

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
CÂMPUS DE CHAPADÃO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

MARCIA LETÍCIA MONTEIRO GOMES

INTERAÇÃO NÍQUEL E NITROGÊNIO EM PLANTAS DE MILHO

CHAPADÃO DO SUL - MS

2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
CÂMPUS DE CHAPADÃO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

MARCIA LETÍCIA MONTEIRO GOMES

INTERAÇÃO NÍQUEL E NITROGÊNIO EM PLANTAS DE MILHO

Orientador: Prof. Dr. Cid Naudi Silva Campos

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Mato
Grosso do Sul, como requisito para
obtenção do título de Mestre em
Agronomia, área de concentração:
Produção Vegetal.

CHAPADÃO DO SUL - MS

2023



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

DISCENTE: Marcia Letícia Monteiro Gomes

ORIENTADOR: Dr. Cid Naudi Silva Campos

TÍTULO: Interação Níquel e Nitrogênio em plantas de milho

AVALIADORES:

Prof. Dr. Cid Naudi Silva Campos

Profa. Dra. Rita de Cassia Felix Alvarez

Prof. Dr. Jonas Pereira de Souza Junior

Chapadão do Sul, 27 de fevereiro de 2023.



Documento assinado eletronicamente por **Cid Naudi Silva Campos**,
Professor do Magisterio Superior, em 27/02/2023, às 16:59, conforme
horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do
[Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rita de Cassia Felix Alvarez**,
Professora do Magistério Superior, em 27/02/2023, às 16:59, conforme
horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do
[Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Jonas Pereira de Souza Júnior**,
Usuário Externo, em 28/02/2023, às 13:44, conforme horário oficial de Mato
Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de
13 de novembro de 2020](#).

DEDICATÓRIA

À minha mãe Enilda Monteiro, por sempre me apoiar e incentivar em todos os momentos da minha vida. A minha querida vovó Antônia por todo incentivo e amor, e minha sobrinha Ana Liz, por ser o maior presente de Deus para nossa família.

Dedico!

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela dádiva da vida e por me permitir realizar um sonho nesta existência. Obrigado por me permitir errar, aprender e crescer, por sua eterna compreensão e tolerância, por seu infinito amor, e pela sua voz “invisível” que não me permitiu desistir.

À minha mãe deixo um agradecimento especial, por todas as lições de amor, companheirismo, amizade, caridade, dedicação, abnegação e compreensão. Sinto-me orgulhosa e privilegiada por ter uma base tão importante em minha vida.

À minha querida tia, Eva Monteiro, por sempre torcer por mim, pelo carinho, amor, cuidado e energias boas.

À minha querida Vovó, Antônia, por sempre torcer por mim, pelo carinho, amor, preocupação, e por sempre está entusiasmada com minhas conquistas.

À minha querida cunhada Alice Fernandes, e meu irmão Marcos Monteiro, pelo carinho, amor e incentivo. São as pessoas responsáveis pelo ser mais importante da minha vida, minha querida sobrinha Ana Liz, a qual é minha alegria, vida e incentivo da nossa família.

Ao amor da minha vida, meu noivo Nei Junior, por todo amor, carinho, paciência, compreensão e apoio em tantos momentos difíceis desta caminhada. Obrigada por permanecer ao meu lado, mesmo sem os carinhos rotineiros devido à distância. Foi meu braço direito nessa caminhada, meu incentivo e meu porto seguro. Obrigado pelo presente de cada dia, pelo seu sorriso e por saber me fazer feliz.

Aos meus sogros, Laide Freitas e Valdinei Freitas, por toda ajuda, carinho e amor.

Ao orientador desta dissertação o Professor Doutor Cid Naudi Silva Campos, pela orientação prestada, pelo seu incentivo, respeito, confiança, disponibilidade e apoio que sempre demonstrou. Aqui lhe exprimo a minha gratidão!

Ao Professor Doutor Paulo Teodoro, pela sua receptividade, incentivo, e disponibilidade em me ajudar com os dados sempre que o procurei.

À minha amiga Dágila, pela amizade, conselhos e, principalmente, pela preocupação e apoio constante.

Ao meu amigo Luydi Adriel e minha querida amiga Layse Fernanda pelas mensagens, mesmo de longe torceram por mim e sempre quando possível me aqueciam o coração com uma mensagem de apoio.

À minha colega de pós, Natielly Pereira, por ter me recebido tão bem, me apoiando e sendo muito solidária.

Agradeço ao programa de Pós-graduação em agronomia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Câmpus Chapadão do Sul.

Agradeço a Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia (FUNDECT) do Estado de Mato Grosso do Sul, pelo auxílio financeiro durante os anos de estudos.

Ao Grupo de Estudos do Cerrado em Nutrição de plantas (GECENP) que de uma forma direta ou indireta, contribuíram, ou auxiliaram no desenvolvimento do presente estudo.

Por fim, o meu profundo e sentido agradecimento a todas as pessoas que contribuíram para a concretização desta dissertação, estimulando-me intelectual e emocionalmente.

EPÍGRAFE

E ainda que tivesse o dom de profecia, e conhecesse todos os mistérios e toda a ciência, e ainda que tivesse toda a fé, de maneira tal que transportasse os montes, e não tivesse amor, nada seria (I Coríntios 13:2).

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Valores de precipitação pluvial (mm) e temperaturas (°C) médias mensais durante o período de condução do experimento na safra de 2022 para cultura do milho.....	16
Figura 2. Conteúdo de clorofila e carotenoides de plantas de milho cultivadas sob doses de Ni.....	20
Figura 3. Fotossíntese (A) (a), Concentração interna de CO ₂ (Ci) (b), Eficiência instantânea na carboxilação (ICE) (c), e Eficiência instantânea no uso da água (WUE) (d) de plantas de milho cultivadas sob doses de Ni.....	21
Figura 4. Teor de Ni nas folhas (a) e teor de Ni no grão (b) de plantas de milho cultivadas sob doses de Ni.....	22
Figura 5. Análise de variáveis canônicas para as variáveis clorofila, carotenoides, fotossíntese, concentração interna de dióxido de CO ₂ , eficiência instantânea na carboxilação, eficiência instantânea na carboxilação, teor de Níquel na folha, produtividade, e teor de Níquel no grão em plantas de milho.....	22
Figura 6. Esquema hipotético da comparação dos tratamentos com aplicações de Ni e sem aplicação de Ni em plantas de milho.....	26
Figura 7. Valores de precipitação pluvial acumulada (mm) e temperaturas (°C) médias mensais durante o período de condução do experimento na safra de 2021/2022 para cultura do milho.....	33
Figura 8. Teor de N e Ni nas folhas de plantas de milho sob ausência, dose recomendada e excesso de N, e doses de Ni.....	38
Figura 9. Urease, clorofila total, carotenoides e fotossíntese nas folhas de plantas de milho sob ausência, dose recomendada e excesso de N, e doses de Ni.....	39
Figura 10. Produtividade das folhas de plantas de milho sob ausência, dose recomendada e excesso de N, e doses de Ni.....	40
Figura 11. Análise de variáveis canônicas para as variáveis teor de N na folha, Ní na folha, atividade da enzima urease, clorofila total, carotenoides, fotossíntese, transpiração, condutância estomática, eficiência instantânea no uso da água, eficiência instantânea da carboxilação e produtividade.....	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Teor de clorofila total, carotenoides, fotossíntese, concentração interna de CO ₂ , eficiência no uso de água, eficiência instantânea da carboxilação, produtividade, teor de Ni foliar e teor de Ni no grão de plantas de milho.....	20
Tabela 2. Teor de clorofila total, carotenoides, Fotossíntese, produtividade, teor de N na folha, e teor de Ni na folha de plantas de milho.....	37

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	12
RESUMO.....	12
ABSTRACT	13
INTRODUÇÃO	14
MATERIAL E MÉTODOS.....	15
Localização da área experimental e caracterização climática	15
Solo da área experimental e características químicas.....	16
Tratamentos e delineamento experimental.....	16
Instalação do experimento e aplicação dos tratamentos.....	17
Manejo fitossanitário e de plantas daninhas.....	18
Análise de pigmentos fotossintetizantes	18
Trocas gasosas	18
Diagnose foliar	18
Colheita e avaliação da produtividade	19
Análise nutricional no grão	19
Análise estatística	19
RESULTADOS.....	19
Pigmentos fotossintetizantes.....	20
Trocas gasosas	20
Teor de Ni na folha e no grão	21
DISCUSSÃO	23
CONCLUSÕES	26
AGRADECIMENTOS.....	27
FONTE DE FINANCIAMENTO	27
REFERÊNCIAS	27
CAPÍTULO 2.....	30
RESUMO.....	30
ABSTRACT	31
INTRODUÇÃO	32
MATERIAL E MÉTODOS.....	32
Localização da área experimental e caracterização climática	32
Solo da área experimental e características químicas.....	33
Tratamentos e delineamento experimental.....	34
Instalação do experimento e aplicação dos tratamentos.....	34
Manejo fitossanitário	35

Análise nutricional	35
Atividade da urease.....	35
Análise de pigmentos fotossintetizantes	36
Trocas gasosas	36
Colheita e avaliação da produtividade	36
Análise estatística	37
RESULTADOS.....	37
DISCUSSÃO	41
CONCLUSÕES	42
AGRADECIMENTOS.....	42
FONTE DE FINANCIAMENTO	43
REFERÊNCIAS	43

CAPÍTULO 1

EFEITOS DA APLICAÇÃO FOLIAR DE NÍQUEL EM PLANTAS DE MILHO

RESUMO: O níquel (Ni) é considerado um micronutriente e possui uma estreita faixa entre a quantidade para atender a exigência nutricional da planta e a que poderá causar toxicidade. O manejo da adubação de Ni precisa ser adequado, pois o excesso desse micronutriente pode provocar sintomas de toxicidade, prejudicando o desenvolvimento da planta. Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito da aplicação foliar de doses de Ni em plantas de milho, para verificar se o Ni aplicado promove ganhos nas trocas gasosas e produtividade de grãos, devido à melhoria na nutrição, bioquímica e fisiologia das plantas. O delineamento utilizado foi em blocos casualizados (DBC) com 5 doses de Ni: 0; 20; 40; 80 e 160 g ha⁻¹ de Ni via foliar (divididos em duas aplicações), com 4 repetições, totalizando 20 parcelas. Foram feitas as análises de pigmentos fotossintetizantes e trocas gasosas. As variáveis fisiológicas avaliadas foram: fotossíntese, concentração interna de CO₂, condutância estomática, eficiência instantânea no uso da água, e a eficiência instantânea na carboxilação. Além da análise de teor de Ni na folha e no grão e a produtividade de grãos. Todas as avaliações foram realizadas no mesmo estágio fenológico VT (pendoamento), na primeira folha completamente desenvolvida com bainha visível. Por meio da análise de regressão, os dados foram ajustados ao modelo quadrático e linear com o incremento das doses de Ni. Diante disso, a aplicação foliar de Ni é uma alternativa para a nutrição do milho. A dose de 80 g ha⁻¹ de Ni (dividida em duas aplicações) foi a que mais contribuiu para o desenvolvimento da cultura do milho, uma vez que a aplicação de Ni via foliar favoreceu os teores de clorofila total, carotenoides, fotossíntese, eficiência instantânea no uso da água, e eficiência instantânea na carboxilação. Os teores de Ni diferiram nas partes da planta e foram maiores nas folhas. A dose de 160 g ha⁻¹ de Ni ocasionou declínio nas variáveis fisiológicas, pigmentos fotossintetizantes, *A*, *ICE*, *WUE* e aumentou os teores da *Ci*. A produtividade do milho não aumentou em resposta à aplicação foliar de Ni.

Palavras-chave: concentração interna de CO₂. fotossíntese. micronutriente. pigmentos fotossintetizantes. *Zea Mays*.

CHAPTER 1

EFFECTS OF NICKEL FOLIAR APPLICATION ON CORN PLANTS

ABSTRACT: Nickel (Ni) is considered a micronutrient and has a narrow range between the amount to meet the nutritional requirement of the plant and that which may cause toxicity. The handling of Ni fertilization needs to be adequate, as the excess of this micronutrient can cause symptoms of toxicity, impairing the development of the plant. This study aimed to evaluate the effect of foliar application of Ni doses on maize plants, to verify whether the applied Ni promotes gains in gas exchange and grain yield, due to the improvement in plant nutrition, biochemistry and physiology. The design used was in randomized blocks (DBC) with 5 doses of Ni: 0; 20; 40; 80 and 160 g ha⁻¹ of Ni via foliar application (divided into two applications), with 4 replications, totaling 20 plots. Analyses of photosynthetic pigments and gas exchange were performed. The physiological variables evaluated were: photosynthesis, internal CO₂ concentration, stomatal conductance, instantaneous efficiency in water use, and instantaneous efficiency in carboxylation. In addition to the analysis of Ni content in the leaf and grain and grain yield. All evaluations were carried out at the same VT phenological stage (pinning), on the first completely developed leaf with a visible sheath. By means of regression analysis, the data were adjusted to the quadratic and linear model with the increment of Ni doses. In view of this, foliar application of Ni is an alternative for maize nutrition. The dose of 80 g ha⁻¹ of Ni was the one that most contributed to the development of the corn crop, since the application of Ni via the leaves favored the levels of total chlorophyll, carotenoids, photosynthesis, instantaneous efficiency in water use, and instantaneous efficiency in carboxylation. Ni contents differed in plant parts and were higher in leaves. The dose of 160 g ha⁻¹ of Ni caused a decline in the physiological variables, photosynthetic pigments, A, ICE, WUE and increased Ci contents. Corn yield did not increase in response to Ni foliar application.

