

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA**

**GIOVANA MELLO**

**Dinâmica da disponibilidade de manganês no solo:  
influência de propriedades físicas, químicas e microbiológicas**

**Piracicaba**

**2019**



**GIOVANA MELLO**

**Dinâmica da disponibilidade de manganês no solo:  
influência de propriedades físicas, químicas e microbiológicas**

**Versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011**

**Dissertação apresentada ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências**

**Área de Concentração: Química na Agricultura e no Ambiente**

**Orientador: Prof. Dr. Marcos Yassuo Kamogawa**

**Piracicaba**

**2019**

AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

**Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP**

Mello, Giovana

Dinâmica da disponibilidade de manganês no solo: influência de propriedades físicas, químicas e microbiológicas / Giovana Mello; orientador Marcos Yassuo Kamogawa. - - Versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2019.

64 p. : il.

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Química na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo.

1. Biodisponibilidade 2. Fracionamento químico 3. Matéria orgânica do solo 4. Micronutrientes 5. Preparo de amostras 6. Reação de oxirredução 7. Temperatura do solo I. Título

CDU (631.41 + 543.05) : 546.711

**Elaborada por:**

Marília Ribeiro Garcia Henyei

CRB-8/3631

Resolução CFB Nº 184 de 29 de setembro de 2017

*Ofereço...*

*Aos meus orientadores que tanto admiro Mario e Marcos,  
pela prontidão, paciência e generosidade que  
tiveram ao longo destes dois últimos anos.*

*Dedico...*

*Aos meus pais Amarildo, Amarilei e minha irmã Beatriz,  
por todo o apoio e por sonharem comigo.*



## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter abençoado toda a minha trajetória ao longo desse período e que apesar das adversidades, colocou pessoas tão iluminadas em meu caminho, que me ajudaram não só a superar as dificuldades de morar sozinha em outra cidade, mas como também, a construir parte da minha história com momentos inesquecíveis, e a estas pessoas, deixo aqui meus agradecimentos:

Ao meu orientador, Dr. Marcos Kamogawa, primeiramente pela confiança depositada em mim ao ter me dado a oportunidade de trabalhar junto a ele e a todo seu grupo de pesquisa, onde que fui tão bem acolhida. Agradeço também por todos os ensinamentos, paciência e principalmente pela prontidão que teve comigo ao longo destes anos, se mostrando um profissional diferenciado.

Ao meu orientador da iniciação científica do IAPAR, Dr. Mario Miyazawa por ter me incentivado a fazer um curso de pós-graduação, acreditando em mim e me incentivando sempre a buscar conhecimento dizendo “não é difícil, é só estudar”.

A minha família, meus pais Amarildo e Amarilei e minha irmã Beatriz, por serem meu porto seguro, por acreditarem em mim e fazerem sempre com que eu me sentisse capaz, quando eu já não mais achava que fosse. Por me apoiarem e sonharem junto comigo.

A agência CNPq, Processo Nº 13.4102/2017-7, pela concessão da bolsa de estudos que me permitiu realizar as atividades do mestrado em outra cidade.

Ao Laboratório de Química Analítica da ESALQ que me acolheu tão bem e me auxiliou a construir meu conhecimento e experiência em laboratório, em especial às técnicas do Laboratório, Lenita Pacheco, Janaina e Rita e ao grupo de pesquisa que participei, Marcos Brasil, Guilherme e Débora Grandino.

Aos amigos que fiz em Piracicaba, que pude chamar de segunda família, que compartilharam momentos que irão ficar registrados para sempre na minha vida. As meninas com quem tive o privilégio de morar junto, Clarissa, Isabela, Victória e Natália, obrigada por serem sempre tão atenciosas comigo, por todo o carinho, mesmo que mínimo de fazer um chá ou café nas noites em que passei em claro e pelo agradável convívio. Aos meus amigos que fiz no CENA, o chamado “grupo festa no ap”, Guilherme, Geovani, Débora e Lidiane por todo o apoio acadêmico, compartilhamento de conhecimentos, de risadas e de pão de queijo! Agradeço também minhas amigas confidentes e parceiras, Lucianne, Cecilia Beatriz, Letícia Slongo e Letícia Fritsche. Adoro vocês, e se tem algo que aprendi neste mestrado é que existem pessoas maravilhosas no mundo e sorte a minha foi ter encontrado com elas.

Agradeço também a professora Simone Lira, que me supervisionou no estágio PAE, por toda a orientação, compartilhamento de conhecimento, de experiência docente e também pela amizade.

Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares da USP pela esterilização dos solos com radiação gama, abrindo as portas para que eu pudesse aprender mais sobre a técnica.

Ao GAPE da ESALQ e ao Professor Rafael Otto, por ter concedido uma das casas de vegetação para que eu pudesse conduzir meus experimentos.

Agradeço ao Laboratório de Nanomateriais e Cerâmicas Avançadas (NaCA), IFSC-USP, ao Professor Renato Gonçalves e Higor Centurion, pela realização das análises no XPS.

*"A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu,  
mas pensar o que ninguém ainda pensou  
sobre aquilo que todo mundo vê."*

***Arthur Schopenhauer***



## RESUMO

MELLO, G. **Dinâmica da disponibilidade de Manganês no solo:** Influência das propriedades físicas, químicas e microbiológicas. 2019. 64 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2019.

Relatos de alterações da concentração de manganês disponível em amostras de solos com diferentes tempos de armazenamentos e discrepâncias de concentrações quando a amostras são submetidas a diferentes tratamentos de preparo da amostra, motivaram a investigação das causas desses efeitos. Para tanto, este trabalho teve por objetivo investigar a dinâmica de liberação de Mn biodisponível (Bio-Mn) no solo influenciada por fatores como concentração da matéria orgânica, temperatura, agentes oxidantes e atividade microbiológica. Avaliados por experimentos laboratoriais, de incubação e com plantas, e analisados por determinações elementares, de fracionamento químico e por técnicas espectroscópicas diversas. Os dados obtidos demonstram acréscimos à concentração de Bio-Mn de até 3 a 14 vezes quando amostras de solo foram expostas a secagem em estufas ou ambientes oxidantes. As amostras armazenadas por até 90 dias também tiveram elevação gradativa da forma disponível. Estudos de fracionamento demonstram que a secagem em estufas a 60°C elevaram as concentrações biodisponíveis e reduziram as concentrações das espécies de menor solubilidade, principalmente as frações óxido-hidróxidos e orgânicas. Experimentos combinando temperatura e agentes oxidantes (oxigênio atmosférico) fornecem evidências que as alterações nas concentrações de Bio-Mn foram provenientes de reações REDOX (redução) de espécies mais oxidadas, principalmente  $Mn^{4+}$  e  $Mn^{3+}$ . Não foi possível identificar as espécies químicas que são reduzidas durante o tratamento térmico, entretanto o produto da reação possui evidências de ser  $Mn^{2+}$ , o que pode ser comprovado através de bioensaios com plantas de soja.

Palavras-chave: Temperatura. Redox. Óxido-hidróxidos.



## ABSTRACT

MELLO, G. **Availability dynamics of soil manganese:** Influence of physical, chemical and microbiological properties. 2019. 64 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2019.

Reports of changes in manganese concentration in soil samples with different storage times and concentration discrepancies when the samples are submitted to different sample preparation treatments motivated the investigation of the causes of these effects. The objective of this work was to investigate the dynamics of the release of bio-available Mn (Bio-Mn) in soil influenced by factors such as organic matter concentration, temperature, oxidizing agents and microbiological activity. Samples were evaluated in laboratory, both by incubation and by plant experiments, and analyzed by elemental determinations, chemical fractionation and various spectroscopic techniques. The data obtained show increases in the concentration of Bio-Mn of up to 3 to 14 times when soil samples are oven-dried or exposed to oxidizing environments. Samples stored for up to 90 days also had their concentrations raised gradually. Fractionation studies demonstrate that oven-drying at 60°C increases the bioavailable concentrations and reduces the concentrations of lower solubility species, mainly the oxide-hydroxides and organic fractions. Experiments combining temperature and the presence of oxidizing agents (atmospheric oxygen) provide evidence that the changes in Bio-Mn concentration come from REDOX reactions (reduction) of more oxidized species, mainly Mn<sup>4+</sup> and Mn<sup>3+</sup>. It was not possible to identify the chemical species that are reduced during the heat treatment; nonetheless the product of the reaction has evidence of being Mn<sup>2+</sup>, which can be proven through bioassays with soybean plants.

Keywords: Temperature. Redox. Oxide-hydroxides.



