

**GUSTAVO DE OLIVEIRA ALVES**

**NÍQUEL DISPONÍVEL NO SOLO E O SEU EFEITO EM PLANTAS DE SOJA  
SOB DÉFICIT HÍDRICO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Isabela Cristina Filardi Vasques

Coorientador: Samuel Vasconcelos Valadares

**VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2024**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

A474n  
2024  
Alves, Gustavo de Oliveira, 1996-  
Níquel disponível no solo e o seu efeito em plantas de soja sob déficit hídrico / Gustavo de Oliveira Alves. – Viçosa, MG, 2024.

1 dissertação eletrônica (103 f.): il. (algumas color.).

Inclui apêndices.

Orientador: Isabela Cristina Filardi Vasques.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Solos, 2024.

Referências bibliográficas: f. 73-86.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2024.303>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Soja - Cultivo - Efeito do níquel. 2. Secas. 3. Deficit hídrico. 4. Metabolismo. 5. Biogeoquímica. 6. Micronutrientes. I. Vasques, Isabela Cristina Filardi, 1990-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Solos. Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas. III. Título.

CDD 22. ed. 633.34892


**GUSTAVO DE OLIVEIRA ALVES**

**NÍQUEL DISPONÍVEL NO SOLO E O SEU EFEITO EM PLANTAS DE SOJA SOB DÉFICIT HÍDRICO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.


APROVADA: 23 de fevereiro de 2024.

Assentimento:

Documento assinado digitalmente  
 **GUSTAVO DE OLIVEIRA ALVES**  
Data: 01/08/2024 08:26:03-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

**Gustavo de Oliveira Alves**  
Autor

Documento assinado digitalmente  
 **ISABELA CRISTINA FILARDI VASQUES**  
Data: 29/07/2024 19:23:51-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

**Prof. Dr. Isabela Cristina Filardi Vasques**  
Orientadora

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço à Deus, ao meu mestre e a liberdade de expressão.

Gostaria de agradecer em especial a minha família: minha mãe, meu pai e meus avós que muito me motivaram em persistir em todas as ações desenvolvidas.

Aos amigos, colegas e companheiros que adquirir durante a pós-graduação, onde compartilhamos importantes momentos de felicidades, tristeza, tensão e rodas de conversas.

À Cintia, por todo companheirismo, carinho, amor, fraternidade, incentivo e cumplicidade, além da ajuda na correção gramatical desta dissertação.

Ao Prof. Samuel Vasconcelos por toda orientação, incentivo, ensinamentos, inteligência e confiança aos longos destes dois anos de atividades. À você, sou extremamente grato a todo o companheirismo e empatia, um exemplo que desejo seguir em minha vida.

À Prof. Isabela Cristina, tenho profundo carinho, e sou muito grato pela sua orientação, por todo incentivo, ensinamentos e competência. Terei você como modelos a seguir.

Ao Prof. Hidelblandi Farias, Prof. Wagner Araújo e a Zélia, pessoas que conheci e tenho grande admiração.

Aos companheiros de laboratório, com destaque a Dora Martins por todo ensinamento compartilhado, e aos estagiários Murilo e João Rogério que se tornaram grandes parceiros.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV), em especial ao Departamento de Solos e ao Programa de Pós-graduação em Solos e Nutrição de Plantas, e à Unidade de Crescimento de Plantas pelo apoio técnico e financeiro para a realização deste trabalho.

Agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, pela bolsa concedida, bem como as agências de pesquisa CNPq e FAPEMIG, que sempre serei grato pelo apoio, incentivo e a capacidade de transformação do indivíduo por meio do conhecimento, fornecido através dos orientadores, professores, técnicos e os demais trabalhadores indiretos e diretos destas instituições.

Agradeço ao Akira Toriyama (que descanse em paz) por ter criado um dos maiores animes de todos os tempos, o Dragon Ball.

A todos aqueles que contribuiriam forma indireta ou direta, muito obrigado.

*"Dont tread on me..."*

(Christopher Gadsden)

## RESUMO GERAL

ALVES, Gustavo de Oliveira, M.Sc, Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2024. **Níquel disponível no solo e o seu efeito em plantas de soja sob déficit hídrico.** Orientadora: Isabela Cristina Filardi Vasques. Coorientador: Samuel Vasconcelos Valadares.

A aplicação de níquel (Ni) em plantas de soja sob estresse tem estimulado a produção de compostos antioxidantes. No entanto, há uma carência de estudos sobre o uso de Ni para aliviar outros tipos de estresse, como o déficit hídrico (DH). As mudanças climáticas têm aumentado a frequência e intensidade de fenômenos climáticos extremos, reduzindo a precipitação e a disponibilidade de água. Portanto, o objetivo deste estudo é avaliar o efeito da aplicação de Ni em plantas de soja cultivadas sob DH, analisando as respostas metabólicas e fisiológicas, além do fracionamento químico do Ni no solo ao final do experimento. O experimento foi conduzido em câmara de crescimento, em delineamento em blocos casualizados, utilizando o Latossolo Vermelho Amarelo, pobre em Ni. Foram realizadas aplicações das doses de 0, 0,25, 0,5, 1, 2 e 4 mg kg<sup>-1</sup> de Ni no solo antes do plantio da soja, e as plantas foram submetidas às condições hídricas de presença ou ausência de DH, a partir do estágio R2. Foram realizadas três avaliações ao longo dos 15 dias de DH, sendo: antes do DH (AV1) ao oitavo (AV2) e decimo quinto dia (AV3). Preliminarmente ao DH (AV1), a aplicação de Ni aumentou a eficiência de carboxilação (*EC*) e uso da água (*EUA*), bem como os teores de aminoácidos totais (*AAS*), fenóis totais (*FT*), malato, glicose e sacarose na soja. Contudo, reduziu os teores de ascorbato (*AsA*) e proteínas totais (*PT*). Na soja em DH na AV2, a aplicação de Ni aumentou a *EUA*, *EC*, os teores de glicose, frutose, *AAS*, *PT* e o potencial hídrico na folha ( $\Psi_{WF}$ ), bem como colaborou positivamente para a eficiência do uso da energia fotoquímica e a dissipação do seu excesso. Com o avanço do DH na AV3, a aplicação de Ni propiciou aumento na *EC* e estimulou os teores de prolina, malato, fumarato, *AsA*,  $\Psi_{WF}$  e *FT*, mas reduziu *ETR* e os teores de clorofila (*a* e *b*), carotenoides e o extravasamento de eletrólitos. Ao término do estudo, o principal efeito observado foi a proteção do fotossistema II, aumento de osmoprotetores e a limitação do dano oxidativo, observado pela menor presença de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e O<sub>2</sub><sup>-</sup>. A massa seca da soja, excluindo as raízes, foi incrementada nas folhas, caules e vagens até 2 mg kg<sup>-1</sup> de Ni em plantas controles. Por outro lado, a massa seca dos nódulos foi incrementada até 2 mg kg<sup>-1</sup> de Ni sob DH na AV3. O Ni influenciou positivamente nos teores de Fe, K, S e Zn na parte aérea de plantas quando

em DH, mas contribuiu para a redução destes nutrientes na soja no controle. A maior parte do Ni associou-se à fração residual, óxidos de ferro (FeOx) e matéria orgânica ao final do estudo obtidas pela extração sequencial. A fração associada aos FeOx bem cristalizado se correlacionou com Ni-trocável e teor de Ni na parte aérea da soja, indicando efeito dessa fração mineral sob a disponibilidade do Ni ao solo. Concluímos que a aplicação de Ni diminui os efeitos negativos do DH na soja, induzindo a proteção do sistema de membranas, comprovado pelo reduzido extravasamento de eletrólitos, através da produção de antioxidantes não enzimáticos e também aumentou o status hídrico dos folíolos por influenciar na síntese de açúcares e aminoácidos. Além disso, a fração de Ni associado aos FeOx predominou após os 45 dias de adubação.

**Palavras-chaves:** Biogeoquímica; metabolismo primário; micronutrientes; seca; status hídrico.

## ABSTRACT

ALVES, Gustavo de Oliveira, M. Sc, Federal University of Viçosa, February 2024. **Nickel available in the soil and its effect on soybean plants under water deficit**. Advisor: Isabela Cristina Filardi Vasques. Co-advisor: Samuel Vasconcelos Valadares.

The application of nickel (Ni) in soybean plants under stress has stimulated the production of antioxidant compounds. However, there is a lack of studies on the use of Ni to alleviate other types of stress, such as water deficit (WD). Climate change has increased the frequency and intensity of extreme weather events, reducing precipitation and water availability. Therefore, the objective of this study is to evaluate the effect of Ni application on soybean plants grown under WD, analyzing metabolic and physiological responses, as well as the chemical fractionation of Ni in the soil at the end of the experiment. The experiment was conducted in a growth chamber, using a randomized block design, with the Latossolo Vermelho Amarelo, a Ni-poor soil. The doses of 0, 0.25, 0.5, 1, 2, and 4 mg kg<sup>-1</sup> of Ni were applied to the soil before soybean planting, and the plants were subjected to WD conditions, either with or without WD, starting from the R2 stage. Three evaluations were performed over the 15-day WD period: before WD (AV1), at the eighth day (AV2), and at the fifteenth day (AV3). Preliminary to WD (AV1), Ni application increased the efficiency of carboxylation (*EC*) and water use (*EUA*), as well as the total amino acid (AAS), total phenol (FT), malate, glucose, and sucrose in soybean. However, it reduced the ascorbate (AsA) and total protein (PT) levels. In soybean under WD at AV2, Ni application increased *EUA*, *EC*, glucose, fructose, AAS, PT, and the water potential in the leaf ( $\Psi_{WF}$ ), as well as positively contributing to the efficiency of photochemical energy use and excess dissipation. As WD progressed in AV3, Ni application promoted an increase in *EC* and stimulated the levels of proline, malate, fumarate, AsA,  $\Psi_{WF}$ , and FT, but reduced the electron transport rate (*ETR*) and the contents of chlorophyll (a and b), carotenoids, and electrolyte leakage. At the end of the study, the main observed effect was the protection of photosystem II, the increase in osmoprotectors, and the limitation of oxidative damage, observed by the lower presence of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and O<sub>2</sub><sup>-</sup>. The dry mass of soybean, excluding roots, was increased in leaves, stems, and pods up to 2 mg kg<sup>-1</sup> of Ni in control plants. On the other hand, the dry mass of nodules was increased up to 2 mg kg<sup>-1</sup> of Ni under WD in AV3. Ni positively influenced the levels of Fe, K, S, and Zn in the aerial part of plants under WD, but

contributed to the reduction of these nutrients in soybean in the control. Most of the Ni associated with the residual fraction, iron oxides (FeOx), and organic matter at the end of the study, obtained by sequential extraction. The fraction associated with well-crystallized FeOx correlated with Ni-available and Ni content in the aerial part of soybean, indicating the effect of this mineral fraction on Ni availability in the soil. We conclude that Ni application reduces the negative effects of WD in soybean, inducing membrane protection, proven by reduced electrolyte leakage, through the production of non-enzymatic antioxidants and increased leaf water status by influencing sugar and amino acid synthesis. Additionally, the Ni fraction associated with FeOx predominated after 45 days of fertilization.

**Keywords:** Biogeochemistry; drought stress; micronutrients; primary metabolism; water status.

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>12</b>
<b>2.</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>14</b>
2.1	Caracterização do solo e delineamento estatístico .....	14
2.2	Plantio e tratos culturais .....	15
2.3	Ensaio de déficit hídrico na soja.....	16
2.4	Análises fisiológicas e hidráulica da soja sob estresse hídrico.....	17
2.4.1	Trocas gasosas .....	17
2.4.2	Fluorescência da clorofila “a” .....	18
2.4.3	Potencial hídrico na folha e teor relativo de água.....	18
2.4.4	Extravasamento de eletrólitos .....	19
2.5	Coleta do material foliar para análise de metabolismo primário e dano celular .....	19
2.6	Extração metanólica .....	20
2.6.1	Pigmentos, proteínas solúveis totais e aminoácidos totais.....	20
2.6.2	Prolina .....	21
2.6.3	Malato e fumarato .....	21
2.6.4	Glicose, frutose e sacarose .....	21
2.6.5	Amido .....	21
2.7	Teores de Ascorbato e Dehidroascorbato .....	22
2.8	Determinação de aldeído malônico .....	22
2.9	Análises histoquímicas de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> e O <sub>2</sub> <sup>-</sup> <i>in situ</i> .....	23
2.10	Biometria e massa seca das plantas .....	23
2.11	Teores de nutrientes nos componentes de crescimento .....	24
2.12	Níquel disponível e a extração sequencial de Ni no solo .....	24
2.13	Análises estatísticas .....	25
2.13.1	Análise de variância.....	26
2.13.2	Correlação de Pearson.....	26
<b>3.</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>28</b>

3.1	Trocas gasosas e fluorescência da clorofila “a” .....	28
3.2	Metabolismo primário .....	35
3.2.1	Pigmentos.....	35
3.2.2	Compostos fenólicos, nitrogenados e ácidos orgânicos.....	36
3.2.3	Glicose, frutose, sacarose e amido .....	39
3.3	Ascorbato, dehidroascorbato e indicadores de dano celular.....	41
3.3.1	Ciclo do ácido ascórbico e dano de membrana celular.....	41
3.3.2	Análise histoquímica: presença de O <sub>2</sub> <sup>-</sup> e H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> no folíolo da soja.....	43
3.4	Status hídrico das plantas de soja sob restrição hídrica.....	45
3.5	Correlação de Pearson .....	47
3.6	Biometria e massa seca das plantas de soja após a restrição hídrica.....	52
3.7	Teores de nutrientes na parte aérea após do déficit hídrico .....	53
3.8	Fracionamento químico do Ni no solo após o cultivado da soja.....	56
<b>4.</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>60</b>
4.1	Ni aumentou a eficiência das trocas gasosas e a fase fotoquímica em seca moderada	60
4.2	Metabolismo primário .....	61
4.2.1	A aplicação de Ni não afetou os pigmentos na soja durante o déficit hídrico .....	61
4.2.2	Aminoácidos, proteínas totais e prolina foram incrementadas com as doses de Ni	62
4.2.3	Os níveis de ácidos carboxilatos e fenólicos responderam as doses de Ni.....	63
4.2.4	Ni induziu a síntese de açúcares livres.....	63
4.3	Ni auxilia na integridade do sistema de membranas em soja sob déficit hídrico.....	64
4.4	O status hídrico da soja em déficit hídrico foi garantido pela aplicação de Ni.....	66
4.5	O Ni aumentou a massa da parte aérea e dos nódulos da soja.....	66
4.6	A absorção de Ni alterou o balanço nutricional da soja .....	67
4.7	A baixa disponibilidade de Ni é reflexo do seu fracionamento no solo .....	69
<b>5.</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>72</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>73</b>
	<b>APÊNDICE – A Informações metodológicas suplementares .....</b>	<b>87</b>
	<b>APÊNDICE – B Trocas gasosas e fluorescência da clorofila “a”.....</b>	<b>90</b>

<b>APÊNDICE – C Aspectos metabólicos e fisiológicos da soja.....</b>	<b>96</b>
<b>APÊNDICE – D Biometria, massa seca e nutrientes da soja.....</b>	<b>100</b>
<b>APÊNDICE – E Comportamento químico do Ni no solo.....</b>	<b>103</b>

## 1. INTRODUÇÃO

As mudanças climáticas têm intensificado a ocorrência de estresse abiótico nos cultivos agrícolas (TOMAR *et al.*, 2021; FAHAD *et al.*, 2017). Dentre esses estresses, o déficit hídrico (DH) é um dos mais relevantes para a agricultura, devido ao impacto do aumento da temperatura terrestre sobre a distribuição do vapor de água na atmosfera e a frequência de eventos climáticos que afeta a incidência de chuvas (ALMAGRO *et al.*, 2017; FAHAD *et al.*, 2017). O prejuízo da limitação hídrica é mais potencializado em cultivos que estão em áreas com predominância de solos rasos, arenosos e pobres em matéria orgânica do solo (MOS), devido à particularidade desses solos de reter e armazenar baixas quantidades de água (SELEIMAN *et al.*, 2021; LOPES *et al.*, 2011).

Naturalmente, as plantas passam por constante alteração dos níveis de água no solo. Entretanto, quanto menor a disponibilidade de água no solo, maior é a força de retenção de água pelas partículas do solo, bem como o maior estresse e desgaste energético do vegetal para a obtenção de água e manutenção hídrica interna (FAHAD *et al.*, 2017; MUTAVA *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 2011). A limitada disponibilidade de água reduz o turgor e a divisão celular, impactando na formação de novos tecidos (TAIZ *et al.*, 2017). Os processos envolvidos na fotossíntese, condutância estomática e absorção de nutrientes são prejudicados em plantas sob DH, implicando em perdas de produtividade expressivas (MATHOBO *et al.*, 2017; BASHIR *et al.*, 2021). Além disso, a falta de água induz a formação de espécies reativas de oxigênio (ROS), que causam danos oxidativos aos sistemas de membranas (DUMANOVIĆ *et al.*, 2021; XIONG *et al.*, 2021).

Na região tropical do Brasil, estudos recentes sugerem a incidência de secas mais severas em função do avanço das mudanças climáticas, causadas pela redução na precipitação e ondas de calor, potencializando o déficit hídrico nas áreas de cultivos agrícolas (ZILLI *et al.*, 2020; RATTIS *et al.*, 2021; TRENBERTH, 2011). Dentre as culturas produzidas no Brasil, a soja se destaca por ser a leguminosa mais amplamente cultivada (FENG *et al.*, 2021). As lavouras de soja são amplamente difundidas em áreas de Cerrado, onde é corriqueira a ocorrência de déficits hídricos durante o cultivo (TAVARES *et al.*, 2022). Portanto, a adoção de técnicas agrícolas que aumentem a eficiência produtiva e a produção de alimentos nesses ambientes potencialmente estressantes se constitui um processo desafiador nos dias atuais (SELEIMAN *et al.*, 2021; TOMAR *et al.*, 2021).

O Ni é um micronutriente (BROWN *et al.*, 1987) para as plantas, atuando como cofator para a ativação e formação da enzima urease, fundamental no metabolismo do nitrogênio e na manutenção dos níveis de ureia nas folhas (RODRÍGUEZ-JIMÉNEZ *et al.*, 2016; AHMAD *et al.*, 2011). A aplicação de Ni tem beneficiado a cultura da soja, com doses de 0,5 a 3 mg dm<sup>3</sup> de Ni aumentando o teor de N e a massa nos grãos, além de incrementar a atividade da urease e da taxa fotossintética líquida (MACEDO *et al.*, 2016; LEVY *et al.*, 2019; FREITAS *et al.*, 2019). Contudo, há pouca compreensão sobre as interações Ni-solo-planta e as suas reações com a fração mineral que podem afetar a disponibilidade do nutriente para a soja (AMEEN *et al.*, 2019; ZIMMERMAN *et al.*, 2010).

Estudos recentes têm explorado a relação entre o Ni e o estresse em plantas. Por exemplo, estudos com tomate e trigo sob estresse salino demonstraram que a aplicação de Ni aumentou a eficiência do aparato antioxidante, reduziu danos às membranas celulares e trouxe melhoria na compartimentação do potássio (AIN *et al.*, 2016; AMJAD *et al.*, 2020). Além disso, há evidências de que o Ni também está envolvido no ciclo da glutatona e na síntese e recuperação de enzimas antioxidantes (FABIANO *et al.*, 2015; FREEMAN *et al.*, 2004). Em um estudo recente, Oliveira *et al.* (2022) investigaram o efeito da pulverização de Ni em plantas de milho inoculadas com *Exserohilum turcicum* e observaram uma intensa atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT).

Na soja, a aplicação foliar de Ni aumentou sua resistência a doenças, por meio da ativação de mecanismos de defesa. Einhardt *et al.* (2020a, 2020b) observaram que o fornecimento de Ni estimulou a produção de enzimas antioxidantes como APX, SOD e CAT, compostos fenólicos não enzimáticos, e aumentou a eficiência do fotossistema II em resposta à infecção pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi*. Resultados semelhantes foram encontrados por Barcelos *et al.* (2018) para o oídio (*Microsphaera diffusa*) em soja, com a aplicação foliar de Ni reduzindo significativamente a severidade da doença através do aumento da proteção oxidativa. No entanto, informações sobre a aplicação de Ni em cultivo de soja sob deficiência hídrica são escassas, bem como não há conhecimento sobre a magnitude da disponibilidade deste nutriente quanto às frações minerais de solos oxídicos tropicais.

Desse modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do Ni no metabolismo primário, na integridade celular e no status nutricional da soja sob déficit hídrico, além das alterações na interação do Ni com os constituintes do solo por meio do seu fracionamento químico.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Caracterização do solo e delineamento estatístico

O estudo foi conduzido em câmara de crescimento da Universidade Federal de Viçosa – UFV (20°45'29.9"S, 42°52'11.6"W), utilizando o genótipo de soja TMG – 7363 RR. O experimento foi conduzido em delineamento em blocos ao acaso, com os tratamentos distribuídos em arranjo fatorial 2 x 6 com 5 repetições. O primeiro fator foi a condição hídrica adotada (CH), com a soja imposta ou não ao déficit hídrico a partir do estádio R2, e o segundo fator foi composto pela aplicação de doses crescentes de 0, 0,25, 0,5, 1, 2 e 4 mg kg<sup>-1</sup> de Ni ao solo, na forma do sal NiSO<sub>4</sub>, antes do plantio.

As unidades experimentais foram vasos de 4 dm<sup>3</sup> de solo, os quais foram impermeabilizados e preenchidos com Latossolo Vermelho Amarelo (LVA) (EMBRAPA, 2018), coletado na camada de 1-1,5 m de profundidade para evitar possíveis contaminações com outros materiais próximos, bem como a influência da matéria orgânica (20°45'45.6"S, 42°52'29.5"W; Tabela 1). Antes do preenchimento, a acidez do solo foi corrigida, com o intuito de elevar a saturação de base do solo para 75%, através da adição de 4,068 g de CaCO<sub>3</sub> e 1,138 g de MgCO<sub>3</sub> (ambos reagentes puros para análise) na proporção molar de 3:1. Em seguida, o solo foi umedecido a 80% da capacidade de campo (28,80% de umidade) e incubado por um período de 15 dias.

Tabela 1. Características químicas e físicas do LVA utilizado no estudo antes e após a correção da acidez do solo

Calagem	pH 1:2,5 H <sub>2</sub> O	Ca <sup>+2</sup>	Mg <sup>+2</sup>	Al <sup>+3</sup>	K <sup>+</sup>	H + Al	P	Ni	Ni-ST <sup>2</sup>	CO	Argila	Silte	Areia
		-----cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> -----						-----mg kg <sup>-1</sup> -----		g kg <sup>-1</sup>	-----%-----		
Antes	4,89	0,01	0,001	0,15	0,01	3,39	0,001	0,006	11,13	5,79	66,6	16,1	17,1
Após	6,57	3,68	0,55	0,001	0,02	1,45	1,11	0,005		5,55			

Notas: pH em água (razão solo/solução de 1:2,5). P, K e Ni: extraídos via Mehlich-1 (razão solo solução de 1:10). Ca<sup>+2</sup>, Mg<sup>+2</sup> e Al<sup>+3</sup>: extrator 0,1 mol L<sup>-1</sup> KCl na razão solo solução de 1:10. H + Al: Acidez potencial determinada em acetato de cálcio a 0,5 mol L<sup>-1</sup> a pH 7 (relação solo/solução de 1:15). Ni-ST: Teor de Ni semitotal (9 mL HNO<sub>3</sub> + 3 mL HCl), obtido conforme EPA 3051a (USEPA, 1998). CO: Carbono Orgânico do solo. <sup>1</sup>Teores abaixo do limite de detecção para o método de quantificação utilizado.

A fertilização do solo para todos os nutrientes, exceto o N e Ca, foi realizada conforme Novais *et al.* (1991) para estudos em casa de vegetação (Tabela 2), com modificações para as doses de Mg e S. Antes do plantio, foram aplicadas integralmente as doses de P e Ni, além de ¼ da dose total dos demais nutrientes. Com exceção do P e Ni, as demais doses foram administradas em superfície, subsequentemente a cada 7 dias. Ao longo do experimento,

também houve a aplicação de três parcelas de 30 mg kg<sup>-1</sup> de Mg em intervalos de 7 dias até o estágio fenológico R1 da soja (FEHR; CAVINESS, 1977; FER *et al.*, 1971).

Tabela 2. Nutrientes e respectivas doses aplicadas ao solo ao longo do estudo.

<b>Nutrientes</b>	<b>Dose (mg kg<sup>-1</sup>)<sup>1</sup></b>	<b>Fonte do Nutriente</b>
<b>P<sup>2</sup></b>	300,00	Ca(H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>
<b>K</b>	150,00	K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + KCl
<b>S</b>	80,00	K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
<b>Mg</b>	90,00	MgCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O
<b>B</b>	0,81	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>
<b>Cu</b>	1,33	CuSO <sub>4</sub>
<b>Fe</b>	1,55	FeSO <sub>4</sub>
<b>Mn</b>	3,66	MnCl <sub>2</sub>
<b>Mo</b>	0,15	(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> .4H <sub>2</sub> O
<b>Zn</b>	4,00	ZnSO <sub>4</sub>

Notas: <sup>1</sup>Doses sugeridas por Novais *et al.* (1991), exceto para o S e Mg. <sup>2</sup>Aplicado integralmente antes do plantio.

## 2.2 Plantio e tratos culturais

As sementes de soja do genótipo TMG – 7363 RR foram sanitizadas antes do plantio, submergindo-as por 2 minutos em NaOCl a 2,5%, seguidas de 1 minuto em álcool 70% e 10 lavagens de um minuto cada com água ultrapura (Milli-Q®). Após a secagem à sombra, seguido do armazenamento em câmara fria por 24 horas, as sementes foram tratadas com fungicida e inseticida na dose recomendada de 1,25 L t<sup>-1</sup> de semente, formado pelos princípios ativos do tipo metalaxil-M, tiabendazol, fludioxonil e tiametoxam em concentrações de 20, 150, 25 e 350 g L<sup>-1</sup>, respectivamente (Cruiser Advanced®). As sementes foram mantidas em temperatura ambiente e ao abrigo de luz para adesão do tratamento de sementes e, em seguida, armazenadas a 5~7 °C por 24 horas até o plantio.

Cerca de 4 horas antes da semeadura, as sementes foram inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* na concentração mínima de 1 x 10<sup>10</sup> células por semente na dose de 0,5 mL kg<sup>-1</sup> de sementes. Em cada vaso foram semeadas 10 sementes de soja e, ao sétimo dia após a emergência, foi realizado o desbaste das plantas, restando apenas 2 plantas por vaso. A cada 5 dias, as parcelas experimentais dentro dos blocos foram aleatorizadas para aumentar a homogeneidade da distribuição de luz com o crescimento das plantas e evitar o sombreamento (Figura S1). O monitoramento da perda de água por evaporação do solo foi verificado por dois vasos sem o plantio de soja por bloco, um para cada condição hídrica imposta.

O fotoperíodo durante todo o experimento foi de 12 horas e a temperatura foi ajustada para 28,5 °C durante a fase de luz e 24,5°C na fase noturna (Figura S3). As fontes de luz utilizadas foram de Diodo Emissor de Luz (LED), compostos por LEDs azuis, brancos e

vermelhos na proporção 3:1:1, com o espectro *red*, *green* e *blue* (RGB) de 59,70%: 9,11%: 29,68%, respectivamente. A densidade de fluxo de fótons fotossintéticos (PPFD) foi ajustada para  $151,06 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  na fase de germinação e mantido ao longo dos sete primeiros dias após emergência das plantas (VE). Após este período de crescimento inicial, houve um aumento gradativo da intensidade luminosa a cada 2 dias, atingindo no 12º dia após a emergência (V1) a faixa de  $330,00 \pm 25 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (FENG *et al.*, 2019).

Para caracterização da qualidade da luz ao longo do dossel da soja durante o seu crescimento, dados em cinco diferentes alturas foram obtidos com o auxílio do espectrômetro LI – 180 (Figura S1 e S2; Tabela 1S) e posteriormente ajustados por um modelo de regressão linear.

### 2.3 Ensaio de déficit hídrico na soja

Os níveis de água no solo foram controlados com base na curva característica de retenção de água no solo, obtida na câmara de Richards nas tensões de 10, 30, 50, 100, 600, 1000 e 1500 kPa (Figura S2) (EMBRAPA, 2017). O monitoramento dos níveis de água no solo foi realizado com uma sonda de reflectometria no domínio do tempo (TDR), modelo ProCheck® (Decagon Devices). O TDR foi previamente calibrado usando vasos preenchidos com o solo de estudo e alocados na câmara de crescimento, com os níveis de água no solo sendo aferidos com o TDR e relacionados com a umidade gravimétrica do solo através da pesagem dos vasos a cada 24 horas (Figura S2).

O déficit hídrico (DH) na cultura da soja seguiu a metodologia sugerida por Nascimento *et al.* (2021), adotando a tensão de água no solo de 900 kPa como nível de restrição hídrica para o estágio reprodutivo da cultura. As plantas de soja foram avaliadas três vezes ao longo do estudo, com a primeira ocorrendo antes do DH (10 kPa ou  $34,75 \pm 0,3\%$  umidade do solo), e outras duas no oitavo e décimo quinto dia após a imposição do DH, quando as tensões de água foram equivalentes a 600 ( $24,03 \pm 0,2\%$ ) e 900 kPa ( $23,17 \pm 0,2\%$ ), respectivamente (Figura S2). Antes da imposição do DH, a irrigação de todos os vasos ocorreu diariamente para manter os níveis de água no solo equivalentes a 10 kPa ( $34,75 \pm 0,3\%$ ) (Figura S3). As verificações da umidade do solo foram realizadas a cada 24 horas após a aplicação da lâmina de água.

O início do déficit hídrico ocorreu quando 90% das plantas de soja atingiram o final do estágio R2 aos 25 dias após a emergência (Figura S2), momento em que as plantas apresentaram pelo menos uma flor aberta nos dois últimos nós da haste (FEHR; CAVINESS, 1977). Houve a antecipação do estágio reprodutivo na soja, e isso pode ser atribuído ao encurtamento do ciclo de vida devido à redução do fotoperíodo para 12 horas, abaixo do fotoperíodo crítico de 16

horas para a espécie (YANG *et al.*, 2019). Essa alteração no ciclo de cultivo já era esperada devido a condição do ambiente de cultivo, mediante a luz de origem do módulo de LED, PPDF e fotoperíodo, desde que não se comprometa a homogeneidade do florescimento da soja (JÄHNE *et al.*, 2020).

Durante a indução do déficit hídrico, houve redução gradativa da irrigação dos vasos das plantas sob restrição hídrica, a qual se prolongou por 15 dias consecutivos. O solo atingiu a tensão de água de 600 kPa no terceiro dia após a redução da irrigação, e as plantas foram mantidas nesta condição por 5 dias. Em seguida, a tensão de água foi reduzida até 900 kPa, onde as plantas foram mantidas por mais 7 dias consecutivos. Durante todo o período de déficit hídrico, os níveis de água no solo nas plantas do controle, sem restrição de irrigação, foram mantidos com tensão de água no solo equivalente a 10 kPa. Os dados referentes ao nível de água no solo, temperatura e umidade relativa do ar ao longo do experimento estão disponíveis na Figura S3.

#### 2.4 Análises fisiológicas e hidráulica da soja sob estresse hídrico

Com exceção do teor relativo de água no folíolo e do extravasamento de eletrólito, todas as demais análises fisiológicas e hidráulicas realizadas em plantas de soja sem ou com déficit hídrico ocorreram em três distintos momentos: a primeira avaliação (AV1) antecedendo a restrição hídrica (25 dias após a emergência) na soja no estágio R2, e segunda avaliação (AV2) equivalente a tensão de água no solo de 600 kPa e a terceira avaliação (AV3) na tensão de 900 kPa, especificamente, ao 8º e 15º dia após o início do déficit hídrico. A AV2 foi realizada quando se atingiu o estágio fenológico R3, com as plantas em fase de enchimento das vagens, com o tamanho dos legumes atingindo até 5 mm de comprimento. Na AV3, o estágio fenológico da soja foi o R5.1, a qual os grãos estavam com a granação de 10% e facilmente perceptível ao tato (FEHR; CAVINESS, 1977; YORINORI, 1996)

##### 2.4.1 Trocas gasosas

As trocas gasosas foram determinadas com o uso do Analisador de Gás Infravermelho (IRGA - Modelo LICOR XT6400), utilizando o folíolo totalmente expandido, posicionado entre a terceira e quarta folha. Antes das análises, a radiação fotossinteticamente ativa foi ajustada para  $350 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e a porcentagem de luz azul foi definida em 20% da densidade de fluxo de fótons fotossintéticos, equivalente à intensidade da faixa de luz azul emitida pelo módulo de LED. O fluxo de  $\text{CO}_2$  foi estabelecido em  $400 \mu\text{mol CO}_2 \text{mol}^{-1} \text{ar}$  e o déficit de pressão de vapor próximo a 1,5 kPa. A assimilação de  $\text{CO}_2$  ( $A$ ), condutância estomática ( $g_s$ ),

concentração de CO<sub>2</sub> intercelular ( $C_i$ ) e taxa de transpiração ( $E$ ) foram obtidos após seis aferições ao longo de 1 minuto após a estabilização das trocas gasosas do folíolo que fora introduzido ao cabeçote de leitura. Além disso, a eficiência do uso da água ( $EUA$ ) e a eficiência da carboxilação ( $EC$ ) foram calculadas a partir das razões  $A/E$  e  $A/C_i$ , respectivamente. As medições iniciaram-se 1 hora após o início do período luminoso.

#### 2.4.2 Fluorescência da clorofila “a”

Os parâmetros de fluorescência da clorofila  $a$  e suas relações foram determinados após a avaliação da troca gasosa das plantas de soja. A fluorescência inicial adaptada à luz ( $F_o'$ ) foi obtida posteriormente por meio da aplicação de um pulso de iluminação de luz vermelha distante. O rendimento da fluorescência no estado estacionário ( $F_s$ ) também foi inicialmente aferido e, seguidamente, aplicado o pulso de saturação de luz branca para se determinar a fluorescência máxima adaptada à luz ( $F_m'$ ).

A determinação do rendimento da fluorescência adaptada ao escuro ocorreu após os folíolos de soja serem protegidos da luz através do envelopamento por papel alumínio e a luz da câmara de crescimento sendo desligada por 30 minutos e mantida durante a verificação. Para a determinação da fluorescência adaptada ao escuro, um pulso de luz foi emitido nos folíolos para se obter a fluorescência inicial adaptada ao escuro ( $F_o$ ). Em seguida, um novo pulso de luz foi emitido para lograr a fluorescência máxima adaptada ao escuro ( $F_m$ ).

De posse dos dados foram calculados: a fluorescência máxima variável adaptada à luz ( $F_v' = F_m' - F_o'$ ), a eficiência de captura de excitação relacionada aos centros de reação do PSII abertos ( $F_v'/F_m' = [F_m' - F_o']/F_m'$ ), coeficiente de extinção fotoquímica ( $q_p = [F_m' - F_s]/[F_m' - F_o']$ ), fluorescência máxima variável adaptada ao escuro ( $F_v = F_m - F_o$ ) e máxima eficiência quântica do PSII ( $F_v/F_m$ ). Os atributos relacionados ao rendimento quântico do PSII foi obtido, sendo: rendimento quântico real do transporte de elétrons ( $\Phi_{PSII} = [F_m' - F_s']/F_m'$ ), rendimento quântico não fotoquímico ( $NPQ = [F_m - F_m']/F_m'$ ) e o rendimento quântico não fotoquímico relacionada com a utilização de energia fotoquímica por separação de cargas na reação ( $qN = [F_m - F_m']/[F_m - F_o']$ ) e a taxa de transporte de elétrons ( $ETR$ ) e a razão  $ETR/A$  (KRAMER *et al.*, 2004; KLUGHAMMER; SCHREIBER, 2008; YAMORI *et al.*, 2011; SWOCZYNA *et al.*, 2022; GENTY *et al.*, 1989).

#### 2.4.3 Potencial hídrico na folha e teor relativo de água

O potencial hídrico na folha na antemãnhã ( $\Psi_{WF}$ ) foi determinado uma hora antes do início do período luminoso nas três avaliações. Foi utilizado um folíolo de soja de cada

repetição, a qual foi armazenado em câmara úmida, saturada de CO<sub>2</sub> e em baixa temperatura (4 °C) imediatamente após a sua remoção. Em seguida, o potencial hídrico do folíolo foi obtido através da câmara de Scholander (SCHOLANDER *et al.*, 1965), aplicando-se uma pressão positiva com gás comprimido de N<sub>2</sub> até ocorrer a liberação da seiva pela haste do folíolo.

O teor relativo de água (TRA) no folíolo de soja foi determinado conforme Varone e Gratani (2015) durante as duas avaliações após o DH. O folíolo totalmente expandido de posição entre a terceira ou quarta folha foi retirado e rapidamente obtida a massa fresca (MF). Em seguida, os folíolos foram adicionados em tubos de centrífugas de 50 mL preenchidos com água ultrapura. Estes, posteriormente foram armazenados por 24 horas a 4 °C no escuro e, ao final deste período, os folíolos foram pesados para a obtenção da massa turgida (MT). Após, os folíolos foram secos em estufa de circulação de ar forçado a 50 °C por 5 dias e novamente pesados para a determinação da massa seca (MS). O TRA foi obtido pela fórmula  $TRA (\%) = ([MF-MS] / [MT-MS]) * 100$ .

#### 2.4.4 Extravasamento de eletrólitos

Para a avaliação do extravasamento de eletrólitos (EE), utilizou-se um folíolo fresco posicionado entre a terceira e a quarta folha da soja (BLUM; EBERCON, 1981) nas avaliações AV2 e AV3. O folíolo foi delicadamente lavado com água destilada e dividido em 20 discos de 0,5 cm de diâmetro, excluindo a nervura central e secundárias. Em seguida, os discos foram colocados em tubos de centrífuga de 50 mL contendo 20 mL de água ultrapura (Milli-Q®). Estes foram mantidos sob agitação lenta por 24 horas no escuro (12 rpm) e sob temperatura ambiente. Após esse período, o foi obtido a condutividade elétrica inicial da solução (CE<sub>i</sub>), medida com um condutivímetro de bancada. Em seguida, as amostras foram incubadas em banho-maria a 95°C por 1 hora para a segunda medição da condutividade elétrica da solução (CE<sub>f</sub>). A magnitude do extravasamento de eletrólitos, indicativo da integridade da membrana celular, foi expressa em porcentagem e calculada pela razão entre a primeira e a segunda aferição da condutividade elétrica da solução foliar, sendo:  $EE (\%) = (CE_i / CE_f) * 100$ .

#### 2.5 Coleta do material foliar para análise de metabolismo primário e dano celular

Para a avaliação do metabolismo primário e a integridade das membranas, dois folíolos entre a quarta e quinta folha totalmente expandida de soja intacta foram coletados, envolvidos em papel de alumínio e rapidamente adicionados em nitrogênio líquido para a paralisação do metabolismo. Por fim, as amostras foram armazenadas em ultrafreezer a -80 °C. Antes das

avaliações, as amostras foram submetidas à liofilização e, posteriormente, moídas e armazenadas em tubos de microcentrífuga.

## 2.6 Extração metanólica

A extração metanólica foi realizada pela adição de 700  $\mu\text{L}$  de metanol 100% em 5 mg de tecido foliar liofilizado (LISEC *et al.*, 2006). Posteriormente, o extrato foi agitado em vórtex e levado ao Thermomixer Confort por 20 minutos a 80 °C sob rotação de 750 rpm. Após, as amostras foram centrifugadas a 13.300 rpm por 15 minutos a 4 °C. O sobrenadante foi transferido para tubos de microcentrífugas de 2 mL, do qual foi obtido os teores de clorofila *a*, *b* e carotenoides.

Em seguida, ao extrato restante foi adicionado 375  $\mu\text{L}$  de clorofórmio e 750  $\mu\text{L}$  de água destilada, a qual foi agitada em vórtex. As amostras, então, foram centrifugadas a 13.300 rpm a temperatura de 4°C por 10 minutos. No coquetel de extração, a fase translúcida foi retirada e armazenada em tubos de microcentrífuga a -20 °C para a quantificação de glicose, frutose, sacarose, aminoácidos totais, prolina, fenóis totais, malato e fumarato. O pellet retido no tubo também foi lavado com álcool 70% e armazenado para obtenção nos teores de proteínas solúveis totais e amido.

### 2.6.1 Pigmentos, proteínas solúveis totais e aminoácidos totais

Os teores de clorofila (*a* e *b*) e carotenoides foram determinados segundo Wellburn (1994). Uma alíquota de 50  $\mu\text{L}$  do extrato armazenado foi adicionada em microplacas do tipo Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) e determinada em absorvância de 470, 653 e 666 nm. Os aminoácidos totais foram obtidos conforme Yemm, Cocking e Ricketts (1955), com uma alíquota de 50  $\mu\text{L}$  do extrato metanólico, 50  $\mu\text{L}$  do tampão citrato de sódio 1 M em pH 5,2 em 0,2% de ácido ascórbico e 100  $\mu\text{L}$  de nihidrina 1% diluída em álcool. Em seguida, o material foi vedado com fita de alumínio termorresistente e levado ao termomixer por 20 minutos a 95°C. As amostras foram quantificadas no leitor de microplacas de ELISA em absorvância de 570 nm. Uma curva de leucina foi utilizada para a comparação dos resultados.

As proteínas solúveis totais foram obtidas do pellet remanescente do tubo de extração. O material foi lavado com lavado com 1 mL de etanol 70%, 2 vezes, e em seguida adicionou-se 400  $\mu\text{L}$  de 0,1 mol L<sup>-1</sup> NaOH e homogeneizado em vórtex. Logo após, foi mantido por uma hora a 95°C sob agitação de 750 rpm. Após o resfriamento dos tubos, estes foram centrifugados a 13.500 rpm por 5 minutos a 4°C. Posteriormente, de 5  $\mu\text{L}$  do sobrenadante foi adicionado em 250  $\mu\text{L}$  de Bradford em microplacas de ELISA e mantidas sob reação por 10 minutos

(BRADFORD, 1976). A determinação ocorreu no comprimento de onda de 595 nm e comparada com curva de calibração padrão de albumina de soro bovino.