Keywords: internal concentration of CO₂. photosynthesis. micronutrient. photosynthetic pigments. *Zea Mays*.

INTRODUÇÃO

O níquel (Ni) é um metal pesado, em termos nutricionais foi o último elemento considerado essencial, (Gonzalez, 2016), e foi inserido na legislação brasileira de fertilizantes (MAPA, 2013). A aplicação via foliar fornece micronutrientes para a planta de maneira rápida e eficaz. Os estudos a respeito de sua exigência pelas culturas em condições de campo e forma de utilização na agricultura se encontra em fase inicial, sendo o sulfato de Ni ($\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) uma das fontes mais utilizadas. A aplicação de Ni via foliar é uma das formas mais comuns de adubação com esse nutriente (LEVY, 2013).

O Ni está envolvido com o metabolismo do nitrogênio nas plantas, capaz de aumentar a produtividade das culturas (POLACCO et al., 2013; RODAK, 2014). O Ni melhora a atividade fotossintética e o transporte de elétrons em cloroplastos em plantas de milho (DRAŹKIEWICZ; BASZYŃSKI, 2010). Sua importância na nutrição mineral de plantas foi estabelecida por sua principal função estar relacionada à metaloenzima urease, composta por dois íons (Ni^{2+}) em seu sítio ativo, responsável por catalisar a hidrólise de ureia em amônia (NH_3) e dióxido de carbono (CO_2) (ZHANG et al., 2020). Permitindo aos organismos o uso de ureia gerada interna e externamente como fonte de Nitrogênio (N).

A deficiência de Ni afeta a ação da urease, que ocasiona o acúmulo de ureia, causando manchas necróticas nas pontas das folhas. Dessa forma, o Ni em concentrações adequadas nas folhas aprimora a hidrólise de ureia, promovendo aumento do teor de clorofila e da taxa de fotossintética (KUMAR et al., 2018). Enquanto doses superiores tendem a diminuir a fotossíntese e, conseqüentemente, declínio de pigmentos fotossintéticos, uma vez que o excesso deste micronutriente causa efeitos nocivos em processos bioquímicos/fisiológicos das plantas (SHAHZAD et al., 2018).

A toxicidade de Ni diminui os teores de clorofila total e as variáveis de trocas gasosas em plantas de milho (Rehman et al., 2016), incluindo inibição enzimática, funcionamento dos estômatos, transporte fotossintético de elétrons e degradação de moléculas de clorofila, conseqüentemente reduzindo a fotossíntese e o rendimento biológico das plantas (YUSUF et al., 2011).

Ainda são escassos os trabalhos sobre doses com esse micronutriente e a recomendação do uso de Ni para a cultura do milho. Mesmo gerando benefícios às culturas, o manejo da adubação de Ni precisa ser adequado, pois o excesso desse micronutriente pode provocar sintomas de toxicidade, prejudicando o desenvolvimento da planta.

Diante do exposto, buscou-se testar a hipótese que a aplicação de Ni em concentração adequada promove incremento das trocas gasosas e da produtividade em plantas de milho, enquanto nas maiores doses ocasiona toxicidade, o que poderia comprometer as variáveis fisiológicas e a produtividade de grãos. Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito da aplicação foliar de doses de Ni em plantas de milho, para verificar se o Ni aplicado promove ganhos nas trocas gasosas e produtividade de grãos, devido à melhoria na nutrição, bioquímica e fisiologia das plantas.

MATERIAL E MÉTODOS

Localização da área experimental e caracterização climática

O experimento foi conduzido na área experimental da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Câmpus Chapadão do Sul, com coordenadas geográficas de 18°46'16" S de latitude, 52°37'22" O de longitude e com altitude média de 820 metros, na segunda safra de 2022 com a cultura do milho.

De acordo com a classificação de Köppen, o clima predominante na região é do tipo tropical úmido (AW), com estação chuvosa no verão e seca no inverno. As informações climáticas, referentes às médias de temperaturas máximas, mínimas e precipitação pluviométrica durante todo período experimental estão demonstradas na Figura 1. Durante o experimento, a temperatura média foi de 16,14 °C. A precipitação mínima foi de 4,0 mm e a máxima de 40 mm com total de 370,5 mm distribuídos em 22 dias de chuvas (Figura 1), quantidade inferior à necessária para o adequado desenvolvimento das plantas de milho, pois a exigência hídrica dessa cultura varia entre 380 a 550 mm (ALBUQUERQUE, 2010).

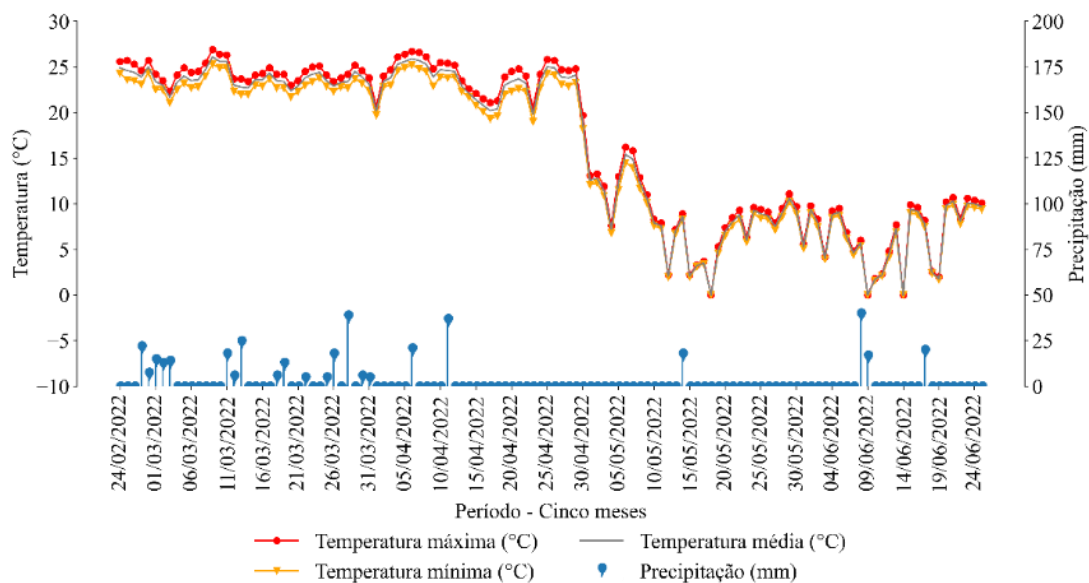


Figura 1. Valores de precipitação pluviométrica (mm) e temperaturas (°C) médias mensais durante o período de condução do experimento na safra de 2022 para cultura do milho, Chapadão do Sul, MS. Fonte: INMET (2022).

Solo da área experimental e características químicas

Antes da instalação do experimento, foi realizada a amostragem do solo na camada de 0 a 0,2 m de profundidade. Para tanto utilizou-se trado holandês, coletou-se 12 amostras simples em pontos aleatórios da área experimental. Em seguida, procedeu-se à análise química para fins de fertilidade e granulométricas (areia, silte e argila), conforme metodologia descrita por Raij et al. (2001) e Donagema et al. (2011), respectivamente. Para a análise de granulometria, os resultados foram: 465, 50 e 485 g kg⁻¹ de argila, silte e areia, respectivamente, logo um solo com textura argila arenosa. Que já havia sido classificado como Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico por (SANTOS et al., 2018).

Os dados obtidos na análise química apresentaram os seguintes resultados: pH CaCl₂ = 5,1; Al = 0,07 cmol_c dm⁻³. Macronutrientes: Ca = 4,30 cmol_c dm⁻³; Mg = 1,00 cmol_c dm⁻³; K = 0,31 cmol_c dm⁻³; P (mel) = 39,6 mg dm⁻³; S = 14,2 mg dm⁻³. Micronutrientes: B = 0,28 mg dm⁻³; Cu = 1,4 mg dm⁻³; Fe = 53 mg dm⁻³; Mn = 14,9 mg dm⁻³; Zn = 4,8 mg dm⁻³; Matéria Orgânica (M.O) = 31,9 g dm⁻³; C.O. = 18,5 g dm⁻³; capacidade de troca catiônica (CTC) = 11,7 cmol_c dm⁻³; Saturação por bases = 47,9%. Relação entre bases: Ca/Mg = 4,3; Ca/K = 13,9; Mg/K = 3,2. O teor de Ni no solo foi baixo: < 1,0 mg kg⁻¹ pelo método EPA 3050B e < 0,2 mg kg⁻¹ em Mehlich-1, (RODAK et al., 2015).

Tratamentos e delineamento experimental

O delineamento utilizado foi em blocos casualizados (DBC) com 5 doses de Ni: 0; 20; 40; 80 e 160 g ha⁻¹ de Ni (divididas em duas aplicações), com 4 repetições, totalizando 20 parcelas. As parcelas foram compostas por 6 linhas de 6 m de comprimento, espaçadas de 0,50 m entre si, sendo a área útil constituída pelas quatro linhas centrais com 6 m de comprimento, descartando 1,0 m de cada lado nas bordaduras.

Instalação do experimento e aplicação dos tratamentos

O híbrido utilizado foi o P3858PWU de ciclo precoce, recomendado para a região centro oeste, no verão e na segunda safra, por possuir excelente potencial com estabilidade e qualidade de colmo e raiz, *stay green* acentuado, boa sanidade foliar, ciclo precoce com finalidade de grão, recomendado tolerante as principais doenças do milho. A semeadura foi realizada em 24 de fevereiro de 2022., e as sementes foram tratadas fungicida Ipconazol 450 g/L ou 45% (doses de 0,056 ml ha⁻¹ por kg de sementes) e, Fludioxonil 25 g/L - Metalaxil-M 10 g/L (doses de 1,5 ml ha⁻¹ por kg de sementes) e; com os inseticidas Deltametrina 25 g/L (doses de 0,08 ml kg⁻¹ por kg de sementes) e, Pirimifós-metílico 500 g L⁻¹ (doses de 0,016 ml ha⁻¹ por kg de sementes), a fim de garantir proteção contra o ataque de pragas e fungos de solo.

Foram aplicados 500 kg ha⁻¹ do formulado 08-28-16 (N, P, K) no sulco do plantio + 2 kg ha⁻¹ de Boro (bórax 15%) a lanço em área total após o plantio. Foram realizadas duas adubações de cobertura, uma no estágio fenológico V4 e outra em V6, utilizando ureia como fonte de nitrogênio e como fonte de potássio o Cloreto de potássio (KCl). Em V4 e V6 foram aplicados 90 kg ha⁻¹ de N e 45 kg de K₂O por ha⁻¹, conforme recomendado por Souza e Lobato (2004). Ainda em V4 foram aplicados via foliar, solução de 0,5% de sulfato de Zn e sulfato de Mn, com volume de calda de 300 L ha⁻¹. Após a primeira adubação nitrogenada de cobertura, foi aplicada Mo via foliar, para tanto utilizou-se 100 ml ha⁻¹ da fonte (Molibdato de sódio 15,5 % de Mo), em 100 L de água como volume de calda.

Como fonte de Ni foi utilizado sulfato de Ni (NiSO₄(H₂O) 6) via foliar 5 dias após cada adubação nitrogenada de cobertura, sendo assim, cada dose de Ni foi dividida em duas aplicações, metade em no estágio fenológico V4 e a outra metade em V6. Para tanto, utilizou-se pulverizador costal com cilindro de alumínio com capacidade para 2 kg de CO₂, regulador de pressão, manômetro, de 0 a 100 psi, válvula de segurança e uma barra de aplicação com 4 bicos, calibrado para uma vazão de 150 L ha⁻¹, utilizando uma pressão

de 2,5 bar e pontas TTI60-110025 TeeJet®. Foi adicionado 1 ml/L de óleo vegetal em todas as aplicações.

Manejo fitossanitário e de plantas daninhas

As aplicações foram feitas nos estádios fenológicos V4 com o herbicida Glifosato (588 g L^{-1}); V4 e V8 com o inseticida Tiametoxam (141 g L^{-1}), Lambda-Cialotrina (106 g L^{-1}); e V6 com o inseticida Metomil (215 g L^{-1}). Além disso, foram aplicados 300 ml ha^{-1} dos fungicidas Azoxistrobina (200 g L^{-1}), Ciproconazol (80 g L^{-1}) 40 dias após o plantio; 500 ml ha^{-1} dos fungicidas Azoxistrobina/Flutriafol (125 g L^{-1}) 60 dias após o plantio.

Análise de pigmentos fotossintetizantes

A partir da amostragem de 6 folhas por parcela foram determinados os teores de clorofila $a + b$, e carotenoides. Os teores dos pigmentos foram determinados a partir da retirada de $0,04 \text{ g}$ de amostra fresca das folhas; em seguida, foram adicionados em tubos de ensaio com 5 mL de acetona (80%) para extração de pigmentos fotossintéticos, e permaneceram resfriadas por cerca de uma semana. Logo após, os extratos foram mensurados através de espectrofotômetro (modelo TU-1810) de acordo com a metodologia de Lichtenthaler (1987). Todas as avaliações fisiológicas foram realizadas no mesmo estágio fenológico VT (pendoamento), na primeira folha completamente desenvolvida com bainha visível.