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b>	
2.1	Espécies de Mn no solo .....	17
2.2	Reações Químicas de Mn no solo.....	19
2.2.1	Adsorção .....	19
2.2.2	Oxidação de redução de Mn em solos .....	20
2.2.3	Hidrólise de Mn no solo .....	21
2.2.4	Complexação de Mn no solo .....	22
2.2.5	Alterações de Mn em função do pH, umidade, temperatura e microbiota do solo.....	24
2.3	Métodos de análise de Mn no solo .....	26
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>30</b>
3.1	Coleta e propriedades das amostras de solo .....	30
3.2	Influência do método de secagem das amostras de solo na disponibilidade de Mn....	31
3.3	Correlação de Mn extraído do solo com Mn absorvido pela planta de soja.....	32
3.4	Influência do tempo de armazenamento das amostras de solo na disponibilidade de Mn	33
3.5	Influência da exposição das amostras de solo em atmosfera oxidante na disponibilidade de manganês .....	33
3.6	Fracionamento químico de Mn nas amostras de solo .....	33
3.7	Caracterização de óxidos de Mn pela técnica de espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X (XPS) .....	34

3.8	Avaliação da contribuição dos microrganismos na disponibilidade de Mn.....	35
3.8.1	Esterilização das amostras de solo .....	35
3.8.2	Incubação do solo esterilizado .....	35
3.8.3	Contagem de microrganismos.....	36
3.9	Delineamento estatístico .....	36
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	<b>37</b>
4.1	Influência do método de secagem das amostras de solo na disponibilidade de Mn. ....	37
4.2	Correlação de Mn extraído do solo com Mn absorvido pela planta de soja .....	40
4.3	Influência do tempo de armazenamento das amostras de solo na disponibilidade de Mn	45
4.4	Influência da exposição das amostras de solo em atmosfera oxidante na disponibilidade de manganês .....	47
4.5	Fracionamento químico de Mn nas amostras de solo .....	48
4.6	Caracterização de óxidos de Mn pela técnica de espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X (XPS).....	52
4.7	Avaliação da contribuição dos microrganismos na disponibilidade de Mn.....	55
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>59</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>60</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O manganês (Mn), é um elemento essencial para plantas e animais, encontra-se nos solos majoritariamente nas formas de  $\text{MnCO}_3$ ,  $\text{Mn(OH)}_2$ ,  $\text{MnO}_2$ ,  $\text{MnSiO}_3$ . No entanto, tais formas apresentam baixa solubilidade, haja vista que as formas mais disponíveis de manganês no solo são  $\text{Mn}^{2+}$  iônico e complexos orgânicos (LINDSAY, 1972). Cabe ressaltar que tais formas são espécies solúveis, que podem ser lixiviados ou absorvidos pelas plantas e entrar na cadeia alimentar (KRAUSKOPF, 1972; ROBINSON et al., 1998).

Os teores totais de Mn podem variar entre 100 a 3.000  $\text{mg kg}^{-1}$  (FUJIMOTO; SHERMAN, 1945) sendo que a fração disponível se encontra na faixa de 1 a 50  $\text{mg kg}^{-1}$  (FUJIMOTO; SHERMAN, 1945; MIYAZAWA et al., 1991). A disponibilidade de Mn é sensível às propriedades químicas, físicas dos solos e fatores edáficos (umidade, temperatura, aeração, pH, salinidade, matéria orgânica e outras) e seus valores mínimo e máximo podem variar em magnitudes de até 50 vezes.

Na determinação da disponibilidade de Mn do solo, os extratores mais utilizados são:  $\text{NH}_4\text{OAc}$  1,0 M pH 4,7 e 7,0;  $\text{CaCl}_2$  0,01 M; Mehlich 1 e 3, DTPA- TEA e outros (FUJIMOTO; SHERMAN, 1945; KHAN; SOLTANPOUR, 1978; MIYAZAWA et al., 1991; ROSOLÉM et al., 1992; MAKINO et al., 2000; CAMARGO, et al., 2009; EMBRAPA, 2011).

De acordo com o Método oficial de análise do solo do estado de São Paulo para fins de fertilidade (CAMARGO, et al., 2009), as amostras de solos são secas a 40 °C. Contudo, dados experimentais mostram que a exposição do solo a raios solares ou a temperaturas acima de 40 °C causa um aumento das concentrações do manganês biodisponível na solução do solo (PAGANINI; MANZINI; PICLAS, 2015), já visto em solos do Hawai (FUJIMOTO; SHERMAN, 1945), Tsukuba (MAKINO et al., 2000), Colorado (KHAN; SOLTANPOUR, 1978), Brasil (MIYAZAWA et al., 1991).

A reação mais conhecida para manganês nestas condições é a de oxidação-redução, no entanto, segundo o Diagrama de Energia Livre de Gibbs, Figura 1, quando se oferece energia para o manganês solúvel ( $\text{Mn}^{2+}$ ), o mesmo irá oxidar para  $\text{Mn}^{4+}$  na forma de  $\text{MnO}_2$ , de baixa solubilidade (MACKAY; MACKAY, 1974). Seguindo esta teoria, se fornecida energia para o

solo em forma de calor, as concentrações de Mn solúvel na solução do solo deveriam diminuir, porém, este comportamento não ocorre.

As reações redox dificultam a interpretação dos processos que acontecem quanto à disponibilidade de Mn no solo em relação ao fornecimento de energia térmica, seja no campo em tempos de veranico ou em análises de solo, pois não se sabe se a liberação ou adsorção do metal se deve pelas reações redox ou pela complexação e decomposição de ligantes orgânicos.

O objetivo do trabalho foi investigar a dinâmica de liberação de Mn biodisponível (Bio-Mn) no solo influenciada por fatores físicos, químicos e biológicos do solo.

Algumas hipóteses foram norteadoras dos experimentos propostos:

- Com o aquecimento do solo espera-se mostrar que a disponibilidade de Mn depende da temperatura do solo, resultando no aumento das concentrações de Mn disponível;
- A exposição das amostras de solo à condições de oxidação, espera-se uma elevação nos teores de Mn disponíveis devido à oxidação da matéria orgânica e de outros compostos oxidáveis do solo;
- Os processos citados anteriormente evidenciarão a desestabilização de compostos oxidáveis, provocando a liberação de metais para a solução do solo.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

O manganês é o 12º elemento mais abundante da crosta terrestre, pode se apresentar nos seguintes estados de oxidação:  $Mn^0$ , em seu estado fundamental na forma metálica,  $Mn^{2+}$ , na forma iônica hidratada, em sais de sulfato e cloreto ou na forma de carbonatos, óxidos e hidróxidos,  $Mn^{3+}$  também na forma iônica solúvel, porém este estado de oxidação é pouco estável no ambiente,  $Mn^{4+}$ , presente apenas em óxidos e hidróxidos insolúveis e por fim,  $Mn^{7+}$ , quando assume forma aniônica como íon permanganato  $MnO_4^-$ . Os estados de oxidação comumente encontrados na natureza são:  $Mn^{2+}$ ,  $Mn^{3+}$  e  $Mn^{4+}$  (MACKAY; MACKAY, 1974).

### 2.1 Espécies de Mn no solo

As formas de Mn no solo originalmente estão distribuídas em compostos de baixa solubilidade como óxidos, hidróxidos, carbonatos e silicatos do próprio elemento e também coprecipitado em óxidos de outros elementos, como Fe e Al. Nestes compostos, Mn se apresenta em três principais estados de oxidação:  $Mn^{2+}$ ,  $Mn^{3+}$  e  $Mn^{4+}$  que constituem majoritariamente minerais de coordenação octaédrica ligados à  $O^{2-}$ ,  $OH^-$  e  $H_2O$  (McKENZIE; GILKES, 1988).

A mineralogia de Mn ainda é um pouco complexa pela ampla variedade de seus minerais no solo, o que os difere são suas combinações e principalmente estruturas. Estes minerais tem em sua estrutura combinações de  $MnO_6$  (coordenação octaédrica), ligados a moléculas de água ou outros cátions e estão distribuídos em três classes: Tectomanganatos, cuja estrutura formada por estas ligações se assemelham a túneis ou canais, como por exemplo a Pirolusita,  $\beta MnO_2$  ( $Mn^{4+}$ ), os Phylломanganatos, o arranjo destes formam um conjunto de camadas, como: Birnessita,  $(Na, Ca, Mn^{2+}) Mn_7 O_4 \cdot 2,8 H_2O$  ( $Mn^{2+}$ ), Vernadita,  $MnO_2$  ( $Mn^{4+}$ ) e por último, Óxidos trivalentes, óxidos de simples estruturas como: Manganita,  $-MnOOH$  ( $Mn^{+3}$ ), Groutita,  $MnOOH$  ( $Mn^{+3}$ ) e Manganousita,  $MnO$  ( $Mn^{2+}$ ) (KÄMPF; SCHEINOST; SCHULZE, 2000).

