

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO**

Anelisi Inchauspe de Oliveira

**APLICAÇÃO CONTINUADA DE DEJETOS ANIMAIS POR 17 ANOS E TOXIDEZ
EM PLANTAS DE MILHO: AVALIAÇÃO DA DINÂMICA DE Cu, Zn e Mn EM SOLO
E PLANTA**

Santa Maria, RS

2023

Anelisi Inchauspe de Oliveira

**APLICAÇÃO CONTINUADA DE DEJETOS ANIMAIS POR 17 ANOS E TOXIDAZ
EM PLANTAS DE MILHO: AVALIAÇÃO DA DINÂMICA DE Cu, Zn e Mn EM SOLO
E PLANTA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência do Solo, Área de Concentração em Processos Químicos e Ciclagem de Elementos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestra em Ciência do Solo**.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Joel Kochem Mallmann

Coorientador: Prof. Dr. Gustavo Brunetto

Santa Maria – RS, Brasil

2023

Anelisi Inchauspe de Oliveira

**APLICAÇÃO CONTINUADA DE DEJETOS ANIMAIS POR 17 ANOS E TOXIDEZ
EM PLANTAS DE MILHO: AVALIAÇÃO DA DINÂMICA DE Cu, Zn e Mn EM SOLO
E PLANTA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência do Solo, Área de Concentração em Processos Químicos e Ciclagem de Elementos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestra em Ciência do Solo**.

Aprovado em 12 de julho de 2023.

Fábio Joel Kochem Mallmann (UFSM)
(Presidente/orientador)

Luciane Almeri Tabaldi (UFSM)
(Banca de Avaliação)

Thiago Augusto Formentini (CEREGE)
(Banca de Avaliação)

Santa Maria – RS, Brasil

2023

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001

de Oliveira, Anelisi
APLICAÇÃO CONTINUADA DE DEJETOS ANIMAIS POR 17 ANOS E
TOXIDEZ EM PLANTAS DE MILHO: AVALIAÇÃO DA DINÂMICA DE
Cu, Zn e Mn EM SOLO E PLANTA / Anelisi de Oliveira.-
2023.

85 p.; 30 cm

Orientador: Fábio Joel Kochem Mallmann
Coorientador: Gustavo Brunetto
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós
Graduação em Ciência do Solo, RS, 2023

1. Dejetos Animais 2. Solo Rizosférico 3. Extração
Sequencial 4. Divisão Subcelular I. Kochem Mallmann,
Fábio Joel II. Brunetto, Gustavo III. Título.

sistema de geração automática de ficha catalográfica da usm. dados fornecidos pelo autor(s). sob supervisão da direção da divisão de processos técnicos da biblioteca central. bibliotecária responsável paula schoenfeldt patta cms 10/1720.

Declaro, ANELISI DE OLIVEIRA, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Dissertação) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

RESUMO

APLICAÇÃO CONTINUADA DE DEJETOS ANIMAIS POR 17 ANOS E TOXIDAZ EM PLANTAS DE MILHO: AVALIAÇÃO DA DINÂMICA DE Cu, Zn e Mn EM SOLO E PLANTA

AUTORA: Anelisi Inchauspe de Oliveira

ORIENTADOR: Fábio Joel Kochem Mallmann

COORDENADOR: Gustavo Brunetto

Os dejetos animais são frequentemente empregados na agricultura como forma de ofertar macronutrientes às culturas e destinar os resíduos de criação intensiva. Contudo, estes insumos podem apresentar teores desbalanceados de nutrientes, sendo um potencial contaminante do solo, principalmente para micronutrientes como os metais-traço. As coletas foram realizadas em uma área experimental com 17 anos de aplicações de dejetos animais e adubação mineral. Os tratamentos empregados são dejetos líquidos de bovino (DLB), dejetos líquidos de suíno (DLS), cama sobreposta de suíno (CSS), adubação mineral (NPK) e tratamento sem adubação (controle). Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a dinâmica de Cu, Zn e Mn na relação solo-planta durante o desenvolvimento da cultura do milho em um Argissolo submetido a 17 anos de aplicações de dejetos animais. As análises de solo realizadas foram teores disponíveis de Cu, Zn e Mn pelos extratores HCl, Mehlich-1 e Mehlich-3 e extração sequencial para os mesmos elementos em solo rizosférico e não rizosférico. Para as plantas de milho foi realizada digestão nitroperclórica da raiz e parte aérea, e divisão subcelular das folhas. Os tratamentos com dejetos incrementaram significativamente os teores de Cu e Zn no solo e nas plantas de milho. O Mn não foi significativamente afetado pelas adubações, apresentando indícios de toxidez, por acúmulo em organelas subcelulares no tratamento com adubação mineral. Além disso, a disponibilidade dos metais foi afetada pela ação das raízes, que atuaram na regulação destes, modificando as características do solo rizosférico, em comparação ao não rizosférico. De forma geral, a matéria orgânica incrementada pelos dejetos e os exsudatos radiculares desempenham um papel fundamental no controle da disponibilidade de nutrientes.

Palavras-chave: Dejetos, Divisão Subcelular, Extração Sequencial, Metais Traço.

SUMMARY

CONTINUED APPLICATION OF ANIMAL MANURE FOR 17 YEARS AND TOXICITY IN MAIZE PLANTS: EVALUATION OF THE DYNAMICS OF Cu, Zn and Mn IN SOIL AND PLANT

AUTHOR: Anelisi Inchauspe de Oliveira

ADVISOR: Fábio Joel Kochem Mallmann

CO-ADVISOR: Gustavo Brunetto

Animal waste is often used in agriculture to provide macronutrients to crops and to dispose of residues from intensive farming. However, these inputs may have unbalanced levels of nutrients, being a potential soil contaminant, especially for micronutrients such as trace metals. The collections were carried out in an experimental area with 17 years of animal manure and mineral fertilizer applications. The treatments employed are liquid bovine manure (CS), liquid pig manure (PL), swine deep litter (PDL), mineral fertilizer (NPK) and treatment without fertilization (control). Thus, the objective of this work was to evaluate the dynamics of Cu, Zn and Mn in the soil-plant relationship during the development of the corn crop in an Typic Hapludalf submitted to 17 years of animal manure applications. The soil analyzes carried out were available levels of Cu, Zn and Mn by HCl, Mehlich-1 and Mehlich-3 extractors and sequential extraction for the same elements in rhizosphere and non-rhizosphere soil. For corn plants, nitroperchloric digestion of the root and aerial part, and subcellular division of the leaves were performed. Manure treatments significantly increased Cu and Zn contents in soil and maize plants. Mn was not significantly affected by the fertilizers, showing signs of toxicity, due to accumulation in subcellular organelles in the treatment with mineral fertilizer. In addition, the availability of metals was affected by the action of the roots, which acted in their regulation, modifying the characteristics of the rhizospheric soil, compared to the non-rhizospheric one. In general, organic matter increased by manure and root exudates play a key role in controlling nutrient availability.

Keywords: Animal manure, Subcellular Division, Sequential Extraction, Trace Metals.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Gradientes de microrganismos, prótons e compostos orgânicos no sentido rizosfera – solo não rizosférico.....	12
Figura 2 – Absorção e transporte de nutrientes a nível celular e entre órgãos.....	17
Figura 3 – Frações celulares obtidas pelo método de divisão subcelular.....	26
Figura 4 – Teores de manganês extraídos por HCl (a), Mehlich-1 (b) e Mehlich-3 (c) no solo rizosférico e não rizosférico coletado nas fases vegetativa, florescimento e maturação do milho em experimento de fontes orgânicas de Santa Maria, RS, safra 2021/2022. Letras maiúsculas representam a comparação entre tratamentos; letras minúsculas representam a comparação entre solo rizosférico e solo não rizosférico (Tukey, $p < 0,05$).....	28
Figura 5 – Regressão linear entre extratores para Mn.....	29
Figura 6 – Teores de cobre extraídos por HCl (a), Mehlich-1 (b) e Mehlich-3 (c) no solo rizosférico e não rizosférico coletado nas fases vegetativa, florescimento e maturação do milho em experimento de fontes orgânicas de Santa Maria, RS, safra 2021/2022. Letras maiúsculas representam a comparação entre tratamentos; letras minúsculas representam a comparação entre solo rizosférico e solo não rizosférico (Tukey, $p < 0,05$).....	31
Figura 7 – Regressão linear entre extratores para Cu.....	32
Figura 8 – Teores de zinco extraídos por HCl (a), Mehlich-1 (b) e Mehlich-3 (c) no solo rizosférico e não rizosférico coletado nas fases vegetativa, florescimento e maturação do milho em experimento de fontes orgânicas de Santa Maria, RS, safra 2021/2022. Letras maiúsculas representam a comparação entre tratamentos; letras minúsculas representam a comparação entre solo rizosférico e solo não rizosférico (Tukey, $p < 0,05$).....	33
Figura 9 – Regressão linear entre extratores para Zn.....	34
Figura 10 – Fracionamento de cobre (%) obtido pela extração sequencial, em solo rizosférico (NR) e não rizosférico (NR) coletado nas fases vegetativa, florescimento e maturação do milho em experimento de fontes orgânicas de Santa Maria, RS, safra 2021/2022.....	45
Figura 11 – Teores de C orgânico (%) obtida pelo método de combustão seca, para solo rizosférico (NR) e não rizosférico (NR) coletado nas fases vegetativa, florescimento e maturação do milho em experimento de fontes orgânicas de Santa Maria, RS, safra 2021/2022. Letras maiúsculas correspondem à comparação de	

médias entre tratamentos; letras minúsculas representam a comparação entre solo rizosférico e solo não rizosférico (Tukey, $p < 0,05$).....	46
Figura 12 – Fracionamento de zinco (%) obtido pela extração sequencial, em solo rizosférico (NR) e não rizosférico (NR) coletado nas fases vegetativa, florescimento e maturação do milho em experimento de fontes orgânicas de Santa Maria, RS, safra 2021/2022.....	48
Figura 13 – Correlação linear entre F3-Zn e F4-Cu. Coeficiente = 0,927- 50.....	49
Figura 14 - Fracionamento de manganês (%) obtido pela extração sequencial, em solo rizosférico (NR) e não rizosférico (NR) coletado nas fases vegetativa, florescimento e maturação do milho em experimento de fontes orgânicas de Santa Maria, RS, safra 2021/2022.....	51
Figura 15 – Teores de Zn na parte aérea e raiz do milho (mg kg^{-1}) obtida por digestão nitroperclórica coletado nas fases vegetativa, florescimento e maturação do milho em experimento de fontes orgânicas de Santa Maria, RS, safra 2021/2022. Letras maiúsculas correspondem à comparação de médias entre tratamentos; letras minúsculas representam a comparação entre solo rizosférico e solo não rizosférico (Tukey, $p < 0,05$).....	54
Figura 16 - Teores de Mn na parte aérea e raiz do milho (mg kg^{-1}) obtida por digestão nitroperclórica coletado nas fases vegetativa, florescimento e maturação do milho em experimento de fontes orgânicas de Santa Maria, RS, safra 2021/2022. Letras maiúsculas correspondem à comparação de médias entre tratamentos; letras minúsculas representam a comparação entre solo rizosférico e solo não rizosférico (Tukey, $p < 0,05$).....	55
Figura 17 – Produtividade do milho (Mg ha^{-1}) em experimento de fontes orgânicas de Santa Maria, RS, safra 2021/2022. Letras minúsculas correspondem à comparação de médias entre tratamentos (Tukey, $p < 0,05$).....	57
Figura 18 – Correlação entre os teores de Cu, Zn e Mn na parte aérea e raízes do milho. Experimento de fontes orgânicas de Santa Maria, RS, safra 2021/2022.....	58
Figura 19 – Teores de Cu na parte aérea e raiz do milho (mg kg^{-1}) obtida por digestão nitroperclórica coletado nas fases vegetativa, florescimento e maturação do milho em experimento de fontes orgânicas de Santa Maria, RS, safra 2021/2022. Letras maiúsculas correspondem à comparação de médias entre tratamentos; letras	

minúsculas representam a comparação entre solo rizosférico e solo não rizosférico (Tukey, $p < 0,05$).....59

Figura 20 – Teores de Cu em cada fração das folhas do milho (mg kg^{-1}) obtidos por divisão subcelular e posterior digestão nitroperclórica. Folhas coletadas nas fases vegetativa, florescimento e maturação da cultura em experimento de fontes orgânicas de Santa Maria, RS, safra 2021/2022. Letras maiúsculas correspondem à comparação de médias entre tratamentos; letras minúsculas representam a comparação entre solo frações (Tukey, $p < 0,05$).....61

Figura 21 – Fracionamento subcelular de Cu nas folhas do milho (%) obtido por divisão subcelular e digestão nitroperclórica. Folhas coletadas nas fases vegetativa, florescimento e maturação da cultura em experimento de fontes orgânicas de Santa Maria, RS, safra 2021/2022.....62

Figura 22 – Teores de Zn em cada fração das folhas do milho (mg kg^{-1}) obtidos por divisão subcelular e posterior digestão nitroperclórica. Folhas coletadas nas fases vegetativa, florescimento e maturação da cultura em experimento de fontes orgânicas de Santa Maria, RS, safra 2021/2022. Letras maiúsculas correspondem à comparação de médias entre tratamentos; letras minúsculas representam a comparação entre solo frações (Tukey, $p < 0,05$).....63

Figura 23 – Fracionamento subcelular de Zn nas folhas do milho (%) obtido por divisão subcelular e digestão nitroperclórica. Folhas coletadas nas fases vegetativa, florescimento e maturação da cultura em experimento de fontes orgânicas de Santa Maria, RS, safra 2021/2022.....64

Figura 24 – Teores de Mn em cada fração das folhas do milho (mg kg^{-1}) obtidos por divisão subcelular e posterior digestão nitroperclórica. Folhas coletadas nas fases vegetativa, florescimento e maturação da cultura em experimento de fontes orgânicas de Santa Maria, RS, safra 2021/2022. Letras maiúsculas correspondem à comparação de médias entre tratamentos; letras minúsculas representam a comparação entre solo frações (Tukey, $p < 0,05$).....65

Figura 25 – Fracionamento subcelular de Mn nas folhas do milho (%) obtido por divisão subcelular e digestão nitroperclórica. Folhas coletadas nas fases vegetativa, florescimento e maturação da cultura em experimento de fontes orgânicas de Santa Maria, RS, safra 2021/2022.....67

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Propriedades químicas do solo coletado na camada de 0-10 cm, antes da implantação do experimento (2004) e após 25 aplicações de adubações orgânicas e minerais (2020). Os tratamentos são: dejetos líquidos de bovinos (DLB), dejetos líquidos de suíno (DLS), cama sobreposta de suíno (CSS), adubação mineral (NPK) e sem adubação (controle).....21
- Tabela 2.** Teores de cobre (mg kg^{-1}) para cada fração (F1 – trocável, F2 – carbonatos, F3 – óxidos de Fe e Mn, F4 – matéria orgânica e F5 – residual e soma de frações) obtida pela extração sequencial, e teores totais obtidos por EPA3051A, em solo rizosférico (NR) e não rizosférico (NR) coletado nas fases vegetativa, florescimento e maturação do milho em experimento de fontes orgânicas de Santa Maria, RS, safra 2021/2022. Letras maiúsculas representam a comparação entre tratamentos; letras minúsculas representam a comparação entre solo rizosférico e solo não rizosférico (Tukey, $p < 0,05$).....38
- Tabela 3.** Teores de zinco (mg kg^{-1}) para cada fração (F1 – trocável, F2 – carbonatos, F3 – óxidos de Fe e Mn, F4 – matéria orgânica e F5 – residual e soma de frações) obtida pela extração sequencial, e teores totais obtidos por EPA3051A, em solo rizosférico (NR) e não rizosférico (NR) coletado nas fases vegetativa, florescimento e maturação do milho em experimento de fontes orgânicas de Santa Maria, RS, safra 2021/2022. Letras maiúsculas representam a comparação entre tratamentos; letras minúsculas representam a comparação entre solo rizosférico e solo não rizosférico (Tukey, $p < 0,05$).....40
- Tabela 4.** Teores de manganês (mg kg^{-1}) para cada fração (F1 – trocável, F2 – carbonatos, F3 – óxidos de Fe e Mn, F4 – matéria orgânica e F5 – residual e soma de frações) obtida pela extração sequencial, e teores totais obtidos por EPA3051A, em solo rizosférico (NR) e não rizosférico (NR) coletado nas fases vegetativa, florescimento e maturação do milho em experimento de fontes orgânicas de Santa Maria, RS, safra 2021/2022. Letras maiúsculas representam a comparação entre tratamentos; letras minúsculas representam a comparação entre solo rizosférico e solo não rizosférico (Tukey, $p < 0,05$).....41

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO4

1.1 OBJETIVOS6

1.1.1 Objetivo geral6

1.1.2 Objetivos específicos7

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA8

2.1 ADSORÇÃO, DESSORÇÃO E DISPONIBILIDADE8

2.2 VARIAÇÃO ESPACIAL NA DISPONIBILIDADE DE NUTRIENTES: SOLO RIZOSFÉRICO E NÃO RIZOSFÉRICO10

2.3 COMPORTAMENTO DE Cu, Zn e Mn NO SOLO COM ADUBAÇÃO DE DEJETOS DE ANIMAIS A LONGO PRAZO14

2.4 ABSORÇÃO E TRANSPORTE DE SOLUTOS ENTRE ÓRGÃOS E A NÍVEL CELULAR16

3 METODOLOGIA20

3.1 DESCRIÇÃO DO EXPERIMENTO20

3.2 COLETAS DE SOLO E PLANTA22

3.3 TEORES DISPONÍVEIS DE Cu, Zn e Mn EM SOLO RIZOSFÉRICO E NÃO RIZOSFÉRICO23

3.4 TEORES PSEUDOTOTAIS DE Cu, Zn e Mn EM SOLO RIZOSFÉRICO E NÃO RIZOSFÉRICO23

3.5 EXTRAÇÃO SEQUENCIAL DE Cu, Zn e Mn EM SOLO RIZOSFÉRICO E NÃO RIZOSFÉRICO23

3.6 CARBONO ORGÂNICO DO SOLO24

3.7 CONCENTRAÇÃO DE Cu, Zn e Mn NAS RAÍZES, NA PARTE AÉREA MILHO24

3.8 DIVISÃO SUBCELULAR DE Cu, Zn e Mn NAS FOLHAS DE MILHO25

3.9 ANÁLISES ESTATÍSTICAS26

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO27

4.1 TEORES DISPONÍVEIS DE Cu, Zn e Mn EM SOLO RIZOSFÉRICO E NÃO RIZOSFÉRICO27

4.2 EXTRAÇÃO SEQUENCIAL DE Cu, Zn e Mn.35

4.2.1	Acúmulo de Cu, Zn e Mn (ΣF)	35
4.2.2	Fracionamento de Cu, Zn e Mn	37
4.2.3	Fração Residual (F5)	42
4.2.4	Frações influenciadas por Cu	44
4.2.5	Frações influenciadas por Zn	47
4.2.6	Frações influenciadas por Mn	50
4.3	CONCENTRAÇÃO DE Cu, Zn e Mn NA RAIZ E NA PARTE AÉREA	53
4.4	DIVISÃO SUBCELULAR DE Cu, Zn e Mn NAS FOLHAS DE MILHO	60
4.4.1	Divisão subcelular de Cu	60
4.4.2	Divisão subcelular de Zn	63
4.4.3	Divisão subcelular de Mn	65
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	68
6	REFERÊNCIAS	70

1 INTRODUÇÃO

Os metais traço (MTs) ferro (Fe), manganês (Mn), cobre (Cu), zinco (Zn) e molibdênio (Mo) são micronutrientes essenciais ao desenvolvimento das plantas. Estes elementos podem ocorrer no solo de forma natural, por estarem presentes no material de origem (litogênicos), ou podem ter sua concentração incrementada por deposições de materiais oriundos de atividade humana (antropogênicos). Em larga escala, as fontes litogênicas são o fator mais relevante no que concerne ao conteúdo total de MTs nos solos, porém, com relação ao acúmulo excessivo desses elementos, as deposições antropogênicas são apontadas como as maiores causadoras (ANTONIADIS et al., 2017; ZWOLAK et al., 2019). As fontes de contaminação antropogênica podem ser extensivas, como a deposição atmosférica e de sedimentos; ou locais, derivadas de atividades como a agricultura, mineração e indústria (ALLOWAY, 2012).

Dentre as fontes de contaminantes na agricultura, a aplicação de dejetos animais se destaca na região sul do Brasil, principalmente nos estados do RS e SC. Nestas regiões, a criação de suínos e bovinos são atividades expressivas na agricultura familiar, gerando uma grande quantidade de resíduos, que frequentemente são aplicados como adubos orgânicos nas áreas de grãos e pastagens. Contudo, as propriedades da região, em geral, são caracterizadas por pequenas áreas, e desta forma, a necessidade de aplicação é incompatível com o volume aplicado (GIROTTO et al., 2010; MALLMANN et al., 2012). Além disso, o teor nutricional dos dejetos quase sempre é desbalanceado em relação à necessidade das culturas, variando de acordo com a quantidade de suplementação recebida pelos animais. Minerais como Cu, Zn e Mn são adicionados às dietas dos suínos, pois oferecem diversos benefícios ao organismo animal, porém, muitas vezes, as quantidades adicionadas são muito superiores à demanda, acarretando em excesso destes micronutrientes nos dejetos, e conseqüente contaminação ambiental (DA SILVA et al., 2019).

As plantas, no geral, são muito mais suscetíveis à ocorrência de problemas por deficiência do que por excesso de nutrientes. Entretanto, metais traço (MTs) como Cu, Zn e Mn, comumente podem ocasionar fitotoxidez, principalmente devido contaminação dos solos por fontes antropogênicas, e, quando aliado a características intrínsecas do solo, como baixo teor de matéria orgânica, baixo teor

de argilas e pH ácido, o solo em questão apresenta uma alta disponibilidade desses MTs, o que por consequência pode oportunizar uma absorção excessiva pelas plantas (KABATA-PENDIAS, 2010).

A disponibilidade no solo também pode ser afetada pelo fator espacial. Sabe-se que a região do entorno das raízes, denominada rizosfera, apresenta características específicas que são condicionadas pela própria atividade do tecido radicular: i) Fenômenos de ordem química, como a depleção e acúmulo de íons devido à absorção radicular, alterações no pH oriundas de reações ácido-base, trocas gasosas, reações redox, exsudação de ligantes e complexação de íons; ii) Particularidades de características físicas, como a alta porosidade do solo rizosférico, que proporciona um gradiente estrutural na direção solo-raiz, e; iii) Fatores biológicos como a alta diversidade e quantidade de microorganismos na região rizosférica devido aos exsudatos radiculares que servem como substrato para estimular o crescimento da microbiota local. Todos os fatores expostos, de forma conjunta, atuam na dinâmica da disponibilização de nutrientes (DOTANIYA; MEENA, 2015; HELLIWELL et al., 2019; HINSINGER; PLASSARD; JAILLARD, 2006; MIMMO et al., 2018).

A atividade das raízes é o principal fator a coordenar as características da rizosfera. Sendo assim, podemos inferir que, não apenas as propriedades do solo, mas também, características intrínsecas da planta coordenarão os processos de disponibilidade e absorção. A espécie, a variedade, o estágio de desenvolvimento, a associação com microorganismos, dentre outros fatores, irão acarretar em diferentes comportamentos de crescimento e exsudação de compostos, gerando ambientes rizosféricos diferentes e, por consequência, dinâmicas discrepantes com relação à disponibilidade e absorção de MTs (KIDD et al., 2009; RASCIO; NAVARI-IZZO, 2011). Desta forma, as condições favoráveis ou não à toxidez não são facilmente previsíveis, pois a complexa interação de fatores é o que determinará sua ocorrência.

Uma vez que ocorre, a fitotoxidez limita o desenvolvimento e a produtividade da planta. Dentre os sintomas visuais gerais estão, principalmente, a atrofia do aparelho radicular e da parte aérea, e a clorose foliar. Contudo, esses sintomas morfológicos são precedidos de alterações fisiológicas, que não podem ser observadas em uma escala macro. Estas adaptações são tidas como mecanismos de tolerância da planta e ocorrem como uma resposta do organismo vegetal às

condições de estresse, na tentativa de adaptar-se ao meio desfavorável. Podemos citar: imobilização dos MTs no sistema radicular, aumento no conteúdo de enzimas antioxidantes, acúmulo dos metais na parede celular e no vacúolo e complexação de íons na rizosfera por ácidos orgânicos de baixo peso molecular (AOs) e carbono orgânico dissolvido (COD) exsudados pelo sistema radicular (ANTONIADIS et al., 2017; DE CONTI et al., 2016; KRZESŁOWSKA, 2011; MARTINOIA et al., 2012). A eficácia dos mecanismos de defesa das plantas é o que define a tolerância à toxidez e, conseqüentemente, o crescimento e o desenvolvimento da planta. É válido ressaltar que as respostas fisiológicas aos teores excessivos de determinados nutrientes são processos que ocorrem de forma conjunta e agem no sentido de detoxificar o corpo da planta. Estes processos são reguladores de absorção e acúmulo de nutrientes e exercem um importante papel na ocorrência ou não de fitotoxidez (WANG et al., 2017).

Levando em consideração o exposto, podemos entender que a questão da toxidez por micronutrientes é complexa, uma vez que, além de ser dependente de vários aspectos relativos a solo, planta e clima, apresenta diversos sintomas fisiológicos que não podem ser percebidos a olho nu. Além disso, os teores ótimo e prejudicial de micronutrientes estão separados por uma linha tênue. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi de analisar a dinâmica de Cu, Zn e Mn na relação solo-planta, no decorrer do desenvolvimento da cultura do milho em um Argissolo submetido a 17 anos de aplicações de dejetos animais.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Avaliar a dinâmica de Cu, Zn e Mn na relação solo-planta durante o desenvolvimento da cultura do milho em um Argissolo submetido a 17 anos de aplicações de dejetos animais.

1.1.2 Objetivos específicos

- Avaliar a absorção e translocação de Cu, Zn e Mn pelas plantas de milho, ao longo do seu desenvolvimento, a nível celular e entre órgãos, cultivado em um Argissolo submetido a 17 anos de aplicações de dejetos animais;
- Acessar teores de Cu, Zn e Mn no solo rizosférico e não rizosférico, bem como a sua distribuição nas frações químicas, e consequente disponibilidade, ao longo do desenvolvimento da cultura do milho em um Argissolo com sucessivas aplicações de dejetos animais.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 ADSORÇÃO, DESSORÇÃO E DISPONIBILIDADE

Os metais traço ocorrem de forma natural nos solos, sendo estes, oriundos da intemperização do material de origem. Em solos utilizados para a agricultura, pode ocorrer incremento de metais por meio de insumos externos, como adubos (químicos e orgânicos) e agrotóxicos (ALLOWAY, 2012; ZWOLAK et al., 2019). De forma generalizada, entende-se que altos teores de certos elementos no solo, ocasionarão, por consequência, uma absorção proporcional pelas plantas. Contudo, a análise da quantidade total não informa corretamente o potencial risco de toxidez, havendo a necessidade de analisarmos os teores disponíveis de nutrientes no solo, que correspondem à quantidade que, de fato, poderá ser absorvida pela planta (KABATA-PENDIAS, 2010).

Essa disponibilidade é dada por fatores relativos às propriedades do solo. A presença de argilominerais, óxidos, carbonatos e matéria orgânica oportuniza uma grande quantidade de grupos funcionais, aos quais Cu, Zn e Mn e outros MTs formarão ligações físico-químicas, ficando adsorvidos nestes sítios. Quanto maior for a oferta de grupos funcionais, maior a capacidade de sorção de determinado solo, e maior quantidade de MTs este poderá acumular. Além dos fatores citados acima, o pH, é tido como um aspecto determinante na disponibilidade de nutrientes. Solos mais alcalinos contribuem para a indisponibilização de elementos catiônicos, pois neste caso, a quantidade de cargas negativas do solo é maior, pois as cargas dependentes de pH (Si-O, Al-O, etc.) estarão livres de íons H⁺, aumentando a quantidade de ligantes disponíveis para os MTs. O oposto ocorre em pHs mais ácidos, onde, as cargas predominantes são positivas, e as cargas dependentes estarão saturadas por íons H⁺, ocasionando maior liberação de cátions metálicos dos grupos funcionais, incrementando assim, a disponibilidade (SPOSITO, 2008; YU, 1997).

Ainda há que se levar em consideração, de que a dinâmica de sorção dos elementos nos grupos funcionais é distinta quando comparamos uma adição isolada de apenas um elemento, e uma adição combinada de elementos. Sendo, o segundo caso, o tipo de adição existente na aplicação de adubos orgânicos e agrotóxicos. A adição combinada ocasiona uma interação competitiva dos elementos pelos sítios

de adsorção. No primeiro momento, são ocupados os sítios com maior energia de ligação, incluindo casos de adsorção específica, e posteriormente, os íons remanescentes se dividem entre frações onde a ligação é mais fraca ou em precipitados com maior solubilidade (SPOSITO, 2008), o que favorece o aumento da disponibilidade destes íons em solução. Em termos gerais, é possível observar uma resposta linear de absorção pelas plantas, com relação ao teor disponível de determinado nutriente, sendo que esta absorção, é incrementada, à medida que a concentração de dado elemento é elevada na solução do solo (KABATA-PENDIAS, 2010).