Trocas gasosas

Foram realizadas as análises de trocas gasosas através do equipamento portátil de fotossíntese (Infrared Gas Analyzer - IRGA), modelo Li6400XT (LiCor Inc., Lincoln, Nebraska, USA) com fluxo de fótons fotossinteticamente ativos de $1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ e concentração de CO_2 ambiente de $(400 \pm 10 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1})$. As variáveis fisiológicas avaliadas foram: fotossíntese (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), concentração interna de CO_2 (C_i , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$), transpiração (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e condutância estomática (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). De posse destes dados, foram quantificadas a eficiência no uso de água (WUE) (A/E) [$(\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}) (\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1})^{-1}$] e a eficiência instantânea da carboxilação (ICE) (A/C_i) [$(\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}) (\mu\text{mol mol}^{-1})^{-1}$].

Diagnose foliar

Foram coletadas a primeira folha oposta a base da espiga principal de cada planta, no momento do florescimento pleno. As folhas foram lavadas em água corrente com

solução detergente neutro a 0,1%, solução de HCl a 0,3% e água deionizada (PRADO, 2021). As folhas foram secas em estufa de circulação forçada de ar (65 ± 5 ° C) até o peso constante, sendo obtida a matéria seca das folhas de milho. Para determinação de Ni na folha, seguiu-se a metodologia proposta por (SILVA, 2009).

Colheita e avaliação da produtividade

No final do ciclo do milho, foi realizada a avaliação de produtividade de grãos por meio da colheita e trilha da área útil de cada parcela. Para calcular a produtividade após a trilha, o teor de umidade dos grãos foi corrigido para 13%, efetuando também os descontos das impurezas, sendo o resultado expresso em kg ha⁻¹.

Análise nutricional no grão

Os grãos foram coletados após a medição da produtividade por parcela. Os grãos foram secos em estufa de circulação forçada de ar (65 ± 5 ° C) até o peso constante, sendo obtida a matéria seca dos grãos de milho. Para determinação de Ni no grão, seguiu-se a metodologia proposta por (SILVA, 2009).

Análise estatística

Os dados foram submetidos a verificação da normalidade dos dados (Teste W de Shapiro-Wilk), e a análise de variância (ANOVA). As variáveis significativas submetidas a regressão em nível de 0,05% de probabilidade e plotando os gráficos. Realizou-se ainda, a análise de variáveis canônicas para identificar a associação entre os tratamentos e as variáveis avaliadas.

RESULTADOS

Os resultados para as variáveis: clorofila total, carotenoides, fotossíntese, concentração interna de CO₂, eficiência no uso de água, eficiência instantânea da carboxilação, teor de Ni na folha, e teor de Ni no grão em plantas de milho foram significativos, enquanto para a produtividade não foi significativa. (Tabela 1).

Tabela 1. Teor de clorofila total (Ca+b), carotenoides (Cx.c), fotossíntese (A), concentração interna de CO₂ (Ci), eficiência no uso de água (WUE), eficiência instantânea da carboxilação (ICE), teor de Ni na folha (Ni folha), produtividade (PROD) e teor de Ni no grão (Ni grão), em plantas de milho.

FV	GL	Ca+b	Cx.x	A	Ci	WUE
Tratamento	4	13,7610*	5,9306*	19,2314*	10,3863*	38,196*
Resíduo	12					
CV (%)		15	13,64	8,79	9,67	4,55
FV	GL	ICE	Ni Folha	PROD	Ni grão	-
Tratamento	4	38,433*	13,7180*	2,33664 ^{ns}	67,651*	-
Resíduo	12					
CV (%)		10,97	24,86	11,39	24,86	-

^{ns}, não significativo, *, significativo a 0,05% de probabilidade, pelo teste F. FV, fontes de variação, CV, coeficiente de variação, GL, grau de liberdade do resíduo.

Pigmentos fotossintetizantes

Por meio da análise de regressão, os dados foram ajustados ao modelo quadrático com o incremento das doses de Ni. Para a clorofila total (mg g⁻¹ MF) e carotenoides (mg g⁻¹ MF), a presença de Ni influenciou significativamente, com aumento de Ca+b até o ponto de máximo na dose 91,75 g ha⁻¹ de Ni, aumento de até 98,26% em relação ao controle (Figura 2a). Os carotenoides aumentaram até o ponto de máximo na dose 75,00 g ha⁻¹ de Ni, e aumento de até 40,20% em relação ao controle (Figura 2b).

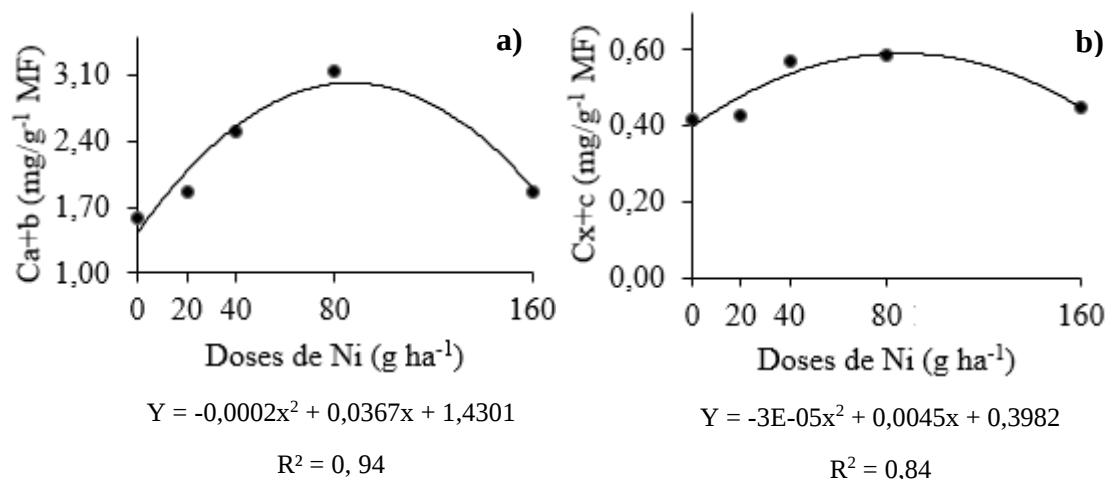


Figura 2. Conteúdo de clorofila (Ca+b) (a) e Carotenoides (Cx+c) (a) de plantas de milho cultivadas sob doses de Ni.

Trocas gasosas

A fotossíntese líquida (A) (μmol CO₂ m⁻² s⁻¹) aumentou até o ponto de máximo na dose 84,10 g ha⁻¹ de Ni, que cresceu em até 46,11% em relação ao efeito controle (Figura 3a). Enquanto a concentração interna de CO₂ (Ci) (μmol CO₂ mol⁻¹) apresentou declínio até ao ponto de mínimo na dose 61,56 g ha⁻¹ de Ni, (Figura 3b). Enquanto na presente

pesquisa a transpiração e a condutância estomática não apresentaram ajuste de modelo de regressão.

A eficiência instantânea na carboxilação (*ICE*) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) aumentou até o ponto de máximo na dose de $82,50 \text{ g ha}^{-1}$ de Ni, acréscimo de até 86,49% em relação ao controle (Figura 3c). A eficiência instantânea do uso da água (*WUE*) ($\mu\text{mol CO}_2/\text{mmol H}_2\text{O}$) aumentou até o ponto de máximo na dose $85,50 \text{ g ha}^{-1}$ de Ni, com incremento de até 39,48% em relação ao efeito controle nas plantas de milho (Figura 3d).

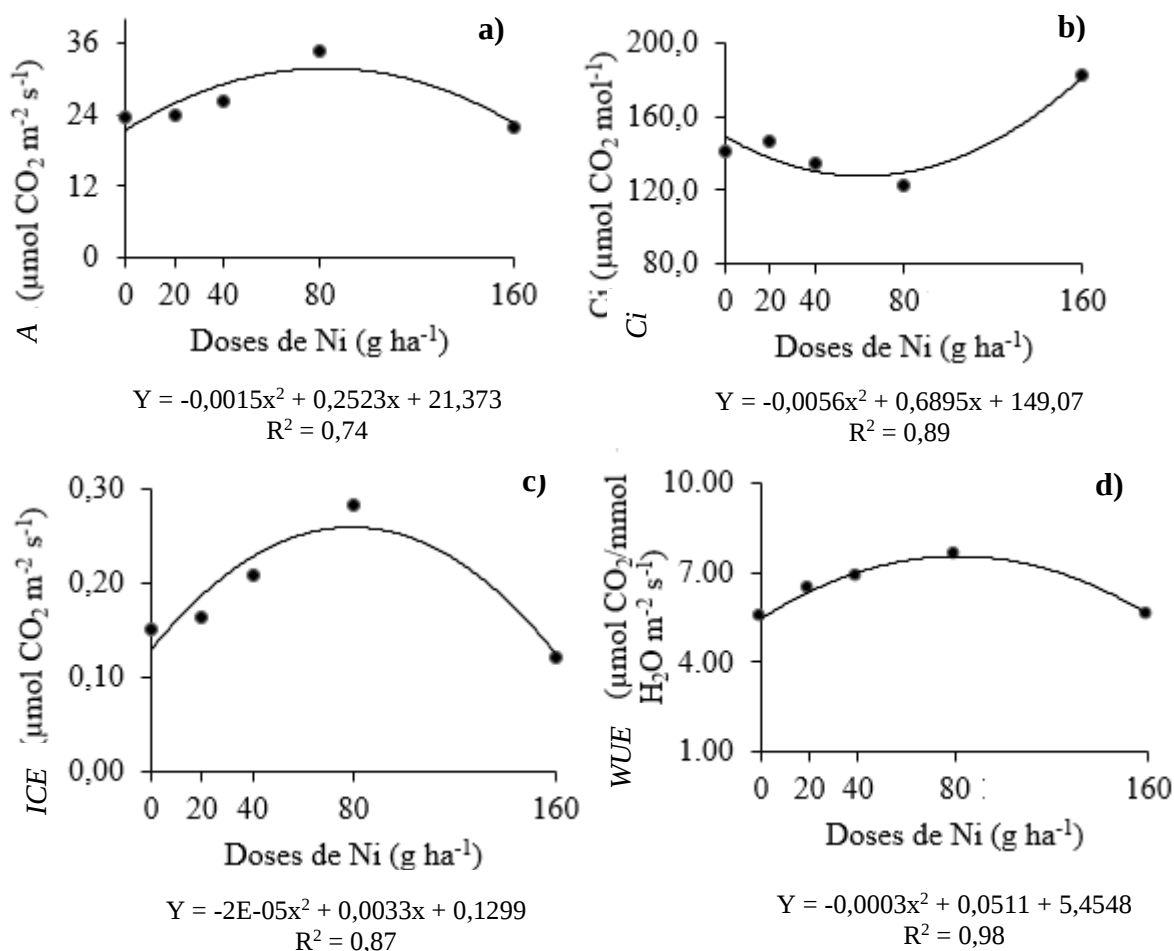


Figura 3. Fotossíntese (*A*) (a), Concentração interna de CO_2 (*C_i*) (b), Eficiência instantânea na carboxilação (*ICE*) (c), e Eficiência instantânea no uso da água (*WUE*) (d) de plantas de milho cultivadas sob doses de Ni.

Teor de Ni na folha e no grão

Por meio da análise de regressão, os dados foram ajustados ao modelo linear com o incremento das doses de Ni. Para o teor de Ni na folha (Figura 4a) foi possível observar que o fornecimento de 160 g ha^{-1} de Ni foliar aumentou o teor de Ni foliar, que passou de 1,02 para $3,35 \text{ mg kg}^{-1}$. Enquanto o teor de Ni nos grãos foi de 1,17 para $1,38 \text{ mg/kg}$, respectivamente (Figura 4b).

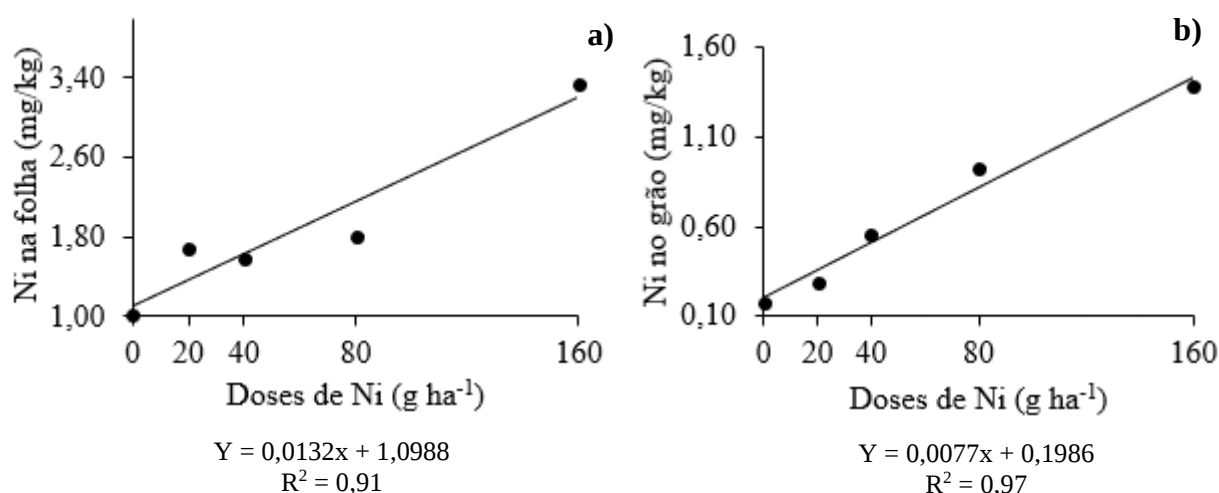


Figura 4. Teor de Ni nas folhas (a) e teor de Ni no grão (b) de plantas de milho cultivadas sob doses de Ni.