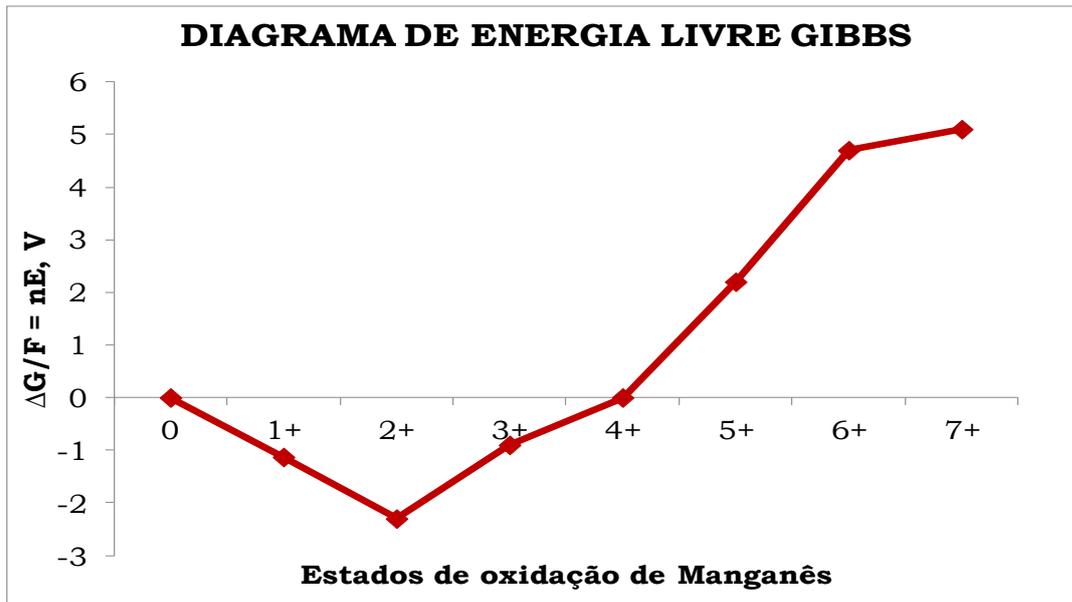
Além de ser o elemento principal de minerais, Mn também pode estar presente como elemento secundário ou coprecipitado com outros compostos, geralmente associado ao Fe, tanto em óxidos, como a Magnetita,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  e Ilmatita,  $\text{FeTiO}_3$ , quanto em silicatos de ferromagnésio como Olivina,  $(\text{Mg}, \text{Fe}^{2+})_2 \text{SiO}_4$  e Serpentina,  $(\text{Mg}, \text{Fe}^{2+})_3 \text{Si}_2\text{O}_5 (\text{OH})_2$ , com uma representatividade de 4000, 6000, 2000 e 500  $\text{mg kg}^{-1}$  respectivamente (WEDEPOHL, 1978).

A ocorrência destes minerais é o que determina as concentrações totais de Mn nos solos. Em solos derivados de rochas ígneas básicas como Basalto e Gabro, encontra-se uma alta concentração de Mn, pois são compostas por silicatos de ferromagnésio, enquanto que em solos derivados de rochas ígneas ácidas como Granito e Riolito as concentrações variam entre 200 e 1000  $\text{mg kg}^{-1}$  e em solos derivados de rochas sedimentares as concentrações costumam ser baixas (SMITH, 1990).

Contudo, a influência de Mn no ambiente não pode ser avaliada apenas pelos teores totais, mas sim pela fração solúvel (aquosa) e móvel presente no solo, chamada fração disponível, que pode ser lixiviada ou absorvida pelas plantas e entrar na cadeia alimentar. Das frações solúveis, se encontra o  $\text{Mn}^{2+}$  aquoso, que pode se apresentar na forma livre na solução do solo ou complexado com compostos orgânicos (ALLOWAY, 1995).

Segundo o diagrama de Energia Livre de Gibbs, (Figura 1), dos estados de oxidação de Mn, o mais estável é o estado II, ou seja, a conversão dos estados 0, III, IV e VII para o estado II ocorre com maior facilidade, como reação espontânea (MACKAY; MACKAY, 1974).

Figura 1- Diagrama de Energia Livre de Gibbs



Adaptado de Mackay e Mackay (1974)

## 2.2 Reações Químicas de Mn no solo

### 2.2.1 Adsorção

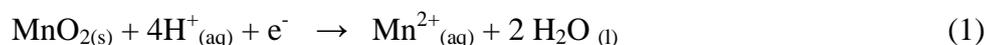
Quando se diz que um elemento está adsorvido no solo, significa que ele está depositado na superfície de uma partícula, seja por uma atração de cargas elétricas (adsorção eletrovalente ou iônica) ou compartilhamento de elétrons (adsorção covalente) (INGLEZAKIS; POULOPOULOS, 2006). Por estar predominantemente na forma catiônica, a adsorção de Mn ocorre em partículas cuja superfície possui cargas negativas, podendo ser colóides inorgânicos (superfícies das argilas) ou orgânicos (matéria orgânica do solo).

A adsorção de Mn varia de acordo com as características de cada solo, começando pela constituição mineralógica. Solos argilosos costumam adsorver mais deste elemento, pois as argilas possuem maior área superficial e conseqüentemente mais sítios adsorventes, o tipo de argila também influencia a adsorção, argila do tipo 2:1 é formada por duas camadas de tetraedro de Si e octaedro de Al, já argilas do tipo 1:1 se constitui de apenas uma camada de octaedro de Al, contendo menos sítios de adsorção, ou seja, em solos que possuem maior concentração de argilas do tipo 2:1 haverá maior adsorção de Mn (SOBRINHO; BARRA; LÃ, 2009).

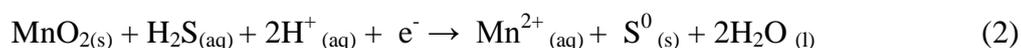
Outro fator determinante na adsorção de metais é o teor de matéria orgânica do solo (MOS), uma vez que os coloides orgânicos também possuem sítios adsorptivos, desde os modelos consolidados, como o proposto por Schulten e Schnitzer (1993), que se refere a macromoléculas derivadas da decomposição de materiais animais e vegetais, de alta estabilidade e recalcitrantes. Essas moléculas são formadas por uma junção de grupos fenólicos e carboxílicos, grupos estes que podem apresentar cargas negativas em sua superfície dependendo de seu PCZ, onde elementos como Mn, Zn, Fe, Co e outros podem estar adsorvidos. Até em modelos contemporâneos como o proposto por Simpson (2003), o qual defende que as substâncias húmicas são um conjunto de componentes de baixo peso molecular, formando associações dinâmicas estabilizadas por interações hidrofóbicas e pontes de hidrogênio.

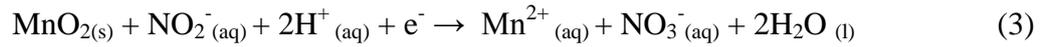
### 2.2.2 Oxidação e redução de Mn em solos

Por ter sete estados de oxidação, algo que caracteriza a química do Mn nos solos são as reações de oxidação e redução, que acabam sendo complexas pelas diversas formas que este elemento pode assumir. Essas reações ocorrem em solos aerados e inundados, podendo ser catalisadas por microorganismos ou reações inorgânicas. A redução biótica de Mn acontece em condições anaeróbicas (solo inundado), pela respiração anaeróbica de bactérias, levando à redução de  $\text{MnO}_2$  insolúvel para  $\text{Mn}^{2+}$  solúvel, aumentando sua disponibilidade no solo, conforme ilustra a (Equação 1) (PONNAMPERUMA, 1972).



A redução de Mn também pode se dar por reações abióticas. Em solos ácidos, sulfitos utilizam óxidos de Mn insolúveis como depósito de elétrons quando oxidam a enxofre elementar (Equação 2). O mesmo ocorre com nitritos, também em solos ácidos, quando são oxidados à nitratos (Equação 3), reduzindo  $\text{MnO}_2$  à  $\text{Mn}^{2+}$  solúvel, também aumentando sua disponibilidade no solo (REDDY; DELAUNE, 2008).





Em contrapartida, na drenagem de solos alagados, o  $\text{Mn}^{2+}$  em contato com  $\text{O}_2$  atmosférico pode ser oxidado à  $\text{MnO}_2$  (Equação 4) (ALLOWAY, 1995).



### 2.2.3 Hidrólise de Mn no solo

Segundo Lindsay (1972), as reações de hidrólise de Mn são dependentes do pH e condições óxidas e anóxicas em que o meio assume. Para que um hidróxido de Mn se forme, um íon  $\text{Mn}^{2+}$  precisa se ligar a uma ou mais moléculas de água, porém podem existir várias combinações destes elementos, como pode ser observado nas Equações 5, 6, 7 e 8. O que define a estrutura do hidróxido é o pH de estabilidade, como ilustra a Figura 2.

