagaki, S.; Friedermann, G. R.; Caiut, J. M. A. Metil coenzima M redutase (MCR) e o fator 430 (F430). **Química Nova**, v.29, n.5, p.1003-1008. 2006.

NETO, V. J. S. **Forma de aplicação de níquel, cobalto e molibdênio em sistema plantio direto na cultura da soja**. Dissertação (mestrado) -

Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Agronomia. 59 p. Uberlândia -MS. 2017.

Oliveira, T.C. **Atividade da urease e crescimento de alface no solo em resposta a níquel**. 2009. 50 p. Dissertação (mestrado em solos e nutrição de plantas) – Universidade Federal de Viçosa de Minas Gerais, 2009.

Pessoa, A.C.S.; Ribeiro, A.C.; Chagas, J.M.; Cassini, S.T.A. Atividades de nitrogenase e redutase de nitrato e redutase de nitrato e produtividade do feijoeiro “Ouro Negro” em resposta à adubação foliar com molibdênio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 25:217-224. 2001.

Reis, A.R.; Rodak, B.W.; Putti, F.F.; Moraes, M.F. **Papel fisiológico do níquel: essencialidade e toxidez em plantas**. Informações Agronômicas, IPNI, Piracicaba, v.147, p. 10-24, 2014.

Ritchie, S.W.; Hanway, J.J.; Thompson, H.E.; Benson, G.O. How a soybean plant develops. Ames: **Iowa State University of Science and Technology**, 1977. 20p. (Special Report, 53).

Sauerbeck, D.R.; Hein, A. **The nickel uptake from different soils and prediction by chemical extractions**. Water, Air and Soil Pollution, Dordrecht, v. 57/58, p. 861-871, 1991.

SELLSTEDT, A.; SMITH, G. D. Nickel is essential for active hydrogenase in freeliving frankia isolated from casuarina. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 70, n. 2, p. 137-140, 1990.

Shafaat, H.S., Rudiger, O; Ogata, H.; Lubitz, W. [NiFe] hydrogenases: a common active site for hydrogen metabolism under diverse conditions. **Biochimica et Biophysica Acta**. 1827, 986–1002. 10.1016/j.bbabbio.2013.01.015. 2013.

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

Silva, T. R. B.; Lemos, L. B.;Tavares, C. A. (2006). Produtividade e característica tecnológica de grãos de feijoeiro adubado com nitrogênio e molibdênio. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.41, n.5, p.739-745.

Singh, Z.; Singh, L.; Arora, C.L.; Dhillon, B.S. Effect of cobalt, cadmium and nickel as inhibitors of ethylene biosynthesis on floral malformation, yield and fruit quality of mango. **Journal of Plant Nutrition**, Germany, v.17, n.10, p.1659-1670, 1994.

Soares, M.R. **Coeficiente de distribuição (KD) de metais pesados em solos do estado de São Paulo**. 2004. 202p (Doutorado na área de concentração em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. Piracicaba – SP, 2004

Souza, A. Aula prática: síntese de complexos de níquel, cobre e cobalto (aula 8). Publicação da internet. Disponível em: acesso em 03/02/2020.

Souza, L. C. F.; Zanon, G. D.; Pedroso, F. F.; Andrade, L. H. L. Teor de proteína e de óleo nos grãos de soja em função do tratamento de sementes e aplicação de micronutrientes. **Ciência e Agrotecnologia**. Vol. 33 no. 6. Lavras Nov./Dec. 2009.

Takahashi, M.; Tereda, Y.; Nakai, I.; Nakanishi, H.; Yoshimura, E.; Mori, S.; Nishizawa, N. K. (2003). Role of nicotianamine in the intracellular delivery of metals and plant reproductive development. **The Plant Cell**, Rockville, v. 15, p. 1263-1280. 2003.

Vernetti, F.J.; Vernetti Junior, F.J.; Genética da Soja: Caracteres Qualitativos e Diversidade Genética. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2009.

Vitti, G. C.; Junior, N. G. **Uso de micronutrientes na maximização da produção. Lavoura de soja**; GO, 2005.

Ureta, A.C.; Imperial, J.; Ruiz-Argüeso, T.; 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**, Washington, v. 11, n. 71, p. 7603-7606, 2005.

Witte, C.P. Urea metabolismo in plants. **Plant Science**. 180:431-438. 2011.

Wells, M. L.; Wood, B. W. Foliar boron and nickel applications reduce water-stage fruit-split of pecan. **HortScience**, Alexandria, v. 43, n. 5, p. 1437-1440, 2008.

Wood, B.; O níquel na nutrição mineral e na defesa das plantas contra doenças. Rev. Better Crops V.91 n. 3 p. 27-27. Jornal 96, informações agronômicas n.119, setembro de 2007. Potafos www.potafos.org. P 08-11. Acesso 23/10/2010.

Yusuf, M.; Fariduddin, Q.; Hayat, S.; Armaid, A. Nickel: na overview of uptake, essentiality and toxicity in Plants. **Bulletin of Environmental Contamination and toxicology**, New York, V. 86, p. 1-17, 2011.