### 2.6.2 Prolina

Os teores de prolina foram obtidos segundo o método proposto por Carillo e Gibon (2011). Os 600  $\mu\text{L}$  de extrato metanólico concentrado (50  $\mu\text{L}$ ), junto de 100  $\mu\text{L}$  de nihidrina 1% diluída em etanol 20% e ácido acético a 60%, foram adicionados em placas de ELISA vedadas com fita do tipo RT-PCR e deixadas em termomixer por 20 minutos a 95°C. A reação foi quantificada no leitor de microplacas de ELISA em comprimento de onda de 520 nm e comparada com a curva padrão de calibração de prolina a 1 mM.

### 2.6.3 Malato e fumarato

Os teores de malato e fumarato foram obtidos em 5  $\mu\text{L}$  de extrato metanólico, aos quais foram adicionados um mix formado por 25  $\mu\text{L}$  do tampão tricina (KOH 0,4 M e  $\text{MgCl}_2$  20 mM) a pH 9, 10  $\mu\text{L}$  de methylthiazoyldiphenyl-tetrazolium bromide (MTT) 10 mM, 5  $\mu\text{L}$  de  $\text{NAD}^+$  60 mM e 2  $\mu\text{L}$  de phenazine ethosulfato (PES) 20 mM, 5  $\mu\text{L}$  de Triton 10% e 48  $\mu\text{L}$  de água (NUNES-NESI *et al.*, 2007). A reação foi quantificada em microplacas de ELISA a 570 nm, iniciada 10 minutos após a formação da linha de base, com a aplicação de 1 U de malato desidrogenase. O fumarato é quantificado após a anterior, por meio da reação de 0,1 U de fumarase.

### 2.6.4 Glicose, frutose e sacarose

A concentração de glicose, frutose e sacarose foi obtida conforme Fernie *et al.* (2001). Em 5  $\mu\text{L}$  de extrato metanólico foram adicionados em 160  $\mu\text{L}$  dos reagentes de reação da glicose (150  $\mu\text{L}$  de tampão Hepes/KOH 0,1 M + 3 mM  $\text{MgCl}_2$  pH 7, 4,65  $\mu\text{L}$  de ATP 109 mM ou 60  $\text{mg mL}^{-1}$  + 4,65  $\mu\text{L}$  de  $\text{NADP}^+$  a 48,4 mM ou 36  $\text{mg mL}^{-1}$  + 0,77  $\mu\text{L}$  de glicose-6P desidrogenase a 700 U  $\text{mL}^{-1}$ ). A determinação ocorreu em microplacas de ELISA a 340 nm. Cerca de 1,5 U de hexocinase foi adicionado a partir da formação da linha de base. Após a formação do primeiro platô, 0,7 U de fosfoglicose isomerase foi novamente adicionado às amostras. O mesmo passo se repetiu ao se formar o terceiro platô, no entanto, realizando a adição de 5 U de invertase. As avaliações ocorreram a cada 40 minutos entre as aplicações, com intervalo de 1 minuto entre cada leitura.

### 2.6.5 Amido

O teor de amido foi determinado no pellet residual conforme descrito por Fernie *et al.* (2001). Após a quantificação das proteínas solúveis totais, 61,25  $\mu\text{L}$  de ácido acético na concentração de 1 mol  $\text{L}^{-1}$  foram adicionados ao pellet residual para neutralizar o NaOH adicionado anteriormente. O teor de amido foi obtido através da degradação do amido e quantificação da glicose oriunda da reação. Para isso, iniciou-se a degradação do amido com a adição de 60  $\mu\text{L}$  do mix de reação (59  $\mu\text{L}$  de tampão de acetato de sódio 50 mM a pH 4,9, 1  $\mu\text{L}$  de amiloglicosidase 170  $\text{U mL}^{-1}$  + 0,012  $\mu\text{L}$  de  $\alpha$ -amilase 325  $\text{U mL}^{-1}$ ) em 10  $\mu\text{L}$  do extrato oriundo do pellet residual. Em seguida, as placas foram vedadas e mantidas por uma noite a 37°C.

As reações de quantificação da glicose foram avaliadas em microplacas de ELISA, inserindo 10  $\mu\text{L}$  do extrato do amido degradado + 160  $\mu\text{L}$  do mix de reação da glicose. A quantificação foi realizada em comprimento de onda de 340 nm após a formação da linha de base e inserção de 2 U de Hexocinase (2 U / 5  $\mu\text{L}$ ). O intervalo entre cada leitura foi de 1 minuto. A concentração de amido foi obtida conforme a lei de Lambert-Beer, que relaciona a concentração de uma substância com a absorvância de certo comprimento de onda.

## 2.7 Teores de Ascorbato e Dehidroascorbato

Os teores de ascorbato (AsA) e dehidroascorbato (DHA) foram determinados em 10 mg de tecido foliar liofilizado, adicionando de 400  $\mu\text{L}$  de tampão fosfato (HCl 100 mM + EDTA 1 mM) (ARAKAWA *et al.*, 1981). As amostras foram agitadas em vórtex e centrifugado por 5 minutos a 12.000 G a 4°C. Para a obtenção do AsA total, a microplaca de ELISA foi montada com 10  $\mu\text{L}$  do coquetel de extração e 10  $\mu\text{L}$  de DTT 10 mM em tampão fosfato de Na a 400 mM em pH 7,4. Em seguida a reação foi paralisada com adição de 10  $\mu\text{L}$  de NEM 0,5% (m/v). Posteriormente foi adicionado 80  $\mu\text{L}$  do reagente de cor (A: TCA 0,6% +  $\text{H}_3\text{PO}_4$  15,3% +  $\text{FeCl}_2$  0,6% e B: 2,2-dipyridyl 4% em etanol 70%) e levado ao termomixer a 42 °C por 40 minutos. O teor de DHA foi obtido de placas contendo 10  $\mu\text{L}$  do extrato, 10  $\mu\text{L}$  de água, 20  $\mu\text{L}$  de tampão fosfato de Na 400 mM em pH 7,4 e 80  $\mu\text{L}$  do reagente de cor, e levado ao termomixer a 42 °C por 40 minutos. A quantificação foi dada em comprimento de onda de 520 nm e utilizou-se uma curva padrão de ascorbato. O DHA foi obtido por diferença entre o AsA total e o AsA.

## 2.8 Determinação de aldeído malônico

A quantificação do MDA ocorreu pela reação com o ácido tiobarbitúrico (CAKMAK; HORTS, 1991) com algumas modificações no tempo de aquecimento. Um folíolo de soja fresco submetido ao nitrogênio líquido foi adicionado em tubos de microcentrífugas e moído em

moinho. Durante todo o processo de moagem, o material vegetal foi mantido congelado com nitrogênio líquido. Deste material congelado e moído, 50 mg foi transferido para tubos de rosca de 2 mL e acrescentado a 750  $\mu$ L de ácido tricloroacético (TCA) a 1% (m/v). Em seguida, as amostras foram agitadas em vortex e centrifugadas por 15 min a 4 °C. Após, 500  $\mu$ L do extrato foi adicionado a 750  $\mu$ L de ácido tiobarbitúrico 0,5% + TCA 20%. As amostras foram incubadas em termomixer por 90 minutos a 37 °C e centrifugadas a 10.000 g por 10 minutos após este período de aquecimento.

A partir do sobrenadante foi quantificado, em triplicata, a absorvância em 440, 532 e 600 nm. A concentração de MDA foi estimada pelo coeficiente de extinção de 155 mM  $\text{cm}^{-1}$ , expressando-o em  $\mu\text{mol g}^{-1}$  MF (HEATH; PACKER, 1968).

## 2.9 Análises histoquímicas de $\text{H}_2\text{O}_2$ e $\text{O}_2^-$ *in situ*

Dois folíolos da posição central da soja ao final do experimento na AV3, especificamente aos 45 dias após a emergência, foram removidos da soja e submetidos à avaliação qualitativa de peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) e superóxido ( $\text{O}_2^-$ ) através do tingimento histoquímico dos tecidos afetados, conforme proposto por Kong *et al.* (2011). Após a remoção dos folíolos, um deles foi rapidamente submerso em soluções de 3,3'-Diaminobenzidina (DAB) 1 mg  $\text{mL}^{-1}$  para detecção de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e outro na solução de nitrobluetetrazólio (NBT) 0,1 mg  $\text{mL}^{-1}$  para detecção de  $\text{O}_2^-$ . O tempo de exposição dos folíolos a ambas as soluções foi de 20 horas em condição de ausência de luz, conforme sugerido por Li *et al.* (2021).

Após o período de exposição, as soluções de DAB e NBT foram descartadas e os pigmentos das folhas foram removidos usando a solução de descoloração (etanol:ácido acético:glicerol 3:1:1 v/v), adicionando 50 mL desta em tubos de centrifuga junto do material foliar. Em seguida, foi realizado o aquecimento da etapa de despigmentação em banho-maria por 15 min a  $90 \pm 5$  °C. Ao término do tempo, a solução de descoloração foi descartada. Para fins de armazenamento e preservação, os folíolos da soja foram mantidos em tubos de centrífuga preenchidos por 50 mL da solução de descoloração até o momento de serem fotografadas.

## 2.10 Biometria e massa seca das plantas

Ao final do décimo quinto dia de restrição hídrica na AV3 (45 dias após a emergência), as plantas foram cortadas rente ao solo, com as folhas, os caules, as raízes e os nódulos separados e armazenados em sacos de papel. Em seguida, os componentes de crescimento do vegetal foram lavados com água destilada, armazenados em sacos de papel e transferidos para

a estufa de circulação forçada de ar a 65 °C, onde ficaram até se atingir o peso constante. Ao final, foi mensurada a massa seca dos componentes de crescimento, além do número de nódulos.

#### 2.11 Teores de nutrientes nos componentes de crescimento

Os teores de P, K, Ca, Mg, S, Fe, Cu, Zn, Ni, Mn e Mo foram determinados após digestão úmida nitro-perclórica. Para isso, 1000 mg de massa seca da parte aérea (folhas + caule), previamente moídas em moinho tipo Willey, foram utilizados. Em tubos de vidro de digestão, adicionou-se 10 mL da mistura de ácido nítrico + ácido perclórico na proporção 4:1 ao material vegetal. Os tubos foram levados ao bloco digestor e mantidos a 120 °C até que todo o vapor de cor acastanhada fosse desprendido. Gradualmente, a temperatura foi elevada para 200 °C e mantida por 120 minutos. Posteriormente, o material foi filtrado utilizando papel de filtragem quantitativa de velocidade lenta e armazenado a 4 °C até a quantificação. Os teores dos nutrientes foram determinados por Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-OES).

Os teores de N foram obtidos após decomposição via úmida com ácido sulfúrico. Para cada amostra, cerca de 500 mg de massa seca da parte aérea (folha + caule), previamente seca e triturada, foram colocados em tubos de digestão. Posteriormente, adicionou-se 3 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado junto com a mistura de digestão (K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + CuSO<sub>4</sub> + selênio, na proporção 100:10:1 g g<sup>-1</sup>). As amostras foram aquecidas gradualmente até atingir 350 °C, onde foram mantidas por aproximadamente 2 horas. Os teores de N total foram quantificados utilizando um destilador Kjeldahl, seguido de titulação com 0,025 mol L<sup>-1</sup> de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (TEDESCO *et al.*, 1994).

#### 2.12 Níquel disponível e a extração sequencial de Ni no solo

Após o cultivo, o pH do solo foi mensurado com o pHmetro de bancada na proporção de solo:água de 1:2,5 (v/v) (EMBRAPA, 2017). Para a determinação dos teores de Ni foi considerado o extrator Mehlich-1 (EMBRAPA, 2017), visto que tal extrator é utilizado para a extração de cátions divalentes do solo. Apesar disso, não há consenso sobre a calibração para a análise do teor trocável de Ni no solo, contudo, estudos prévios classificam o extrator Mehlich-1 adequado para a compreensão da disponibilidade do nutriente no solo aos vegetais (RODAK *et al.*, 2015; MACEDO *et al.*, 2020). Desse modo, o teor de Ni disponível foi extraído de 5 dm<sup>3</sup> de solo utilizando o extrator Mehlich-1 (0,0125 mol L<sup>-1</sup> de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + 0,05 mol L<sup>-1</sup> de HCl) na proporção 10:1 (v/v). O teor de Ni no solo após a extração por Mehlich-1 foi quantificado por Espectrofotômetro de Absorção Atômica.

A extração sequencial também foi realizada com o solo obtido após a remoção das plantas ao final do experimento. Para realizar este procedimento, 1 g de solo seco em estufa foi colocado em tubos de centrífuga de 50 mL. Foi utilizado o método de extração sequencial descrito por Silveira *et al.* (2006) para solos tropicais, com algumas modificações na etapa de extração residual. Neste fracionamento químico, os teores de Ni relacionados com 6 diferentes frações do solo foram extraídos e quantificados posteriormente com auxílio do Espectrofotômetro de Absorção Atômica. As seis frações de associação do Ni aos constituintes do solo foram: fração trocável e solúvel (F1), adsorvida a superfície (F2), matéria orgânica (F3), óxidos de ferro pouco cristalizados (F4), óxidos de ferros bem cristalizados (F5) e residual (F6). As informações sobre os extratores e a execução das etapas de extração podem ser visualizadas na Tabela 3.

Tabela 3. Resumo da extração sequencial com as seis distintas frações de Ni conforme sugerido por Silveira *et al.* (2006).

Fração	Extrator	Volume mL	Equilíbrio
<b>F1 - Solúvel e trocável</b>	0,1 mol L <sup>-1</sup> CaCl <sub>2</sub>	15	2 h de agitação (40 rpm) em temperatura ambiente
<b>F2 - Adsorvido a superfície</b>	1 mol L <sup>-1</sup> CH <sub>3</sub> COONa (pH 5)	30	5 h de agitação (40 rpm) em temperatura ambiente
<b>F3 – Matéria orgânica</b>	0,7 mol L <sup>-1</sup> NaClO (pH 8,5)	10	30 minutos em banho-maria a 95 °C; agitação manual a cada 5 min.
<b>F4 - FeOx mal cristalizados</b>	0,21 mol L <sup>-1</sup> C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>4</sub> + (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> C <sub>2</sub> O <sub>4</sub> (pH 3)	30	2 h de agitação (40 rpm) no escuro em temperatura ambiente
<b>F5 - FeOx bem cristalizados</b>	6 mol L <sup>-1</sup> HCl	40	24 h de agitação (40 rpm) em temperatura ambiente no escuro
<b>F6 - Residual<sup>1</sup></b>	HNO <sub>3</sub> 65% + HCl 37%	9 + 3	-

<sup>1</sup>: Extração pelo método EPA-3051A (USEPA, 1998).

Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

Após cada etapa de extração, os tubos foram submetidos à centrifugação a 1250 G por 10 minutos, e a solução resultante foi filtrada utilizando papel de filtro qualitativo. Em seguida, foi recuperado aproximadamente 10 mL de cada extrato após a filtragem de cada fracionamento. Estes, foram armazenados em tubos de centrífuga de 15 mL em temperatura de 4 °C por 15 dias. Entre as etapas do fracionamento, foi realizada a remoção do excedente do extrato anterior, se adicionando ao solo 5 mL de NaCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>, seguido de agitação manual por 30 segundos e uma nova centrifugação a 1225 G. Ao final deste processo, o sobrenadante foi descartado.

### 2.13 Análises estatísticas

### 2.13.1 *Análise de variância*

A homoscedasticidade e normalidade dos resíduos das variáveis foram verificadas pelos testes de Levene e Shapiro-Wilk, respectivamente. Atendendo a esses critérios, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com o auxílio do software R (R CORE TEAM, 2024) e o pacote da biblioteca R ExpDes.pt (FERREIRA *et al.*, 2014). Para as doses crescentes de Ni, este efeito sob as variáveis foi analisado através da regressão polinomial de primeira e segunda ordem, ou modelo  $\sqrt{x}$ , com os seus respectivos coeficientes sendo analisados pelo teste Fisher e t de Student ( $p < 0,1$ ). O software Sisvar 5.6 foi utilizado para verificar a significância dos coeficientes de regressão  $\sqrt{x}$  a p-valor  $< 0,1$  (FERREIRA *et al.*, 2019). Quando os coeficientes de regressão não foram significativos ou  $R^2 < 0,2$ , foi adotado o teste de agrupamento de médias Scott-Knott ( $p < 0,1$ ).

As diferenças para as variáveis quando as plantas foram submetidas a diferentes condições hídricas (CH) foram verificadas pelo teste de Fisher ( $p < 0,1$ ). Independente da diferença estatística para a interação doses de Ni x CH, foi realizado o desdobramento para as variáveis obtidas na AV2 e AV3, exceto para AV1. Para o estudo do efeito das doses de Ni em ambas as CH impostas a soja nos dois momentos de avaliação, a significância dos ajustes de regressão foi sempre verificada. O quadrado médio do residual respectivo a ANOVA de cada variável foi considerado nas validações estatísticas dos coeficientes de regressão pelo teste Fisher ( $p < 0,1$ ) durante o desdobramento da interação.

Os dados obtidos das seis diferentes frações da extração sequencial de Ni foram transformados por  $\log(x + 1)$  antes de ser realizado a ANOVA. No entanto, houve a parametrização em escala de porcentagem (%) destes dados para a confecção dos gráficos relacionando como teor máximo o nível do elemento quantificado pela extração semi-total + dose aplicada em relação ao valor obtido em cada parcela. Os ajustes de regressão das frações extraídas foram realizados mantendo a unidade original dos dados, de  $\text{mg kg}^{-1}$ .

### 2.13.2 *Correlação de Pearson*

A matriz de correlação de Pearson foi obtida utilizando as variáveis de trocas gasosas, fluorescência da clorofila “a” e metabolismo primário, adotando o pacote da biblioteca R Corroplot (WEI, 2021). Apenas para a AV1 a matriz de correlação foi computada considerando o efeito isolado do Ni para as variáveis, enquanto na AV2 e AV3, cada condição hídrica em função das doses de Ni adicionada ao solo foi analisada separadamente. A significância da correlação entre as variáveis ( $p < 0,1$ ) foi determinada com pacote Hmisc (HARRELL *et al.*,

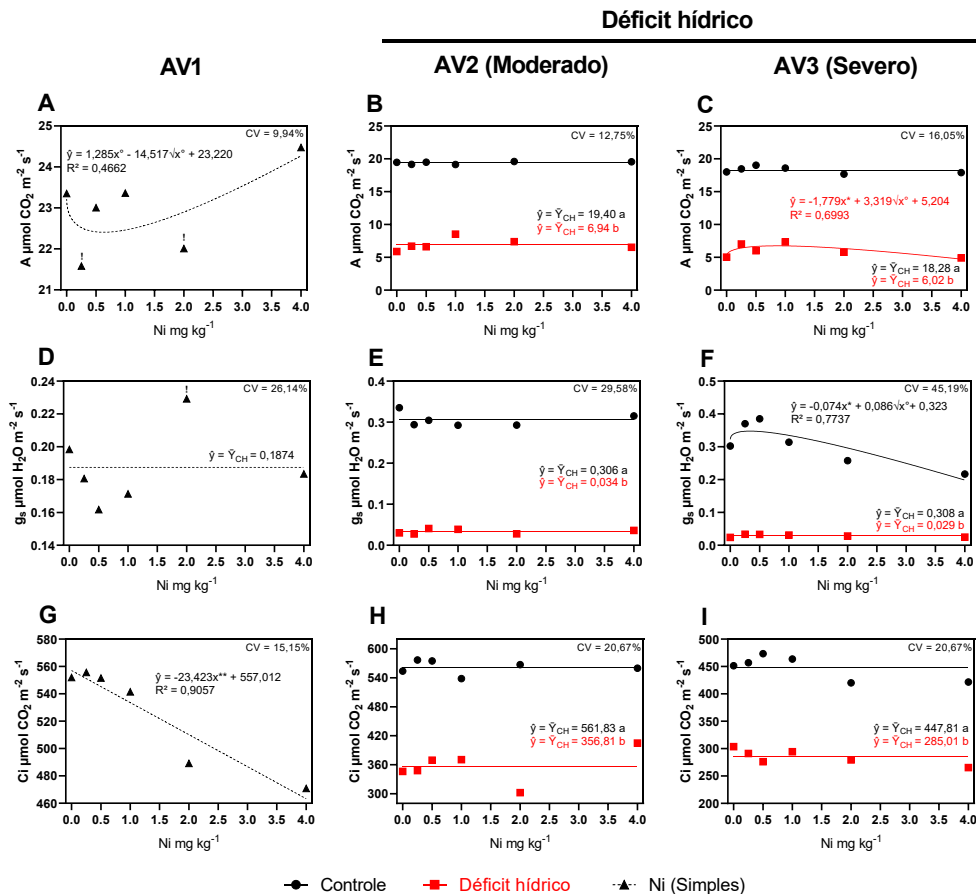
2019). Este mesmo processo foi realizado para a matriz de correlação de Pearson para as diferentes frações de Ni no solo e teor de Ni na parte aérea da soja.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1 Trocas gasosas e fluorescência da clorofila “a”

Os efeitos da aplicação de Ni em plantas de soja submetidas ao déficit hídrico (DH) para as trocas gasosas foram verificados, e a análise de variância destas variáveis podem ser verificadas na Tabela S2. Foi observado que a taxa fotossintética ( $A$ ) foi alterada significativamente ao incrementar as doses de Ni (Figura 4A) na soja na AV1. Além disso, logrou-se o ajusto do modelo de regressão  $\sqrt{x}$  para a  $A$ , demonstrando uma tendência de redução da  $A$  nas doses mais baixas de Ni em relação ao controle sem Ni, sobretudo, em doses de 0,25 e 2 mg kg<sup>-1</sup> Ni.

Figura 4. Taxa fotossintética ( $A$ ), condutância estomática ( $g_s$ ) e concentração interna de CO<sub>2</sub> ( $C_i$ ) em plantas de soja na R2 e sob déficit hídrico após a adubação com Ni.



Notas: \*\*\*, \*\*, \*, ° e ns: Significância dos coeficientes de regressão pelo teste de F a p-valor de <0,001, <0,01, <0,05, <0,1 e não significativo, respectivamente. Doses seguidas de <sup>1</sup> foram esteticamente agrupadas em conjunto pelo teste Scott Knott (p<0,1). Pontuações com \* imediatamente em cima indica que houve diferença estatística (p<0,1) entre a condição hídrica imposta. CV: Coeficiente de variação. Moderado e Severo: Equivalente a tensão de água no solo de 600 e 900 kPa, respectivamente.  $A$ : Taxa fotossintética.  $g_s$ : condutância estomática.  $C_i$ : Concentração interna de CO<sub>2</sub>. AV1: Avaliação antes do déficit hídrico em estágio R2. AV2: Segunda avaliação ao

8° após o início do déficit hídrico (estádio R3). AV3: Terceira avaliação ao 15° dia após o início do déficit hídrico (Estádio R5.1). Estádio fenológico reprodutivo R2, R3 e R5.1 de acordo com Fehr e Caviness (1977) e Yorinori (1996).

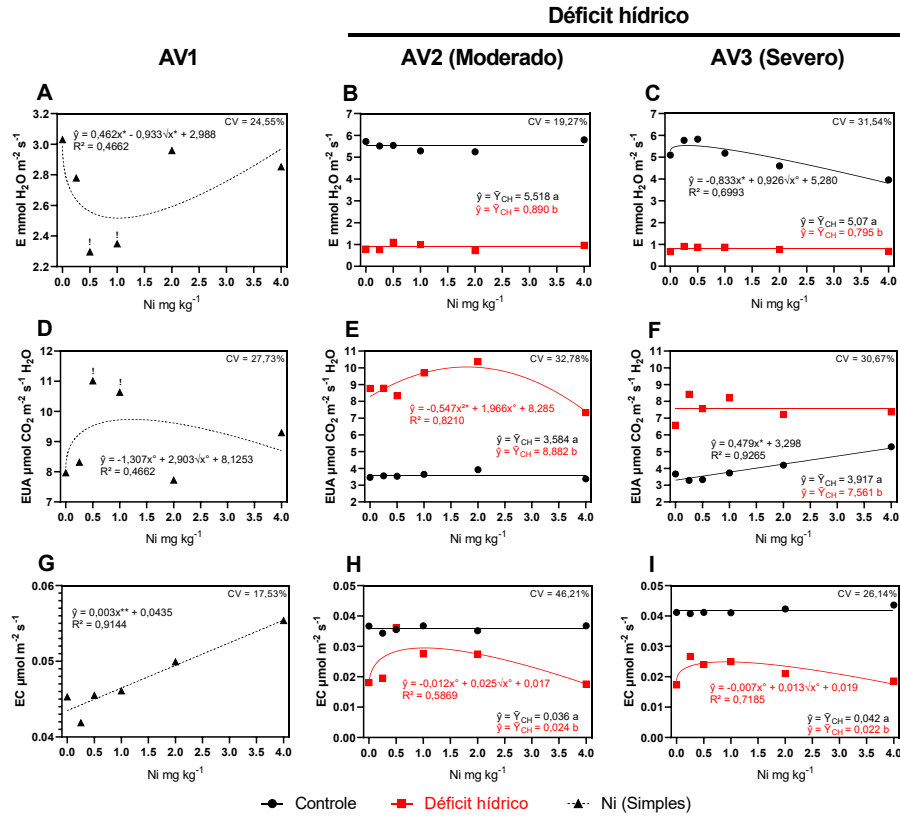
Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

A condutância estomática ( $g_s$ ) não foi alterada pela adição de Ni ao solo na AV1, se mantendo, em média  $0,1847 \mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Figura 4D). Em contrapartida, a concentração interna de  $\text{CO}_2$  ( $C_i$ ) foi reduzida proporcionalmente a dose de Ni aplicada ao solo na AV1 (Figura 4G), com decaimento de  $\hat{y}_{C_i} = 2,078 \mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$  a cada acréscimo de  $0,1 \text{mg kg}^{-1}$  Ni adicionado. Em plantas de soja sob condições de DH na AV2, não houve influência da aplicação de Ni para a  $A$ ,  $g_s$  e  $C_i$  (Figura 4), contudo, foi observado uma forte redução destas variáveis em relação ao controle, de  $12,46 \mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ,  $0,272 \mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e  $205,02 \mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , respectivamente.

Com o avanço do DH para o estado mais severo na AV3, o comportamento das trocas gasosas na soja se manteve semelhante ao observado sob o DH na AV2, embora, tenha se agravado para  $A$  e  $C_i$  (Figura 4C e I). Ao realizar o desdobramento da interação Ni x Condição Hídrica (CH), observou-se um ajuste significativo de regressão para o modelo  $\sqrt{x}$  em relação à  $A$  em plantas sob o DH e para a  $g_s$  em plantas no controle na AV3. Nestas variáveis, houve a tendência de aumento da  $A$  e  $g_s$  até os  $1 \text{mg kg}^{-1}$  Ni em comparação a dose  $0 \text{mg kg}^{-1}$  (-Ni), seguido por queda nas doses superiores.

Na avaliação anterior ao DH (AV1), a adição de doses de Ni modificou a taxa de transpiração ( $E$ ), eficiência do uso da água ( $EUA$ ) e a eficiência da carboxilação ( $EC$ ) (Figura 5). Aplicação de até  $1 \text{mg kg}^{-1}$  Ni incrementou a  $E$  e a  $EUA$  em plantas antes do DH na AV1 (Figura 5 A e D), e manteve o incremento linear para a  $EC$ . Em condições de DH na AV2, os maiores níveis de  $EUA$  e  $EC$  foram encontrados nas doses de  $1,71$  ( $\hat{y} = 9,97$ ) e  $1,09$  ( $\hat{y} = 0,03$ )  $\text{mg kg}^{-1}$  Ni, respectivamente. As máximas estimadas pelos ajustes de regressão para  $E$  e  $EC$  em plantas de soja no controle na AV3 foram de  $\hat{y}_E = 5,537 \text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e  $\hat{y}_{EC} = 0,025 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Figura 5C e I), respectivamente. Esses valores foram obtidos nas doses específicas de  $x_E = 0,31$  e  $x_{EC} = 0,86 \text{mg kg}^{-1}$  Ni, respectivamente. Na condição hídrica ideal (controle) na AV3, a  $EUA$  se relacionou positivamente com as doses de Ni (Figura 5F), com diferença de 41,90% entre a dose de 4 e  $0 \text{mg kg}^{-1}$  Ni.

Figura 5. Efeito da aplicação de Ni na Taxa de transpiração ( $E$ ), Eficiência do uso da água ( $EUA$ ) e Eficiência da carboxilação ( $EC$ ) em plantas de soja no estágio fenológico R2 e após a indução de déficit hídrico.

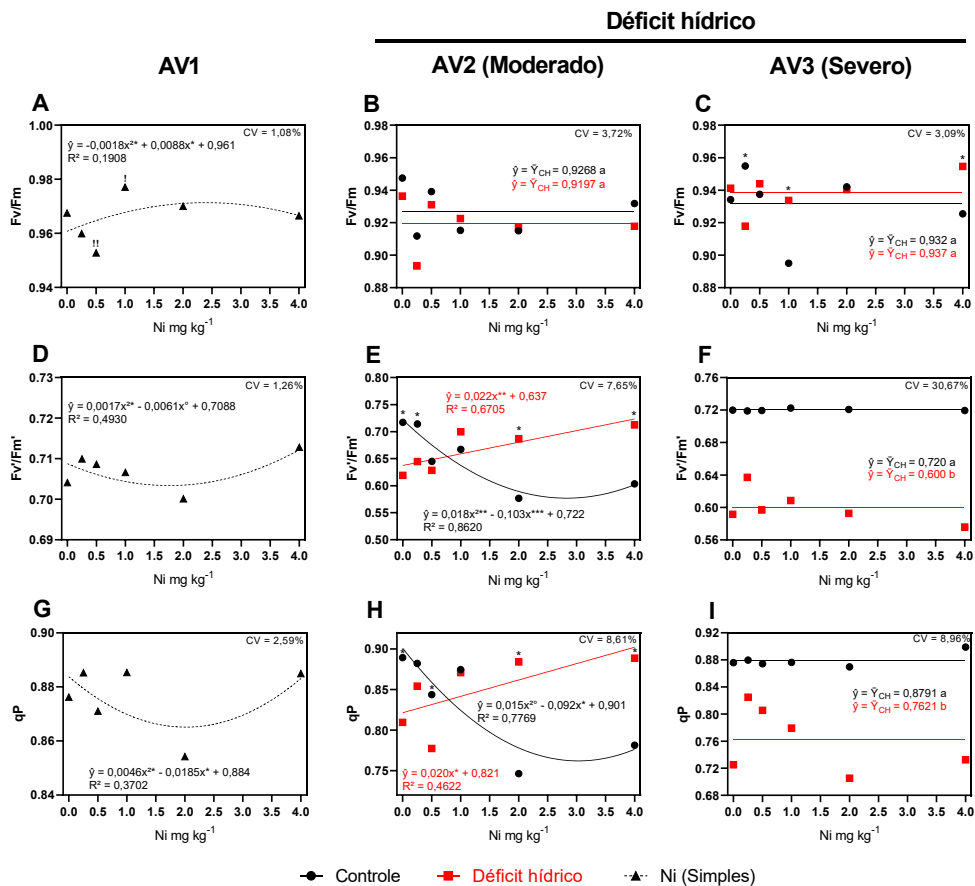


Notas: \*\*\*, \*\*, \*, ° e ns: Significância dos coeficientes de regressão pelo teste de F a p-valor de <0,001, <0,01, <0,05, <0,1 e não significativo, respectivamente. Doses seguidas de <sup>1</sup> foram esteticamente agrupadas em conjunto pelo teste Scott Knott (p<0,1). Pontuações com \* imediatamente em cima indica que houve diferença estatística (p<0,1) entre a condição hídrica imposta. CV: Coeficiente de variação. Moderado e Severo: Equivalente a tensão de água no solo de 600 e 900 kPa, respectivamente. AV1: Avaliação antes do déficit hídrico em estágio R2. AV2: Segunda avaliação ao 8° após o início do déficit hídrico (estádio R3). AV3: Terceira avaliação ao 15° dia após o início do déficit hídrico (Estádio R5.1). Estádio fenológico reprodutivo R2, R3 e R5.1 de acordo com Fehr e Caviness (1977) e Yorinori (1996).  
Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

As plantas sob condição de DH na AV2 apresentaram uma diferença média em relação ao controle de 4,628 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> na  $E$  e de 0,012 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> na  $EC$ , enquanto a  $EUA$  foi 2,48 vezes maior (Figura 5B, E e H). Estas diferenças significativas entre os tratamentos de CH na AV2 se mantiveram com a evolução do DH na AV3. Entretanto, foi verificada uma menor discrepância entre a soja sob condição de DH e o controle na AV3 em comparação as duas condições hídricas na AV2, tanto em relação à  $E$  quanto à  $EUA$  ( $\Delta = 4,275$  mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> e 3,644 mmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O; Figura 5C e 5F). Por outro lado, está menor magnitude na soja sob o DH na AV3 não foi verificada na  $EC$  (Figura 5I).

A resposta da soja adubada com Ni e imposta ao déficit hídrico relacionada as variáveis obtidas pela fluorescência da clorofila *a* também foi investigada (Figuras S1, S2 e S3). Para a máxima eficiência quântica do PSII ( $Fv/Fm$ ), a eficiência de captura de excitação dos centros de reação do PSII abertos ( $Fv'/Fm'$ ) e o coeficiente de extinção fotoquímica ( $qP$ ), foi obtido o ajuste de regressão polinomial de segunda ordem na AV1 (Figura 6D e G). A máxima redução de  $Fv'/Fm'$  ( $\hat{y}_{Fv'/Fm'} = 0,704$ ) e  $qP$  ( $\hat{y}_{qP} = 0,866$ ) ocorreram nas doses de 1,77 e 2,01 mg kg<sup>-1</sup> Ni na soja na AV1, respectivamente, seguido por um leve incremento até a dose de 4 mg kg<sup>-1</sup> Ni. Em contrapartida, houve o aumento de  $Fv/Fm$  na AV1, atingindo o maior nível em 2,44 mg kg<sup>-1</sup> Ni ( $\hat{y}_{Fv/Fm} = 0,972$ ), antes do decaimento após concentrações superiores. Além disso, o maior e o menor valor de  $Fv/Fm$  foi encontrado em 1 e 0,5 mg kg<sup>-1</sup> Ni, respectivamente ( $p < 0,1$ ).

Figura 6. Eficiência de captura de excitação dos centros de reação do PSII abertos ( $Fv'/Fv'$ ), máxima eficiência quântica do PSII ( $Fv/Fm$ ) e coeficiente de extinção fotoquímica ( $qP$ ) das plantas de soja antes e sob déficit hídrico moderado e severo com suplementação de Ni via solo.



Notas: \*\*\*, \*\*, \*, ° e ns: Significância dos coeficientes de regressão pelo teste de F a p-valor de <0,001, <0,01, <0,05, <0,1 e não significativo, respectivamente. Doses seguidas de <sup>1</sup> foram esteticamente agrupadas em conjunto pelo teste Scott Knott ( $p < 0,1$ ). Pontuações com \* imediatamente em cima indica que houve diferença estatística ( $p < 0,1$ ) entre a condição hídrica imposta. CV: Coeficiente de variação.  $Fv/Fm$ : Máxima eficiência quântica do PSII.  $Fv'/Fm'$ : Eficiência de captura de excitação dos centros de reação do PSII abertos.  $qP$ : Coeficiente de extinção fotoquímica. CV: Coeficiente de variação. Moderado e Severo: Equivalente a tensão de água no solo de 600 e 900

kPa, respectivamente. AV1: Avaliação antes do déficit hídrico em estádio R2. AV2: Segunda avaliação ao 8° após o início do déficit hídrico (estádio R3). AV3: Terceira avaliação ao 15° dia após o início do déficit hídrico (Estádio R5.1). Estádio fenológico reprodutivo R2, R3 e R5.1 de acordo com Fehr e Caviness (1977) e Yorinori (1996).  
Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

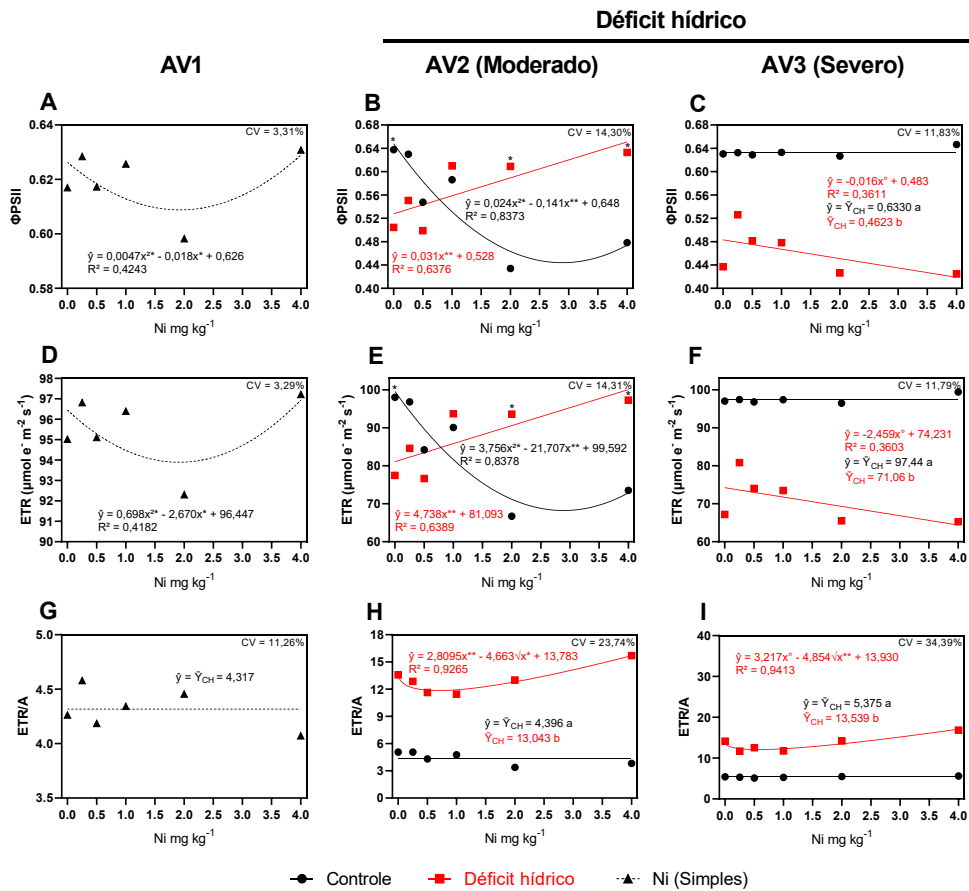
Na AV2, o comportamento de  $Fv'/Fm'$  e  $qP$  se ajustaram aos modelos de regressão polinomial de segunda ordem para plantas no controle e ao ajuste linear em plantas sob o DH (Figura 6E e H). De modo geral, doses  $>1 \text{ mg kg}^{-1}$  de Ni ampliaram as diferenças entre as duas CH impostas na AV2, com a soja sob condição de DH que recebeu as doses de 2 e  $4 \text{ mg kg}^{-1}$  apresentando a eficiência do fotossistema II superior ao controle.

As diferenças em  $Fv'/Fm'$  e  $qP$  foram influenciadas apenas pela CH na AV3 (Figura 6F e I), com  $Fv'/Fm'$  e  $qP$  das plantas sob o DH sendo inferiores àquelas plantas controles. No caso de  $Fv/Fm$ , não foram observadas variação expressiva entre as CH impostas na AV2 (Figura 6). Entretanto, se observou que na soja sob o DH na AV3, a aplicação de doses de 1 e  $4 \text{ mg kg}^{-1}$  Ni resultou em um aumento da  $Fv/Fm$ , enquanto a dose de  $0,25 \text{ mg kg}^{-1}$  Ni causou um declínio desta variável em comparação ao controle e as demais doses de Ni (Figura 6C).

A adição de doses de Ni ao solo influenciaram na taxa de transporte de elétrons ( $ETR$ ) e no rendimento quântico real do transporte de elétrons ( $\Phi_{PSII}$ ) na AV1, mas não alterou a razão entre a  $ETR/A$  (Figura 7A, D e C). Para ambas as variáveis  $ETR$  e  $\Phi_{PSII}$ , o ajuste de regressão quadrático foi significativo na AV1. Tanto para  $ETR$  quanto  $\Phi_{PSII}$  a máxima redução ocorreu próximo aos  $1,91 \text{ mg kg}^{-1}$  Ni, os quais foram estimados em  $\hat{y}_{ETR} = 93,89 \mu\text{mol e}^- \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  e  $\hat{y}_{\Phi_{PSII}} = 0,609$ , respectivamente. A relação  $ETR/A$  ficou em média 4,317 em plantas de soja na AV1 (Figura 7C).

A interação CH x Ni foi significativa para a  $\Phi_{PSII}$  e  $ETR$  na AV2, com as plantas sob o DH se ajustando ao modelo de regressão linear, enquanto, a soja no controle se ajustou ao modelo polinomial quadrático (Figura 7B e E). A adição de doses de Ni reduziu a  $ETR$  e  $\Phi_{PSII}$  em plantas de soja no controle na AV2, atingindo a máxima redução de  $\hat{y}_{ETR} = 68,23 \mu\text{mol e}^- \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  e  $\hat{y}_{\Phi_{PSII}} = 0,441$ , em concentrações de 2,89 e  $2,94 \text{ mg kg}^{-1}$  Ni, respectivamente. O DH na soja na AV2 incrementou proporcionalmente a  $ETR$  e  $\Phi_{PSII}$  a partir da aplicação das doses de Ni. Além disso, doses de 2 e  $4 \text{ mg kg}^{-1}$  Ni implicaram em  $ETR$  e  $\Phi_{PSII}$  superiores ao controle na AV2. A relação  $ETR/A$  foi ajustada ao modelo  $\sqrt{x}$  na soja sob o DH na AV2 (Figura 7H). Por outro lado,  $ETR/A$  da soja no controle na AV2 não foi alterada pelas doses de Ni.

Figura 7. Efeito do Ni e do déficit hídrico na eficiência do rendimento quântico real do transporte de elétrons ( $\Phi PSII$ ), taxa de transporte de elétrons ( $ETR$ ) e razão  $ETR/A$ .