Com relação à disponibilidade, também é necessário discutir o processo de dessorção, o qual necessita de uma energia de ativação muito maior do que a energia necessária ao processo de sorção, e por este motivo, a taxa de dessorção à temperatura ambiente é muito mais baixa do que a de sorção. Além disso, caso o nutriente esteja envolvido em um processo de adsorção específica, este perderá sua labilidade inicial, pois este tipo de ligação é um processo pouco reversível. Porém, é importante destacar, que esta condição reflete em uma lentidão do processo de solubilização do nutriente, o que não significa que haja uma irreversibilidade da reação, podendo ocorrer a dessorção do nutriente, à medida que as condições favoráveis sejam instauradas (NASCIMENTO, 2001).

Diversos tipos de extratores simples são utilizados para analisar a disponibilidade de nutrientes no solo: ácidos diluídos, agentes quelantes e soluções salinas. Contudo, a literatura apresenta bastante controvérsia sobre quais os métodos são mais efetivos para determinar estes teores disponíveis, sendo que os métodos mais utilizados nos laboratórios de rotina, tendem a ser escolhidos levando em consideração, principalmente a sua praticidade, custo-benefício e capacidade de extrair vários nutrientes no mesmo método, oportunizando a leitura de mais de um elemento no mesmo extrato (NASCIMENTO, 2001). Para maior acurácia na análise de teores disponíveis, como alternativa aos métodos de extração simples, existem os métodos de fracionamento. Estes se baseiam em extrações sequenciais com diferentes soluções aplicadas a uma mesma amostra, com força extratora crescente, oportunizando acessar os teores de nutriente ligados em cada fração da amostra. Em geral, os métodos de extração sequencial apresentam as seguintes frações: solúvel, trocável, matéria orgânica, argilominerais e residual, sendo as duas primeiras, mais disponíveis para absorção radicular, pois, frequentemente encontra-

se uma relação linear positiva entre os teores disponíveis de um elemento na solução do solo e a concentração do mesmo elemento nos tecidos da planta (KABATA-PENDIAS, 2010; TESSIER; CAMPBELL; BISSON, 1979; TIECHER et al., 2013).

Contudo, Antoniadis et al. (2017), aponta que muitas vezes são encontrados níveis de toxidez abaixo do esperado, pois, leva-se em conta apenas as propriedades do solo e os teores disponíveis, porém, segundo o autor, a complexidade de características vegetais e adaptabilidade das plantas desempenham um importante papel nas taxas de absorção, mesmo em condições de suprimentos excessivos. Além disso, o mesmo autor indica que o fator “envelhecimento” dos nutrientes, frequentemente desprezado, é relevante na ocorrência (ou não) de toxidez, uma vez que o destino de MTs recentemente adicionados é distinto daqueles que estão depositados a mais tempo no solo. Esta diferença foi explicada por Barrow (1999), onde o autor indica que toda reação de sorção é seguida pela penetração do íon no interior das partículas reativas, imobilizando-o em frações residuais inacessíveis. Uma vez que estas reações ocorrem, existe uma mudança no potencial de superfície das partículas, afetando novas reações de adsorção e dessorção que ocorrerão após futuras adubações. Por estes motivos, a dinâmica de MTs deve ser observada por outros parâmetros, a fim de uma melhor previsão da absorção destes pelas plantas.

2.2 VARIAÇÃO ESPACIAL NA DISPONIBILIDADE DE NUTRIENTES: SOLO RIZOSFÉRICO E NÃO RIZOSFÉRICO

Rizosfera foi o termo adotado para o volume de solo que sofre influência das raízes, sendo descrito pela primeira vez em 1904 por Lorentz Hiltner, contemplando um espaço entre 2 a 80 mm, a depender da espécie da planta (DOTANIYA; MEENA, 2015; SESHADRI; BOLAN; NAIDU, 2015). Atualmente, entende-se que a rizosfera é dividida em três partes, sendo estas: i) Endorizosfera: incluindo o córtex e endoderme das raízes, onde íons e microrganismos colonizam o espaço extracelular; ii) Rizoplano: camada do meio que abrange a epiderme e mucilagem radicular e, iii) Ectorizosfera: a camada de solo externa entre as raízes e o solo não rizosférico (SESHADRI; BOLAN; NAIDU, 2015). No presente trabalho, será adotado o termo “rizosfera” para se referir ao solo no entorno das raízes, pois este é o termo

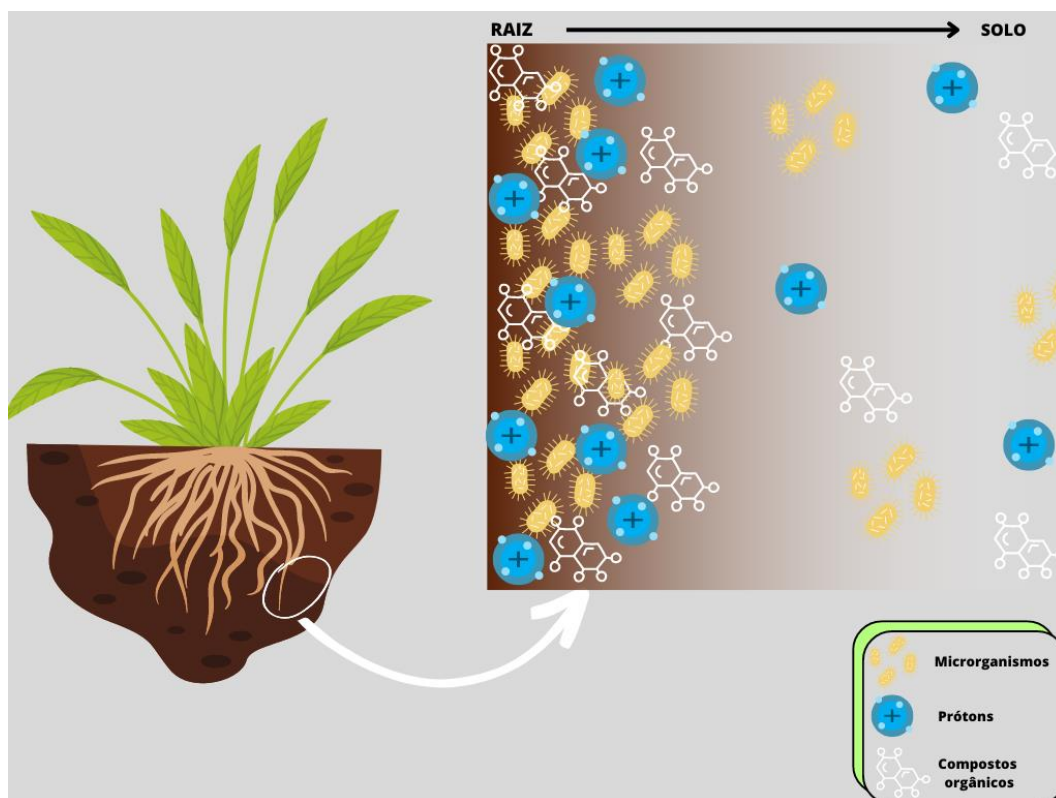
mais utilizado na literatura. Nesta região, os ciclos biogeoquímicos de nutrientes, solubilidade e transporte, apresentam diferenças significativas quando comparados ao solo distante das raízes. Porém, as particularidades da rizosfera não são levadas em consideração em amostras de solo padrão, fazendo com que estas não sejam representativas dos fenômenos que realmente estão ocorrendo na interface solo-raiz. A inclusão desses fatores na definição de estratégias de fertilização, tende a otimizar a exploração de nutrientes pela planta (MIMMO et al., 2018).

Hinsinger, Plassard e Jaillard (2006) apontam que na rizosfera ocorrem fenômenos de ordem química, como a depleção e acúmulo de íons devido à absorção radicular, alterações no pH, reações ácido-base, trocas gasosas, reações redox, exsudação de ligantes e complexação de íons. Helliwell et al. (2019), em um estudo que mapeou gradientes estruturais no solo ao redor das raízes, demonstraram que esta porção de solo apresenta uma alta porosidade, o que favorece os processos-chave que ocorrem nesta região. Fatores biológicos também são significativos na rizosfera, pois as raízes exsudam açúcares, lipídios e aminoácidos, que servem como substrato para estimular o crescimento da microbiota local. Estes microrganismos participam ativamente da ciclagem de macronutrientes como N e P, e de micronutrientes como Fe, Mn, Zn e Cu (DOTANIYA; MEENA, 2015). Estas evidências demonstram que a rizosfera possui propriedades químicas, físicas e biológicas próprias (Figura 1).

A particularidade de características da rizosfera ocorre principalmente devido ao efluxo de compostos radiculares. Segundo Kidd et al. (2009), estes compostos também podem ser chamados de “rizodepósitos”, e classificados em cinco grandes grupos: O grupo dos exsudatos, contempla aminoácidos, ácidos carboxílicos de baixo peso molecular, açúcares, fenóis simples e fenóis-flavonoides; as secreções, representadas por ectoenzimas e carboidratos poliméricos; mucilagens e mucigel, dois grupos distintos nos quais estão contidos os carboidratos e detritos celulares, e; no grupo dos lisatos, estão as flavononas, compostos fenólicos e detritos celulares. Cada um destes efluxos radiculares apresenta diferentes composições e características, impactando de formas distintas nas propriedades da rizosfera, podendo ocasionar intemperismo de minerais e mobilização de nutrientes, em condições de deficiência nutricional e, também atuar conferindo resistência às plantas em condições de acidez excessiva e toxidez por nutrientes, pois estão

envolvidos em mecanismos de tolerância internos e externos (BRUNETTO et al., 2016; MIMMO et al., 2018).

Figura 1 – Gradientes de microrganismos, prótons e compostos orgânicos no sentido rizosfera – solo não rizosférico.



Fonte: Autora (2023)

A quantidade, variedade e composição dos exsudatos também pode variar de acordo com a espécie de planta (KIDD et al., 2009; MIMMO et al., 2018). Plantas que são tidas como excludentes, liberam exsudatos que imobilizam e reduzem a disponibilidade, enquanto os exsudatos de plantas hiperacumuladoras apresentam um caráter solubilizador, aumentando a disponibilidade e posterior absorção radicular (RASCIO; NAVARI-IZZO, 2011). Contudo, já foi reportado aumento na solubilização de Zn em espécies não hiperacumuladoras (*Festuca rubra*), e, após um período de dois anos, foram observados precipitados de Ca-Zn e Mn-Zn na epiderme raízes, o que foi considerado pelos autores, como um mecanismo de tolerância induzido pelo excesso de Zn (LANSON et al., 2008). Em contraste, frequentemente são encontrados comportamentos de depleção de metais na rizosfera de fitoextratoras, provavelmente devido à absorção pelas plantas e não por

imobilização ou precipitação (KIDD et al., 2009). Estas discrepâncias mostram que os mecanismos de ação dos exsudatos na disponibilização ou imobilização de nutrientes, em função do nível de tolerância da planta, ainda não são muito claros e não podem ser extrapolados para todos os sistemas rizosféricos.

Embora existam alguns consensos com relação aos exsudatos, como por exemplo, as poáceas, que exsudam fitossideróforos, aminoácidos capazes de formar complexos muito mais estáveis com Fe, Cu e Zn do que os carboxilatos exsudados em maior volume por outras espécies não-gramináceas (HINSINGER; PLASSARD; JAILLARD, 2006; KIDD et al., 2009; LEŠKOVÁ; JAVOT; GIEHL, 2022), é necessário levar em consideração que a eficiência da mobilização/imobilização também depende fortemente das características do solo. Já foi demonstrado que em solos ácidos, o citrato foi mais eficiente na mobilização de Fe, Mn e Cu do que o malato e o oxalato. Já em condições de alcalinidade, a eficiência de mobilização variou com relação ao nutriente, sendo o citrato mais eficiente para mobilizar Fe e Mn, e o oxalato mais eficiente para Cu (MIMMO et al., 2018). Além disso, Terzano et al. (2015), relataram um efeito sinérgico na mobilização de Mn, com a combinação de citrato com quercetina e rutina (flavonoides), ocasionando aumentos de 1.7 e 1.5 vezes mais do que a ação isolada de cada flavonoide, demonstrando que as relações de interferência (sinérgismo, antagonismo e adição) entre exsudatos também afetam significativamente a disponibilidade de nutrientes.

As relações de interferência também podem ocorrer entre elementos, e o desbalanço na proporção entre os nutrientes é apontado como o fator mais significativo nestas interferências. A razão entre os elementos presentes se mostra muito mais importante do que a concentração de um nutriente específico, sendo esta razão, o principal fator a governar os mecanismos de absorção pelas plantas. Assim, existindo um desequilíbrio na solução do solo, ocorre, por consequência uma absorção inadequada do nutriente (em excesso ou deficiência) o que afeta a demanda interna da planta, sendo que, no caso de metais traço, o excesso pode modular a expressão de genes envolvidos no processo de aquisição de nutrientes não metálicos (LEŠKOVÁ; JAVOT; GIEHL, 2022; MIMMO et al., 2018). Assim, ao mesmo tempo em que os exsudatos radiculares regulam a absorção de nutrientes pelas plantas, estresses induzidos por excesso ou deficiência, irão impactar na taxa e qualidade de exsudação, pois compostos como citrato, oxalato, succinato, piruvato e malato são componentes do metabolismo primário da planta, o qual é afetado

negativamente por desequilíbrios nutricionais. Desta forma, pode-se afirmar que as raízes modificam as propriedades da rizosfera por meio de exsudatos, e de forma recíproca, os exsudatos também são impactados pelas condições do meio, caracterizando um processo cíclico (ANTONIADIS et al., 2017).

2.3 COMPORTAMENTO DE Cu, Zn e Mn NO SOLO COM ADUBAÇÃO DE DEJETOS DE ANIMAIS A LONGO PRAZO

A região sul do Brasil, principalmente os estados do RS e SC se destacam na criação de suínos e bovinos. Neste tipo de atividades, é comum que os dejetos produzidos sejam aplicados no solo como forma de adubação para a produção de grãos e pastagens. Esta é uma boa alternativa no que diz respeito à ciclagem de nutrientes, pois o dejetos é produzido e reutilizado na própria unidade (GIROTTO et al., 2010), além disso, o agricultor é beneficiado reduzindo o emprego de insumos externos, e por consequência, abaixando os custos de produção. Contudo, a criação de animais em larga escala tende a originar quantidades de dejetos muito superiores às necessárias para adubar essas áreas destinadas à produção vegetal, que são espaços pequenos na maioria das propriedades familiares da região (MALLMANN et al., 2012).

Outro problema frequentemente apontado na adoção de dejetos animais para adubação, é o desbalanço nutricional e variação na concentração de macro e micronutrientes, pois estas propriedades dependem do que é consumido pelos animais. Segundo Da Silva et al. (2019), a suplementação de minerais como Cu, Zn e Mn é frequentemente adotada na dieta de suínos na forma de sais inorgânicos como óxidos e sulfatos, e são fundamentais para o bom funcionamento do metabolismo animal, atuando no crescimento, reprodução, desenvolvimento de tecidos, manutenção da integridade intestinal, desenvolvimento do sistema imune e proteção de células contra o estresse oxidativo. Entretanto, as quantidades de suplemento oferecidas frequentemente ultrapassam as quantidades requeridas, ocasionando impactos negativos no ambiente.

Em condições de não contaminação, os metais traço se encontram adsorvidos nos grupos funcionais negativamente carregados do solo, como argilominerais, óxidos e matéria orgânica. Entretanto, as deposições frequentes de dejetos ricos em MTs acabam por saturar esses grupos funcionais, ocasionando

maior oferta de cátions metálicos em sítios com menor energia de ligação e por consequência maior disponibilidade, o que pode gerar acúmulo excessivo ao longo dos anos e causar toxidez nas culturas de interesse, contaminação de águas superficiais e lixiviação (GIROTTO et al., 2010; MATTIAS et al., 2010; TIECHER et al., 2013). Por este motivo, é necessário avaliar o impacto de sucessivas aplicações de dejetos por longos períodos na disponibilidade de MTs e possíveis consequências nos aspectos ambientais e produtivos.

Da Rosa Couto et al. (2016), avaliou a acumulação e distribuição de Cu e Zn no perfil de dez áreas adubadas com dejetos suínos entre 3 e 30 anos. Neste estudo, os autores demonstraram que a partir de 17 anos de aplicação de dejetos líquido de suínos houve aumento de Cu e Zn em todas as frações de solo nas camadas mais superficiais, sendo que este período de aplicações também demonstrou ser crítico para contaminação de águas superficiais com Cu. Drescher et al. (2022), encontraram resultados semelhantes avaliando um solo com aplicações sucessivas de dejetos suínos por 11 anos. Em um trabalho de modelagem vertical que estimou o transporte de Cu e Zn no perfil do solo para 50 anos, Mallmann et al. (2012), concluíram que a percolação no perfil do solo destes MTs não representa risco para contaminação de águas subsuperficiais, porém, contínuas aplicações tendem a ocasionar um acúmulo consistente de Cu nas camadas superiores, podendo ultrapassar os limites estabelecidos pela legislação brasileira.

Estudos que avaliam acúmulo de MTs em solos submetidos a aplicação de dejetos por longos períodos concluem que estas aplicações sucessivas aumentam os teores totais e incrementam a disponibilidade destes nutrientes, encontrando maior acúmulo nas camadas mais superficiais, sendo que o Cu apresenta riscos de atingir valores críticos mais rapidamente do que outros elementos como Zn e Mn (MALLMANN et al., 2012; MATTIAS et al., 2010; ZHANG; LI; YANG, 2015). Em trabalhos onde foi analisada a distribuição de MTs em diferentes frações do solo, foi encontrado que Cu acumulou em maior parte nas frações orgânicas, enquanto o Zn acumulou em frações minerais (DA ROSA COUTO et al., 2016; DRESCHER et al., 2022; FORMENTINI et al., 2015; TIECHER et al., 2013). Com base nestas informações, é possível prever, em termos gerais, os impactos esperados com deposições contínuas de dejetos no solo.

2.4 ABSORÇÃO E TRANSPORTE DE SOLUTOS ENTRE ÓRGÃOS E A NÍVEL CELULAR

À medida que os nutrientes vão sendo disponibilizados na solução do solo, dá-se início ao processo de absorção pelas raízes. A absorção radicular de metais traço pelas plantas pode ocorrer de forma passiva ou ativa. Acredita-se que o parâmetro mais influente quando se fala em absorção ativa é a atividade iônica da solução, e elementos como Cu, Zn e Mn são, em maior parte, absorvidos ativamente. Entretanto, quando os teores de determinados nutrientes passam do valor limite da barreira fisiológica, as propriedades biológicas e estruturais das células radiculares são alteradas, e estas alterações fazem com que a absorção passe a ser majoritariamente passiva (KABATA-PENDIAS, 2010; TAIZ et al., 2017).

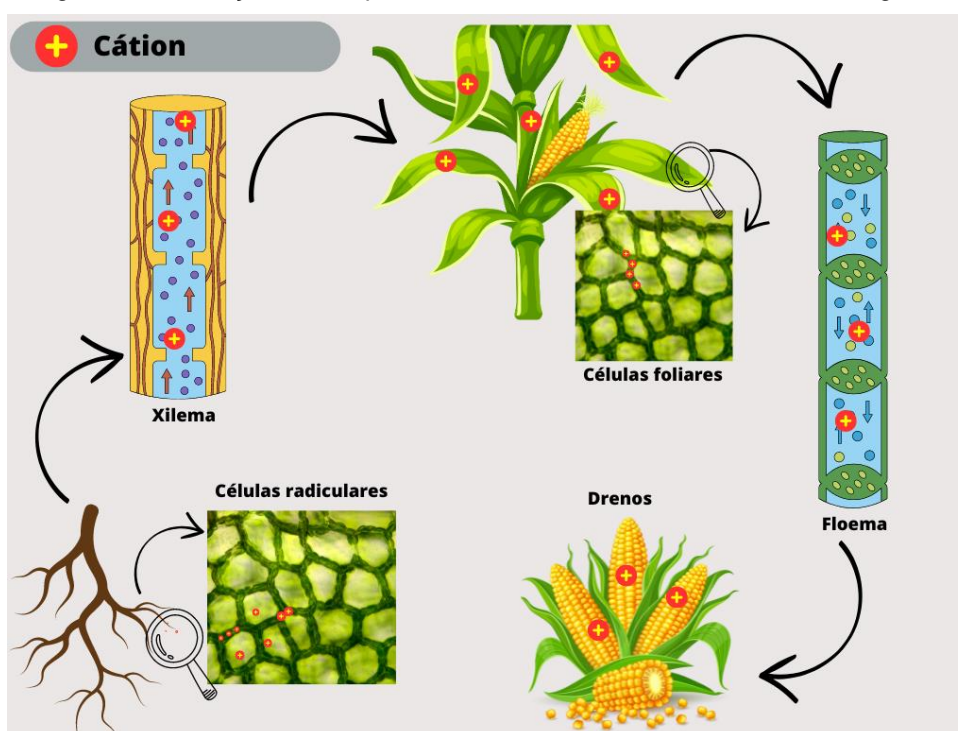
O primeiro processo envolvido na absorção radicular para os MTs é a ligação destes cátions com o apoplasto das raízes. O apoplasto é um continuum de paredes celulares, caracterizando um espaço de transporte extracelular (TAIZ et al., 2017). Neste local, existe uma grande quantidade e variedade de compostos de cargas negativas, nas quais os cátions metálicos ficam fortemente ligados (KRZESŁOWSKA, 2011). Após ligarem-se nestes compostos da parede celular, os nutrientes podem ficar retidos na mesma, ou, difundir-se através dela, adentrando a célula. Os íons também podem ser absorvidos pelo simplasto, sendo transportados de forma intracelular pelo plasmodesmos (ARIF et al., 2016; GUPTA et al., 2019).

Após a entrada pelo apoplasto ou simplasto das raízes, os íons podem se deslocar radialmente até os tecidos do xilema, onde, são carregados para as partes aéreas da planta pelo fluxo de transpiração (PAGE; FELLER, 2015). Uma vez que os nutrientes estejam em tecidos fotossinteticamente ativos, estes podem ficar acumulados caso não haja nenhuma redistribuição, ou, podem ser redistribuídos, juntamente com os fotoassimilados para os drenos da planta (frutos, brotos etc.), pelos vasos do floema (Figura 2). Segundo Gupta et al. (2019), o transporte via floema envolve principalmente carregamento no apoplasto e posterior descarga no dreno alvo. Compostos quelantes como nicotianamina e fitoquelatinas são relevantes para este tipo de transporte. Além disso, variações eletroquímicas dos elementos também podem influenciar na translocação destes no interior da planta: Mn, Ni, Cd e Zn são considerados moderadamente móveis, enquanto Co, Cu, Cr, Pg, Hg e Fe ficam fortemente ligados às células das raízes, o que, pode se

caracterizar como um mecanismo evitativo em condições de suprimento excessivo (KABATA-PENDIAS, 2010; KRZESŁOWSKA, 2011; TAIZ et al., 2017).

Quando as estratégias de defesa evitativas não são suficientes para frear a absorção excessiva de determinado nutriente, são acionados mecanismos de detoxificação intracelulares, que incluem sequestro em compartimentos extracitoplasmáticos, como a parede celular e o vacúolo. Esta resposta fisiológica ocorre na tentativa de impossibilitar que o nutriente em excesso reaja metabolicamente com substâncias celulares ativas. Ainda, segundo Benedet (2018), em condições de concentrações mais baixas, os íons são primeiramente absorvidos via simplástica, caracterizando um transporte intracelular por meio dos plasmodesmos, e à medida que a concentração se eleva, a absorção passa a ser majoritariamente via apoplástica, ocorrendo em espaços extracelulares, pela parede celular (EMAMVERDIAN et al., 2015; ANTONIADIS et al., 2017; KRZESŁOWSKA, 2011).

Figura 2 – Absorção e transporte de nutrientes a nível celular e entre órgãos.



Fonte: Autora (2023)

A parede celular é a primeira barreira física da célula, e, comumente acumula cátions metálicos bivalentes e trivalentes, tanto durante a absorção pela célula, quanto ao estágio final de seu sequestro pelo protoplasto. Esta organela representa

um importante sítio de acumulação de MTs devido à sua composição, pois é formada de polissacarídeos ricos em pectina e lignina, que apresentam grupos funcionais -COOH, -OH e -SH, nos quais os cátions irão se ligar. Assim, podemos afirmar que a capacidade da parede celular em fixar MTs depende da quantidade e diversidade de polissacarídeos presentes (KRZESŁOWSKA, 2011).

O acúmulo de MTs na parede celular causa um engrossamento nesta estrutura. Este engrossamento ocorre devido ao aumento no nível pectinas de baixa metilesterificação, que são os polissacarídeos responsáveis em acumular cátions divalentes e trivalentes. Com isto, além de aumentar a capacidade de acúmulo da parede celular, também diminui sua permeabilidade, reduzindo a migração de íons para o protoplasto. A principal pectina no processo de ligação aos MTs é a HGA, que em condições normais liga-se a íons Ca em uma estrutura “caixa de ovos”, onde duas cadeias de HGA interagem por intermédio do íon cálcio. Contudo, na presença de outros cátions divalentes como Cu, Zn, Al, Pb e Cd, que apresentam maior afinidade pelo HGA, ocorre uma troca catiônica, onde Ca é substituído por íons de MTs (ANTONIADIS et al., 2017; KRZESŁOWSKA, 2011; TANG et al., 2023).

O vacúolo, definido como “compartimento envolvido por membrana sem citoplasma” (TAIZ et al., 2017), é uma organela subcelular, que em células maduras, pode representar até 95% do volume intracelular. A membrana que o delimita, é chamada tonoplasto, e contém lipídeos e proteínas que são sintetizados inicialmente no retículo endoplasmático. O vacúolo participa da expansão celular e atua como compartimento de reserva, acumulando íons inorgânicos, açúcares, ácidos orgânicos e metabólitos secundários. Este comportamento de acumulação é um importante mecanismo, que contribui para a manutenção da homeostase do citosol (MARTINOIA et al., 2012).

A membrana que recobre o vacúolo é denominada tonoplasto. Os transportadores de membrana presentes no tonoplasto desempenham um papel chave no sequestro de MTs nos vacúolos. Por este fluxo ser controlado por transportadores de membrana, diz-se que o transporte dos MTs para dentro do vacúolo ocorre principalmente de forma ativa. Os tipos e quantidades de transportadores variam de acordo com a espécie da planta. Segundo Taiz et al. (2017), para Fe, Mn e Zn, mais de 25 ZIP transportadores foram identificadas. Para Cu e Mo, outras famílias de transportadores foram reportadas. De forma geral, os transportadores apresentam uma alta especificidade e afinidade com relação ao íon

a ser transportado, devido às baixas concentrações dos MTs na solução do solo em condições de não toxidez (ARIF et al., 2016; MARTINOIA et al., 2012; TANG et al., 2023).

Por meio de um processo de divisão subcelular, diversos autores reportaram o acúmulo de cátions metálicos (essenciais e não essenciais) na parede celular e no vacúolo de células vegetais. Segundo Fu et al. (2011), a maior parte de Cd em *Phytolacca americana* L. foi encontrada na parede celular e no vacúolo. Huang et al. (2017) e Wang, Liu e Hu (2016), reportaram acúmulo de Cu na parede celular e no vacúolo para *Ricinus communis* e *Malus domestica*. Xiao et al. (2020), analisando a distribuição subcelular de Mn, reportou maiores acúmulos na parede celular e vacúolo de *Cleome viscosa* L., e Thiesen et al. (2023), observou o mesmo comportamento de Mn em poáceas exóticas e nativas do bioma pampa. Estas evidências corroboram para indicar que as plantas, em um mecanismo de tolerância a altos teores de cátions metálicos essenciais e não essenciais, tendem a acumular estes íons em compartimentos extracitosólicos.

3 METODOLOGIA

3.1 DESCRIÇÃO DO EXPERIMENTO

O estudo foi conduzido em um experimento de longa duração, que teve início no ano de 2004, tendo completado 17 anos de condução até o momento das coletas de amostras utilizadas neste trabalho. A área experimental é localizada na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), no município de Santa Maria, Rio Grande do Sul (RS), região Sul do Brasil (29°43'12''S e 53°43'4''W). O clima é descrito como subtropical úmido (Cfa 2), de acordo com a classificação de Köppen, e caracterizado por ter uma temperatura média anual de 19,3°C, precipitação de 1.561 mm e umidade relativa de 82%. O solo da área é classificado como Argissolo Vermelho Distrófico arênico, de acordo com Embrapa (2018), com 108 g kg⁻¹ de argila; 183 g kg⁻¹ de silte e 709 g kg⁻¹ de areia (0-10 cm). Demais características químicas do solo ao início do experimento, estão na tabela 1.