Com base nos resultados obtidos para análise de variáveis canônicas dos caracteres fisiológicos e de produtividade (Figura 5), a aplicação foliar de Ni resultou efeitos expressivos para os aspectos fisiológicos nas plantas de milho. A variável *ICE* obteve as melhores respostas na dose de Ni de 80 g ha⁻¹, seguidas das variáveis fisiológicas *A*, *WUE*, *Ca+b* e *Cx+c*. A produtividade de grãos apresentou melhor resultado na dose de 20 e 40 g ha⁻¹. Por outro lado, é possível verificar distanciamento da *Ci*, teor de Ni na folha e no grão, respectivamente, no que se refere a essas variáveis e as doses supracitadas, uma vez que estão mais relacionadas com a dose de Ni de 160 g ha⁻¹, que ocasionou em um aumento expressivo no teor de Ni na folha e no grão.

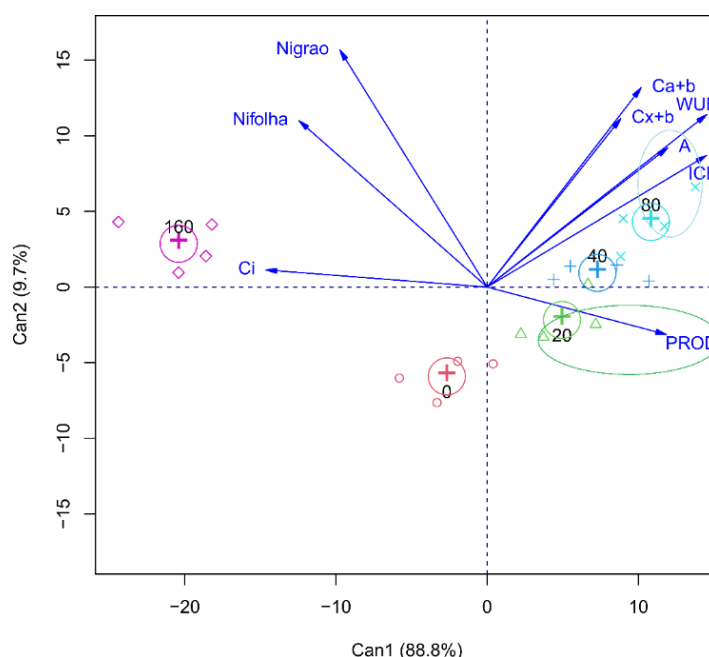


Figura 5. Análise de variáveis canônicas para as variáveis clorofila (*Ca+b*), carotenoides (*Cx+c*), fotossíntese (*A*), concentração interna de dióxido de CO₂ (*Ci*), eficiência instantânea na carboxilação (*ICE*), eficiência instantânea na carboxilação (*WUE*), teor de Níquel na folha (*Ni* folha), produtividade (*PROD*), e teor de Níquel no grão (*Ni* grão) em plantas de milho.

DISCUSSÃO

Conforme relatado neste estudo, os teores de clorofila total foram reduzidos gradualmente após o ponto de máximo com o aumento na concentração de Ni nas plantas de milho, uma vez que taxas mais elevadas de Ni podem ocasionar estresse nas plantas; diminuindo os pigmentos fotossintetizantes e características de trocas gasosas sob toxicidade de Ni em milho (REHMAN et al., 2016). A toxicidade do Ni diminuiu significativamente o conteúdo total de clorofila e as características de trocas gasosas em plantas de milho (REHMAN et al., 2016).

Os resultados de pigmentos fotossintetizantes do presente estudo concordam com o relatado por Barcelos et al. (2017), Freitas et al. (2019) Kamran et al. (2016) e Rizwan et al. (2017). Portanto, o aumento dos pigmentos fotossintéticos é essencial para o processo de fotossíntese, fixação do CO₂ e produção de carboidratos (HALL; RAO, 1980; SUN et al., 1998).

Os carotenoides possuem função no complexo de captação de luz e na fotoproteção dos fotossistemas, a concentração deste pigmento é benéfica para invalidar os danos oxidativos ocasionados pelo excesso de luz (ZEESHAN et al., 2020). Dessa forma, o maior teor desse pigmento beneficia a eliminação do dano oxidativo causado por metais pesados, por outro lado, o aumento desses pigmentos nas plantas de milho pode ser considerado como um mecanismo de regulação fisiológica entre sua captação para fotossíntese que acabou sendo aumentada e a dissipação do excesso de energia de excitação e, portanto, um mecanismo de fotoproteção.

Os resultados obtidos indicam que as plantas de milho apresentam as maiores taxas de fotossíntese na dose de 84,10 g ha⁻¹ de Ni. O significativo resultado de Ni sob a cultura do milho, infere forte evidência de uma maior atividade metabólica, e aumento nos teores de clorofila; que são pigmentos que estão diretamente relacionadas com o aumento da eficiência fotossintética das plantas. Contudo observou-se que doses superiores ao ponto de máximo ocasionaram declínio nesta variável.

O Ni tem ação sobre enzimas que participam da rota fotossintética a exemplo das enzimas Rubisco e Aldolases (Sheorant et al., 1990), a Rubisco é responsável pela carboxilação da molécula de dióxido de carbono durante a fotossíntese em plantas, e é considerada uma das enzimas mais importantes nesse processo, pois é responsável pela fixação do carbono atmosférico e, conseqüentemente, pela produção de carboidratos. Portanto, o níquel pode afetar a eficiência da carboxilação e conseqüentemente produção

de carboidratos em plantas, que por sua vez pode ter um impacto significativo na produtividade e na sustentabilidade agrícola.

No presente estudo, foi observado que as doses de Ni aplicadas sob as plantas de milho não apresentaram ajuste para os modelos de regressão para a transpiração e a condutância estomática. O Ni não causa efeito sob a abertura estomática (Papazoglou et al., 2007), e acumula nas células subsidiárias, sem modificações nas células guardas como observado em folhas de *Thlaspi montanum*, uma planta hiperacumuladora deste micronutriente (HEATH e PACKER, 1968). O suprimento de Ni até a dose de 80 g ha⁻¹ ocasionou menores valores de Ci, isso pode estar associado ao aumento da taxa fotossintética com a aplicação das doses até 80 g ha⁻¹ de Ni, conforme observado na figura 3a, contudo, na maior dose de Ni foi observada queda na fotossíntese e consequentemente aumento da Ci.

A relação entre a fotossíntese e a transpiração é dita como eficiência instantânea no uso da água (*WUE*), que expressam os valores adquiridos da quantidade de carbono que a planta fixa por cada unidade de H₂O que libera por meio dos estômatos (JAIMEZ et al., 2005). A compreensão da *WUE* é eficaz para aliviar o estresse as culturas no campo em condições de seca onde a água é um fator limitante (Figura 1). Neste sentido, os decréscimos observados na *WUE* após o ponto de máximo na dose 85,50 g ha⁻¹ de Ni, são reflexos dos aumentos observados na concentração interna de CO₂ (*Ci*) e na transpiração das plantas de milho. A eficiência do uso da água em plantas é influenciada por uma série de fatores, incluindo a capacidade das plantas para regular a abertura e fechamento dos estômatos, a taxa de transpiração, a absorção e transporte de nutrientes, entre outros (VIEIRA et al, 2010).

O aumento verificado na *ICE*, no presente trabalho, deve-se, sobretudo, aos ganhos na taxa de assimilação de CO₂, uma vez que, a eficiência instantânea da carboxilação (*ICE*) está intimamente relacionada com a concentração intracelular de CO₂ e com a taxa de assimilação de CO₂ (MACHADO et al., 2005).

Com o fornecimento de Ni via foliar verificamos maior concentração de Ni nas folhas, com teor de 1,02 a 3,35 mg/kg de matéria seca, e no grão de 0,17 a 1,38 mg/kg de matéria seca. Os valores considerados tóxicos para as plantas, são > 10 mg kg⁻¹ em espécies sensíveis, > 50 mg kg⁻¹ em espécies moderadamente tolerantes e > 1.000 mg kg⁻¹ em plantas hiperacumuladoras de Ni (SEREGIN e KOZHEVNIKOVA, 2006; CHEN et al., 2009 ; YUSUF et al., 2011).

De modo geral, as concentrações normais de Ni na matéria seca das plantas variam de 0,05 a 10 mg/kg (YUSUF et al., 2011). E o teor de Ni foliar considerado adequado para plantas cultivadas geralmente varia de 0,01 a 5 mg kg⁻¹ (LIU et al., 2011). No entanto, no presente estudo verificamos que plantas de milho, com teores de Ni foliar acima de 1,80 mg/kg apresentaram prejuízos nas variáveis fisiológicas. Assim, os resultados observados demonstram a necessidade de grande atenção no uso desse micronutriente em plantas de milho, a fim de, evitar doses muito elevadas que possam culminar em toxicidade às plantas de milho.

Em relação aos teores de Ni nos grãos, pode ser observado variações entre espécies de plantas e até mesmo entre híbridos da mesma espécie. Essas variações estão relacionadas, principalmente, com as diferenças na absorção, transporte e redistribuição de Ni entre genótipos (REBAFKA; SCHULZ; MARSCHNER, 1990). O acúmulo ocorre de modo diferencial entre os tecidos e ao longo do ciclo de vida das plantas, sendo maior nos grãos e nas folhas (PALACIOS; MATAIX, 1999). Existem relatos na literatura de teores de Ni de 0,22 a 0,34 mg kg⁻¹ em grãos de milho cultivados em solo não contaminados (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2001). Resultados esses que apoiam Kabata-Pendias e Pendias (2011), no qual o teor de Ni em plantas alimentícias como grãos apresentam teor em torno de 0,39 a 2,07 mg/kg.

Sabe-se que altos teores de Ni nos tecidos vegetais podem inibir a fotossíntese e a respiração (LEVY, 2013). Os sintomas de toxicidade de Ni podem ser relacionados à lesões nos tecidos, retardamento do crescimento e cloroses. O excesso desse micronutriente nas folhas das plantas ocasiona alteração na concentração de pigmentos fotossintéticos, que resulta em necrose e clorose foliar (Hassan, 2019), além de efeitos na atividade mitótica e enzimáticas (PACHECO, 2015). De acordo com nosso trabalho as respostas das plantas de milho às diferentes condições de aplicação de Ni e na ausência de aplicação estão evidenciadas no esquema abaixo (Figura 6).

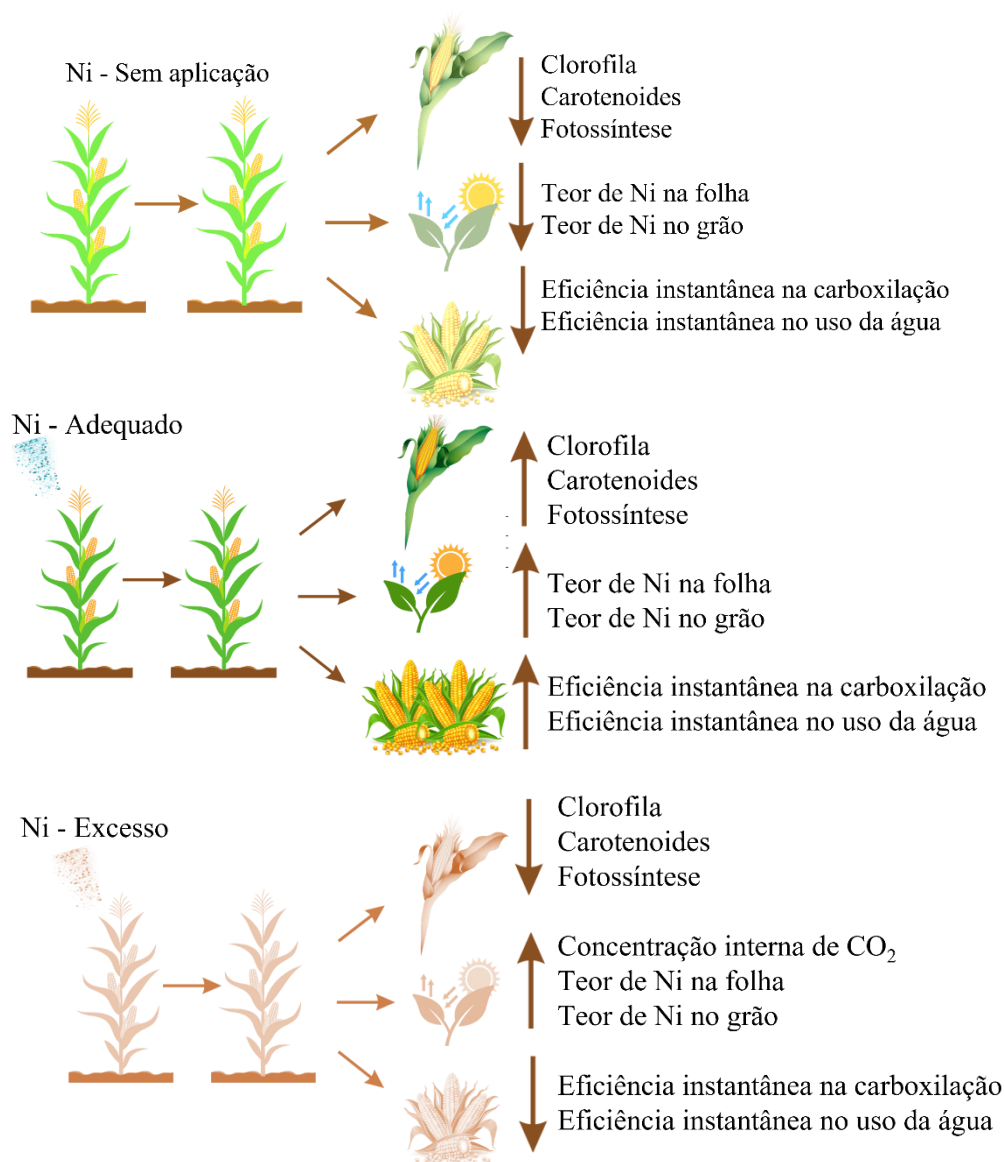


Figura 6. Esquema da comparação dos tratamentos com aplicações de Ni e sem aplicação de Ni em plantas de milho.