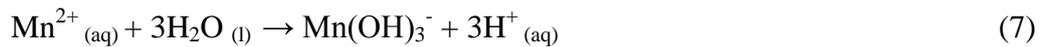
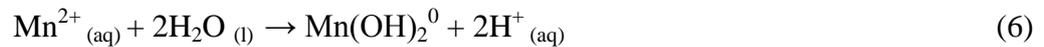
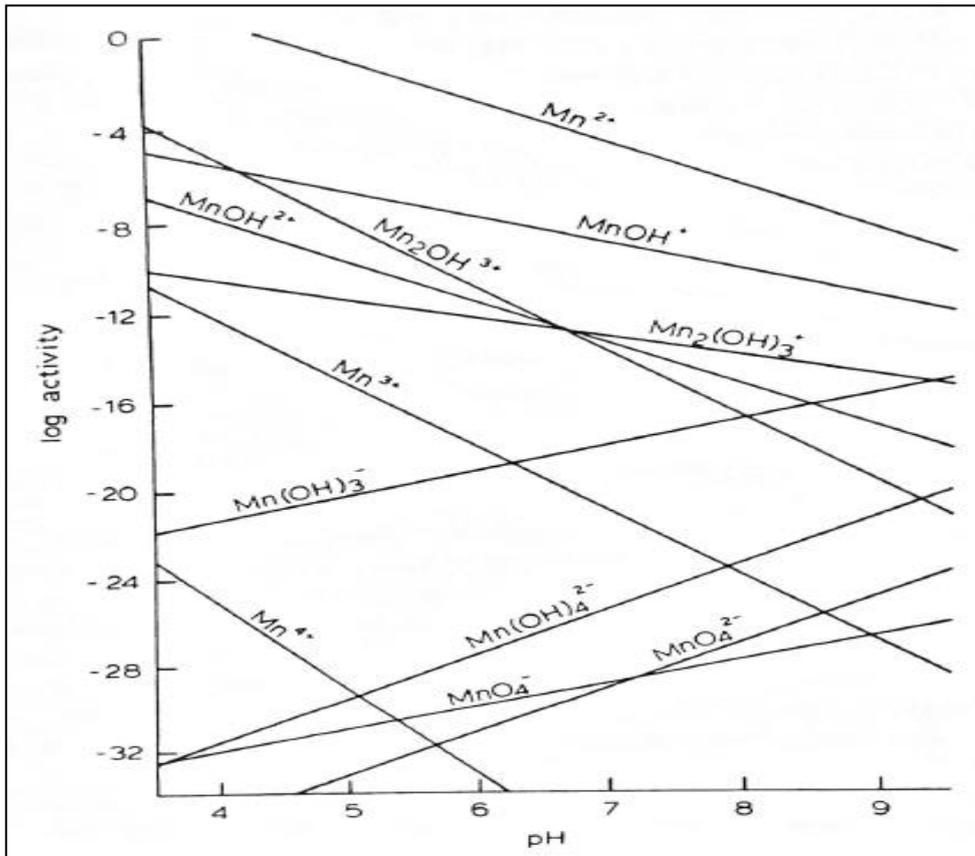


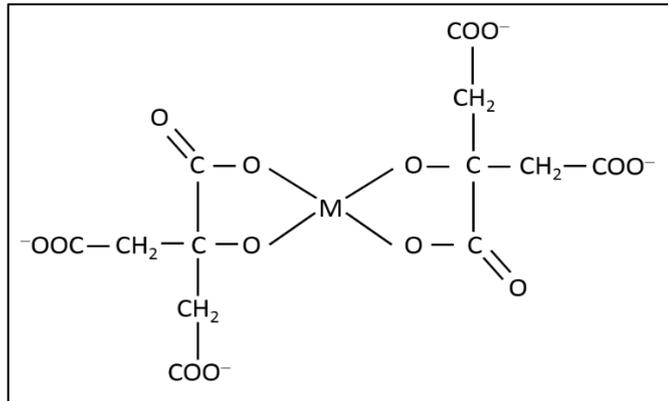
Figura 2 – Atividade de espécies de Mn em equilíbrio, em função do pH. Fonte: Lindsay (1972)



#### 2.2.4 Complexação de Mn no solo

Por ser um cátion divalente, uma vez na solução do solo o Mn pode formar complexos organometálicos com ligantes orgânicos de baixo peso molecular, cujos sítios de ligação se constituem basicamente de grupos carboxílicos, como por exemplo, citratos que possuem grupos carboxílicos em sua estrutura. Uma vez desprotonados podem se ligar covalentemente ao Mn e outros elementos, como pode ser observado na Figura 3 (STEVENSON, 1994)

Figura 3 – Representação de um complexo organometálico formado por uma molécula de citrato



Fonte: Adaptado de Stevenson (1994)

A formação de complexos organometálicos depende das condições que propiciam maior estabilidade ao composto, que variam com o cátion metálico e o ligante orgânico. Estudos realizados por Bloom (1981) mostraram uma provável preferência de complexação de ácidos húmicos com cátions divalentes e então propuseram a seguinte série de estabilidade:  $\text{Cu} > \text{Pb} > \text{Fe} > \text{Ni} = \text{Co} = \text{Zn} > \text{Mn} = \text{Ca}$ . Um indicativo de formação de um complexo é sua própria constante de estabilidade, representado por pK. Dentre os exemplos demonstrados na Tabela 1, pode-se afirmar que o complexo de maior ocorrência é o quelato de Mn-EDTA, pois apresenta maior constante de estabilidade e o de menor ocorrência o complexo de Mn com acetato ( $\text{MnOAc}^-$ ), pois apresenta menor constante de estabilidade.

Tabela 1 – Constante de formação de complexos organometálicos com Mn

Ligante	pK
Acetato	1,2
Malonato	3,29
Oxalato	3,89
EDTA	13,47

Fonte: Adaptado de Yatsimirskii e Vasil'ev (1960)

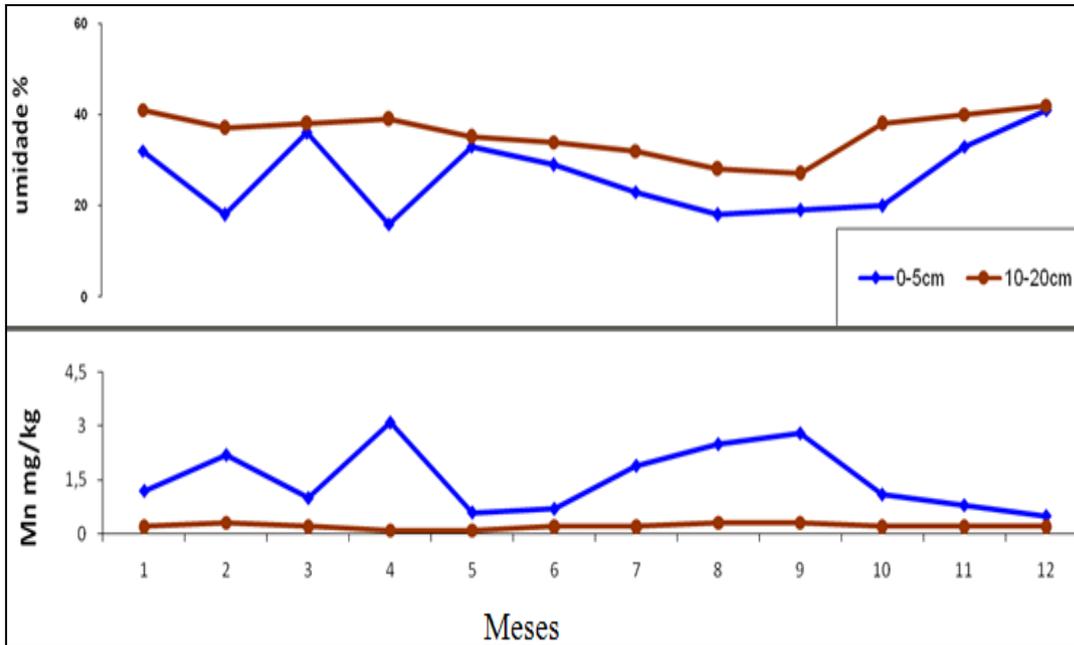
### 2.2.5 Alterações de Mn em função do pH, umidade, temperatura e microbiota do solo

Como já visto anteriormente na Figura 2, o pH da solução do solo influencia diretamente a formação de óxidos e hidróxidos de Mn. Em cada unidade de pH há espécies que se formam preferencialmente. Segundo Malavolta (1997) e Alloway (1995), a solubilidade de Mn diminui com o aumento do pH do solo, por haver justamente a formação de hidróxidos insolúveis de Mn, como apresentado na (Equação 9). A aplicação de calagem nos solos também influencia a solubilidade de Mn. Estudos apontam que com o aumento das doses de  $\text{CaCO}_3$  no solo foi observada diminuição significativa das concentrações de  $\text{Mn}^{2+}$  nos solos pela formação de carbonatos insolúveis (Equação 10) e pela elevação do pH (ALLOWAY, 1995).