O delineamento experimental adotado foi blocos ao acaso, com quatro repetições. A dimensão das parcelas foi de 5 x 5 m (25 m²). Os tratamentos adotados foram: dejetos líquidos de suínos (DLS), dejetos líquidos de bovinos (DLB), cama sobreposta de suínos (CSS) fertilizante mineral (ureia + superfosfato triplo - SFT + cloreto de potássio - KCl) (NPK) e um tratamento controle, sem a aplicação de nutrientes. A dose de cada resíduo orgânico foi definida de acordo com a concentração de N contida em cada material, levando em consideração a exigência de N requerida pelas culturas do milho e do trigo, seguindo recomendações da Comissão de Química e Fertilidade do Solo (CQFS RS/SC, 2016). Não foram realizadas aplicações complementares de P₂O₅ e K₂O nos tratamentos com adubação orgânica afim de equalizar os teores de macronutrientes no tratamento com adubação mineral.

Como o experimento é conduzido sob sistema de plantio direto, as aplicações dos fertilizantes orgânicos e mineral foram realizadas em superfície, sobre os restos da cultura antecedente, sem incorporação, sendo aplicados uma vez ao ano, antecedendo a semeadura das culturas de verão entre 2004 e 2009. A partir de 2010, a aplicação passou a ocorrer duas vezes por ano, antes da semeadura de cada cultura. Em julho de 2016 foi realizada uma aplicação de calcário dolomítico na dose de 3 t/ha. A aplicação foi realizada em superfície, sem incorporação. De modo

geral, durante a condução do experimento, o milho foi semeado no mês de outubro de cada ano (MARCHEZAN et al., 2020).

Tabela 1 - Propriedades químicas do solo coletado na camada de 0-10 cm, antes da implantação do experimento (2004) e após 25 aplicações de adubações orgânicas e minerais (2020). Os tratamentos são: dejetos líquidos de bovinos (DLB), dejetos líquidos de suínos (DLS), cama sobreposta de suínos (CSS), adubação mineral (NPK) e sem adubação (controle).

Propriedades químicas	Inicial (2004) ⁽¹⁾	Tratamentos (2020)				
		CONT	DLB	DLS	CSS	NPK
pH _{H2O} (1:1)	4.9	5.5	5.7	5.6	5.7	5,0
Matéria orgânica (g kg ⁻¹) (Determinado por TOC + fator Van Bemmelen)	19	15.7	20.7	21.25	27	16.7
P disponível (mg kg ⁻¹) (Extraído por Mehlich-1)	20.3	5.8	111.8	119.1	106	74.4
K trocável (mg kg ⁻¹) (Extraído por Mehlich-1)	60	35	137	109	151	90
Ca trocável (cmol _c kg ⁻¹) (Extraído por KCl 1 mol L ⁻¹)	0.8	1.9	2.8	2.7	4.1	1.7
Mg trocável (cmol _c kg ⁻¹) (Extraído por KCl 1 mol L ⁻¹)	0.3	0.9	1.6	1.5	1.5	0.8
Al trocável (cmol _c kg ⁻¹) (Extraído por KCl 1 mol L ⁻¹)	0.03	0	0	0	0	0.5
H+Al (cmol _c kg ⁻¹)	3.7	2.8	3.1	2.6	3.1	4.7
CTC _{efetiva} (cmol _c kg ⁻¹)	1.3	3.05	4.8	4.5	6.1	3.2
CTC _{pH 7,0} (cmol _c kg ⁻¹)	5	5.8	7.9	7.1	9.1	7.4
Saturação por bases (%)	25.4	51.3	60.6	63.1	66.4	37.7
Saturação por Al (%)	2	0	1.2	0	0	16.2

⁽¹⁾ Lourenzi et al. (2014).

No ano de 2021, a semeadura do milho (HIBR.S1 SYN8A98 FERROZ TLTG RR VIP3) foi realizada no dia 5 de novembro de 2021 e a colheita no dia 4 de abril de 2022. Ao longo deste período, na cidade de Santa Maria (RS), a pluviosidade total foi de 598,6 mm, a média das temperaturas máximas foi de 24,07°C e a média das mínimas foi de 22,6°C (INMET, 2023). Segundo o boletim agroclimatológico publicado no início de novembro (INMET, 2021), a previsão para o trimestre

subsequente era de chuvas abaixo da média climatológica para a região Sul do Brasil, devido a impactos ocasionados pela formação do fenômeno La Niña, situação essa, que se estendeu até o final do cultivo. Por isso, durante todo o ciclo da cultura, foram empregadas irrigações suplementares por aspersão, porém, a falta de chuvas também baixou os níveis do reservatório, e por este motivo, a manutenção adequada das irrigações foi inviável, ocasionando estresse hídrico nas plantas por alguns períodos.

Os teores totais de N em DLB, DLS e CSS foram determinados um dia antes da aplicação, sem nenhum procedimento prévio (TEDESCO et al., 1995). Os valores encontrados, respectivamente, foram de 1,40, 1,53, 4,36 g N kg⁻¹, sendo que para atender a demanda de 100 kg N ha⁻¹ foram aplicados 142,8 m³ de DLB ha⁻¹, 81,7 m³ de DLS ha⁻¹, e 37.878,79 kg de CSS ha⁻¹. A dose total foi aplicada uma semana antes da semeadura (29/10/2021). No tratamento NPK foram utilizados ureia, superfosfato triplo (SFT) e cloreto de potássio (KCl) para o suprimento de N, P₂O₅ e K₂O, respectivamente. As doses de N foram parceladas, sendo 30 kg N ha⁻¹ na semeadura e o restante dividido igualmente em duas aplicações, nos estágios V4 e V8. O manejo de espécies espontâneas foi realizado uma vez durante o ciclo, com Glifosato®, na dose de 1L p.c./ha, com 150 L/ha de calda.

3.2 COLETAS DE SOLO E PLANTA

As coletas de solo e planta foram realizadas em três diferentes estágios, definidos por dias após a semeadura (DAS). A primeira ocorreu no estágio vegetativo V4 (43 DAS), a segunda no florescimento R1 (87 DAS) e a terceira na maturação R5 (120 DAS).

O solo não rizosférico (SNR) foi coletado com o auxílio de um trado holandês, nas entrelinhas da cultura, na camada de 0-20 cm, com cinco subamostras para compor uma amostra. Para o solo rizosférico (SR), foi feito o corte do torrão na área de concentração do sistema radicular da planta. O excesso do solo do torrão foi retirado, e apenas o solo aderido às raízes em uma espessura de 0-2 mm foi considerado. Posteriormente, as amostras foram secas em estufa a 40°C, moídas e peneiradas em malha de 2 mm.

A parte aérea e a raiz das plantas de milho foram coletadas nas mesmas datas de coleta do solo. A parte aérea foi cortada na base do colmo, e a raiz

retirada com o auxílio de uma pá de corte, juntamente com a coleta de solo rizosférico. Os grãos foram coletados na maturação (R6). As amostras foram lavadas com água deionizada, e posteriormente secas em estufa a 65°C até atingir peso constante, e moídas para avaliação.

3.3 TEORES DISPONÍVEIS DE Cu, Zn e Mn EM SOLO RIZOSFÉRICO E NÃO RIZOSFÉRICO

Os teores disponíveis de Cu, Zn e Mn no SR e SNR foram extraídos por três métodos: i) Mehlich-1 ($\text{HCl } 50 \text{ mmol L}^{-1} + \text{H}_2\text{SO}_4 12,5 \text{ mmol L}^{-1}$) (MEHLICH, 1953); ii) Mehlich-3 ($\text{CH}_3\text{COOH } 0,2 \text{ mol L}^{-1} + \text{NH}_4\text{NO}_3 0,25 \text{ mol L}^{-1} + \text{NH}_4\text{F } 15 \text{ mmol L}^{-1} + \text{HNO}_3 13 \text{ mmol L}^{-1} + \text{EDTA } 1,0 \text{ mmol L}^{-1}$) (MEHLICH, 1984); e iii) $\text{HCl } (0,1 \text{ mol L}^{-1})$. A leitura da concentração dos três elementos nos extratos foi realizada no espectrofotômetro de absorção atômica (AAS, Perkin Elmer Analyst 200).

3.4 TEORES PSEUDOTOTAIS DE Cu, Zn e Mn EM SOLO RIZOSFÉRICO E NÃO RIZOSFÉRICO

O conteúdo pseudototal de Cu, Zn e Mn nas amostras de SR e SNR foi extraído por digestão no microondas seguindo o método 3051A do Environmental Protection Agency (EPA) (USEPA, 2007). Foram utilizadas 0,5 g de solo e 10 mL de HNO_3 . O tempo de rampa foi de 5,5 minutos e o tempo de digestão foi de 10 minutos a 175°C. A leitura da concentração dos três elementos no extrato foi realizada no espectrofotômetro de absorção atômica (AAS, Perkin Elmer Analyst 200).

3.5 EXTRAÇÃO SEQUENCIAL DE Cu, Zn e Mn EM SOLO RIZOSFÉRICO E NÃO RIZOSFÉRICO

A metodologia de extração sequencial empregada nas amostras de SR e SNR foi a de Tessier (1979). Este método baseia-se na separação de cinco frações: trocável (F1), carbonatos (F2), óxidos de Fe e Mn (F3), matéria orgânica (F4) e residual (F5). As soluções, temperaturas e tempos de reação estão detalhadas no quadro 1. O acúmulo dos nutrientes Cu, Zn e Mn no solo foi verificado a partir da

soma das frações (ΣF) obtidas na análise de fracionamento químico destes elementos. As porcentagens de incremento foram calculadas para os tratamentos que apresentaram diferença significativa, por: $[(\Sigma F_{\text{adub}} - \Sigma F_{\text{cont}}) / \Sigma F_{\text{cont}}] * 100$, onde: ΣF_{adub} = somatório das frações para os tratamentos adubados e; ΣF_{cont} = somatório das frações do controle. A proporção ocupada por cada fração foi determinada por: $(F_n / \Sigma F) * 100$, onde F_n representa o teor do metal em determinada fração; e ΣF corresponde ao somatório das frações.

Quadro 1. Extração sequencial de Tessier (1979).

FRAÇÃO	EXTRATOR QUÍMICO
Trocável	8 ml de MgCl_2 1 mol L^{-1} , a pH 7,0.
Carbonatos	8 ml de NaOAc 1 mol L^{-1} , a pH 5,0 (HOAc).
Óxidos de Fe e Mn	20 ml de $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ 0,04 mol L^{-1} , 25% (v/v) CH_3COOH a pH 2,0.
Matéria orgânica	3 ml de HNO_3 0,02 mol L^{-1} + 8 ml de 30% de H_2O_2 pH 2,0 ajustado com HNO_3 + 5 ml de NH_4OAc a 20% (3,2 mol L^{-1}).
Residual	Digestão pseudototal HNO_3 – EPA 3051A

Fonte: Autora (2023)

3.6 CARBONO ORGÂNICO DO SOLO

As amostras de solo foram maceradas em almofariz e submetidas ao método de combustão seca (TEDESCO et al., 1995). A determinação foi realizada no Autoanalisador Elementar (Flash EA1112, Thermo Electron Corporation, Milan, Italy).

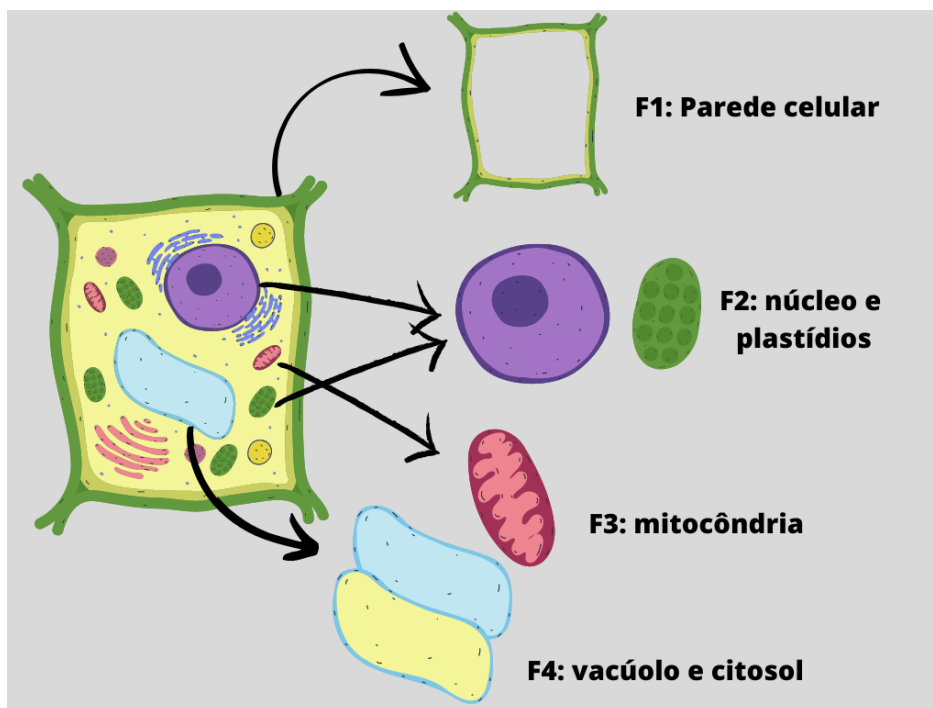
3.7 CONCENTRAÇÃO DE Cu, Zn e Mn NAS RAÍZES, NA PARTE AÉREA MILHO

Amostras de 0,250 g de raízes, parte aérea de milho foram submetidos à digestão nitroperclórica (3 mL de ácido nítrico [HNO_3] 65% P.A. + 1 mL de ácido perclórico [HClO_4] 70% P.A.) (Embrapa, 2000). A concentração total de Cu, Zn e Mn foi analisada em espectrofotômetro de absorção atômica (AAS, Perkin Elmer Analyst 200).

3.8 DIVISÃO SUBCELULAR DE Cu, Zn e Mn NAS FOLHAS DE MILHO

A distribuição de Cu, Zn e Mn nas folhas, a nível celular foram determinadas para todos os tratamentos, de acordo com a metodologia adaptada por Fu et al. (2011), Wang et al. (2016), Huang et al. (2017) e Xiao et al. (2020). Para isso, 1,0 g de material vegetal da parte aérea macerado em N líquido e congelado em ultrafreezer (-80° C) foram homogeneizadas com 10 mL de 50 mmol L⁻¹ de tampão de Tris-HCl (pH 7,5), 1 mmol L⁻¹ de Dithiothreitol (DTT). Posteriormente, o extrato foi centrifugado a 300g por 5 minutos, resultando em um pellet que correspondia à parede celular (FF1). O sobrenadante foi transferido para outro tubo e centrifugado a 5.000g por 20 minutos. O pellet obtido correspondia à fração núcleo e plastídios (FF2). O sobrenadante foi transferido para outro tubo, e centrifugado novamente a 15.000g por 30 minutos. O pellet obtido nesta centrifugação corresponde à fração mitocondrial (FF3), e o sobrenadante corresponde ao citosol e vacúolo (FF4) (Figura 3). Todo o processo de centrifugação foi conduzido a 4°C. O material fracionado foi seco em estufa a 70°C até atingir massa constante, e posteriormente, submetido à digestão nitroperclórica (3 mL de ácido nítrico [HNO₃] 65% P.A. + 1 mL de ácido perclórico [HClO₄] 70% P.A.) (Embrapa, 2000). Ao final da digestão, as amostras foram acondicionadas em tubos de acrílico e completadas com água deionizada até o volume de 9 mL. A concentração de Zn, Cu e Mn em cada fração foi analisada em espectrofotômetro de absorção atômica (AAS Perkin Elmer Analyst, 200).

Figura 3 – Frações celulares obtidas pelo método de divisão subcelular.



Fonte: Autora (2023)

3.9 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo software Sisvar. Quando apresentaram diferença significativa, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5%. Para os dados de solo, a análise empregada foi fatorial com parcelas subdivididas, onde as parcelas foram os tratamentos originais do experimento e as subdivisões foram as regiões de solo (SR e SNR). As épocas de coleta das amostras (diferentes estágios de desenvolvimento da cultura do milho) foram consideradas como variáveis resposta.

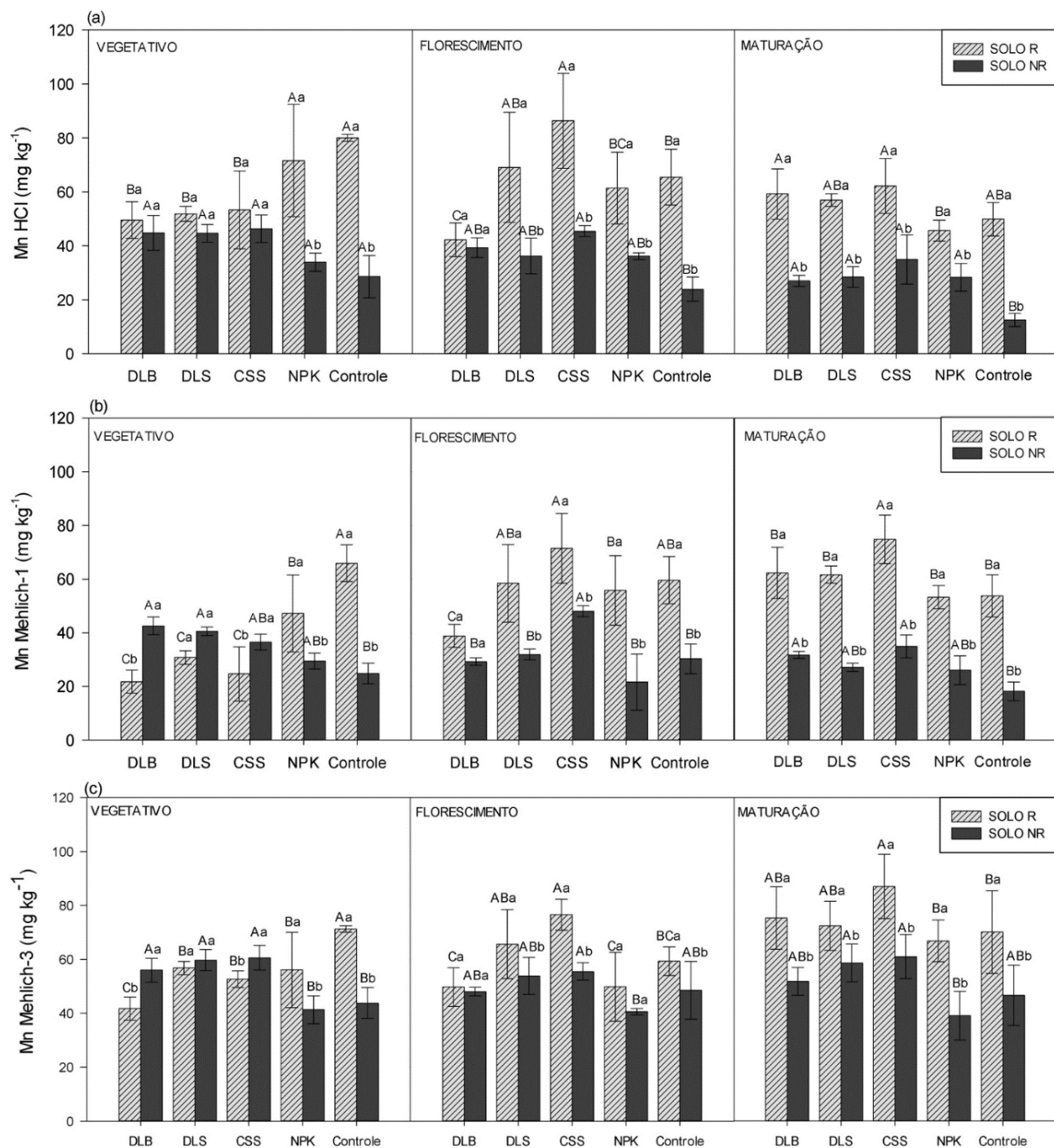
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 TEORES DISPONÍVEIS DE Cu, Zn e Mn EM SOLO RIZOSFÉRICO E NÃO RIZOSFÉRICO

De forma geral, a disponibilidade de Mn foi maior em SR do que em SNR. Entretanto, no estágio vegetativo, os tratamentos adubados com dejetos orgânicos (DLB, DLS e CSS) apresentaram maior disponibilidade na região do solo não rizosférico, levando em consideração os extratores avaliados (Figura 4). Essa menor disponibilidade radicular inicial pode ter ocorrido devido a interação de dois fatores: Primeiramente, a maior porcentagem de matéria orgânica nos tratamentos adubados com dejetos. O Mn é um agente que atua na oxidação da matéria orgânica, passando da forma oxidada para a reduzida em um ciclo redox (ALEJANDRO et al., 2020; HUANG; ZHANG, 2020). Em segundo lugar, com o crescimento das raízes, a zona de influência no SR aumenta, acarretando uma maior liberação de íons H^+ e ácidos orgânicos de baixo peso molecular, que atuam na dessorção do Mn dos grupos funcionais, aumentando sua disponibilidade. Além disso, compostos orgânicos solúveis também podem atuar nos óxidos de Mn, dissolvendo-os por meio de transferência de elétrons, sendo este, outro fator de aumento na disponibilidade (MILLALEO et al., 2010). Dentre estes compostos orgânicos, principalmente, a exsudação radicular de carboxilatos contribui para o aumento da disponibilidade de Mn na rizosfera, pois estes compostos realizam a quelatização de espécies oxidadas de Mn (Mn IV), reduzindo-o a Mn^{2+} , forma absorvível pelas plantas.

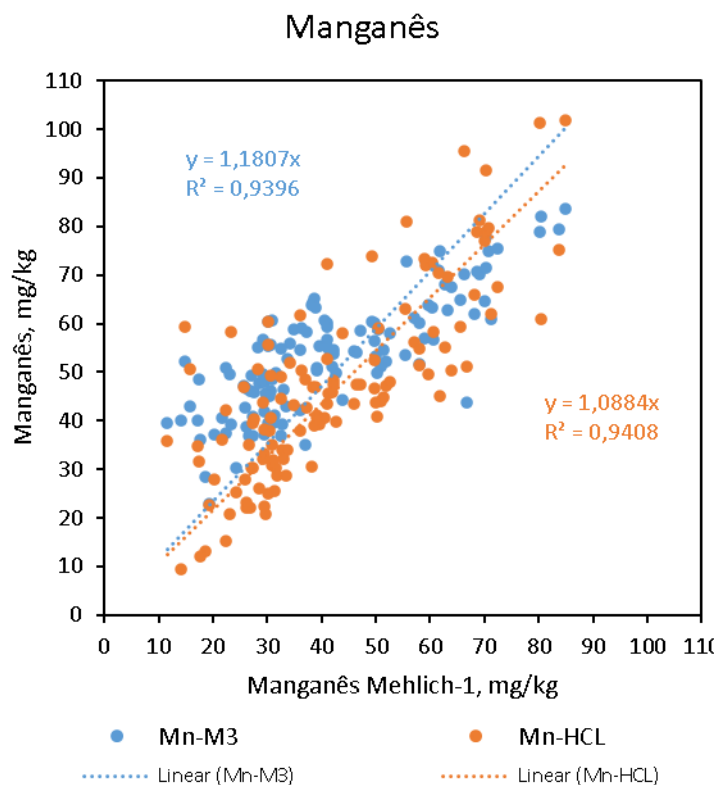
Os coeficientes de regressão linear (R^2) entre os extratores foram de 0,939 (Mehlich-1 x Mehlich-3) e 0,940 (Mehlich-1 x HCl) (Figura 5). Nogueirol, De Melo e Alleoni (2013) encontraram resultados semelhantes ao comparar os mesmos três métodos de extração em um solo submetido a 13 anos de aplicações de lodo de esgoto. Segundo os autores, extratores ácidos podem dissolver parcialmente os minerais contendo Mn, superestimando os teores disponíveis. O Mn é um elemento que facilmente sofre mudanças em seu estado redox, podendo passar de sua forma fitodisponível (Mn^{2+}) para suas formas oxidadas (Mn^{3+} e Mn^{4+}) em meios alcalinos, assim como, pode ser reduzido em meios ácidos (ALEJANDRO et al., 2020). Esta característica do elemento pode dificultar a acurácia de extratores, pois os teores disponíveis podem ser subestimados a pH alcalino ou superestimados a pH ácido.

Figura 4 – Teores de manganês extraídos por HCl (a), Mehlich-1 (b) e Mehlich-3 (c) no solo rizosférico e não rizosférico coletado nas fases vegetativa, florescimento e maturação do milho em experimento de fontes orgânicas de Santa Maria, RS, safra 2021/2022. Letras maiúsculas representam a comparação entre tratamentos; letras minúsculas representam a comparação entre solo rizosférico e solo não rizosférico (Tukey, $p < 0,05$).



Fonte: Autora (2023)

Figura 5 – Regressão linear entre extratores para Mn.



Fonte: Autora (2023)

No estágio vegetativo do milho, os teores disponíveis de Cu no solo fertilizado com DLS, para os extratores HCl e Mehlich-3, foram superiores em solo rizosférico, sendo que este comportamento ocorreu apenas para este tratamento, neste estágio. Este comportamento provavelmente se deve à combinação de dois fatores: Em DLS, os teores de carbono orgânico incrementado são mais baixos, devido à característica líquida do adubo, aumentando ligeiramente a disponibilidade de Cu (DRESCHER et al., 2022). Além disso, a ação das raízes nos mecanismos de regulação de disponibilidade tende a se intensificar com o desenvolvimento da planta, assim, em um primeiro momento, os exsudatos radiculares não foram suficientes para reduzir a disponibilidade de Cu no ambiente rizosférico (KABATA-PENDIAS, 2010). Nos estágios do florescimento e maturação, foi observada uma inversão desta disponibilidade radicular, na qual os teores em solo não rizosférico foram maiores que os teores no solo rizosférico.

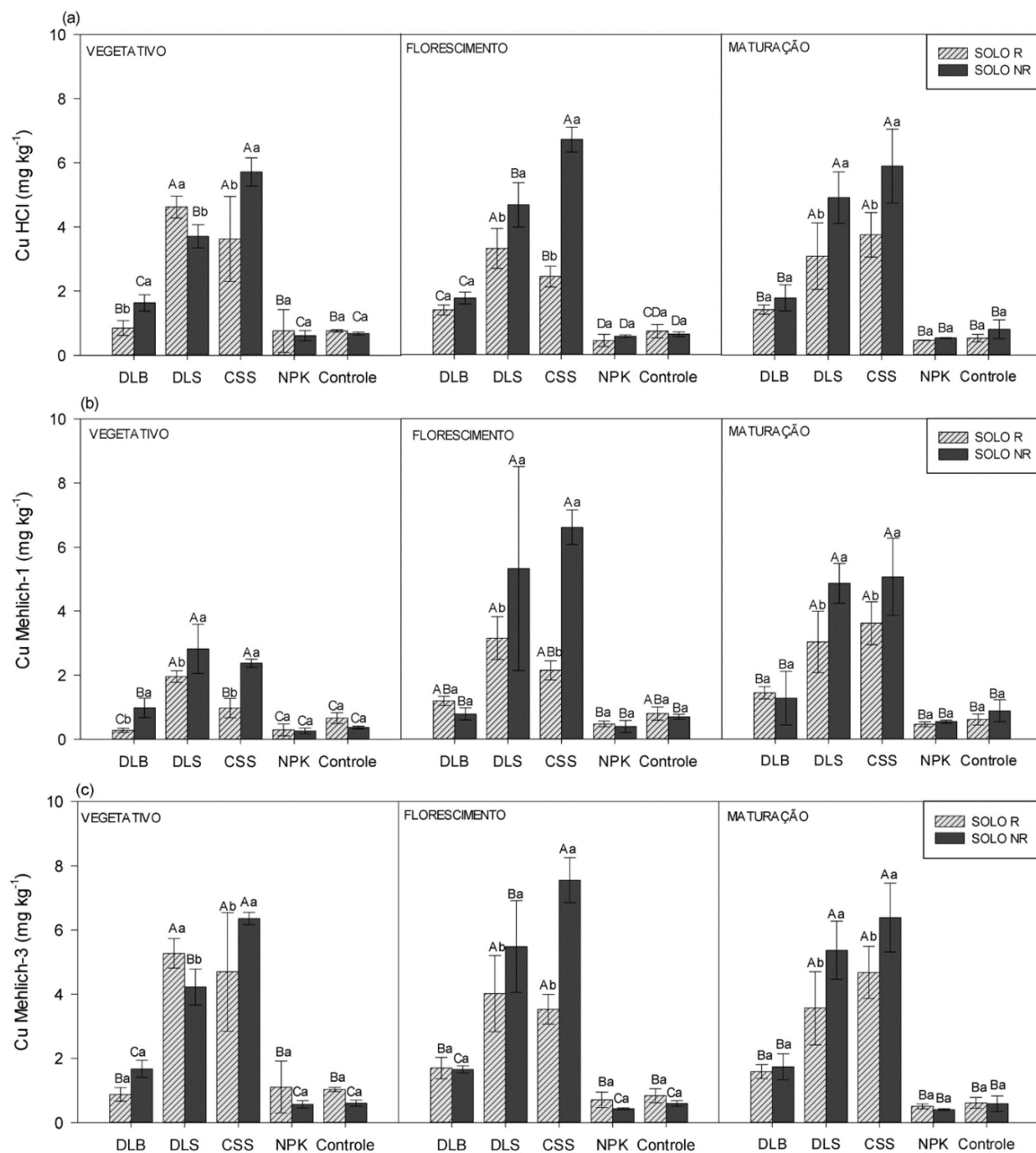
No tratamento CSS, quando comparados os teores disponíveis de Cu em SR e SNR, observamos uma uniformidade no decorrer do crescimento das plantas, tendo constantemente, teores disponíveis superiores em SNR. Por ser um adubo

sólido, o incremento de matéria orgânica na fase sólida é maior, aumentando a adsorção de Cu nos grupos funcionais (DRESCHER et al., 2022). A oferta de sítios de ligação, aliado à ação de exsudatos radiculares podem ter aumentado a adsorção de Cu em solo rizosférico (BRUNETTO et al., 2018; DE CONTI et al., 2016). É importante ressaltar que esta diferença de disponibilidade de Cu em solo rizosférico e não rizosférico somente foi observada nos tratamentos com adubação de dejetos. Nos tratamentos NPK e controle, para nenhum dos estágios foi apontada diferença significativa entre teores disponíveis nas diferentes regiões do solo (Figura 6).