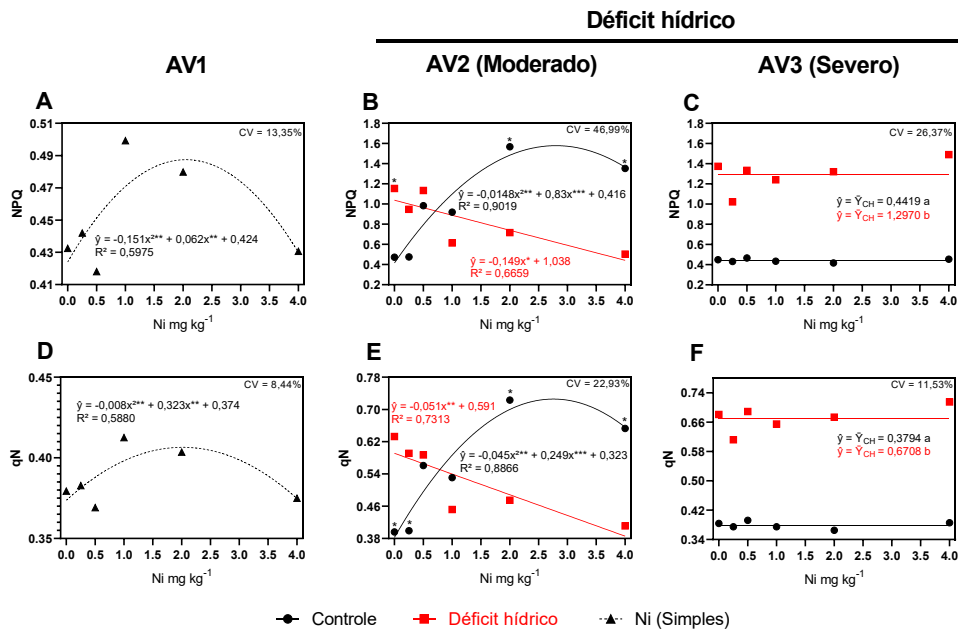
Notas: \*\*\*, \*\*, \*, ° e ns: Significância dos coeficientes de regressão pelo teste de F a p-valor de <0,001, <0,01, <0,05, <0,1 e não significativo, respectivamente. Doses seguidas de <sup>1</sup> foram esteticamente agrupadas em conjunto pelo teste Scott Knott (p<0,1). Pontuações com \* imediatamente em cima indica que houve diferença estatística (p<0,1) entre a condição hídrica imposta. CV: Coeficiente de variação.  $\Phi PSII$ : Rendimento quântico real do transporte de elétrons.  $ETR$ : Taxa de transporte de elétrons. Moderado e Severo: Equivalente a tensão de água no solo de 600 e 900 kPa, respectivamente. AV1: Avaliação antes do déficit hídrico em estágio R2. AV2: Segunda avaliação ao 8° após o início do déficit hídrico (estádio R3). AV3: Terceira avaliação ao 15° dia após o início do déficit hídrico (Estádio R5.1). Estádio fenológico reprodutivo R2, R3 e R5.1 de acordo com Fehr e Caviness (1977) e Yorinori (1996).

Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

O DH severo na AV3 para as plantas de soja reduziu drasticamente a  $\Phi PSII$  e  $ETR$  em relação as plantas no controle, com a diminuição de aproximadamente 27% (Figura 7C e F). Desdobrando o efeito da interação Ni x CH na AV3, se obteve o ajuste de regressão linear negativo significativo em  $ETR$  e  $\Phi PSII$  em relação as doses de Ni em soja sob o DH (Figura 7C e F). Por outro lado,  $ETR$  e  $\Phi PSII$  das plantas no controle na AV3 não foi influenciada pelas doses de Ni. A relação  $ETR/A$  na AV3 foi alterada apenas na soja sob o DH (Figura 7I), se adequando ao modelo de regressão raiz quadrada. Tal ajuste em  $ETR/A$  indicou um singelo ganho em plantas sob o DH na AV3 nas doses > 2 mg kg<sup>-1</sup> Ni.

O coeficiente de quinona B ( $qN$ ) e o rendimento quântico não fotoquímico ( $NPQ$ ) das plantas de soja na AV1 foram influenciados pelas doses de Ni (Figura 8A e B). Para  $NPQ$  e  $qN$  na AV1, o ajuste de regressão polinomial de ordem dois foi obtido, indicando o aumento máximo de ambos de  $\hat{y}_{NPQ} = 0,487$  e  $\hat{y}_{qN} = 0,407$  nas doses de 2,05 e 2,02  $\text{mg kg}^{-1}$  Ni, respectivamente.

Figura 8. Impacto da aplicação de Ni e do déficit hídrico no rendimento quântico não fotoquímico ( $NPQ$ ) e na eficiência quântica não fotoquímica ou coeficiente de quinona B ( $qN$ ).



Notas: \*\*\*, \*\*, \*, ° e ns: Significância dos coeficientes de regressão pelo teste de F a p-valor de <0,001, <0,01, <0,05, <0,1 e não significativo, respectivamente. Doses seguidas de <sup>1</sup> foram esteticamente agrupadas em conjunto pelo teste Scott Knott ( $p < 0,1$ ). Pontuações com \* imediatamente em cima indica que houve diferença estatística ( $p < 0,1$ ) entre a condição hídrica imposta. CV: Coeficiente de variação. Moderado e Severo: Equivalente a tensão de água no solo de 600 e 900 kPa, respectivamente.  $qN$ : Eficiência quântica não fotoquímica ou coeficiente de quinona B.  $NPQ$ : Rendimento quântico não fotoquímico. CV: AV1: Avaliação antes do déficit hídrico em estágio R2. AV2: Segunda avaliação ao 8° após o início do déficit hídrico (estádio R3). AV3: Terceira avaliação ao 15° dia após o início do déficit hídrico (Estádio R5.1). Estádio fenológico reprodutivo R2, R3 e R5.1 de acordo com Fehr e Caviness (1977) e Yorinori (1996).

Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

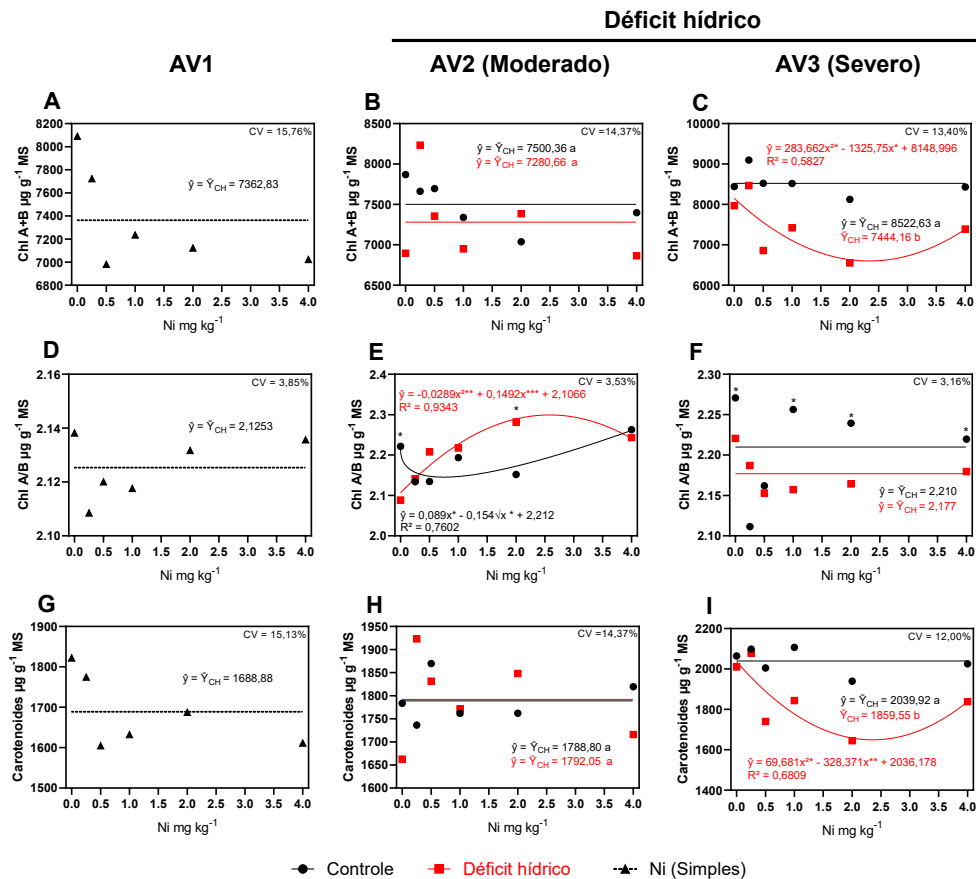
A indução do DH na AV2 resultou no decréscimo linear nas variáveis  $qN$  e  $NPQ$  em plantas de soja, sendo que os níveis de 0, 0,25, 2 e 4  $\text{mg kg}^{-1}$  Ni foram estatisticamente distintos das plantas no controle (Figura 8B e E). O aumento das doses de Ni manteve o incremento de ambas variáveis  $NPQ$  e  $qN$  em plantas no controle na AV2, com o máximo aumento ocorrendo em concentrações de 2,80 e 2,77  $\text{mg kg}^{-1}$  Ni ( $\hat{y}_{NPQ} = 1,58$  e  $\hat{y}_{qN} = 0,67$ ). Na terceira avaliação, apenas a CH foi significativa para o  $NPQ$  e  $qN$ , com as plantas sob DH sendo 2,93 e 1,77 vezes maior que aquelas no controle, respectivamente (Figura 8C e F).

## 3.2 Metabolismo primário

### 3.2.1 Pigmentos

O resumo da análise de variância dos pigmentos das plantas de soja se encontra na Tabela S5. A clorofila total (Chl *a* + Chl *b*), razão Chl *a/b*, bem como, os carotenoides das plantas de soja não foram alterados significativamente pela aplicação de doses de Ni antes da imposição do DH na AV1 (Figura 12). Foi observado que a razão Chl *a/b* na AV2 (Figura 12C) se adequou ao ajuste de regressão quadrática para as plantas sob o DH, e para o ajuste de raiz quadrada em plantas no controle. A aplicação de Ni implicou no incremento da relação Chl *a/b* na soja sob condição de DH em relação ao controle na AV2, atingindo o máximo de  $\hat{y} = 2,30$  em  $2,58 \text{ mg kg}^{-1}$  Ni. Na soja sob o DH na AV3, houve reduções significativas com a aplicação de Ni, com o teor de Chl *a* + *b* e carotenoides sendo 1,15 e 1,09 vezes menor que as plantas no controle, respectivamente (Figura 12C e F).

Figura 1. Teores de clorofila *a* + *b*, razão entre a clorofila *a/b* e os carotenoides das plantas de soja adubadas com Ni e submetidas ao déficit hídrico.



Notas: \*\*\*, \*\*, \*, ° e <sup>ns</sup>: Significância dos coeficientes de regressão pelo teste de F a p-valor de <0,001, <0,01, <0,05, <0,1 e não significativo, respectivamente. Doses seguidas de <sup>1</sup> foram esteticamente agrupadas em conjunto

pelo teste Scott Knott ( $p < 0,1$ ). Pontuações com \* imediatamente em cima indica que houve diferença estatística ( $p < 0,1$ ) entre a condição hídrica imposta. CV: Coeficiente de variação. MS: Massa seca. Moderado e Severo: Equivalente a tensão de água no solo de 600 e 900 kPa, respectivamente. Chl  $a + b$ : Clorofila total. Chl  $a/b$ : Razão clorofila total. AV1: Avaliação antes do déficit hídrico em estágio R2. AV2: Segunda avaliação ao 8º após o início do déficit hídrico (estádio R3). AV3: Terceira avaliação ao 15º dia após o início do déficit hídrico (Estádio R5.1). Estádio fenológico reprodutivo R2, R3 e R5.1 de acordo com Fehr e Caviness (1977) e Yorinori (1996).  
Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

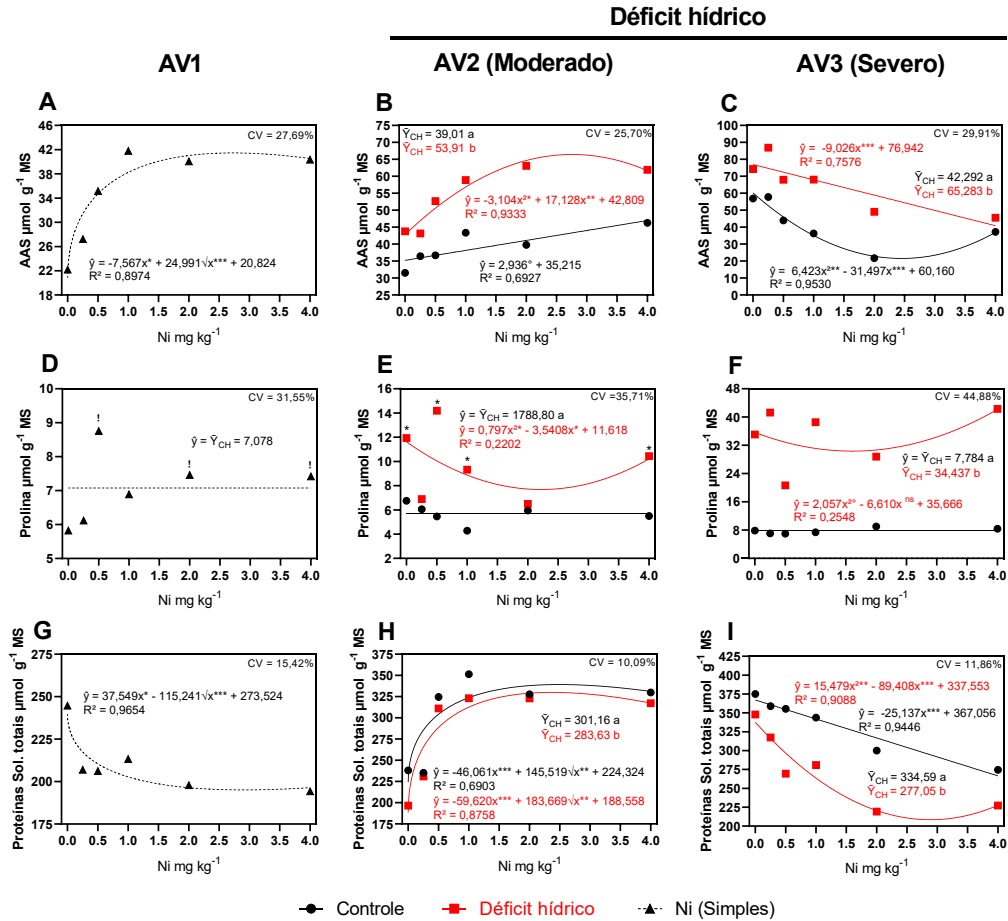
O desdobramento da interação Ni x CH foi estatisticamente significativo para Chl  $a/b$  (Figura 12) na AV3. As plantas no controle na AV3, que receberam as doses de 0, 1, 2 e 4 mg kg<sup>-1</sup> Ni tiveram a razão Chl  $a/b$  maior que a soja em DH. O teor de carotenoides e Chl  $a + b$  se ajustaram ao modelo de regressão quadrático na AV3 (Figura 12F), demonstrando um recuo dos seus níveis destes pigmentos em dose de  $x_{\text{Chl } a + b} = 2,33$  ( $\hat{y} = 6957,96 \mu\text{g g}^{-1} \text{MS}$ ) e  $x_{\text{Carot.}} = 2,36$  ( $\hat{y} = 1649,32 \mu\text{g g}^{-1} \text{MS}$ ) mg kg<sup>-1</sup> Ni.

### 3.2.2 Compostos fenólicos, nitrogenados e ácidos orgânicos

Os teores de aminoácidos solúveis totais (AAS), proteínas solúveis totais (PT), malato, fumarato e fenóis totais (FT) em folha da soja foram verificados (Tabela S6). Os teores de AAS, malato, fumarato e FT tenderam a aumentar na presença de Ni na AV1, com os teores máximos encontrados de  $\hat{y}_{\text{AAS}} = 41,46$ ,  $\hat{y}_{\text{Mal}} = 22,93$ ,  $\hat{y}_{\text{Fum}} = 53,66$  e  $\hat{y}_{\text{FT}} = 19,46 \mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}$  em 2,73, 1,99, 0,7 e 2,2 mg kg<sup>-1</sup> Ni, respectivamente (Figura 13 e 14). A partir deste nível de Ni estimado pelas regressões para os biocompostos anteriores, apenas o fumarato apresentou um declínio acentuado ( $>1 \text{ mg kg}^{-1} \text{Ni}$ ) (Figura 14D). As doses entre 0,25 a 4 mg kg<sup>-1</sup> Ni implicaram em uma redução de teor de PT na AV1 em relação a plantas sem Ni (Figura 13G, atingindo o teor mínimo de  $\hat{y}_{\text{PT}} = 185,1 \mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}$  aos 2,35 mg kg<sup>-1</sup> Ni. Por outro lado, os teores de prolina nas doses de 0,5, 2 e 4 mg kg<sup>-1</sup> Ni foram estatisticamente superiores às demais doses.

Na AV2, com exceção nos teores de AAS, prolina e FT nas plantas no controle, e FT no DH, verificou-se um ajuste com modelo de regressão curvilíneo para os demais biocompostos (Figura 13B e E). Houve o aumento nos teores de AAS e a redução dos níveis de prolina na AV2 em plantas sob DH, com as derivadas dos polinômios indicando a concentração máxima de  $\hat{y}_{\text{AAS}} = 66,44 \mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}$  e mínima de  $\hat{y}_{\text{Prolina}} = 7,69 \mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}$  aos de 2,76 e 2,22 mg kg<sup>-1</sup> Ni, respectivamente. Apenas a aplicação de 0,25 e 2 mg kg<sup>-1</sup> Ni em plantas sob o DH manteve os teores de prolina semelhantes aos observados no controle na AV2. Além disso, houve o aumento linear positivo de AAS na soja no controle na AV2, em cerca de 1,19  $\mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}$  a cada acréscimo de 0,5 mg kg<sup>-1</sup> Ni (Figura B). Nos teores de FT, não houve diferenças estatísticas para as doses de Ni ou CH imposta na AV2 (Figura 14H).

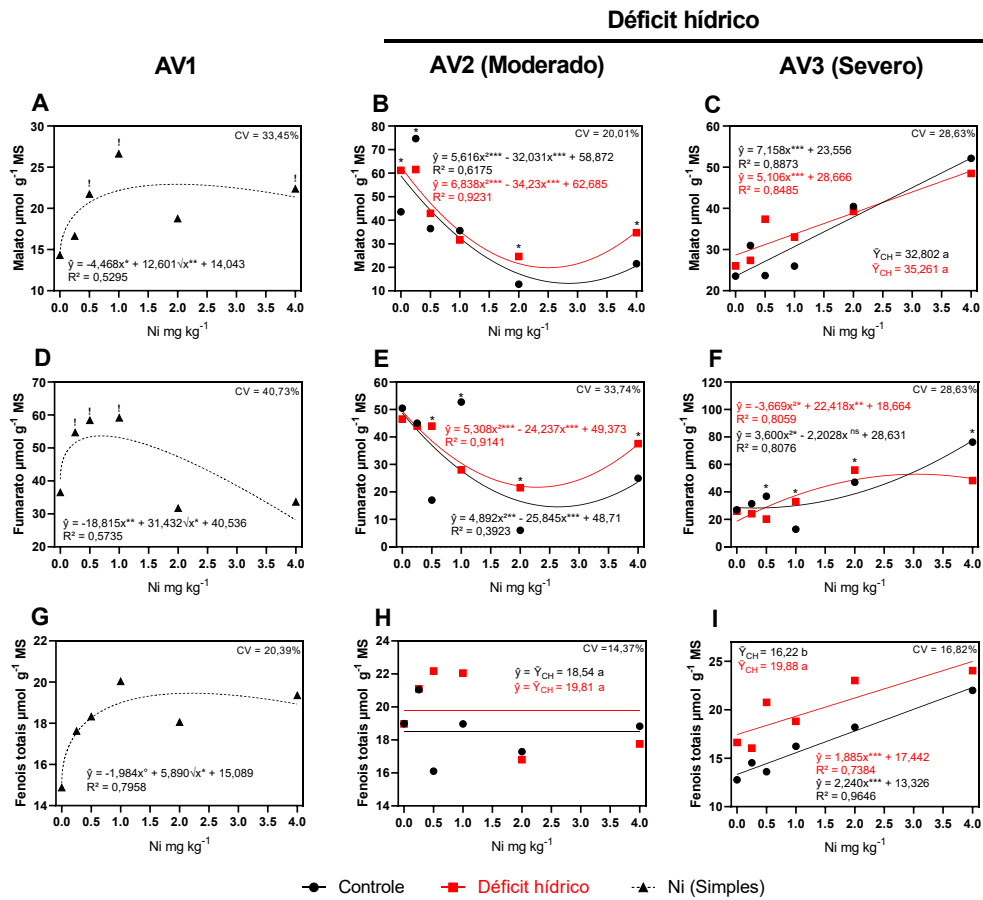
Figura 13. Modificações no teor de aminoácidos solúveis totais (AAS), prolina e proteínas solúveis totais (PT) em plantas de soja adubadas com doses crescentes de Ni e submetidas ao déficit hídrico.



Notas: \*\*\*, \*\*, \*, ° e ns: Significância dos coeficientes de regressão pelo teste de F a p-valor de <0,001, <0,01, <0,05, <0,1 e não significativo, respectivamente. Doses seguidas de <sup>1</sup> foram esteticamente agrupadas em conjunto pelo teste Scott Knott (p<0,1). Pontuações com \* imediatamente em cima indica que houve diferença estatística (p<0,1) entre a condição hídrica imposta. CV: Coeficiente de variação. Moderado e Severo: Equivalente a tensão de água no solo de 600 e 900 kPa, respectivamente. AAS: Aminoácidos totais. AV1: Avaliação antes do déficit hídrico em estágio R2. AV2: Segunda avaliação ao 8° após o início do déficit hídrico (estádio R3). AV3: Terceira avaliação ao 15° dia após o início do déficit hídrico (Estádio R5.1). Estádio fenológico reprodutivo R2, R3 e R5.1 de acordo com Fehr e Caviness (1977) e Yorinori (1996).  
Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

O teor de PT e as plantas sob condição de DH foram inferiores ao controle (Figura 13). No entanto, o teor máximo de PT em ambas as CH na AV2 foi, em média,  $\hat{y}_{PT} = 334,5 \mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}$  na dose de  $2,44 \text{ mg kg}^{-1} \text{Ni}$ . O incremento da aplicação de Ni reduziu os teores de malato e fumarato na AV2 (Figura 14B e E), sobretudo, em plantas no controle. Doses entre  $x_{\text{Mal.}} = 2,50$  e  $2,85 \text{ mg kg}^{-1}$  para o malato e  $x_{\text{Fum.}} = 2,28$  e  $2,64 \text{ mg kg}^{-1} \text{Ni}$  para o fumarato coincidiram com os menores teores destes biocompostos na folha da soja na AV2. No entanto, as doses 2 e  $4 \text{ mg kg}^{-1}$  de Ni em plantas sob o DH na AV2 resultaram em níveis de malato e fumarato superiores aos observados no controle.

Figura 14. Teor de malato, fumarato e fenóis totais (FT) em plantas de soja antes e durante o déficit hídrico adubadas com Ni antes do plantio.



Notas: \*\*\*, \*\*, \*, ° e ns: Significância dos coeficientes de regressão pelo teste de F a p-valor de <0,001, <0,01, <0,05, <0,1 e não significativo, respectivamente. Doses seguidas de <sup>1</sup> foram esteticamente agrupadas em conjunto pelo teste Scott Knott (p<0,1). Pontuações com \* imediatamente em cima indica que houve diferença estatística (p<0,1) entre a condição hídrica imposta. CV: Coeficiente de variação. MS: Massa seca. Moderado e Severo: Equivalente a tensão de água no solo de 600 e 900 kPa, respectivamente. AV1: Avaliação antes do déficit hídrico em estágio R2. AV2: Segunda avaliação ao 8° após o início do déficit hídrico (estádio R3). AV3: Terceira avaliação ao 15° dia após o início do déficit hídrico (Estádio R5.1). Estádio fenológico reprodutivo R2, R3 e R5.1 de acordo com Fehr e Caviness (1977) e Yorinori (1996).

Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

Na AV3, se notou o aumento significativo nos teores de AAS e a redução de PT em plantas sob o DH em comparação ao controle (Figura 13C e I). Além disso, os teores de prolina na AV3 em DH quase triplicaram em relação a AV2 (Figura 13D e E). Foi observado uma redução nos níveis de AAS na soja no controle na AV3, a qual foi ajustada ao modelo de regressão polinomial quadrática, indicando o teor mínimo de  $\hat{y}_{AAS} = 21,54 \mu\text{mol g}^{-1}$  MS aos 2,45  $\text{mg kg}^{-1}$  Ni. Os níveis de PT declinaram linearmente na AV3 no controle, contudo, o teor de prolina destas plantas não foi afetado pelas doses de Ni (Figura 13B e E).

Ocorreu o aumento linear nos teores de malato e FT em relação as doses de Ni independentemente a CH imposta (Figura 14C) na AV3, entretanto, os níveis de FT em plantas em DH foram superiores ao controle (Figura 14I). Além disso, verificou-se o aumento

expressivo no teor de fumarato em plantas sob o DH na AV3 nas doses de 1, 2 e 4 mg kg<sup>-1</sup> de Ni e a redução nas doses de 0,25 e 4 mg kg<sup>-1</sup> Ni em comparação ao controle. Com base no polinômio da regressão do teor de fumarato na AV3, se observou a formação de parábolas inversas entre as CH, sendo que as doses entre  $x_{\text{Fum.}} = 0,6$  e 2,9 mg kg<sup>-1</sup> Ni sob o DH mantiveram os níveis de fumarato na folha mais elevados que no controle (Figura 14F).

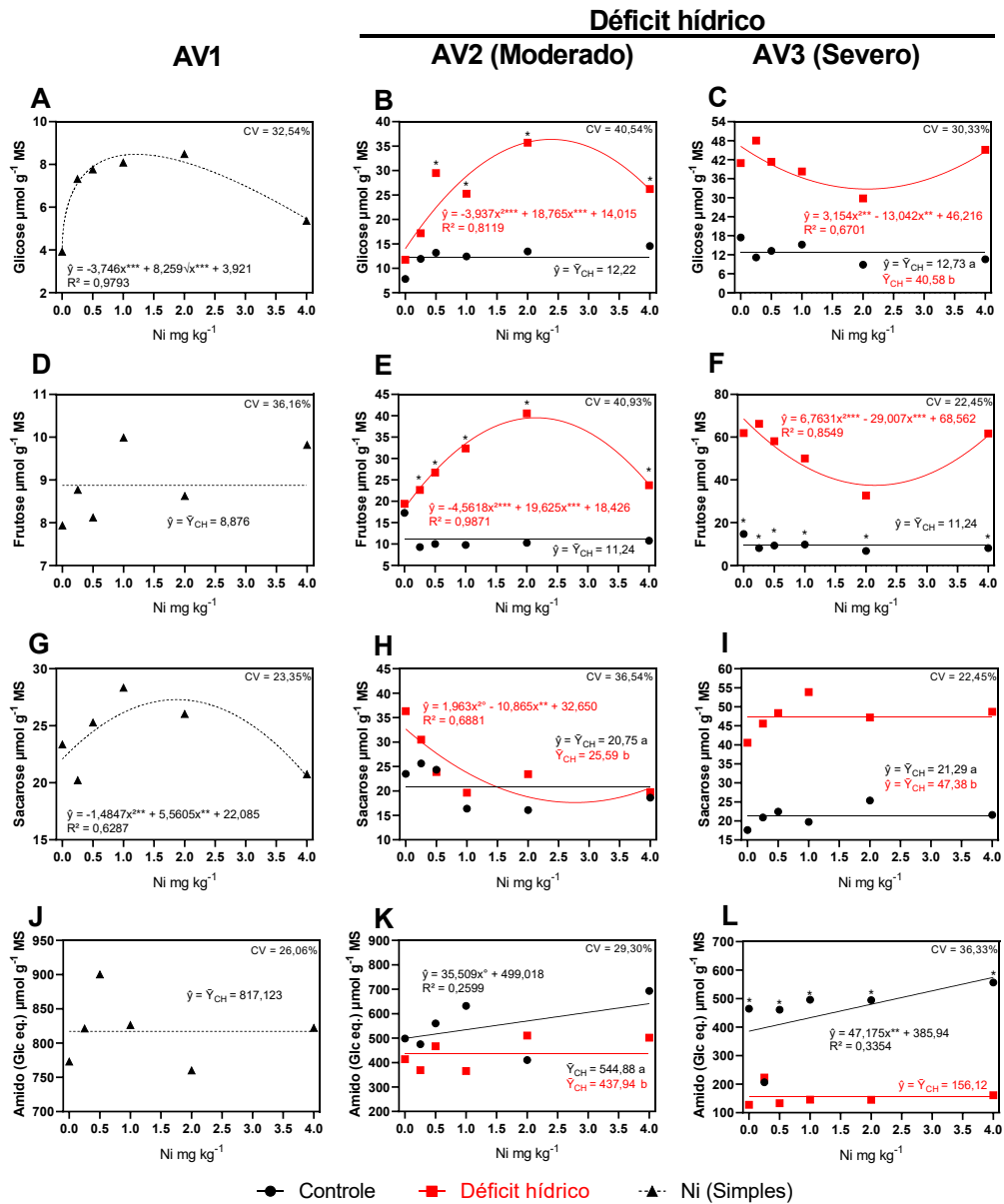
### 3.2.3 Glicose, frutose, sacarose e amido

Foi observado influência do Ni quanto aos teores de glicose, frutose, sacarose e amido ao longo do DH (Tabela S7). Os teores de glicose e sacarose antes do DH (AV1) nos folíolos da soja foram influenciados pelas doses de Ni, os quais foram ajustados os modelos de regressão  $\sqrt{x}$  e polinomial de segunda ordem, respectivamente (Figura 15A e G). O teor máximo de glicose e sacarose obtido da derivada do polinômio na AV1 foi estimado em  $\hat{y}_{\text{Glc}} = 8,47$  e  $\hat{y}_{\text{Sac}} = 27,29 \mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}$  aos 1,22 e 1,87 mg kg<sup>-1</sup> Ni, respectivamente. A partir destes valores, ocorreu o decaimento de glicose e sacarose na AV1. Os níveis de frutose e amido na folha não foi alterado na AV1 quanto as doses de Ni, mantendo em média 8,876 e 817,123  $\mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}$  (Figura 15D e J).

O acúmulo de glicose e frutose foi estimulado em plantas de soja sob o DH na AV2, sendo estas de 3 a 4 vezes maior que as plantas no controle (Figura 15B e E). O teor máximo de glicose foi de  $\hat{y}_{\text{Glc}} = 36,38 \mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}$  e de frutose de  $\hat{y}_{\text{Fru}} = 39,53 \mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}$  nas doses de 2,38 e 2,15 mg kg<sup>-1</sup> Ni, respectivamente. A sacarose se manteve em níveis mais altos nas plantas sob DH quando comparado àquelas no controle na AV2 (Figura 15H). Por meio do ajuste de regressão quadrático do teor de sacarose sob o DH na AV2, observou-se que os maiores níveis de sacarose ocorreram entre 0 ou 0,25 mg kg<sup>-1</sup> Ni. O amido presente na folha da soja foi afetado pela CH imposta (Figura 15K) na AV2. O grupo controle apresentou um ajuste linear positivo no teor de amido, mantendo-se em sua média, superior à soja sob DH na AV2.

Com exceção do teor de amido, os teores de glicose, frutose e sacarose nos folíolos da soja sob condição de DH foram estatisticamente superiores ao controle na AV3 (Figura 15). Por outro lado, os teores dos açúcares livres de plantas sob o DH na AV3 se comportaram opostamente quando comparados aquelas na AV2. O decaimento máximo nos teores de glicose ocorreu aos 2,06 mg kg<sup>-1</sup> Ni ( $\hat{y}_{\text{Glc}} = 32,13 \mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}$ ) e da frutose em 2,14 mg kg<sup>-1</sup> Ni ( $\hat{y}_{\text{Fru}} = 37,46 \mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}$ ) para plantas sob o DH na AV3 (Figura 15C e F), enquanto a sacarose aumentou 2,2 vezes em relação ao controle (Figura 15I).

Figura 15. Teores de glicose, frutose e sacarose em plantas de soja antes e após o déficit hídrico que foram cultivadas em solo adubado com doses crescentes de Ni antes do plantio.



Notas: \*\*\*, \*\*, \*, ° e ns: Significância dos coeficientes de regressão pelo teste de F a p-valor de <0,001, <0,01, <0,05, <0,1 e não significativo, respectivamente. Doses seguidas de <sup>1</sup> foram esteticamente agrupadas em conjunto pelo teste Scott Knott (p<0,1). Pontuações com \* imediatamente em cima indica que houve diferença estatística (p<0,1) entre a condição hídrica imposta. CV: Coeficiente de variação. MS: Massa seca. Moderado e Severo: Equivalente a tensão de água no solo de 600 e 900 kPa, respectivamente. AV1: Avaliação antes do déficit hídrico em estágio R2. AV2: Segunda avaliação ao 8<sup>o</sup> após o início do déficit hídrico (estádio R3). AV3: Terceira avaliação ao 15<sup>o</sup> dia após o início do déficit hídrico (Estádio R5.1). Estádio fenológico reprodutivo R2, R3 e R5.1 de acordo com Fehr e Caviness (1977) e Yorinori (1996).

Fonte: Elaborado peço Autor (2024)

A aplicação de Ni no solo implicou em incrementos proporcionais à dose aplicada para os níveis de amido em plantas no controle na AV3 (Figura 15L), atingindo em 4 mg kg<sup>-1</sup> Ni cerca de  $\hat{y}_{\text{Amido}} = 574,67 \mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}$ . Em contrapartida, o teor de amido na folha não foi alterado

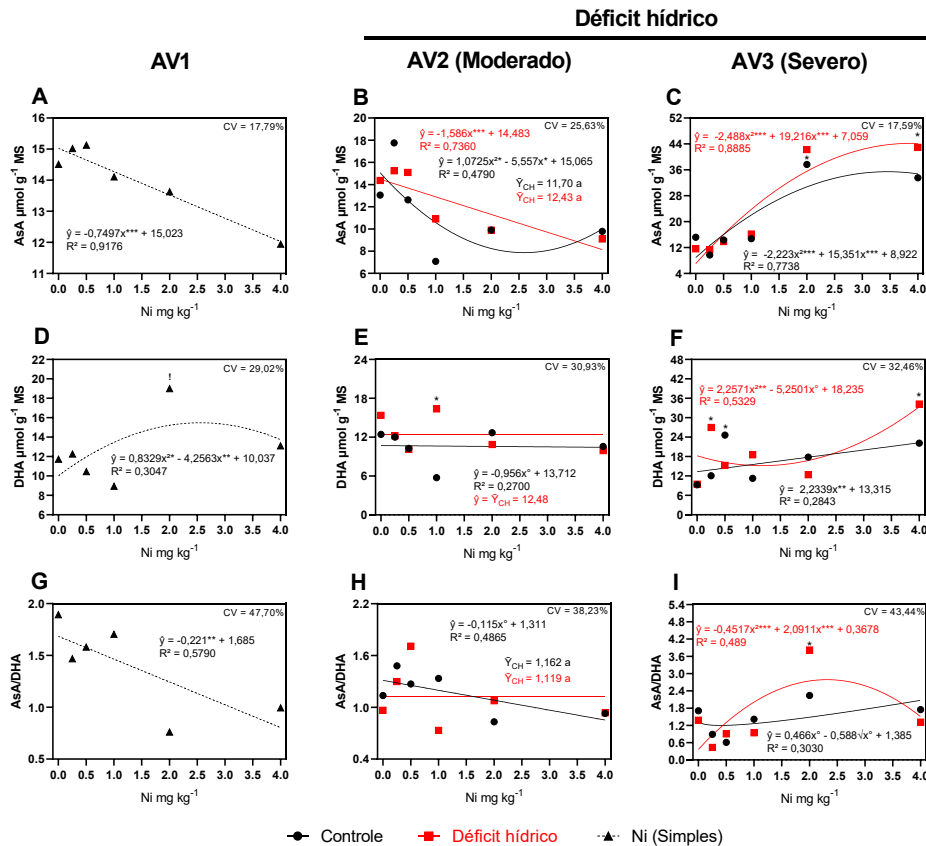
a partir da aplicação de Ni em plantas sob o DH na AV3. No entanto, a média geral do fator Ni foi 3,5 vezes menor que os níveis de amido encontrados nas plantas no controle.

### 3.3 Ascorbato, dehidroascorbato e indicadores de dano celular

#### 3.3.1 Ciclo do ácido ascórbico e dano de membrana celular

Os teores de ascorbato (AsA) decaíram linearmente com a aplicação de Ni no solo antes do DH na AV1, com a redução de 2,999  $\mu\text{mol g}^{-1}$  MS entre a dose 0 e 4  $\text{mg kg}^{-1}$  (Figura 16A). Para o dehidroascorbato (DHA) na AV1, observou-se o ajuste de regressão polinomial de segundo grau, indicando o máximo nos teores DHA de  $\hat{y}_{\text{DHA}} = 15,48 \mu\text{mol g}^{-1}$  MS aos 2,56  $\text{mg kg}^{-1}$  de Ni (Figura 16D). Além disso, a dose de 2  $\text{mg kg}^{-1}$  de Ni aumentou significativamente o teor de DHA, que foi em média, 1,69 vezes maior que as demais doses.

Figura 16. Concentração de ácido ascórbico (AsA), dehidroascorbato (DHA) e o extravasamento de eletrólitos no folíolo da soja adubada com Ni e submetida ao déficit hídrico.

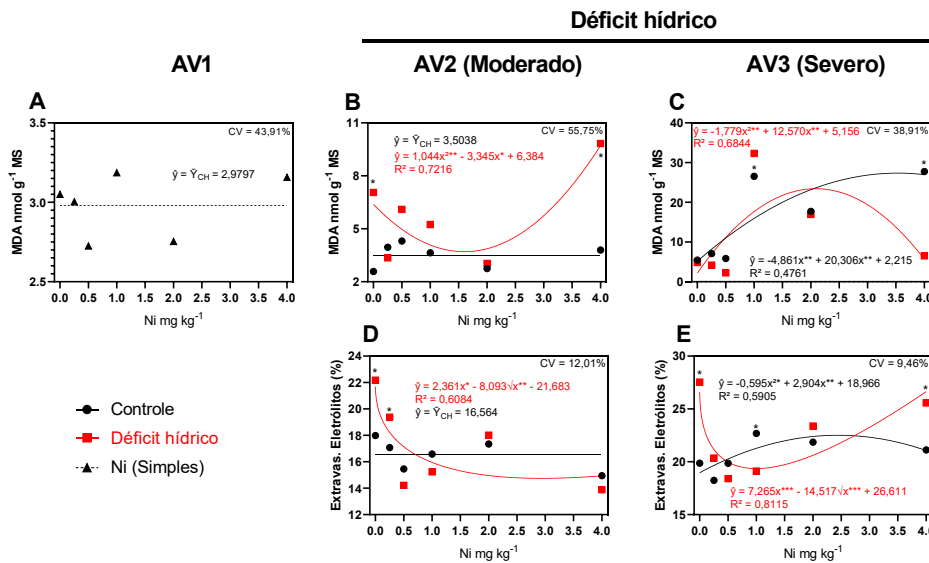


Notas: \*\*\*, \*\*, \*, ° e ns: Significância dos coeficientes de regressão pelo teste de F a p-valor de <0,001, <0,01, <0,05, <0,1 e não significativo, respectivamente. Doses seguidas de <sup>1</sup> foram esteticamente agrupadas em conjunto pelo teste Scott Knott (p<0,1). Pontuações com \* imediatamente em cima indica que houve diferença estatística (p<0,1) entre a condição hídrica imposta. CV: Coeficiente de variação. MS: Massa seca. AsA: Ascorbato. DHA: Dehidroascorbato. Moderado e Severo: Equivalente a tensão de água no solo de 600 e 900 kPa, respectivamente.

AV1: Avaliação antes do déficit hídrico em estágio R2. AV2: Segunda avaliação ao 8º após o início do déficit hídrico (estádio R3). AV3: Terceira avaliação ao 15º dia após o início do déficit hídrico (Estádio R5.1). Estádio fenológico reprodutivo R2, R3 e R5.1 de acordo com Fehr e Caviness (1977) e Yorinori (1996).  
Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

Analisando a relação entre AsA/DHA, verificou-se que o incremento das doses de Ni reduziu linearmente esse balanço na AV1 (Figura 16G). No caso do aldeído malônico (MDA) nos folíolos da soja na AV1, não houve diferenças expressivas em relação as doses de Ni (Figura 17A). Não foram encontradas diferenças entre as CH para o AsA e AsA/DHA em plantas sob o DH na AV2 (Figura 16B e H). No entanto, após o desdobramento da interação Ni x CH, foram encontrados ajustes lineares e quadráticos significantes nas plantas no controle e sob DH na AV2. A partir dos ajustes de regressão, se estimou uma diminuição de  $\hat{y}_{AsA} = 0,793 \mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}$  a cada acréscimo de  $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$  Ni nos teores de AsA em plantas sob o DH na AV2. No controle, observou-se uma redução máxima dos teores de AsA, de  $\hat{y}_{AsA} = 7,87 \mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}$  aos  $2,59 \text{ mg kg}^{-1}$  Ni (Figura 16B).

Figura 17. Malondialdeído e extravasamento de eletrólitos em plantas de soja fertilizadas com doses crescentes de Ni e submetidas ao déficit hídrico na fase reprodutiva.



Notas: \*\*\*, \*\*, \*, ° e ns: Significância dos coeficientes de regressão pelo teste de F a p-valor de <0,001, <0,01, <0,05, <0,1 e não significativo, respectivamente. Doses seguidas de <sup>1</sup> foram esteticamente agrupadas em conjunto pelo teste Scott Knott (p<0,1). Pontuações com \* imediatamente em cima indica que houve diferença estatística (p<0,1) entre a condição hídrica imposta. CV: Coeficiente de variação. Moderado e Severo: Equivalente a tensão de água no solo de 600 e 900 kPa, respectivamente. MDA: Aldeído malônico. AV1: Avaliação antes do déficit hídrico em estágio R2. AV2: Segunda avaliação ao 8º após o início do déficit hídrico (estádio R3). AV3: Terceira avaliação ao 15º dia após o início do déficit hídrico (Estádio R5.1). Estádio fenológico reprodutivo R2, R3 e R5.1 de acordo com Fehr e Caviness (1977) e Yorinori (1996).  
Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

Apenas a dose de  $1 \text{ mg kg}^{-1}$  Ni implicou em alterações expressivas no teor de DHA na AV2, com as plantas sob DH atingindo os valores mais elevados que as plantas controles

(Figura 16E). Os níveis de MDA nas plantas sob DH na AV2 nas doses de 0 e 4 mg kg<sup>-1</sup> Ni foram estatisticamente superiores ao controle. Entretanto, a aplicação estimada de 1,6 mg kg<sup>-1</sup> Ni ( $\hat{y}_{MDA} = 3,7$  nmol g<sup>-1</sup> MS) reduziu o MDA na soja sob DH (Figura 17B).