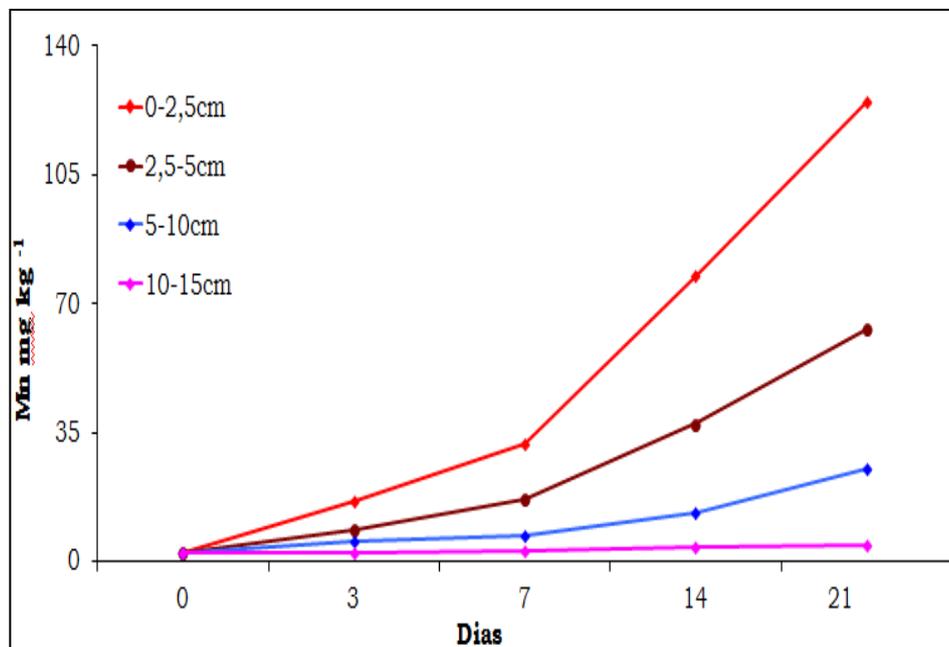
Outro fator que afeta a disponibilidade de Mn nos solos é a umidade. Como mostra a Figura 4, a umidade é inversamente proporcional à concentração de Mn solúvel na solução do solo. Este efeito é mais pronunciado nas camadas superficiais, onde há também maior exposição à radiação solar e à temperaturas mais elevadas. Efeito semelhante pode ser observado na Figura 5, que apresenta o comportamento de Mn em função dos dias em que o solo foi exposto à radiação solar, sendo que concentrações mais elevadas foram observadas nas camadas superficiais, onde ocorre maior incidência de radiação solar.

Figura 4 – Influência da umidade nas concentrações de Mn ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) de camadas superficiais e subsuperficiais de um Latossolo Vermelho (Reprodução autorizada pelos autores)



Fonte: Adaptado de Miyazawa e Pavan (1984)

Figura 5 – Efeito do tempo de exposição de radiação solar no solo, sobre a disponibilidade de Mn (Reprodução autorizada pelos autores)



Fonte: Adaptado de Miyazawa e Pavan (1984)

Comportamento semelhante foi encontrado em solos do Hawai (FUJIMOTO; SHERMAN, 1945), Japão (MAKINO et al., 2000) Colorado (KHAN; SOLTANPOUR, 1978), Brasil (MIYAZAWA et al., 1991).

Isso se deve à liberação de  $Mn^{2+}$  de ligantes orgânicos de baixo peso molecular, produzidos por microrganismos que entraram em decomposição pela exposição à dada temperatura. Como proposto por Miyazawa, Pavan e Martin Neto (1993) na Equação 11.



Onde, L são ligantes orgânicos. Se o equilíbrio se desloca para a direita, houve tratamentos físicos e químicos no solo liberando o metal, os quais afetam a atividade microbiana (MIYAZAWA; PAVAN; MARTIN NETO, 1993).

Além de ligantes orgânicos, os microrganismos do solo produzem como exudatos: mucilagens ou gomas, constituídas por carboidratos, como polisacarídeos (VEZZANI; MIELNICZUK, 2011). Estes polissacarídeos são liberados geralmente na forma de fibrilas, que em contato com a superfície dos minerais agem como um aglutinante entre o mineral e a célula (OADES, 1989) auxiliando na estabilização de agregados, ligando aos metais.

Vistas as diversas espécies e formas que Mn pode assumir em função das reações químicas ocorrentes no solo, pode-se afirmar que a biodisponibilidade de Mn para as plantas depende da mineralogia, matéria orgânica, pH, reações de oxidação-redução, umidade e temperatura do solo.

### 2.3. Métodos de análise de Mn no solo

A escolha do método de análise química para determinado analito está intimamente relacionada com as respostas analíticas que se pretende obter, que uma vez bem estabelecidas se faz o uso de estratégias analíticas que possam chegar a tal informação. O primeiro passo para se traçar uma estratégia é designar a espécie química do analito e a técnica analítica que pode ser empregada para sua determinação. As técnicas podem ser em análise direta em sólidos *in situ*, onde a determinação do analito é feita diretamente no local de amostragem. Em casos que esta análise não se aplica, se faz necessária uma série de etapas envolvendo procedimentos de amostragem em campo, preparo de amostras em laboratório, preparo de

extratos das amostras e por fim, a determinação dos elementos de interesse por outras técnicas analíticas (KRUG; NÓBREGA, 2008).

No Método oficial da análise do solo para fins de fertilidade, as amostras que chegam do campo para o laboratório, nomeadas pela IUPAC como “amostras de laboratório” ou “sub-amostra” (HORWITZ, 1990) são secas, peneiradas e homogeneizadas. O que se recomenda é que estas amostras sejam secas a sombra em temperatura ambiente, garantindo a integridade e as propriedades químicas do solo, porém é permitido que a temperatura de secagem seja de até 40 °C, também sabe-se que muitos laboratórios elevam ainda mais estas temperaturas para agilizar o processo da análise. Após o processo de secagem, as amostras são destorroadas e peneiradas em malha de 2,0 mm, a fração menor, denominada TFSA, é a fração utilizada para as próximas etapas de tratamento de amostras, amostra teste (CAMARGO, et al., 2009).

Uma vez a amostra teste preparada, uma alíquota é retirada para fazer os pré-tratamentos, que consiste na conversão adequada da amostra de tal forma que a espécie química de interesse possa ser determinada (KRUG; NÓBREGA, 2008). Como já visto anteriormente, existem várias espécies de Mn no solo, o qual pode estar prontamente disponível para as plantas na solução do solo como íon  $Mn^{2+}$ , adsorvido nas superfícies de coloides orgânicos e inorgânicos, presente em complexos organometálicos. Pode ainda estar também na forma de compostos de baixa solubilidade como carbonatos, óxidos, hidróxidos e silicatos. Com base na solubilidade destes compostos, para cada fração de Mn que se deseja determinar há um tratamento diferenciado no preparo dos extratos analíticos.

Para determinação de Mn total e pseudo total, se faz necessária a abertura das amostras de solo por ácidos sob aquecimento, por solubilizarem os compostos mais estáveis de Mn como óxidos e hidróxidos. As características dos ácidos utilizados nestas digestões são de natureza oxidativa como  $HNO_3$ ,  $HClO_4$  e  $H_2SO_4$ , de protonação como  $HCl$  ou de alta afinidade com silicatos, como  $HF$ . As combinações de ácidos variam de acordo com o método. O ataque triácido, por exemplo, consiste na combinação de  $HF$ ,  $HNO_3$  e  $HClO_4$ , a digestão por Água Régia faz uso de  $HNO_3$  e  $HCl$ . Na digestão nitricoperclórica utiliza-se  $HNO_3$ ,  $HClO_4$  e na digestão sulfúrica o  $H_2SO_4$  é o único ácido empregado. A digestão de amostras de solo é feita em sistemas abertos em blocos digestores e sistemas fechados, conhecida por digestão assistida por forno de micro-ondas (FLORES et al., 2010).

Informações mais detalhadas sobre as formas de elementos no solo, como sua disponibilidade e mobilidade, podem ser obtidas por extrações sequenciais, usualmente chamadas de fracionamento químico. Estas extrações se fundamentam basicamente na solubilidade e/ou decomposição de compostos que envolvem elementos no solo em extratores que variam de soluções salinas neutras até ácidos orgânicos sob aquecimento (SHUMAN, 1985). Fracionamentos propostos por Tessier, Campbell e Bisson (1979), Rauret (1999) e Nogueirol et al. (2010), fazem uso de extratores de troca iônica como soluções salinas neutras e ácidos orgânicos diluídos:  $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ,  $\text{MgCl}_2$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  e  $\text{HOAc}$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  para extrair elementos da fração trocável, soluções salinas ácidas:  $\text{NaOAc}$   $1 \text{ mol L}^{-1}$  pH 5,0 de frações carbonatadas, empregam agentes oxidantes como:  $\text{NaOCl}$  5% e solução de  $\text{HNO}_3$   $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  +  $\text{H}_2\text{O}_2$  30% +  $\text{NH}_4\text{OAc}$   $3,2 \text{ mol L}^{-1}$  com o intuito de oxidar a matéria orgânica havendo liberação de Mn. Para solubilizar as frações de óxidos e hidróxidos são utilizados ácidos sob aquecimento como, por exemplo, soluções de oxalato de amônio  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  + ácido oxálico  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  + ácido ascórbico  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  pH 3 e  $\text{NH}_2\text{O} \cdot \text{HCl}$   $0, \text{ mol L}^{-1}$  em  $\text{NaOAc}$  25%.