Desta forma, podemos inferir que, nos tratamentos com maiores teores de Cu, as raízes oportunizaram uma indisponibilização deste nutriente na região da rizosfera como forma de regular a absorção do mesmo pelas plantas, sendo que em DLS, esta ação radicular ficou mais evidente devido à maior disponibilidade inicial, que foi modificada no decorrer do desenvolvimento das plantas. Diversos autores relatam que as raízes desempenham um papel fundamental na disponibilidade de Cu, pois os compostos orgânicos de baixo peso molecular exsudados contribuem grandemente para a indisponibilização deste metal devido à alta afinidade de ligação (ADREES et al., 2015; BRUNETTO et al., 2016). Segundo De Conti et al. (2016), o conteúdo de carbono orgânico dissolvido (COD) promovido pelas plantas é tão expressivo que, mesmo em áreas submetidas a sucessivas aplicações de dejetos, é improvável a ocorrência de fitotoxidez, uma vez que as espécies de Cu complexadas com COD predominam sobre as formas livres.

Em DLB, observamos um comportamento distinto, onde a disponibilidade de Cu era baixa. Neste tratamento, no estágio vegetativo, os teores de Cu em SR foram inferiores aos teores em SNR, e no decorrer do desenvolvimento da planta, esta diferença foi corrigida, tendo a disponibilidade de Cu igualada entre as regiões do solo, nos estágios posteriores. Assim, verificamos que mesmo em um tratamento rico em compostos orgânicos, que em teoria, tendem a reter os íons Cu, a influência das raízes ocorreu no sentido de mobilizar o nutriente, aumentando a disponibilidade em ambiente radicular. Os exsudatos radiculares, são dominantes no controle das interações solo-planta relacionadas à matéria orgânica, sendo uma importante estratégia da planta para promover a aquisição de nutrientes, principalmente em condições de baixa disponibilidade (CESCO et al., 2012; LEŠKOVÁ; JAVOT; GIEHL, 2022; MIMMO et al., 2018).

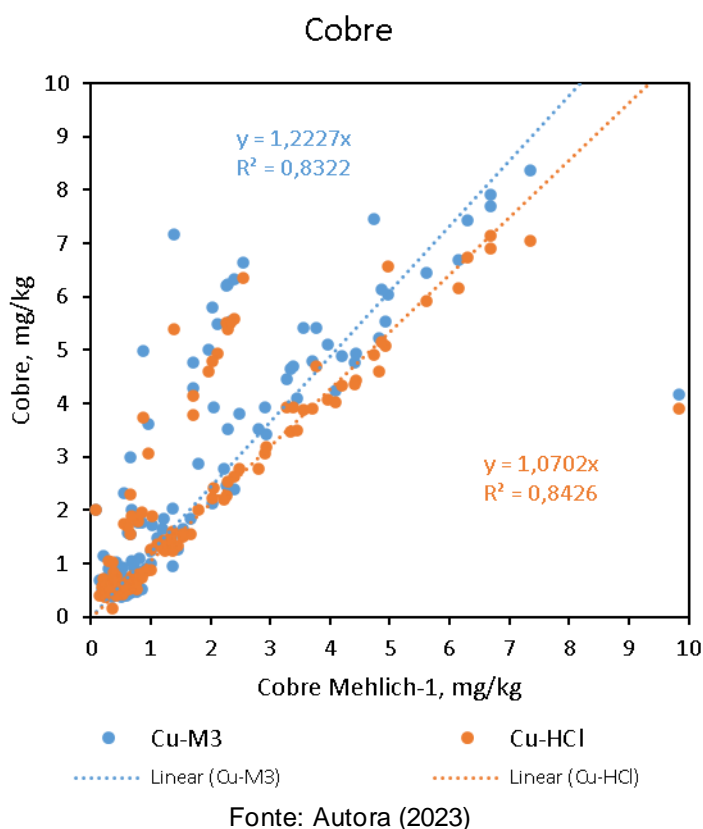
Figura 6 – Teores de cobre extraídos por HCl (a), Mehlich-1 (b) e Mehlich-3 (c) no solo rizosférico e não rizosférico coletado nas fases vegetativa, florescimento e maturação do milho em experimento de fontes orgânicas de Santa Maria, RS, safra 2021/2022. Letras maiúsculas representam a comparação entre tratamentos; letras minúsculas representam a comparação entre solo rizosférico e solo não rizosférico (Tukey, $p < 0,05$).



Fonte: Autora (2023)

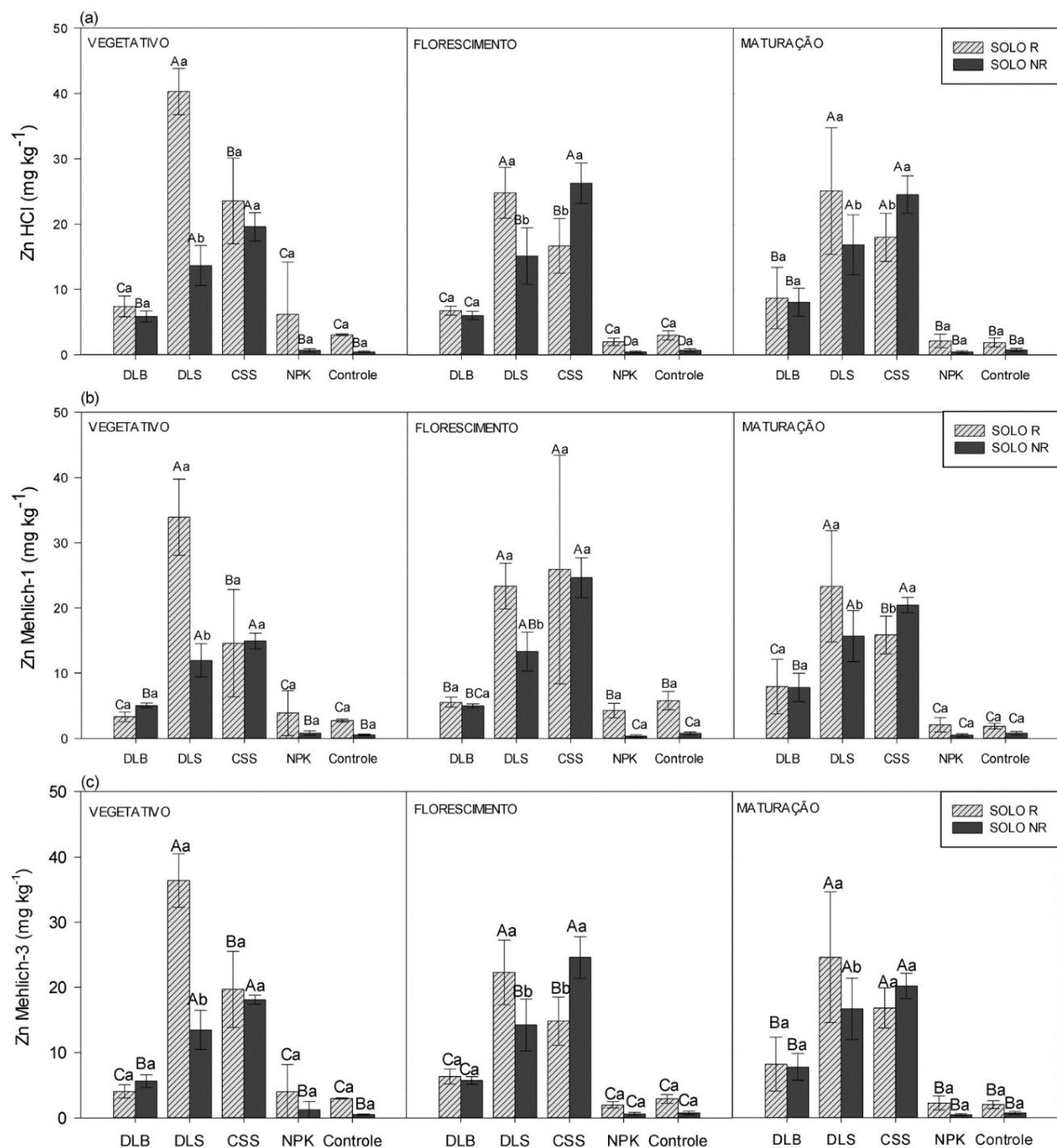
A regressão linear entre os extratores foi alta, com um R^2 de 0,832 e 0,846 para Mehlich-3 x Mehlich-1 e HCl x Mehlich-1, respectivamente (Figura 7). Em geral, por combinar reagentes ácidos e quelantes, os teores de Cu extraídos por Mehlich-3 foram superiores aos demais (NOGUEIROL; DE MELO; ALLEONI, 2013).

Figura 7 – Regressão linear entre extratores para Cu.



Com relação a Zn, maiores teores foram encontrados nos tratamentos CSS e DLS. Esta maior disponibilidade nas adubações oriundas de dejetos suínos é esperada, pois, a oferta de micronutrientes como suplementação alimentar dos animais é recorrente e frequentemente ultrapassa às quantidades requeridas pelo organismo animal (DA SILVA et al., 2019). Novamente, consideraremos a diferença de características físicas entre estes tratamentos (DRESCHER et al., 2022), pois, embora DLS e CSS apresentem concentrações semelhantes, observamos um comportamento contrastante na dinâmica de Zn com relação à comparação entre SR e SNR, conforme apresentado na figura 8, a seguir:

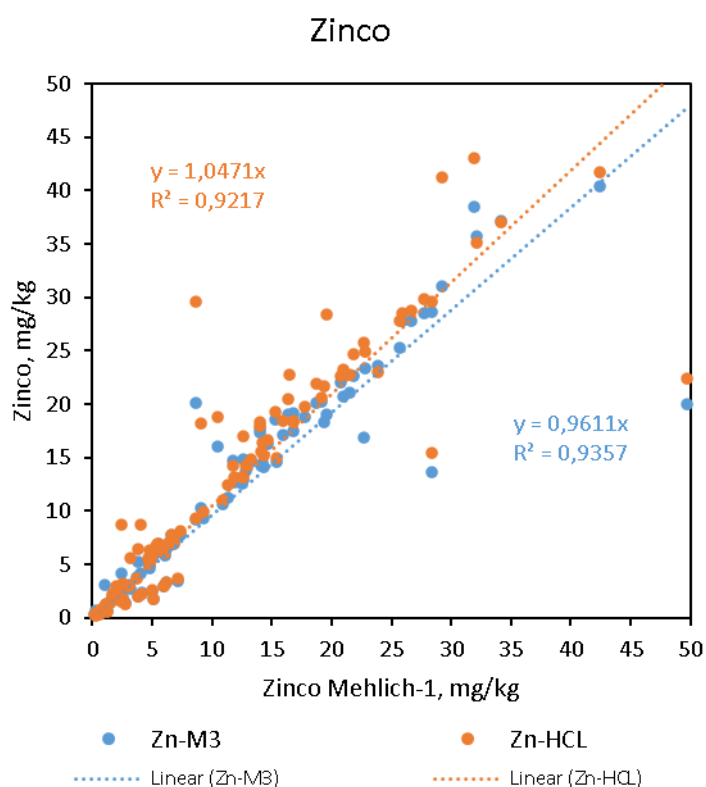
Figura 8 – Teores de zinco extraídos por HCl (a), Mehlich-1 (b) e Mehlich-3 (c) no solo rizosférico e não rizosférico coletado nas fases vegetativa, florescimento e maturação do milho em experimento de fontes orgânicas de Santa Maria, RS, safra 2021/2022. Letras maiúsculas representam a comparação entre tratamentos; letras minúsculas representam a comparação entre solo rizosférico e solo não rizosférico (Tukey, $p < 0,05$).



Fonte: Autora (2023)

Em DLS, a disponibilidade de Zn em SR no estágio vegetativo é expressivamente mais alta do que nos demais tratamentos. Posteriormente, observamos uma redução nesta diferença para os estágios do florescimento e maturação. Já em CSS, inicialmente, não ocorreu diferença nos teores disponíveis de Zn para SR e SNR. Entretanto, no decorrer do desenvolvimento das plantas, a diferença entre os teores disponíveis foi ficando mais evidenciada, com menor disponibilidade de Zn em ambiente radicular (Figura 8). Embora estes comportamentos pareçam distintos, é possível explicá-los pelo mesmo princípio: indisponibilização do nutriente devido aos altos teores disponíveis, por meio de ação radicular (DE CONTI et al., 2016; MIMMO et al., 2018). Contudo, a quantidade inicial do nutriente disponível e característica física do adubo, neste caso, foram determinante na dinâmica da disponibilidade entre SR e SNR. (DRESCHER et al., 2022). Os demais tratamentos não apresentaram diferença significativa entre os teores disponíveis para nenhum dos estágios. Os valores de R^2 entre os extratores para Zn foram de 0,921 e 0,9357 para HCl x Mehlich-1 e Mehlich-3 x Mehlich-1, respectivamente, indicando uma forte relação entre estes.

Figura 9 – Regressão linear entre extratores para Zn.



4.2 EXTRAÇÃO SEQUENCIAL DE Cu, Zn e Mn.

4.2.1 Acúmulo de Cu, Zn e Mn (ΣF)

O Cu não apresentou diferenças significativas entre os teores contidos nas diferentes regiões de solo para nenhum dos tratamentos, em nenhum dos estágios avaliados. Ao compararmos os tratamentos, observamos que CSS e DLS apresentaram incremento no somatório das frações de Cu. No estágio vegetativo, ΣF em CSS foi de 20,74 e 18,69 mg kg⁻¹, o que, comparado ao controle (8,02 e 6,22 mg kg⁻¹), representa um aumento de 158,6 e 200,5% para solo rizosférico e não rizosférico, respectivamente. Em DLS, o incremento foi de 116,3 e 133,3% para as mesmas regiões de solo, em comparação ao ΣF do controle. No florescimento, o incremento em DLS foi de 85,08 e 170,7%, e em CSS 105,8 e 329,5%, e no estágio da maturação os valores encontrados representaram 127,5 e 147,9% para DLS e 201,9 e 202,6% para CSS, em SR e SNR, respectivamente, em comparação ao controle. Em DLB, os incrementos em SR foram de 17,8, 36,6 e 57,2% e SNR 74,9, 59,8 e 48,3% para os estágios vegetativo, florescimento e maturação, respectivamente.

O acúmulo de Zn foi semelhante ao de Cu na comparação entre tratamentos. Um aumento significativo na ΣF ocorreu para DLS e CSS. No estágio vegetativo, DLS incrementou 208,5 e 143,4% e CSS 150 e 180,8% para solo R e NR, respectivamente, em comparação ao ΣF do controle para as mesmas regiões de solo. No florescimento, o ΣF para DLS representou um aumento de 125,5 e 124,4% e para CSS, os valores encontrados foram de 100,8 e 239,7%. Na maturação, respectivamente, para solo R e NR, ocorreu um aumento de 154 e 134,4% (DLS) e 132,9 e 177,8% (CSS). No tratamento DLB os incrementos foram menores, sendo de 26,4% para SR e 87,9% para SNR no estágio vegetativo, 29,7% (SR) e 41,5% (SNR), no florescimento e na maturação 52,6 e 77,5% para SR e SNR, respectivamente. Apenas DLS e CSS apresentaram diferença significativa entre solo R e NR, no estágio vegetativo. Ambos os tratamentos foram superiores em solo R e, no florescimento, DLS foi superior em solo R e CSS em solo NR.

Diferentemente de Cu e Zn, onde podemos verificar maiores acúmulos nos tratamentos adubados com dejetos suínos, o ΣF para Mn não foi necessariamente influenciado pelo tipo (ou presença) de adubação, já que este elemento predomina

naturalmente em grandes quantidades no solo, na forma de óxidos (LAMBERS et al., 2021; MA et al., 2020). Entretanto, ainda é possível observar uma tendência em se obter maiores valores de Mn no tratamento CSS. No estágio vegetativo, para solo rizosférico, CSS foi superior a todos os tratamentos (e superior em solo R), com um ΣF de 222,52 mg kg⁻¹, representando um incremento de 30,07% em relação ao controle. Já em solo não rizosférico, CSS, DLS E DLB não apresentaram incrementos significativos, igualando-se ao controle. No florescimento, CSS foi superior a todos os tratamentos, com incrementos de 33 e 34,8% (R e NR, respectivamente) em comparação ao controle. Na maturação, CSS apresentou incrementos de 37,1 e 34,3% enquanto em DLB os incrementos foram de 21,7 e 18,8% em relação ao controle, para solo R e NR, respectivamente. Ainda, neste estágio o ΣF para solo rizosférico foi superior aos de solo não rizosférico para todos os tratamentos adubados.

Em geral, os valores encontrados para Cu e Zn no somatório das frações foi inferior aos valores de Mn. Segundo consta na literatura, os dois primeiros são acumulados em maior quantidade nas camadas mais superficiais (0-5 e 5-10 cm), tendo seu teor total reduzido a medida em que profundidade aumenta (BRUNETTO et al., 2016; MALLMANN et al., 2012, 2017). O Mn, ao contrário está distribuído uniformemente no perfil do solo (L'HERROUX et al., 1997; PENHA et al., 2015). Como já foi exposto anteriormente, o solo NR foi coletado na camada 0-20 cm, logo, é esperada a ocorrência de uma “diluição” no teor total para Cu e Zn (FORMENTINI et al., 2015).

Desta forma, podemos inferir que aplicações sucessivas de dejetos suínos por longos períodos podem acarretar incremento de metais traço no somatório das frações do solo (DA ROSA COUTO et al., 2016; DRESCHER et al., 2022; PENHA et al., 2015; TIECHER et al., 2013). Para Cu e Zn, dentre os tratamentos utilizados, DLS e CSS foram os mais significativos. Para Mn, o CSS foi o tratamento que mais influenciou no incremento de ΣF . Embora Mn seja um elemento que ocorre em abundância e de forma natural no solo (ALEJANDRO et al., 2020; ALLOWAY, 2012; RENGEL, 2015), este ainda pode ter seus teores aumentados com aplicações de dejetos suínos a longo prazo.

4.2.2 Fracionamento de Cu, Zn e Mn

A distribuição de Cu nas 5 frações (F1 – trocável, F2 – carbonatos, F3 – óxidos de Fe e Mn, F4 – matéria orgânica e F5 – residual) foi afetada pelos tratamentos e pela atividade das raízes. Nos tratamentos onde não ocorreram adubações com dejetos (NPK e controle) e nem interferência das raízes (SNR), a dinâmica de Cu nas frações não variou nos três estágios comparados, seguindo a ordem: $F5 > F3 > F4 > F2 > F1$. Para os mesmos tratamentos, em SR, observamos uma maior contribuição da F4 na adsorção de Cu, de forma que a distribuição entre as frações apresentou, no florescimento e na maturação, a sequência: $F5 > F3 \sim F4 > F2 > F1$. No estágio vegetativo, estes tratamentos apresentaram um incremento na F1, que foi equivalente à F2. No controle, a proporção foi de 2,36 e 2,99% para F1 e F2, respectivamente, e em NPK foi de 2,51% para ambas as frações.

Nos tratamentos adubados com dejetos, a proporção das frações foi impactada. Em DLB, no SNR, a sequência de frações segue a dos tratamentos sem adubação orgânica: $F5 > F3 > F4 > F2 > F1$, entretanto, a média das proporções de F5 entre os 3 estágios foi de 65,96% e da F4 foi de 20,15%, em NPK estas frações ocuparam 81 e 10,6% e no controle 73,9 e 10,3%, respectivamente. No SR, a contribuição da F4 na ΣF foi maior em comparação a F3. A média de F4 para os três estágios foi de 20,15%, e para F3 foi de 11,47%. Assim, o fracionamento apresentou a sequência: $F5 > F4 > F3 > F2 > F1$ nos estágios da maturação e do florescimento. Para o estágio vegetativo, a F1 foi superior F2 e F3: $F5 > F4 > F1 > F3 > F2$.

Nos tratamentos com adubações de dejetos suínos ocorreu o maior impacto no fracionamento de Cu. No SNR, a proporção das frações para DLS ocorreu na seguinte ordem: $F5 > F3 > F4 > F2 > F1$. Entretanto, a média das porcentagens de F5 no ΣF foi reduzida para 45,28%. Em SR, as médias das proporções ocupadas por F5 e F4 nos três estágios foram, respectivamente 27,17 e 46,82%. No estágio vegetativo, a porcentagem da F1 foi superior aos carbonatos ($F5 > F3 > F4 > F1 > F2$). Para CSS, em SNR, observamos uma mudança na sequência das frações ao longo dos estágios, sendo: $F5 > F3 > F4 > F1 > F2$ (vegetativo), $F5 > F4 > F3 > F2 > F1$ (florescimento), $F4 > F5 > F3 > F2 > F1$ (maturação). Podemos observar que a proporção da F4 foi aumentando (24,82; 33,56 e 38,07% na ΣF , respectivamente), à medida que a F5 foi reduzindo (43,23; 35,45 e 36,31% na ΣF , respectivamente). Em SR, para os

estágios do florescimento e da maturação, a sequência das frações foi F5>F4>F3>F2>F1, e, no estágio vegetativo F4>F5>F3>F1>F2, sendo que a porcentagem de F4 foi de 39,15% e F5 foi de 33,84% (Tabela 2).

Tabela 2. Teores de cobre (mg kg⁻¹) para cada fração (F1 – trocável, F2 – carbonatos, F3 – óxidos de Fe e Mn, F4 – matéria orgânica e F5 – residual e soma de frações) obtida pela extração sequencial, e teores totais obtidos por EPA3051A, em solo rizosférico (NR) e não rizosférico (R) coletado nas fases vegetativa, florescimento e maturação do milho em experimento de fontes orgânicas de Santa Maria, RS, safra 2021/2022. Letras maiúsculas representam a comparação entre tratamentos; letras minúsculas representam a comparação entre solo rizosférico e solo não rizosférico (Tukey, p< 0,05). O tempo de digestão apontado pela metodologia não foi suficiente para digestão completa da amostra.

EXTRAÇÃO SEQUENCIAL - COBRE						
VEGETATIVO						
Fração	Solo	DLB	DLS	CSS	NPK	CONTROLE
F1	R	1,14 Aa	1,17 Aa	1,17 Aa	0,22 Ba	0,19 Ba
	NR	0,14 Bb	0,24 Ab	0,18 ABb	0,08 Bb	0,11 Bb
F2	R	0,49 Ba	0,64 Aa	0,54 Ba	0,22 Ca	0,24 Ca
	NR	0,30 Bb	0,39 Ab	0,38 Ab	0,12 Db	0,18 Cb
F3	R	0,98 Bb	4,39 Aa	4,31 Ab	0,42 Cb	0,85 BCb
	NR	1,62 Ca	4,32 Ba	6,02 Aa	1,00 Da	1,11 CDa
F4	R	1,70 Ca	4,83 Ba	8,12 Aa	1,12 Ca	0,93 Ca
	NR	1,87 Ba	2,45 ABa	4,64 Ab	0,38 Ba	0,34 Ba
F5	R	5,54 ABb	6,74 ABa	7,02 Aa	5,27 Ba	5,62 ABa
	NR	7,92 Aa	7,38 Aa	8,08 Aa	4,80 Ba	4,26 Ba
SOMA	R	9,45 Ba	17,35 Aa	20,74 Aa	8,75 Ba	8,02 Ba
	NR	10,88 BCa	14,51 ABa	18,69 Aa	6,45 CDa	6,22 Da
TOTAL	R	6,55 Ba	14,12 Aa	17,52 Aa	5,50 Ba	4,85 Ba
	NR	5,72 BCa	8,00 Bb	13,25 Ab	2,42 Cb	2,07 Ca
FLORESCIMENTO						
Fração	Solo	DLB	DLS	CSS	NPK	CONTROLE
F1	R	0,10 Ba	0,19 Aa	0,12 Ba	0,03 Ca	0,08 BCa
	NR	0,04 Cb	0,22 Aa	0,15 Ba	0,01 Ca	0,01 Cb
F2	R	0,28 Ca	0,56 Aa	0,37 Ba	0,30 Ca	0,30 Ca
	NR	0,20 Bb	0,41 Ab	0,43 Aa	0,17 Bb	0,10 Cb
F3	R	1,28 Cb	2,99 Ab	2,43 Bb	0,58 Db	0,82 CDa
	NR	1,78 Ca	4,97 Ba	6,97 Aa	1,01 Da	0,93 Da
F4	R	2,13 Ca	3,63 Ba	4,58 Ab	0,67 Da	1,04 Da
	NR	1,53 Cb	3,46 Ba	8,07 Aa	0,32 Ca	0,24 Cb
F5	R	5,90 BCa	6,64 ABa	7,88 Aa	4,99 Ca	5,86 BCa
	NR	5,41 BCa	6,74 Ba	8,43 Aa	5,53 BCa	4,08 Cb
SOMA	R	10,17 Ba	13,77 Aa	15,31 Ab	6,63 Ca	7,44 BCa
	NR	8,95 Ca	15,16 Ba	24,05 Aa	6,59 Ca	5,60 Ca
TOTAL	R	5,55 Ba	9,95 Aa	10,97 Ab	3,27 Ca	3,62 BCa
	NR	5,25 Ca	9,62 Ba	17,10 Aa	1,92 Da	1,67 Db
MATURAÇÃO						
Fração	Solo	DLB	DLS	CSS	NPK	CONTROLE
F1	R	0,05 Ba	0,02 Bb	0,10 Aa	0,02 Ba	0,02 Ba
	NR	0,03 Ba	0,14 Aa	0,01 Bb	0,01 Ba	0,01 Ba
F2	R	0,24 Ba	0,36 Aa	0,43 Aa	0,21 Ba	0,22 Ba
	NR	0,15 Bb	0,42 Aa	0,38 Aa	0,10 Bb	0,15 Bb
F3	R	1,14 Cb	2,73 Bb	3,36 Ab	0,43 Db	0,52 CDb
	NR	1,94 Ba	5,19 Aa	5,15 Aa	0,75 Ca	0,99 Ca
F4	R	2,14 Ca	3,93 Ba	6,09 Ab	0,54 Da	0,34 Da
	NR	1,74 Ca	3,90 Ba	7,12 Aa	0,21 Da	0,43 Da
F5	R	5,64 Ca	7,68 Ba	9,37 Aa	4,64 CDa	4,52 Da
	NR	5,93 ABa	6,21 Ab	6,79 Ab	4,42 Ca	4,98 BCa
SOMA	R	9,94 Ca	14,38 Ba	19,08 Aa	6,00 Da	6,32 Da
	NR	9,17 Ba	15,32 Aa	18,70 Aa	5,21 Ca	6,18 BCa
TOTAL	R	5,00 Ca	8,47 Ba	12,35 Aa	2,45 Ca	2,70 Ca
	NR	4,12 Ca	9,62 Ba	14,05 Aa	0,55 Da	0,75 Da

O impacto das adubações com dejetos e da ação radicular também pode ser observado para o zinco, visto que, assim como para o cobre, os tratamentos sem adubação orgânica, em solo não rizosférico apresentaram uma dinâmica semelhante no decorrer dos estágios, com predomínio das frações minerais, na sequência: $F_5 > F_3 > F_4 \sim F_1 > F_2$. Para solo rizosférico, de forma geral, nos três estágios avaliados, a proporção das frações foi: $F_5 > F_3 > F_2 \sim F_1 > F_4$, onde podemos observar uma redução na relevância da fração orgânica para ΣF . Apesar de F_5 ainda ser a maior fração em proporção, constatamos que as médias da proporção de F_5 em solo R são menores do que em solo NR, sendo de 59,44 e 68,08% para NPK e controle, respectivamente em solo R. Enquanto para solo NR estas médias são de 84,93% para NPK e 77,93% para o controle.