A interação entre as doses de Ni e a CH imposta as plantas exerceram um impacto significativo nos teores de AsA, DHA e MDA na AV3 (Figura 16 e 17). Os teores de AsA demonstraram um aumento significativo na AV3, com os ajustes de regressão quadrático indicando um máximo acúmulo em doses entre 3,4 e 3,8 mg kg<sup>-1</sup> Ni (Figura 16C). Por outro lado, verificou-se que a dose estimada de 1,16 mg kg<sup>-1</sup> Ni diminuiu os níveis de DHA na soja sob condição de DH na AV3 em relação a 0,25 e 4 mg kg<sup>-1</sup> Ni (Figura 16F). Dentre as CH na AV3, nas plantas sob DH que receberam doses de 2 e 4 mg kg<sup>-1</sup> Ni incrementaram os teores de AsA. Enquanto, nas plantas no controle na AV3, apenas a dose de 0,5 mg kg<sup>-1</sup> Ni apresentou os teores de DHA maiores que a soja em condição de DH.

O ajuste de regressão polinomial quadrático em plantas sob ambas CH na AV3. Esses ajustes revelaram teores máximos de MDA próximos entre as duas CH, de  $\hat{y}_{MDA} = 27,36$  nmol g<sup>-1</sup> MS no DH aos 3,53 mg kg<sup>-1</sup> Ni e  $\hat{y}_{MDA} = 23,42$  nmol g<sup>-1</sup> MS no controle em 2,08 mg kg<sup>-1</sup> Ni (Figura 17C). Os mais altos valores de MDA ocorreram em plantas sob DH na dose de 1 e 2 mg kg<sup>-1</sup> Ni, com as demais doses se mantendo estatisticamente iguais ao controle. Além disso, foi observado que o acúmulo de MDA no controle na AV3 seguiu com incrementos com o aumento das doses de Ni até a dose máxima aplicada ( $p < 0,05$ ).

Em ambos os momentos de avaliação do déficit hídrico (AV2 e AV3), a adição das doses de Ni resultou em redução do extravasamento de eletrólitos (EE) nas plantas de soja (Figura 17D e E). Doses de 0 e 0,25 mg kg<sup>-1</sup> Ni na soja sob condição de DH na AV2 e 0 e 4 mg kg<sup>-1</sup> Ni sob o DH na AV3 resultou em níveis do EE superiores ao controle. A aplicação de 2,44 mg kg<sup>-1</sup> Ni no controle na AV3, considerando o ajuste de regressão quadrática, implicou no máximo EE de  $\hat{y}_{EE} = 22,51\%$ . Para a soja sob DH em AV2 e AV3, foi realizado o ajuste de regressão raiz quadrada (Figura 17). Baseando nos modelos estabelecidos, as doses de 2,94 e 1 mg kg<sup>-1</sup> Ni implicariam em um menor EE plantas sob o DH, de  $\hat{y}_{EE} = 14,75$  na AV2 e  $\hat{y}_{EE} = 19,36\%$  em AV3, respectivamente.

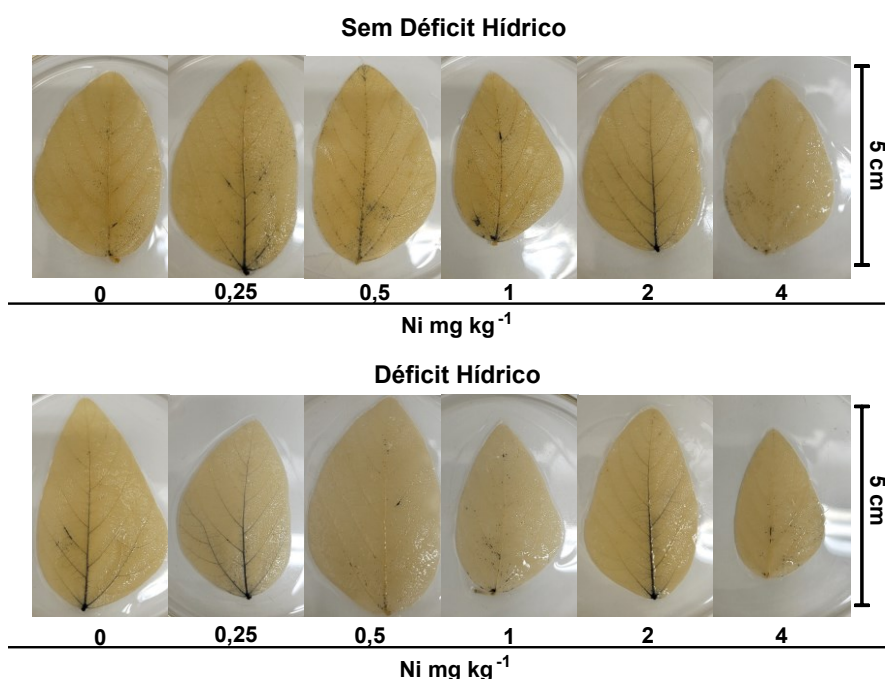
### 3.3.2 Análise histoquímica: presença de O<sub>2</sub><sup>-</sup> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> no folíolo da soja

Os níveis de O<sub>2</sub><sup>-</sup> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foram obtidos no folíolo da soja na AV3 ao final do estudo, utilizando-se coloração de tecido vegetal com nitro blue tetrazolium (NBT) e 3,3-diaminobenzidine (DAB). A intensidade da cor e a distribuição espacial das manchas em azul e marrom coincidem com a presença de O<sub>2</sub><sup>-</sup> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, respectivamente (Figura 18 e 19). Os níveis

de  $O_2^-$  no controle, com exceção da dose de  $4 \text{ mg kg}^{-1}$ , foram aumentados após a aplicação de (Figura 18). Em plantas de soja que receberam  $0,25$  e  $2 \text{ mg kg}^{-1}$  Ni, verificou-se uma concentração do  $O_2^-$  próximo à nervura central, enquanto nas demais doses, houve a distribuição desse composto ao longo do limbo foliar. Aparentemente, o aspecto visual dos folíolos da soja corados com NBT demonstrou uma presença semelhante de  $O_2^-$  entre as doses de  $0,25$  e  $2 \text{ mg kg}^{-1}$  Ni no controle.

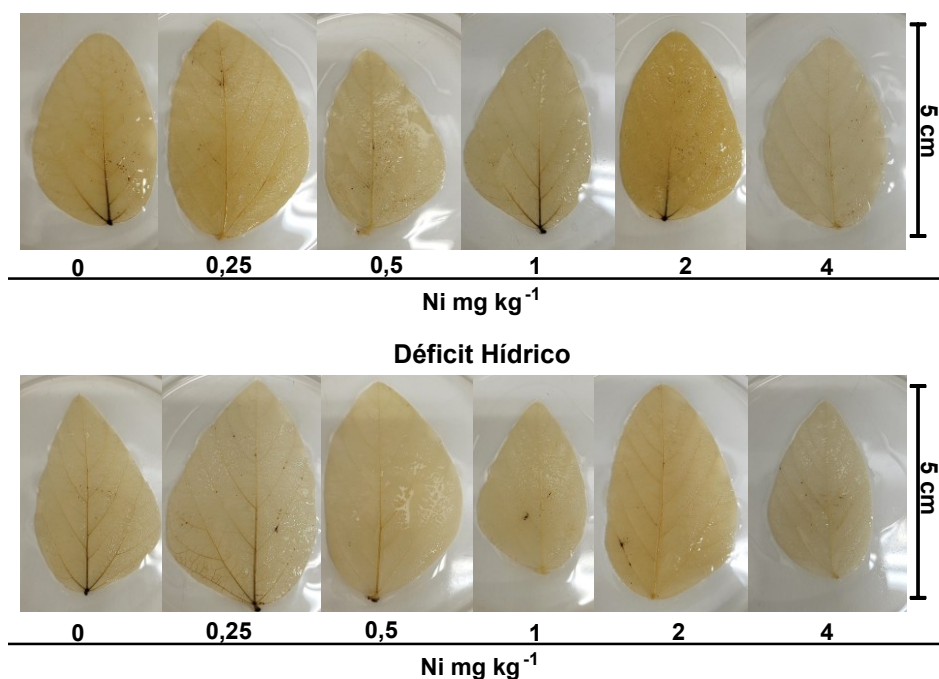
Ao final do DH na AV3, revelou uma diminuição significativa na presença visual de  $O_2^-$  nos folíolos da soja em solo foi adubado com as doses de  $0,5$ ,  $1$  e  $4 \text{ mg kg}^{-1}$  Ni, quando em comparação a dose de  $0 \text{ mg kg}^{-1}$  Ni (Figura 18). As concentrações de  $0,25$  e  $2 \text{ mg kg}^{-1}$  Ni, novamente, apresentaram com maior intensidade  $O_2^-$  entorno da nervura central e secundária, de forma semelhante às plantas que não receberam Ni. Por outro lado, o limbo foliar foi o menos corado, indicando menor presença de  $O_2^-$ . No que diz respeito ao acúmulo  $H_2O_2$  nas plantas no controle na AV3 (Figura 19), a coloração com DAB nos folíolos da soja foi mais intensa nas doses de  $0$ ,  $1$  e  $2 \text{ mg kg}^{-1}$  Ni. Entre as doses de  $0,5$  e  $4 \text{ mg kg}^{-1}$  de Ni, o acúmulo de  $H_2O_2$  nos folíolos da soja após o DH foi menos visível em comparação com as plantas que não receberam adubação de Ni e ao grupo controle.

Figura 18. Presença de  $O_2^-$  determinado com nitro blue tetrazolium (NBT) em folíolos de soja adubada com Ni ao décimo quinto dia após o início do déficit hídrico.



Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

Figura 19. Efeito da aplicação de Ni no plantio na soja na presença de  $\text{H}_2\text{O}_2$  determinado por diaminobenzidina (DAB) após quinze dias de déficit hídrico.



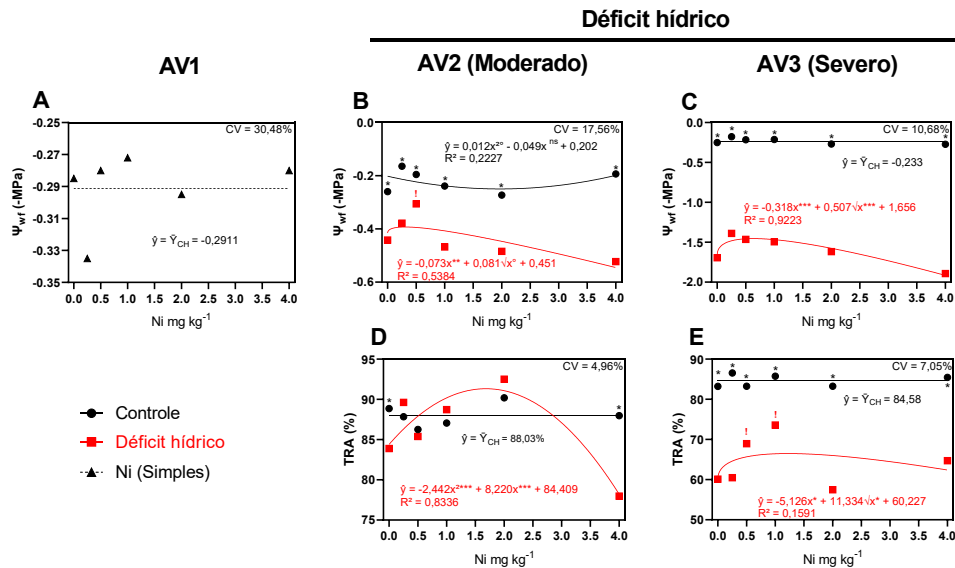
Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

Em comparação ao  $\text{O}_2^-$ , o  $\text{H}_2\text{O}_2$  também foi mais proeminente nas nervuras dos folíolos da soja, sobretudo em baixas doses de Ni, com a sua intensidade se reduzindo na dose de 0,5 mg kg<sup>-1</sup> Ni e praticamente desaparecendo em doses superiores. Com base na análise visual e qualitativa (Figura 18 e 19), as plantas de soja sob o DH tiveram menor incidência de  $\text{O}_2^-$  com a adubação com 0,5, 1 e 4 mg kg<sup>-1</sup> Ni e de  $\text{H}_2\text{O}_2$  entre 0,5 e 4 mg kg<sup>-1</sup> Ni. Por outro lado, este efeito do Ni foi visualmente diferente no controle, com as doses de 0,25 e 0,5 mg kg<sup>-1</sup> Ni diminuindo a coloração por DAB e conseqüentemente, indicando menor presença de  $\text{H}_2\text{O}_2$  nestas concentrações de Ni.

#### 3.4 Status hídrico das plantas de soja sob restrição hídrica

O status hídrico da soja antes e durante o DH foi verificado através do potencial hídrico na folha na antemanhã ( $\Psi_{\text{WF}}$ ) e o teor relativo de água (TRA). Antes do DH (AV1), o  $\Psi_{\text{WF}}$  das plantas de soja não foi afetado pelas doses de Ni aplicadas, mantendo-se em média -0,219 MPa (Tabela S9; Figura 20A). No entanto, o status hídrico das folhas de soja foi significativamente alterado em ambos os momentos de avaliação após a realização do DH.

Figura 20. Efeito do Ni sob o potencial hídrico na antemanhã ( $\Psi_{WF}$ ) e teor relativo de água (TRA) no folíolo da soja antes e após o déficit hídrico.



Notas: \*\*\*, \*\*, \*, ° e ns: Significância dos coeficientes de regressão pelo teste de F a p-valor de <0,001, <0,01, <0,05, <0,1 e não significativo, respectivamente. Doses seguidas de <sup>1</sup> foram esteticamente agrupadas em conjunto pelo teste Scott Knott (p<0,1). Pontuações com \* imediatamente em cima indica que houve diferença estatística (p<0,1) entre a condição hídrica imposta. CV: Coeficiente de variação. Moderado e Severo: Equivalente a tensão de água no solo de 600 e 900 kPa, respectivamente.  $\Psi_{WF}$ : Potencial hídrico da folha na antemanhã. TRA: Teor relativo de água. AV1: Avaliação antes do déficit hídrico em estágio R2. AV2: Segunda avaliação ao 8° após o início do déficit hídrico (estádio R3). AV3: Terceira avaliação ao 15° dia após o início do déficit hídrico (Estádio R5.1). Estádio fenológico reprodutivo R2, R3 e R5.1 de acordo com Fehr e Caviness (1977) e Yorinori (1996). Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

O DH em plantas de soja na AV2 implicou em menor  $\Psi_{WF}$  em relação ao controle (Figura 20B). As doses mais baixas de Ni permitiram uma maior hidratação dos folíolos na soja sob condição de DH na AV2, com um ajuste de regressão quadrática indicando o maior  $\Psi_{WF}$  na dose de 0,31 mg kg<sup>-1</sup> Ni ( $\hat{y}_{\Psi_{WF}} = -0,429$  MPa) (Figura 20B). Além disso, a aplicação de 0,5 mg kg<sup>-1</sup> Ni na soja em DH resultou em folíolos da soja mais hidratados que nas demais doses. No controle na AV2, o menor valor do  $\Psi_{WF}$  de  $\hat{y} = -0,152$  MPa, foi encontrado na dose de 2 mg kg<sup>-1</sup> Ni.

Para o TRA, não foram observadas alterações no controle na AV2 por efeito da aplicação de Ni no solo. No entanto, durante o DH na AV2, o TRA da soja permaneceu estatisticamente inferior ao controle nas doses de 0 e 4 mg kg<sup>-1</sup> Ni (Figura 20D). A partir do ajuste de regressão polinomial quadrático, o máximo valor do TRA em plantas sob o DH na AV2 foi estimado de  $\hat{y}_{TRA} = 91,33\%$  em uma dose de 1,68 mg kg<sup>-1</sup> Ni. Notavelmente, doses elevadas de Ni, iguais ou próximas a 4 mg kg<sup>-1</sup> Ni, tenderam a reduzir tanto o TRA e quanto o  $\Psi_{WF}$  na AV2.

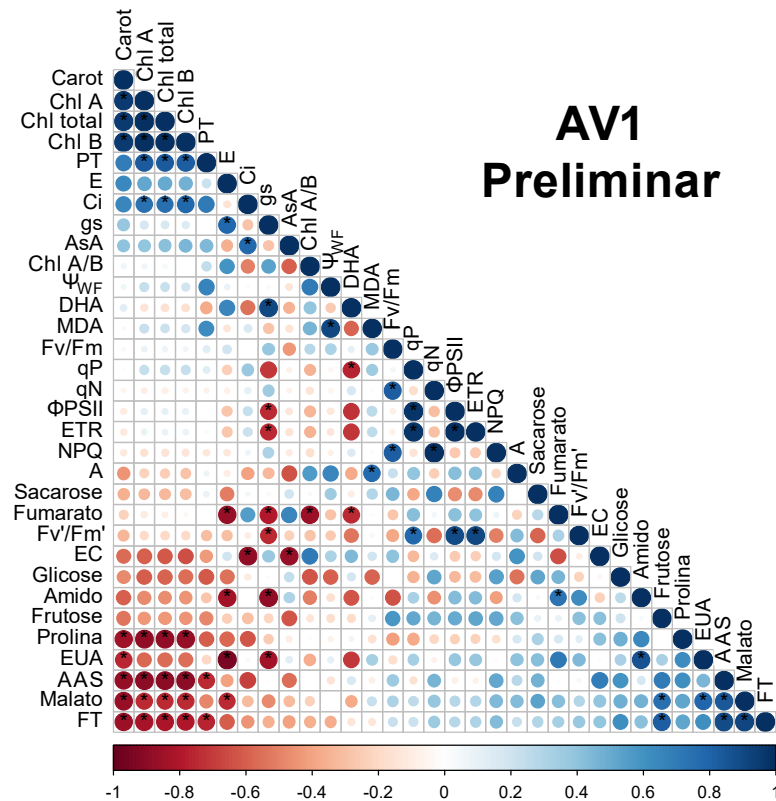
Na terceira avaliação da soja, o  $\Psi_{WF}$  e o TRA das plantas sob DH foram estatisticamente inferiores àquelas no controle, com diferenças que alcançaram 8,21 e 1,36 vezes, respectivamente (Figura 20C e E). No entanto, doses de  $x_{\Psi_{WF}} = 0,64$  e  $x_{TRA} = 1,22$  mg kg<sup>-1</sup> Ni reduziram a diferença entre as plantas sob o DH e no controle na AV3, através do aumento do  $\Psi_{WF}$  para  $\hat{y}_{\Psi_{WF}} = -1,454$  MPa e do TRA para  $\hat{y}_{TRA} = 66,49\%$ , respectivamente. Além disso, nas plantas que receberam as doses de 0,5 e 1 mg kg<sup>-1</sup> Ni na AV3, o TRA foi significativamente maior do que nas demais doses aplicadas, mesmo que ainda estejam inferiores ao controle.

### 3.5 Correlação de Pearson

As correlações entre as variáveis relacionadas às trocas gasosas, fluorescência da clorofila “a”, metabolismo primário e status hídrico da soja estão representadas na matriz de correlação de Pearson para os três momentos de avaliação (Figura 21, 22 e 23). As mais fortes correlações foram direcionadas aos três extremos dos gráficos (superior, inferior e a base lateral). Com exceção da posição de algumas variáveis ao meio, o grau de força de correlação se reduzir gradativamente dos extremos em direção ao meio do gráfico.

Na avaliação antecedendo o DH (AV1) nas plantas de soja (Figura 21), as correlações positivas mais fortes ( $R^2 > 0,8$ ) foram obtidas entre os teores de pigmentos (Chl *a*, *b* e carotenoides), PT, e *Ci*. Contudo, essas mesmas variáveis apresentaram correlações fortemente inversas com os teores de Prolina, AAS, malato, FT e a *EUA*. Analisando os níveis de malato e fumarato, foram observadas fortes correlações positivas com os teores de frutose, *EUA* e AAS. Em contrapartida, *E*, *g<sub>s</sub>*, Chl *a/b* e DHA tiveram relações negativas com o Fumarato. Além disso, foi observada uma forte correlação entre o teor de MDA nos folíolos em plantas de soja que tiveram o  $\Psi_{WF}$  reduzido e a *A* elevada.

Figura 21. Matriz de correlação de Pearson antes da indução do déficit hídrico, na soja no estágio R2 e adubada com Ni antes do plantio.



Correlações moderadas:  $R^2 = 0,5$  a  $0,7$ . Correlações fortes:  $R^2 = 0,7$  a  $0,9$ . Correlações muito forte:  $R^2 = >0,9$ . \*: Significância a  $p < 0,1$ . A: Taxa fotossintética. gs: condutância estomática. Ci: Concentração interna de  $CO_2$ . Taxa de transpiração (E), Eficiência do uso da água (EUA) e Eficiência da carboxilação (EC). Fv/Fm': Eficiência de captura de excitação dos centros de reação do PSII abertos. Fv/Fm: Máxima eficiência quântica do PSII. qP: Coeficiente de extinção fotoquímica.  $\Phi PSII$ : Rendimento quântico real do transporte de elétrons. ETR: Taxa de transporte de elétrons. ETR/A: Relação entre taxa de transporte de elétrons e a fotossíntese. qN: Eficiência quântica não fotoquímica ou coeficiente de quinona B. NPQ: Rendimento quântico não fotoquímico. Chl a: Clorofila a. Chl b: Clorofila b. Chl a + b: Clorofila total. Aas: Aminoácidos totais. PT: Proteínas totais. FT: Fenóis totais. AsA: Ascorbato. DHA: Dehidroascorbato. MDA: Aldeído malônico. EE: Extravasamento de eletrólitos.  $\Psi_{WF}$ : Potencial hídrico da folha na antemanhã. TRA: Teor relativo de água. MSR: Massa seca da raiz. MSF: Massa seca foliar. MSC: Massa seca do caule. MSN: Massa seca do nódulo. Ni - PA: Teor de Ni na parte aérea da soja.

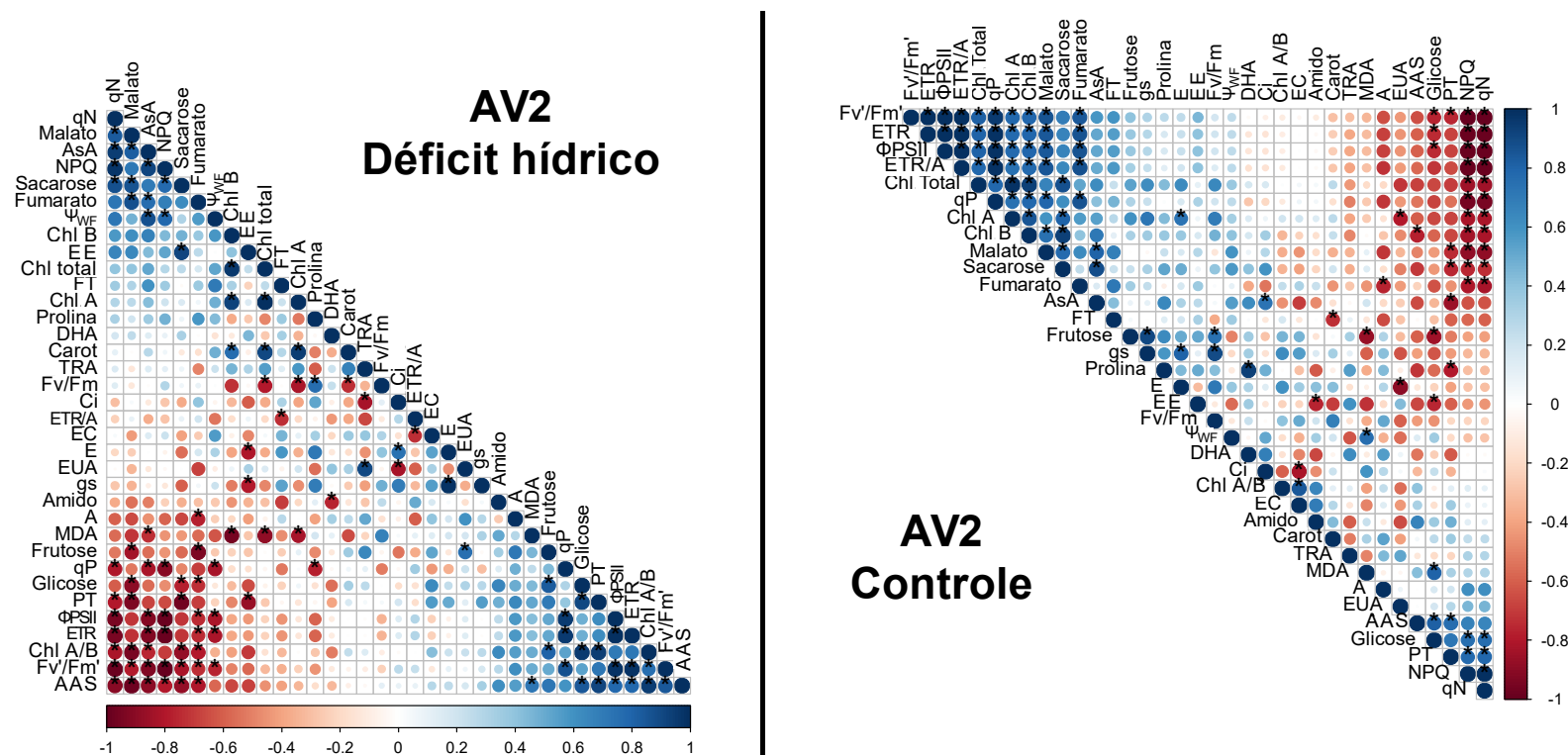
Em plantas de soja sob o DH na AV2 (Figura 22), foi verificada correlações de grau forte à moderado positivo ( $R^2 > 0,6$ ) entre os pigmentos e o teor de malato; entre as variáveis AsA, NPQ, sacarose e fumarato e o  $\Psi_{WF}$ . As variáveis relacionadas à PT,  $\Phi PSII$ , ETR, Fv/Fm' e o teor de AAS correlacionaram positivamente entre si, e, em contrapartida, correlacionaram negativamente com os pigmentos, NPQ e o teor de malato, AsA, sacarose e fumarato, e o  $\Psi_{WF}$  na soja em DH na AV2. Importantes correlações positivas na AV2 foram observadas entre os seguintes pares de variáveis: prolina e Fv/Fm, EUA com TRA e frutose, EE e sacarose. Por outro lado, as correlações negativas de maior evidência na soja em DH na AV2 ocorreram entre o teor de MDA e o teor de AsA; Chl a e b, qP e o teor de prolina; Ci e TRA, e o teor de amido e DHA. No controle na AV2, o teor de glicose, NPQ e qN apresentaram correlações negativas

com as variáveis  $F_v'/F_m'$ ,  $ETR$ ,  $\Phi PSII$ ,  $ETR/A$  e com os teores de AsA, malato, sacarose, frutose e dos pigmentos.

As correlações positivas fortes ( $R^2 > 0,7$ ) para o DH na AV3 (Figura 23) foram identificadas entre as seguintes variáveis: AAS,  $F_v'/F_m'$ ,  $\Phi PSII$ ,  $ETR$ , MSPA,  $\Psi_{WF}$ ,  $qP$ , pigmentos,  $g_s$ , PT e MDA. Correlações significativas opostas em plantas de soja em DH na AV3 foram observadas entre o teor de fumarato, malato e FT,  $NPQ$ ,  $qN$ ,  $F_v/F_m$  e a  $EUA$ . O teor de glicose e frutose apresentou correlações com a Chl  $a$  e  $b$  e carotenoide na soja em DH na AV3. Além disso, outras correlações positivas foram observadas entre a  $A$  e a  $E$  com MSR. As correlações positivas de maior relevância foram observadas entre: AsA e  $EUA$ ; teor de Ni na PA e o teor de fumarato, malato, FT e AsA. Por outro lado, correlações negativas foram observadas entre o teor de Ni na PA com AAS, MSPA, PT, enquanto, correlações do teor de Ni na PA foi obtida com a  $EC$  nas plantas sob o DH na AV3 (Figura 23).

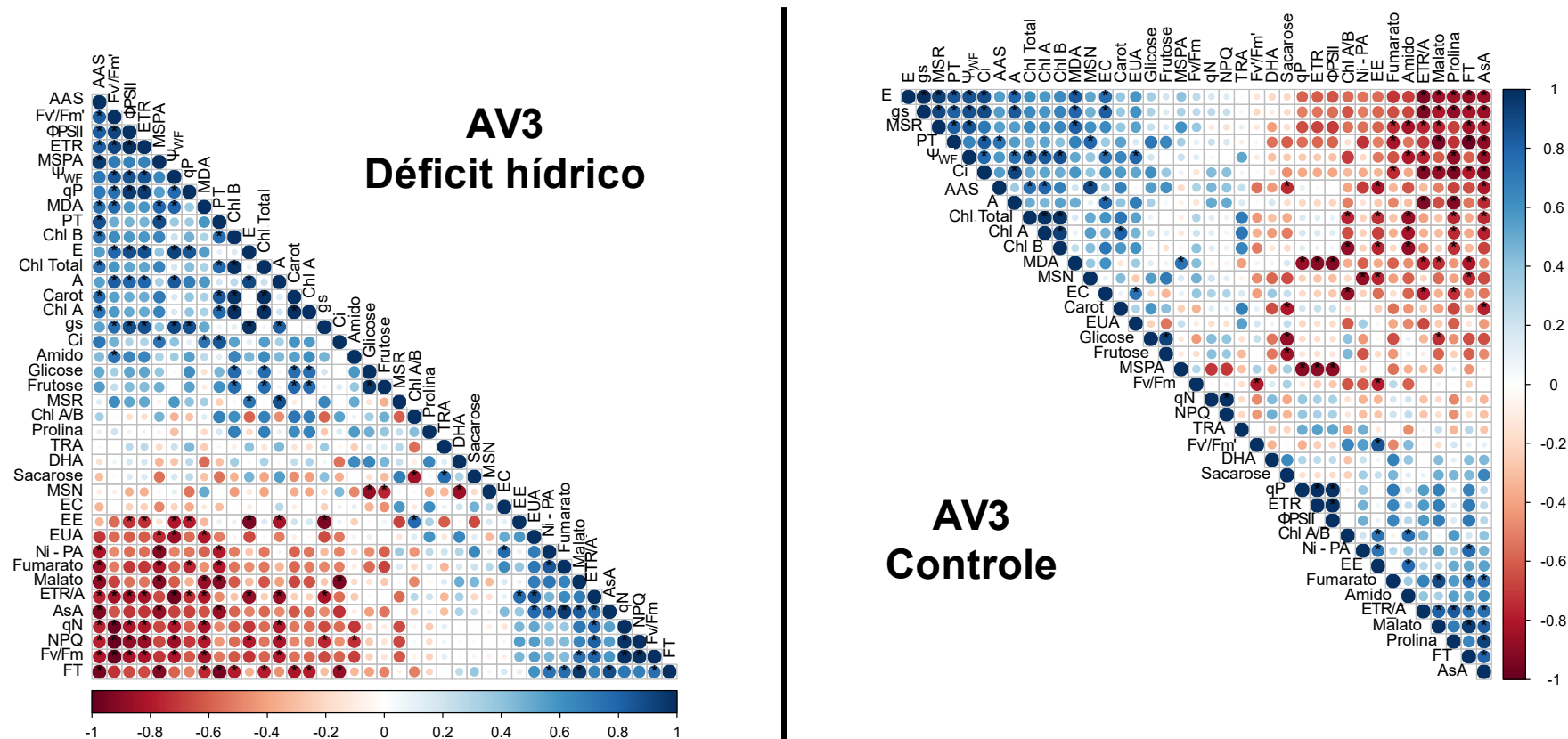
Na terceira avaliação (AV3) para as plantas no controle, as principais correlações positivas ocorreram entre  $E$ ,  $g_s$ , MSR,  $C_i$ ,  $\Psi_{WF}$  e MDA. Essas mesmas variáveis mostraram correlações negativas com  $ETR/A$ , prolina, malato, FT e AsA no controle na AV3 (Figura 23). Além disso, as correlações positivas também foram encontradas entre a Chl  $a$  e  $b$  com o  $\Psi_{WF}$  e o teor de AAS, enquanto, correlações negativas ocorreram para o teor de sacarose com os de carotenoides, glicose e frutose; e entre  $F_v/F_m$  e EE; bem como, para o teor de amido com a clorofila. Quanto teor de Ni na parte aérea, foi observado uma correlação negativa com o MSN, e correlações positivas com EE e o teor de FT.

Figura 22. Correlação entre as variáveis de metabolismo primário, trocas gasosas, e fluorescência da clorofila "a" na soja adubada com Ni com ou sem déficit hídrico, sete dias após o início (estádio R3).



Correlações moderadas:  $R^2 = 0,5$  a  $0,7$ . Correlações fortes:  $R^2 = 0,7$  a  $0,9$ . Correlações muito forte:  $R^2 = >0,9$ . \*: Significância a  $p < 0,1$ . Moderado: Equivalente a tensão de água no solo de 600 kPa. A: Taxa fotossintética. gs: condutância estomática. Ci: Concentração interna de  $CO_2$ . Taxa de transpiração (E), Eficiência do uso da água (EUA) e Eficiência da carboxilação (EC). Fv/Fm': Eficiência de captura de excitação dos centros de reação do PSII abertos. Fv/Fm: Máxima eficiência quântica do PSII. qP: Coeficiente de extinção fotoquímica.  $\Phi PSII$ : Rendimento quântico real do transporte de elétrons. ETR: Taxa de transporte de elétrons. ETR/A: Relação entre taxa de transporte de elétrons e a fotossíntese. qN: Eficiência quântica não fotoquímica ou coeficiente de quinona B. NPQ: Rendimento quântico não fotoquímico. Chl a: Clorofila a. Chl b: Clorofila b. Chl a + b: Clorofila total. AAS: Aminoácidos totais. PT: Proteínas totais. FT: Fenóis totais. AsA: Ascorbato. DHA: Dehidroascorbato. MDA: Aldeído malônico. EE: Extravasamento de eletrólitos.  $\Psi_{WF}$ : Potencial hídrico da folha na antemanhã. TRA: Teor relativo de água. MSR: Massa seca da raiz. MSF: Massa seca foliar. MSC: Massa seca do caule. MSN: Massa seca do nódulo. Ni – PA: Teor de Ni na parte aérea da soja.

Figura 23. Matrix de correlação de Pearson para a soja adubada com Ni sem déficit hídrico e com quinze dias de déficit hídrico.

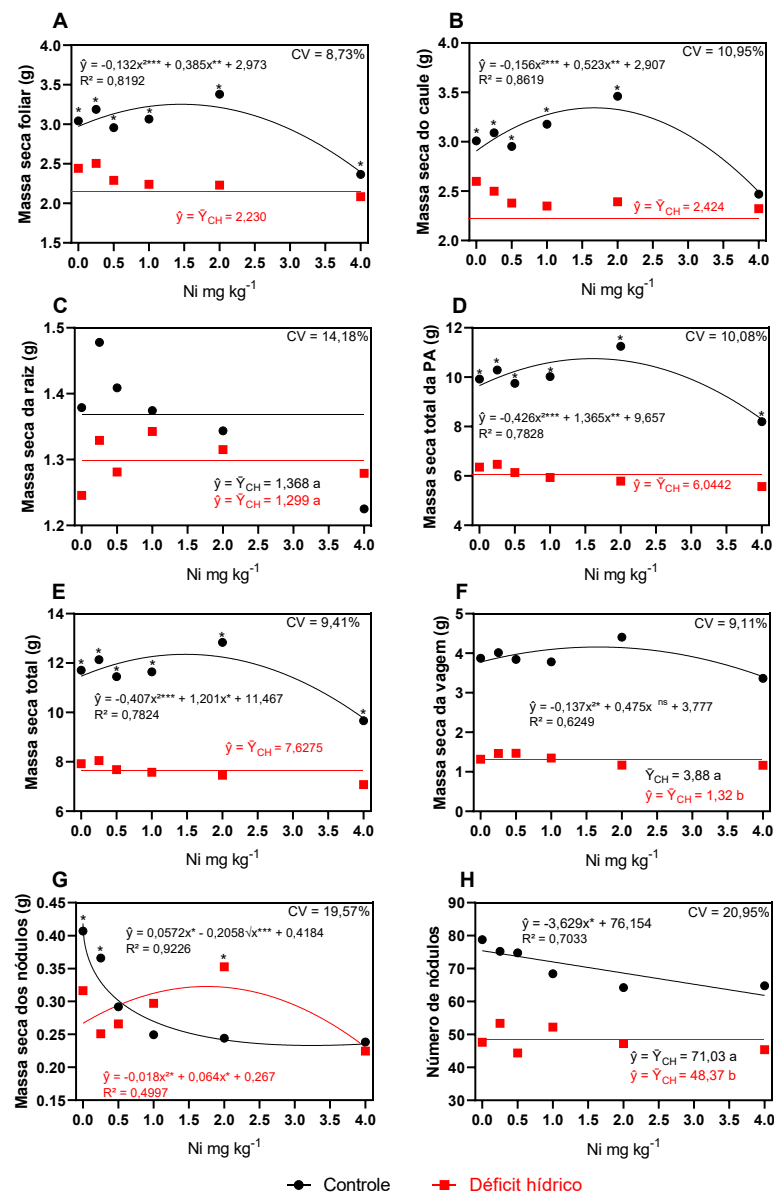


Correlações moderadas:  $R^2 = 0,5$  a  $0,7$ . Correlações fortes:  $R^2 = 0,7$  a  $0,9$ . Correlações muito forte:  $R^2 = >0,9$ . \*: Significância a  $p < 0,1$ . Moderado: Equivalente a tensão de água no solo de 600 kPa. A: Taxa fotossintética. gs: condutância estomática. Ci: Concentração interna de  $CO_2$ . Taxa de transpiração (E), Eficiência do uso da água (EUA) e Eficiência da carboxilação (EC). Fv/Fm': Eficiência de captura de excitação dos centros de reação do PSII abertos. Fv/Fm: Máxima eficiência quântica do PSII. qP: Coeficiente de extinção fotoquímica.  $\Phi PSII$ : Rendimento quântico real do transporte de elétrons. ETR: Taxa de transporte de elétrons. ETR/A: Relação entre taxa de transporte de elétrons e a fotossíntese. qN: Eficiência quântica não fotoquímica ou coeficiente de quinona B. NPQ: Rendimento quântico não fotoquímico. Chl a: Clorofila a. Chl b: Clorofila b. Chl a + b: Clorofila total. AAS: Aminoácidos totais. PT: Proteínas totais. FT: Fenóis totais. AsA: Ascorbato. DHA: Dehidroascorbato. MDA: Aldeído malônico. EE: Extravasamento de eletrólitos.  $\Psi_{WF}$ : Potencial hídrico da folha na antemanhã. TRA: Teor relativo de água. MSR: Massa seca da raiz. MSF: Massa seca foliar. MSC: Massa seca do caule. MSN: Massa seca do nódulo. Ni - PA: Teor de Ni na parte aérea da soja.

### 3.6 Biometria e massa seca das plantas de soja após a restrição hídrica

Após 15 dias de déficit hídrico (AV3), a massa seca das plantas de soja foi alterado pelas fontes de variação (Tabela S10; Figura S6). Observou-se que a massa seca foliar (MSF), caule (MSC), vagem (MSV) e total da parte aérea (MSPA) e total da planta (MST) sob DH na AV3 foram estatisticamente inferiores ao controle, e não foram influenciadas pelas doses de Ni.

Figura 24. Altura, diâmetro do coleto e a massa seca dos compartimentos da soja sem déficit hídrico e com 15 dias de déficit hídrico em relação a doses de Ni aplicada.



Notas: \*\*\*, \*\*, \*, ° e ns: Significância dos coeficientes de regressão pelo teste de F a p-valor de <0,001, <0,01, <0,05, <0,1 e não significativo, respectivamente. Doses seguidas de <sup>1</sup> foram esteticamente agrupadas em conjunto pelo teste Scott Knott (p<0,1). Pontuações com \* imediatamente em cima indica que houve diferença estatística (p<0,1) entre a condição hídrica imposta. CV: Coeficiente de variação.

Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

Com exceção da massa seca das raízes (MSR), a massa seca dos compartimentos do vegetal em condição de disponibilidade hídrica ideal (controle) foi ajustada ao modelo de regressão polinomial (Figura 24). A derivação dos polinômios de segunda ordem nos compartimentos aéreos, estimou o máximo acúmulo de MSF ( $\hat{y}_{MSF} = 3,25$  g), MSC ( $\hat{y}_{MSC} = 3,35$  g), MSPA ( $\hat{y}_{MSPA} = 10,75$  g), MST ( $\hat{y}_{MST} = 12,35$  g) e MSV ( $\hat{y}_{MSV} = 4,18$  g) nas doses de 1,46, 1,68, 1,60, 1,48 e 1,73 mg kg<sup>-1</sup> Ni, respectivamente. Quanto à MSR, não houve efeito estatístico significativo tanto para a CH quanto para as doses de Ni aplicada (Figura 24E).