As frações de interesse agrônômico em análises para fins de fertilidade do solo são as biodisponíveis. Atualmente existe uma variedade de métodos de extração desta forma de Mn no solo que utilizam diferentes mecanismos de extração, divididos em três principais grupos de extratores: os de troca iônica, como o próprio nome sugere, são aqueles cujos cátions de sua constituição ocupam sítios de adsorção onde Mn pode estar fracamente adsorvido, deslocando Mn e outros cátions para a solução do meio. Resina catiônica e soluções salinas ( $\text{NH}_4\text{OAc}$  e  $\text{CaCl}_2$ ) são exemplos deste grupo (FUJIMOTO; SHERMAN, 1945; MIYAZAWA et al., 1991; MAKINO et al., 2000; ABREU et al., 2004). Os extratores complexantes (EDTA e DTPA-TEA) quelatam metais de complexos organometálicos no solo, pois as constantes de estabilidade dos quelatos formados por EDTA com estes elementos são maiores que as constantes de complexos organometálicos (LINDSAY; NORWELL, 1978). Por último mas não menos importante, os extratores ácidos que protonam coloides liberando Mn dos sítios de adsorção, como por exemplo, Melich- 3 (MEHLICH, 1984).

Após a realização do pré-preparo das amostras de solo, são realizadas as determinações de Mn nestes extratos. As técnicas mais usuais para este fim são as espectroscópicas como a espectroscopia de absorção atômica (FAAS) e a espectroscopia de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICPOES). Contudo, por serem técnicas

de atomização dos elementos, realiza as determinações de Mn total do extrato (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2002).

Uma das técnicas utilizadas para especiação de Mn em superfícies sólidas é a técnica de espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X, XPS (X-ray Photoelectron Spectroscopy) (CERRATO, et al. 2010). Segundo Borges (2015), consiste na emissão de fótons monocromáticos de raios-X sobre a superfície da amostra. Os elementos presentes na área irradiada que absorverem tal energia ionizam e ejetam elétrons, os fotoelétrons, através de energia cinética, como mostra a (Equação 12), sugerido por Einstein (1905).

$$E_c = hv - E_L - \phi \quad (12)$$

Uma vez detectada a energia cinética  $E_c$ , utiliza-se a equação para calcular a energia de ligação do elemento  $E_L$  em função da energia incidida na amostra  $hv$  e o trabalho que os fotoelétrons utilizam para serem emitidos  $\phi$ . Sendo possível determinar o estado de oxidação de Mn através de padrões de óxidos e hidróxidos deste elemento, as regiões de detecção podem ser 2p 3s e 3p, sendo a primeira mais utilizada por apresentar sinal mais intenso (CERRATO, et al. 2010).

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Coleta e características das amostras de solo

Amostras de três solos da região de Piracicaba/ SP foram selecionadas a partir do seu material de origem, todas derivadas de rochas ígneas básicas de basalto, pois apresentam altas concentrações de Mn em sua constituição, requisito fundamental para melhor visualização das alterações de Mn em função dos fatores que alteram sua disponibilidade. O Nitossolo Vermelho distroférico (NVef), o Nitossolo Vermelho (NV) e o Latossolo Vermelho eutroférico (LVef) foram coletados das camadas superficiais (0 a 10 cm de profundidade) e subsuperficiais (30 a 50 cm de profundidade).

Após a coleta, as amostras foram secas à sombra, destorroadas, peneiradas em malha de 2,0 mm de abertura e mantidas à umidade capacidade de campo. Análises para fins de caracterização dos solos foram realizadas, como mostra a Tabela 2. O teor de C- org foi determinado pelo método de Wakley e Black (NELSON; SOMMERS, 1996) e as concentrações pseudo- totais de Mn, Fe e Zn foram obtidos pelo método EPA 3051a (USEPA, 2007). Que consiste na digestão assistida por forno de micro-ondas modelo Ethos One (Milestone). Para a digestão, foram transferidos 0,5 g de amostra, 10 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado, 2 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em frascos fechados. O sistema de aquecimento da digestão consistiu em uma rampa de 5,5 minutos até alcançar a temperatura de 175 °C e mantida em patamar de 4,5 minutos. As concentrações de Mn, Fe e Zn dos extratos foram determinadas por, FAAS (AAAnalyst 240FS da VARIAN).

Tabela 2 – Principais propriedades dos solos em estudo

Amostra	Argila	Silte	Areia	C- org	pH	Mn	Fe	Zn
		g kg <sup>-1</sup>			KCl	mg kg <sup>-1</sup>		
NVef 0- 10 cm	423	242	335	23	5,9	1251	48100	46
NVef 30- 50 cm	558	220	221	8	5,9	1119	61600	42
NV 0- 10 cm	419	244	337	29	5,3	373	56700	66
NV 30- 50 cm	445	294	261	17	4,6	523	77800	74
LVdf 0- 10 cm	471	248	282	44	5,0	397	83800	39
LVdf 30- 50 cm	519	209	272	28	4,5	493	93000	36

Fonte: Próprio autor

### 3.2 Influência do método de secagem das amostras de solo, na disponibilidade de Mn

As amostras contendo 100 g de solo com umidade à capacidade de campo foram submetidas a seis processos de secagem: secas à sombra, 60 e 120 °C em estufa com circulação de ar (MA 0135 da Marconi), Liofilização, técnica de secagem por sublimação, utilizando liofilizador (L108 da LIOROP) e secagem a vácuo com o equipamento Speed Vac à 25 e 40 °C (SC210A, SAVANT).

O Mn biodisponível (Bio- Mn) foi determinado pelo método Oficial da Análise do Solo para Fins de Fertilidade, adaptado. Após a secagem das amostras, foram pesados em tubo falcon de 50 mL, 1,5 gramas de solo e pipetados 15 mL de soluções de NH<sub>4</sub>OAc 1,0 mol L<sup>-1</sup> pH 4,7 e DTPA-TEA 0,1 mol L<sup>-1</sup> pH 7,3 separadamente. As amostras foram agitadas em 150 rpm em mesa agitadora orbital (BT 645T da BIOTECH ), centrifugadas em 3000 rpm em centrífuga (ExcelSA da FANEM) e filtradas em papel filtro quantitativo faixa azul filtração lenta (MN 640 d da Carvalhaes), a determinação de Mn foi realizada por espectrometria de absorção atômica em chama, FAAS (243,2 nm) (AAnalyst 240FS da VARIAN).

### 3.3 Correlação de Mn extraído do solo com Mn absorvido pela planta de soja

Os teores de um elemento presente em um extrato são teoricamente biodisponíveis quando apresentam correlação direta com as quantidades absorvidas pela planta (ROSOLEM, 1992). Para a confirmação que os teores de Mn extraíveis por  $\text{NH}_4\text{OAc}$   $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  pH 4,7 são biodisponíveis foi utilizada a planta de soja, (*Glycine Max*), como planta teste (indicadora).

Visto em experimentos anteriores que os teores de matéria orgânica do solo estão relacionados com o aumento da disponibilidade de Mn em função do aumento da temperatura do solo, o ensaio foi balizado avaliando dois fatores: matéria orgânica e temperatura de secagem do solo.

Para esta análise, se utilizou as três amostras de solo, NVef, NV e LVef, porém apenas das camadas superficiais e como indicativo de matéria orgânica, foi utilizado um composto organomineral, BIOSOJA. Foram aplicados em 0,5 kg de solo doses de: 0 (tratamento controle) e 2% do composto organomineral. As amostras foram mantidas em capacidade de campo por 20 dias.

O experimento foi realizado em duplicata, em vasos contendo 500 g de solo, previamente secos à: sombra, 60 e 105 °C em estufa (MA 0135 da Marconi), nos quais foram inseridas quinze sementes de soja, cultivar M711OIPRO (10410/18) 80% de germinação, pré-germinadas com 2 a 5 mm de raiz e cultivadas por um período de dez dias em casa de vegetação do GAPE da ESALQ/ USP, Piracicaba/SP.