Para DLB, tanto para solo R quanto para NR, a sequência geral das frações foi: $F_5 > F_3 > F_1 \sim F_2 > F_4$. Este tratamento não apresentou maiores variações na disposição de frações entre os estágios avaliados. Em DLS, para solo NR, o fracionamento de zinco, proporcionalmente, não foi diferente dos tratamentos minerais e DLB ($F_5 > F_3 > F_1 \sim F_2 > F_4$), entretanto, em solo rizosférico, ocorreu um predomínio da fração óxidos no ΣF : $F_3 > F_5 > F_1 \sim F_2 > F_4$, com uma média de 37,17% de F_3 e 27,32% de F_5 , entre os estágios. Para CSS, em solo NR, também ocorreu predomínio de frações minerais, sendo a sequência: $F_5 \sim F_3 > F_1 > F_2 > F_4$. Em solo R, ocorreu maior adsorção nos óxidos em comparação à fração residual, sendo: $F_3 > F_5 > F_1 \sim F_2 > F_4$, onde, F_3 ocupa uma média de 43,17% e F_5 de 30,65% no somatório das frações (Tabela 3).

No fracionamento de Mn, em geral, a adubação não foi relevante. Entretanto, a interferência das raízes é mais evidente para este elemento. Em SNR, a sequência de proporção das frações foi de: $F_3 > F_5 > F_2 > F_1 > F_4$, sendo diferente apenas para CSS, na maturação, onde $F_1 > F_2$. Neste tratamento, observamos as maiores médias de ΣF para Mn (222,52 mg kg⁻¹ e 204,84 mg kg⁻¹, para SR e SNR, respectivamente). Diferentemente de Cu e Zn, onde a F_3 ocupava um papel secundário, em Mn, a média (entre todos os tratamentos e estágios) da porcentagem de F_3 na ΣF foi de 75,98%, para SNR. Para SR, observamos uma redução em F_3 , com um conseqüente aumento em F_2 e F_1 . Em SR, a distribuição de Mn entre as frações ocorreu na ordem: $F_3 > F_5 > F_1 > F_2 > F_4$. A média geral para F_3 em SR foi de 52,24%.

A F1 apresentou uma diferença significativa para o fracionamento de Mn entre SR e SNR, com uma média geral de 24,13% para SR, e 4,81% para SNR (Tabela 4).

Tabela 3. Teores de zinco (mg kg^{-1}) para cada fração (F1 – trocável, F2 – carbonatos, F3 – óxidos de Fe e Mn, F4 – matéria orgânica e F5 – residual e soma de frações) obtida pela extração sequencial, e teores totais obtidos por EPA3051A, em solo rizosférico (NR) e não rizosférico (NR) coletado nas fases vegetativa, florescimento e maturação do milho em experimento de fontes orgânicas de Santa Maria, RS, safra 2021/2022. Letras maiúsculas representam a comparação entre tratamentos; letras minúsculas representam a comparação entre solo rizosférico e solo não rizosférico (Tukey, $p < 0,05$). O tempo de digestão apontado pela metodologia não foi suficiente para digestão completa da amostra.

EXTRAÇÃO SEQUENCIAL - ZINCO						
VEGETATIVO						
Fração	Solo	DLB	DLS	CSS	NPK	CONTROLE
F1	R	2,37 Ca	16,82 Aa	10,57 Ba	0,72 Da	1,46 CDa
	NR	2,71 Ba	6,98 Ab	8,08 Ab	0,31 Ca	0,15 Cb
F2	R	1,69 Ca	9,54 Aa	5,62 Ba	0,57 Da	0,81 Ca
	NR	1,12 Bb	2,34 Ab	2,84 Ab	0,08 Cb	0,00 Cb
F3	R	7,68 Ba	24,02 Aa	23,24 Aa	3,88 Ba	4,61 Ba
	NR	6,49 Ba	8,70 Bb	14,15 Ab	1,95 Ca	2,03 Ca
F4	R	0,74 Ca	1,24 ABa	1,55 Aa	1,14 Ba	0,48 Ca
	NR	0,74 ABa	0,68 Bb	1,05 Ab	0,27 Cb	0,31 Ca
F5	R	11,43 Ab	11,62 Ab	10,86 Ab	10,52 Aa	12,49 Aa
	NR	18,21 Aa	16,16 ABa	14,29 BCa	12,82 Ca	11,70 Ca
SOMA	R	25,38 Ca	61,93 Aa	50,18 Ba	22,11 Ca	20,07 Ca
	NR	27,39 Ba	35,47 ABb	41,06 Ab	15,82 Ca	14,57 Ca
TOTAL	R	18,50 Ca	53,30 Aa	42,95 Ba	16,40 Ca	14,45 Ca
	NR	17,02 BCa	22,65 ABb	31,67 Ab	8,97 Cb	8,90 Ca
FLORESCIMENTO						
Fração	Solo	DLB	DLS	CSS	NPK	CONTROLE
F1	R	1,63 Cb	8,50 Aa	3,44 Bb	0,43 Da	0,72 CDa
	NR	2,57 Ba	8,69 Aa	8,55 Aa	0,27 Ca	0,33 Ca
F2	R	2,08 Ca	6,10 Aa	4,32 Bb	0,69 Da	1,11 Da
	NR	0,85 Cb	3,01 Bb	5,05 Aa	0,03 Db	0,09 Db
F3	R	9,08 Ca	15,19 Ba	18,21 Ab	5,44 Da	5,23 Da
	NR	6,58 Bb	10,23 Bb	23,53 Aa	1,54 Db	2,36 Db
F4	R	0,80 Ba	0,92 Ba	1,14 Ab	0,31 Ca	0,44 Ca
	NR	0,59 Bb	0,79 Ba	1,35 Aa	0,18 Ca	0,22 Cb
F5	R	13,66 Aa	12,76 Ab	13,82 Aa	11,94 Ab	14,22 Aa
	NR	11,25 Cb	14,70 Aa	15,42 Aa	14,06 ABa	11,78 BCb
SOMA	R	26,28 Ba	45,69 Aa	40,68 Ab	18,68 Ba	20,26 Ba
	NR	22,59 Ca	35,82 Bb	54,22 Aa	16,06 Ca	15,96 Ca
TOTAL	R	17,62 Ba	37,20 Aa	31,15 Ab	11,35 Ba	12,12 Ba
	NR	18,12 Ca	28,57 Bb	42,00 Aa	8,80 Da	9,02 Da
MATURAÇÃO						
Fração	Solo	DLB	DLS	CSS	NPK	CONTROLE
F1	R	1,89 Ba	5,18 Ab	5,02 Ab	0,50 Ba	0,92 Ba
	NR	2,99 Ba	7,82 Aa	8,23 Aa	0,21 Ca	0,20 Ca
F2	R	1,27 Ca	6,42 Aa	5,06 Ba	0,62 Da	0,52 Da
	NR	0,73 Ca	2,25 Bb	4,23 Ab	0,17 Ca	0,16 Ca
F3	R	8,90 Ca	19,61 Aa	17,48 Ba	4,35 Da	3,67 Da
	NR	8,01 Cb	10,79 Bb	17,64 Aa	1,67 Db	2,61 Db
F4	R	0,73 Ba	1,23 Aa	1,32 Aa	0,35 Ca	0,36 Ca
	NR	0,72 BCa	0,90 Bb	1,42 Aa	0,32 Da	0,45 CDa
F5	R	14,44 BCa	17,50 Aa	16,53 ABa	12,86 Ca	14,02 BCa
	NR	13,81 Aa	13,90 Ab	14,61 Aa	12,14 Aa	12,55 Aa
SOMA	R	29,79 Ba	49,59 Aa	45,48 Aa	19,24 Ba	19,52 Ba
	NR	27,96 Ba	36,92 ABa	43,76 Aa	14,08 Ca	15,75 Ca
TOTAL	R	19,45 Ba	37,72 Aa	30,50 Ab	10,25 Ba	11,57 Ba
	NR	17,50 Ca	27,55 Bb	37,90 Aa	7,07 Da	8,60 CDa

Tabela 4. Teores de manganês (mg kg^{-1}) para cada fração (F1 – trocável, F2 – carbonatos, F3 – óxidos de Fe e Mn, F4 – matéria orgânica e F5 – residual e soma de frações) obtida pela extração sequencial, e **teores totais** obtidos por EPA3051A, em solo rizosférico (NR) e não rizosférico (R) coletado nas fases vegetativa, florescimento e maturação do milho em experimento de fontes orgânicas de Santa Maria, RS, safra 2021/2022. Letras maiúsculas representam a comparação entre tratamentos; letras minúsculas representam a comparação entre solo rizosférico e solo não rizosférico (Tukey, $p < 0,05$). O tempo de digestão apontado pela metodologia não foi suficiente para digestão completa da amostra.

EXTRAÇÃO SEQUENCIAL - MANGANÊS						
VEGETATIVO						
Fração	Solo	DLB	DLS	CSS	NPK	CONTROLE
F1	R	45,63 BCa	39,52 CDa	54,40 ABa	31,33 Da	60,84 Aa
	NR	10,68 Ab	8,66 Ab	8,95 Ab	6,92 Ab	6,39 Ab
F2	R	19,63 BCa	21,83 ABa	25,02 Aa	12,94 Da	16,82 CDa
	NR	11,79 Ab	10,20 ABb	11,34 ABb	9,00 ABb	7,17 Bb
F3	R	96,05 ABb	91,94 Bb	128,73 Aa	78,79 Bb	76,36 Bb
	NR	125,41 Aa	120,16 Aa	132,31 Aa	99,04 Aa	120,79 Aa
F4	R	0,58 Aa	0,46 Aa	0,72 Aa	0,56 Aa	0,48 Aa
	NR	0,33 Ab	0,30 Aa	0,43 Ab	0,29 Ab	0,34 Aa
F5	R	15,78 Ab	16,36 Ab	15,38 Aa	17,42 Aa	17,80 Aa
	NR	23,58 Aa	20,17 ABa	17,00 Ba	16,58 Ba	17,71 ABa
SOMA	R	185,57 Ba	171,07 Ba	222,52 Aa	151,74 Ba	171,07 Ba
	NR	171,18 Aa	152,18 ABa	171,41 Ab	128,14 Ba	146,47 ABa
TOTAL	R	139,85 Bb	137,45 Ba	178,42 Aa	119,00 Ba	140,22 Ba
	NR	175,47 Aa	144,02 Ba	176,47 Aa	125,05 Ba	137,30 Ba
FLORESCIMENTO						
Fração	Solo	DLB	DLS	CSS	NPK	CONTROLE
F1	R	39,04 Ba	53,01 Aa	60,69 Aa	25,78 Ca	35,49 BCa
	NR	9,36 Ab	8,26 Ab	12,44 Ab	7,99 Ab	5,19 Ab
F2	R	21,81 Aa	16,54 BCa	23,12 Aa	20,17 ABa	12,92 Ca
	NR	10,96 Bb	10,13 BCb	15,29 Ab	10,14 BCb	6,65 Cb
F3	R	96,04 Ab	81,38 ABb	94,29 Ab	62,98 Bb	83,63 ABb
	NR	126,80 Aa	124,66 Aa	152,38 Aa	78,98 Ba	124,27 Aa
F4	R	0,55 Aa	0,46 Aa	0,67 Aa	0,45 Aa	0,30 Aa
	NR	0,36 Ab	0,54 Aa	0,56 Aa	0,37 Aa	0,35 Aa
F5	R	16,82 ABa	13,78 Bb	16,47 ABb	17,30 ABb	19,12 Aa
	NR	18,58 Aa	20,96 Aa	20,32 Aa	20,69 Aa	18,38 Aa
SOMA	R	178,59 ABa	165,52 BCa	198,70 Aa	140,34 Ca	149,40 BCa
	NR	165,70 BCa	161,11 Ba	204,84 Aa	126,35 Ca	151,89 BCa
TOTAL	R	137,30 ABb	138,77 ABa	169,05 Aa	120,90 Ba	120,22 Ba
	NR	160,20 ABa	141,20 BCa	183,62 Aa	121,05 Ca	138,37 BCa
MATURAÇÃO						
Fração	Solo	DLB	DLS	CSS	NPK	CONTROLE
F1	R	44,16 BCa	40,57 BCa	61,22 Aa	33,04 Ca	47,01 Ba
	NR	7,31 Ab	7,53 Ab	12,70 Ab	5,72 Ab	5,46 Ab
F2	R	12,44 BCa	16,84 Ba	22,63 Aa	13,94 BCa	10,01 Ca
	NR	9,65 Bb	9,44 Bb	4,85 Ab	7,13 Bb	5,61 Bb
F3	R	103,52 ABb	96,06 ABb	113,28 Ab	78,66 Ba	82,22 ABb
	NR	132,60 ABa	112,97 Ba	147,48 Aa	69,24 Ca	110,69 Ba
F4	R	0,41 Ab	0,36 ABb	0,35 ABb	0,01 Bb	0,02 Bb
	NR	0,61 ABa	0,71 ABa	0,78 Aa	0,33 Ba	0,45 ABa
F5	R	18,14 Aa	18,92 Aa	19,51 Aa	18,47 Aa	17,92 Aa
	NR	17,20 Aa	18,92 Aa	17,70 Aa	17,29 Aa	18,52 Aa
SOMA	R	188,12 ABa	168,83 BCa	212,07 Aa	145,53 Ca	154,58 Ca
	NR	168,79 ABb	146,88 BCb	190,75 Ab	102,84 Db	142,01 Ca
TOTAL	R	141,12 Ba	128,27 Ba	165,12 Ab	121,22 Ba	122,20 Ba
	NR	151,00 Ba	134,22 BCa	178,35 Aa	107,62 Da	127,97 CDa

Levando em conta a distribuição de Cu, Zn e Mn, entre as frações, podemos considerar que o fracionamento de Cu é significativamente impactado pelas frações orgânicas do solo (BENEDET et al., 2019; BRUNETTO et al., 2016, 2018; DE CONTI et al., 2016), enquanto para Zn, as frações minerais representam um impacto mais expressivo (DA ROSA COUTO et al., 2016; DRESCHER et al., 2022; FORMENTINI et al., 2015; PENHA et al., 2015; TIECHER et al., 2013). Diferentemente de Cu e Zn, o Mn parece ter sua dinâmica de fracionamento mais afetada por propriedades do solo (ALEJANDRO et al., 2020; MILLALEO et al., 2010; RENGEL, 2015; SADANA; CLAASSEN, 2000), variando entre fração trocável e óxidos a depender de seu estado redox .

4.2.3 Fração Residual (F5)

A fração residual para este método (TESSIER; CAMPBELL; BISSON, 1979) contempla, majoritariamente, os minerais primários e secundários do solo. A F5 tende a ser a mais estável e dificilmente é afetada por entradas de nutrientes por fontes antropogênicas, ou em curtos períodos. Entretanto, estudos demonstram que aplicações sucessivas de dejetos, por longos períodos podem acarretar incrementos de metais traço nesta fração (DA ROSA COUTO et al., 2016; DRESCHER et al., 2022), principalmente, nas camadas mais superficiais.

Sabemos que uma vez que o metal é adsorvido no solo, este pode seguir para o interior das partículas do solo por um processo de sorção, alcançando frações cada vez mais inacessíveis à planta (ANTONIADIS et al., 2017; BARROW, 1999). Porém, devemos considerar que estas frações minerais apresentam uma quantidade limitada de grupos funcionais, que podem ser saturados ao longo do tempo. Além disso, processos de adsorção competitiva nas partículas fazem com que alguns elementos sejam mais adsorvidos em detrimento de outros, que acabam distribuindo-se em outras frações do solo por ligações de menor energia, acarretando maior disponibilidade, o que, de forma proporcional, reduz a porcentagem da fração residual em ΣF (FORMENTINI et al., 2015; SPOSITO, 2008).

Foi verificado que, dentre os tratamentos com adubação orgânica, o CSS foi o que mais proporcionou incrementos significativos de Cu na F5 em comparação ao controle. O aumento dos teores de Cu representou entre 24,9 e 107,3% (7,02 e 9,37 mg kg⁻¹, em solo R para os estágios vegetativo e maturação, respectivamente) em

comparação ao controle (5,62 e 4,52 mg kg⁻¹). Contudo, em proporção, estes valores representam 33,84 e 49,10% para CSS e 70,07 e 71,52% para controle, respectivamente. Em DLS, o segundo tratamento que mais incrementou os teores de Cu em F5 (em até 42%), também observamos uma redução proporcional na F5, que variou de 38,84 a 53,41%. DLB e NPK não acarretaram incrementos significativos nos teores ou proporção de F5. Desta forma, mesmo que as aplicações de dejetos resultem em certo acúmulo de Cu na F5 quando comparados ao tratamento controle, proporcionalmente, este incremento não é observado.

Para Zn, a F5 no tratamento NPK apresenta uma estabilidade ao longo dos estágios, variando entre 10,52 e 14,06 mg kg⁻¹ (vegetativo, solo R e florescimento, solo NR, respectivamente.). O tratamento controle apresenta uma faixa de teores semelhante, entre 11,07 e 14,22 mg kg⁻¹ (vegetativo, solo NR e florescimento, solo R, respectivamente). Novamente, a fração residual foi muito mais expressiva nos tratamentos sem adubação orgânica, pois, para NPK a proporção de F5 em ΣF variou entre 47,58 e 87,54%, e no controle, as proporções variaram entre 62,23 e 80,30% de todo o Zn contido no somatório das frações. Nos tratamentos adubados com dejetos, os teores encontrados em F5 não foram, em regra, superiores a NPK e controle. Entretanto, também observamos uma redução na proporção de F5 ocasionada pelas adubações. Em DLB, a fração residual representou entre 45,03 e 66,48% de ΣF . Para DLS, a proporção de F5 em relação ao somatório das frações, foi de 18,76 a 45,56% e em CSS, a variação ocorreu entre 21,64 e 36,34%. Assim, podemos verificar que mesmo após 17 anos de aplicações de dejetos, a distribuição de Cu e Zn de fontes antropogênicas ocorre prioritariamente entre outras frações.

Com relação ao Mn, foi possível observar um comportamento discrepante no que diz respeito a fração residual. Ao contrário de Cu e Zn, o Mn não está contido em grandes proporções na F5. Além disso, não houve diferenças consistentes entre os tratamentos para Mn, nesta fração. Apesar de ΣF ter sido afetada pela adubação (principalmente para CSS), este incremento deve ser observado nas demais frações do solo. Para o controle, os teores variaram entre 17,71 e 19,12 mg kg⁻¹ (vegetativo, solo NR e florescimento, solo R, respectivamente) e a faixa de proporção na ΣF ficou entre 10,40 e 13,04%. Em NPK, os teores encontrados ficaram entre 16,58 e 20,69 mg kg⁻¹ (vegetativo, NR e florescimento NR), e as proporções variaram de 11,48 a 16,81%. Nos tratamentos adubados com dejetos, no geral, F5 representou entre 6,91 e 13,77% do somatório das frações. Desta forma, podemos presumir que,

além de não ter sido significativamente influenciada por incrementos exógenos de Mn, F5 não é a fração mais relevante na distribuição deste nutriente.

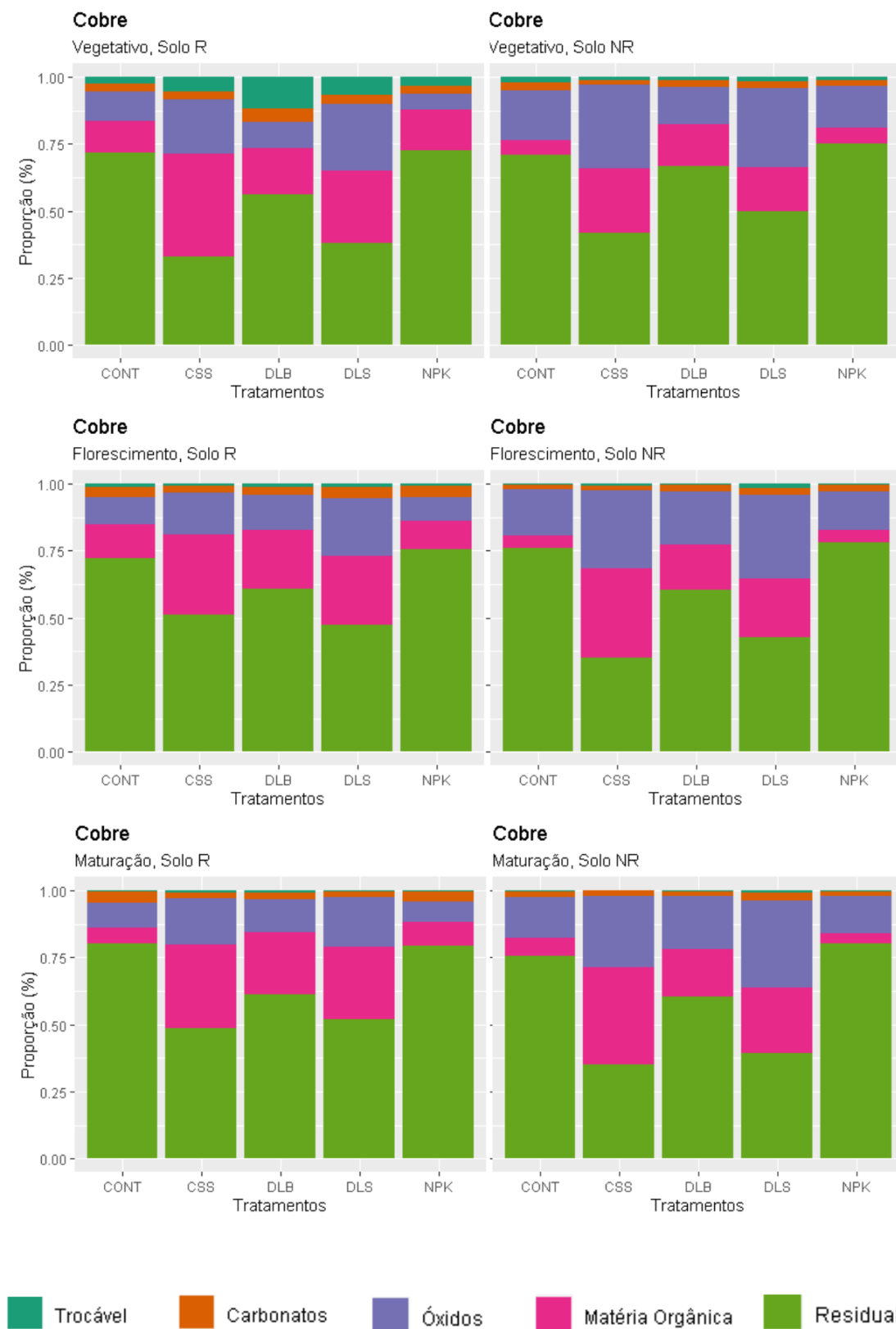
4.2.4 Frações influenciadas por Cu

A fração mais impactada pelo Cu nos diferentes tratamentos foi a F4 (orgânica). A energia de ligação entre Cu e os diferentes componentes da matéria orgânica é muito alta, assim, a F4 oportuniza uma adsorção específica de Cu, controlando a disponibilidade do metal (BRUNETTO et al., 2016; CROUE et al., 2003). Contudo, o incremento de matéria orgânica variou consideravelmente entre os tratamentos e regiões de solo, sendo mais expressiva nas adubações com dejetos e em solo rizosférico. Nestas condições a oferta de compostos orgânicos é maior. Nos demais tratamentos, onde houve baixa disponibilidade de compostos orgânicos, a fração preferencial para adsorção de Cu foi a F3.

De forma geral, entre os estágios, a distribuição de Cu entre as frações potencialmente disponíveis não apresentou variações significativas. Contudo, podemos observar que em solo R, no estágio vegetativo, os teores disponíveis foram superiores aos demais estágios. Neste caso, dois fatores devem ser considerados: primeiramente, a ação radicular química, que atua no sentido de reduzir a disponibilidade de Cu em solo rizosférico (KIDD et al., 2009; YRUELA, 2005), sendo que esta ação depende de sinalização primária das condições do meio e varia com o desenvolvimento da planta (Figura 10).

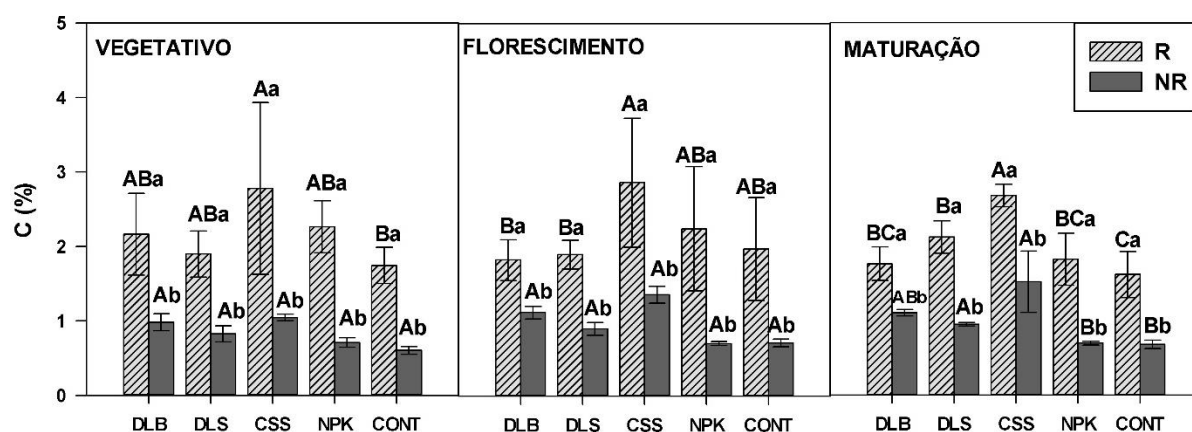
Desta forma, um excesso inicial de Cu disponível em solo rizosférico pode ter sido corrigido por exsudatos radiculares a medida em que a planta se desenvolveu (EMAMVERDIAN et al., 2015; KABATA-PENDIAS, 2010). Em segundo lugar, como já citado anteriormente, sabemos que as camadas superficiais do solo são o principal local de acúmulo de Cu e Zn (MALLMANN et al., 2012). Logo, no estágio vegetativo, com uma raiz pequena, a principal camada explorada pelas raízes será a superficial, com teores de Cu mais concentrados. A medida que a raiz cresce e atinge camadas mais profundas, a rizosfera alcança locais com menor acúmulo de Cu (FORMENTINI et al., 2015).

Figura 10 – Fracionamento de cobre (%) obtido pela extração sequencial, em solo rizosférico (NR) e não rizosférico (NR) coletado nas fases vegetativa, florescimento e maturação do milho em experimento de fontes orgânicas de Santa Maria, RS, safra 2021/2022.



Para os demais estágios e regiões de solo, maiores oscilações foram constatadas entre F3 e F4. Ao avaliarmos tratamentos onde não ocorreram adubações orgânicas, comparando solo R e NR, podemos verificar que a contribuição da fração orgânica em solo rizosférico é mais expressiva. Dentre as exsudações radiculares são liberados compostos orgânicos de baixo peso molecular, substâncias quelatizantes, que podem incrementar a fração orgânica nesta região (DE CONTI et al., 2018; RASCIO; NAVARI-IZZO, 2011; STEINBERG; HODGE, 2018). Também devemos considerar gradientes de populações de microrganismos, já que, devido às exsudações radiculares, a rizosfera apresenta maior variedade e quantidade de microbiota em relação ao solo não rizosférico, sendo que a biomassa microbiana e seus metabólitos são componentes do C orgânico do solo (Pill et al., 2015; XU; TSANG, 2022). Todos os tratamentos apresentaram maior porcentagem de C orgânico em solo rizosférico do que no SNR (Figura 11).

Figura 11 – Teores de C orgânico (%) obtida pelo método de combustão seca, para solo rizosférico (NR) e não rizosférico (NR) coletado nas fases vegetativa, florescimento e maturação do milho em experimento de fontes orgânicas de Santa Maria, RS, safra 2021/2022. Letras maiúsculas correspondem à comparação de médias entre tratamentos; letras minúsculas representam a comparação entre solo rizosférico e solo não rizosférico (Tukey, $p < 0,05$).



Fonte: Autora (2023)

Nos tratamentos adubados com dejetos, é possível observar maior incremento na fração matéria orgânica. Para uma análise mais correta, precisamos considerar as características físicas destes dejetos: DLB e DLS são adubações líquidas, enquanto CSS é um adubo sólido. De forma geral, o tratamento CSS adsorveu mais Cu na fração orgânica (em média 34 e 32% da ΣF , para solo R e NR,

respectivamente) do que DLB (20 e 18%, respectivamente) e DLS (27 e 22%, respectivamente). Por ser um adubo sólido, CSS apresenta uma maior relação C/N, e sua mineralização tende a ser mais lenta do que nos adubos líquidos, acarretando uma maior preservação dos sítios de ligação da matéria orgânica ao longo do tempo (DRESCHER et al., 2022). O tratamento CSS incrementou maiores teores de C orgânico.