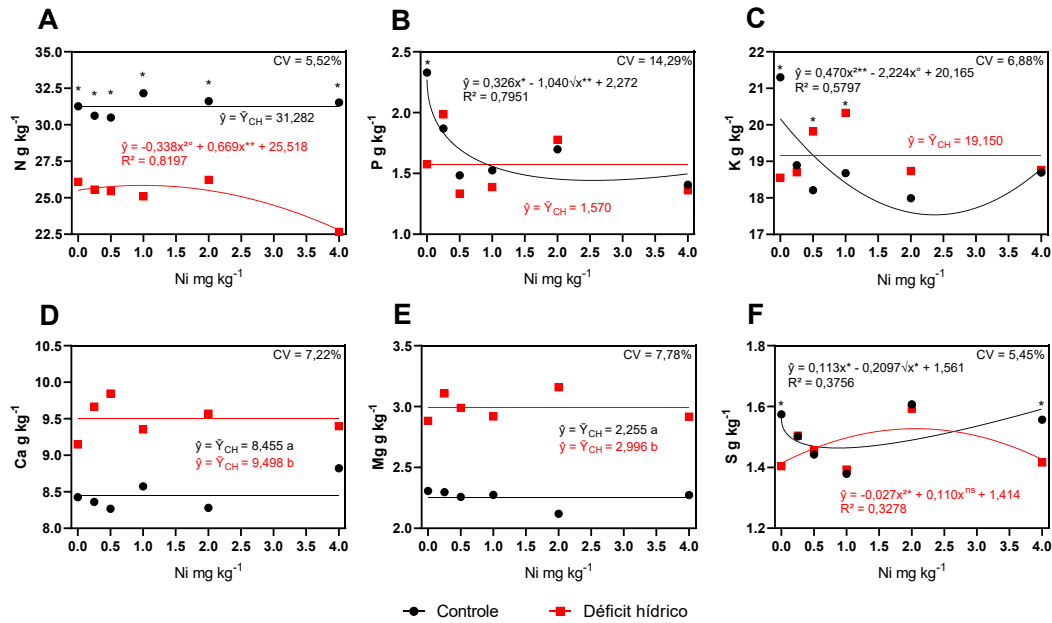
O aumento das doses de Ni implicou em um menor acúmulo de massa seca dos nódulos (MSN) em plantas no controle na AV3 (Figura 24G). A mínima quantidade de MSN acumulada foi estimada de  $\hat{y}_{MSN} = 0,233$  g, e encontrada na dose de 3,24 mg kg<sup>-1</sup> Ni (Figura 24G). O ajuste de regressão quadrático indicou um incremento da MSN em plantas sob o DH na AV3, com o máximo acúmulo de massa seca estimado de  $\hat{y}_{MSN} = 0,324$  g ocorrendo em doses de 1,782 mg kg<sup>-1</sup> Ni. Analisando apenas a aplicação de 2 mg kg<sup>-1</sup> Ni, a MSN da soja sob o DH na AV3 foi 1,47 vezes maior do que a observada nas plantas no controle. Por outro lado, o NN observado na soja no controle foi superior a planta sob o DH na AV3, contudo, houve uma redução linear no NN com o aumento das doses de Ni (Figura 24H).

### 3.7 Teores de nutrientes na parte aérea após do déficit hídrico

Os teores dos nutrientes N, P, K, Ca, Mg, S, Cu, Mn, Ni, Zn, Fe e Mo e suas relações com o Ni na parte aérea (PA) foram verificadas na AV3, ao final do DH (Tabela S11). Dentre os macronutrientes, o N, P, K e S na parte aérea (PA) foram influenciados pela combinação das fontes de variação avaliadas (Tabela S11).

A aplicação de Ni ocasionou uma alteração significativa no teor de N na PA das plantas no controle, mantendo-o, em média, em 31,282 g kg<sup>-1</sup> N (Figura 25A) na AV3. Em contrapartida, observou-se uma redução acentuada no teor de N nas plantas submetidas ao DH, para as quais foi ajustado o modelo de regressão quadrático. Esse modelo promoveu variações mínimas no teor de N na PA entre as doses de 0,25 a 2 mg kg<sup>-1</sup> Ni em comparação as plantas sem Ni (0 mg kg<sup>-1</sup>), alcançando o teor máximo estimado de  $\hat{y}_N = 25,849$  g kg<sup>-1</sup> N na dose de 0,99 mg kg<sup>-1</sup> Ni. O teor de P foi estatisticamente reduzido com o incremento das doses de Ni nas plantas no controle na AV3 (Figura 25B), atingindo o mínimo aos 2,54 mg kg<sup>-1</sup> Ni, equivalente a  $\hat{y}_P = 1,443$  g kg<sup>-1</sup> P na PA. No entanto, observou-se um aumento significativo nos teores de P em plantas submetidas ao DH em doses de 0,25 e 2 mg kg<sup>-1</sup> de Ni em comparação com as plantas -Ni.

Figura 25. Teores de N, P, K, Ca, Mg e S na parte aérea de soja adubada com Ni com e sem déficit hídrico.



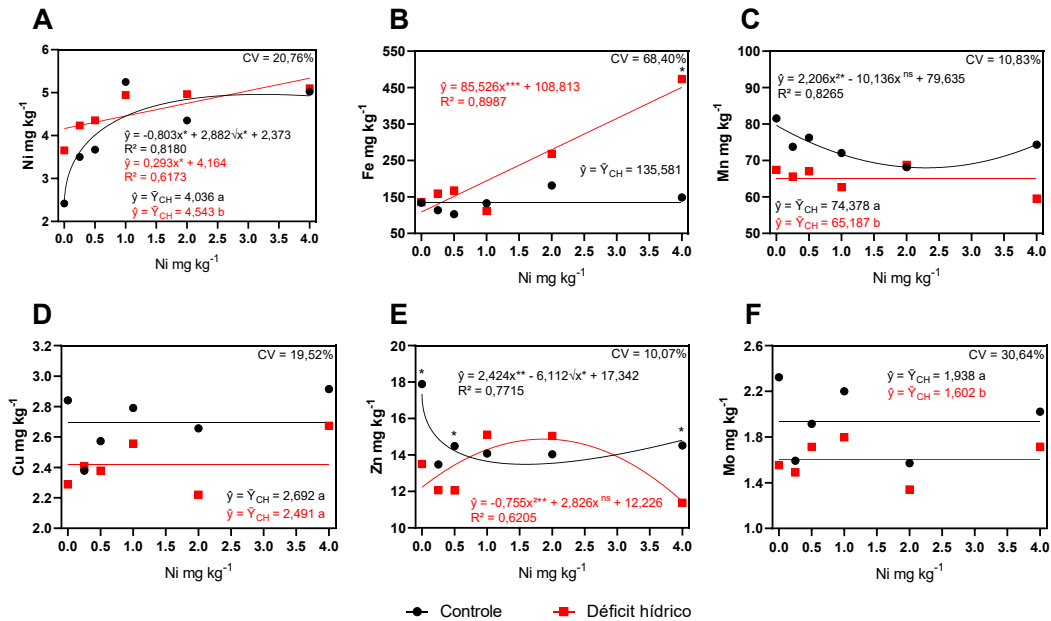
Notas: \*\*\*, \*\*, \*, ° e ns: Significância dos coeficientes de regressão pelo teste de F a p-valor de <0,001, <0,01, <0,05, <0,1 e não significativo, respectivamente. Doses seguidas de <sup>a</sup> foram esteticamente agrupadas em conjunto pelo teste Scott Knott (p<0,1). Pontuações com \* imediatamente em cima indica que houve diferença estatística (p<0,1) entre a condição hídrica imposta. CV: Coeficiente de variação. Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

Os teores de K na PA foram estatisticamente superiores nas doses de 0,5 e 1 mg kg<sup>-1</sup> Ni em plantas submetidas ao DH na AV3 (Figura 25C). Na condição controle, o maior teor de K na PA foi encontrado em plantas sem Ni. O ajuste de regressão quadrático para o teor de K no controle indicou uma redução do acúmulo desse nutriente até a dose de 2,37 mg kg<sup>-1</sup> Ni ( $\hat{y}_K = 17,534$  g kg<sup>-1</sup> K). O teor de S na AV3 foi reduzido significativamente com a aplicação de Ni nas doses de 0,25, 0,5 e 1 mg kg<sup>-1</sup> Ni no controle. Contudo, foi observado que o teor de S nas doses 0 e 4 mg kg<sup>-1</sup> em plantas sob DH foram inferiores ao controle (Figura 25F). Por outro lado, a aplicação de 2,04 mg kg<sup>-1</sup> Ni ( $\hat{y}_S = 1,526$  g kg<sup>-1</sup> S) incrementou expressivamente o teor de S na PA em soja sob DH. Os teores de Ca e o Mg foram influenciados pela CH na AV3 (Figura 25D e E), com o DH aumentando o teor desses nutrientes na PA em relação ao controle.

O teor de Ni na PA foi incrementado com a adição das doses de Ni ao solo (Figura 26A). Após o desdobramento do teor de Ni na PA, foram ajustados os modelos de regressão linear positiva e  $\sqrt{x}$  para as plantas sob condição de DH e para as plantas no controle na AV3, respectivamente (Figura 26). Aos 3,22 mg kg<sup>-1</sup> Ni foi estimado o maior teor de Ni na PA das plantas no controle, atingindo o teor de  $\hat{y}_{Ni} = 4,96$  mg kg<sup>-1</sup> Ni. Enquanto para a soja sob condição

de DH, a variação do teor de Ni foi menor entre as doses aplicadas, com incremento de  $\hat{y}_{Ni} = 0,147 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Ni}$  a cada acréscimo de  $0,5 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Ni}$  aplicado no solo.

Figura 26. Teores de Ni, Fe, Mn, Cu, Zn e Mo em plantas de soja adubadas com Ni com e sem déficit hídrico.



Notas: \*\*\*, \*\*, \*, ° e ns: Significância dos coeficientes de regressão pelo teste de F a p-valor de <0,001, <0,01, <0,05, <0,1 e não significativo, respectivamente. Doses seguidas de <sup>a</sup> foram esteticamente agrupadas em conjunto pelo teste Scott Knott (p<0,1). Pontuações com \* imediatamente em cima indica que houve diferença estatística (p<0,1) entre a condição hídrica imposta. CV: Coeficiente de variação. Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

O teor de Cu não foi afetado pelas fontes de variação avaliadas, enquanto os teores de Mo e Mn em plantas sob o DH foram estatisticamente inferiores ao controle (Figura 26D e F). Os teores de Mn e Zn nas plantas no controle se ajustaram significativamente a regressão curvilínea (Figura 26F), com o teor mínimo na PA estimado de  $\hat{y}_{Mn} = 67,99 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Mn}$  aos  $2,30 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Ni}$  e de  $\hat{y}_{Zn} = 13,49 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Zn}$  aos  $x_{Zn} = 1,59 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Ni}$ . O teor de Mn não foi influenciado pelas doses de Ni em plantas sob DH. Foi observado o incremento do teor de Zn, com o teor máximo de  $\hat{y}_{Zn} = 20,16 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Zn}$  sendo alcançado aos  $x_{Zn} = 1,87 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Ni}$ , contudo, com as doses de 0, 0,5 e  $4 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Ni}$  apresentando os teores de Zn significativamente menor que o controle. Apenas os teores de Fe na PA em plantas sob DH aumentaram linearmente com as doses de Ni, indicando o aumento de  $42,76 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Fe}$  na PA a cada  $0,5 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Ni}$  (Figura 26B).

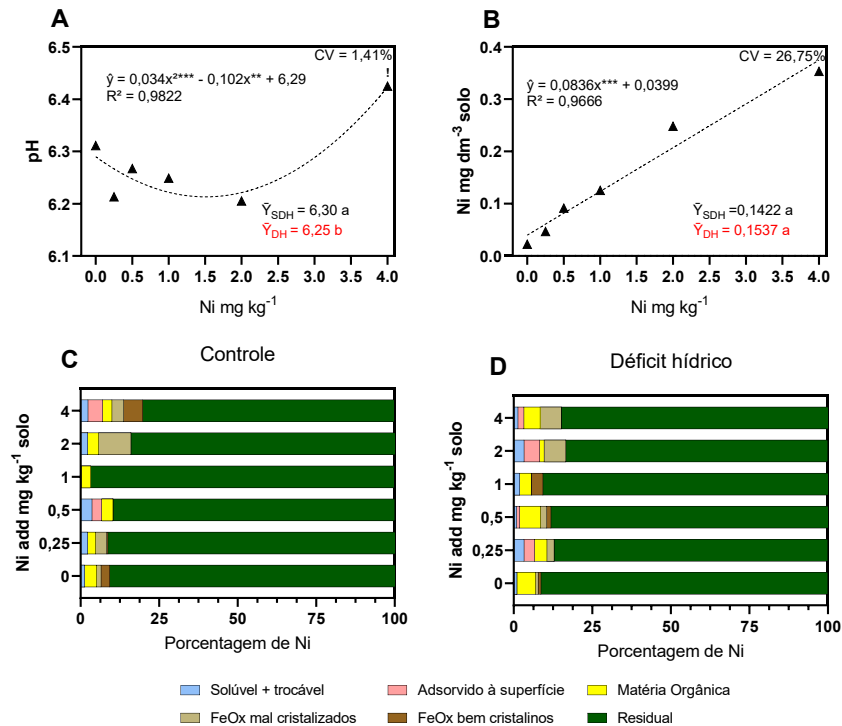
Para todos os macronutrientes em plantas no controle, houve ajuste de regressão  $\sqrt{x}$ , com o decaimento curvilíneo negativo para a razão entre os nutrientes e o teor de Ni na PA na AV3 (Tabela S12). Na soja sob condição de DH na AV3, foi observado o modelo linear para a

relação N/Ni e P/Ni, enquanto, as razões com o Ni dos demais nutrientes não foram afetados significativamente pelas doses de Ni. Com relação aos micronutrientes, as relações entre Cu, Zn, Mn e Mo com o Ni declinaram inicialmente, conforme ajustado pelo modelo de regressão  $\sqrt{x}$  no controle (Tabela S13). Apenas a razão de Fe/Ni foi incrementada em plantas sob o DH na AV3 dentre os micronutrientes avaliados.

### 3.8 Fracionamento químico do Ni no solo após o cultivo da soja

Os diferentes compartimentos do Ni no solo e o pH do solo foram verificados após o cultivo da soja com ou sem déficit hídrico (AV3). A condição hídrica (CH) não alterou os teores de Ni extraídos via Mehlich-1 ao final dos 45 dias de cultivo da soja. No entanto, as doses de Ni aplicadas (Tabela S14) incrementaram linearmente (Figura 27B), indicando o aumento de 0,042 mg kg<sup>-1</sup> Ni no teor trocável a cada acréscimo de 0,5 mg kg<sup>-1</sup> Ni adicionado ao solo. O pH do solo após o cultivo para as doses entre 0 e 2 mg kg<sup>-1</sup> Ni declinou em relação a dose máxima aplicada (Figura 27A).

Figura 27. pH, teor de Ni extraído do solo por Mehlich-1 e a proporção de Ni associados a seis distintas frações do solo de acordo com a condição hídrica imposta a soja.

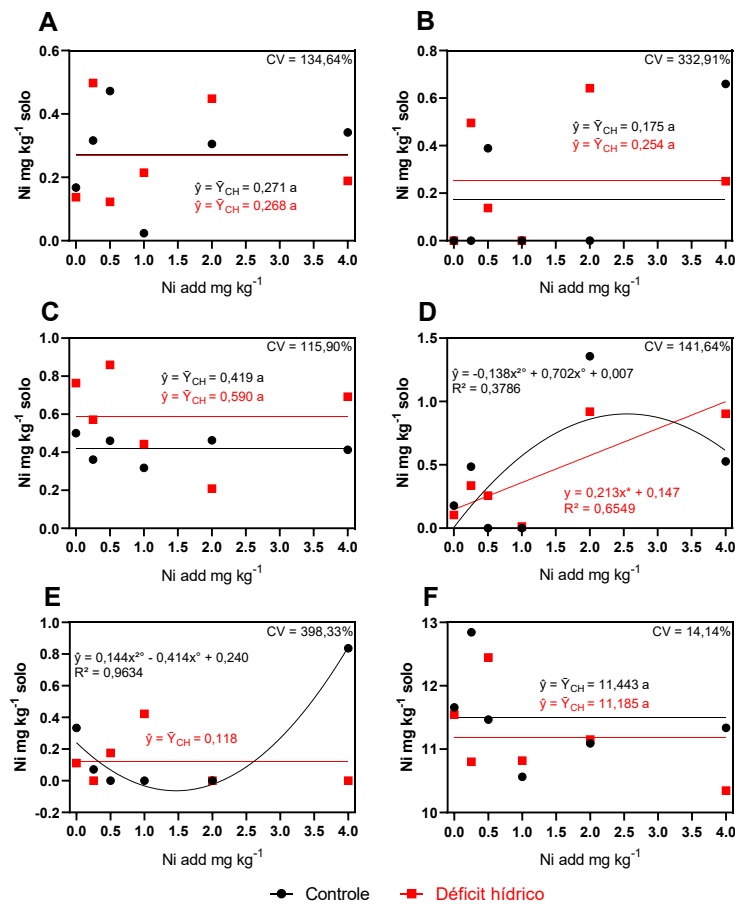


Notas: \*\*\*, \*\*, \*, ° e <sup>ns</sup>: Significância dos coeficientes de regressão pelo teste de F a p-valor de <0,001, <0,01, <0,05, <0,1 e não significativo, respectivamente. Doses seguidas de <sup>1</sup> foram esteticamente agrupadas em conjunto pelo teste Scott Knott (p<0,1). CV: Coeficiente de variação.

Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

O nível de recuperação do Ni pela extração sequencial variou de 94 a 112% no Ni total presente no solo. Para a apresentação dos dados da extração sequencial, os teores extraídos foram normalizados em escala de porcentagem, considerando o teor de semitotal somado à dose aplicada do elemento como referência de extração (Figura 27). Para as seis frações extraídas, o DH imposto às plantas de soja não se distinguiu daquelas cultivadas no controle (Figura 27C e D). As maiores concentrações de Ni ocorreram na fração residual, seguido por FeOx mal cristalizados e matéria orgânica (MOS). Em média, as doses de Ni nas frações de Ni - solúvel, Ni - adsorvido, Ni - MOS e Ni - residual foram de 0,270, 0,215, 0,505 e 11,314 mg kg<sup>-1</sup> Ni, respectivamente. Os teores de Ni extraídos na AV3 no solo cultivado com soja no controle adubado com 0, 0,25 e 0,5 e 1 mg kg<sup>-1</sup> Ni, atingiram valores próximos ao limite de detecção do aparelho nas frações de Ni – adsorvido e Ni – FeOx mal cristalizados.

Figura 28. Influência aplicação do Ni no fracionamento químico do Ni na soja sem seca e com seca.



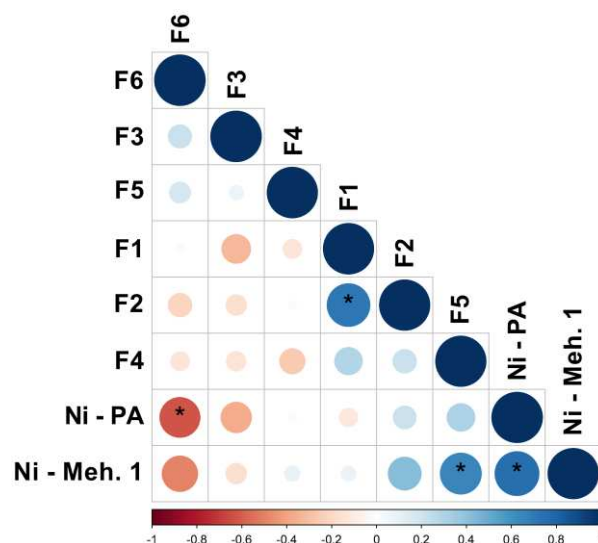
Notas: \*\*\*, \*\*, \*, ° e ns: Significância dos coeficientes de regressão pelo teste de F a p-valor de <0,001, <0,01, <0,05, <0,1 e não significativo, respectivamente. Doses seguidas de <sup>1</sup> foram esteticamente agrupadas em conjunto pelo teste Scott Knott (p<0,1). CV: Coeficiente de variação antes de realizar a transformação dos dados. A: Fração solúvel de Ni. B: Fração de Ni trocável e adsorvido a superfície. C: Fração de Ni associada a matéria orgânica do

solo. D: Fração de Ni associada a óxidos de ferro bem cristalinos. E: Teor de Ni ligada a óxidos de ferro bem cristalino. F: Teor de Ni em óxidos residuais e aluminossilicatos.  
 Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

Analisando o ajuste de regressão das frações de Ni após 45 dias de cultivo da soja, após o desdobramento da interação Ni x CH, o teor de Ni associado aos FeOx mal cristalizados e bem cristalizados foram significativos ao modelo polinomial quadrático ou linear (Figura 28D e 29E;  $p < 0,1$ ). A aplicação de  $2,54 \text{ mg kg}^{-1}$  Ni foi a dose estimada que alcançou o teor máximo de Ni – FeOx mal cristalizados no solo ( $\hat{y} = 0,9 \text{ mg kg}^{-1}$ ) em solo de plantas controle. Em contrapartida, observou-se um incremento proporcional do Ni - FeOx mal cristalizados com as doses de Ni em solos que foram cultivados com soja sob o DH. O teor de Ni – FeOx bem cristalizados foi reduzido a próximo a  $\hat{y} = 0,01 \text{ mg kg}^{-1}$  entre as doses de  $0,75$  e  $2,13 \text{ mg kg}^{-1}$  Ni no controle (Figura 28E).

Analisando a matriz de correlação de Pearson, foram observadas correlações entre as distintas associações do Ni as frações do solo, o teor de Ni na PA e o extraído pelo extrator Mehlich-1 ao final do experimento (Figura 29). Foram encontradas correlações positivas entre o teor de Ni obtido via extrator Mehlich-1 do solo com a concentração de Ni na PA da soja e o Ni-FeOx bem cristalizados aos 45º dia após a adubação e cultivo da soja. Em contrapartida, foi verificada a negativa correlação entre o Ni-Residual e a concentração de Ni na PA.

Figura 29. Correlação de Pearson entre o teor de Ni extraído do solo pelo extrator Mehlich-1, o teor de Ni na parte aérea da soja e as seis distintas frações químicas do obtido pela extração sequencial.



Correlações moderadas:  $R^2 = 0,5$  a  $0,7$ . Correlações fortes:  $R^2 = 0,7$  a  $0,9$ . Correlações muito forte:  $R^2 = >0,9$ . \*: Significância a  $p < 0,1$ . Ni – PA: Teor de Ni na parte aérea da soja. Ni – Meh. 1: Teor de Ni extraído do solo pelo extrator Mehlich-1. F1: Fração de Ni associada a fase solúvel do solo. F2: fração de Ni trocável e adsorvido a

superfície de minerais. F3: Fração de Ni relacionada a matéria orgânica do solo. F4: fração de Ni associada a óxidos de ferro mal cristalizados. F5: Fração de Ni associado a óxidos de ferro bem cristalinos. F6: fração residual e óxidos residual.

Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

## 4. DISCUSSÃO

### 4.1 Ni aumentou a eficiência das trocas gasosas e a fase fotoquímica em seca moderada

Neste estudo, foi observado que a aplicação de Ni foi capaz de otimizar a fotossíntese das plantas de soja. Na AV1, os baixos valores da  $C_i$  e altos da  $A$ ,  $g_s$  e  $E$  encontrados demonstraram que não houve limitação na abertura dos estômatos e nos processos bioquímicos relacionados ao fotossistema II (PSII) e a maquinaria fotossintética com a aplicação de Ni (EINHARDT *et al.*, 2020a; LIMA; LOBATO, 2017). Portanto, as plantas adubadas com 2 e 4 mg kg<sup>-1</sup> Ni na AV1 mantiveram a  $A$  atrelada ao maior consumo de CO<sub>2</sub> dos espaços intercelulares, sem que houvesse prejuízos ao PSII que afetasse a  $ETR$  e reduzisse os coeficientes  $F_v/F_m$  e  $F_v'/F_m'$  (Figura 4 e 5). Além disso, as doses de 0,25 a 0,5 mg kg<sup>-1</sup> de Ni na AV1 implicou em redução significativa no gasto transpiracional durante a atividade fotossintética, com os tratamentos que receberam tais doses aprimorando a  $EUA$ .

As plantas de soja em DH durante a AV2 e AV3 tiveram a  $A$ ,  $g_s$ ,  $C_i$ ,  $E$  e a  $EC$  reduzidas em relação ao controle (Figura 4 e 5). A redução dessas variáveis já era esperada, visto que durante o DH ocorre o fechamento dos estômatos para fins de conservação da água, o que limita a entrada e difusão CO<sub>2</sub> até os cloroplastos, onde ocorre a sua assimilação através da Rubisco (MATHOBO *et al.*, 2017; BASHIR *et al.*, 2021; SOUSA *et al.* 2020). Doses até os 2 mg kg<sup>-1</sup> Ni aumentaram a  $EUA$  e  $EC$  em plantas sob o DH na AV2, e também colaborou para a redução do gasto transpiracional em plantas no controle na AV3. O ganho na  $EUA$  resultou da redução da  $g_s$  em detrimento da transpiração, sobretudo, para plantas em DH que exigem maior magnitude de conservação da água (SOUZA *et al.*, 2021; HE *et al.*, 2017; MESQUITA *et al.*, 2020). Portanto, a aplicação de Ni reduziu a  $g_s$  e na  $E$ , contribuindo para maior  $A$  por vapor de água perdido pela transpiração em ambas as CH.

O declínio da  $F_v/F_m$  em plantas de soja sob o DH foi comumente encontrado na literatura e foi associado a fotoinibição da fotossíntese e redução da  $A$  (BASAL *et al.*, 2020; ERGO *et al.*, 2021; ROSA *et al.*, 2020; SOUZA *et al.*, 2021). Entretanto, não foram observadas alterações expressivas em  $F_v/F_m$  na soja na AV2 e AV3 cultivada em condições de DH. Segunda Swoczyna *et al.* (2022) sob restrição hídrica moderada, a  $A$  é mais afetada que a PSII devido à limitação das trocas gasosas causada pela diminuição da  $g_s$ , com os danos ao PSII se intensificando em seca mais severa e longas. Essa observação coincide com os incrementos de  $ETR/A$  em plantas sob DH (Figura 6), demonstrando que houve maior magnitude de perda

atrelada, possivelmente, à menor entrada de CO<sub>2</sub>, sem afeta expressivamente o fluxo de elétrons ao longo do PSII (PERERA-CASTRO; FLEXAS, 2023; BARZOTTO *et al.*, 2023).

A soja adubada com Ni na AV2 sob o DH incrementou os atributos relacionados ao  $F_v'/F_m'$ ,  $qP$ ,  $\Phi_{PSII}$  e a  $ETR$ , contudo, os mesmos declinaram no controle (Figura 6, 7 e 8). Esse aumento indicou uma maior eficiência da captura da radiação e transferência dos elétrons entre os centros de reação em plantas sob DH, sem que houvesse grandes prejuízos de causa fotooxidativa no PSII (EINHARDT *et al.*, 2020a; SOUSA *et al.* 2020). O aumento da  $NPQ$  e no  $qN$  no controle na AV2 não demonstraram efeitos negativos na  $A$  e na  $F_v'/F_m'$ , com esse mecanismo sendo crucial para manter o equilíbrio entre a absorção e a dissipação de energia no PSII (BASAL *et al.*, 2020; EINHARDT *et al.*, 2021; TRINH; MASUDA, 2022).

O declínio na  $ETR$ ,  $qP$ ,  $F_v'/F_m'$  e  $\Phi_{PSII}$  sob condição de DH na AV3 foi contrabalanceamento pelo aumento da  $NPQ$  e na  $qN$ , os quais estão associados a dissipação do excedente de energia e proteção do PSII (BASAL *et al.*, 2020; EINHARDT *et al.*, 2021). Os nossos resultados corroboram com Basal *et al.* (2020) e Rosa *et al.* (2021) em estudos com soja sob restrição hídrica em fase vegetativa e reprodutiva. Essas perdas na operação do PSII se deve a redução da  $ETR$  devido ao aumento da proporção de Quinona A oxidada, que podem desencadear o efeito de fotoinibição (KRAUSE; WEIS, 1991; SWOCZYNA *et al.*, 2022; EINHARDT *et al.*, 2020a; VITAL *et al.*, 2022). Mesmo com o declínio de  $qP$  e  $\Phi_{PSII}$ , os valores da  $F_v'/F_m'$  na AV3 foram elevados (Figura 6), sugerindo que não houve danos expressivos ao PSII (WOO *et al.*, 2008; TAIZ *et al.*, 2017), sobretudo, em baixas doses de Ni.

## 4.2 Metabolismo primário

### 4.2.1 A aplicação de Ni não afetou os pigmentos na soja durante o déficit hídrico

A clorofila desempenha funções importantes na absorção e transferência de energia luminosa para os fotossistemas (BASAL *et al.*, 2020; MARTINS *et al.* 2023). A aplicação de Ni na soja reduziu os níveis de pigmentos Chl  $a + b$  e carotenoides na AV1 (Figura 12 e 13). Esses resultados corroboram com Prasad *et al.* (2005), onde apenas a concentração muito baixa de Ni (0,1 mM) não afetou negativamente a biossíntese da clorofila ou dos seus precursores. Além disso, Einhardt *et al.*, (2021) também observaram a redução do teor da Chl  $a$ , Chl  $b$  e dos carotenoides em plantas de soja que receberam doses superiores a 120 g ha<sup>-1</sup> Ni via aplicação foliar, devido à forte ocorrência de estresse oxidativo e possíveis danos ao aparato fotossintetizante.

Os pigmentos não foram afetados pelo DH na AV2, contudo, foram reduzidos sob o DH na AV3 (Figura 12 e 13). Para o período da AV2, o intenso aumento da síntese de AAS estimulado pelo Ni na soja sob condição de DH na AV2 (Figura 13) pode ter colaborado para a biossíntese da clorofila (THE *et al.*, 2021). Em contrapartida, a redução dos pigmentos no DH na AV3 se deve à menor síntese destas biomoléculas, que pode estar abaixo da capacidade de reposição e regeneração dos pigmentos afetados pelo estresse oxidativo (BASAL *et al.*, 2023; LIMA; LOBATO, 2017; EINHARDT *et al.* 2021), ou decorrente da baixa disponibilidade de N nas folhas para sustentar a síntese destes pigmentos (XIA *et al.*, 2020; BASAL; SZABÓ, 2020)

#### 4.2.2 Aminoácidos, proteínas totais e prolina foram incrementadas com as doses de Ni

Dentre os metabólitos primários, os teores de AAS foram incrementados com o aumento das doses de Ni (Figura 13). Esse efeito sob AAS associado ao Ni pode estar relacionado com o metabolismo do N e a síntese de aminoácidos (KUTMAN *et al.*, 2014). Estudos recentes demonstraram que doses de 0,5 a 3 mg dm<sup>-3</sup> Ni aprimoram o metabolismo e assimilação do N em soja (FREITAS *et al.*, 2018, 2019; MACEDO *et al.*, 2016; LEVY *et al.*, 2019). Sementes de soja de alta ou baixa concentração de Ni incrementaram a atividade da urease, refletindo em aumentos nos teores de AAS nas folhas (KUTMAN *et al.*, 2014). Resultado semelhante nos níveis de AAS também foi observado em soja cultivada em solução nutritiva com 0,05 a 20 mol L<sup>-1</sup> Ni (REIS *et al.*, 2017).

Os elevados teores de PT na AV2 (Figura 13) sugere que parte dos aminoácidos induzidos pelo Ni na AV1 foram utilizados para a síntese de proteínas, sem que houvesse prejuízos do DH neste processo. O declínio de PT e AAS observado na AV3 coincidiu com o estágio R5, caracterizado de intensa translocação de assimilados e proteínas para os grãos (ZANON *et al.*, 2018; SETUBAL *et al.*, 2023; VERNETTI; VERNETTI JUNIO, 2017). Entretanto, na AV3 os níveis de PT no folíolo foram mais rapidamente reduzidos que os teores de AAS em plantas sob DH (Figura 13). Portanto, o maior teor de AAS mantido na soja sob condição de DH pode estar relacionado ao ajuste osmótico realizado pela soja em resposta as doses de Ni, induzindo o acúmulo de aminoácido nas folhas para a manutenção do status hídrico e proteção oxidativa (HAYAT *et al.*, 2012; WANG *et al.* 2022a).

Os níveis de prolina foram incrementados com o avanço do DH e correlacionou positivamente com a  $F_v/F_m$  (Figura 13 e 24). Em estudos recentes com DH em soja, foi comum a resposta de aumento de prolina, sobretudo, em genótipos mais tolerantes (WANG *et al.*, 2022a, 2022b; GUZZO *et al.*, 2017). Neste estudo, o aumento do teor de prolina associado as

doses de Ni foi mais representativo na AV2 em plantas sob DH (Figura 13). A síntese de prolina é um mecanismo de osmoproteção das células, atuando na manutenção do pH citosólico, proteção das membranas fosfolipídicas e estabilização das proteínas contra a ação das ROS, refletindo em maior integridade das membranas e do PSII (HAYAT *et al.*, 2012; MEENA *et al.*, 2019). Assim, os maiores níveis de osmoprotetores podem ter conservado a saúde do PSII, minimizado o estresse oxidativo e a geração de MDA.

#### 4.2.3 Os níveis de ácidos carboxilatos e fenólicos responderam as doses de Ni

O incremento nos níveis de fumarato e do malato (Figura 14) ocorreram na AV1 e AV3. O fumarato e o malato são ácidos carboxílicos oriundo de processos intermediários do ácido tricarbóxico (TCA) (KIM; WINGE, 2013; HUANG; MILLAR, 2013; ARAÚJO *et al.*, 2011). O malato é utilizado como substrato para a produção de ATP na mitocôndria ou no fornecimento de NADH ao citosol (ZHANG; FERNIE, 2018; SCHEIBE, 2004). Portanto, o incremento de malato e fumarato (Figura 14) pode indicar a preferência de alocação dos recursos para a produção energética e no equilíbrio redox dos cloroplastos na soja na AV1 e AV3 (COUTINHO *et al.*, 2018; SELINSKI; SCHEIBE, 2019). Portanto, a depender da severidade do DH, o Ni pode colaborar para o aprimoramento o mecanismo energético e a manutenção do ciclo TCA na soja (Figura 6 e 7).

Os teores de fenóis totais (FT) incrementaram na soja na AV1, e ainda mais em plantas sob o DH na AV3 (Figura 14). Com a indução do DH na soja, Rao (2020) e Wang et al (2022a) também observaram o aumento dos níveis de FT. Aplicando doses de 10 e 20 g ha<sup>-1</sup> Ni na soja infectada com *Microsphaera difusa*, Barcelos *et al.* (2018) verificaram o incremento dos níveis do ácido chiquímico e dos FT, além da redução da peroxidação lipídica. Deste modo, o incremento dos níveis de FT associado as doses de Ni em plantas sob DH, possivelmente colaborou para a proteção antioxidante não enzimática contra as ROS formadas (KASOTE *et al.*, 2015).

#### 4.2.4 Ni induziu a síntese de açúcares livres

Os teores de açúcares dependeram do tempo de exposição ao DH e o estágio fenológico da soja. Os teores de glicose e sacarose foram estimulados pelas doses de Ni na AV1 antes do DH (Figura 15 e 17). O estágio fenológico R2 foi beneficiado pelo maior teor de glicose e sacarose propiciado pela adubação de Ni, indicando maior atividade das células do mesófilo (DU *et al.*, 2020a), refletindo, assim, na maior *EC* e consumo da *Ci* (Figura 4D e 4G). Esse aumento do teor de açúcares na soja também foi observado por Sirhindi *et al.* (2016)

avaliando plantas de soja entre o estágio V4 e V5, cultivadas com 1 nM Ni, com ou sem a presença adicional do ácido harmônico.

A aplicação de Ni incrementou os teores de glicose e frutose em plantas sob DH AV2 e declinaram os mesmos na AV3, mas sem que se atingissem níveis abaixo da avaliação anterior (Figura 15). A tendência de decréscimo da sacarose nas plantas sob o DH na AV2 quanto as doses de Ni aplicadas e incrementos nos teores de glicose e da frutose pode indicar maior eficiência na biossíntese destes açúcares a partir da sacarose (DU *et al.*, 2020b). Além disso, o aumento nos teores de açúcares nas plantas de soja sob o DH foi comumente relatado na literatura (ERGO *et al.*, 2020; WANG *et al.*, 2022b; DAS *et al.*, 2017), sendo normalmente relacionado ao ajuste osmótico internamente, realizado para a manutenção do turgor das células (PATRICK *et al.*, 2013; LIU *et al.* 2004; DU *et al.*, 2020b; SILVENTE *et al.*, 2012). Portanto, as doses de 0,25 a 2,5 mg kg<sup>-1</sup> Ni colaborou para a manutenção osmótica e o status hídrico do folíolo (Figura 20).

A redução do amido associado ao incremento de sacarose nas plantas sob o DH (Figura 15) se intensificou na soja em comparação ao controle ao longo do estudo, devido à possível hidrólise da reserva de amido para a síntese de sacarose (PFISTER; ZEEMAN, 2016; MAHLOW *et al.*, 2016). Sob o DH, a regulação positiva dos genes GmAMY3 e GmBAM1 na soja conseguem induzir a conversão do amido em sacarose (DU *et al.*, 2020b), tornando os teores de sacarose elevados nas folhas, seja pela inibição do transporte até as sementes ou por prejuízos a síntese de transportador em resposta a redução da demanda de sacarose pelos grãos (DU *et al.*, 2020a). Portanto, esse consumo das reservadas de amido pode ter colaborado para os maiores níveis de açúcares livres na soja sob DH, sobretudo, na AV3 onde a baixa *A* pode não ter sido suficiente para a síntese de biomoléculas de triose fosfato (EINHARDT *et al.*, 2020) para suprir os drenos reprodutivos.

#### 4.3 Ni auxilia na integridade do sistema de membranas em soja sob déficit hídrico

A razão AsA/DHA foi alterada pelas doses de Ni na AV1 e AV2, devido à intensa redução do AsA em detrimento do DHA na soja (Figura 16). O AsA atua diretamente no balanço redox das células (RAO *et al.*, 2020), doando os seus elétrons para a neutraliza o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, utilizando a enzima APX como catalizadora (HASANUZZAMAN *et al.*, 2019; COCETTA *et al.*, 2022). Assim, é provável que houve uma intensa utilização AsA na soja com o aumento das doses de Ni na AV1, levando à redução da razão AsA/DHA, semelhante ao observado por Mir *et al.* (2018) em soja cultivada em solução de 4 mmol L<sup>-1</sup> Ni. Apesar disso, não que houve incremento nos níveis de MDA (Figura 17), indicando que o sistema antioxidante foi suficiente

contra a ação oxidativa (MORALES; MUNNÉ-BOSCH, 2019), auxiliada, possivelmente, pelo aumento dos níveis de FT e outros antioxidantes na AV1 (KASOTE *et al.*, 2015).

Em AV2 e AV3, houve alterações no AsA e DHA, seja pela CH imposta quanto pelas doses de Ni aplicadas (Figura 16). Wang *et al.* (2022b) observaram que ao passo que os níveis de água no solo declinaram e o tempo de imposição do DH se estendia, houve maior atividade da enzima APX e aumento dos teores de AsA, acompanhados do incremento de MDA na soja. No presente caso, aparentemente houve maior uso ou síntese de AsA em mais baixas doses de Ni na soja cultivada sob o DH na AV2, contudo, isso não afetou a razão AsA/DHA entre as doses de Ni. Esse aumento de AsA pode estar relacionado ao envolvimento do Ni no ciclo da glutathiona, a qual é importante componente do metabolismo de regeneração do AsA e atividade da APX (FABIANO *et al.*, 2015; HASANUZZAMAN *et al.*, 2019).

Os teores de AsA, DHA e FT foram incrementados no folíolo da soja em condições de DH na AV3 (Figura 14 e 16), possivelmente devido à forte demanda destes antioxidantes não enzimáticos. De todo modo, esse incremento de AsA sugere que houve maior atividade da enzima APX (RAO *et al.*, 2020). Portanto, os baixos níveis de MDA até os 2 mg kg<sup>-1</sup> de Ni sugere que o sistema antioxidante conseguiu conter os danos no sistema de membrana (MORALES; MUNNÉ-BOSCH, 2019) na AV2, contudo, esse processo não foi totalmente suficiente para limitar a peroxidação lipídica e danos de membrana na AV3 (Figura 17).

As análises histoquímicas realizadas na AV3 indicaram uma menor presença de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e O<sub>2</sub><sup>-</sup> nas doses de 0,5 a 2 mg kg<sup>-1</sup> Ni (Figura 18 e 19). Na literatura, o efeito positivo da aplicação de Ni nas plantas sob estresse tem sido relatado. Amjad *et al.* (2020) avaliando as plantas de tomateiro cultivada em solução nutritiva com 75 mmol L<sup>-1</sup> NaCl adicionada de 15 ou 20 mg L<sup>-1</sup> Ni, observaram o aumento da atividade das enzimas CAT e SOD, além de menor nível de MDA. Na soja infectada com *Phakopsora pachyrhiz*, a pulverização de 7,2 mL de 0,19 g L<sup>-1</sup> NiSO<sub>4</sub>.6H<sub>2</sub>O aumentou a atividade das enzimas SOD, CAT e APX, além de reduzir o MDA (EINHARDT *et al.*, 2020a, 2020b), com esse também efeito se estendendo quando houve a pulverização de Glifosato + Ni (EINHARDT *et al.*, 2022). Além disso, Barcelos *et al.* (2018) observaram o aumento de SOD, POD, CAT e declínio do MDA e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na soja inoculada *Microspora diffusa* nas doses de 10 a 60 g ha<sup>-1</sup> de Ni.

Neste estudo, se observou que a presença de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e O<sub>2</sub><sup>-</sup> se concentrou próximo as nervuras dos folíolos em plantas sob DH (Figura 18 e 19), aumentando a possibilidade de peroxidação lipídica por ROS nas células entorno dos vasos condutores (HASANUZZAMAN *et al.*, 2022; XIA *et al.*, 2016). No entanto, essa concentração de ROS no entorno das nervuras decresceu a depender da dose de Ni aplicada. Por outro lado, a presença de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e O<sub>2</sub> entorno

dos vasos condutores pode justificar os resultados opostos entre o teor de MDA e EE. Para a determinação do EE, foram discos do folíolo da soja excluindo as nervosas centrais e secundárias, enquanto para a determinação do MDA se usou todo o folíolo. As ROS apresentam vida curta nas células e o seu transporte pode ser limitado ao seu tempo de existência ou de neutralização (BARBOSA *et al.*, 2014; BHATTACHARJEE, 2010), com o  $O_2^{\cdot-}$ , por exemplo, possuindo o período de meia-vida que varia de 1 a 4  $\mu s$  (DUMANOVIĆ *et al.*, 2021).

#### 4.4 O status hídrico da soja em déficit hídrico foi garantido pela aplicação de Ni

Os altos valores do TRA e do  $\Psi_{WF}$  encontrados nas plantas sob o DH na AV2 e na AV3 com a aplicação de Ni (Figura 20) ocorreu, possivelmente, devido ao acúmulo do teor de glicose, frutose, sacarose e AAS (Figura 13 e 15), a qual auxiliaram no ajuste osmótico e hídrico dos folíolos (DU *et al.*, 2020b; SHAHEEN *et al.*, 2016). Vale destacar que a possível redução nos teores de sacarose e frutose em 2  $mg\ kg^{-1}$  Ni na soja sob condição de DH na AV3 pode ter causado o declínio do TRA e aumentar o EE nesta mesma dose (Figura 17), reforçando a importância do ajuste osmótico associado a aplicação de Ni. A redução do  $\Psi_{WF}$  e no TRA foi comumente relatado em estudos com soja sob o DH, e se remete ao efeito de limitação hídrica das folhas, levando a redução da  $A$ ,  $g_s$  e danos ao PSII (LIMA *et al.*, 2019; MESQUITA *et al.*, 2020; ROSA *et al.*, 2019).