Após o cultivo foi coletada a parte aérea das plantas de soja e pesadas. Em seguida, foram lavadas com água ultrapura e secas a 100 °C e pesadas novamente. Após secagem, foram moídas, maceradas e realizadas então as digestões assistidas por forno de micro-ondas modelo Ethos One (Milestone). Para a digestão, foram transferidos 0,5 g de amostra, 3 mL de  $\text{HNO}_3$  concentrado, 2 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e 3 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  em frascos fechados. O sistema de aquecimento da digestão consistiu em uma rampa de 20 minutos até alcançar a temperatura de 200 °C e mantida por 20 minutos em patamar. As concentrações de Mn dos extratos foram determinadas por, FAAS (243,2 nm) (AAAnalyst 240FS da VARIAN).

### **3.4 Influência do tempo de armazenamento das amostras de solo, na disponibilidade de Mn**

Cerca de 100 g das amostras de solos dispostos em frascos de vidro foram secas até massa constante, à: sombra, 60 °C e 105 °C em estufa (MA 0135 da Marconi). Após secagem, as amostras foram armazenadas em caixas de papelão que são comumente utilizadas em laboratórios de análises químicas de rotina e os teores de Bio-Mn foram determinados aos: 5, 30 e 90 dias.

Para a realização das determinações de Mn disponíveis na solução do solo, foram pesados em tubo falcon de 50 mL, 1,5 gramas de solo e pipetados 15 mL de solução de NH<sub>4</sub>OAc 1,0 mol L<sup>-1</sup> pH 4,7. As amostras foram agitadas em 150 rpm em mesa agitadora orbital (BT 645T da BIOTECH ), centrifugadas em 3000 rpm em centrífuga (ExcelSA da FANEM) e filtradas em papel filtro quantitativo faixa azul filtração lenta (MN 640 d da Carvalhaes), a determinação de Mn foi realizada por espectrometria de absorção atômica em chama, FAAS (243,2 nm) (AAAnalyst 240FS da VARIAN).

### **3.5 Influência da exposição das amostras de solo em atmosfera oxidante, na disponibilidade de Mn**

Haja vista que a disponibilidade de Mn pode ter influência de reações redox no solo, as amostras de solo, com umidade à capacidade de campo, foram expostas por 48 horas: a) A sombra; b) A uma atmosfera oxidante envolvendo uma lâmpada germicida (que emite radiação UV) dentro da câmara fechada. A seguir foi determinado as concentrações de Bio-Mn pelo mesmo procedimento descrito no item 3.2.

### **3.6 Fracionamento químico de Mn nas amostras de solo**

O método proposto de fracionamento químico de Mn no solo, descrito na Tabela 3, foi embasado nas extrações sequenciais de Tessier, Campbell e Bisson (1979), Rauret (1999) e Nogueirol et al. (2010). Os extratos foram preparados a partir de 1,5 g das amostras de solo,

com extração sequencial. A cada extração foi retirado o sobrenadante e realizada a determinação de Mn por FAAS (243,2 nm) (AAAnalyst 240FS da VARIAN).

Tabela 3- Frações, soluções e condições aplicadas a extração sequencial

Frações	Reagentes	Condições
1. Solúvel ou fracamente trocável.	15 mL de KCl 1,0 mol L <sup>-1</sup>	1h em 150 rpm 25 °C
2. Solúvel em meio levemente acidificado	15 mL de NH <sub>4</sub> OAc 1,0 mol L <sup>-1</sup> pH 4,7	1h em 150 rpm 25 °C
3. Extraíveis por agentes complexantes	15 mL de EDTA 0,1 mol L <sup>-1</sup>	1h em 150 rpm 25 °C
4. Ligado às frações oxidáveis e organometálicos	15 mL de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 30%	2h min à 90 °C
5. Na forma de óxidos cristalinos	oxalato de amônio 0,2 mol L <sup>-1</sup> + ácido oxálico 0,2 mol L <sup>-1</sup> + ácido ascórbico 0,1 mol L <sup>-1</sup> pH 3	30 min, à 90 °C, no escuro

### 3.7 Caracterização de óxidos de Mn pela técnica de espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X (XPS)

Para caracterização dos óxidos de Mn nas amostras de solo foi utilizada a técnica de XPS. As análises foram realizadas no Instituto de Física de São Carlos/ USP. Por ser uma técnica capaz de medir as energias de ligação específica dos elementos, os espectros obtidos da intensidade em função da energia de ligação geram informações quantitativas sobre concentrações e estados de oxidação dos elementos, de aproximadamente 4 nm, das amostras.

A análise por XPS foi realizada pelo espectrômetro ScientaOmicron, equipado com raios monocromáticos de AlK $\alpha$ - X, à temperatura ambiente, para obtenção dos espectros. Foi aplicada uma energia de 50 eV para os espectros de varredura e de alta resolução. A análise e interpretação dos espectros foram obtidos pelo software CasaXPS (Casa Software Ltd., UK) (RODRIGUES et al., 2019).

### **3.8 Avaliação da contribuição dos microrganismos na disponibilidade de Mn**

#### **3.8.1 Esterilização das amostras de solo**

As amostras foram esterilizadas por radiação gama em um irradiador multipropósito de Cobalto 60 localizado no Instituto de Pesquisas Energéticas Nucleares. As amostras de solo foram secadas à sombra, homogeneizadas e devidamente seladas para minimizar o risco de contaminação microbiológica. As doses recomendadas para esterilização de amostras de solo foram de 50 KGy por um período de 6 horas.

#### **3.8.2 Incubação de Solo Esterilizado**

Cerca de 100 g das amostras de solos esterilizados foi incubado durante 120 dias. Os tratamentos foram: a) solo continuamente seco; b) água destilada e autoclavada; c) extrato de solo da mata<sup>1</sup>, e mantido umidade à capacidade de campo. O Bio-Mn do solo foi determinado nos intervalos de tempo de: 5; 30; 45 e 60 dias.

As determinações de Mn disponíveis na solução do solo, foram realizadas pesando em tubo falcon de 50 mL, 1,5 gramas de solo e transferidos 15 mL de solução de NH<sub>4</sub>OAc 1,0 mol L<sup>-1</sup> pH 4,7. As amostras foram agitadas em 150 rpm em mesa agitadora orbital (BT 645T da BIOTECH), centrifugadas em 3000 rpm em centrífuga (ExcelSA da FANEM) e filtradas em papel filtro quantitativo faixa azul filtração lenta (MN 640 d da Carvalhaes), a determinação de Mn foi realizada por espectrometria de absorção atômica em chama, FAAS (243,2 nm) (AAAnalyst 240FS da VARIAN).

#### **3.8.3 Contagem de microrganismos.**

Para a avaliação do número de unidades formadoras de colônia (UFC) de microrganismos foram empregados, para bactérias, o meio de cultura Ágar Nutriente: 1.000 mL água, 10 g ágar, 3 g extrato de carne, 10 g NaCl, 5 g peptona (Burnett et al., 1957). Para

---

<sup>1</sup> Extrato de solo preparado com a mistura de 1,0 kg de solo da camada de 0 a 10 cm da mata, com 5 L de água destilada, homogeneizada, decantada por uma noite e filtrada.

determinação de fungos foi utilizado o Meio de Martin : 1.000 mL água, 10 g ágar, 1 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 1 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 5 g peptona, 10 g dextrose, 0,03 g estreptomicina.

As diluições seriadas foram preparadas a partir de uma suspensão de 1,0 g de solo e 9,0 mL de solução salina de NaCl a 0,85%, obtendo-se subsequentemente diluições de  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  e  $10^{-5}$ . O plaqueamento foi realizado pelo método “spread plate”, foram adicionados 100  $\mu\text{L}$  das diluições de  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  e  $10^{-5}$  em placas de Petri.

As placas inoculadas foram incubadas em estufa D.B.O. (demanda bioquímica de oxigênio), a 28 °C por um período de 24 h e realizadas então a contagem de UFC's ali desenvolvidas.

### **3.9 Delineamento estatístico**

Todos os procedimentos estatísticos descritos e executado no presente estudo foram desenvolvidos com o auxílio do software R studio (versão 3.4.2, 2017). A variável dependente central testada foi a concentração de manganês e as diversas variáveis independentes foram utilizadas como efeitos fixo do modelo. Adicionalmente o solo e a parte aérea da planta de soja foram considerados unidades experimentais e foram testados como variáveis aleatórias, permitindo a caracterização do erro inerente ao modelo utilizado.

Os resultados apresentados foram descritos na forma de média obtidas pelo estudo, entretanto a estatística descrita a seguir foi desenvolvida a partir da transformação dos dados por meio de logaritmo neperiano, permitindo assim a normalidade destes. Após transformação, outliers e valores influentes foram checados por meio do resíduo estudentizado externalizado e foram excluídos do banco de dados quando excediam o intervalo entre -3 e 3. Os modelos testados para a análise de variância foram descritos conforme a necessidade do teste considerando os efeitos principais e suas interações. As médias foram comparadas pelo teste de Duncan e Tukey, sendo o segundo apresentado no presente estudo. Tanto para a análise de variância como para comparação de médias a significância adotada foi de 5% ( $P < 0.05$ ).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1 Influência do método de secagem das amostras de solo, na disponibilidade de Mn

As concentrações de Mn diferiram entre si quando os solos foram submetidos aos métodos de secagem, como ilustrado na Figura 6. Na extração com  $\text{NH}_4\text{OAc}$  pH 4,7 foi possível observar um incremento de até 3 vezes nas concentrações de Mn quando os solos foram submetidos as temperaturas de secagem à 60 °C e até 14 vezes quando submetidos à 120 °C, sendo as maiores diferenças foram observadas no solo LVef. Para os métodos de liofilização e secagem a vácuo não houve diferença significativa nas concentrações de Mn em relação à secagem à sombra.