CONCLUSÕES

A dose de 80 g ha⁻¹ de Ni (dividida em duas aplicações) foi a que mais contribuiu para o desenvolvimento da cultura do milho, uma vez que, a aplicação de Ni via foliar favoreceu os teores de clorofila total, carotenoides, fotossíntese, eficiência instantânea no uso da água, e eficiência instantânea na carboxilação.

A dose de 160 g ha⁻¹ de Ni ocasionou declínio nas variáveis fisiológicas, pigmentos fotossintetizantes, fotossíntese, eficiência instantânea no uso da água, e eficiência instantânea na carboxilação.

Os teores de Ni diferiram nas partes da planta e foram maiores nas folhas.

A produtividade do milho não foi influenciada pela aplicação foliar de Ni.

AGRADECIMENTOS

Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS-CPCS). Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT), e o Grupo de Estudos do Cerrado em Nutrição de Plantas (GECENP).

FONTE DE FINANCIAMENTO

Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT) TO 88/2021 e SIAFEM 30478. EDITAL N° 13 de 03 de maio de 2021, disponibilizado via processo SEI nº 23455.000175/2021-15.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, P. E. P. Manejo de irrigação na cultura do milho. Embrapa Milho e Sorgo. Sistema de Produção, 1 ISSN 1679-012X Versão Eletrônica - 6ª edição Set, 2010.

BARCELOS, J. P. Q. et al. Effects of foliar nickel (Ni) application on mineral nutrition status, urease activity and physiological quality of soybean seeds. Australian Journal of Crop Science, 11, p. 184,2017.

CHEN, C. et al. Functions and toxicity of nickel in plants: recent advances and future prospects. Clean, v.37, n.4-5, p.304-313,2009.

DONAGEMA, G. K. et al. Manual de métodos de análise de solo. Embrapa Solos- Documentos (INFOTECA-E), 2011.

DRAŹKIEWICZ, M; BASZYŃSKI, T. Interference of nickel with the photosynthetic apparatus of Zea mays. Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 73, n. 5, p. 982-986, 2010.

FREITAS, D. S. et al. How does Ni fertilization affect a responsive soybean genotype? A dose studies. Plant and Soil, v. 441, n. 1, p. 567-586, 2019.

GONZALEZ, K. R. Toxicologia do níquel. Revista intertox de toxicologia risco ambiental e sociedade, v. 9, n. 2, p. 30-54, 2016.

HALL, D.O; RAO, K. K. Coleção Temas de Biologia: Fotossíntese. Editora Pedagógica e Universitária Ltda, São Paulo. p.89, 1980.

HASSAN, M. U. et al. Nickel toxicity in plants: reasons, toxic effects, tolerance mechanisms, and remediation possibilities a review. Environmental Science and Pollution Research, v. 26, n. 13, p. 12673-12688, 2019.

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

JAIMEZ, R. E. et al. Seasonal variations in leaf gas exchange of plantain cv. 'Hartón' (Musa AAB) under different soil water conditions in a humid tropical region. *Scientia Horticulturae*, Amsterdam, v. 104, n. 1, p. 79-89, 2005.

KABATA-PENDIAS, A., PENDIAS, H. Trace elements in soils and plants. 3.ed. Florida: CRC PRESS, p. 413, 2001.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. Trace elements from soil and plant. 4. ed. New York: CRC Press, Taylor and Francis Group, p. 576, 2011.

KAMRAN, M. A et al. Bioaccumulation of nickel by *E. sativa* and role of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) under nickel stress. *Ecotoxicology and environmental safety*, v. 126, p. 256-263, 2016.

KUMAR, O. et al. Foliar fertilization of nickel affects growth, yield component and micronutrient status of barley (*Hordeum vulgare* L.) grown on low nickel soil. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 64, n. 10, p. 1407-1418, 2018.

LEVI, C. C. B: Níquel em soja: doses e formas de aplicação. Dissertação de mestrado. INSTITUTO AGRONÔMICO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO AGRICULTURA TROPICAL E SUBTROPICAL Campinas, SP, junho, 2013.

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

LIU G; SIMONNE, E. H, LI, Y. Nickel nutrition in plants. *Horticultural Science*. 1191, p.1-5, 2011.

MACHADO, E. C. et al. Respostas da fotossíntese de três espécies de citros a fatores ambientais. *Pesquisa agropecuária brasileira*, v. 40, n. 12, p. 1161-1170, 2005.

MAPA - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa MAPA 5/2007 (D.O.U. 01/03/2007). 2013. Disponível em: <https://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=recuperarTextoAtoTematicaPortal&codigoTematica=1229260>. Acesso em 29 mai. 2022.

PACHECO, J. M. A. S. Concentração de metais pesados em espécies hortícolas em agricultura urbana. Tese de Doutorado. Universidade de Lisboa (Portugal), 2015.

PALACIOS, G.; MATAIX, J. The influence of organic amendment and nickel pollution on tomato fruit yield and quality. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, v. 34, p. 133-150, 1999.

PAPAZOGLU, E. G. et al. Impact of high cadmium and nickel soil concentration on selected physiological parameters of *Arundo donax* L. *European journal of soil biology*, Montrouge, v. 43, p. 207-215, 2007.

POLACCO, J.C. et al. Opinion Nickel and urease in plants: Still many knowledge gaps. *Plant Science*, v. 199: 79-90, 2013.

PRADO R. M. Nutrição de Plantas (2 ed.). Jaboticabal: Editora UNESP, 416p, 2021.

RAIJ, B. V. Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais. Campinas: Instituto Agrônomo, p. 285, 2001.

REBAFKA, F. P. et al. Erhebungsuntersuchungen zur pflanzenverfügbarkeit von nickel auf böden mit hohen geogenen nickelgehalten. *Angewandte Botanik*, v. 64, p. 317-328, 1990.

REHMAN, M. Z.U. et al. Contrasting effects of biochar, compost and farm manure on alleviation of nickel toxicity in maize (*Zea mays* L.) in relation to plant growth, photosynthesis and metal uptake. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 133, p. 218-225, 2016.

RIZWAN, M. et al. 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.

RODAK, B. W. et al. Methods to quantify nickel in soils and plant tissues. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 39, p. 788-793, 2015.

RODAK, B. W. Níquel em solos e na cultura de soja. 2014. 101 f. Dissertação (Mestrado) - Pós-graduação em Ciência do Solo, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.

SANTOS, H.G. et al. Sistema brasileiro de classificação de solos. Brasília, DF: Embrapa. 2018.

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

SHAHZAD, B. Nickel; whether toxic or essential for plants and environment-A review. *Plant Physiology and Biochemistry*, 132, 641-651, 2018.

SHERANT.I.S. Effect of cadmium and Nickel on photosynthesis and the enzymes of the photosynthetic carbon reduction cycle in pigeonpea (*Cajanus cajan* L.) *Photosynthesis Research*, v. 23, p 345-51, 1990.

SILVA, F. C. Manual de análises químicas de solos, planta e fertilizantes. 2. ed. Ver. Ampl. - Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, p. 627, 2009.

SOUSA D.M.G.; LOBATO, E. Cerrado: correção do solo e adubação. 2. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Planaltina, DF: Embrapa Cerrados; 2004.

SUN, J. et al. 1998. Green light drives CO₂ fixation deep within leaves. *Plant Cell Physiology*, v. 39, n. 10, p. 1020-1026, 1998.

VIEIRA, E. L. et al. Manual de fisiologia vegetal. Edufma, 2010.

YUSUF, M. et al. Nickel: an overview of uptake, essentiality and toxicity in plants. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, v. 86, p. 1-17, 2011.

ZEESHAN, M. et al. Phytostabilization of the heavy metals in the soil with biochar applications, the impact on chlorophyll, carotene, soil fertility and tomato crop yield. *Journal of Cleaner Production*, v. 255, p. 120318, 2020.

ZHANG, X. et al. Substitution of residues in UreG to investigate UreE interactions and nickel binding in a predominant urease gene cluster from the ruminal metagenome. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 161, p. 1591-1601, 2020.

CAPÍTULO 2

APLICAÇÃO FOLIAR DE NÍQUEL MODULA O METABOLISMO DO NITROGÊNIO E DA FOTOSSÍNTESE E AUMENTA A PRODUTIVIDADE DO MILHO

RESUMO: A biotecnologia dentro da nutrição e fisiologia vegetal é importante para entender os efeitos dos nutrientes no metabolismo vegetal. O nitrogênio (N) atua nos processos fisiológicos, sendo o nutriente mais absorvido pelo milho. Outro elemento que tem sido foco de estudos é o níquel (Ni), componente da enzima urease, que catalisa a hidrólise da ureia em amônia (NH₃) e dióxido de carbono (CO₂), exercendo também outras funções bioquímicas e fisiológicas nas plantas. É importante testar a hipótese de que a aplicação de Ni promove incremento na atividade da urease, na nutrição nitrogenada e na fotossíntese das plantas de milho, principalmente em condições de alta adubação com N. O objetivo deste experimento foi avaliar o efeito da aplicação foliar de concentrações crescentes de Ni em plantas de milho cultivadas sob diferentes condições de adubação nitrogenada, para verificar se o Ni aplicado promove ganhos de produtividade, devido à melhoria na nutrição, bioquímica e fisiologia das plantas. O experimento foi instalado na área experimental da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Câmpus de Chapadão do Sul, na safra 2021/2022, em blocos ao acaso, em esquema fatorial 3x5, com três condições de adubação nitrogenada de cobertura: ausência, dose recomendada (180 kg ha⁻¹ de N) e excesso (360 kg ha⁻¹ de N) e 4 doses de Níquel: 0; 20; 40; 80 e 160 mg de Ni ha⁻¹, aplicado via foliar (divididos em duas aplicações) e três repetições, totalizando 45 parcelas. As aplicações foliares de Ni foram realizadas 5 dias após a adubação nitrogenada, para as quais foi utilizado um pulverizador de pressão de CO₂. Após a aplicação foliar de Ni, as características fisiológicas das trocas gasosas foram analisadas por meio de um analisador de fotossíntese portátil (Infrared Gas Analyzer - IRGA). Posteriormente, foram medidos a clorofila total, o teor de carotenoides, a atividade da urease, o teor foliar de N e Ni nas folhas e grãos e a produtividade de grãos. Os resultados mostraram que a aplicação de Ni nas doses de 20 g ha⁻¹ e 40 g ha⁻¹ de Ni associado à alta adubação nitrogenada proporcionou os melhores resultados para as variáveis: fotossíntese, clorofila total, carotenoides, produtividade e teor de N nas folhas. A aplicação via foliar de 20 e 40 g ha⁻¹ de Ni combinada com altas concentrações de adubação nitrogenada proporcionou incrementos nas variáveis de teor de N, clorofila total, carotenoides, fotossíntese, e produtividade de grãos. Enquanto a atividade da enzima urease apresentou a máxima atividade na dose de 80 g ha⁻¹ de Ni, sob a dose recomendada de N.

Palavras-chave: *Zea mays* L, clorofila, micronutriente, urease.

CHAPTER 2

FOLIAR APPLICATION OF NICKEL MODULATES NITROGEN AND PHOTOSYNTHESIS METABOLISM AND INCREASES CORN PRODUCTIVITY

ABSTRACT: Biotechnology within plant nutrition and physiology is important for understanding the effects of nutrients on plant metabolism. Nitrogen (N) acts in physiological processes, being the nutrient most absorbed by corn. Another element that has been the focus of studies is nickel (Ni), a component of the urease enzyme, which catalyzes the hydrolysis of urea into ammonia (NH₃) and carbon dioxide (CO₂), also performing other biochemical and physiological functions in plants. It is important to test the hypothesis that Ni application promotes an increase in urease activity, nitrogen nutrition and photosynthesis in maize plants, mainly under conditions of high N fertilization. The objective of this experiment was to evaluate the effect of foliar application of increasing concentrations of Ni in maize plants cultivated under different conditions of nitrogen fertilization, to verify if the applied Ni promotes productivity gains, due to the improvement in the nutrition, biochemistry and physiology of the plants. The experiment was installed in the experimental area of the Federal University of Mato Grosso do Sul, Campus of Chapadão do Sul, in the 2021/2022 harvest, in randomized blocks, in a 3x5 factorial scheme, with three conditions of nitrogen fertilization of coverage: absence, dose recommended (180 kg ha⁻¹ of N) and excess (360 kg ha⁻¹ of N) and 4 doses of Nickel: 0; 20; 40; 80 and 160 mg of Ni ha⁻¹, applied through the leaves (divided into two applications) and three replicates, totaling 45 plots. Ni foliar applications were performed 5 days after nitrogen fertilization, for which a CO₂ pressure sprayer was used. After Ni foliar application, the physiological characteristics of gas exchange were analyzed using a portable photosynthesis analyzer (Infrared Gas Analyzer - IRGA). Subsequently, total chlorophyll, carotenoid content, urease activity, foliar N and Ni content in leaves and grains, and grain yield were measured. The results showed that the application of Ni at doses of 20 g ha⁻¹ and 40 g ha⁻¹ of Ni associated with high nitrogen fertilization provided the best results for the variables: photosynthesis, total chlorophyll, carotenoids, productivity and N content in the sheets. The foliar application of 20 and 40 ha⁻¹ of Ni combined with high concentrations of nitrogen fertilization provided increments in the variables N content, total chlorophyll, carotenoids, photosynthesis, and grain yield. While the activity of the urease enzyme showed the maximum activity at the dose of 80 g ha⁻¹ of Ni, under the recommended dose of N.

