

EFEITO DE NÍQUEL NA ATIVIDADE DA UREASE E DESENVOLVIMENTO DA SOJA

MARINA K. MURRER¹; ESTÊVÃO V. MELLIS²; CAMILA C. B. LEVY³; MÁRCIO K. CHIBA⁴; LUIZ ANTONIO J. TEIXEIRA⁵.

Nº 12142

RESUMO

O níquel (Ni) foi o último elemento considerado como micronutriente essencial para a vida das plantas. Sua essencialidade se deve a sua participação na metaloenzima urease, o que torna esse elemento extremamente importante para o metabolismo do nitrogênio nas plantas. Há pouquíssimos estudos sobre o efeito do Ni em plantas no Brasil. O objetivo deste estudo foi verificar o efeito da aplicação no solo de doses de Ni, na atividade da urease, no acúmulo de Ni na parte aérea, no crescimento e na produção de massa seca da soja transgênica Anta 82 cultivada em dois tipos de solo um Latossolo Vermelho-Amarelo, textura arenosa, e um Latossolo Vermelho Eutroférico, textura argilosa. Para isso foi conduzido um experimento em vasos na casa de vegetação do IAC, em delineamento estatístico inteiramente casualizado, no esquema fatorial: 2 x 4 (2 tipos de solo e 4 doses de Ni) com 4 repetições. Foram aplicadas as seguintes doses de Ni: 0, 0,5, 1 e 2 kg/ha via solo na forma de NiCl_2 (240 g kg^{-1} de Ni). A aplicação via solo foi efetuada antes da semeadura. Foi avaliado a atividade da urease, o acúmulo de Ni na parte aérea, o crescimento e a produção de massa seca da soja em duas épocas, no pleno florescimento e no início da formação de grãos. A aplicação de doses de Ni aumentou significativamente a atividade da urease e o desenvolvimento da cultura. Conclui-se que a aplicação de Ni em soja pode melhorar a eficiência da cultura na absorção de N e o desenvolvimento das plantas.

¹ Bolsista CNPq: Graduação em Engenharia Ambiental, Puc-Campinas, Campinas-SP, marina_murrer@hotmail.com.

² Orientador: Pesquisador do Centro de Solos e Recursos Ambientais, IAC, Campinas-SP.

³ Colaboradora: Mestranda do Curso de Pós-graduação em Agricultura Tropical e Subtropical, IAC, Campinas- SP.

⁴ Colaborador: Pesquisador do Centro de Solos e Recursos Ambientais, IAC, Campinas-SP.

⁵ Colaborador: Pesquisador do Centro de Solos e Recursos Ambientais, IAC, Campinas-SP.

ABSTRACT

Nickel (Ni) was considered as the last element essential micronutrient for plant life. Its essence is due to their participation in the metalloenzyme urease, which makes this extremely important element for nitrogen metabolism in plants. There are very few studies on the effect of Ni on plants in Brazil. The objective of this study was to investigate the effect of soil application doses of Ni in urease activity, the accumulation of Ni in the shoot growth and dry matter production of transgenic soybeans grown in 82 Anta two types of soil a Oxisol, sandy texture, and a eutrophic Oxisol clay texture. For this purpose an experiment was conducted in pots in the greenhouse of the IAC, in completely randomized experimental design in a factorial 2 x 4 (2 soil types and four doses of Ni) with four replications. The following doses were applied to Ni: 0, 0.5, 1 and 2 kg / ha to the soil as NiCl₂ 2 (240 g 1 kg Ni). The application was made in the soil before sowing. Was assessed by urease activity, the accumulation of Ni in the shoot growth and dry matter production of soybean in two seasons at full flowering and early grain formation. The application of Ni doses significantly increased urease activity and plant growth. It is concluded that the application of Ni in soy can improve the efficiency of absorption of N culture and plant development.