Desse modo, o incremento do TRA e do PHA na soja sob o DH com as doses de Ni foi um resultado positivo. Isso pode ter favorecido a menor ocorrência de dano oxidativo e manutenção do PSII (Figura 7), auxiliando na  $EC$ ,  $A$  e  $g_s$  na soja sob condição de DH, garantindo em baixas doses de Ni uma maior  $EUA$  (Figura 5). Este efeito positivo do Ni ao estado hídrico da folha também foi observado por Ain *et al.* (2016) em trigo cultivado em solo de condutividade elétrica de 10  $dS\ m^{-1}$  que receberam 20  $mg\ kg^{-1}$  Ni, e foi atribuído ao aumento da concentração de K em detrimento do Na nas folhas, permitindo maior regulação osmótica e hidratação da parte aérea.

#### 4.5 O Ni aumentou a massa da parte aérea e dos nódulos da soja

Com exceção da MSR, as doses de Ni aumentaram a massa seca dos componentes aéreos no controle, os quais atingiram a máxima massa seca em doses entre 1,5 a 1,9  $mg\ kg^{-1}$  Ni (Figura 24). O incremento da massa seca da soja por aplicação de Ni foi relatado na literatura em estudos sem a ocorrência de DH (FREITAS *et al.* 2018; LAVRES *et al.* 2016; LEVY *et al.* 2019). Contudo, a dose de 4  $mg\ kg^{-1}$  Ni aplicada neste estudo, declinou a massa seca de plantas no controle sem afetar aquelas em DH (Figura 24), indicando possível efeito fitotóxico do Ni a

soja quando em condições adequadas de cultivo (REIS *et al.*, 2017). Essa dose prejudicial, de 4 mg kg<sup>-1</sup> Ni, está próxima da dose adequada recentemente sugerida por Freitas *et al.* (2018), de 3,35 mg kg<sup>-1</sup> Ni. Portanto, nossos dados evidenciam uma estreita margem entre o benefício e o malefício associado ao Ni, ressaltando a realização de novos estudos detalhados para a determinação de doses adequadas para a soja.

A aplicação de 2 mg kg<sup>-1</sup> Ni implicou em maior MSN em plantas sob DH (Figura 24), mesmo com a fixação biológica de N (FBN) sendo extremamente prejudicada pela redução da geração de fotoassimilados (SHAHEEN *et al.*, 2016; FREITAS *et al.*, 2022; SILVA *et al.*, 2011). Portanto, podemos sugerir que o maior metabolismo de açúcares livres, AAS e PT (Figura 13 e 15) induzido pelo Ni ao longo do DH pode ter colaborado para a manutenção dos nódulos. Por outro lado, houve uma intensa redução da massa secada parte aérea, total e das vargens na soja sob DH (Figura 24). Resultados de menor desenvolvimento da soja em DH também foram encontrados por Guzzo *et al.* (2021), Minussi Winck *et al.* (2022) e Sousa *et al.* (2020), e está associada à menor expansão celular pela falta de água, limitando a geração de biomassa (SILVA *et al.*, 2022; DONG *et al.*, 2019).

#### 4.6 A absorção de Ni alterou o balanço nutricional da soja

A aplicação de Ni na cultura da soja implicou em elevação do teor de Ni na PA da soja independente do manejo hídrico adotado, corroborando com os resultados de Lavres *et al.* (2016), Barcelos *et al.* (2018) e Freitas *et al.* (2019) (Figura 26). Por outro lado, esse incremento de Ni ocorreu alterando a razão entre o Ni e os demais nutrientes, o que pode impactar na homeostase nutricional (SARAIVA *et al.*, 2023). Com a exceção do Fe, o teor de Zn e Mn foi reduzido pelas adições do Ni ao solo nas plantas no controle (Figura 26). O decréscimo de Zn<sup>+2</sup> e Mn<sup>+2</sup> se deve ao Ni competir pelos mesmos transportadores, o YSL (*yellow stripe 1-like protein*), ZIP (*Zinc regulated transported*), IRT (*Iron regulated transported*) e NRAMP (*Natural resistance-associated macrophage protein*) (BARCELOS *et al.*, 2018; WOOD, 2015; ARIF *et al.*, 2016). Resultados de antagonismo a Zn<sup>+2</sup> e Mn<sup>+2</sup> também foram verificados por Reis *et al.* (2017) na soja cultivada em solução nutritiva com 0,05 a 20 μmol L<sup>-1</sup> Ni.

Na soja sob condição de DH na AV3, verificou-se o aumento do teor de Zn, S, e, sobretudo, ao Fe na PA, a depender da dose aplicada de Ni (Figura 25 e 26). A avaliação do estado nutricional da soja em função da adubação do Ni, realizado por Freitas *et al.* (2019), constataram uma forte redução nos teores de Fe na folha ou o incremento na raiz da soja em aplicações de 0,25 a 9 mg kg<sup>-1</sup> Ni ao solo. Lavres *et al.* (2016) observaram uma tendência de aumento do teor de Fe, Zn e S na folha da soja após o tratamento de sementes nas doses entre

45 e 540 mg kg<sup>-1</sup> Ni. Barcelos *et al.*, (2017) também verificaram o incremento no teor de Zn e Fe na folha da soja pulverizada com doses próximas de 100 g ha<sup>-1</sup> Ni + fungicida pyraclostrobin.

No presente estudo, as doses de 0,25 e 2 mg kg<sup>-1</sup> Ni maximizaram o teor de P em PA em plantas sob DH, em relação ao tratamento sem Ni (Figura 25). Tal efeito pode ter sido crucial para os processos de transferência de energia, manutenção da bicamada fosfolipídica e dos açúcares fosfatados (LAMBERS *et al.*, 2022; MALHOTRA *et al.*, 2018). Íons como os de P, absorvidos via difusão, são mais severamente afetados com decréscimo da umidade, devido à sua limitada mobilidade no solo e a redução do fator impedância do solo (OLIVEIRA *et al.*, 2010; COSTA *et al.*, 2006). Isso causa a redução do teor de P na soja sob condição de DH em diversos estudos (SETUBAL *et al.*, 2023; HE *et al.*, 2019), contudo, aparentemente a aplicação de Ni auxiliou no balanço nutricional do P na soja.

Os níveis de K na PA também foram incrementados na soja sob condição de DH na AV3. O K<sup>+</sup> atua na manutenção estomática (KHAN *et al.*, 2023; THOR, 2019), hidratação das folhas e no transporte de açúcares (AHMAD *et al.*, 2018; ABD EL-MAGEED *et al.*, 2017). Neste estudo, os mais altos níveis de K coincidiram com altos valores de TRA e do  $\Psi_{WF}$  (Figura 20). O sinergismo entre o Ni e K também foi observado por Ain *et al.* (2016) nas plantas de trigo cultivadas em solos salino + 20 mg kg<sup>-1</sup> Ni. Desse modo, a aplicação de Ni teve como efeito indireto a otimização da absorção de K na soja sob seca, e junto dos açúcares (Figura 15), colaborou para maior hidratação dos folíolos.

O teor de N na PA foi reduzido na soja sob condição de DH e não teve efeitos em plantas no controle na AV3 (Figura 25). Nossos resultados foram contrários a literatura, o qual o aporte de Ni a soja resultou em maior teor de N na folha, assimilação de N e a aumento da síntese de AAS e de PT, devido à alta atividade da urease (FREITAS *et al.*, 2018, 2019; MACEDO *et al.*, 2016), além da inclusão do Ni no tratamento de sementes aumentar a eficiência da FBN na soja (LAVRES *et al.*, 2016). Assim, a aplicação de Ni não teve efeito na manutenção nos teores de N na PA da soja no estágio fenológico R5.1, embora, a demanda do N pela soja possa ser influenciada pelo momento reprodutivo a planta estava (SETUBAL *et al.*, 2023). Assim, os níveis de N podem ter sido alterados ao longo do cultivo devido ao efeito de remobilização de AAS e PT para o grão (ZANON *et al.*, 2018; VERNETTI; VERNETTI JUNIO, 2017).

No caso do S, as plantas sob o DH na AV2 e AV3 apresentaram elevados teores de AAS e PT, que variou com base nas doses de Ni e no estágio fenológico da soja. O macronutriente S, se envolve na síntese e na composição dos aminoácidos cisteína e da metionina, que são importantes para a síntese das glutatonas, etileno e das proteínas de cisteína, que atuam em resposta ao estresse abiótico e no balanço do sistema redox (KOPRIVA *et al.*, 2019). A alta

demanda por S induzida pela aplicação de Ni foi necessário para a síntese de aminoácidos destinados ao enchimento de grãos e ajuste osmótico nos folíolos (Figura 25).

#### 4.7 A baixa disponibilidade de Ni é reflexo do seu fracionamento no solo

A extração sequencial do Ni foi realizada ao final do cultivo da soja (AV3). Fortes associações do Ni aos óxidos de ferro (FeOx) bem cristalizados e nos FeOx mal cristalizados foram observados (Figura 28 e 29). Na faixa de pH que os solos estavam no momento da adubação e durante a realização da extração sequencial (pH = 6,30) (Tabela 1 e Figura 27), as ligações de esfera interna entre o Ni e a caulinita, FeOx e AlOx podem ter sido favorecidas (RAJAPAKSHA *et al.*, 2012; GU; EVANS, 2008), alterando, assim, a disponibilidade do Ni no solo. Além disso, a alta energia de ligação do Ni no campo cristalino das argilas do solo (RAJAIE *et al.*, 2008), pode ter auxiliado na sua adsorção a hematita e goethita (FLYNN; CATALANO, 2017; URE; DAVIDSON, 2001).

Os teores de FeOx mal cristalinos na região onde foi retirado o LVA deste estudo foram baixos, com os valores entre 0,2 a 1 g kg<sup>-1</sup> de Fe amorfo no horizonte Bw, e de razão Fe oxalato/Fe ditionito-citrato-sódio baixa, de 0,02 (NUNES *et al.*, 2001; MAURI *et al.*, 2011; FERNANDES *et al.*, 2004). Apesar dos níveis de FeOx mal cristalinos serem baixos, eles foram suficientes em atingir altos níveis de associação do Ni a esta fração do solo (Figura 27 e 32). Os FeOx mal cristalizados apresentam uma elevada superfície específica (MASSOURA *et al.*, 2006), sendo capaz de adsorver o Ni as poucas cargas negativas do mineral ou em cargas residuais (TRIVEDI; AXE, 2001; TIECHER *et al.*, 2016). Nossos resultados corroboram com observado por Macedo *et al.* (2020) ao analisar o fracionamento de Ni em solos cultivados por soja e girassol, e com Rajaie *et al.* (2008) em solo de textura argilosa e franco-argilosa incubado com 60 mg kg<sup>-1</sup> Ni, os quais constataram a forte associação do Ni aos FeOx mal cristalinos.

A matéria orgânica do solo (MOS) tem um elevado poder de complexação do Ni, devido à sua forte energia de ligação aos cátions divalentes (SHI *et al.*, 2012; PENG *et al.*, 2018). Entretanto, não foi verificada alterações expressivas na fração de Ni-MOS (Figura 27 e 29), possivelmente, devido ao baixo teor de MOS, de 5,55 g kg<sup>-1</sup> (Tabela 1). Além disso, a competitividade de outros íons pelos sítios da MOS pode ter limitado a complexação do Ni. Por exemplo, os teores de Fe eram 2002 vezes maiores que o de Ni antes da aplicação das doses, favorecendo a ligação do Fe anteriormente aos sítios de carga da pouca MOS presente (MELLIS *et al.*, 2004).

Os níveis de Ni antes da aplicação de suas doses ao solo eram irrisórios, cerca de 0,005 mg kg<sup>-1</sup> Ni obtido via extrator Mehlich-1 (Tabela 1). Portanto, o aumento do teor de Ni se deve

ao efeito da adição do Ni (Figura 27), porque as reservas naturais de Ni do solo foram associadas a fração residual e mais estável (SACHAN; LAL, 2017). O incremento das doses de Ni permitiu o aumento deste nutriente associado a outras frações, mesmo que pequeno, em relação a ausência de Ni (Figura 27). Desse modo, ao longo do estudo o teor de Ni associados a outras frações de maior labilidade e solubilidade pode ter ocorrido, mas não foi verificada. Ao realizar a avaliação do solo apenas ao final do estudo (AV3), restaram apenas associações de Ni aos FeOx, que possivelmente foram as mais resistentes e recalcitrantes (FLYNN; CATALANO, 2017; ZIMMERMAN *et al.*, 2010).

Considerando a soma total do teor de Ni obtido de todas as seis frações, os níveis de Ni foram baixos ( $<12 \text{ mg kg}^{-1}$  Ni no solo), indicando que a adubação do Ni foi a principal fonte deste nutriente a soja e ao estoque do solo. O material de origem do solo utilizado neste estudo, obtido da região de Viçosa – MG, foi oriundo do intemperismo do gnaisse (KER, 1997; MAURI *et al.*, 2011), a qual deu origem ao LVA pobre em Ni (Tabela 1). Para fins de comparação, os teores totais de Ni antes da adubação foram cerca de 3 vezes menores que o valor de prevenção indicado pela a CONAMA resolução N° 420/2009 de  $30 \text{ mg kg}^{-1}$  Ni (CONAMA, 2009) em solos brasileiros e aproximadamente 2 vezes menor que o valor de referência de qualidade de  $21,5 \text{ mg kg}^{-1}$  Ni para os solos do estado de Minas Gerais (COPAM, 2011)

Concentrações indesejadas de Ni no solo implicam em perdas na fotossíntese, danos a membranas celulares, interrupção da atividade enzimática e drasticamente perdas ao metabolismo do C (MUSTAFA *et al.*, 2023; NIE *et al.*, 2015; EINHARDT *et al.*, 2021). Nos verificamos a que dose de  $4 \text{ mg kg}^{-1}$  Ni prejudicou a *gs*, *Ci*, teores de pigmentos e os açúcares livres (Figura 4, 5, 12, 15 e 16). Portanto, a fitotoxicidade ao Ni pela soja avaliada ocorreu em dose de Ni abaixo do observado por Freitas *et al.* (2018), em doses de  $9 \text{ mg kg}^{-1}$  Ni na soja. Por outro lado, Maceto *et al.* (2016) já relataram que aplicações de  $10 \text{ mg dm}^{-3}$  não causaram perdas na produtividade da soja. Desse modo, mais estudos com uma maior gama de genótipos e tipos de solos são cruciais para a definição de doses e limites fitotóxicos a cultura da soja.

As frações de Ni associado as formas mais lábeis correlacionaram positivamente entre si (Figura 29). Essas frações lábeis, possivelmente foram as que forneceram os teores de Ni a soja, por serem mais facilmente acessadas pelas plantas (ZIMMERMAN *et al.*, 2010; OKORO *et al.*, 2012). Dentre os minerais do solo, a caulinita e aos óxidos de ferro provavelmente controlaram a manutenção do equilíbrio do Ni trocável e a solução no solo (RAJAPAKSHA *et al.*, 2012). Outras correlações positivas também foram encontradas entre o teor de Ni no solo extraído com Mehlich-1, teor de Ni na PA da soja e o Ni – FeOx bem cristalizados (Figura 29). Isso sugere que em solos tropicais intensamente intemperizados, com alto teor de argila e pobres

naturalmente em Ni e MOS, a adubação de Ni pode ser crucial para disponibilizar o nutriente no solo, promover a absorção pela soja e causar seus efeitos no vegetal com ou sem seca.

Por outro lado, quando a fração residual foi predominante, seja pela ausência ou baixas doses de Ni aplicadas ao solo, se observou um menor teor de Ni na PA (Figura 29). Isso já era esperado, visto que o Ni residual não estaria prontamente disponível para a absorção das plantas por estar retido na estrutura cristalina dos minerais (SACHAN; LAL, 2017; ZIMMERMAN; WEINDORF, 2010). Portanto, nossos resultados reforçam a importância da adubação de Ni na soja cultivada em solos de baixa disponibilidade deste elemento. Entretanto, nossa avaliação, através da técnica de extração sequencial foi válida após o fim experimento e, portanto, não foi verificado se houve alterações na associação do Ni em diferentes frações e na disponibilidade do nutriente a soja em momentos anteriores.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo sugere que a aplicação de doses de 0,25 a 2 mg kg<sup>-1</sup> Ni ao solo antes do plantio resultou em efeitos positivos para a soja, principalmente, quando em condições de déficit hídrico, demonstrando que a fertilização com Ni foi necessária para resolver a “fome oculta”. Esses efeitos positivos incluiu o aumento de metabolitos primários, como os teores de sacarose, frutose e glicose, AAS e PT, o que possivelmente favoreceu a hidratação do folíolo da soja em déficit hídrico. Além disso, houve maior eficiência do uso da energia para fins fotoquímicos, ganhos na *EC* e *EUA*, menor incidência de O<sub>2</sub><sup>-</sup> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e o aumento nos teores de AsA e dos FT. Entretanto, a dose de 4 mg kg<sup>-1</sup> Ni reduziu a massa seca de todos os componentes aéreos da soja.

Ao final do estudo, verificamos que as respostas à adubação de Ni na soja foi dependente do estágio fenológico e da severidade do déficit hídrico, exigindo estudos pontuais e mais profundos para maior entendimento da atuação do Ni em diferentes mecanismos da soja. Por isso, recomenda a utilizando técnicas sofisticadas, como por exemplo, o perfil de aminoácidos, análise de expressão gênica, enzimas antioxidantes e a discriminação de isotópica do C assimilado pela soja, bem como a averiguação dos efeitos do Ni na soja sob condição de DH aos transportadores de Fe, Zn e S.

Quando se trata do comportamento químico do Ni ao solo, os FeOx presentes no LVA, pobre em Ni e MOS, influíram nos teores de Ni trocável e nos teores de Ni na PA da soja. Além disso, a aplicação de Ni ao solo forneceu o elemento ao solo para a fração solúvel e trocável, a qual possivelmente foi extraída pela soja. Assim, a determinação de doses de Ni em solos tropicais, sobretudo, aos Latossolos, deve ser acompanhado da capacidade de adsorção do Ni e poder tampão do solo. Apesar disso, sugerimos para estudos futuros, a utilização de equipamentos de quantificação de Ni com o limite de detecção menor e mais preciso, a fim de contorna o efeito de diluição do Ni ao solo e reduzir os coeficientes de variação, já que a dose para essencialidade é baixa. Além disso, este estudo se concentrou apenas em uma avaliação, realizada ao final do experimento, sendo necessário coletas intermediarias para o monitoramento das relações entre o Ni, a matriz do solo e a absorção pela soja.

## REFERÊNCIAS

- ABD EL-MAGEED, T. A.; EL-SHERIF, A. M.; ALI, M. M.; ABD EL-WAHED, M. H. Combined effect of deficit irrigation and potassium fertilizer on physiological response, plant water status and yield of soybean in calcareous soil. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 63, n. 6, p. 827-840, 2017.
- AHMAD, M. S. A.; ASHRAF, M. Essential roles and hazardous effects of nickel in plants. In: WHITACRE, D. M. (Ed.). **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**. New York, NY, USA: Springer, 2011, p. 125-167.
- AHMAD, Z.; ANJUM, S.; WARAICH, E. A.; AYUB, M. A.; AHMAD, T.; TARIQ, R. M. S.; AHMADF, R.; IQBAL, M. A. Growth, physiology, and biochemical activities of plant responses with foliar potassium application under drought stress - A review. **Journal of Plant Nutrition**, v. 41, n. 13, p. 1734-1743, 2018.
- AIN, Q.; AKHTAR, J.; AMJAD, M.; HAQ, M. A.; SAQIB, Z. A. Effect of enhanced nickel levels on wheat plant growth and physiology under salt stress. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 47, n. 22, p. 2538-2546, 2016.
- ALMAGRO, A.; OLIVEIRA, P. T. S.; NEARING, M. A.; HAGEMANN, S. Projected climate change impacts in rainfall erosivity over Brazil. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 8130, 2017.
- AMEEN, N.; AMJAD, M.; MURTAZA, B.; ABBAS, G.; SHAHID, M.; IMRAN, M.; NIAZI, N. K. Biogeochemical behavior of nickel under different abiotic stresses: toxicity and detoxification mechanisms in plants. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 11, p. 10496-10514, 2019.
- AMJAD, M.; AMEEN, N.; MURTAZA, B.; IMRAN, M.; SHAHID, M.; ABBAS, G.; JACOBSEN, S. E. Comparative physiological and biochemical evaluation of salt and nickel tolerance mechanisms in two contrasting tomato genotypes. **Physiologia Plantarum**, v. 168, n. 1, p. 27-37, 2020.
- ARAKAWA, N.; TSUTSUMI, K.; SANCEDA, N. G.; KURATA, T.; INAGAKI, C. A rapid and sensitive method for the determination of ascorbic acid using 4,7-diphenyl-1,10-phenanthroline. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 45, n. 5, p. 1289-1290, 1981.
- ARAÚJO, W. L.; NUNES-NESE, A.; FERNIE, A. R. Fumarate: multiple functions of a simple metabolite. **Phytochemistry**, v. 72, n. 9, p. 838-843, 2011.
- ARIF, N.; YADAV, V.; SINGH, S.; SINGH, S.; AHMAD, P.; MISHRA, R. K.; SHARMA, S.; TRIPAYHI, D. K.; DUBEY, N. K.; CHAUHAN, D. K. Influence of high and low levels of plant-beneficial heavy metal ions on plant growth and development. **Frontiers in Environmental Science**, v. 4, p. 69, 2016.
- BAKER, N. R. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 89-113, 2008.
- BARBOSA, M. R.; SILVA, M. M. D. A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T. R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, v. 44, p. 453-460, 2014.

BARCELOS, J. P. Q.; OSÓRIO, C. R. W. O.; LEAL, A. J. F.; ALVES, C. Z.; SANTOS, E. F.; REIS, H. P. G.; REIS, A. R. Effects of foliar nickel (Ni) application on mineral nutrition status, urease activity and physiological quality of soybean seeds. **Australian Journal of Crop Science**, v. 11, n. 2, p. 184-192, 2017.

BARCELOS, J. P. Q.; REIS, H. P. G.; GODOY, C. V.; GRATÃO, P. L.; FURLANI JUNIOR, E.; PUTTI, F. F.; REIS, A. R. Impact of foliar nickel application on urease activity, antioxidant metabolism and control of powdery mildew (*Microspheera diffusa*) in soybean plants. **Plant Pathology**, v. 67, n. 7, p. 1502-1513, 2018.

BARZOTTO, G. R.; CARDOSO, C. P.; JORGE, L. G.; CAMPOS, F. G.; BOARO, C. S. F. Hydrogen peroxide signal photosynthetic acclimation of *Solanum lycopersicum* L. cv Micro-Tom under water deficit. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 13059, 2023.

BASAL, O.; MUNKHBAT, U.; VERES, S. Enhancing Drought Tolerance in Two Soybean Genotypes with Varied Susceptibilities Through Foliar Application of Acetic Acid. **Journal of Plant Growth Regulation**, p. 1-12, 2023.

BASAL, O.; SZABÓ, A. The combined effect of drought stress and nitrogen fertilization on soybean. **Agronomy**, v. 10, n. 3, p. 384, 2020.

BASAL, O.; SZABÓ, A.; VERES, S. Physiology of soybean as affected by PEG-induced drought stress. **Current Plant Biology**, v. 22, p. 100135, 2020.

BASHIR, S. S.; HUSSAIN, A.; HUSSAIN, S. J.; WANI, O. A.; ZAHID NABI, S.; DAR, N. A.; BALOCH, F. S.; MANSOOR, S. Plant drought stress tolerance: understanding its physiological, biochemical and molecular mechanisms. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v. 35, n. 1, p. 1912-1925, 2021.

BHATTACHARJEE, S. Sites of generation and physicochemical basis of formation of reactive oxygen species in plant cell. **Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Higher Plants**, v. 1, p. 1-30, 2010.

BLUM, A.; EBERCON, A. Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat 1. **Crop Science**, v. 21, n. 1, p. 43-47, 1981.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.

BROWN, P. H.; WELCH, R. M.; CARY, E. E. Nickel: A micronutrient essential for higher plants. **Plant Physiology**, v. 85, n. 3, p. 801-803, 1987.

CAKMAK, I.; HORST, W. J. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). **Physiologia Plantarum**, v. 83, n. 3, p. 463-468, 1991.

CARILLO, P.; GIBON, Y. Protocol: Extraction and determination of proline. **PrometheusWiki**, v. 2011, p. 1-5, 2011.

COCETTA, G.; CAVENAGO, B.; BULGARI, R.; SPINARDI, A. Benzothiadiazole enhances ascorbate recycling and polyphenols accumulation in blueberry in a cultivar-dependent manner. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 1032133, 2022.

CONAMA - CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. **Resolução N° 420**, de 28 de dezembro de 2009. Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas. Brasil, 2009. Disponível em: <https://www.ibama.gov.br/sophia/cnia/legislacao/CONAMA/REA0420-281209.PDF>. Acesso em: 12 de fev. 2023.

COPAM - Conselho Estadual de Política Ambiental. **Deliberação Normativa n° 166**, de 29 de junho de 2011. Altera o Anexo I da Deliberação Normativa Conjunta COPAM CERH n° 2 de 6 de setembro de 2010, e estabelece os Valores de Referência de Qualidade (VRQs) dos solos do Estado de Minas Gerais. Diário Oficial do Estado de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, n° 140 de 2011. Disponível em: <<http://www.siam.mg.gov.br/sla/download.pdf?idNorma=18414>>. Acesso em: 07 jan. 2024.

COSTA, J. P.; BARROS, N. F. D.; ALBUQUERQUE, A. W. D.; MOURA FILHO, G.; SANTOS, J. R. Fluxo difusivo de fósforo em função de doses e da umidade do solo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 10, p. 828-835, 2006.

COUTINHO, I. D.; HENNING, L. M. M.; DÖPP, S. A.; NEPOMUCENO, A.; MORAES, L. A. C.; MARCOLINO-GOMES, J.; RICHTER, C.; SCHWALBE, H.; COLNAGO, L. A. Flooded soybean metabolomic analysis reveals important primary and secondary metabolites involved in the hypoxia stress response and tolerance. **Environmental and Experimental Botany**, v. 153, p. 176-187, 2018.

DAS, A.; RUSHTON, P. J.; ROHILA, J. S. Metabolomic profiling of soybeans (*Glycine max* L.) reveals the importance of sugar and nitrogen metabolism under drought and heat stress. **Plants**, v. 6, n. 2, p. 21, 2017.

DONG, S.; JIANG, Y.; DONG, Y.; WANG, L.; WANG, W.; MA, Z.; YAN, C.; LIU, L. A study on soybean responses to drought stress and rehydration. **Saudi journal of biological sciences**, v. 26, n. 8, p. 2006-2017, 2019.

DU, Y.; ZHAO, Q.; CHEN, L.; YAO, X.; ZHANG, H.; WU, J.; XIE, F. Effect of drought stress during soybean R2–R6 growth stages on sucrose metabolism in leaf and seed. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 2, p. 618, 2020a.

DU, Y.; ZHAO, Q.; CHEN, L.; YAO, X.; ZHANG, W.; ZHANG, B.; XIE, F. Effect of drought stress on sugar metabolism in leaves and roots of soybean seedlings. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 146, p. 1-12, 2020b.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. T.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.

DUMANOVIĆ, J.; NEPOVIMOVA, E.; NATIĆ, M.; KUČA, K.; JAČEVIĆ, V. The significance of reactive oxygen species and antioxidant defense system in plants: A concise overview. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 552969, 2021.

EINHARDT, A. M.; FERREIRA, S.; HAWERROTH, C.; VALADARES, S. V.; RODRIGUES, F. Á. Nickel potentiates soybean resistance against infection by *Phakopsora pachyrhizi*. **Plant Pathology**, v. 69, n. 5, p. 849-859, 2020b.

EINHARDT, A. M.; FERREIRA, S.; RODRIGUES, F. A. Biochemical and physiological responses of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] to nickel toxicity. **Bragantia**, v. 80, 2021.

EINHARDT, A. M.; FERREIRA, S.; SOUZA, G. M.; MOCHKO, A. C.; RODRIGUES, F. A. Cellular oxidative damage and impairment on the photosynthetic apparatus caused by Asian Soybean Rust on soybeans are alleviated by nickel. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 42, n. 7, p. 1-13, 2020a.

EINHARDT, A. M.; OLIVEIRA, L. M.; FERREIRA, S.; ARAÚJO, W. L.; MEDEIROS, D. B.; FERNIE, A. R.; RODRIGUES, F. Á. Defense responses and oxidative metabolism of glyphosate-resistant soybean plants infected by *Phakopsora pachyrhizi* modulated by glyphosate and nickel. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 118, p. 101817, 2022.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisas de Solos. **Manual de métodos de análises de solos**. 3.ed. Brasília, DF: Embrapa, 2017. 574p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa do Solo. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 5.ed. Brasília, DF, Embrapa Solos, 2018. 355p.

ERGO, V. V.; VEAS, R. E.; VEGA, C. R.; LASCANO, R.; CARRERA, C. S. Leaf photosynthesis and senescence in heated and droughted field-grown soybean with contrasting seed protein concentration. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 166, p. 437-447, 2021.

FABIANO, C. C.; TEZOTTO, T.; FAVARIN, J. L.; POLACCO, J. C.; MAZZAFERA, P. Essentiality of nickel in plants: a role in plant stresses. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 754, 2015.

FAHAD, S.; BAJWA, A. A.; NAZIR, U.; ANJUM, S. A.; FAROOQ, A.; ZOHAIB, A.; HUANG, J. Crop production under drought and heat stress: plant responses and management options. **Frontiers in Plant Science**, p. 1147, 2017.

FEHR W. R.; CAVINESS C. E.; BURMOOD D. T.; PENNINGTON J. S. Stage development descriptions for soybeans *Glycine max* (L) Merrill. **Crop Science**, v. 11, n. 6, p. 929-931, 1971.

FEHR, W. R.; CAVINESS, C. E. Stages of soybean development Ames: Iowa State University of Science and Technology. **Special report**, v. 80, 1977.

FENG, L.; RAZA, M. A.; LI, Z.; CHEN, Y.; KHALID, M. H. B.; DU, J.; LIU, W.; WU, X.; SONG, C.; YU, L.; ZHANG, Z.; YUAN, S.; YANG, W., YANG, F. The influence of light intensity and leaf movement on photosynthesis characteristics and carbon balance of soybean. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 1952, 2019.

FENG, L.; WANG, H.; MA, X.; PENG, H.; SHAN, J. Modeling the current land suitability and future dynamics of global soybean cultivation under climate change scenarios. **Field Crops Research**, v. 263, p. 108069, 2021.

FERNANDES, R. B. A.; BARRÓN, V.; TORRENT, J.; FONTES, M. P. F. Quantificação de óxidos de ferro de Latossolos brasileiros por espectroscopia de refletância difusa. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, p. 245-257, 2004.

FERNIE, A. R.; ROSCHER, A.; RATCLIFFE, R. G.; KRUGER, N. J. Fructose 2,6-bisphosphate activates pyrophosphate: Fructose-6-phosphate 1-phosphotransferase and increases triose phosphate to hexose phosphate cycling heterotrophic cells. **Planta**, v. 212, n. 2, 2001

FERREIRA, D. F. SISVAR: A computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019.

FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. ExpDes: an R package for ANOVA and Experimental Designs. **Applied Mathematics**, v. 5, n. 19, p. 2952, 2014.

FLYNN, E. D.; CATALANO, J. G. Competitive and cooperative effects during nickel adsorption to iron oxides in the presence of oxalate. **Environmental Science & Technology**, v. 51, n. 17, p. 9792-9799, 2017.

FREEMAN, J. L.; PERSANS, M. W.; NIEMAN, K.; ALBRECHT, C.; PEER, W.; PICKERING, I. J.; SALT, D. E. Increased glutathione biosynthesis plays a role in nickel tolerance in *Thlaspi* nickel hyperaccumulators. **The Plant Cell**, v. 16, n. 8, p. 2176-2191, 2004.

FREITAS, D. S.; RODAK, B. W.; CARNEIRO, M. A. C.; GUILHERME, L. R. G. How does Ni fertilization affect a responsive soybean genotype? A dose study. **Plant and Soil**, v. 441, p. 567-586, 2019.

FREITAS, D. S.; RODAK, B. W.; REIS, A. R.; REIS, F. B.; CARVALHO T. S.; SCHULZE, J., CARNEIRO, M. A. C.; GUIMARAES, L. R. G. Hidden nickel deficiency? Nickel fertilization via soil improves nitrogen metabolism and grain yield in soybean genotypes. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 614, 2018.

FREITAS, V. F.; CEREZINI, P.; HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A. Strategies to deal with drought-stress in biological nitrogen fixation in soybean. **Applied Soil Ecology**, v. 172, p. 104352, 2022.

GENTY, B.; BRIANTAIS, J. M.; BAKER, N. R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 990, p. 87-92. 1989.

GUZZO, M. C.; COSTAMAGNA, C.; SALLOUM, M. S.; ROTUNDO, J. L.; MONTEOLIVA, M. I.; LUNA, C. M. Morpho-physiological traits associated with drought responses in soybean. **Crop Science**, v. 61, n. 1, p. 672-688, 2021.

HARRELL, J. R.; FRANK E.; HARRELL J. R, Maintainer Frank E. Package 'hmisc'. **CRAN2018**, v. 2019, p. 235-236, 2019.

HASANUZZAMAN, M.; BHUYAN, M. B.; ANEE, T. I.; PARVIN, K.; NAHAR, K.; MAHMUD, J. A.; FUJITA, M. Regulation of ascorbate-glutathione pathway in mitigating oxidative damage in plants under abiotic stress. **Antioxidants**, v. 8, n. 9, p. 384, 2019.

HASANUZZAMAN, M.; RAIHAN, M. R. H.; NOWROZ, F.; FUJITA, M. Insight into the mechanism of salt-induced oxidative stress tolerance in soybean by the application of *Bacillus subtilis*: Coordinated actions of osmoregulation, ion homeostasis, antioxidant defense, and methylglyoxal detoxification. **Antioxidants**, v. 11, n. 10, p. 1856, 2022.

HAYAT, S.; HAYAT, Q.; ALYEMENI, M. N.; WANI, A. S.; PICHTEL, J.; AHMAD, A. Role of proline under changing environments: a review. **Plant Signaling & Behavior**, v. 7, n. 11, p. 1456-1466, 2012.

HE, J.; DU, Y. L.; WANG, T.; TURNER, N. C.; YANG, R. P.; JIN, Y.; XI, Y.; ZHANG, C.; CUI, T.; FANG, X.; LI, F. M. Conserved water use improves the yield performance of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) under drought. **Agricultural Water Management**, v. 179, p. 236-245, 2017.

HE, J.; JIN, Y. I.; TURNER, N. C.; CHEN, Z.; LIU, H. Y.; WANG, X. L.; SIDDIQUE, K. H. M.; LI, F. M. Phosphorus application increases root growth, improves daily water use during the reproductive stage, and increases grain yield in soybean subjected to water shortage. **Environmental and Experimental Botany**, v. 166, p. 103816, 2019.

HEATH, R. L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 125, n. 1, p. 189-198, 1968.

HUANG, S.; MILLAR, A. Harvey. Succinate dehydrogenase: the complex roles of a simple enzyme. **Current opinion in plant biology**, v. 16, n. 3, p. 344-349, 2013.

JÄHNE, F.; HAHN, V.; WÜRSCHUM, T.; LEISER, W. L. Speed breeding short-day crops by LED-controlled light schemes. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 133, n. 8, p. 2335-2342, 2020.

KASOTE, D. M.; KATYARE, S. S.; HEGDE, M. V.; BAE, H. Significance of antioxidant potential of plants and its relevance to therapeutic applications. **International Journal of Biological Sciences**, v. 11, n. 8, p. 982, 2015.

KER, J. C. Latossolos do Brasil: Uma revisão. **Geonomos**, v.1, n 5., p. 17-40, 1997.

KHAN, F.; SIDDIQUE, A. B.; SHABALA, S.; ZHOU, M.; ZHAO, C. Phosphorus plays key roles in regulating plants' physiological responses to abiotic stresses. **Plants**, v. 12, n. 15, p. 2861, 2023.

KIM, H. J.; WINGE, D. R. Emerging concepts in the flavinylation of succinate dehydrogenase. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics**, v. 1827, n. 5, p. 627-636, 2013.

KLUGHAMMER, C.; SCHREIBER, U. Complementary PS II quantum yields calculated from simple fluorescence parameters measured by PAM fluorometry and the Saturation Pulse method. **PAM application Notes**, v. 1, n. 2, p. 201-247, 2008.

KONG, X.; SUN, L.; ZHOU, Y.; ZHANG, M.; LIU, Y.; PAN, J.; LI, D. ZMMKK4 regulates osmotic stress through reactive oxygen species scavenging in transgenic tobacco. **Plant Cell Reports**, v. 30, p. 2097-2104, 2011.

- KOPRIVA, S.; MALAGOLI, M.; TAKAHASHI, H. Sulfur nutrition: Impacts on plant development, metabolism, and stress responses. **Journal of Experimental Botany**, v. 70, n. 16, p. 4069-4073, 2019.
- KRAMER, D. M.; JOHNSON, G.; KIIRATS, O.; EDWARDS, G. E. New fluorescence parameters for the determination of QA redox state and excitation energy fluxes. **Photosynthesis Research**, v. 79, p. 209-218, 2004.
- KRAUSE, G. H.; WEIS, E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. **Annual Review of Plant Biology**, v. 42, n. 1, p. 313-349, 1991.
- KUTMAN, B. Y.; KUTMAN, U. B.; ÇAKMAK, I. Effects of seed nickel reserves or externally supplied nickel on the growth, nitrogen metabolites and nitrogen use efficiency of urea-or nitrate-fed soybean. **Plant and Soil**, v. 376, p. 261-276, 2014.
- LAMBERS, Hans. Phosphorus acquisition and utilization in plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 73, p. 17-42, 2022.
- LAVRES, J.; FRANCO, G. C.; CÂMARA, G. S. M. Soybean seed treatment with nickel improves biological nitrogen fixation and urease activity. **Frontiers in Environmental Science**, v. 4, p. 37, 2016.
- LEVY, C. D. C. B.; MELLIS, E. V.; MURRER, M. K.; INGLÉS, C. R.; DAYNES, C. N.; CAVALLI, E.; CHIBA, M. K. Effects of nickel fertilization on soybean growth in tropical soils. **Bragantia**, v. 78, p. 432-443, 2019.
- LI, M.; CHEN, R.; JIANG, Q.; SUN, X.; ZHANG, H.; HU, Z. GmNAC06, a NAC domain transcription factor enhances salt stress tolerance in soybean. **Plant Molecular Biology**, v. 105, p. 333-345, 2021.
- LIMA, J. V.; LOBATO, A. K. S. Brassinosteroids improve photosystem II efficiency, gas exchange, antioxidant enzymes and growth of cowpea plants exposed to water deficit. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 23, p. 59-72, 2017.
- LIMA, L. L.; BALBI, B. P.; MESQUITA, R. O.; SILVA, J. C. F.; COUTINHO, F. S.; CARMO, F. M. S.; VITAL, C. E.; MEHTA, A.; LOUREIRO, M. E.; FONTES, E. P.B.; BARROS, E. G.; RAMOS, H. J. O. Proteomic and metabolomic analysis of a drought tolerant soybean cultivar from Brazilian savanna. **Crop Breeding, Genetics and Genomics**, v. 1, n. 2, 2019.
- LISEC, J.; SCHAUER, N.; KOPKA, J.; WILLMITZER, L.; FERNIE, A. R. Gas chromatography mass spectrometry – based metabolite profiling in plants. **Nature Protocols**, v. 1, n. 1, p. 387-396, 2006.
- LIU, F.; JENSEN, C. R.; ANDERSEN, M. N. Drought stress effect on carbohydrate concentration in soybean leaves and pods during early reproductive development: its implication in altering pod set. **Field Crops Research**, v. 86, n. 1, p. 1-13, 2004.
- LOPES, J. L. W.; GUERRINI, I. A.; SILVA, M. R. D.; SAAD, J. C. C.; LOPES, C. F. Estresse hídrico em plantio de *Eucalyptus grandis* vs. *Eucalyptus urophylla*, em função do solo, substrato e manejo hídrico de viveiro. **Revista Árvore**, v. 35, p. 31-39, 2011.

MACEDO, F. G.; BRESOLIN, J. D.; SANTOS, E. F.; FURLAN, F.; SILVA, W. T. L.; POLACCO, J. C.; LAVRES, J. Nickel availability in soil as influenced by liming and its role in soybean nitrogen metabolism. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 1358, 2016.

MACEDO, F. G.; SANTOS, E. F.; LAVRES, J. Agricultural crop influences availability of nickel in the rhizosphere; a study on base cation saturations, Ni dosages and crop succession. **Rhizosphere**, v. 13, p. 100182, 2020.

MAHLOW, S.; ORZECOWSKI, S.; FETTKE, J. Starch phosphorylation: insights and perspectives. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 73, p. 2753-2764, 2016.

MALHOTRA, H.; VANDANA; SHARMA, S.; PANDEY, R. Phosphorus nutrition: plant growth in response to deficiency and excess. **Plant Nutrients and Abiotic Stress Tolerance**, p. 171-190, 2018.

MARTINS, T.; BARROS, A. N.; ROSA, E.; ANTUNES, L. Enhancing health benefits through chlorophylls and chlorophyll-rich agro-food: A comprehensive review. **Molecules**, v. 28, n. 14, p. 5344, 2023.

MASSOURA, S. T.; ECHEVARRIA, G.; BECQUER, T.; GHANBAJA, J.; LECLERC-CESSAC, E.; MOREL, J. L. Control of nickel availability by nickel bearing minerals in natural and anthropogenic soils. **Geoderma**, v. 136, n. 1-2, p. 28-37, 2006.

MATHOBO, R.; MARAIS, D.; STEYN, J. M. The effect of drought stress on yield, leaf gaseous exchange and chlorophyll fluorescence of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Agricultural Water Management**, v. 180, p. 118-125, 2017.

MAURI, J.; RUIZ, H. A.; FERNANDES, R. B. A.; KER, J. C.; REZENDE, L. R. M. Dispersantes químicos na análise granulométrica de Latossolos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, p. 1277-1284, 2011.