Keywords: *Zea mays* L. chlorophyll. micronutrient. urease.

INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é o segundo grão mais exportado do país (De Souza *et al.*, 2018), considerado o cereal mais importante e amplamente utilizado na alimentação humana (Saboore *et al.*, 2021), representando uma grande fonte econômica (IMADE; BABALOLA, 2021). A nutrição nitrogenada é essencial para o desenvolvimento da cultura do milho, não obstante, para o melhor aproveitamento do nitrogênio (N), torna-se necessário a adequada nutrição com outros elementos, como o micronutriente níquel (Ni).

O Ni está envolvido nas principais rotas de assimilação do N (Oliveira, 2009) como também no processo de fixação biológica (RODAK *et al.*, 2013). A deficiência de Ni afeta o uso de N pelas plantas, já que participa do processo de hidrólise da ureia, o que causa a redução do metabolismo do N e, conseqüentemente, o acúmulo de ureia nos tecidos (Bai *et al.*, 2006), causando necroses foliares (RIGON *et al.*, 2011). Além disso, o Ni desempenha papel na assimilação do N pela planta, afetando tanto seu crescimento, quanto características bioquímicas/fisiológicas (SILVA, 2016).

Devido sua importância para o aproveitamento do N pelas plantas de milho, desperta-se o interesse de elucidar a relação de níquel com o metabolismo do N. O N exerce função enzimática, estrutural (aminoácidos, DNA e RNA), formação de pigmentos, fotossíntese, respiração, diferenciação celular e aumento da produção de massa de matéria seca (PRADO, 2021).

Diante do exposto, buscou-se testar a hipótese que a aplicação de Ni promove incremento dos teores de N e da fotossíntese das plantas de milho, sobretudo em condições de alta adubação nitrogenada. Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito da aplicação foliar de concentrações crescentes de Ni em plantas de milho cultivadas sob diferentes condições de adubação nitrogenada, para verificar se o Ni aplicado promove ganhos na produtividade, devido à melhoria na nutrição, bioquímica e fisiologia das plantas.

MATERIAL E MÉTODOS

Localização da área experimental e caracterização climática

O experimento foi conduzido na área experimental da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Câmpus Chapadão do Sul. Com coordenadas geográficas de 18°46'16" S de latitude, 52°37'22" O de longitude e com altitude média de 820 metros, na safra 2021/2022 com a cultura do milho em Latossolo Vermelho (textura média e argilosa).

De acordo com a classificação de Köppen, o clima predominante na região é do tipo tropical úmido (AW), com estação chuvosa no verão e seca no inverno. As informações climáticas, referentes às médias de temperaturas máximas, mínimas e precipitação pluviométrica durante todo período experimental estão demonstradas na Figura 7. Durante o experimento, a precipitação mínima foi de 2,0 mm e a máxima de 105 mm com total de 1289,5 mm distribuídos em 46 dias de chuvas (Figura 7), quantidade superior à necessária para o adequado desenvolvimento das plantas de milho, pois a exigência hídrica dessa cultura varia entre 380 a 550 mm (Albuquerque, 2010).

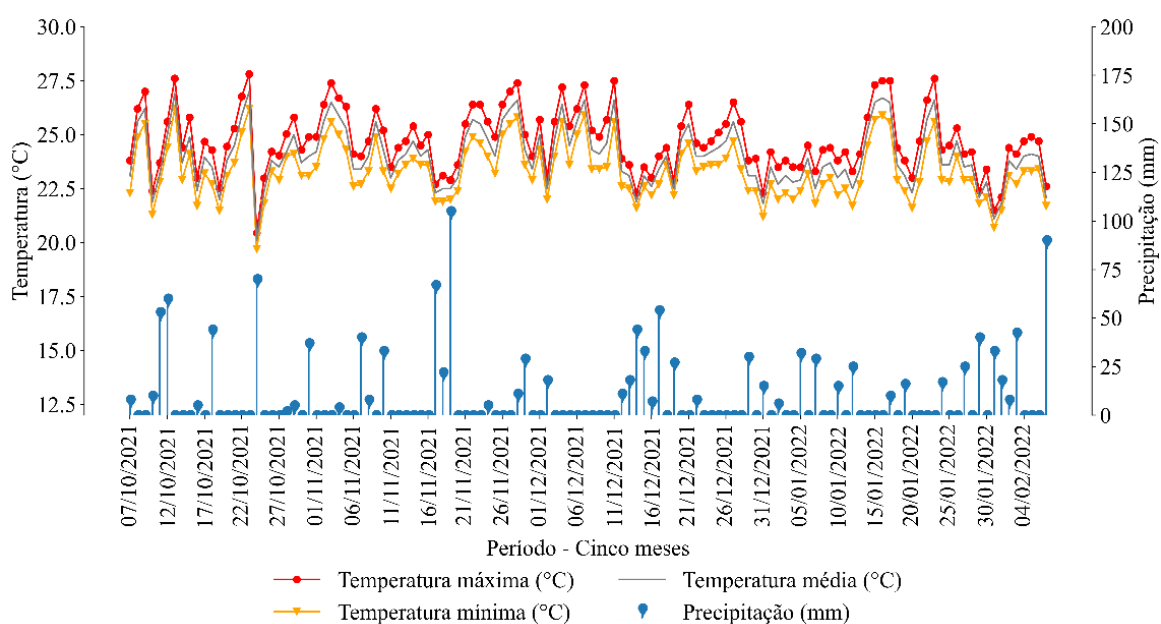


Figura 7. Valores de precipitação pluviométrica acumulada (mm) e temperaturas (°C) médias mensais durante o período de condução do experimento na safra de 2021/2022 para cultura do milho. Chapadão do Sul, MS. Fonte: INMET (2022).

Solo da área experimental e características químicas

Antes da instalação do experimento, foi realizada amostragem do solo na camada de 0 a 0,2 m de profundidade, para tanto utilizou-se trado holandês, coletou-se 12 pontos aleatórios da área experimental. Em seguida, procedeu-se à análise química para fins de fertilidade.

Os dados obtidos na análise química apresentaram os seguintes resultados: pH $\text{CaCl}_2 = 5,1$; $\text{Al} = 0,07 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$. Macronutrientes: $\text{Ca} = 4,30 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; $\text{Mg} = 1,00 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; $\text{K} = 0,31 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; $\text{P (mel)} = 39,6 \text{ mg dm}^{-3}$; $\text{S} = 14,2 \text{ mg dm}^{-3}$. Micronutrientes: $\text{B} = 0,28 \text{ mg dm}^{-3}$; $\text{Cu} = 1,4 \text{ mg dm}^{-3}$; $\text{Fe} = 53 \text{ mg dm}^{-3}$; $\text{Mn} = 14,9 \text{ mg dm}^{-3}$; $\text{Zn} = 4,8 \text{ mg dm}^{-3}$; Matéria Orgânica (M.O.) = $31,9 \text{ g dm}^{-3}$; C.O. = $18,5 \text{ g dm}^{-3}$; capacidade de troca catiônica (CTC) = $11,7 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; Saturação por bases = 47,9%. Relação entre bases: $\text{Ca/Mg} = 4,3$;

Ca/K= 13,9; Mg/K= 3,2. O teor de Ni no solo foi baixo: $< 1,0 \text{ mg kg}^{-1}$ pelo método EPA 3050B e $< 0,2 \text{ mg kg}^{-1}$ em Mehlich-1, (RODAK et al., 2015).

Tratamentos e delineamento experimental

O delineamento utilizado foi em blocos casualizados (DBC), em esquema fatorial 3x5, sendo três condições de adubação nitrogenada de cobertura (divididas em duas aplicações): ausência, dose recomendada (180 kg ha^{-1} de N) (Sousa; Lobato (2004)), o excesso (360 kg ha^{-1} de N) e 5 doses de Níquel: 0; 20; 40; 80 e 160 g ha^{-1} de Ni (divididas em duas aplicações), com 3 repetições, totalizando 45 parcelas. As parcelas foram compostas por 6 linhas de 6m de comprimento, espaçadas de 0,50m entre si, sendo a área útil constituída pelas quatro linhas centrais com 6 m de comprimento, descartando 1,0 m de cada lado nas bordaduras.

Instalação do experimento e aplicação dos tratamentos

A cultivar utilizada foi a B2401PWU, de ciclo superprecoce, com a semeadura realizada em 07 de outubro de 2021. As sementes foram tratadas com inseticida (Clorantniliprole 625g/L) + (Clotianidina 600g/L), com doses de 48 ml/60.000 e 70ml/60.000, respectivamente, a fim de garantir proteção contra o ataque de pragas e fungos de solo. O híbrido apresenta alto potencial produtivo e ótimo desempenho no sequeiro; sanidade foliar e de colmo, qualidade de raiz, porte e inserção de espiga, e tolerância ao complexo de enfezamentos.

A adubação de cobertura foi dividida em duas aplicações, metade da dose no estágio fenológico V4 e outra em V8, utilizou-se ureia como fonte de nitrogênio e cloreto de potássio (K) como fonte de K, respectivamente. As doses de nitrogênio foram conforme os tratamentos: N1 (0 Kg ha^{-1} de N + 90 Kg ha^{-1} de K_2O), N2 (180 Kg ha^{-1} de N + 90 Kg ha^{-1} de K_2O) e N3 (360 Kg ha^{-1} de N + 90 Kg ha^{-1} de K_2O).

A aplicação de Ni seguiu conforme os tratamentos, utilizou-se como fonte de Ni o sulfato de níquel hexahidratado $\text{NiSO}_4 (\text{H}_2\text{O})_6$ com aplicação via foliar, dividida em duas aplicações, que ocorreu 5 dias após cada adubação nitrogenada (estádio fenológico V4 e V6), para tanto, utilizou-se pulverizador costal com cilindro de alumínio com capacidade para 2 kg de CO_2 , regulador de pressão, manômetro, de 0 a 100 psi, válvula de segurança e uma barra de aplicação com 4 bicos, calibrado para uma vazão de 150 L ha^{-1} , utilizando uma pressão de 2,5 bar e pontas TTI60-110025 TeeJet®. Foi Adicionado 1 ml/L de adjuvante em todas as aplicações.

Além disso, foi aplicado a lanço em área total no plantio 2 Kg ha⁻¹ de B, e em V4 foram aplicados via foliar uma solução de 0,5% de sulfato de Zn e sulfato de Mn, com volume de calda de 300 L ha⁻¹.

Manejo fitossanitário

O manejo fitossanitário da cultura foi realizado de acordo com recomendações técnicas. As aplicações foram feitas nos estádios fenológico: V4 com o herbicida Glifosato (588 g L⁻¹); V4 e V8 com o inseticida Tiametoxam (141 g L⁻¹), Lambda-Cialotrina (106 g L⁻¹); V6 com o inseticida Metomil (215 g L⁻¹). Além disso, foram aplicados 300 ml/ha⁻¹ dos fungicidas Azoxistrobina (200 g L⁻¹), Ciproconazol (80 g L⁻¹) 40 dias após o plantio; 500 ml/ha⁻¹ dos fungicidas Azoxistrobina/Flutriafol (125 g L⁻¹) 60 dias após o plantio.

Análise nutricional

Foram coletadas a primeira folha oposta a base da espiga principal de cada planta, no momento do florescimento pleno. As folhas foram lavadas em água corrente com solução detergente neutro a 0,1%, solução de HCl a 0,3% e água deionizada (PRADO, 2021). Os materiais vegetais foram secos em estufa de circulação forçada de ar (65 ± 5 °C) até o peso constante, sendo obtida a matéria seca das folhas de milho.

Para determinação de N o material foi moído e pesado (0,1 g) após a secagem, seguindo a técnica de titulação Kjeldahl, o material passou por digestão (1), destilação (2) e, titulação com ácido sulfúrico (H₂SO₄) (3), assim foi determinado o teor de N em extratos obtidos pela digestão sulfúrica. Para determinação de Ni na folha, seguiu-se a metodologia proposta por (SILVA, 2009).

Atividade da urease

A atividade da urease in vivo foi determinada em função da produção de N-NH₄, de acordo com o método de McCullough (1967). Após a coleta, 0,2 g de massa fresca de folhas foram adicionados 5 mL do tampão fosfato de potássio com ureia pH 7,5 e mantido por 3h em banho-maria a 30 °C com agitação para extração. Para solução tampão de fosfato com ureia pH 7,5 foi utilizado 1,4 g NaH₂PO₄ para 50 mL de água, e 18 g de Na₂HPO₄ em 250 mL de água para posterior mistura de 38 mL com 202 mL, respectivamente. Acrescentando 25 mL de n-propanol, 6,5 g de ureia, e 500 mL com água destilada. Em tubo eppendndorf de 1,5 mL foram adicionados 1200 µL da solução de trabalho, 100 µL do reagente I, composto por fenol (0,74 M) e nitroprussiato de sódio

(1,14 μm), seguido de agitação e, em seguida, a adição de 0,74 g de NaOH (0,37 M) do reagente II, composto por 30 mL de MilliQ- H_2O , 2,91 g; Na_2HPO_4 , 11,5 mL NaOCl e 50 mL H_2OCl . A mistura foi incubada em banho-maria a 40 °C por 20 minutos, e então resfriadas por 5 min. A produção de NH_4Cl foi determinada com um espectrofotômetro a 636 nm, e os resultados são expressos em $\mu\text{mol NH}_4\text{Cl}$ por g FW (peso fresco) h^{-1} .