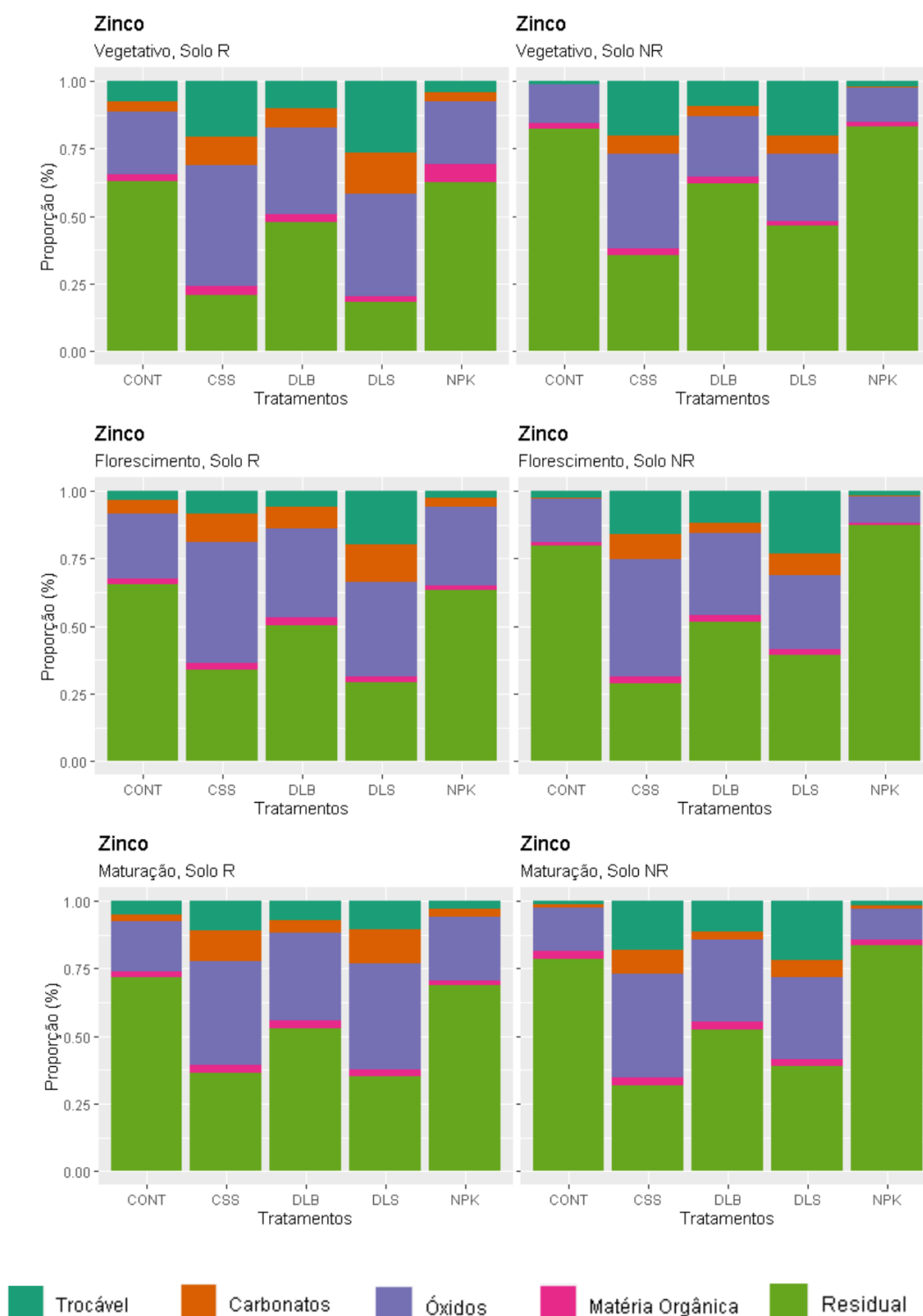
Com relação à F3, existem duas situações distintas: tratamentos com baixos teores de Cu em ΣF e maior ocorrência na F3 (NPK e controle) e tratamentos com maiores teores de Cu em ΣF e maior adsorção na F3 (principalmente DLS e DLB). No primeiro caso, como já discutido anteriormente, embora o somatório das frações indique baixos teores de cobre, concomitantemente, também são observados baixos teores de matéria orgânica. Desta forma, os grupos funcionais disponíveis em maior quantidade para adsorção de Cu serão os da fração mineral. No segundo caso, as contínuas aplicações de dejetos líquidos incrementaram as quantidades totais de Cu no solo, contudo, oportunizaram menor contribuição no incremento de matéria orgânica quando comparados à CSS. Assim, com maiores quantidades de Cu, os grupos funcionais da matéria orgânica disponível serão saturados e de forma alternativa, o metal será adsorvido na fração mineral (DA ROSA COUTO et al., 2016; TIECHER et al., 2013).

4.2.5 Frações influenciadas por Zn

Como já foi discutido anteriormente, os tratamentos DLS e CSS apresentam os maiores teores de Zn devido à origem dos dejetos, corroborando com o exposto por Da Silva et al (2019), sendo superiores na ΣF com relação aos demais tratamentos. Foi notável a interferência das raízes na proporção das frações, assim como apresentam Dotanyia; Meena (2015) e Seshadri, Bolan, Naidu (2015). F3 e F1 foram as frações mais relevantes na distribuição de Zn, assim como percebido por Formentiniet al (2015), Giroto et al (2010) e Tiecher et al (2013). Para NPK e controle, verificamos de forma clara uma maior disponibilidade do Zn na rizosfera, pois, a proporção de F1 em SR é, em média, duas vezes maior que em SNR. Assim, infere-se que, por haver uma menor concentração de Zn nestes tratamentos, as raízes atuaram na disponibilização de Zn, aumentando sua proporção na fração

trocável, assim como nos apresentam Cesco et al (2012), Khoshgoftarmanesh et al (2018) e Mimmo et al (2018).

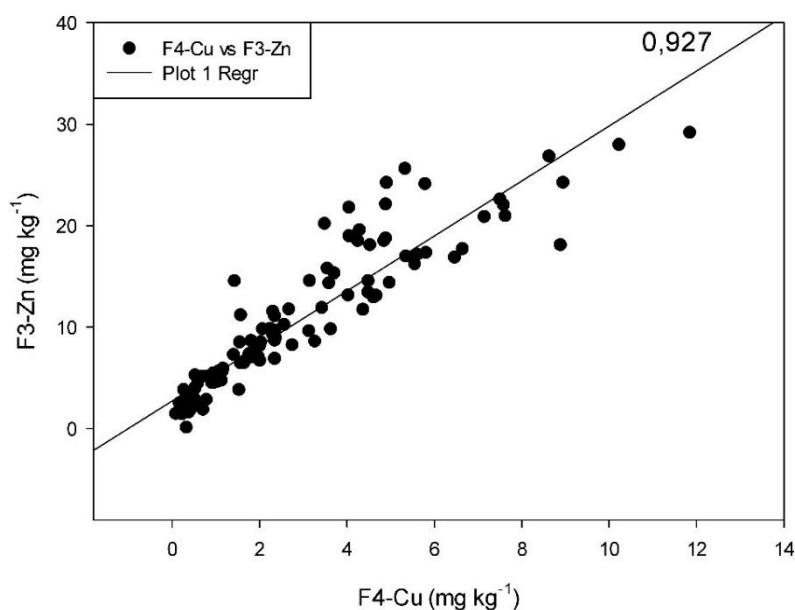
Figura 12 – Fracionamento de zinco (%) obtido pela extração sequencial, em solo rizosférico (NR) e não rizosférico (NR) coletado nas fases vegetativa, florescimento e maturação do milho em experimento de fontes orgânicas de Santa Maria, RS, safra 2021/2022.



Nos tratamentos com adição de adubos orgânicos, onde os teores de Zn são significativamente maiores, observamos o processo inverso, onde a porção trocável foi reduzida no decorrer do desenvolvimento das plantas, levando a crer que em condições de suprimento suficiente/excessivo, a ação das raízes pode ter contribuído em um processo de imobilização do nutriente (BENEDET et al., 2019; DE CONTI et al., 2016; KIM et al., 2010; KIM; OWENS; NAIDU, 2010). Porém, também é possível que a aparente depleção de Zn em F1 possa ter sido ocasionada pela própria absorção da planta (KIDD et al., 2009; ZHOU et al., 2011) (Figura12).

Também é possível observarmos diferenças significativas entre tratamentos e regiões de solo para F3. Esta fração ocorreu em maior proporção para solo R nos tratamentos adubados com dejetos suínos, onde a ΣF para Zn é maior. Contudo, é necessário evidenciar que a maior ocorrência de Zn na F3 ocorreu em detrimento da adsorção deste nutriente em F4. Frequentemente, o maior acúmulo de Zn na F3 e conseqüente menor proporção de F4 é interpretado como uma maior afinidade deste nutriente por sítios contidos na fração mineral (GIROTTI et al., 2010; TIECHER et al., 2013), contudo, levando em consideração uma abordagem sistêmica este comportamento adsorptivo também pode estar relacionado à competição entre íons.

Figura 13 – Correlação linear entre F3-Zn e F4-Cu. Coeficiente = 0,927.



Fonte: Autora (2023)

Em estudos de adsorção/dessorção foi constatado que a adição isolada de Zn acarreta uma maior retenção deste metal nas frações orgânicas. Contudo, em adições combinadas de Zn e Cu, a distribuição de Zn é modificada, não pela falta de afinidade de Zn-F4, mas justamente, pela maior afinidade de Cu-F4. Em incrementos competitivos, Zn é dessorvido dos sítios orgânicos pelos íons Cu, enquanto a dessorção de Cu destes grupos funcionais, somente ocorre mediante maior oferta de ligantes orgânicos em solução (CAMPILLO-CORA et al., 2020; DRESCHER et al., 2022; SUN et al., 2019). Adicionalmente, por meio de fracionamento da matéria orgânica, é possível verificar uma alta taxa de retenção de Zn em huminas (BENEDET et al., 2020). Esta relação de disponibilização de Zn mediante retenção de Cu pode explicar ocorrências de toxidez de Zn em solos com altas concentrações de Cu (TIECHER et al., 2016b). Neste estudo, observamos uma alta correlação entre F3-Zn e F4-Cu, o que pode indicar que o aumento da adsorção de Cu na fração orgânica acarreta, por consequência, aumento de Zn na fração mineral (Figura 13).

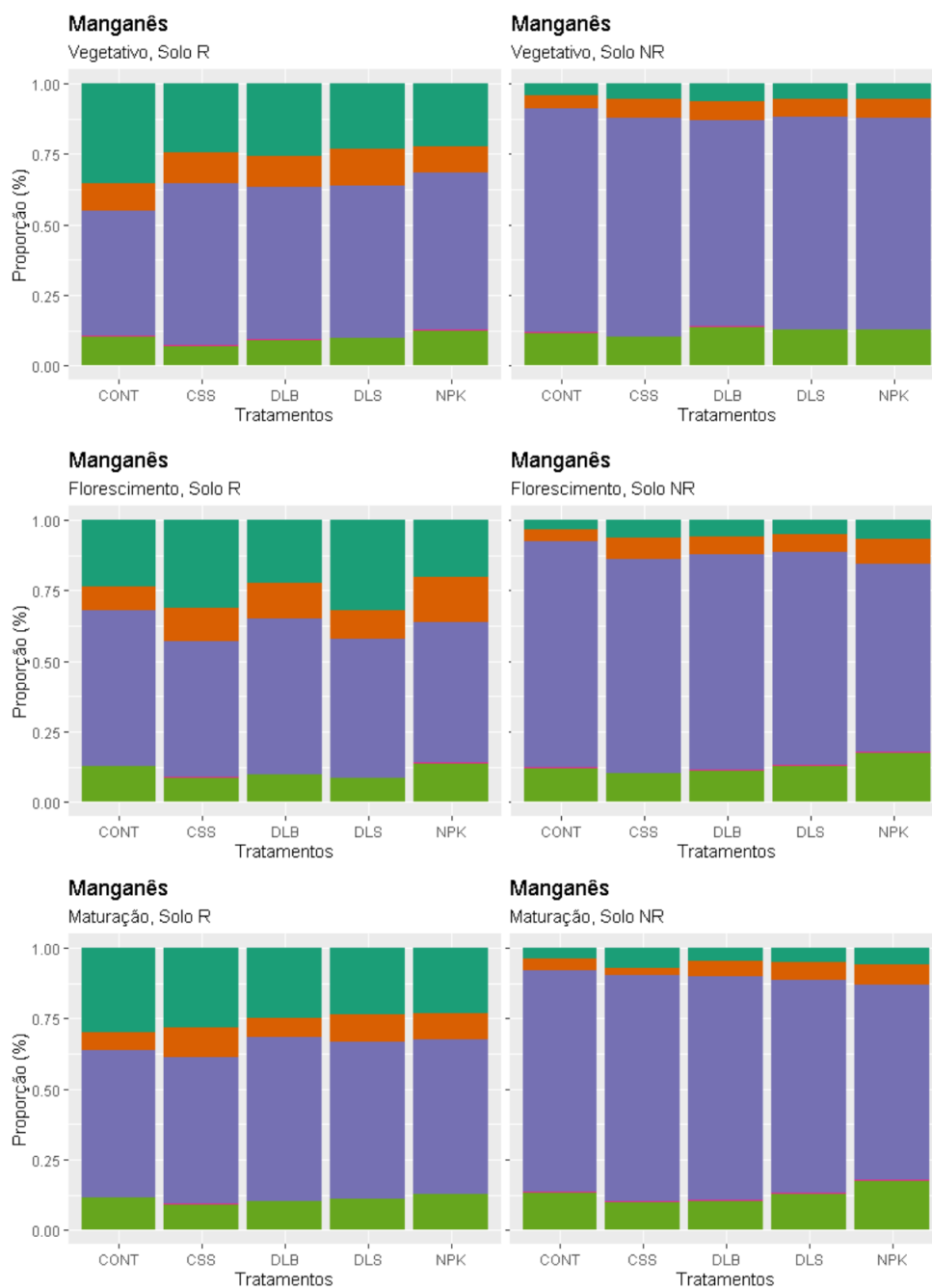
4.2.6 Frações influenciadas por Mn

Como discutido anteriormente, a deposição contínua de dejetos animais incrementou os teores de Mn no ΣF , principalmente no tratamento CSS. Contudo, com relação ao fracionamento, não foram observadas diferenças expressivas na distribuição de Mn nas frações entre os tratamentos. Na comparação entre SR e SNR podemos verificar que a porcentagem de F3 é significativamente menor no solo rizosférico. Em decorrência desta redução, ocorre aumento de F1. Já em SNR, constatamos uma maior proporção da F3 em relação a F1 (figura 14). Sendo assim, em SNR, prevalecem as formas oxidadas de Mn, e no SR, a forma reduzida. Sabe-se, que a disponibilidade de Mn no solo é regulada por reações de oxidação e redução (CESCO et al., 2012; HUANG; ZHANG, 2020; MARSCHNER, 1988), e as condições reguladoras destas reações são distintas em solo rizosférico e não rizosférico. (MIMMO et al., 2018).

Primeiramente, vamos considerar o caminho mais importante na redução de formas oxidadas de Mn: redução biótica. Esta redução é mediada por microrganismos e ocorre na decomposição da matéria orgânica do solo. Estes

microrganismos utilizam o Mn (IV) comoceptor final de elétrons, acoplado a redução do Mn à sua oxidação metabólica de compostos orgânicos (LI et al., 2021).

Figura 14 - Fracionamento de manganês (%) obtido pela extração sequencial, em solo rizosférico (NR) e não rizosférico (NR) coletado nas fases vegetativa, florescimento e maturação do milho em experimento de fontes orgânicas de Santa Maria, RS, safra 2021/2022.



■ Trocável
 ■ Carbonatos
 ■ Óxidos
 ■ Matéria Orgânica
 ■ Residual

Sabemos que a rizosfera apresenta uma alta concentração e variedade na microbiota local em comparação ao solo não rizosférico, devido principalmente à exsudação de compostos que servem como substrato para estas comunidades (MIMMO et al., 2018; PII et al., 2015; RENGEL, 2015). Desta forma, a intensa atividade microbiana pode ser considerada o principal fator na maior disponibilidade de Mn na rizosfera.

Em segundo lugar, podemos citar a redução abiótica de Mn (III/IV). Os óxidos de Mn apresentam uma alta reatividade oxidativa, majoritariamente para compostos orgânicos. As moléculas de Mn (III/IV) degradam compostos oxidando-os e reduzindo-se por consequência (HUANG; ZHANG, 2020). Além disso, na formação de complexos ternários com os óxidos de ferro e matéria orgânica (FeO-MO-Mn(II)), ocorre uma ciclagem dos processos de oxidação e redução do Mn, onde, primeiramente o Mn(II) é adsorvido e oxidado na superfície de FeO₂, aumentando o potencial oxidativo deste óxido. Posteriormente, os Mn(III/IV) oxidam a matéria orgânica do complexo, reduzindo-se e retornando à solução, de onde pode ser novamente adsorvido pelos FeO₂, repetindo um ciclo semelhante ao da redução biótica (MA et al., 2020). O solo rizosférico apresentou maior porcentagem de C orgânico para todos os tratamentos, em todos os estágios, caracterizando um ambiente altamente favorável à redução abiótica de Mn em comparação ao solo não rizosférico.

O terceiro fator que pode ter influenciado na redução de Mn rizosférico são os exsudatos radiculares. Tanto os prótons quanto ácidos orgânicos de baixo peso molecular liberados na rizosfera, oportunizam uma hiperacidificação local que aumenta a disponibilidade do elemento por meio da troca catiônica e complexação em solução (ALEJANDRO et al., 2020; CESCO et al., 2012; MILLALEO et al., 2010; TERZANO et al., 2015). De forma conjunta, todos estes fatores contribuíram em uma disponibilização significativa de Mn na rizosfera.

Outras duas frações devem ser pontuadas no fracionamento de Mn: a fração carbonato que foi relevante na adsorção de Mn, principalmente, na rizosfera; e a fração orgânica, que de modo contrário, não acrescentou valores relevantes para Mn. Ambas as frações apresentam carbono em sua composição (F3 – C inorgânico; F4 – C orgânico). A literatura tem abordado significativamente as interações de Mn pelos compostos orgânicos (HUANG; ZHANG, 2020; LI et al., 2021; MA et al., 2020; XU; TSANG, 2022), contudo, essa afinidade se dá com as formas oxidadas de Mn.

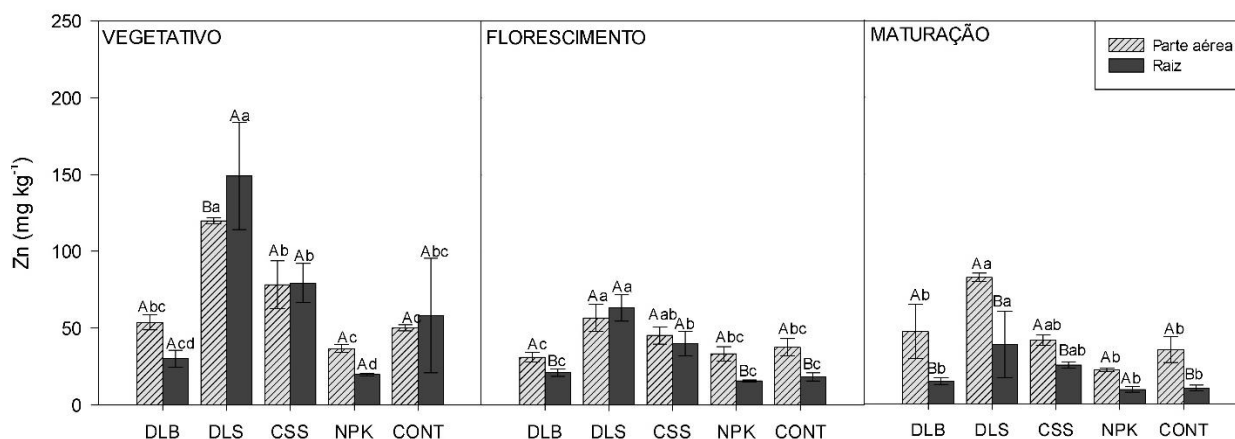
Uma vez que ocorre a oxidação do composto orgânico e conseqüente redução de Mn para sua forma solúvel (II), estas moléculas não permanecem ligadas. Além disso, como relatado anteriormente, os grupos funcionais orgânicos em condições de adsorção competitiva demonstram preferência pelos íons Cu, em detrimento de outros cátions (CAMPILLO-CORA et al., 2020; DRESCHER et al., 2022). No mais, por ter apresentado relevância no fracionamento de Mn em solos submetidos a longos períodos de aplicações de dejetos, interações entre Mn^{2+} e CO_3^- necessitam maiores investigações.

4.3 CONCENTRAÇÃO DE Cu, Zn e Mn NA RAIZ E NA PARTE AÉREA

Com relação aos teores de zinco no tecido, o estágio vegetativo apresentou valores mais altos quando comparado aos demais estágios, principalmente no tratamento DLS. Neste tratamento, também foi possível observar a única ocorrência de teor radicular superior ao teor na parte aérea. Em DLS, frequentemente encontramos altos valores de Zn disponível, e, em uma situação de suprimento suficiente ou excessivo, a acumulação nas raízes é uma forma de armazenar e imobilizar o nutriente, em um processo de fitoestabilização (HOU et al., 2020; KIDD et al., 2009). Além disso, segundo Emamverdian et al. (2014), Zn desempenha um papel fundamental no crescimento das raízes, e por este motivo, a maior disponibilidade do nutriente em DLS no estágio vegetativo pode ter favorecido este processo, ocasionando maior teor de Zn nas raízes (Figura 15).

A disponibilidade de Zn, foi altamente significativa na absorção do nutriente pela planta, pois a correlação encontrada entre os teores na parte aérea e os teores disponíveis no solo foram de 0,834, 0,663 e 0,813 HCl, Mehlich-1 e Mehlich-3, respectivamente. Também houve uma alta correlação entre os teores na raiz e na parte aérea, com coeficiente de 0,807. Segundo Kabata-pendias (2010), o Zn é um elemento muito móvel no solo, prontamente absorvido pelas plantas e facilmente acumulável na parte aérea, além de apresentar uma distribuição uniforme ao longo da planta, o que justificaria estas altas correlações.

Figura 15 – Teores de Zn na parte aérea e raiz do milho (mg kg^{-1}) obtida por digestão nitroperclórica coletado nas fases vegetativa, florescimento e maturação do milho em experimento de fontes orgânicas de Santa Maria, RS, safra 2021/2022. Letras maiúsculas correspondem à comparação de médias entre tratamentos; letras minúsculas representam a comparação entre solo rizosférico e solo não rizosférico (Tukey, $p < 0,05$).



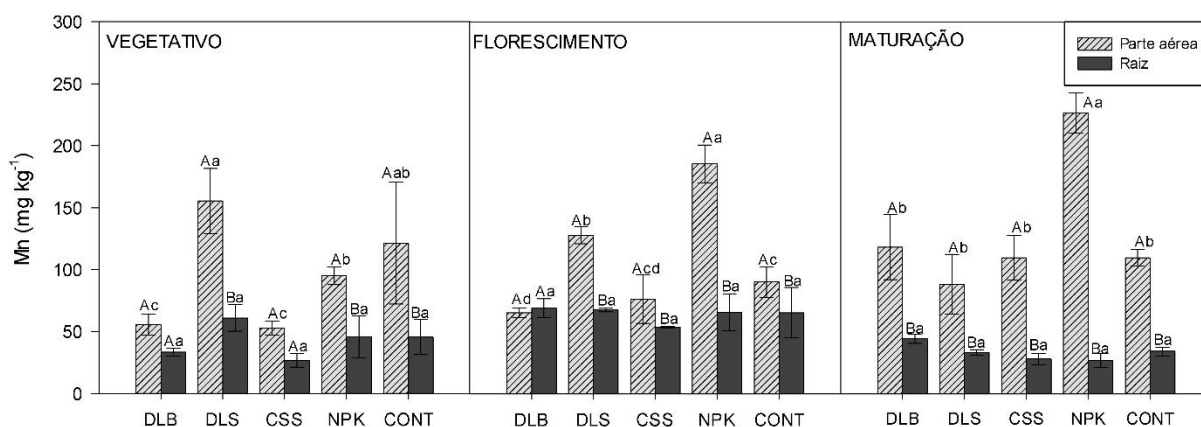
Fonte: Autora (2023)

Provolo et al. (2018) demonstraram que a adubação orgânica de origem animal reduziu os teores de Cu, Zn e Mn no tecido vegetal do milho em comparação à adubação mineral e controle, porém, neste estudo os maiores teores de Zn no tecido foram encontrados nos tratamentos de adubação orgânica, como é frequentemente encontrado em trabalhos semelhantes, onde ocorreram adubações com dejetos por longos períodos. Além disso, enquanto Cu apresenta maior acúmulo na fração matéria orgânica, que é incrementada a cada adubação, Zn comumente é acumulado majoritariamente na fração mineral (DA ROSA COUTO et al., 2016; DRESCHER et al., 2022; TIECHER et al., 2013), podendo ocasionar saturação dos grupos funcionais minerais, aumentando os teores disponíveis de Zn e sua posterior absorção pelas plantas.

De forma geral, o Mn apresentou teores mais altos na parte aérea da planta, sugerindo uma alta taxa de translocação deste elemento das raízes para a parte aérea (Figura 16). Em uma revisão sistemática, Millaleo et al. (2010) concluíram que Mn frequentemente apresenta maior acumulação na parte aérea do que nas raízes de diversas espécies. Segundo Provolo et al. (2018), para plantas que não são hiperacumuladoras, mais de 90% dos MTs fica retido nas raízes, apresentando uma baixa taxa de translocação para outros tecidos, enquanto plantas capazes de acumular maiores quantidades de MTs tendem a apresentar um comportamento de acumulação nas folhas (TAIZ et al, 2017). Logo, este comportamento de acúmulo de

Mn na parte aérea do milho pode ser entendido como uma alta tolerância da planta a altos teores de manganês.

Figura 16 - Teores de Mn na parte aérea e raiz do milho (mg kg^{-1}) obtida por digestão nitroperclórica coletado nas fases vegetativa, florescimento e maturação do milho em experimento de fontes orgânicas de Santa Maria, RS, safra 2021/2022. Letras maiúsculas correspondem à comparação de médias entre tratamentos; letras minúsculas representam a comparação entre solo rizosférico e solo não rizosférico (Tukey, $p < 0,05$).



Fonte: Autora (2023)

É importante salientar que o Mn participa em sistemas fotossintéticos envolvendo O_2 e desempenha um papel básico no transporte de elétrons para o mesmo sistema. Além disso, os cloroplastos são as organelas celulares que apresentam maior sensibilidade à deficiência de Mn (KABATA-PENDIAS, 2010). Assim, ao que tudo indica, juntamente com o fator de tolerância das plantas, podemos inferir que as partes fotossintetizantes são as mais requerentes em manganês, e esta deve ser a principal causa para que este apresente maior acúmulo na parte aérea.

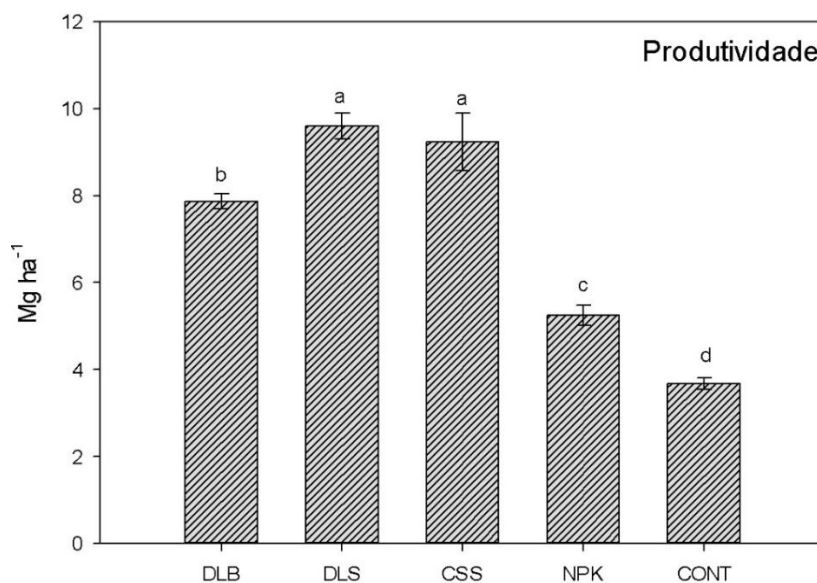
Um estudo conduzido por Leite et al. (2003), com plantas de milho coletadas aos 45 dias após a emergência, constataram que o nível crítico foliar de Mn para 90% da produção máxima foi de $27,2 \text{ mg kg}^{-1}$, que a produção máxima ocorreu em plantas com teor foliar de $598,60 \text{ mg kg}^{-1}$, e que a partir desta concentração já houveram sinais de toxidez e redução na produção de matéria seca do milho. Neste estudo, o Mn não apresentou teores que apresentem evidências de causar toxidez às plantas de milho, mantendo valores, para a parte aérea, entre 52,85 e $226,61 \text{ mg kg}^{-1}$ em CSS no estágio vegetativo e NPK na maturação, respectivamente.