INTRODUÇÃO

O níquel (Ni) foi o último elemento considerado como micronutriente essencial para a vida das plantas. Sua essencialidade se deve a sua participação na metaloenzima urease, enzima que catalisa a degradação da uréia em dióxido de carbono e amônia (Dixon et al., 1975), o que torna esse elemento extremamente importante para o metabolismo do nitrogênio nas plantas. A deficiência de Ni inibe a atividade da urease fazendo com que ocorra acúmulo de uréia nas folhas, ocasionando o aparecimento de manchas necróticas, impedindo o desenvolvimento da cultura e em casos mais severos provocando até a morte das plantas (Dechen e Nachtigal, 2007). Segundo Brown et al., 1987, a deficiência de Ni tem uma vasta gama de efeitos sobre o crescimento das plantas e do metabolismo. Estes incluem efeitos sobre o crescimento das plantas, a senescência das plantas, metabolismo do N, e a absorção de ferro. Investigações preliminares também indicam que o Ni pode ter um papel na síntese de fitoalexinas e na resistência da planta a doenças.

Alguns autores estudaram o efeito da aplicação de Ni em soja e verificaram que a absorção de nitrogênio foi altamente estimulada pela presença de Ni (Polacco et al., 1976). Klucas et al. (1983) observaram que a suplementação de Ni não teve efeito

significativo sobre a matéria seca ou teor total de N das plantas. No entanto, a adição de Ni tanto em plantas cultivadas com aplicação de nitrato quanto em plantas com fixação de N simbiótico, resultou em um aumento de sete a dez vezes na atividade da urease nas folhas.

No Brasil são escassos os trabalhos com Ni em solos agrícolas. Malavolta et al. (1997) verificou que em solos com baixa disponibilidade de Ni os teores de uréia em folhas de soja se tornam bastante elevados, em torno de 25 g kg^{-1} , ocasionando necrose dos folíolos. Alovisi et al. (2011), estudaram a eficiência do uso de sulfato de níquel, via foliar, na cultura da soja, e concluíram que apesar da aplicação foliar aumentar consideravelmente os teores de Ni nas folhas de soja, não houve efeito na produtividade da cultura.

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da aplicação no solo de doses de Ni, na atividade da urease, no acúmulo de Ni na parte aérea, no crescimento e na produção de massa seca da soja transgênica Anta 82 cultivada em dois tipos de solo um Latossolo Vermelho-Amarelo, textura arenosa, e um Latossolo Vermelho Eutroférico, textura argilosa.

MATERIAL E MÉTODOS

Para avaliar a eficiência da aplicação de níquel em soja foi conduzido um experimento no município de Campinas-SP, na casa de vegetação do Centro de Solos e Recursos Ambientais do Instituto Agrônomo de Campinas, em vasos com capacidade para 5 dm^3 de solo, contendo dois solos com texturas contrastante, sendo um Latossolo Vermelho-Amarelo (LVA), textura arenosa, e um Latossolo Vermelho Eutroférico (LV), textura argilosa. Para o preenchimento dos vasos foram utilizadas porções desses solos coletadas na profundidade de 0-20 cm, peneiradas e secas ao ar. Antes da instalação do experimento, foram determinados os parâmetros químicos e mineralógicos de cada solo de acordo com o sistema IAC de análises de solo (RAIJ et al., 2001). Os teores disponíveis de Ni no solo antes da instalação do experimento eram, $0,01 \text{ mg dm}^{-3}$ para o LVA, e $0,27 \text{ mg dm}^{-3}$ para o LV.

Antes da instalação dos experimentos os solos receberam aplicações de doses de calcário dolomítico para elevar o índice de saturação por bases até 70%. Decorridos 30 dias da aplicação de calcário, o solo de cada vaso recebeu fertilizantes suficientes para que os teores de nutrientes atingissem: 60 mg kg^{-1} de N, 200 mg kg^{-1} de P, 60 mg kg^{-1} de K, 30 mg kg^{-1} de S. Para o solo LVA foi adicionado também as seguintes quantidades de micronutrientes: $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$ de B, 1 mg kg^{-1} de Cu, $2,5 \text{ mg kg}^{-1}$ de Mn

e 5 mg kg⁻¹ de Zn, de acordo com Abreu (1992).