MEENA, M.; DIVYANSHU, K.; KUMAR, S.; SWAPNIL, P.; ZEHRRA, A.; SHUKLA, V.; YADAV, M.; UPADHYAY, R. S. Regulation of L-proline biosynthesis, signal transduction, transport, accumulation and its vital role in plants during variable environmental conditions. **Heliyon**, v. 5, n. 12, p. e02952, 2019.

MELLIS, E. V.; CRUZ, M. C. P.; CASAGRANDE, J. C. Nickel adsorption by soils in relation to pH, organic matter, and iron oxides. **Scientia Agricola**, v. 61, p. 190-195, 2004.

MESQUITA, R. O.; COUTINHO, F. S.; VITAL, C. E.; NEPOMUCENO, A. L.; WILLIAMS, T. C. R.; RAMOS, H. J. O.; LOUREIRO, M. E. Physiological approach to decipher the drought tolerance of a soybean genotype from Brazilian savana. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 151, p. 132-143, 2020.

MINUSSI WINCK, J. E.; SARMENTO, L. F. V.; ZANON, A. J.; LIBRELON, S. S.; GARCIA, A.; STRECK, N. A. Growth and transpiration of soybean genotypes with HaHB4® transcription factor for drought tolerance. **Physiologia Plantarum**, v. 174, n. 1, p. e13557, 2022.

MIR, M. A.; SIRHINDI, G.; ALYEMENI, M. N.; ALAM, P.; AHMAD, P. Jasmonic acid improves growth performance of soybean under nickel toxicity by regulating nickel uptake,

redox balance, and oxidative stress metabolism. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 37, p. 1195-1209, 2018.

MORALES, M.; MUNNÉ-BOSCH, S. Malondialdehyde: Facts and Artifacts. **Plant Physiology**, v. 180, n. 3, p. 1246-1250, 2019.

MUSTAFA, A.; ZULFIQAR, U.; MUMTAZ, M. Z.; RADZIEMSKA, M.; HAIDER, F. U.; HOLATKO, J.; HAMMERSHMIEDT, T.; NAVEED, M.; ALI, H.; KINTL, A.; SAEED, Q.; KUCERIK, J.; BRTNICKY, M. Nickel (Ni) phytotoxicity and detoxification mechanisms: A review. **Chemosphere**, p. 138574, 2023.

MUTAVA, R. N.; PRINCE, S. J. K.; SYED, N. H.; SONG, L.; VALLIYODAN, B.; CHEN, W.; NGUYEN, H. T. Understanding abiotic stress tolerance mechanisms in soybean: A comparative evaluation of soybean response to drought and flooding stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 86, p. 109-120, 2015.

NASCIMENTO, H. R.; MOURA, L. D. O.; DUARTE, A. B.; DANTAS, S. A. G.; FERREIRA, D. D. O.; ROSMANINHO, L. B. D. C.; CAVALLIN, I. C.; CUNHA, F. F. DA SILVA, F. L. A new methodological approach for simulating water deficit in soybean genotypes. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 207, n. 6, p. 946-955, 2021.

NIE, J.; PAN, Y.; SHI, J.; GUO, Y.; YAN, Z.; DUAN, X.; XU, M. A comparative study on the uptake and toxicity of nickel added in the form of different salts to maize seedlings. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 12, n. 12, p. 15075-15087, 2015.

NOGUEIRA, A. D. A.; MACHADO, P. D. A.; CARMO, C. D. S.; FERREIRA, J. R. **Manual de laboratórios: solo, água, nutrição vegetal, nutrição animal e alimentos: 1. coleta, acondicionamento e preparo de amostras**. São Carlos: EMBRAPA-CPPSE, 1998.

NOVAIS, R.F.; NEVES, J.C.L.; BARROS, N.F. Ensaio em ambiente controlado. In: OLIVEIRA, A.J.; GARRIDO, W.E.; ARAÚJO, J.D.; LOURENÇO, S. (coord.). **Métodos de pesquisa em fertilidade do solo**, Cap. 2, Brasília: EMBRAPA, 1991, 189-198.

NUNES, W. A. G. A.; KER, J. C.; SCHAEFER, C. E. G. R.; FERNANDES FILHO, E. I.; GOMES, F. H. Relação solo-paisagem-material de origem e gênese de alguns solos no domínio do "Mar de Morros", Minas Gerais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 25, p. 341-354, 2001.

NUNES-NESE, A.; CARRARI, F.; GIBON, Y.; SULPICE, R.; LYTOVCHENKO, A.; FISAHN, J.; FERNIE, A. R. Deficiency of mitochondrial fumarase activity in tomato plants impairs photosynthesis via an effect on stomatal function. **The Plant Journal**, v.50, n. 6, p. 1093–1106, 25 abr. 2007

OKORO, H.; K., FATOKI, O. S.; ADEKOLA, F. A.; XIMBA, B. J.; SNYMAN, R. G. A review of sequential extraction procedures for heavy metals speciation in soil and sediments. **Scientific Reports**, v. 1, n 3, p. 7-9, 2012.

OLIVEIRA, E. M. M.; RUIZ, H. A.; ALVAREZ V, V. H.; FERREIRA, P. A.; COSTA, F. O.; ALMEIDA, I. C. C. Nutrient supply by mass flow and diffusion to maize plants in response to soil aggregate size and water potential. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, p. 317-328, 2010.

OLIVEIRA, L. M.; ARAUJO, M. U.; SILVA, B. N.; CHAVES, J. A.; PINTO, L. F.; SILVEIRA, P. R.; RODRIGUES, F. A. Maize resistance to northern corn leaf blight is potentiated by nickel. **Plant Pathology**, v. 71, n. 2, p. 262-278, 2022.

PATRICK, J. C.; BOTHA, F. G.; BIRCH, R. Metabolic engineering of sugars and simple sugar derivatives in plants. **Plant Biotechnology Journal**, v. 11, n. 2, p. 142-156, 2013.

PENG, L.; LIU, P.; FENG, X.; WANG, Z.; CHENG, T.; LIANG, Y.; LIN, Z.; SHI, Z. Kinetics of heavy metal adsorption and desorption in soil: Developing a unified model based on chemical speciation. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 224, p. 282-300, 2018.

PERERA-CASTRO, A. V.; FLEXAS, J. The ratio of electron transport to assimilation ( $ETR/A_N$ ): Underutilized but essential for assessing both equipment's proper performance and plant status. **Planta**, v. 257, n. 2, p. 29, 2023.

PFISTER, B.; ZEEMAN, S. C. Formation of starch in plant cells. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 73, p. 2781-2807, 2016.

PRASAD, S. M.; DWIVEDI, R.; ZEESHAN, M. Growth, photosynthetic electron transport, and antioxidant responses of young soybean seedlings to simultaneous exposure of nickel and UV-B stress. **Photosynthetica**, v. 43, p. 177-185, 2005.

R Core Team. **R: A language and environment for statistical computing**. Versão 4.3.2. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2024. Disponível em: <<http://www.R-project.org>>. Data de acesso: 09 de fev. 2024.

RAJAIE, M.; KARIMIAN, N.; YASREBI, J. Nickel transformation in two calcareous soil textural classes as affected by applied nickel sulfate. **Geoderma**, v. 144, n. 1-2, p. 344-351, 2008.

RAJAPAKSHA, A. U.; VITHANAGE, M.; WEERASOORIYA, R.; DISSANAYAKE, C. B. Surface complexation of nickel on iron and aluminum oxides: A comparative study with single and dual site clays. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 405, p. 79-87, 2012.

RAO, D., E.; CHAITANYA, K. V. Changes in the antioxidant intensities of seven different soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) cultivars during drought. **Journal of food biochemistry**, v. 44, n. 2, p. e13118, 2020.

RATTIS, L.; BRANDO, P. M.; MACEDO, M. N.; SPERA, S. A.; CASTANHO, A. D.; MARQUES, E. Q.; COSTA, N. Q.; SILVEIRO, D. V.; COE, M. T. Climatic limit for agriculture in Brazil. **Nature Climate Change**, v. 11, n. 12, p. 1098-1104, 2021.

REIS, A. R.; BARCELOS, J. P. Q.; OSÓRIO, C. R. W. O.; SANTOS, E. F.; LISBOA, L. A. M.; SANTINI, J. M. K.; SANTOS, M. J. D., FURLANI JUNIOR, E.; COMPOS, M.; FIGUEIREDO, P. A. M., LAVRES, J.; GRATAO, P. L. A glimpse into the physiological, biochemical and nutritional status of soybean plants under Ni-stress conditions. **Environmental and Experimental Botany**, v. 144, p. 76-87, 2017.

RODAK, B. W.; MORAES, M. F. D.; PASCOALINO, J. A. L.; OLIVEIRA JUNIOR, A. D.; CASTRO, C. D.; PAULETTI, V. Methods to quantify nickel in soils and plant tissues. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 39, p. 788-793, 2015.

RODRÍGUEZ-JIMÉNEZ, T. D. J.; OJEDA-BARRIOS, D. L.; BLANCO-MACÍAS, F.; VALDEZ-CEPEDA, R. D.; PARRA-QUEZADA, R. Urease and nickel in plant physiology. **Revista Chapingo - Serie Horticultura**, v. 22, n. 2, p. 69-82, 2016.

ROSA, V. D. R.; SILVA, A. A. D.; BRITO, D. S.; PEREIRA JÚNIOR, J. D.; SILVA, C. O.; DAL-BIANCO, M.; OLIVEIRA, J. A. RIBEIRO, C. Drought stress during the reproductive stage of two soybean lines. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 55, 2020.

SACHAN, P.; LAL, N. An overview of nickel ( $\text{Ni}^{2+}$ ) essentiality, toxicity and tolerance strategies in plants. **Asian Journal of Biology**, v. 2, n. 4, p. 1-15, 2017

SARAIVA, M. P.; MAIA, C. F.; BATISTA, B. L.; LOBATO, A. D. S. Ionic homeostasis and redox metabolism upregulated by 24-epibrassinolide are crucial for mitigating nickel excess in soybean plants, enhancing photosystem II efficiency and biomass. **Plant Biology**, v. 25, n. 2, p. 343-355, 2023.

SCHEIBE, R. Malate valves to balance cellular energy supply. **Physiologia Plantarum**, v. 120, n. 1, p. 21-26, 2004.

SCHOLANDER, P. F.; BRADSTREET, E. D.; HEMMINGSEN, E. A.; HAMMEL, H. T. Sap Pressure in Vascular Plants: Negative hydrostatic pressure can be measured in plants. **Science**, v. 148, n. 3668, p. 339-346, 1965.

SELEIMAN, M. F., AL-SUHAIBANI, N., ALI, N., AKMAL, M., ALOTAIBI, M., REFAY, Y.; DINDAROUGLU, T.; ABDU-WAJID, H. H., BATTAGLIA, M. L. Drought stress impacts on plants and different approaches to alleviate its adverse effects. **Plants**, v. 10, n. 2, p. 259, 2021.

SELINSKI, J.; SCHEIBE, R. Malate valves: old shuttles with new perspectives. **Plant Biology**, v. 21, p. 21-30, 2019.

SETUBAL, I. S.; ANDRADE JÚNIOR, A. S. D.; SILVA, S. P. D.; RODRIGUES, A. C.; BONIFÁCIO, A.; SILVA, E. H. F. M. D.; VIEIRA, P. F. M. J.; MIRANDA, R. S.; MENZA, N. C. L.; SOUZA, H. A. D. Macro and Micro-Nutrient Accumulation and Partitioning in Soybean Affected by Water and Nitrogen Supply. **Plants**, v. 12, n. 9, p. 1898, 2023.

SHAHEEN, T.; MAHMOOD-UR R.; RIAZ, M. S.; ZAFAR, Y.; MEHBOOB-UR- R. Soybean production and drought stress. In: MIRANSARI, M. (ed.). **Abiotic and Biotic Stresses in Soybean Production**. London: Academic Press, 2016. Cap. 8, p. 177-196.

SHI, Z.; PELTIER, E.; SPARKS, D. L. Kinetics of Ni sorption in soils: roles of soil organic matter and Ni precipitation. **Environmental Science & Technology**, v. 46, n. 4, p. 2212-2219, 2012.

SILVA, E. C.; NOGUEIRA, R. J. M. C.; SILVA, M. A.; ALBUQUERQUE, M. B. Drought stress and plant nutrition. **Plant Stress**, v. 5, n. 1, p. 32-41, 2011.

SILVA, J. A.; CARVALHO, L. G.; ANDRADE, F. R. Gas exchange and water stress index in soybean cultivated under water deficit and soil compaction. **Revista Ceres**, v. 69, p. 218-226, 2022.

SILVEIRA, M. L.; ALLEONI, L. R. F.; O'CONNOR, G. A.; CHANG, A. C. Heavy metal sequential extraction methods — A modification for tropical soils. **Chemosphere**, v. 64, n. 11, p. 1929-1938, 2006.

SILVENTE, S.; SOBOLEV, A. P.; LARA, M. Metabolite adjustments in drought tolerant and sensitive soybean genotypes in response to water stress. **PLoS One**, v. 7, n. 6, p. e38554, 2012.

SIRHINDI, G.; MIR, M. A.; ABD-ALLAH, E. F.; AHMAD, P.; GUCEL, S. Jasmonic acid modulates the physio-biochemical attributes, antioxidant enzyme activity, and gene expression in *Glycine max* under nickel toxicity. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 591, 2016.

SOUSA, L. F.; MENEZES-SILVA, P. E.; LOURENÇO, L. L.; GALMÉS, J.; GUIMARÃES, A. C.; SILVA, A. F.; LIMA, A.; P. R.; HENNING, L. M. M.; COSTA, A. C.; SILVA, F., G.; FARNESE, F. D. S. Improving water use efficiency by changing hydraulic and stomatal characteristics in soybean exposed to drought: the involvement of nitric oxide. **Physiologia Plantarum**, v. 168, n. 3, p. 576-589, 2020.

SOUZA, L. T.; CASTRO, S. A. Q.; ANDRADE, J. F.; POLITANO, A. A.; MENEGHETTI, E. C.; FAVARIN, J. L.; ALMEIDA, M.; MAZZAFERA, P. Drought stress induces changes in the physiology and root system of soybean plants. **Brazilian Journal of Botany**, v. 44, n. 4, p. 779-789, 2021.

SWOCZYNA, T.; KALAJI, H. M.; BUSSOTTI, F.; MOJSKI, J.; POLLASTRINI, M. Environmental stress-what can we learn from chlorophyll a fluorescence analysis in woody plants? A review. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 1048582, 2022.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPH, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed Editora, 2017. 858 p.

TAVARES, C. J.; RIBEIRO JUNIOR, W. Q.; RAMOS, M. L. G.; PEREIRA, L. F.; CASARI, R. A. D. C. N.; PEREIRA, A. F.; MERTZ-HENNING, L. M. Water stress alters morphophysiological, grain quality and vegetation indices of soybean cultivars. **Plants**, v. 11, n. 4, p. 559, 2022.

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S. J. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 2. ed. Porto Alegre: Departamento de Solos. UFRGS, 1995. 174 p.

THE, S. V.; SNYDER, R.; TEGEDER, M. Targeting nitrogen metabolism and transport processes to improve plant nitrogen use efficiency. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 628366, 2021.

THOR, Kathrin. Calcium - nutrient and messenger. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, p. 440, 2019.

TIECHER, T. L.; CERETTA, C. A.; TIECHER, T.; FERREIRA, P. A.; NICOLOSO, F. T.; SORIANI, H. H.; ROSSATO, L. V.; MIMMO, T.; CESCO, S.; LOURENZI, C. R.; GIACHINI, A. J.; BRUNETTO, G. Effects of zinc addition to a copper-contaminated vineyard soil on sorption of Zn by soil and plant physiological responses. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 129, p. 109-119, 2016.

TOMAR, R. S.; KATARIA, S.; JAJOO, A. Behind the scene: critical role of reactive oxygen species and reactive nitrogen species in salt stress tolerance. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 207, n. 4, p. 577-588, 2021.

TRENBERTH, Kevin E. Changes in precipitation with climate change. **Climate Research**, v. 47, n. 1-2, p. 123-138, 2011.

TRINH, M. D. L.; MASUDA, S. Chloroplast pH homeostasis for the regulation of photosynthesis. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 919896, 2022.

TRIVEDI, P.; AXE, L. Ni and Zn sorption to amorphous versus crystalline iron oxides: macroscopic studies. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 244, n. 2, p. 221-229, 2001.

UNITED STATE ENVIRONMENT AGENCY - USEPA. Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils and oils - SW-846 EPA method 3051A. In: Test methods for evaluating solid waste, 3rd Update. Washington: US Environmental Protection Agency. Disponível em: <[https:// www.epa.gov/esam/us-epa-method-3051a-microwave-assisted-acid-digestion-sediments-sludges-and-oils](https://www.epa.gov/esam/us-epa-method-3051a-microwave-assisted-acid-digestion-sediments-sludges-and-oils)>. Data de acesso: 10 de fev. 2024.

URE, A. M.; DAVIDSON, C. M. (Ed.). **Chemical Speciation in the Environment**. 2. ed. Glasgow: Department of Pure and Applied Chemistry, University of Strathclyde John, 2001.

VARONE, L.; GRATANI, L. Leaf respiration responsiveness to induced water stress in Mediterranean species. **Environmental and Experimental Botany**, v. 109, p. 141-150, 2015.

VERNETTI, F.; VERNETTI JUNIOR, F. Qualitative traits in breeding. In: SILVA, F. L.; SEDIYAMA, A. B. T.; LUDKE, W. H. (Ed). **Soybean breeding**. 1. ed. Cham: Springer Nature, 2017, cap. 5, p. 55-79.

VITAL, R. G.; MÜLLER, C.; FREIRE, F. B. S.; SILVA, F. B.; BATISTA, P. F.; FUENTES, D.; RODRIGUES, A. A.; MOURA, L. M. F.; DALOSO, D. M.; SILVA, A. A.; MERCHANT, A.; COSTA, A. C Metabolic, physiological and anatomical responses of soybean plants under water deficit and high temperature condition. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 16467, 2022.

WANG, X.; LI, Y.; WANG, X.; LI, X.; DONG, S. Physiology and metabonomics reveal differences in drought resistance among soybean varieties. **Botanical Studies**, v. 63, n. 1, p. 1-15, 2022a.

WANG, X.; WU, Z., ZHOU, Q.; WANG, X.; SONG, S.; DONG, S. Physiological response of soybean plants to water deficit. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, p. 809692, 2022b.

WEI, T., SIMKO V. R package 'corrplot': Visualization of a Correlation Matrix. Version 0.92, 2021. Disponível em: <<https://github.com/taiyun/corrplot>>. Data de acesso: 09 de fev. 2024.

WELLBURN, A. R. The Spectral Determination of Chlorophylls a and b, as well as Total Carotenoids, Using Various Solvents with Spectrophotometers of Different Resolution. **Journal of Plant Physiology**, v. 144, n. 3, p. 307-313, 1994.

WOO, N. S.; BADGER, M. R.; POGSON, B. J. A rapid, non-invasive procedure for quantitative assessment of drought survival using chlorophyll fluorescence. **Plant Methods**, v. 4, p. 1-14, 2008.

WOOD, B. W. Nickel. In: BARKER, A. V.; PILBEAM, D. J. (Eds.). **Handbook of Plant Nutrition**. 2. Ed. Boca Raton: CRC press, 2015, cap. 14, p. 511-536.

XIA, H.; XU, T.; ZHANG, J.; SHEN, K.; LI, Z.; LIU, J. Drought-induced responses of nitrogen metabolism in *Ipomoea batatas*. **Plants**, v. 9, n. 10, p. 1341, 2020.

XIA, L.; YANG, L.; SUN, N.; LI, J.; FANG, Y.; WANG, Y. Physiological and antioxidant enzyme gene expression analysis reveals the improved tolerance to drought stress of the somatic hybrid offspring of *Brassica napus* and *Sinapis alba* at vegetative stage. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 38, p. 1-10, 2016.

XIONG, R.; LIU, S.; CONSIDINE, M. J.; SIDDIQUE, K. H.; LAM, H. M.; CHEN, Y. Root system architecture, physiological and transcriptional traits of soybean (*Glycine max L.*) in response to water deficit: A review. **Physiologia Plantarum**, v. 172, n. 2, p. 405-418, 2021.

YAMORI, W.; SAKATA, N.; SUZUKI, Y.; SHIKANAI, T.; MAKINO, A. Cyclic electron flow around photosystem I via chloroplast NAD(P)H dehydrogenase (NDH) complex performs a significant physiological role during photosynthesis and plant growth at low temperature in rice. **The Plant Journal**, v. 68, n. 6, p. 966-976, 2011.

YANG, W.; WU, T.; ZHANG, X.; SONG, W.; XU, C.; SUN, S.; HOU, W.; JIANG, B.; HA, T.; WU, C. Critical photoperiod measurement of soybean genotypes in different maturity groups. **Crop Science**, v. 59, n. 5, p. 2055-2061, 2019.

YEMM, E. W.; COCKING, E. C.; RICKETTS, R. E. The determination of aminoacids with ninhydrin. **The Analyst**, v. 80, n. 948, p. 209, 1955.

YORINORI, J. T. **Cancro da haste da soja: epidemiologia e controle**. EMBRAPA-CNPSo. Circular Tecnica, 1996.

ZANON, A. J.; SILVA, M. D.; TAGLIAPIETRA, E. L.; CERA, J. C.; BEXAIRA, K. P.; RICHTER, G. L.; JUNIOR, A. J. D.; ROCHA, T. S. M.; WEBER, P. S.; STRECK, N. A. **Ecofisiologia da soja: visando altas produtividades**. 2. ed. Santa Maria: Palloti, 2018. 432 p.

ZHANG, Y.; FERNIE, A. R. On the role of the tricarboxylic acid cycle in plant productivity. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 60, n. 12, p. 1199-1216, 2018.

ZILLI, M.; SCARABELLO, M.; SOTERRONI, A. C.; VALIN, H.; MOSNIER, A.; LECLERE, D.; HAVLIK, P.; KRAXNER, F.; LOPES, M. A.; RAMOS, F. M. The impact of climate change on Brazil's agriculture. **Science of the Total Environment**, v. 740, p. 139384, 2020.

ZIMMERMAN, A. J.; WEINDORF, D. C. Heavy metal and trace metal analysis in soil by sequential extraction: a review of procedures. **International Journal of Analytical Chemistry**, v. 2010, p. ID387803, 2010.

## APÊNDICE – A Informações metodológicas suplementares

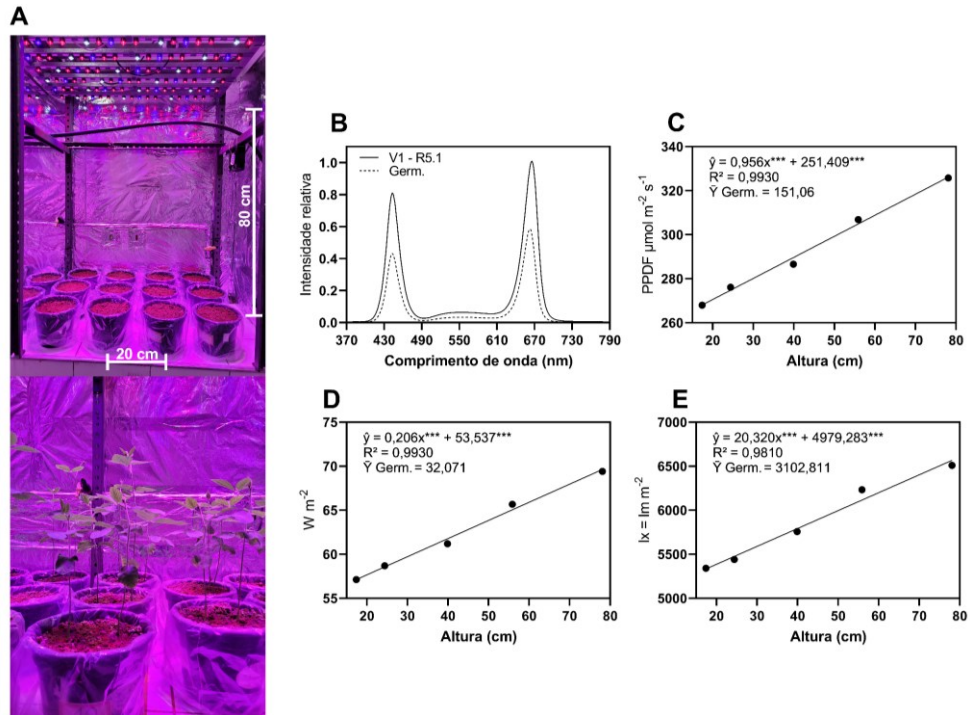
Tabela S1. Densidade de fluxo de prótons por espectro emitido pelo LED com base na altura entre inserção do caule rente ao solo e a altura máxima antes da fonte de luz.

Momento	PFD-B	PFD-FR	PFD-G	PFD-R	PFD-UV	PFD
----- μmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> -----						
<b>Germ. - VC</b>	0,158	43,38	13,33	94,56	1,70	153,14
<b>V1 - R5.1</b>						
<b>Altura (cm)<sup>1</sup></b>						
<b>17,4</b>	79,33	3,90	23,38	165,13	0,35	272,09
<b>24,4</b>	80,44	4,06	23,53	172,30	0,36	280,69
<b>39,9</b>	85,28	4,70	25,65	175,66	0,42	291,72
<b>55,9</b>	92,32	5,32	28,06	186,47	0,48	312,66
<b>78,1</b>	99,38	3,59	29,15	197,26	0,27	329,66
<b>Equação</b>						
<b>PDF-B</b>	$\hat{y} = 0,3431x^{***} + 72,549$					$R^2 = 0,9924$
<b>PFD-FR</b>	$\hat{y} = -0,0015x^{2**} + 0,1421x^* + 1,6691$					$R^2 = 0,8488$
<b>PFD-G</b>	$\hat{y} = 0,1043x^{***} + 21,455$					$R^2 = 0,9619$
<b>PFD-R</b>	$y = 0,5093x^{***} + 157,39$					$R^2 = 0,9811$
<b>PFD-UV</b>	$\hat{y} = -0,0002x^{2***} + 0,015x^* + 0,1141$					$R^2 = 0,8431$
<b>PFD</b>	$\hat{y} = 0,957x^{***} + 256,08$					$R^2 = 0,9913$

<sup>1</sup>Zona de crescimento de aproximadamente 80 cm. PFD: Densidade de fluxo de fótons. PFD-B: Densidade de fluxo de fótons no campo azul. PFD-FR: Densidade de fluxo de fótons no campo do vermelho distante. PFD-G: Densidade de fluxo de fótons no campo verde. PFD-R: Densidade de fluxo de fótons no campo vermelho. PFD-UV: Densidade de fluxo de fótons no campo ultravioleta. PFD: A soma total da densidade de fluxo de fótons. Notas: \*\*, \* e <sup>ns</sup> níveis de significância pelo teste Fisher ao p-valor de <0,01, <0,05 e não significativo, respectivamente.

Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

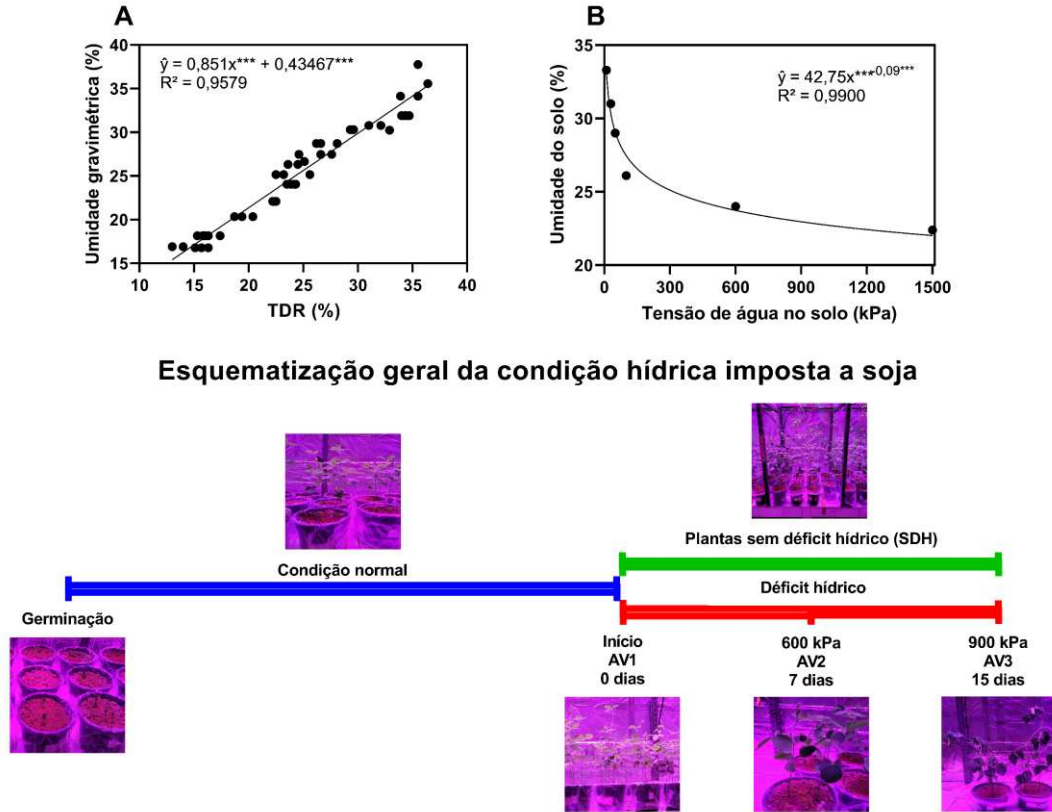
Figura S2. Exemplo da organização das parcelas experimentais dentro de um bloco de correção de erro local (A) e os atributos da emissão de luz pelo módulo de LED na etapa de germinação e durante o crescimento da soja entre os estádios V1 e R5.1 com base na altura do dossel da soja (B, C, D e E).



Notas: \*\*\*: Significância dos coeficientes de regressão pelo teste F ( $p < 0,001$ ). PPDF: densidade de fluxo de fótons fotossintéticos. W: Irradiância. lx: Iluminância. Estádio fenológico de acordo com Fehr e Caviness (1977).

Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

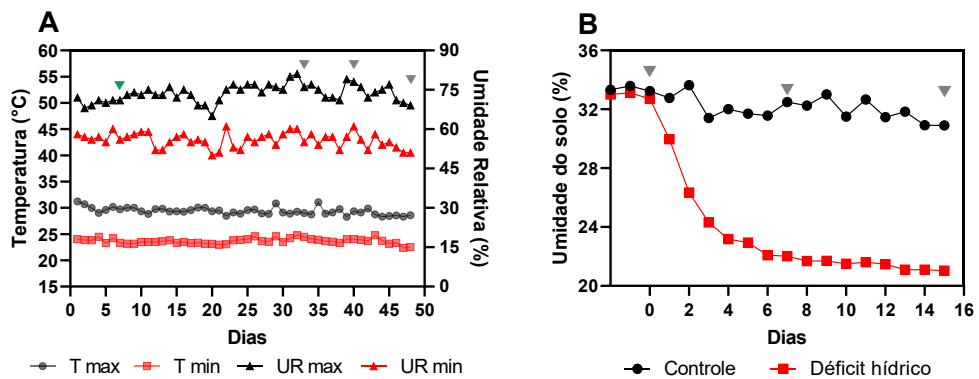
Figura S3. Esquema detalhando a calibração da sonda reflectômetro no domínio do tempo (TDR) (A), curva característica de água no solo (B) e manejo hídrico as plantas de soja.



Notas: \*\*\*: Significância dos coeficientes de regressão pelo teste F ( $p < 0,001$ ).

Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

Figura S4. Variação na temperatura e umidade relativa do ar, máxima e mínima, da câmara de crescimento ao longo dos 48 dias de ensaio experimental (A) e o declínio do nível de água no solo após a indução do déficit hídrico (B) obtido por TDR e ajustado posteriormente.



▼: Final do período de emergência e ocorrência de desbaste. ▼: Corresponde aos momentos de avaliação. T: Temperatura, em graus Celsius. UR: Umidade relativa do ar (%). Max: Máxima. Min: Mínima.

Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

## APÊNDICE – B TROCAS GASOSAS E FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA “a”

Tabela S2. Resumo da análise de variância das trocas gasosas e uso dos recursos hídricos pelas plantas de soja.

Momento	Quadrado médio					CV
	Ni (A)	Condição hídrica (B)	Bloco	A x B	Resíduo	
	<b>A</b>					
AV1	10,8466 °	1,3883 ns	195,5729 **	2,1202 ns	5,2134	9,94%
AV2 <sup>1</sup>	1,7518 ns	2330,6615 **	4,3999 ns	2,6228 ns	2,818	12,74%
AV3 <sup>1</sup>	4,5991 ns	2256,9659 **	36,538 **	1,7297 ns	3,8022	16,05%
	<b>G<sub>s</sub></b>					
AV1	0,0057 °	0,0036 ns	0,0368 **	0,0013 ns	0,0024	26,00%
AV2 <sup>1</sup>	8e-04 ns	1,1109 **	0,0096 **	8e-04 ns	0,0025	29,48%
AV3 <sup>1</sup>	0,0115 °	1,1643 **	0,0044 ns	0,0093 ns	0,0058	45,22%
	<b>C<sub>i</sub></b>					
AV1	13693,0 °	8919,0 ns	147104,0 **	5492,0 ns	6365,0	15,15%
AV2 <sup>1</sup>	2850,7446 ns	630510,2736 **	123796,3782 **	4009,7586 ns	8628,544	20,22%
AV3 <sup>1</sup>	2427,9723 ns	397602,8342 **	52894,5219 **	994,1252 ns	3874,664	16,99%
	<b>E</b>					
AV1	0,9818 °	0,3417 ns	3,7731 **	0,3562 ns	0,4429	24,55%
AV2 <sup>1</sup>	0,2083 ns	321,2631 **	0,7968 °	0,154 ns	0,3812	19,27%
AV3 <sup>1</sup>	1,5822 ns	274,2624 **	0,6815 ns	1,0069 ns	0,8558	31,54%
	<b>EUA</b>					
AV1	19,6389 *	0,7288 ns	28,1440 ***	1,6555 ns	6,4472	27,73%
AV2 <sup>1</sup>	3,8233 ns	421,0838 **	9,7785 °	1,9845 ns	4,1756	32,78%
AV3 <sup>1</sup>	1,7668 ns	199,1612 **	28,5978 **	3,3225 ns	3,0968	30,67%
	<b>EC</b>					
AV1	2,2e-04 *	1,6e-05 ns	3,2e-03 **	5,2e-05 ns	6,8e-05	17,53%
AV2 <sup>1</sup>	1e-04 ns	0,002 **	6e-04 *	1e-04 ns	2,00e-04	46,94%
AV3 <sup>1</sup>	0,0001 ns	0,0058 **	1e-04 ns	0,0001 ns	1,00e-04	31,35%

<sup>1</sup>O desdobramento da interação Ni x Condição hídrica foi realizada independentemente do nível de significância da interação. \*\*, \* e ns: Níveis de significância de <0,01, <0,05, <0,1 e não significativo pelo teste de Fisher. CV: Coeficiente de variação. Moderado e Severo: Equivalente a tensão de água no solo de 600 e 900 kPa, respectivamente. A: Taxa de assimilação de CO<sub>2</sub>. G<sub>s</sub>: Condutância estomática. C<sub>i</sub>: Concentração interna de CO<sub>2</sub>. E: Taxa de transpiração. EUA: Eficiência do uso da água. EC: Eficiência da carboxilação. AV1: Avaliação antes do déficit hídrico em estágio R2. AV2: Segunda avaliação ao 8° após o início do déficit hídrico (estádio R3). AV3: Terceira avaliação ao 15° dia após o início do déficit hídrico (Estádio R5.1). Estádio fenológico reprodutivo R2, R3 e R5.1 de acordo com Fehr e Caviness (1977) e Yorinori (1996).

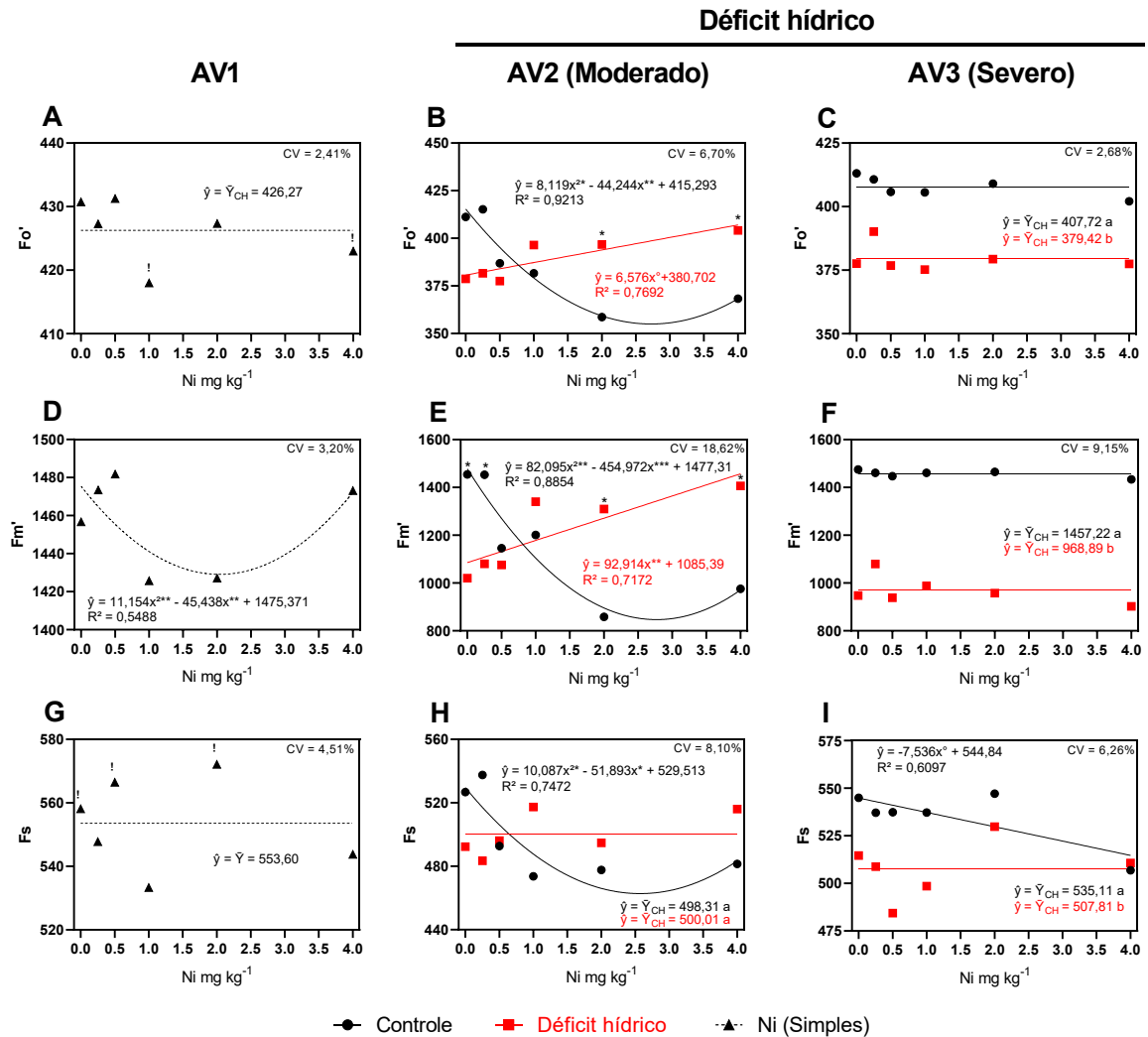
Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

Tabela S3. Resumo da análise de variância para os atributos diretos da fluorescência da clorofila “a” na soja sob déficit hídrico.