Com relação à comparação entre tratamentos, Provolo et al. (2018), ao realizarem um estudo semelhante, com diferentes adubações de origem animal e mineral, constataram que houve uma tendência de maior acumulação de Mn e outros metais traço na parte aérea das plantas cultivadas com adubação mineral. Como já foi exposto, os tratamentos oriundos de dejetos animais apresentam compostos orgânicos que se ligam aos cátions metálicos, reduzindo sua disponibilidade para as raízes, e por consequência, resultam em uma menor concentração na parte aérea. Outro fator indicado é que a hidrólise da ureia no solo libera íons H^+ , proporcionando um meio mais ácido, propício para maior disponibilidade de Mn e outros MTs.

Outro fator a ser considerado é que os tratamentos com adubação de dejetos animais, principalmente os suínos, apresentam maiores quantidades de Zn, e, segundo Kabata-Pendias (2010), o Zn pode promover efeitos de absorção inibitiva em Mn e Cu. Em um experimento com lodo de esgoto, Martins et al. (2003) constataram que os teores foliares de Zn aumentaram de forma proporcional à aplicação deste lodo, enquanto Mn e Fe foram inversamente proporcionais às mesmas aplicações. Em experimento semelhante, Gomes et al. (2006) relataram que ocorreu aumento dos teores de Zn em plantas de milho com adições crescentes de lodo de esgoto, sendo que este incremento de Zn ocorreu em detrimento à absorção de Cu.

Segundo Emamverdian et al. (2015), concentrações mais altas de Zn no solo podem facilmente ocasionar sobreposição da absorção de Zn em relação a outros cátions metálicos, especialmente os de raio iônico similar, sendo que os principais sinais visuais de excesso de Zn são ligados à deficiência de Mn e Fe em folhas novas. Contudo, mesmo que uma maior disponibilidade de Zn tenha causado redução na absorção de Mn pelas plantas, é válido ressaltar que os tratamentos DLS e CSS (com altos teores de Zn) também apresentaram maior produtividade, com 9,59 e 9,24 $Mg\ ha^{-1}$, respectivamente, significando que, mesmo que Zn tenha causado inibição na absorção de outros micronutrientes, esta inibição não ocasionou danos às plantas e os benefícios da aplicação dos dejetos foram mais significativos (Figura 16).

Figura 17 – Produtividade do milho (Mg ha^{-1}) em experimento de fontes orgânicas de Santa Maria, RS, safra 2021/2022. Letras minúsculas correspondem à comparação de médias entre tratamentos (Tukey, $p < 0,05$).



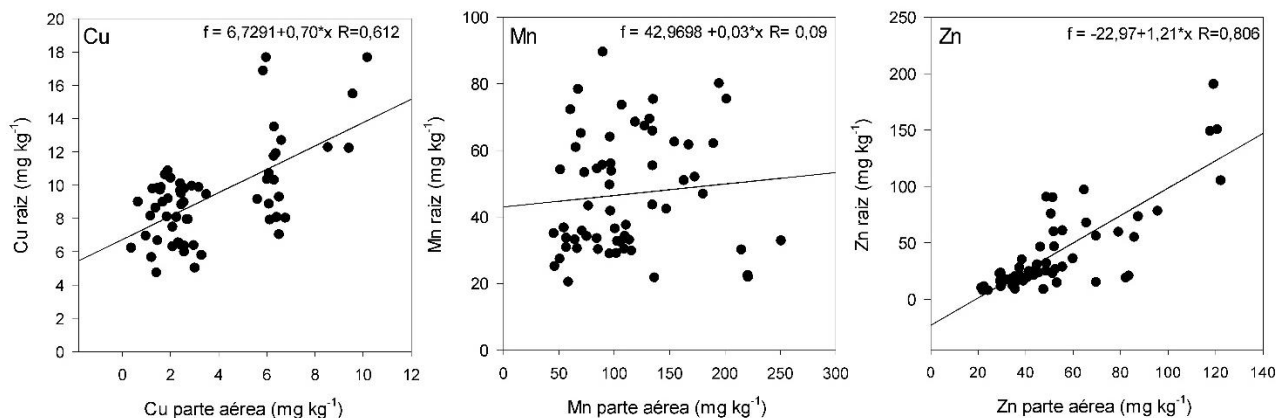
Fonte: Autora (2023)

Segundo Kabata-Pendias (2010), a concentração de Mn nos tecidos pode apresentar uma grande variação entre partes da planta e durante as fases de intenso crescimento vegetativo. Além disso, segundo a autora, Mn é acumulado principalmente nas folhas velhas, e quando o suprimento não é suficiente, ocorre pouca translocação deste nutriente para as folhas novas, onde são observados os sintomas de deficiência. Leite et al. (2003) relataram alta correlação entre o teor e conteúdo de Mn nas folhas do milho. Todos estes fatores apontados indicam que a absorção de Mn é contínua ao longo do desenvolvimento da cultura, o que pode justificar o comportamento crescente dos teores de Mn para a maioria dos tratamentos durante os três estágios avaliados.

Para Thiesen et al. (2023), os teores de Mn na raiz e na parte aérea de diferentes gramíneas nativas e exóticas apresentaram incremento linear ao aumento das doses de Mn. Contudo, neste estudo não houve correlação entre os teores disponíveis em solo rizosférico e os teores no tecido (parte aérea) (Figura 17), nem correlação entre os teores entre raiz e parte aérea. Segundo Sadana e Claasen (2000), é comum que não haja correlação entre o teor de Mn disponível e o absorvido pela planta, já que outros fatores como comprimento e efeito das raízes impactarão na absorção. Além disso, a interação com outros nutrientes pode reduzir

a absorção mesmo em condições de alta disponibilidade (KABATA-PENDIAS, 2010).

Figura 18 – Correlação entre os teores de Cu, Zn e Mn na parte aérea e raízes do milho. Experimento de fontes orgânicas de Santa Maria, RS, safra 2021/2022.



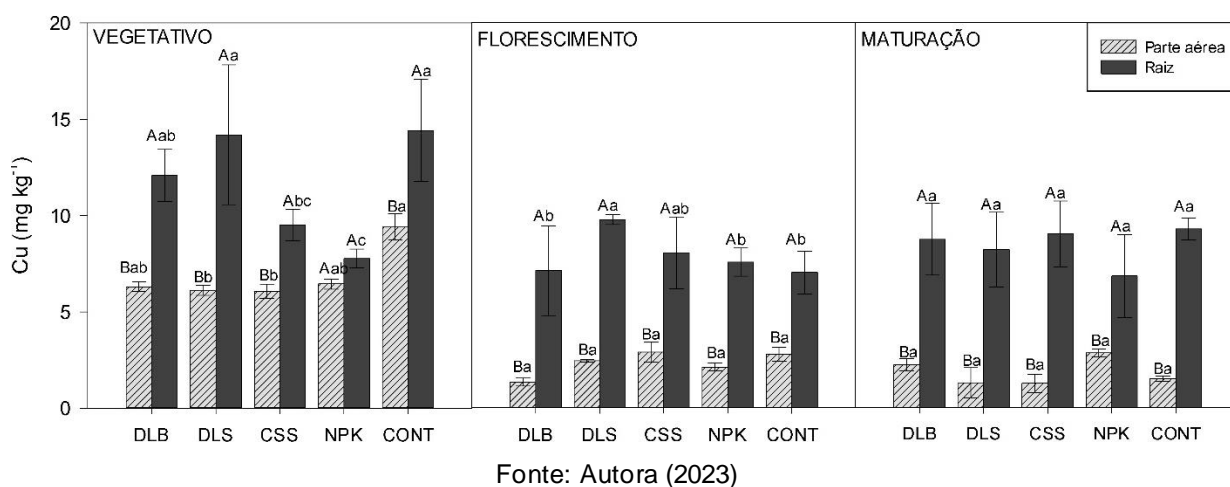
Fonte: Autora (2023)

O cobre apresentou um comportamento de absorção e translocação distinto dos demais nutrientes. Em todos os estágios, para todos os tratamentos, observa-se teores de Cu nas raízes superiores aos da parte aérea, sendo que esta diferença foi ficando mais acentuada ao longo do desenvolvimento do milho, o que aponta uma tendência do nutriente a se acumular no aparato radicular, mesmo em condições de baixas concentrações e disponibilidade. Segundo Kabata-Pendias (2010), os íons de Cu são fortemente ligados às células das raízes, ocasionando em uma baixa translocação do nutriente para os tecidos aéreos das plantas (Figura 18).

Nos estágios do florescimento e da maturação não ocorreram diferenças significativas entre tratamentos, para parte aérea ou raiz. No estágio vegetativo, entretanto, o controle foi superior aos demais tratamentos para os teores de Cu na parte aérea, e não apresentou diferença nos teores radiculares em relação a DLB e DLS. Provoló et al. (2018) encontraram resultados semelhantes para Cu, que não apresentou incremento no tecido com relação à adubação orgânica, e em certos casos foi maior em adubação mineral. Ao realizar análise do balanço de massa (teor adicionado/teor absorvido), o mesmo autor encontrou que nos tratamentos adubados com dejetos suínos a razão foi positiva, enquanto no tratamento mineral a razão foi negativa, ou seja, embora os teores de Cu incrementados no solo sejam superiores nas adubações orgânicas, a taxa de absorção é semelhante, pois grande

parte do Cu adicionado está adsorvido na fração orgânica (ADREES et al., 2015), e, além disso, o conteúdo de compostos orgânicos dissolvidos é muito relevante na indisponibilização de Cu para a planta (DE CONTI et al., 2016).

Figura 19 – Teores de Cu na parte aérea e raiz do milho (mg kg^{-1}) obtida por digestão nitroperclórica coletado nas fases vegetativa, florescimento e maturação do milho em experimento de fontes orgânicas de Santa Maria, RS, safra 2021/2022. Letras maiúsculas correspondem à comparação de médias entre tratamentos; letras minúsculas representam a comparação entre solo rizosférico e solo não rizosférico (Tukey, $p < 0,05$).



O Cu, assim como o Mn, também não apresentou correlação entre os teores na parte aérea e os teores disponíveis no solo rizosférico, com nenhum dos três extratores utilizados. Isto se deve, provavelmente, ao mecanismo de acúmulo nas raízes e baixa translocação à parte aérea, o que sugere não haver translocação proporcional à disponibilidade para este elemento. Entretanto, mesmo com baixa translocação, os dados apresentaram uma correlação média entre os teores de raiz e parte aérea, com coeficiente de 0,612 (Figura 17). Segundo Menzies, Donn e Kopittke (2007), para metais traço que acumulam nas raízes, os teores na parte aérea são frequentemente não responsivos ao suprimento no solo, o que dificulta predições de absorção baseadas nos teores disponíveis.

4.4 DIVISÃO SUBCELULAR DE Cu, Zn e Mn NAS FOLHAS DE MILHO

Após absorção radicular, os metais podem ser retidos na parede celular (KRZESŁOWSKA, 2011; XU et al., 2015) ou adentrar às células da planta, onde são divididos em quase todos os compartimentos subcelulares. Os mecanismos de regulação da homeostase intracelular ainda não foram bem esclarecidos, mas os transportadores de membrana (ZIP, NRAMP, YSL) parecem desempenhar um papel fundamental (JOGAWAT et al., 2021; MARTINOIA et al., 2012; SCHROEDER et al., 2013). Sabe-se que o vacúolo é um compartimento importante na regulação da homeostase, pois é de baixa atividade metabólica, servindo como um local de estoque de íons e metabólitos (PENG; GONG, 2014; SHARMA; DIETZ; MIMURA, 2016).

Os cloroplastos e a mitocôndria também são importantes locais de deposição cátions metálicos, onde participam da fotossíntese e da cadeia respiratória de elétrons, respectivamente (DALCORSO et al., 2014). Na divisão subcelular, o tamanho das organelas em relação à capacidade de acúmulo deve ser considerado, visto que o vacúolo pode ocupar até 95% do volume da célula (TAIZ et al., 2017), enquanto os plastídios são relativamente menores e podem desempenhar diversas funções, incluído estocagem de metabólitos (CHOI; YI; HA, 2021). Com a divisão subcelular realizada, foram obtidas quatro frações: parede celular (F1), núcleo e plastídios (F2), mitocôndria (F3) e vacúolo e citosol ou fração solúvel (F4) (HUANG et al., 2017; THIESEN et al., 2023; XIAO et al., 2020).

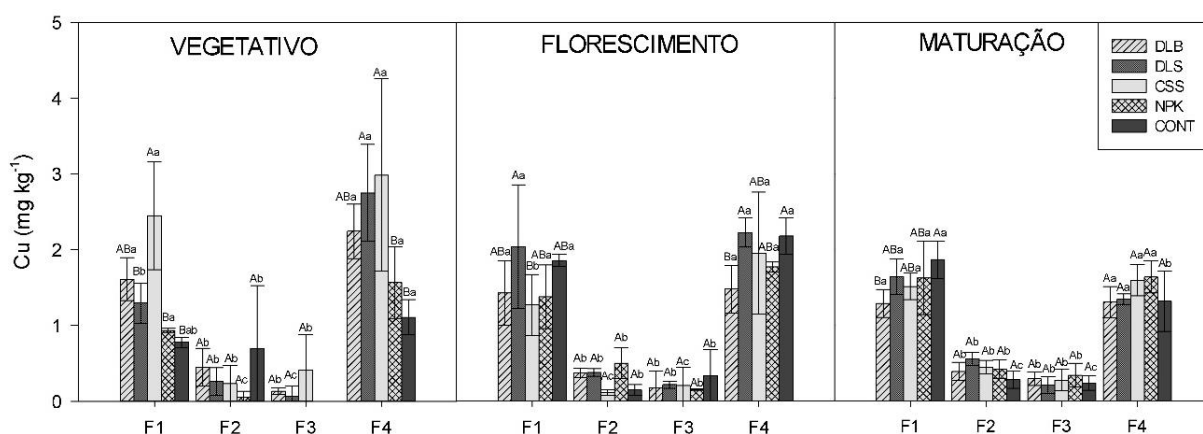
4.4.1 Divisão subcelular de Cu

O cobre é um elemento com alta afinidade pela fração orgânica do solo (BRUNETTO et al., 2016; DRESCHER et al., 2022; FORMENTINI et al., 2017; MALLMANN et al., 2012), além de ter sua disponibilidade influenciada pelo conteúdo de carbono orgânico dissolvido em solução (DE CONTI et al., 2016). Nas células, a parede celular é principalmente composta por pectinas e hemicelulose, que possuem grupos funcionais -COOH, -OH e -SH, que formam ligações muito estáveis com os íons Cu. Por isso, o apoplasto das raízes se caracteriza como um grande compartimento de acúmulo para este elemento, que frequentemente apresenta maiores teores nas raízes do que na parte aérea (ADREES et al., 2015; CORSO;

GARCÍA DE LA TORRE, 2020; KRZESŁOWSKA, 2011; WANG; LIU; HU, 2016). Assim, os mecanismos de regulação de Cu são majoritariamente evitativos (MIMMO et al., 2018), havendo muitas “barreiras” até que o cobre alcance os tecidos acima do solo.

Apesar da premissa de que a adição contínua de dejetos acarretaria um acúmulo de Cu no solo (GIROTTO et al., 2010; ZHANG; LI; YANG, 2015), aumentando as chances de ocorrência de toxidez às plantas, os teores encontrados absorvidos foram relativamente baixos, com uma média de 5 mg kg^{-1} na parte aérea, para todos os tratamentos, que como visto anteriormente não apresentaram diferença significativa (Figura 19). Contudo, apesar dos teores foliares serem aproximados, a distribuição subcelular entre os tratamentos apresentou diferenças, que podem ter sido influenciadas pela modulação da sinalização de nutrientes, baseada na disponibilidade de Cu, que interferiu na homeostase intracelular (LEŠKOVÁ; JAVOT; GIEHL, 2022).

Figura 20 – Teores de Cu em cada fração das folhas do milho (mg kg^{-1}) obtidos por divisão subcelular e posterior digestão nitroperclórica. Folhas coletadas nas fases vegetativa, florescimento e maturação da cultura em experimento de fontes orgânicas de Santa Maria, RS, safra 2021/2022. Letras maiúsculas correspondem à comparação de médias entre tratamentos; letras minúsculas representam a comparação entre solo frações (Tukey, $p < 0,05$).



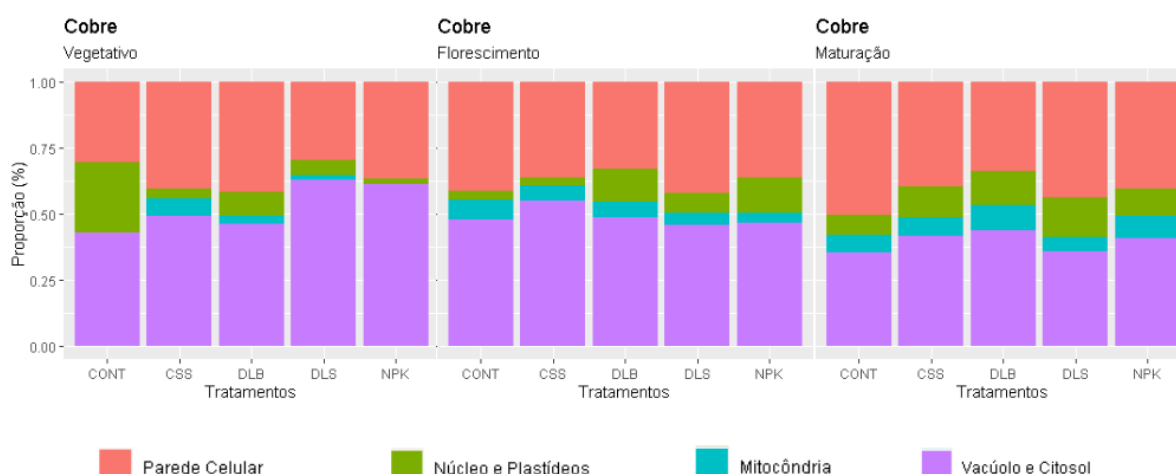
Fonte: Autora (2023)

O suprimento deficiente de Cu disponível na rizosfera em NPK pode ter influenciado na baixa ocorrência do metal na fração mitocondrial no estágio vegetativo (LEŠKOVÁ; JAVOT; GIEHL, 2022). Havendo preferência em distribuir o nutriente para os plastídios, como forma de priorizar os processos fotossintéticos (CHOI; YI; HA, 2021; DALCORSO et al., 2014). As mitocôndrias requerem altas

quantidades de metais traço, sendo que a deficiência de Cu e Zn nesta organela afeta negativamente a cadeia respiratória de elétrons. Recentemente, foi reportado um carreador mitocondrial (Pic2), responsável por transportar cobre juntamente com ligantes para dentro da matriz mitocondrial (DALCORSO et al., 2014), que pode ter atuado na melhor distribuição de Cu a nível celular nos estágios do florescimento e maturação.

No estágio vegetativo e no florescimento, para todos os tratamentos, os teores de Cu foram superiores na fração solúvel, sugerindo que devido à baixa quantidade de Cu absorvido, o transporte para o interior da célula via transportadores de membrana foi priorizado, em detrimento do acúmulo na parede celular (PAGE; FELLER, 2015; PENG; GONG, 2014; PILON et al., 2006). Vale ressaltar que a fração solúvel obtida nesta metodologia não é composta apenas do vacúolo, mas também contém citosol, que é a fase hidrossolúvel no interior da membrana plasmática, assim, F4 não caracteriza apenas uma fração de acúmulo (TAIZ et al., 2017; THIESEN et al., 2023; WANG; LIU; HU, 2016). Na maturação, o cobre atingiu um equilíbrio mais proporcional entre as frações, para todos os tratamentos (Figura 20).

Figura 21 – Fracionamento subcelular de Cu nas folhas do milho (%) obtido por divisão subcelular e digestão nitroperclórica. Folhas coletadas nas fases vegetativa, florescimento e maturação da cultura em experimento de fontes orgânicas de Santa Maria, RS, safra 2021/2022.

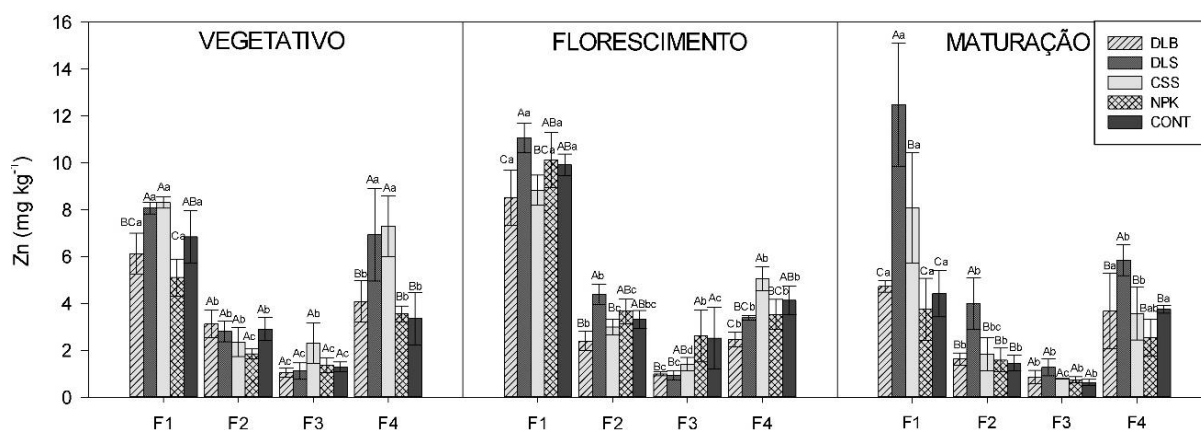


Fonte: Autora (2023)

4.4.2 Divisão subcelular de Zn

Os teores de Zn no solo e na planta foram superiores nos tratamentos adubados com dejetos suínos (BENEDET et al., 2016). Esta maior disponibilidade e absorção do nutriente impactou na divisão subcelular. Podemos observar que no estágio vegetativo, DLS e CSS foram superiores em F1 e F4, sugerindo que a absorção do nutriente oportunizou uma maior distribuição de Zn dentro da célula, já que estas frações não foram significativamente diferentes. Nos tratamentos com menores teores de Zn no tecido, foi observado um maior acúmulo na parede celular do que na fração solúvel, de forma contrária ao que é reportado na literatura, que aborda maiores acúmulos na parede celular em situações de maior suprimento do nutriente (CORSO; GARCÍA DE LA TORRE, 2020; KRZESŁOWSKA, 2011) (Figura 21). Esta inversão pode ter ocorrido devido a uma junção de fatores. Devemos considerar que os mecanismos de tolerância das plantas vão se intensificando ao longo de seu desenvolvimento. Dentre eles, o engrossamento da parede celular, um importante mecanismo de barreira, que ocorre mediante exposição primária a altos teores de metais traço. De forma conjunta, a alta taxa de absorção de Zn e uma parede celular mais fina pode ter acarretado maiores teores na F4 (KABATA-PENDIAS, 2010; KRZESŁOWSKA, 2011).

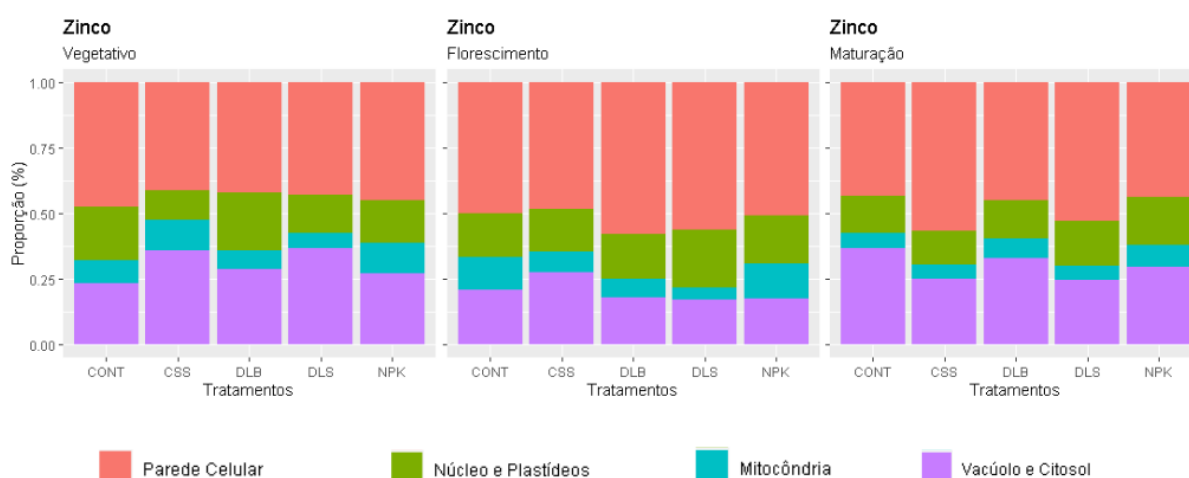
Figura 22 – Teores de Zn em cada fração das folhas do milho (mg kg^{-1}) obtidos por divisão subcelular e posterior digestão nitroperclórica. Folhas coletadas nas fases vegetativa, florescimento e maturação da cultura em experimento de fontes orgânicas de Santa Maria, RS, safra 2021/2022. Letras maiúsculas correspondem à comparação de médias entre tratamentos; letras minúsculas representam a comparação entre solo frações (Tukey, $p < 0,05$).



Fonte: Autora (2023)

No florescimento, a distribuição de Zn na célula foi semelhante para todos os tratamentos, com predomínio de maiores teores na parede celular. Devem ser ressaltados igualmente os teores de Zn em F2, que foram muito semelhantes aos teores na fração solúvel, sendo inclusive, superiores no tratamento DLS, representando um total de 22% para F2 e 17,12% para F4 (Figura 22). O Zn é um importante nutriente na biossíntese de clorofila, sendo essa, a possível causa para sua grande ocorrência nos plastídios (ANDRESEN; PEITER; KÜPPER, 2018; DALCORSO et al., 2014). Outro fator a ser considerado é a interação entre nutrientes, já que o Cu foi majoritariamente transportado para a fração solúvel, isto pode ter oportunizado a acumulação de Zn na parede celular e em plastídios, que também são organelas com função de estoque (CHOI; YI; HA, 2021; LEŠKOVÁ; JAVOT; GIEHL, 2022).

Figura 23 – Fracionamento subcelular de Zn nas folhas do milho (%) obtido por divisão subcelular e digestão nitroperclórica. Folhas coletadas nas fases vegetativa, florescimento e maturação da cultura em experimento de fontes orgânicas de Santa Maria, RS, safra 2021/2022.



Fonte: Autora (2023)

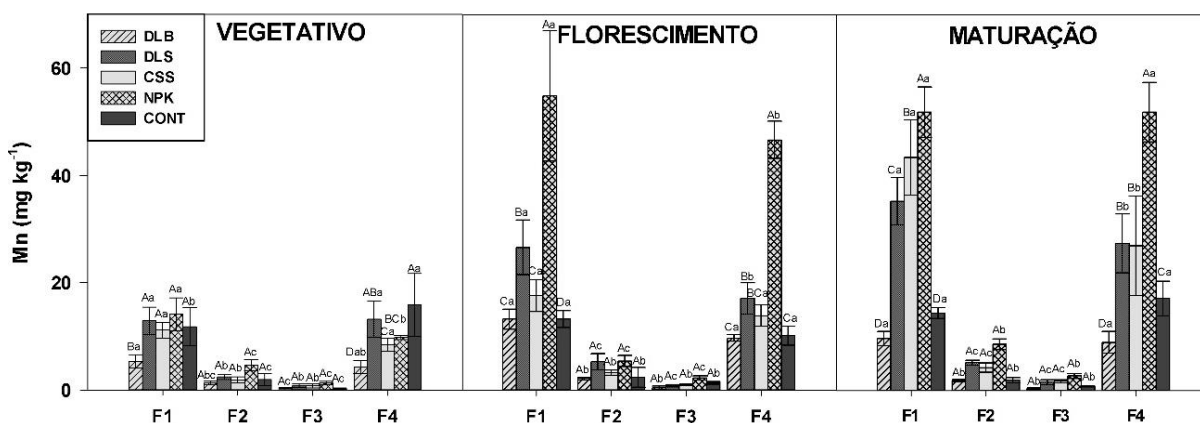
Na maturação, destacam-se novamente os tratamentos oriundos de dejetos, com maiores quantidades de Zn na parede celular. Nas demais organelas, DLS foi superior a todos os tratamentos. Apesar de ambos os tratamentos serem oriundos de dejetos suínos, reiteramos que as diferenças físicas dos dejetos devem ser consideradas, uma vez que os dejetos líquidos acarretarão maior disponibilidade de íons livres, oportunizando uma absorção mais facilitada pela planta do que os dejetos sólidos (DRESCHER et al., 2022). Além disso, ao considerarmos de forma

conjunta os três estágios, observamos um comportamento ascendente nos teores em F1, e descendente em F4, que pode ter sido causado por um efluxo citosólico ou vacuolar como forma de remobilização do metal na célula (DALCORSO et al., 2014; KRZESŁOWSKA, 2011).