O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado, no esquema fatorial: 2 x 4 (dois tipos de solo e 4 doses de Ni) com quatro repetições, totalizando 32 vasos. Foram aplicadas antes da semeadura da soja as seguintes doses de Ni: 0, 0,5, 1 e 2 kg/ha via solo na forma de NiCl₂ (240 g kg⁻¹ de Ni). Posteriormente foram semeadas 10 sementes de soja por vaso. A variedade utilizada no experimento foi a Anta 82, transgênica, superprecoce, tolerante ao acamamento com ciclo total de aproximadamente 110 dias. Antes do plantio as sementes foram tratadas com inoculante turfoso na dose de 0,1 g kg⁻¹ de semente, inseticida, fungicida, Co (0,015 mg g⁻¹ de semente) e Mo (0,3 mg g⁻¹ de semente). O desbaste foi feito aos 20 dias após o plantio, mantendo 6 plantas por vaso. A partir dessa data foram efetuadas medidas de altura média das plantas. Realizou-se a adubação de cobertura conforme a necessidade da cultura.

No início do florescimento, aproximadamente 40 dias após o plantio, foram coletadas duas plantas por vaso. Logo após a colheita das plantas, as amostras foram lavadas e secas em estufa de circulação forçada de ar a 60°C, até massa constante, determinando-se a massa seca das plantas e teor de níquel na parte aérea conforme metodologia descrita por Bataglia et al. (1986). Nesta mesma época foram coletadas amostras do primeiro trifólio desenvolvido de duas plantas por vaso para a determinação da atividade da urease conforme método descrito por Oliveira (2009).

Decorridos aproximadamente 70 dias após a semeadura, no início do enchimento de grãos, foram coletadas duas plantas de cada vaso, sendo efetuadas as mesmas determinações descritas acima.

Os dados foram analisados preliminarmente através de parâmetros descritivos: moda, mediana, média, desvio padrão, coeficiente de variação, variância e ajuste à distribuição do tipo normal. Se necessário para que os dados se ajustem a distribuição do tipo normal foram aplicadas transformações adequadas para cada caso. Os dados foram então submetidos à análise de variância, pelo teste F. Quando o efeito das doses foi estatisticamente significativo, realizou-se um estudo de regressão. Em todas as análises descritas acima, o nível de significância do teste foi igual a 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Atividade da Urease

Nas duas épocas de coleta, observou-se que a atividade da urease nas folhas de soja aumentou significativamente em função da aplicação de Ni em ambos os solos estudados. A atividade da urease aumentou de forma quadrática, exceto na primeira coleta de folhas no LV, no qual o aumento da atividade da urease em função das doses de Ni foi linear (Figura 1).

O efeito do Ni na atividade da urease aumentou com o tempo de contato, em ambos os solos. Porém, no solo argiloso (LV) o efeito do tempo foi maior que no solo arenoso (LVA). O teor natural de Ni disponível ($0,27 \text{ mg dm}^{-3}$) nesse solo estava relativamente alto o que provavelmente mascarou o efeito inicial das doses aplicadas. Observando a figura 4 nota-se que o efeito da aplicação das doses de Ni na atividade da urease foi maior no LVA que no LV. A dose na qual se obteve a máxima atividade da urease ($312 \text{ } \mu\text{mol NH}_4\text{-h}^{-1}\text{g}^{-1}\text{MF}$) foi de $1,5 \text{ kg de Ni ha}^{-1}$. No LV a dose de Ni onde a soja apresentou a máxima atividade da urease foi de $1,9 \text{ kg ha}^{-1}$ ($289 \text{ } \mu\text{mol NH}_4\text{-h}^{-1}\text{g}^{-1}\text{MF}$). Klucas et al. (1983), verificaram que a adição de NiCl_2 na solução nutritiva purificada reforçou em pelo menos 10 vezes a atividade da urease nas folhas de soja cultivadas em simbiose. A urease desempenha um papel importante no metabolismo da uréia derivada do catabolismo de ureídeos, que são os principais compostos que transportam o N fixado a partir de nódulos em plantas de soja (McClure e Israel, 1979).