Análise de pigmentos fotossintetizantes

Na primeira folha completamente desenvolvida com bainha visível, a partir da amostragem de 6 folhas por parcela. Nesse material vegetal, foram determinados os teores de clorofila *a* e *b*, e carotenoides. Os teores dos pigmentos foram determinados a partir da retirada de 0,04 g de amostra fresca das folhas; em seguida, foram adicionados em tubos de ensaio com 10 ml de acetona (80%) para extração de pigmentos fotossintéticos, e permaneceram resfriadas por cerca de 72 horas. Logo após, os extratos foram mensurados através de espectrofotômetro (modelo TU-1810) de acordo com a metodologia de Lichtenthaler (1987). Os resultados foram expressos em mg g^{-1} de massa de matéria fresca.

Trocas gasosas

Na primeira folha completamente desenvolvida com bainha visível foram realizadas as análises de trocas gasosas, no estádio fenológico VT (pendoamento), através do equipamento portátil de fotossíntese (Infrared Gas Analyzer - IRGA, modelo Li6400XT (LiCor Inc., Lincoln, Nebraska, USA) com fluxo de fótons fotossinteticamente ativos de $1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e concentração de CO_2 ambiente de $(372 \pm 10 \text{ mol m}^{-2} \text{s}^{-1})$. A variáveis fisiológica avaliada foi a fotossíntese (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{s}^{-1}$), concentração interna de CO_2 (C_i , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$), transpiração (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e condutância estomática (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

De posse destes dados, foram calculadas a eficiência no uso de água (WUE) (A/E) [$(\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}) (\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1})^{-1}$] e a eficiência instantânea da carboxilação (ICE) (A/C_i) [$(\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}) (\mu\text{mol mol}^{-1})^{-1}$].

Colheita e avaliação da produtividade

No final do ciclo do milho, foi realizada a avaliação de produtividade de grãos por meio da colheita e trilha da área útil de cada parcela. Para calcular a produtividade após a trilha, o teor de umidade dos grãos foi corrigido para 13%, efetuando também os descontos das impurezas, sendo o resultado expresso em kg ha^{-1} .

Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) pelo teste F ($p < 0,05$), seguindo-se da aplicação do teste de Tukey, a 5% de probabilidade. E para as doses de Ni foi realizada a análise de regressão e comparação de médias para as condições de N. Realizou-se ainda, a análise de variáveis canônicas para identificar a associação entre os tratamentos e as variáveis avaliadas.

RESULTADOS

Com base nos resultados da análise de variância o teor de N e de Ni na folha, atividade da enzima urease, clorofila total, carotenoides, fotossíntese e produtividade foram significativos de modo isolado, tanto para N quanto para Ni. Enquanto a fotossíntese apresentou resultado significativo na interação N+Ni (Tabela 2).

Tabela 2. Teor de N na folha (N folha), teor de Ni na folha (Ni folha), urease, teor de clorofila total (Ca+b), carotenoides (Cx.c), fotossíntese (A), e produtividade (PROD).

FV	GL	N folha	Ni folha	Urease	Ca+b	Cx+c	A	PROD
N	2	15,019*	2,12*	2,009*	15,59*	42,19*	40,92*	7,60*
Ni	4	3,70*	66,06*	44,442*	2,29*	1,76*	17,76*	0,79*
N*Ni	8	0,66 ^{ns}	1,72 ^{ns}	0,663 ^{ns}	0,60 ^{ns}	0,20 ^{ns}	6,91*	0,305 ^{ns}
CV%		7,67	26,88	15,62	16,25	14,4	9,03	15,26

^{ns}, não significativo, *, significativo a 0,05% de probabilidade, pelo teste F. FV, fontes de variação, CV, coeficiente de variação, GL, e grau de liberdade do resíduo.

Para o teor de N na folha a dose recomendada de N em combinação com a dose de 40 g ha⁻¹ de Ni apresentou incremento na concentração de N nas folhas das plantas milho (Figura 8a).

O teor de Ni na folha apresentou maior incremento na condição da dose recomendada de N no tratamento com a dose de 160 g ha⁻¹ de Ni (Figura 8b). Enquanto a atividade da enzima urease apresentou incremento na condição de N recomendado e 80 g h⁻¹ Ni (9a). O excesso de N em combinação com a dose de 40 g ha⁻¹ de Ni proporcionou um aumento significativo da clorofila total (figura 9b) em comparação aos demais tratamentos, assim como para o teor de carotenoides (Figura 9c). Para a variável fotossíntese o excesso de N em combinação com a dose de 20g ha⁻¹ elevou a fotossíntese (Figura 9d).

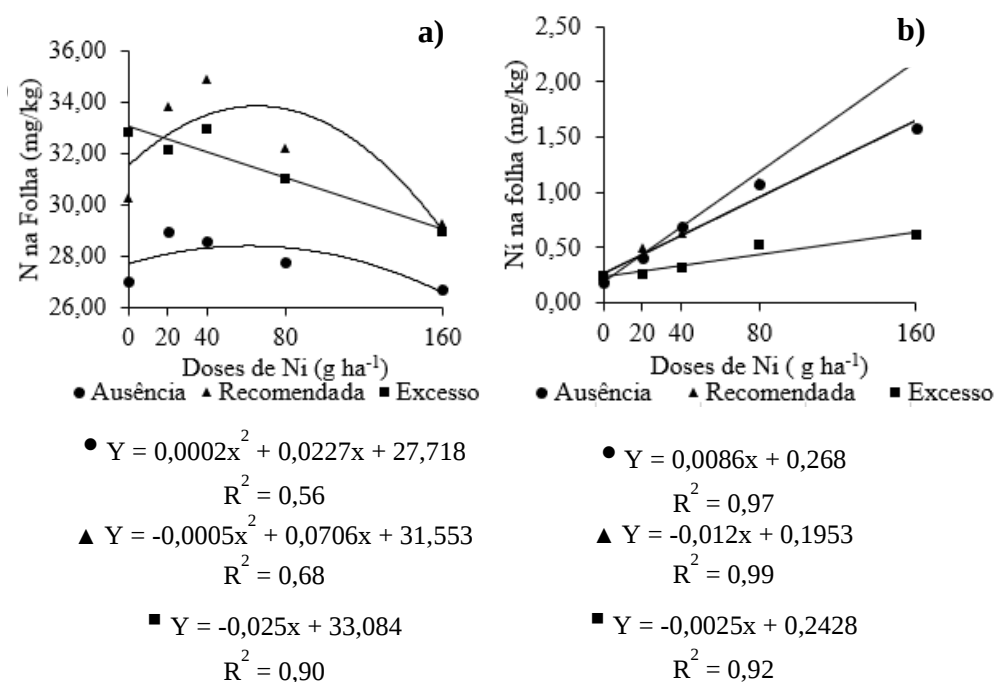


Figura 8. Teor de N (a) e Ni (b) nas folhas de plantas de milho sob ausência, dose recomendada e excesso de N, e doses de Ni.

As variáveis que apresentam coeficiente de determinação (R^2) baixo apresentam suas equações a seguir: condutância estomática, em ausência, recomendação e excesso de N, respectivamente, $Y = -8E-06x^2 + 0,0013x + 0,1553$, $R^2 = 0,86$; $Y = -1E-05x^2 + 0,0015x + 0,2428$, $R^2 = 0,47$, e $Y = -1E-06x^2 - 2E-05x + 0,3298$, $R^2 = 0,02$. Concentração interna de CO₂, $Y = 0,002x^2 - 0,3319x + 167,71$, $R^2 = 0,09$; $Y = -0,0065x^2 + 0,8062x + 158,22$, $R^2 = 0,75$; $Y = -0,002x^2 + 0,2976x + 180,96$, $R^2 = 0,03$. Transpiração, $Y = -0,0002x^2 + 0,0308x + 3,6101$, $R^2 = 0,95$; $Y = -0,0003x^2 + 0,0327x + 5,1449$, $R^2 = 0,52$; $Y = -2E-05x^2 + 0,0016x + 6,4239$, $R^2 = 0,006$. Eficiência instantânea no uso da água, $Y = -1E-05x^2 + 0,0017x + 0,1161$, $R^2 = 0,55$; $Y = 5E-06x^2 - 0,0006x + 0,1895$, $R^2 = 0,91$; $Y = 3E-06x^2 - 0,0006x + 0,1961$, $R^2 = 0,46$. Eficiência instantânea da carboxilação, $Y = -2E-05x^2 + 0,003x + 5,4683$, $R^2 = 0,05$; $Y = 0,0002x^2 - 0,0232x + 5,8973$, $R^2 = 0,84$; $Y = 3E-05x^2 - 0,0089x + 5,5338$, $R^2 = 0,13$.

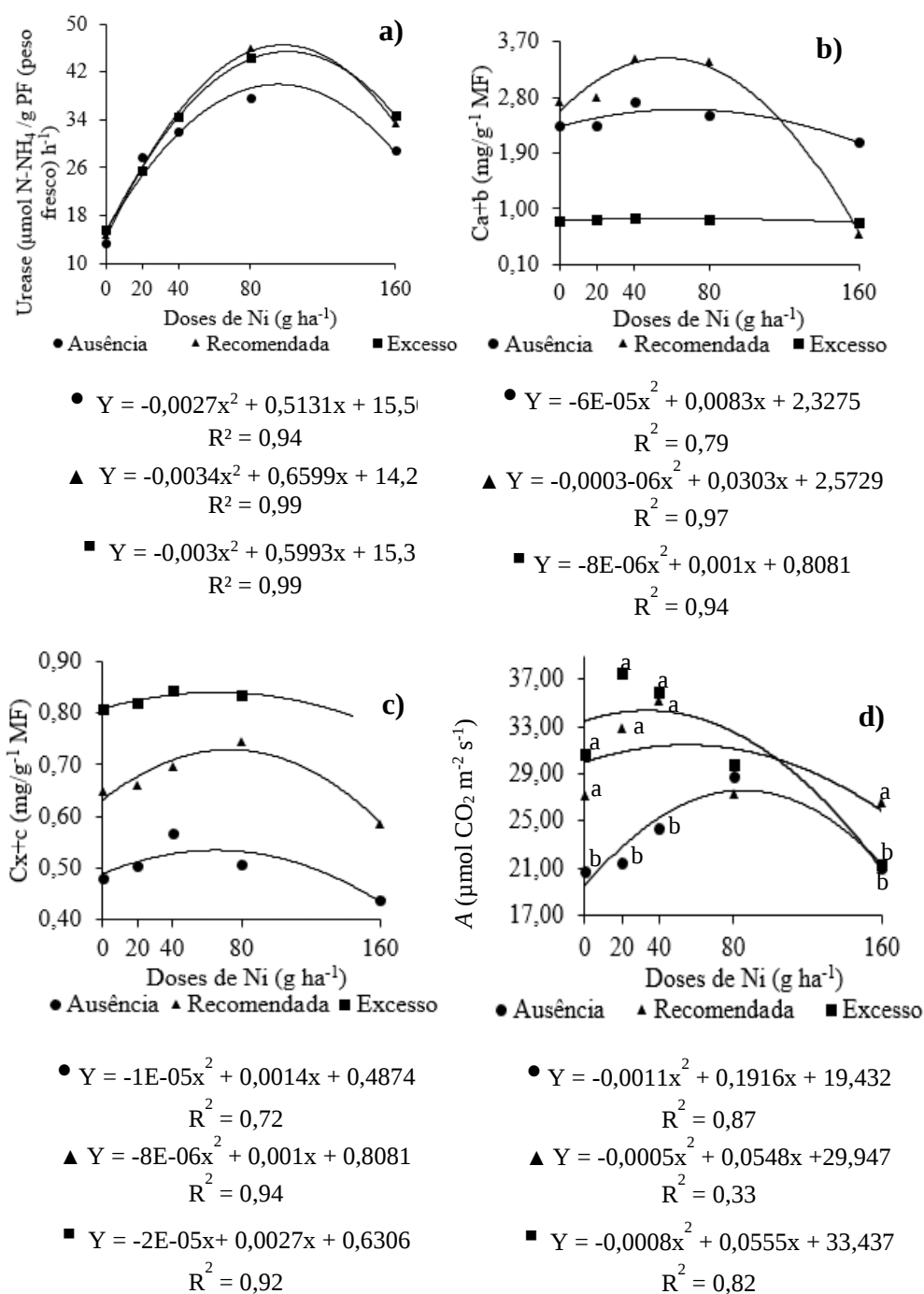


Figura 9. Urease, clorofila total, carotenoides e fotossíntese nas folhas de plantas de milho sob ausência, dose recomendada e excesso de N, e doses de Ni.

A produtividade apresentou aumento na condição da dose adequada em combinação com a dose de 40 g ha^{-1} de Ni (Figura 10). Com base na análise de variáveis canônicas, as variáveis clorofila total, carotenoides, A, E, gs, Ci, produtividade, e N na folha apresentaram maior relação com os tratamentos 180N40Ni, 360N20Ni e 360N40Ni, enquanto a variável Ni na folha (180N160Ni) e atividade da enzima urease (360N160Ni) e ICE (36080Ni) apresentaram maior distância em relação a esses tratamentos, assim

como a *WUE* que foi a variável que mais se afastou das variáveis estudadas (0N20Ni e 0N40Ni) (Figura 11).