Momento	Quadrado médio					CV
	Ni (A)	Condição hídrica (B)	Bloco	A x B	Resíduo	
			<b>Fo'</b>			
AV1	253,2811 °	39,7096 ns	516,0474 **	24,2846 ns	105,3139	2,41%
AV2 <sup>1</sup>	602,3937 ns	73,4857 ns	902,2633 ns	2600,1154 **	675,1273	6,70%
AV3 <sup>1</sup>	160,5687 ns	12011,3409 **	43,712 ns	66,2666 ns	111,251	2,68%
			<b>Fm'</b>			
AV1	6031,788 *	740,045 ns	9961,387 **	3195,4192 ns	2167,977	3,20%
AV2 <sup>1</sup>	64183,7783 ns	8757,1838 ns	78352,8311 ns	368197,302 **	49363,04	18,62%
AV3 <sup>1</sup>	11762,3019 ns	3576890,9482 **	25297,1628 ns	7901,4585 ns	12322,9	9,15%
			<b>Fs</b>			
AV1	2140,1665 *	709,2158 ns	4605,8678 **	960,3995 ns	622,8258	4,51%
AV2 <sup>1</sup>	882,2737 ns	43,0197 ns	253,1629 ns	3752,6444 °	1633,062	8,10%
AV3 <sup>1</sup>	1291,3203 ns	11175,5871 **	2544,7197 °	932,5146 ns	1065,882	6,26%
			<b>Fv'/Fm'</b>			
AV1	2e-04 *	6e-07 ns	1e-04 ns	1e-04 ns	1,00E-04	1,26%
AV2 <sup>1</sup>	0,0047 ns	0,0019 ns	0,0061 °	0,0195 **	0,0027	7,88%
AV3 <sup>1</sup>	0,0011 ns	0,2147 **	0,0046 **	0,0011 ns	0,0012	5,25%
			<b>Fv'</b>			
AV1	5025,7358 *	436,9025 ns	6695,3632 *	2951,5222 ns	1807,292	4,13%
AV2 <sup>1</sup>	53741,2613 ns	7226,2658 ns	63741,5821 ns	309170,672 **	39251,64	24,60%
AV3 <sup>1</sup>	9637,6514 ns	3174350,6916 **	25512,2761 °	7009,4373 ns	10797,04	12,68%
			<b>Fo</b>			
AV1	3079,6154 **	8,6233 ns	1541,2138 *	50,5366 ns	488,7924	30,52%
AV2 <sup>1</sup>	8730,6477 ns	2442,0449 ns	24606,6635 **	1139,889 ns	5543,628	45,55%
AV3 <sup>1</sup>	4666,5142 ns	1737,1945 ns	8968,4993 °	7852,0867 °	3746,409	44,20%
			<b>Fm</b>			
AV1	3160,5888 ns	4810,6785 ns	7497,6681 **	464,4689 ns	1925,725	2,08%
AV2 <sup>1</sup>	2291,2308 ns	12223,6554 °	1883,4908 ns	385,8807 ns	3563,979	2,80%
AV3 <sup>1</sup>	3334,3625 ns	84918,2485 **	5935,8696 ns	2472,2276 ns	3472,358	2,76%
			<b>Fv/Fm</b>			
AV1	7e-04 **	0,000001 ns	3e-04 *	0,000011 ns	1,00E-04	1,08%
AV2 <sup>1</sup>	0,002 ns	7e-04 ns	0,0055 **	2e-04 ns	0,0012	3,75%
AV3 <sup>1</sup>	0,0011 ns	8e-04 ns	0,002 °	0,0018 °	8,00E-04	3,02%
			<b>Fv</b>			
AV1	20432,5942**	13098,2303 ns	14534,6003 *	4268,089 ns	5342,289	3,63%
AV2 <sup>1</sup>	10210,3055 ns	25592,8619 °	31704,606 **	1834,2751 ns	7,59E+03	4,43%
AV3 <sup>1</sup>	11353,5774 ns	110946,9648 **	13777,3866 ns	10552,8916 ns	7343,529	4,29%

<sup>1</sup>O desdobramento da interação Ni x Condição hídrica foi realizada independentemente do nível de significância da interação. \*\*, \* e ns: Níveis de significância de <0,01, <0,05, <0,1 e não significativo pelo teste de Fisher. CV: Coeficiente de variação. Moderado e Severo: Equivalente a tensão de água no solo de 600 e 900 kPa, respectivamente. Fo': Fluorescência inicial adaptada à luz. Fm': Fluorescência máxima adaptada à luz. Fs: Fluorescência no estado estacionário. Fv'/Fm': Eficiência de captura de excitação dos centros de reação do PSII abertos. Fv': Fluorescência máxima variável adaptada à luz. Fo: Fluorescência inicial no escuro. Fm: fluorescência máxima adaptado ao escuro. Fv/Fm: Máxima eficiência quântica do PSII. Fv: Fluorescência máxima variável adaptada ao escuro. AV1: Avaliação antes do déficit hídrico em estágio R2. AV2: Segunda avaliação ao 8° após o início do déficit hídrico (estádio R3). AV3: Terceira avaliação ao 15° dia após o início do déficit hídrico (Estádio R5.1). Estádio fenológico reprodutivo R2, R3 e R5.1 de acordo com Fehr e Caviness (1977) e Yorinori (1996). Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

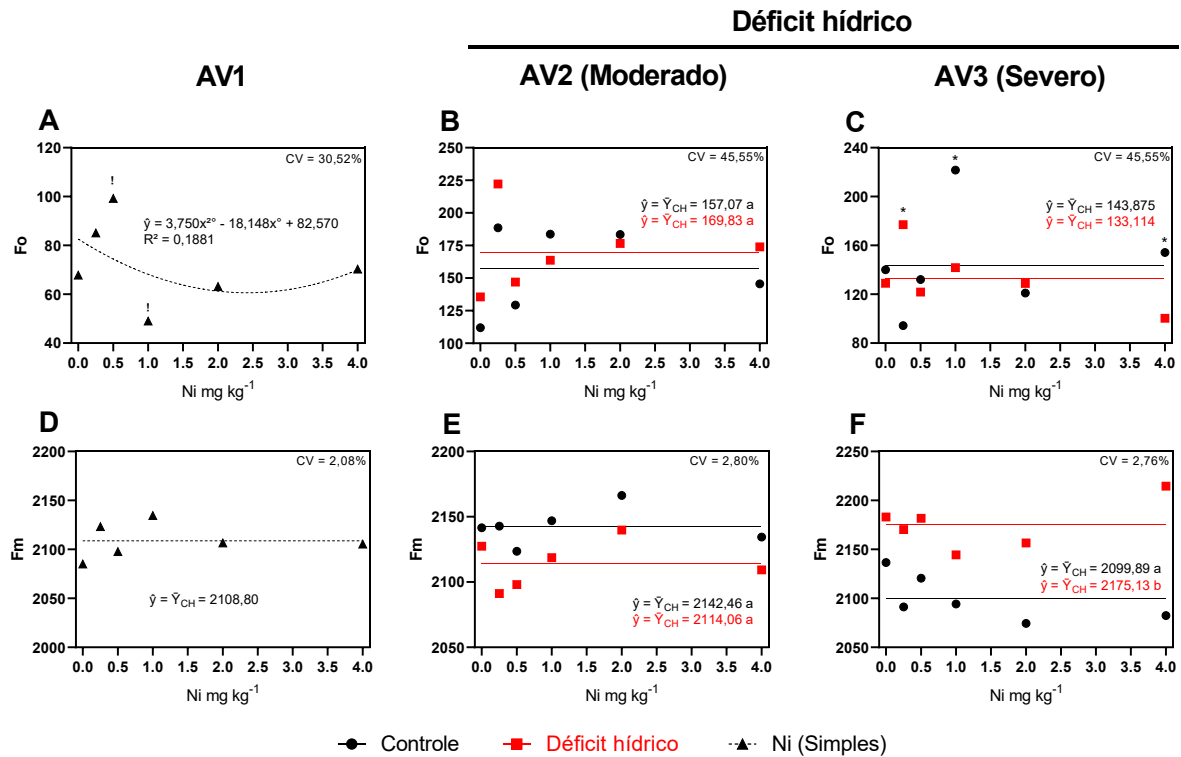


Figura S3. Efeito da aplicação de níquel na soja antes e após o déficit hídrico em  $F_o'$ ,  $F_m'$  e  $F_s$ .

Notas: \*\*\*, \*\*, \*, ° e ns: Significância dos coeficientes de regressão pelo teste de F a p-valor de <0,001, <0,01, <0,05, <0,1 e não significativo, respectivamente. Doses seguidas de <sup>1</sup> foram esteticamente agrupadas em conjunto pelo teste Scott Knott ( $p < 0,1$ ). Pontuações com \* imediatamente em cima indica que houve diferença estatística ( $p < 0,1$ ) entre a condição hídrica imposta. CV: Coeficiente de variação. Moderado e Severo: Equivalente a tensão de água no solo de 600 e 900 kPa, respectivamente.  $F_o'$ : Fluorescência inicial adaptada à luz.  $F_m'$ : Fluorescência máxima adaptada à luz.  $F_s$ : Fluorescência no estado estacionário. AV1: Avaliação antes do déficit hídrico em estágio R2. AV2: Segunda avaliação ao 8° após o início do déficit hídrico (estádio R3). AV3: Terceira avaliação ao 15° dia após o início do déficit hídrico (Estádio R5.1). Estádio fenológico reprodutivo R2, R3 e R5.1 de acordo com Fehr e Caviness (1977) e Yorinori (1996).

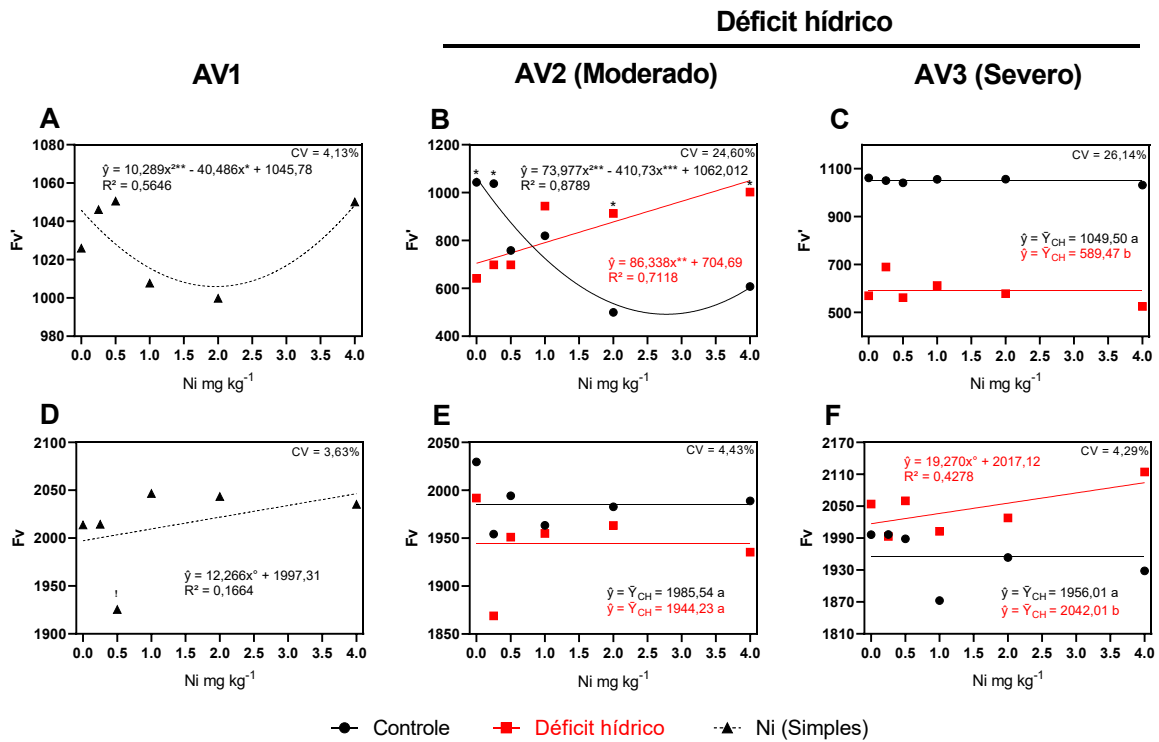
Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

Figura S4. Efeito da aplicação de doses crescentes de níquel no solo antes do plantio da soja antes e após o déficit hídrico em  $F_o$  e  $F_m'$ .



Notas: \*\*\*, \*\*, \*, ° e ns: Significância dos coeficientes de regressão pelo teste de F a p-valor de <0,001, <0,01, <0,05, <0,1 e não significativo, respectivamente. Doses seguidas de <sup>1</sup> foram esteticamente agrupadas em conjunto pelo teste Scott Knott ( $p < 0,1$ ). Pontuações com \* imediatamente em cima indica que houve diferença estatística ( $p < 0,1$ ) entre a condição hídrica imposta. CV: Coeficiente de variação. Moderado e Severo: Equivalente a tensão de água no solo de 600 e 900 kPa, respectivamente.  $F_o$ : Fluorescência inicial no escuro.  $F_m'$ : fluorescência máxima adaptado ao escuro. AV1: Avaliação antes do déficit hídrico em estágio R2. AV2: Segunda avaliação ao 8° após o início do déficit hídrico (estádio R3). AV3: Terceira avaliação ao 15° dia após o início do déficit hídrico (Estádio R5.1). Estádio fenológico reprodutivo R2, R3 e R5.1 de acordo com Fehr e Caviness (1977) e Yorinori (1996). Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

Figura S5.  $Fv'$  e  $Fv$  das plantas de soja antes e após o déficit hídrico que receberam doses crescentes de Ni antes do plantio.



Notas: \*\*\*, \*\*, \*, ° e ns: Significância dos coeficientes de regressão pelo teste de F a p-valor de <0,001, <0,01, <0,05, <0,1 e não significativo, respectivamente. Doses seguidas de <sup>1</sup> foram esteticamente agrupadas em conjunto pelo teste Scott Knott (p<0,1). Pontuações com \* imediatamente em cima indica que houve diferença estatística (p<0,1) entre a condição hídrica imposta. CV: Coeficiente de variação. Moderado e Severo: Equivalente a tensão de água no solo de 600 e 900 kPa, respectivamente.  $Fv'$ : Fluorescência máxima variável adaptada à luz.  $Fv$ : Fluorescência máxima variável adaptada ao escuro. CV: Coeficiente de variação. Estádio fenológico reprodutivo R2, R3 e R5.1 de acordo com Fehr e Caviness (1977) e Yorinori (1996).

Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

## APÊNDICE – C ASPECTOS METABÓLICOS E FISIOLÓGICOS DA SOJA

Tabela S5. Análise de variância dos pigmentos da folha da soja, cultivada com doses de Ni, antes e após o déficit hídrico.

Momento	Quadrado médio					CV
	Ni (A)	Condição hídrica (B)	Bloco	A x B	Resíduo	
<b>Chl A</b>						
AV1	931807,7105 <sup>ns</sup>	163,5481 <sup>ns</sup>	371503,80 <sup>ns</sup>	1859254,42 <sup>*</sup>	690905,9	16,58%
AV2 <sup>1</sup>	358963,8105 <sup>ns</sup>	309277,0651 <sup>ns</sup>	763611,66 <sup>ns</sup>	468869,55 <sup>ns</sup>	571548,2	14,90%
AV3 <sup>1</sup>	1066606,745 <sup>o</sup>	8710300,09 <sup>**</sup>	709296,10 <sup>ns</sup>	304850,05 <sup>ns</sup>	536288,1	13,36%
<b>Chl B</b>						
AV1	199079,5297 <sup>ns</sup>	8894,3245 <sup>ns</sup>	55124,206 <sup>ns</sup>	302640,588 <sup>*</sup>	111021,9	14,17%
AV2 <sup>1</sup>	156762,7945 <sup>ns</sup>	86890,9815 <sup>ns</sup>	109890,15 <sup>ns</sup>	58910,679 <sup>ns</sup>	96713,9	13,43%
AV3 <sup>1</sup>	275570,5837 <sup>o</sup>	1502036,26 <sup>**</sup>	169088,21 <sup>ns</sup>	52063,81 <sup>ns</sup>	118573	13,77%
<b>Chl a + b</b>						
AV1	1989772,001 <sup>ns</sup>	6645,906 <sup>ns</sup>	710692,58 <sup>ns</sup>	3645969,92 <sup>*</sup>	1346187	15,76%
AV2 <sup>1</sup>	979082,7814 <sup>ns</sup>	724019,153 <sup>ns</sup>	1443975,5 <sup>ns</sup>	828474,08 <sup>ns</sup>	1128035	14,37%
AV3 <sup>1</sup>	2391320,100 <sup>o</sup>	17446517,04 <sup>**</sup>	1544517,3 <sup>ns</sup>	580997,60 <sup>ns</sup>	1144606	13,40%
<b>Chl a/b</b>						
AV1	0,0013 <sup>ns</sup>	0,0115 <sup>ns</sup>	0,0047 <sup>ns</sup>	0,0134 <sup>ns</sup>	0,0067	3,85%
AV2 <sup>1</sup>	0,0184 <sup>*</sup>	0,0029 <sup>ns</sup>	0,0087 <sup>ns</sup>	0,0195 <sup>*</sup>	0,006	3,54%
AV3 <sup>1</sup>	0,0119 <sup>*</sup>	0,0167 <sup>o</sup>	0,0082 <sup>ns</sup>	0,0096 <sup>o</sup>	0,0048	3,16%
<b>Carotenoides</b>						
AV1	82823,0549 <sup>ns</sup>	3272,7366 <sup>ns</sup>	38882,34 <sup>ns</sup>	190079,909 <sup>*</sup>	65306,9	15,13%
AV2 <sup>1</sup>	22020,4759 <sup>ns</sup>	158,405 <sup>ns</sup>	43579,536 <sup>ns</sup>	34546,316 <sup>ns</sup>	61713,02	13,87%
AV3 <sup>1</sup>	117308,3427 <sup>o</sup>	488009,072 <sup>**</sup>	44647,598 <sup>ns</sup>	34385,03 <sup>ns</sup>	54697,69	12,00%

<sup>1</sup>O desdobramento da interação Ni x Condição hídrica foi realizada independentemente do nível de significância da interação. \*\*, \* e <sup>ns</sup>: Níveis de significância de <0,01, <0,05, <0,1 e não significativo pelo teste de Fisher. CV: Coeficiente de variação. Moderado e Severo: Equivalente a tensão de água no solo de 600 e 900 kPa, respectivamente. Chl A: Clorofila A. Chl B: Clorofila B. Chl a + b: Clorofila total. Chl a/b: Relação entre Clorofila A e Clorofila B. AV1: Avaliação antes do déficit hídrico em estágio R2. AV2: Segunda avaliação ao 8° após o início do déficit hídrico (estádio R3). AV3: Terceira avaliação ao 15° dia após o início do déficit hídrico (Estádio R5.1). Estádio fenológico reprodutivo R2, R3 e R5.1 de acordo com Fehr e Caviness (1977) e Yorinori (1996). Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

Tabela S6. Análise de variância dos aminoácidos (AAS), proteínas totais (PT), prolina, malato, fumarato e fenóis totais (FT) nas plantas de soja sob déficit hídrico avaliada antes e após.

Momento	Quadrado médio					CV
	Ni (A)	Condição hídrica (B)	Bloco	A x B	Resíduo	
<b>AAS</b>						
AV1	645,5261 **	39,5444 ns	58,7684 ns	140,441 ns	91,0905	27,69%
AV2 <sup>1</sup>	460,6673 *	3329,405 **	162,4624 ns	73,4454 ns	142,5712	25,70%
AV3 <sup>1</sup>	1969,5865 **	7928,5613 **	487,3143 ns	189,584 ns	258,8037	29,91%
<b>Proteínas totais</b>						
AV1	3265,5253 *	738,2235 ns	1777,5268 ns	3103,3234 *	1054,546	15,42%
AV2 <sup>1</sup>	27736,2777 **	4613,7217 *	1851,7963 -	533,1838 ns	869,9351	10,09%
AV3 <sup>1</sup>	18770,9857 **	49659,897 **	1985,161 ns	1318,2648 ns	1315,022	11,86%
<b>Prolina</b>						
AV1	11,2279 °	5,7165 ns	2,8736 ns	10,2946 ns	4,9862	31,55%
AV2 <sup>1</sup>	23,4641 *	266,072 **	2,0153 ns	23,6587 *	7,6986	35,71%
AV3 <sup>1</sup>	178,3243 °	10655,7361 **	208,9898 °	172,8226 ns	89,7678	44,88%
<b>Malato</b>						
AV1	195,5026 **	206,3131 *	16,7829 ns	84,8306 ns	45,1043	33,45%
AV2 <sup>1</sup>	3155,7152 **	423,4195 *	66,4742 ns	340,4494 **	64,4112	20,01%
AV3 <sup>1</sup>	881,3849 **	90,7002 ns	81,0836 ns	117,8292 ns	94,923	28,63%
<b>Fumarato</b>						
AV1	1695,2224 **	1677,8824 *	299,8043 ns	1221,7396 **	346,1949	40,73%
AV2 <sup>1</sup>	1569,5002 **	267,0838 ns	278,0311 ns	821,3612 **	138,0015	33,74%
AV3 <sup>1</sup>	2623,4094 **	238,1635 ns	63,4948 ns	749,1754 **	155,5998	34,10%
<b>Fenóis totais</b>						
AV1	31,9068 °	2,9659 ns	8,8611 ns	5,7396 ns	13,5379	20,39%
AV2 <sup>1</sup>	21,4763 ns	24,2189 ns	23,079 ns	19,0257 ns	26,0158	26,60%
AV3 <sup>1</sup>	102,2066 **	200,751 **	27,27 *	10,9657 ns	9,2156	16,82%

<sup>1</sup>O desdobramento da interação Ni x Condição hídrica foi realizada independentemente do nível de significância da interação. \*\*, \* e ns: Níveis de significância de <0,01, <0,05, <0,1 e não significativo pelo teste de Fisher. CV: Coeficiente de variação. Moderado e Severo: Equivalente a tensão de água no solo de 600 e 900 kPa, respectivamente. AAS: Aminoácidos totais. AV1: Avaliação antes do déficit hídrico em estágio R2. AV2: Segunda avaliação ao 8° após o início do déficit hídrico (estádio R3). AV3: Terceira avaliação ao 15° dia após o início do déficit hídrico (Estádio R5.1). Estádio fenológico reprodutivo R2, R3 e R5.1 de acordo com Fehr e Caviness (1977) e Yorinori (1996).

Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

Tabela S7. Resumo da análise de variância do teor de glicose, frutose, sacarose e amido antes e após o déficit hídrico na soja adubada com Ni.

Momento	Quadrado médio					CV
	Ni (A)	Condição hídrica (B)	Bloco	A x B	Resíduo	
	<b>Glicose</b>					
AV1	32,1855 **	0,864 <sup>ns</sup>	5,6419 <sup>ns</sup>	18,2508 **	4,9265	32,54%
AV2 <sup>1</sup>	279,0305 **	2177,1941 **	105,6776 <sup>ns</sup>	117,2168 <sup>o</sup>	54,7072	40,54%
AV3 <sup>1</sup>	141,935 <sup>o</sup>	11632,6666 **	170,9777 *	108,0126 <sup>ns</sup>	65,336	30,33%
	<b>Frutose</b>					
AV1	7,3038 <sup>ns</sup>	10,0696 <sup>ns</sup>	6,3926 <sup>ns</sup>	12,2673 <sup>ns</sup>	10,3	36,16%
AV2 <sup>1</sup>	114,9766 <sup>ns</sup>	4001,83 **	89,8937 <sup>ns</sup>	226,9209 **	63,0651	40,93%
AV3 <sup>1</sup>	463,3938 **	31267,9682 **	191,1435 *	324,4359 **	52,5569	22,45%
	<b>Sacarose</b>					
AV1	99,8829 *	68,9725 <sup>ns</sup>	29,8127 <sup>ns</sup>	6,3281 <sup>ns</sup>	31,3763	23,35%
AV2 <sup>1</sup>	249,0979 **	351,6745 *	43,2126 <sup>ns</sup>	57,2561 <sup>ns</sup>	71,6659	36,54%
AV3 <sup>1</sup>	80,8629 <sup>ns</sup>	10211,626 **	52,0052 <sup>ns</sup>	47,7466 <sup>ns</sup>	123,1325	32,32%
	<b>Amido (Glc eq.)</b>					
AV1	24522,0291 <sup>ns</sup>	29769,6465 <sup>ns</sup>	64900,8838 <sup>ns</sup>	65502,6899 <sup>ns</sup>	45354,26	26,06%
AV2 <sup>1</sup>	37576,7139 <sup>ns</sup>	171544,5928 **	40096,3362 <sup>ns</sup>	38101,1803 <sup>ns</sup>	20737,5	29,30%
AV3 <sup>1</sup>	23101,349 <sup>ns</sup>	1268114,8488 **	28283,78 <sup>o</sup>	58021,75 **	12000,91	36,33%

<sup>1</sup>O desdobramento da interação Ni x Condição hídrica foi realizada independentemente do nível de significância da interação. \*\*, \* e <sup>ns</sup>: Níveis de significância de <0,01, <0,05, <0,1 e não significativo pelo teste de Fisher. CV: Coeficiente de variação. Moderado e Severo: Equivalente a tensão de água no solo de 600 e 900 kPa, respectivamente. AV1: Avaliação antes do déficit hídrico em estágio R2. AV2: Segunda avaliação ao 8° após o início do déficit hídrico (estádio R3). AV3: Terceira avaliação ao 15° dia após o início do déficit hídrico (Estádio R5.1). Estádio fenológico reprodutivo R2, R3 e R5.1 de acordo com Fehr e Caviness (1977) e Yorinori (1996).  
Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

Tabela S8. Resumo da análise de variância da concentração de ácido ascórbico (AsA), dehidroascorbato (DHA) e o extravasamento de eletrólitos no folíolo da soja adubada com Ni e submetida ao déficit hídrico.

Momento	Quadrado médio					CV
	Ni (A)	Condição hídrica (B)	Bloco	A x B	Resíduo	
	<b>AsA</b>					
AV1	13,8424 <sup>o</sup>	25,807 <sup>ns</sup>	0,5739 <sup>ns</sup>	6,2206 <sup>ns</sup>	6,2553	17,79%
AV2 <sup>1</sup>	93,1613 **	8,1548 <sup>ns</sup>	2,999 <sup>ns</sup>	12,9987 <sup>ns</sup>	9,5588	25,63%
AV3 <sup>1</sup>	1793,3891 **	71,8592 *	13,8084 <sup>ns</sup>	49,7205 *	14,9058	17,59%
	<b>DHA</b>					
AV1	119,928 **	31,3493 <sup>ns</sup>	7,8304 <sup>ns</sup>	89,7852 **	13,3181	29,02%
AV2 <sup>1</sup>	19,3733 <sup>ns</sup>	51,8626 *	7,7884 <sup>ns</sup>	52,1448 **	12,7563	30,93%
AV3 <sup>1</sup>	404,1149 **	160,5373 *	33,3186 <sup>ns</sup>	237,1174 **	33,5119	32,46%
	<b>MDA</b>					
AV1	4,1667e-06 <sup>ns</sup>	1,6670e-06 <sup>ns</sup>	3,3333e-05 <sup>ns</sup>	1e-04 <sup>ns</sup>	4,15E-05	26,66%
AV2 <sup>1</sup>	3,6e-05 <sup>ns</sup>	0,0025 **	2e-04 <sup>ns</sup>	1e-04 <sup>ns</sup>	1,00E-04	31,98%
AV3 <sup>1</sup>	0,0022 **	0,0105 **	0,00001 <sup>ns</sup>	6e-04 **	1,00E-04	22,20%
	<b>Dano de membrana</b>					
AV1	---	---	---	---	---	---
AV2 <sup>1</sup>	47,8354 **	5,135 <sup>ns</sup>	6,7109 <sup>ns</sup>	12,8781 *	4,1008	12,01%
AV3 <sup>1</sup>	40,6975 **	48,0569 **	6,0337 <sup>ns</sup>	40,5223 **	4,1339	9,46%

<sup>1</sup>O desdobramento da interação Ni x Condição hídrica foi realizada independentemente do nível de significância da interação. \*\*, \* e <sup>ns</sup>: Níveis de significância de <0,01, <0,05, <0,1 e não significativo pelo teste de Fisher. CV: Coeficiente de variação. Moderado e Severo: Equivalente a tensão de água no solo de 600 e 900 kPa, respectivamente. AsA: Ascorbato. DHA: Dehidroascorbato. MDA: Aldeído malônico. AV1: Avaliação antes do déficit hídrico em estágio R2. AV2: Segunda avaliação ao 8° após o início do déficit hídrico (estádio R3). AV3:

Terceira avaliação ao 15° dia após o início do déficit hídrico (Estádio R5.1). Estádio fenológico reprodutivo R2, R3 e R5.1 de acordo com Fehr e Caviness (1977) e Yorinori (1996).  
Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

Tabela S9. Resumo da análise de variância para o potencial hídrico na antemanhã ( $\Psi_{WF}$ ) e teor relativo de água (TRA) no folíolo da soja.

Momento	Quadrado médio					CV
	Ni (A)	Condição hídrica (B)	Bloco	A x B	Resíduo	
	<b>PHA</b>					
AV1	0,0107 <sup>ns</sup>	0,0038 <sup>ns</sup>	0,0478 <sup>**</sup>	0,0131 <sup>ns</sup>	0,0074	30,48%
AV2 <sup>1</sup>	0,0278 <sup>**</sup>	0,6795 <sup>**</sup>	0,0058 <sup>ns</sup>	0,0127 <sup>**</sup>	0,0033	17,56%
AV3 <sup>1</sup>	0,1176 <sup>**</sup>	27,7005 <sup>**</sup>	0,0055 <sup>ns</sup>	0,0571 <sup>**</sup>	0,0095	10,68%
	<b>TRA</b>					
AV1	---	---	---	---	---	---
AV2 <sup>1</sup>	80,8383 <sup>**</sup>	42,2924 <sup>ns</sup>	5,434 <sup>ns</sup>	59,9388 <sup>*</sup>	18,6716	4,96%
AV3 <sup>1</sup>	111,0138 <sup>**</sup>	6216,7554 <sup>**</sup>	44,6684 <sup>ns</sup>	86,7232 <sup>*</sup>	27,5127	7,05%

<sup>1</sup>O desdobramento da interação Ni x Condição hídrica foi realizada independentemente do nível de significância da interação. \*\*, \* e <sup>ns</sup>: Níveis de significância de <0,01, <0,05, <0,1 e não significativo pelo teste de Fisher. CV: Coeficiente de variação. Moderado e Severo: Equivalente a tensão de água no solo de 600 e 900 kPa, respectivamente.  $\Psi_{WF}$ : Potencial hídrico da folha na antemanhã. TRA: Teor relativo de água. AV1: Avaliação antes do déficit hídrico em estágio R2. AV2: Segunda avaliação ao 8° após o início do déficit hídrico (estádio R3). AV3: Terceira avaliação ao 15° dia após o início do déficit hídrico (Estádio R5.1). Estádio fenológico reprodutivo R2, R3 e R5.1 de acordo com Fehr e Caviness (1977) e Yorinori (1996).  
Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

## APÊNDICE – D BIOMETRIA, MASSA SECA E NUTRIENTES DA SOJA

Tabela S10. Resumo de análise de variância para a biometria e massa seca da soja com e sem seca, ao 45° dia após o plantio.

Variável	Quadrado médio					CV
	Ni (A)	Déficit Hídrico (B)	Bloco	A x B	Resíduo	
<b>MSF</b>	0,5065 **	7,3737 **	0,0586 <sup>ns</sup>	0,2024 **	0,0536	8,73%
<b>MSC</b>	0,3307 **	5,4486 **	0,1098 <sup>ns</sup>	0,257 *	0,089	10,95%
<b>MSV</b>	0,3413 <sup>ns</sup>	98,1538 **	0,2576 <sup>ns</sup>	0,3211 <sup>ns</sup>	0,2143	17,80%
<b>MSPA</b>	3,3547 **	223,7106 **	0,5819 <sup>ns</sup>	2,1369 *	0,6459	10,08%
<b>MSR</b>	0,0255 <sup>ns</sup>	0,0721 <sup>ns</sup>	0,1093 *	0,016 <sup>ns</sup>	0,0358	14,18%
<b>MSN</b>	0,0187 **	0,0033 <sup>ns</sup>	0,0027 <sup>ns</sup>	0,0175 **	0,0033	19,57%
<b>MST</b>	4,2111 **	233,5708 **	1,0505 <sup>ns</sup>	1,9959 *	0,8155	9,41%
<b>NN</b>	141,88 <sup>ns</sup>	8307,2667 **	214,025 <sup>ns</sup>	115,7467 <sup>ns</sup>	156,4795	20,95%

Notas: \*\*, \* e <sup>ns</sup>: Níveis de significância de 0,01, 0,05, 0,1 e não significativo pelo teste de Fisher. CV: Coeficiente de variação. MSF: Massa seca da folha. MSC: Massa seca do caule. MSV: Massa seca da vagem. MSPA: Massa seca total da parte aérea. MSR: Massa seca da raiz. MSN: Massa seca dos nódulos. MST: Massa seca total da planta. NN: Número de nódulos.

Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

Figura S6. Estado representativo da soja ao final do estudo para plantas de soja com e sem déficit hídrico em relação a seis crescentes doses de Ni aplicadas antes do plantio.

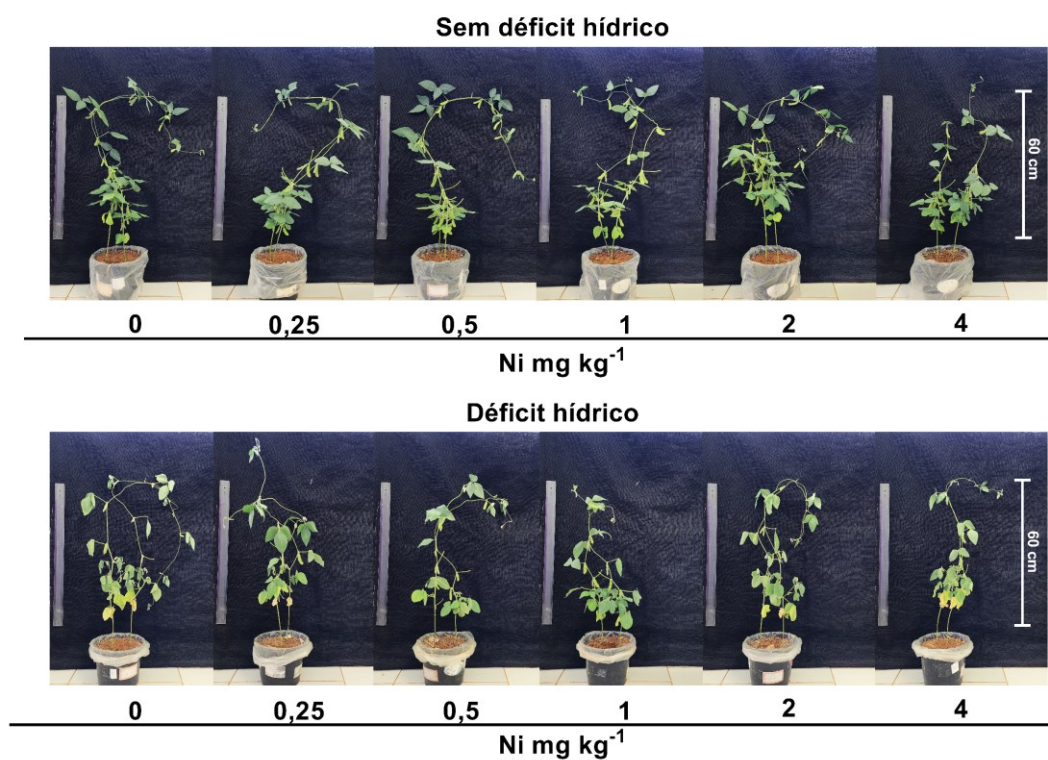


Tabela S11. Resumo da análise de variância nos teores dos nutrientes na parte área da soja adubada com Ni e submetida ao déficit hídrico.

Nutriente	Quadrado médio					CV
	Ni (A)	Déficit Hídrico (B)	Bloco	A x B	Resíduo	
<b>N</b>	4,42 <sup>ns</sup>	558,08 <sup>**</sup>	1,75 <sup>ns</sup>	6,07 <sup>*</sup>	2,43	5,52%
<b>Ca</b>	0,1291 <sup>ns</sup>	16,3059 <sup>**</sup>	1,2526 <sup>*</sup>	0,4003 <sup>ns</sup>	0,4197	7,22%
<b>K</b>	3,226 <sup>ns</sup>	0,529 <sup>ns</sup>	7,093 <sup>**</sup>	6,631 <sup>**</sup>	1,718	6,88%
<b>Mg</b>	0,0178 <sup>ns</sup>	8,2484 <sup>**</sup>	0,0171 <sup>ns</sup>	0,0699 <sup>ns</sup>	0,046	8,17%
<b>P</b>	0,683 <sup>**</sup>	0,331 <sup>*</sup>	0,051 <sup>ns</sup>	0,249 <sup>**</sup>	0,055	14,29%
<b>S</b>	0,049 <sup>**</sup>	0,036 <sup>*</sup>	0,004 <sup>ns</sup>	0,017 <sup>*</sup>	0,0066	5,45%
<b>Cu</b>	0,2353 <sup>ns</sup>	1,1036 <sup>°</sup>	0,7722 <sup>*</sup>	0,1022 <sup>ns</sup>	0,2492	19,52%
<b>Fe</b>	56882,4464 <sup>**</sup>	105095,1676 <sup>**</sup>	10952,731 <sup>ns</sup>	38954,863 <sup>*</sup>	14728,7	68,40%
<b>Mn</b>	82,39 <sup>ns</sup>	1267,16 <sup>**</sup>	63,27 <sup>ns</sup>	76,48 <sup>ns</sup>	57,10	10,83%
<b>Ni</b>	6,413 <sup>**</sup>	4,855 <sup>*</sup>	3,837 <sup>**</sup>	0,923 <sup>ns</sup>	0,7931	20,76%
<b>Zn</b>	13,307 <sup>**</sup>	36,086 <sup>**</sup>	2,003 <sup>ns</sup>	12,291 <sup>**</sup>	1,979	10,07%
<b>Mo</b>	0,487 <sup>ns</sup>	1,6909 <sup>*</sup>	0,9248 <sup>*</sup>	0,139 <sup>ns</sup>	0,2873	30,29%

Notas: \*\*, \*, ° e <sup>ns</sup> níveis de significância pelo teste Fisher ao p-valor de 0,01, 0,05, 0,1 e não significativo, respectivamente. CV: Coeficiente de variação.

Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

Tabela S12. Relações entre os teores de macronutrientes e o Ni na parte aérea da soja adubada com Ni com ou sem déficit hídrico.

Relação	Equação	R <sup>2</sup>	Aspecto da tendência	CV %
<b>N/Ni</b>				
<b>Controle</b>	$\hat{y} = 2311,94x^{**} - 7678,53\sqrt{x}^{**} + 12767,01$	0,8901	↘ ↗	21,64
<b>DH</b>	$\hat{y} = -588,51x^{**} + 6693,77$	0,6949	↘	
<b>P/Ni</b>				
<b>Controle</b>	$\hat{y} = 274,83x^{**} - 856,20\sqrt{x}^{**} + 942,21$	0,9154	↘ ↗	29,92
<b>DH</b>	$\hat{y} = -42,243x^{*} + 428,075$	0,3524	↘	
<b>K/Ni</b>				
<b>Controle</b>	$\hat{y} = 2123,70x^{**} - 6600,93\sqrt{x}^{**} + 8681,94$	0,9365	↘ ↗	22,62
<b>DH</b>	$\hat{y} = \bar{Y} = 4496,56$	-	—	
<b>Ca/Ni</b>				
<b>Controle</b>	$\hat{y} = 663,18x^{**} - 2149,88\sqrt{x}^{**} + 3487,97$	0,8994	↘ ↗	24,15
<b>DH</b>	$\hat{y} = \bar{Y} = 2238,78$	-	—	
<b>Mg/Ni</b>				
<b>Controle</b>	$\hat{y} = 180,52x^{**} - 604,28\sqrt{x}^{**} + 956,08$	0,9154	↘ ↗	25,34
<b>DH</b>	$\hat{y} = \bar{Y} = 707,18$	-	—	
<b>S/Ni</b>				
<b>Controle</b>	$\hat{y} = 141,46x^{**} - 437,79\sqrt{x}^{**} + 644,5$	0,8377	↘ ↗	24,46
<b>DH</b>	$\hat{y} = \bar{Y} = 345,74$	-	—	

Notas: \*\*\*, \*\*, \*, ° e <sup>ns</sup>: Significância dos coeficientes de regressão pelo teste de F a p-valor de 0,001, 0,01, 0,05, 0,1 e não significativo, respectivamente. DH: Déficit hídrico. Doses seguidas de <sup>1</sup> foram esteticamente agrupadas em conjunto pelo teste Scott Knott (p<0,1). CV: Coeficiente de variação. Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

Tabela S 13. Relações entre os teores de micronutrientes e o Ni na parte aérea da soja adubada com Ni com ou sem déficit hídrico.

Relação	Equação	R <sup>2</sup>	Aspecto da tendência	CV %
<b>Cu/Ni</b>				
Controle	$\hat{y} = 0,2877x^{**} - 0,8416\sqrt{x^{**}} + 1,1489$	0,9142	\ /	25,84
DH	$\hat{y} = \bar{Y} = 0,5581$	-	—	
<b>Zn/Ni</b>				
Controle	$\hat{y} = 2,0122x^{**} - 6,0234\sqrt{x^{**}} + 7,1667$	0,9065	\ /	23,96
DH	$\hat{y} = \bar{Y} = 3,1155$	-	—	
<b>Fe/Ni</b>				
Controle	$\hat{y} = \bar{Y} = 36,6523$	-	—	66,18
DH	$\hat{y} = 15,1039x^{**} + 28,2971$	0,8199	/	
<b>Mn/Ni</b>				
Controle	$\hat{y} = 7,92272x^{**} - 24,9424\sqrt{x^{**}} + 33,7061$	0,9288	\ /	23,46
DH	$\hat{y} = -1,4824x^{*} + 17,3684$	0,6289	\	
<b>Mo/Ni</b>				
Controle	$\hat{y} = 0,2792x^{**} - 0,8152\sqrt{x^{**}} + 0,9317$	0,9198	\ /	36,99
DH	$\hat{y} = \bar{Y} = 0,3734$	-	—	

Notas: \*\*\*, \*\*, \*, ° e ns: Significância dos coeficientes de regressão pelo teste de F a p-valor de 0,001, 0,01, 0,05, 0,1 e não significativo, respectivamente. DH: Déficit hídrico. Doses seguidas de <sup>1</sup> foram esteticamente agrupadas em conjunto pelo teste Scott Knott (p<0,1). CV: Coeficiente de variação.

Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

## APÊNDICE – E COMPORTAMENTO QUÍMICO DO NI NO SOLO

Tabela S14. Teores de Ni por Mehlich-1, pH e o fracionamento químico em solos após o cultivo da soja.

Variável	Sigla	Quadrado médio					CV
		Ni (A)	Déficit Hídrico (B)	Bloco	A x B	Resíduo	
<b>pH<sub>H<sub>2</sub>O</sub></b>	-	0,0664 **	0,0395 *	0,006 <sup>ns</sup>	0,0086 <sup>ns</sup>	0,0078	1,41%
<b>Ni<sup>2+</sup></b>	-	0,1636 **	0,002 <sup>ns</sup>	0,001 <sup>ns</sup>	0,001 <sup>ns</sup>	0,0016	26,75%
<b>Ni - solúvel<sup>1</sup></b>	F1	0,0042 <sup>ns</sup>	0 <sup>ns</sup>	0,0094 <sup>o</sup>	0,0039 <sup>ns</sup>	0,0041	18,25%
<b>Ni - adsorvido<sup>1</sup></b>	F2	0,0066 <sup>ns</sup>	0,0031 <sup>ns</sup>	0,0094 <sup>ns</sup>	0,0074 <sup>ns</sup>	0,0098	29,80%
<b>Ni - MOS<sup>1</sup></b>	F3	0,0056 <sup>ns</sup>	0,0086 <sup>ns</sup>	0,0089 <sup>ns</sup>	0,0031 <sup>ns</sup>	0,0092	24,67%
<b>Ni - FeOx mal crist.<sup>1</sup></b>	F4	0,0458 **	0 <sup>ns</sup>	0,0068 <sup>ns</sup>	0,005 <sup>ns</sup>	0,0089	25,48%
<b>Ni - FeOx bem crist.<sup>1</sup></b>	F5	0,0035 <sup>o</sup>	0,001 <sup>ns</sup>	0,0098 <sup>ns</sup>	0,0077 <sup>ns</sup>	0,0072	26,15%
<b>Ni - residual</b>	F6	0,003 <sup>ns</sup>	0,0017 <sup>ns</sup>	5e-04 <sup>ns</sup>	0,0026 <sup>ns</sup>	0,0026	4,54%

Notas: \*\*, \* e <sup>ns</sup>: Níveis de significância de 0,01, 0,05, 0,1 e não significativo pelo teste de Fisher. MOS: Elemento associado a matéria orgânica do solo. CV: Coeficiente de variação.

<sup>1</sup>: Dados transformados por  $\log_{10}(x + 1)$ .

Fonte: Elaborado pelo autor (2024).