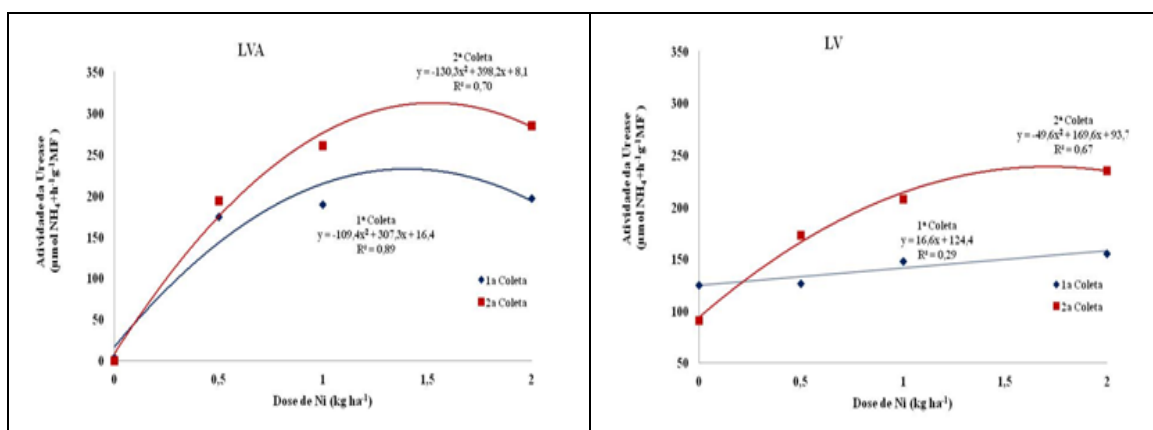


FIGURA 1. Atividade da urease na soja em função da aplicação via solo de doses de Ni em um Latossolo Vermelho Amarelo (LVA), textura arenosa, e em um Latossolo Vermelho (LV), textura argilosa.

Altura das Plantas

O aumento na atividade da urease provocado pela adição de doses de Ni no solo refletiu no crescimento das plantas de soja. Verifica-se na figura 2 que a altura das plantas aumentou com a aplicação das doses de Ni. A aplicação de Ni no solo promoveu um aumento médio na altura das plantas de aproximadamente 5 cm, tanto

no LVA quanto no LV, até 40 dias após a semeadura (época do florescimento). Após esse período a diferença de altura entre os tratamentos diminui chegando a se igualar no LV aos 60 dias após a semeadura. No LVA as plantas que receberam a aplicação de Ni mantiveram-se mais altas até o final do experimento. Essa diferença no desenvolvimento refletiu na duração do ciclo da soja, antecipando em alguns dias o mesmo nas amostras tratadas com Ni. Nessas amostras nota-se que as plantas tratadas com Ni cresceram mais que as plantas que não receberam a aplicação do micronutriente, principalmente no final do ciclo, após o florescimento. Este crescimento provavelmente ocorreu devido ao aumento da atividade da urease, e consequente melhor assimilação de nitrogênio pela soja. Alguns autores também verificaram efeito da adição de Ni no crescimento da aveia, trigo, tomate, etc, o que corrobora com os resultados observados nesse experimento (Brown, et al., (1987); Checkai, et al., (1986); Shimada et al., (1980); Welch, (1981)). Seregin e Kozhevnikova (2006) relatam que a pulverização do algodoeiro com solução de sulfato de níquel de $234,8 \text{ mg kg}^{-1}$ teve efeito positivo em relação ao número de gemas e de flores, a velocidade de crescimento das maçãs e o teor de óleo das sementes.

O maior efeito da aplicação das doses de Ni via via solo se deu no LVA. Isto provavelmente ocorreu devido a menor capacidade de adsorção de Ni desse solo em relação ao LV. Mellis et al (2004), estudaram a adsorção de Ni em solos do Estado de São Paulo e verificaram grande afinidade desse elemento aos óxidos e a matéria orgânica. Como podemos verificar nesse estudo, na aplicação via solo a maior dose de Ni requerida para se atingir a máxima atividade da urease foi no LV (Figura 1).