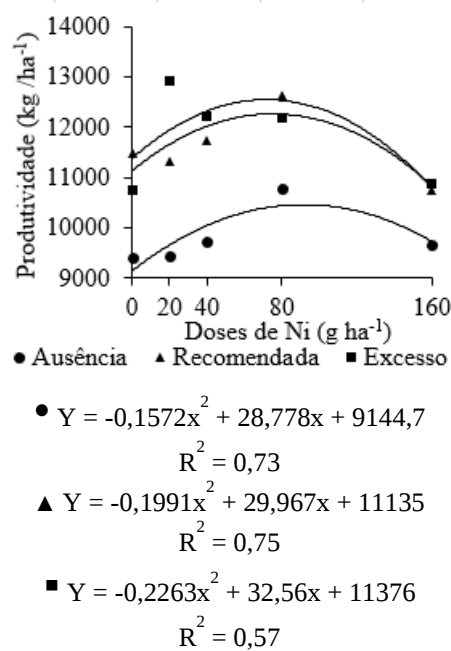


Figura 10. Produtividade de grãos em plantas de milho cultivadas sob ausência, dose recomendada e excesso de N, e doses de Ni via foliar.

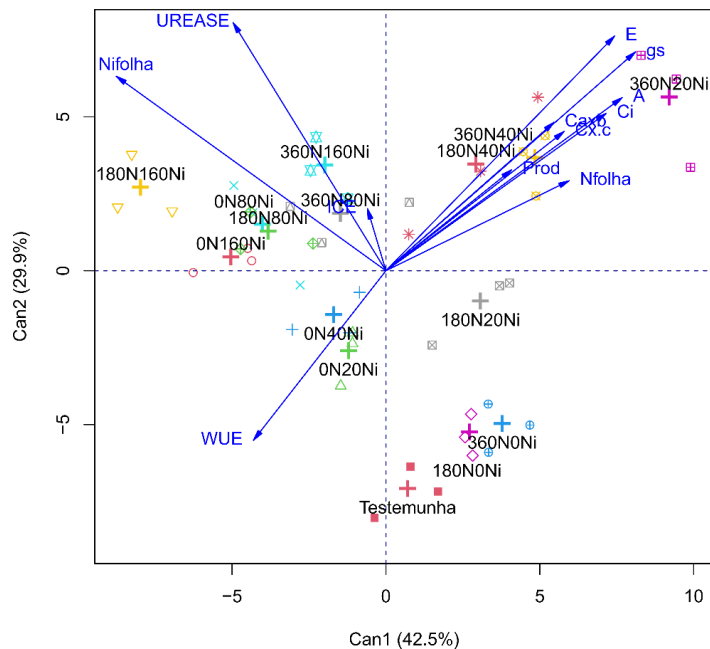


Figura 11. Análise de variáveis canônicas para as variáveis teor de N na folha (Nfolha), Ní na folha (Nifolha), atividade da enzima urease, clorofila total (Ca+b), carotenoides (Cx+c), fotossíntese (A), transpiração (E), condutância estomática (gs), eficiência instantânea no uso da água (*WUE*), eficiência instantânea da carboxilação (*ICE*) e produtividade (PROD).

DISCUSSÃO

O N e o Ni são nutrientes fundamentais no desenvolvimento da planta, quando em doses adequadas estimulam o crescimento e aumentam a produtividade (Prado, 2021). Respostas positivas foram verificadas a partir da adição de Ni, estes incluem efeitos no crescimento das plantas, no metabolismo de N e na fisiologia das plantas de milho. O N é um dos elementos mais requeridos pelas plantas e o que mais limita o crescimento do milho (REIS et al., 2015).

Observa-se que os teores foliares foram influenciados pelas aplicações de N e Ni, sendo os tratamentos que receberam a dose recomendada de N e 40 g ha⁻¹ de Ni os tratamentos que apresentaram maior teor de N foliar (34,88 mg/kg). Enquanto o teor de Ni na folha das plantas de milho também foi influenciado pela condição de N recomendado, porém na dose de 160 g ha⁻¹ de Ni. O aumento no teor foliar mostra que o Ni foi absorvido proporcionalmente à concentração do mesmo aplicado (MISHRA; KAR, 1974). Outros autores também observaram aumento dos teores de Ni na matéria seca das folhas e grãos, com a aplicação de doses de 8, 16, 32, 64 e 128 g ha⁻¹ de Ni aplicadas no feijoeiro (PEREIRA, 2006).

A aplicação de Ni na dose de 80 g ha⁻¹ em combinação com a dose de N adequada aumentou a atividade da enzima urease. No presente estudo, aplicações foliares de Ni na dose de 160 g ha⁻¹ diminuíram a atividade da urease nas folhas, sintomas provavelmente atrelados à toxicidade causada pelo excesso de Ni. A atividade da urease em folhas de soja foi inibida na presença de altas concentrações de Ni (RODAK, 2014). Com o aumento da atividade da urease, a concentração de ureia na folha diminuiu, contribuindo para o metabolismo do nitrogênio nas plantas de milho.

A concentração de ureia nas folhas de soja diminuiu com a aplicação foliar de Ni (BARCELOS et al., 2018). O fornecimento de Ni aumenta a atividade enzimática, bem como observado em outras culturas, como cereais (Brown et al., 1987) e pecã (Bai et al., 2006), no entanto, em altas doses de Ni, a atividade da urease diminuiu. A aplicação foliar de Ni beneficia o estado nutricional, atividade de urease e qualidade fisiológica da soja cultivadas sob baixas concentrações de Ni (BARCELOS et al., 2017). Dessa forma, a dose adequada de Ni contribuiu na melhoria do metabolismo do N e na eficiência do uso de N pela planta, culminando em uma estratégia que pode ser utilizada para melhor aproveitamento da adubação nitrogenada na cultura do milho.

Foi possível constatar que na condição de ausência da aplicação de N, os teores de pigmentos fotossintéticos não expressaram seu maior desempenho, enquanto a maior

aplicação de N resultou no incremento desses pigmentos, uma vez que a nutrição nitrogenada tem relação direta com teores de clorofila, tendo em vista seu uso na biossíntese de proteínas e clorofilas (PRADO, 2021). Então para as variáveis de pigmentos, a condição de excesso de N com doses de 40 g ha⁻¹ de Ni resultou no máximo potencial dessa variável, assim como para fotossíntese. Dessa forma, em ambas as variáveis foram observadas diferença expressiva quando na ausência de N independentemente da dose de Ni. Foi verificado aumento no teor de clorofila das folhas de milho com aplicação de N em comparação com plantas não fertilizadas (RAMBO et al., 2010).

A deficiência de N resulta em clorose gradual das folhas mais velhas e redução do crescimento da planta, pois é constituinte da molécula de clorofila, a qual é responsável pela captação de luz solar e consequentemente pela atividade fotossintética das plantas (FABIANO et al., 2015).

O N é o nutriente que mais influencia a produtividade do milho Melgar et al. (1991), com isso o tratamento de N em excesso com Ni na dose de 20 g ha⁻¹ expressou aumento na produtividade das plantas de milho. A presença de N nos tecidos vegetais do milho pode representar 1 a 4% da matéria seca (ONASANYA et al., 2009). A produtividade de grãos de milho é influenciada pela disponibilidade de N, com isso o metabolismo da planta é impulsionando, como constatado no presente trabalho e evidenciado quando observamos a diferença das respostas das plantas as diferentes doses aplicadas.

Essa cultura é exigente em média, de 23,8 kg de N para cada tonelada de grãos (DUETE et al., 2008). Trabalhando com doses de N na cultura do milho, observaram que a dose de 135 kg ha⁻¹ de N parcelada em três vezes foi a que proporcionou maior produtividade (DUETE et al., 2009). A adubação com N é importante, pois além de melhorar a qualidade dos grãos, aumenta a produtividade e o teor de proteína (COSTA et al., 2005).

CONCLUSÕES

A aplicação foliar de 20 e 40 ha⁻¹ de Ni combinada com altas concentrações de adubação nitrogenada proporciona incrementos nas variáveis de teor de N, clorofila total, carotenoides, fotossíntese, e produtividade de grãos. Enquanto a atividade da enzima urease apresenta a máxima atividade na dose de 80 g ha⁻¹ de Ni, sob a dose recomendada de N.

AGRADECIMENTOS

Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS-CPCS), Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT) e o Grupo de Estudos do Cerrado em Nutrição de Plantas (GECENP).

FONTE DE FINANCIAMENTO

Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT) TO 88/2021 e SIAFEM 30478. EDITAL N° 13 de 03 de maio de 2021, disponibilizado via processo SEI nº 23455.000175/2021-15.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, P. E. P. Manejo de irrigação na cultura do milho. Embrapa Milho e Sorgo. Sistema de Produção, 1 ISSN 1679-012X Versão Eletrônica - 6ª edição Set./2010.

BAI, C. et al. Nickel deficiency disrupts metabolism of ureides, amino acids, and organic acids of young pecan foliage. *Plant Physiology*, v. 140, n. 2, p. 433-443, 2006.

BARCELOS, J. P. Q et al. 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, n. 2, p. 184-192, 2017.

BARCELOS, J. P. Q. et al. Impact of foliar nickel application on urease activity, antioxidant metabolism and control of powdery mildew (*Microsphaera diffusa*) in soybean plants. *Plant Pathology*, v. 67, n. 7, p. 1502-1513, 2018.

BROWN, P. H. et al. Nickel: A micronutrient essential for higher plants. *Plant physiology*, v. 85, n. 3, p. 801-803, 1987.

COSTA, F. M. P. et al. Nitrogênio e produtividade de grãos de milho. In: FANCELLI, A.L.; DOURADO NETO, D. (Eds). *Milho: tecnologia e produção*. Piracicaba: ESALQ/USP/LVP. p. 118-128, 2005.

DE SOUZA, A. E. et al. Estudo da produção do milho no Brasil. *South American Development Society Journal*, v. 4, n. 11, p. 182, 2018.

DUETE, R. R.C. et al. Viabilidade econômica de doses e parcelamentos da adubação nitrogenada na cultura do milho em Latossolo Vermelho Eutrófico. *Acta Scientiarum Agronomy*, v.31, p.175-181, 2009.

DUETE, R.R.C. et al. Manejo da adubação nitrogenada e utilização do nitrogênio (15N) pelo milho em Latossolo Vermelho. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.32, p.161-171, 2008.

FABIANO, C. C. et al. Essentiality of nickel in plants: a role in plant stresses. *Frontiers in plant science*, v. 6, p. 754, 2015.

IMADE, E. E; BABALOLA, O. O. Biotechnological utilization: the role of *Zea mays* rhizospheric bacteria in ecosystem sustainability. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 105, n. 11, p. 4487-4500, 2021.

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

MCCULLOUGH, H. The determination of ammonia in whole blood by a direct colorimetric method. *Clínica chimica acta*, v. 17, n. 2, p. 297-304, 1967.

MELGAR, R. J. et al. Rates and dates of nitrogen fertilizer application for maize on a latossol in the central Amazonia region. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Campinas, v. 15, n. 3, p. 289-296, 1991.

MISHRA, D.; KAR, M. Nickel in plant growth and metabolism. *Botanical Review*, New York, v. 40, n. 4, p. 395-452, 1974.

OLIVEIRA, T. C. Atividade da urease e crescimento de alface no solo em resposta à níquel. 2009. 40 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2009.

ONASANYA, R. O. et al. Growth and Yield Response of Maize (*Zea mays* L.) to Different Rates of Nitrogen and Phosphorus Fertilizers in Southern Nigeria. *World Journal of Agricultural Sciences*. p.400- 407. Nigeria, 2009.

PEREIRA, J. M. N. Doses de Cd, Pb, Cu, Zn e Ni em latossolos: efeitos no solo e nas plantas de alface e feijão. 2006. 131 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2006.

PRADO R. M. Nutrição de Plantas (2 ed.). Jaboticabal: Editora UNESP, 416p, 2021.

RAMBO, L. M. et al. Leaf and canopy optical characteristics as crop N status indicators for field nitrogen management in corn. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 173, p.434-443, 2010.

REIS, A.R. et al. Antioxidant metabolism in coffee (*Coffea arabica* L.) plants in response to nitrogen supply. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, v. 27,3, 4, p. 203-213, 2015.

RIGON, J. P. G. et al. Alterações nos pigmentos fotossintéticos e no crescimento do algodoeiro em função do nitrogênio e níquel. 8º Congresso Brasileiro de Algodão & I Cotton Expo 2011, São Paulo, 2011.

RODAK, B. W. et al. Methods to quantify nickel in soils and plant tissues. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 39, p. 788-793, 2015.

RODAK, B. W. et al. NÍQUEL: ATIVIDADE DA ENZIMA UREASE EM SOJA CULTIVADA EM SOLOS DE TEXTURAS CONTRASTANTES. Universidade Federal do Paraná - UFPR. Cruz Machado, PR, 2013.

RODAK, B. W. Níquel em solos e na cultura de soja. Tese de Doutorado. Dissertação Mestrado - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, p.101, 2014.

SABOOR, A. et al. Zinc nutrition and arbuscular mycorrhizal symbiosis effects on maize (*Zea mays* L.) growth and productivity. *Saudi journal of biological sciences*, v. 28, n. 11, p. 6339-6351, 2021.

SILVA, F. C. Manual de análises químicas de solos, planta e fertilizantes. 2. ed. Ver. Ampl. - Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, p, 627, 2009.

SILVA, I. C. CRESCIMENTO E PRODUTIVIDADE DO ALGODOEIRO EM FUNÇÃO DA APLICAÇÃO DE NITROGÊNIO E NÍQUEL. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho”. Ilha Solteira, 2016.

SOUSA, D. M. G; LOBATO, E. Cerrado: Correção do solo e adubação. Cerrado: Soil Correction and Fertilization. Brasília. Embrapa Informação tecnológica, 2004.