4.4.3 Divisão subcelular de Mn

Como exposto anteriormente, o Mn apresentou maiores teores no tratamento com adubação mineral. Embora este não tenha sido incrementado pela adubação, sabemos que o Mn é onipresente no solo na forma de óxidos, e que sua disponibilidade varia de acordo com as características do solo, sendo um nutriente altamente disponível para as raízes devido às modificações que estas propiciam no ambiente radicular. Além disso, apesar do nutriente não ter demonstrado afinidade direta com a matéria orgânica, a presença de C orgânico retém indiretamente o Mn^{2+} em um ciclo redox, diminuindo sua absorção pela planta (ALEJANDRO et al., 2020; MILLALEO et al., 2010; RENGEL, 2015; XU; TSANG, 2022). O controle não foi diferente do NPK com relação à matéria orgânica e teores disponíveis de Mn em solo R, contudo, há que se levar em conta que a adubação mineral propicia um maior crescimento radicular e absorção de nutrientes (HIRTE et al., 2018).

Figura 24 – Teores de Mn em cada fração das folhas do milho ($mg\ kg^{-1}$) obtidos por divisão subcelular e posterior digestão nitroperclórica. Folhas coletadas nas fases vegetativa, florescimento e maturação da cultura em experimento de fontes orgânicas de Santa Maria, RS, safra 2021/2022. Letras maiúsculas correspondem à comparação de médias entre tratamentos; letras minúsculas representam a comparação entre solo frações (Tukey, $p < 0,05$).



Fonte: Autora (2023)

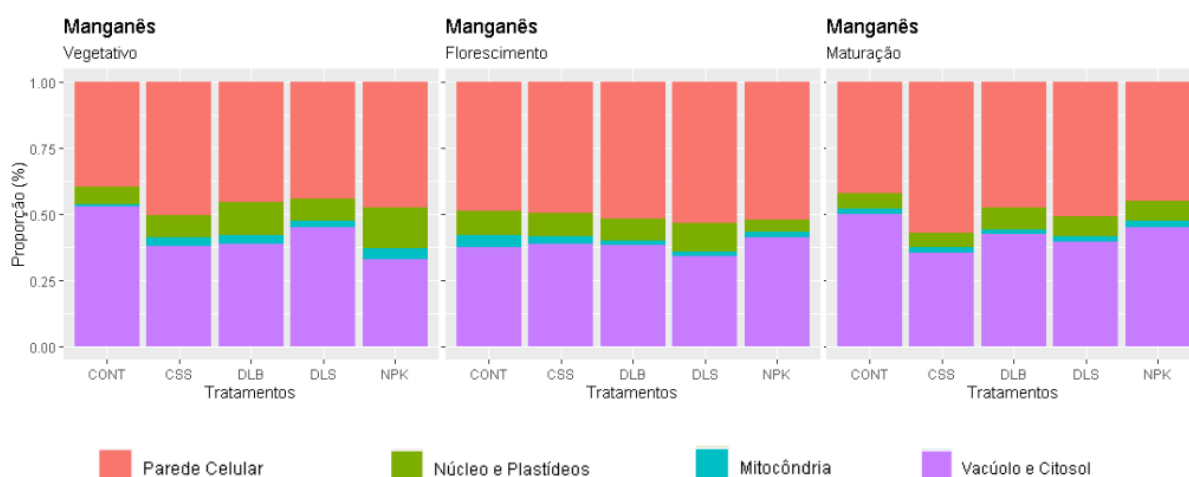
De modo geral, o CSS apresentou superioridade nos teores de Mn no solo em comparação a NPK. Contudo, no tecido, esta maior disponibilidade em CSS não refletiu, necessariamente em maiores teores na planta. Neste contexto, duas questões devem ser levantadas: i) Os transportadores de membrana são seletivos, mas não exclusivos, podendo atuar no transporte de vários metais traço. Em condições de suprimento desbalanceado, ocorre o transporte do íon em excesso em detrimento de outros em menor quantidade (LEŠKOVÁ; JAVOT; GIEHL, 2022; MARTINOIA et al., 2012; TAIZ et al., 2017); ii) Crosstalk (ou diafonia), é a interferência indesejada entre canais de sinalização. Essas interações ocorrem principalmente em condições de deficiências nutricionais, pois, na tentativa de obter o nutriente faltante, ocorre uma solubilização e absorção ainda maior do nutriente em excesso (LEŠKOVÁ; JAVOT; GIEHL, 2022). Como observado, ao contrário de NPK, o CSS continha altos teores não apenas de Mn, mas de Cu e Zn, além de outros nutrientes, o que ocasionou uma absorção mais equilibrada (Figura 23).

Este desbalanço nutricional em NPK, reflete na divisão subcelular de Mn. No estágio vegetativo, a distribuição do nutriente apresentou um equilíbrio proporcional entre organelas. O principal local de acúmulo do Mn foi a parede celular, com 47,34%, seguido pela fração solúvel (32,79%). Neste estágio, a fração núcleo e plastídios também foi relevante, com 15,49% do Mn intracelular. No decorrer do desenvolvimento da cultura, o comportamento de acúmulo fica mais evidente, pois no florescimento, os teores aumentam significativamente, ocupando 51,99% e 41,21% para F1 e F4, respectivamente, enquanto na F2, os teores representam um total de 4,79%. Na maturação, F1 e F4 se igualam, em uma proporção de 45,07%, enquanto em F2, os teores de Mn representam 7,48% do total (Figura 24).

Assim, podemos inferir, que em um primeiro momento ocorreu uma distribuição intracelular adequada do Mn, porém posteriormente, a absorção em excesso ocasionou, em primeiro lugar, maior acúmulo na parede celular, como tentativa de reduzir a entrada de Mn na célula (CORSO; GARCÍA DE LA TORRE, 2020; KRZESŁOWSKA, 2011; TANG et al., 2023), e; em segundo lugar, provavelmente pela degradação da parede celular devido ao excesso de Mn (SKÓRKA; SIEPRAWKA; TELK, 2022; XIAO et al., 2020), ocorreu maior entrada do elemento na célula e uma tentativa de estocagem no vacúolo (GHORI et al., 2019; MARTINOIA et al., 2012; PENG; GONG, 2014).

Os demais tratamentos apresentaram maiores quantidades de Mn na parede celular, embora os teores tenham aumentado também na fração solúvel, à medida em que a absorção do nutriente se intensificou (THIESEN et al., 2023; XIAO et al., 2020). A F2 também foi relevante na divisão subcelular de Mn, pois este desempenha um papel fundamental no fotossistema nas reações envolvendo O₂, e por este motivo, os cloroplastos são organelas muito sensíveis à deficiência deste metal (KABATA-PENDIAS, 2010).

Figura 25 – Fracionamento subcelular de Mn nas folhas do milho (%) obtido por divisão subcelular e digestão nitroperclórica. Folhas coletadas nas fases vegetativa, florescimento e maturação da cultura em experimento de fontes orgânicas de Santa Maria, RS, safra 2021/2022.



Fonte: Autora (2023)

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após 17 anos de aplicações de dejetos animais, não houve ocorrências de toxidez por Cu, Zn ou Mn nas plantas. Nestes tratamentos, as plantas de milho não apresentaram sintomas em escala visual ou fisiológica, além de terem alcançado maiores produtividades em comparação ao controle e tratamento mineral. Os benefícios oportunizados pelos incrementos destes insumos parecem se sobrepor aos possíveis efeitos danosos esperados. Devemos considerar os dejetos como materiais complexos, que aportam não apenas altas quantidades de metais traço, mas também de macronutrientes e matéria orgânica ao solo, de forma que, a utilização destes resíduos na forma de adubos, não ocasiona toxidez por metais traço nas plantas.

Em contrapartida, o solo com incremento de adubação mineral no mesmo período, oportunizou indícios de ocorrência de toxidez por Mn nas plantas, que apresentaram acúmulo do nutriente na parede celular e no vacúolo das células. Apesar do NPK não incrementar Mn ao solo, este elemento existe de forma onipresente na forma de óxidos, podendo ser facilmente reduzido a Mn^{2+} em condições favoráveis de pH, ficando mais disponível às plantas. Situação essa que pode ser agravada na ausência de matéria orgânica, que apesar de não se ligar diretamente ao Mn^{2+} , o mantém retido em um ciclo redox. Além disso, os riscos de toxidez por Mn também se devem à subestimação do nutriente em análises de solo padrão, já que sua disponibilidade aumenta consideravelmente em ambiente radicular.

As raízes afetam grandemente a disponibilidade dos nutrientes, apresentando variações nas concentrações ao longo dos estágios da cultura, não apenas nos teores disponíveis, mas também impactando em outras frações do solo. Os exsudatos podem atuar tanto na mobilização, em condições de escassez, quanto na imobilização, condicionada por suprimentos excessivos. Em geral, o efeito ocasionado pelos exsudatos irá depender de uma junção de fatores do meio, como características primárias do solo, quantidade e variedade de íons, tipo de adubação etc. Mesmo assim, as plantas parecem responder de forma eficiente às condições do solo, modificando consideravelmente a dinâmica dos nutrientes em solo rizosférico em relação ao solo não rizosférico.

Assim como as plantas modificam as condições do solo, o oposto também parece ser verdadeiro, não somente pelas observações que podem ser feitas em escala macro, mas também a nível celular. Tecidos com quantidades semelhantes de determinado nutriente, podem apresentar uma distribuição totalmente diferente entre as organelas celulares, podendo destinar as quantidades excedentes a compartimentos de acúmulo, ou priorizar a presença de determinado íon em organelas que desempenham funções vitais, em baixos níveis de suprimento. Entretanto, a divisão subcelular deve ser analisada com parcimônia, considerando tamanho e função de cada fração, sendo que a distribuição do nutriente entre as frações ao longo do desenvolvimento também deve ser levada em consideração para descrever comportamentos de acúmulo.

6 REFERÊNCIAS

- ADREES, M. et al. The effect of excess copper on growth and physiology of important food crops: a review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 11, p. 8148–8162, 2015.
- ALEJANDRO, S. et al. Manganese in Plants: From Acquisition to Subcellular Allocation. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, n. March, p. 1–23, 2020.
- ALLOWAY, B. J. **Heavy Metals in Soils**. 3rd. ed. Glasgow: Springer Science, 2012. v. 22
- ANDRESEN, E.; PEITER, E.; KÜPPER, H. Trace metal metabolism in plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 69, n. 5, p. 909–954, 2018.
- ANTONIADIS, V. et al. Trace elements in the soil-plant interface: Phytoavailability, translocation, and phytoremediation—A review. **Earth-Science Reviews**, v. 171, n. June, p. 621–645, 2017.
- ARIF, N. et al. Influence of high and low levels of plant-beneficial heavy metal ions on plant growth and development. **Frontiers in Environmental Science**, v. 4, n. NOV, 2016.
- BARROW, N. J. The four laws of soil chemistry: The Leeper lecture 1998. **Australian Journal of Soil Research**, v. 37, n. 5, p. 787–829, 1999.
- BENEDET, L. et al. Physiological Changes in Maize Grown in Soil with Copper and Zinc Accumulation Resulting from the Addition of Pig Slurry and Deep Litter over 10 Years. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 227, n. 11, 2016.
- BENEDET, L. **Efeitos de aplicações de dejetos suínos por 10 anos sobre a matéria orgânica do solo e a biodisponibilidade de Cu e Zn**. [s.l.] Universidade Federal de Santa Catarina, 2018.
- BENEDET, L. et al. Copper and Zinc in Rhizosphere Soil and Toxicity Potential in White Oats (*Avena sativa*) Grown in Soil with Long-Term Pig Manure Application. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 230, n. 8, 2019.
- BENEDET, L. et al. Copper and Zn distribution in humic substances of soil after 10 years of pig manure application in south of Santa Catarina, Brazil. **Environmental Geochemistry and Health**, v. 42, n. 10, p. 3281–3301, 2020.
- BRUNETTO, G. et al. Copper accumulation in vineyard soils: Rhizosphere processes and agronomic practices to limit its toxicity. **Chemosphere**, v. 162, p. 293–307, 2016.
- BRUNETTO, G. et al. Copper and zinc fractions in the profile of an inceptisol cultivated with apple in southern Brazil. **Bragantia**, v. 77, n. 2, p. 333–347, 2018.
- CAMPILLO-CORA, C. et al. Specific adsorption of heavy metals in soils: Individual and competitive experiments. **Agronomy**, v. 10, n. 8, 2020.
- CESCO, S. et al. Plant-borne flavonoids released into the rhizosphere: Impact on soil bio-activities related to plant nutrition. A review. **Biology and Fertility of Soils**, v. 48, n. 2, p. 123–149, 2012.
- CHOI, H.; YI, T.; HA, S. H. Diversity of Plastid Types and Their Interconversions. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, n. June, p. 1–14, 2021.
- COMISSAO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO RIO GRANDE DO SUL E SANTA CATARINA CQFS RS/SC. **Manual de Adubação e de Calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. 11ª edição ed. [s.l.: s.n.].
- CORSO, M.; GARCÍA DE LA TORRE, V. S. Biomolecular approaches to understanding metal tolerance and hyperaccumulation in plants. **Metallomics**, v. 12, n. 6, p. 840–859, 2020.

- CROUE, J. P. et al. Characterization and copper binding of humic and nonhumic organic matter isolated from the South Platte River: Evidence for the presence of nitrogenous binding site. **Environmental Science and Technology**, v. 37, n. 2, p. 328–336, 2003.
- DA ROSA COUTO, R. et al. Accumulation and distribution of copper and zinc in soils following the application of pig slurry for three to thirty years in a microwatershed of southern Brazil. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 62, n. 5, p. 593–616, 2016.
- DA SILVA, G. A. et al. Effect of the organic minerals zinc, manganese, and copper on growth performance and the locomotor system of finishing pigs. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 40, n. 6, p. 3209–3222, 2019.
- DALCORSO, G. et al. Nutrient metal elements in plants. **Metallomics**, v. 6, n. 10, p. 1770–1788, 2014.
- DE CONTI, L. et al. Soil solution concentrations and chemical species of copper and zinc in a soil with a history of pig slurry application and plant cultivation. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 216, p. 374–386, 2016.
- DE CONTI, L. et al. Growth and chemical changes in the rhizosphere of black oat (*Avena strigosa*) grown in soils contaminated with copper. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 163, n. January, p. 19–27, 2018.
- DOTANIYA, M. L.; MEENA, V. D. Rhizosphere Effect on Nutrient Availability in Soil and Its Uptake by Plants: A Review. **Proceedings of the National Academy of Sciences India Section B - Biological Sciences**, v. 85, n. 1, p. 1–12, 2015.
- DRESCHER, G. L. et al. Copper and Zinc fractions and adsorption in sandy soil with long-term pig manure application. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 68, n. 14, p. 1930–1946, 2022.
- EMAMVERDIAN, A. et al. Heavy Metal Stress and Some Mechanisms of Plant Defense Response. **The Scientific World Journal**, v. 25, n. 4, p. 27–54, 2015.
- EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 5ª ed. Rio de Janeiro, RJ - Brasil: [s.n.].
- FORMENTINI, T. A. et al. Copper and zinc accumulation and fractionation in a clayey Hapludox soil subject to long-term pig slurry application. **Science of the Total Environment**, v. 536, p. 831–839, 2015.
- FORMENTINI, T. A. et al. Radical change of Zn speciation in pig slurry amended soil: Key role of nano-sized sulfide particles. **Environmental Pollution**, v. 222, p. 495–503, 2017.
- FU, X. et al. Subcellular distribution and chemical forms of cadmium in *Phytolacca americana* L. **Journal of Hazardous Materials**, v. 186, n. 1, p. 103–107, 2011.
- GHORI, N. H. et al. Heavy metal stress and responses in plants. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 16, n. 3, p. 1807–1828, 2019.
- GIROTTO, E. et al. Acúmulo e formas de cobre e zinco no solo após aplicações sucessivas de dejetos líquidos de suínos. n. 7, p. 955–965, 2010.
- GOMES, S. B. V. et al. Distribuição de metais pesados em plantas de milho cultivadas em Argissolo tratado com lodo de esgoto. **Ciência Rural**, v. 36, n. 6, p. 1689–1695, 2006.
- GUPTA, N. et al. Trace elements in soil-vegetables interface: Translocation, bioaccumulation, toxicity and amelioration - A review. **Science of the Total Environment**, v. 651, p. 2927–2942, 2019.
- HELLIWELL, J. R. et al. The role of plant species and soil condition in the structural development of the rhizosphere. **Plant Cell and Environment**, v. 42, n. 6, p. 1974–

1986, 2019.

HINSINGER, P.; PLASSARD, C.; JAILLARD, B. Rhizosphere: A new frontier for soil biogeochemistry. **Journal of Geochemical Exploration**, v. 88, n. 1- 3 SPEC. ISS., p. 210–213, 2006.

HIRTE, J. et al. Maize and wheat root biomass, vertical distribution, and size class as affected by fertilization intensity in two long-term field trials. **Field Crops Research**, v. 216, n. October 2017, p. 197–208, 2018.

HOU, D. et al. Metal contamination and bioremediation of agricultural soils for food safety and sustainability. **Nature Reviews Earth and Environment**, v. 1, n. 7, p. 366–381, 2020.

HUANG, G. et al. Accumulation and distribution of copper in castor bean (*Ricinus communis* L.) callus cultures: in vitro. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 128, n. 1, p. 177–186, 2017.

HUANG, J.; ZHANG, H. Redox reactions of iron and manganese oxides in complex systems. **Frontiers of Environmental Science and Engineering**, v. 14, n. 5, 2020.

INMET. **Boletim Agroclimatológico**. Brasília: [s.n.]. Disponível em: <<https://portal.inmet.gov.br/boletinsagro>>.

INMET. **Dados Históricos**. Disponível em: <<https://tempo.inmet.gov.br/TabelaEstacoes/A001>>. Acesso em: 16 jun. 2023.

JOGAWAT, A. et al. Metal transporters in organelles and their roles in heavy metal transportation and sequestration mechanisms in plants. **Physiologia Plantarum**, v. 173, n. 1, p. 259–275, 2021.

KABATA-PENDIAS, A. **Trace elements in soils and plants: Fourth edition**. 4th. ed. Boca Raton, FL.: Taylor & Francis, 2010.

KIDD, P. et al. Trace element behaviour at the root-soil interface: Implications in phytoremediation. **Environmental and Experimental Botany**, v. 67, n. 1, p. 243–259, 2009.

KIM, K. R. et al. Influence of plant roots on rhizosphere soil solution composition of long-term contaminated soils. **Geoderma**, v. 155, n. 1–2, p. 86–92, 2010.

KIM, K. R.; OWENS, G.; NAIDU, R. Effect of Root-Induced Chemical Changes on Dynamics and Plant Uptake of Heavy Metals in Rhizosphere Soils. **Pedosphere**, v. 20, n. 4, p. 494–504, 2010.

KRZESŁOWSKA, M. The cell wall in plant cell response to trace metals: Polysaccharide remodeling and its role in defense strategy. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 33, n. 1, p. 35–51, 2011.

L'HERROUX, L. et al. Behaviour of metals following intensive pig slurry applications to a natural field treatment process in Brittany (France). **Environmental Pollution**, v. 97, n. 1–2, p. 119–130, 1997.

LAMBERS, H. et al. Leaf manganese concentrations as a tool to assess belowground plant functioning in phosphorus-impooverished environments. **Plant and Soil**, v. 461, n. 1–2, p. 43–61, 2021.

LANSON, B. et al. Formation of Zn-Ca phyllomanganate nanoparticles in grass roots. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 72, n. 10, p. 2478–2490, 2008.

LEITE, U. T. et al. Níveis críticos foliares de boro, cobre, manganês e zinco em milho. **Biosci. J.**, v. 19, p. 115–125, 2003.

LEŠKOVÁ, A.; JAVOT, H.; GIEHL, R. F. H. Metal crossroads in plants: Modulation of nutrient acquisition and root development by essential trace metals. **Journal of Experimental Botany**, v. 73, n. 6, p. 1751–1765, 2022.

LI, H. et al. A Critical Review on the Multiple Roles of Manganese in Stabilizing and Destabilizing Soil Organic Matter. **Environmental Science and Technology**, v. 55,

n. 18, p. 12136–12152, 2021.

LOURENZI, C. R. et al. Available content, surface runoff and leaching of phosphorus forms in a typic hapludalf treated with organic and mineral nutrient sources. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 38, n. 2, p. 544–556, 2014.

MA, D. et al. Coupled Manganese Redox Cycling and Organic Carbon Degradation on Mineral Surfaces. **Environmental Science and Technology**, v. 54, n. 14, p. 8801–8810, 2020.

MALLMANN, F. J. K. et al. Modeling field-scale vertical movement of zinc and copper in a pig slurry-amended soil in Brazil. **Journal of Hazardous Materials**, v. 243, p. 223–231, 2012.

MALLMANN, F. J. K. et al. Modeling Zinc and Copper Movement in an Oxisol under Long-Term Pig Slurry Amendments. **Vadose Zone Journal**, v. 16, n. 10, p. vzj2017.01.0011, 2017.

MARCHEZAN, C. et al. Nitrogen Availability and Physiological Response of Corn After 12 Years with Organic and Mineral Fertilization. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 20, n. 3, p. 979–989, 2020.

MARSCHNER, H. **Mechanisms of Manganese Acquisition by Roots from Soils**. [s.l.: s.n.].

MARTINOIA, E. et al. Vacuolar transporters in their physiological context. **Annual Review of Plant Biology**, v. 63, p. 183–213, 2012.

MARTINS, A. L. C. et al. Produção de grãos e absorção de Cu, Fe, Mn e Zn pelo milho em solo adubado com lodo de esgoto, com e sem calcário. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, n. 3, p. 563–574, 2003.

MATTIAS, J. L. et al. Copper, zinc and manganese in soils of two watersheds in Santa Catarina with intensive use of pig slurry. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, n. 4, p. 1445–1454, 2010.

MEHLICH, A. Determination of P, Ca, Mg, K, Na, NH₄. **Short Test Methods Used in Soil Testing Division**, n. 1, p. 8, 1953.

MEHLICH, A. Mehlich 3 soil test extractant: A modification of Mehlich 2 extractant, Communications in Soil Science and Plant Analysis. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 15, n. June 2012, p. 1409–1416, 1984.

MENZIES, N. W.; DONN, M. J.; KOPITTKE, P. M. Evaluation of extractants for estimation of the phytoavailable trace metals in soils. **Environmental Pollution**, v. 145, n. 1, p. 121–130, 2007.

MILLALEO, R. et al. Manganese as essential and toxic element for plants: Transport, accumulation and resistance mechanisms. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 10, n. 4, p. 476–494, 2010.

MIMMO, T. et al. Nutrient availability in the rhizosphere: A review. **Acta Horticulturae**, v. 1217, p. 13–27, 2018.

NASCIMENTO, C. W. A. DO. **Dessorção, extração e fracionamento de zinco, cobre e manganês em solos**. [s.l.] Universidade Federal de Viçosa, 2001.

NOGUEIROL, R. C.; DE MELO, W. J.; ALLEONI, L. R. F. Testing extractants for Cu, Fe, Mn, and Zn in tropical soils treated with sewage sludge for 13 consecutive years. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 224, n. 5, 2013.

PAGE, V.; FELLER, U. Heavy metals in crop plants: Transport and redistribution processes on the whole plant level. **Agronomy**, v. 5, n. 3, p. 447–463, 2015.

PENG, J. S.; GONG, J. M. Vacuolar sequestration capacity and long-distance metal transport in plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, n. FEB, p. 1–5, 2014.

PENHA, H. G. V. et al. Nutrient accumulation and availability and crop yields following long-term application of pig slurry in a Brazilian Cerrado soil. **Nutrient**

- Cycling in Agroecosystems**, v. 101, n. 2, p. 259–269, 2015.
- PII, Y. et al. Microbial interactions in the rhizosphere: beneficial influences of plant growth-promoting rhizobacteria on nutrient acquisition process. A review. **Biology and Fertility of Soils**, v. 51, n. 4, p. 403–415, 2015.
- PILON, M. et al. Copper cofactor delivery in plant cells. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 9, n. 3, p. 256–263, 2006.
- PROVOLO, G. et al. Effect of pig and cattle slurry application on heavy metal composition of maize grown on different soils. **Sustainability (Switzerland)**, v. 10, n. 8, 2018.
- RASCIO, N.; NAVARI-IZZO, F. Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting? **Plant Science**, v. 180, n. 2, p. 169–181, 2011.
- RENGEL, Z. Availability of Mn, Zn and Fe in the rhizosphere. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 15, n. 2, p. 397–409, 2015.
- SADANA, U. S.; CLAASSEN, N. Manganese dynamics in the rhizosphere and Mn uptake by different crops evaluated by a mechanistic model. **Plant and Soil**, v. 218, n. 1–2, p. 233–238, 2000.
- SCHROEDER, J. I. et al. Using membrane transporters to improve crops for sustainable food production. **Nature**, v. 497, n. 7447, p. 60–66, 2013.
- SESHADRI, B.; BOLAN, N. S.; NAIDU, R. Rhizosphere-induced heavy metal(Loid) transformation in relation to bioavailability and remediation. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 15, n. 2, p. 524–548, 2015.
- SHARMA, S. S.; DIETZ, K. J.; MIMURA, T. Vacuolar compartmentalization as indispensable component of heavy metal detoxification in plants. **Plant Cell and Environment**, v. 39, n. 5, p. 1112–1126, 2016.
- SKÓRKA, M.; SIEPRAWKA, A.; TELK, A. The Implication of Manganese Surplus on Plant Cell Homeostasis: A Review. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 42, n. 3, p. 1327–1341, 2022.
- SPOSITO, G. **The Chemistry Of Soils**. 2nd. ed. New York: Oxford University Press, 2008.
- STEINBERG, S. M.; HODGE, V. F. Copper complexation by dissolved organic matter in arid soils: A voltametric study. **Environments - MDPI**, v. 5, n. 11, p. 1–18, 2018.
- SUN, F. S. et al. Toward understanding the binding of Zn in soils by two-dimensional correlation spectroscopy and synchrotron-radiation-based spectromicroscopies. **Geoderma**, v. 337, n. September 2018, p. 238–245, 2019.
- TAIZ, L. et al. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal Diversidade vegetal**. 6th. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.
- TANG, Z. et al. Molecular mechanisms underlying the toxicity and detoxification of trace metals and metalloids in plants. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 65, n. 2, p. 570–593, 2023.
- TEDESCO, J. M. et al. **Análises de Solo, Plantas e Outros Materiais**. Porto Alegre: [s.n.].
- TERZANO, R. et al. Combined effect of organic acids and flavonoids on the mobilization of major and trace elements from soil. **Biology and Fertility of Soils**, v. 51, n. 6, p. 685–695, 2015.
- TESSIER, A.; CAMPBELL, P. G. C.; BISSON, M. Sequential Extraction Procedure for the Speciation of Particulate Trace Metals. **Analytical Chemistry**, v. 51, n. 7, p. 844–851, 1979.
- THIESEN, L. A. et al. Subcellular distribution and physiological responses of native and exotic grasses from the Pampa biome subjected to excess manganese.

Chemosphere, v. 310, n. June 2022, 2023.

TIECHER, T. L. et al. Forms and accumulation of copper and zinc in a sandy typic hapludalf soil after long-term application of pig slurry and deep litter. **Revista Brasileira de Ciencia do Solo**, v. 37, n. 3, p. 812–824, 2013.

TIECHER, T. L. et al. The potential of *Zea mays* L. in remediating copper and zinc contaminated soils for grapevine production. **Geoderma**, v. 262, p. 52–61, 2016a.

TIECHER, T. L. et al. 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, 2016b.

USEPA. Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils and oils. **EPA**, n. 235, p. 245, 2007.

WANG, Q. Y.; LIU, J. S.; HU, B. Integration of copper subcellular distribution and chemical forms to understand copper toxicity in apple trees. **Environmental and Experimental Botany**, v. 123, p. 125–131, 2016.

WANG, S. et al. Accumulation of heavy metals in soil-crop systems: a review for wheat and corn. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 18, p. 15209–15225, 2017.

XIAO, Z. et al. Effects of exogenous manganese on its plant growth, subcellular distribution, chemical forms, physiological and biochemical traits in *Cleome viscosa* L. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 198, n. April, p. 110696, 2020.

XU, X. et al. Molecular binding mechanisms of manganese to the root cell wall of *Phytolacca americana* L. using multiple spectroscopic techniques. **Journal of Hazardous Materials**, v. 296, p. 185–191, 2015.

XU, Z.; TSANG, D. C. W. Redox-induced transformation of potentially toxic elements with organic carbon in soil. **Carbon Research**, v. 1, n. 1, p. 1–18, 2022.

YRUELA, I. Copper in plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 17, n. 1, p. 145–156, 2005.

YU, T. R. **Chemistry of Variable Charges Soils**. 1st. ed. New York: Oxford University Press, 1997.

ZHANG, S.; LI, Z.; YANG, X. Effects of Long-Term Inorganic and Organic Fertilization on Soil Micronutrient Status. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 46, n. 14, p. 1778–1790, 2015.

ZHOU, Y. WU et al. Accumulation and partitioning of heavy metals in mangrove rhizosphere sediments. **Environmental Earth Sciences**, v. 64, n. 3, p. 799–807, 2011.

ZWOLAK, A. et al. Sources of Soil Pollution by Heavy Metals and Their Accumulation in Vegetables: a Review. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 230, n. 7, 2019.