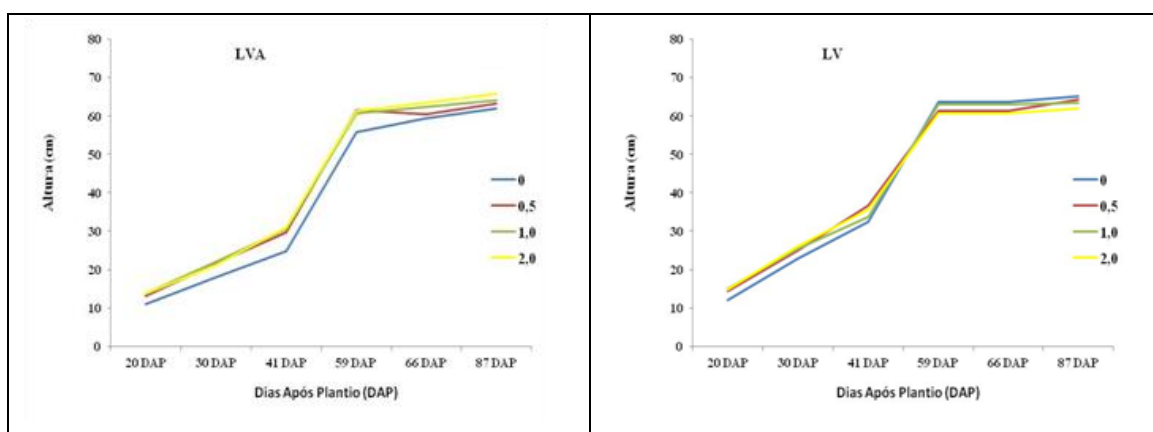


FIGURA 2. Crescimento da soja em função da aplicação via solo de doses de Ni em um Latossolo Vermelho Amarelo (LVA), textura arenosa, e em um Latossolo Vermelho (LV), textura argilosa.

Teor de Níquel na parte aérea da soja

Em relação aos teores de Ni na parte aérea, ocorreu aumento significativo em função da aplicação de Ni na primeira coleta (época do florescimento) apenas no solo LVA. Observa-se na figura 3 que com a adição das maiores doses de Ni, o teor desse micronutriente na planta triplicou, passando de 0,76 mg/kg na dose 0, para 3,67 na dose de 2 kg/ha. Na segunda coleta (época de formação de grãos) os teores de Ni na parte aérea aumentaram linearmente independente do solo cultivado, ocorrendo interação entre os fatores solo e doses de Ni aplicada. No solo LV, os teores foliares foram de 0,66 mg.kg⁻¹ na maior dose de Ni aplicada, enquanto que no LVA, os teores foliares atingiram 2,46 mg.kg⁻¹, com a aplicação de 2 kg ha⁻¹ do micronutriente. Segundo Malavolta (2006), o nível adequado de Ni para o crescimento das plantas é de 1,5 mg.kg⁻¹. Observa-se que nas amostras cultivadas no LV os teores encontrados na parte aérea estão inferiores ao proposto pelo autor. Cabe ressaltar que nos resultados apresentados nesse trabalho as determinações dos teores de Ni foram feitas na planta inteira. Como a soja se desenvolveu melhor nesse solo, apresentando maior produção de massa seca e área foliar, o Ni foi diluído na planta, ou seja, a simples observação dos teores de Ni nas obtidos pode levar a interpretação errada. Verifica-se que nas amostras cultivadas no LVA os teores de Ni na parte aérea estão dentro da faixa adequada proposta por Malavolta (2006).

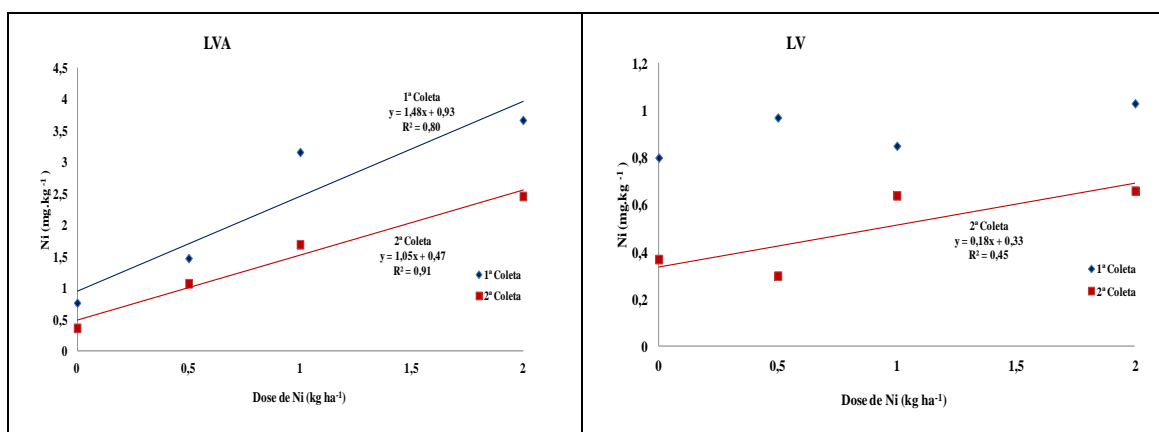


FIGURA 3. Teores de Níquel na soja em função da aplicação via solo de doses de Ni em um Latossolo Vermelho Amarelo (LVA), textura arenosa, e em um Latossolo Vermelho (LV), textura argilosa.

Massa Seca

Embora não tenha sido observado efeito das doses de Ni na massa seca na primeira coleta, observou-se interação significativa entre o fator solo e doses de Ni na produção de massa seca das amostras coletadas na segunda época de amostragem em ambos os solos (Figura 4). Observa-se na Figura 2 que o aumento na produção de

matéria seca em função das doses de Ni aplicadas foi linear em ambos os solos. Para o LV, a dose de Ni calculada onde a soja apresentou a máxima massa seca (16,67 g) foi de 2,7 kg ha⁻¹. Para o LVA a dose de Ni para a máxima massa seca (11,7 g) foi de 1,81 kg de Ni ha⁻¹. No LVA a massa seca da soja passou de 9,16 g/vaso na dose 0, para 11,71 g/vaso ,com a aplicação de 2 kg ha⁻¹ de Ni. No LV o aumento foi de 3,2 g/vaso , passando de 13,47 g/vaso na dose 0 de Ni para 16,67 com a aplicação de 2 kg ha⁻¹ de Ni.

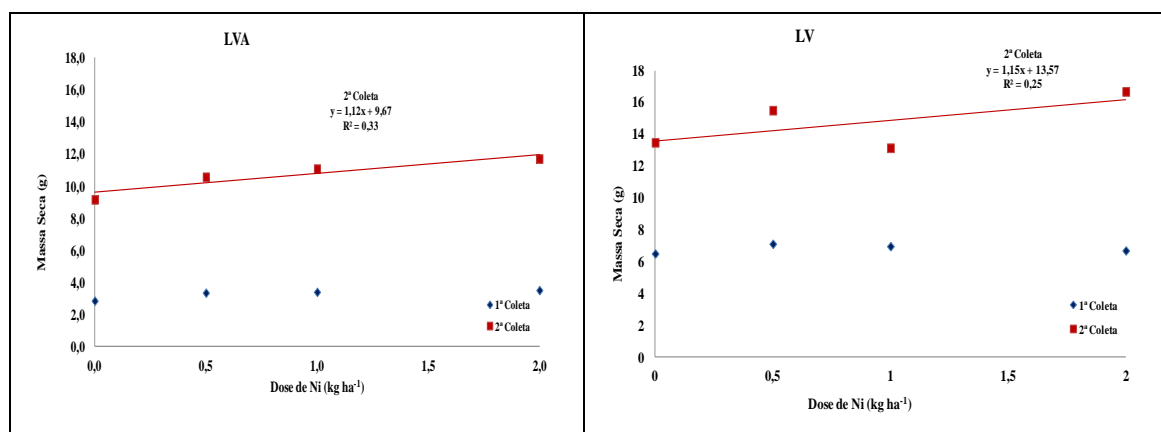


FIGURA 4. Massa seca da soja em função da aplicação via solo de doses de Ni em um Latossolo Vermelho Amarelo (LVA), textura arenosa, e em um Latossolo Vermelho (LV), textura argilosa.

CONCLUSÃO

- A atividade da urease aumenta exponencialmente na soja transgênica Anta 82 com a aplicação de doses de Ni no solo;
- A aplicação de doses Ni aumenta a altura, a massa seca da soja transgênica Anta 82;
- Os teores de Ni na parte aérea aumentam linearmente com a aplicação de doses crescentes do micronutriente no solo;
- A resposta da soja em relação à aplicação de Ni varia conforme o solo cultivado;
- A amplitude de resposta à aplicação de Ni, foi maior no Latossolo Vermelho Amarelo, textura arenosa, do que no Latossolo Vermelho, textura argilosa;
- Apesar de o Ni afetar positivamente a atividade da urease e o crescimento da soja, faz-se necessário a realização de mais estudos para se definir o manejo adequado desse micronutriente na cultura.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPQ – PIBIC, pela bolsa concedida.

Ao IAC – pela oportunidade de estágio.

REFERÊNCIAS

- ABREU, C.A. Comparação de métodos para avaliar o manganês disponível de solos do Estado de São Paulo. Dissertação (doutorado). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1992.
- BROWN, P.H.; WELCH, R.M.; CARY, E.E. Nickel: a micronutrient essential for all higher plants. **Plant Physiology**, v. 85, p. 801-803, 1987.
- CHEKAI, R.T.; NORVELL, W.A.; WELCH, R.M. Investigation of nickel essentiality in higher plants using a recirculating resin-buffered hydroponic system. **Agronomical Abstract** 195, 1986.
- CONAB. Levantamentos de safra. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em Janeiro de 2012.
- DECHEN, A.R. NACTIGALL, G.R. III Elementos requeridos à nutrição de plantas. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ, V.V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L. (ed.). **Fertilidade do solo**. Viçosa-MG. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p. 91-132, 2007.
- DIXON, N.E.; GAZZOLA, C.; BRAKELEY, R.L.; ZERNE, B. Jack Bean Urease. A metalloenzyme. A simple biological role of nickel? **Journal of the American Chemical Society**, v. 97, p. 4131-4133, 1975.
- EMBRAPA. **Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Sistema Brasileiro de Classificação de Solo**. Brasília: Embrapa Produção de Informação, 1999. 412p.
- KLUCAS, R.V.; HANUS, F.J.; STERLING, A.R.; EVANS, H.J. Nickel: a micronutrient element for hydrogen-dependent growth of *Rhizobium japonicum* and for expression of urease activity in soybean leaves. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 80, p. 2253-2257, 1983.
- MALAVOLTA, E.; MORAES, M. **Níquel – de tóxico a essencial**. Disponível em: <http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra_conteudo.asp?conteudo=16133>. Acesso em Outubro de 2012.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2 ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997. 319p.
- MASUDA, T. **Produção mundial**. Rondonópolis: Fundação MT, 2009. 45p. (Fundação MT. Boletim de Pesquisa de Soja, 13).
- McCLURE, P.R.; ISRAEL, D.W. **Plant Physiology**, v. 64, p. 411-416, 1979.

- MELLIS, E.V.; CRUZ, M.C.P.; CASAGRANDE, J.C. Nickel adsorption by soils in relation to pH, organic matter and iron oxides. **Scientia Agrícola**. Piracicaba, v. 61, n. 2, p. 190-195, 2004.
- OLIVEIRA, T. C. Atividade da urease e crescimento de alface no solo em resposta à níquel. Dissertação (mestrado). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009. 40p.
- POLACCO, J. C. **Plant Physiology**, v. 59, p. 827-830, 1976
- POLACCO, J.C. Nitrogen metabolism in soybean tissue culture. **Plant Physiology**, v. 58, p. 827-830, 1977a.
- POLACCO, J.C. Is nickel a universal component of plant urease? **Plant Science**, v. 10, p. 249-255, 1977b.
- POLACCO, J.C.; HAVIR, E.A. Comparisons of soybean urease isolated from seed and tissue culture. **J. Biol Chem**, v. 254, p. 1707-1715, 1979.
- RAIJ, B. van; QUAGGIO, J.A.; CANTARELLA, H.; ABREU, C.A. Os métodos de análise química do sistema IAC de análise de solo no contexto nacional. In: RAIJ, B. van; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H. QUAGGIO, J.A (Ed.). **Análise química para avaliação da fertilidade em solos tropicais**. Campinas: Instituto Agronômico, 2001, p.251-256.
- 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.
- SHIMADA, N.; ANDO, T.; TOMIYAMA, M.; KAKU, H. Role of nickel in plant nutrition. I. Effects of nickel on growth of tomato and soybean. **Nippon Dojo Hiryogaku Zasshi**, v. 51, p. 487-492, 1980a.
- SHIMADA, N.; ANDO, T. Role of nickel in plant nutrition II. Effect of nickel on assimilation of urea by plants. **Nippon Dojo Hiryogaku Zasshi**, v. 51, p. 493-496, 1980b.
- 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**, v. 71, n. 11, p. 7603-7606, 2005.
- URANO, E.O.M.; KURIHARA, C.H.; MAEDA, S.; VITORINO, A.C.T.; GONÇALVES, M.C. & MARCHETTI, M.E. Avaliação do estado nutricional da soja. *Pesq. Agropec. Bras.*, 41:1421-1428, 2006.