Na extração com DTPA-TEA as concentrações de Mn dos três solos também diferiram com o método de secagem das amostras, porém, as diferenças são menores se comparado ao Mn extraído por  $\text{NH}_4\text{OAc}$  pH 4,7. Os incrementos foram de até duas vezes nas concentrações de Mn quando os solos NV e LVef foram submetidos as temperaturas de secagem à 120°C, já para o solo LVef, não houve aumento nas concentrações de Mn quando os solos foram submetidos as temperaturas de secagem à 60°C e 120°C. Para os métodos de liofilização e secagem a vácuo, as concentrações de Mn ainda foram iguais ou menores em relação à secagem à sombra.

Como observado, os teores de Mn extraíveis por DTPA-TEA foram muito maiores que os observados por  $\text{NH}_4\text{OAc}$  pH 4,7, o que ocasionou menor variação de Mn em função da temperatura de secagem do solo. Isso porque o DTPA-TEA, por ser um agente complexante, extrai Mn não só das formas prontamente solúveis da solução do solo, como ocorre com  $\text{NH}_4\text{OAc}$ , mas também de compostos orgânicos menos estáveis. Evidenciando que o Mn que emerge na solução do solo quando submetido às temperaturas de 60 e 120 °C seja proveniente destas frações, que será melhor discutido no item 4.5 desta sessão.

Vista a ampla variação das concentrações de Mn extraídas pelos extratores DTPA-TEA e  $\text{NH}_4\text{OAc}$ . Sendo o DTPA-TEA utilizado pelo Método oficial de análises de solo para fins de fertilidade do estado de São Paulo e o  $\text{NH}_4\text{OAc}$ , extrator sensível a alteração dos teores de Mn influenciada pelo método de secagem das amostras de solo. Para a seleção do extrator adequado de Mn biodisponível desse estudo, foi realizado um bioensaio, apresentado no item 4.2 desta sessão. Haja vista que os teores de um elemento presente em um extrato são

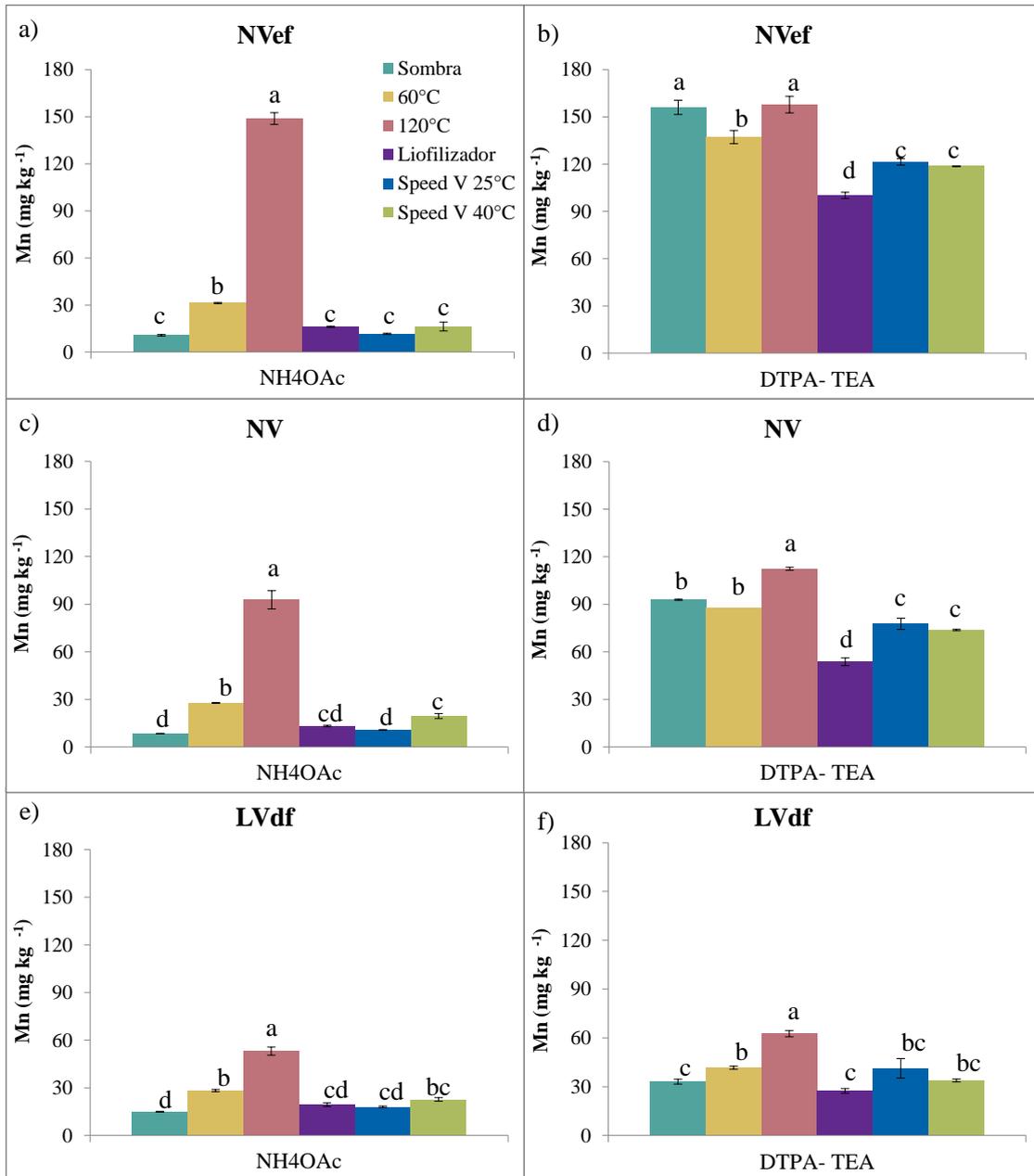
teoricamente biodisponíveis quando apresentam correlação direta com as quantidades absorvidas pela planta teste (ROSOLEM, 1992).

A disponibilidade de Mn é influenciada por processos de secagem das amostras de solo, isso dificulta a interpretação dos dados independente dos extratores. As amostras secas à sombra, liofilização e Speed Vac 25°C apresentam valores semelhantes de Mn disponível e os métodos em que houve acréscimo nas concentrações de Mn no solo foram os que utilizaram amostras secas em estufa, a 60 e 120 °C. A combinação causadora do aumento elevado destas concentrações de Mn são temperatura e oxigênio, isso pode ser verificado pela baixa variação de Mn quando as amostras foram submetidas à secagem à vácuo e à sombra.

A reação conhecida que poderia explicar tal condição é a de oxidação de  $Mn^{2+}$  para  $Mn^{4+}$ , entretanto, segundo o Diagrama de Energia Livre de Gibbs, quando se oferece energia para o  $Mn^{2+}$ , o mesmo irá oxidar para  $Mn^{4+}$  na forma de  $MnO_2$ , de baixa solubilidade (MACKAY; MACKAY, 1974). Logo, se fornecida energia para o solo em forma de calor, as concentrações de Mn solúvel na solução do solo deveriam diminuir, porém, este comportamento não ocorre. No entanto, sabe-se que existe uma evidência da influência térmica, o que dá indícios que a disponibilidade de Mn está ligada a cinética de reação, como reações de oxidação-redução, decomposição ou rearranjo estrutural de compostos no solo.

Dado o exposto, entende-se que a etapa de preparo de amostras de solo requer atenção, principalmente em etapas influenciadas pela temperatura do solo, como a época sazonal da coleta das amostras e o método de secagem. Recomenda-se a utilização de métodos que garantam à integridade das propriedades químicas do solo, como: secagem à sombra, liofilização e secagem à vácuo, evitando a superestimação dos teores de Mn disponíveis, no laudo de análises químicas de solo para fins de fertilidade.

Figura 6 – Concentrações de Mn ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) do solo: NVef, solúvel em (a)  $\text{NH}_4\text{OAc}$ , (b) DTPA-TEA; NV, solúvel em (c)  $\text{NH}_4\text{OAc}$ , (d) DTPA-TEA e LVef, solúvel em (e)  $\text{NH}_4\text{OAc}$ , (f) DTPA-TEA, em função dos métodos de secagem de amostras de solo



## 4.2 Correlação de Mn extraído do solo com Mn absorvido pela planta de soja

As concentrações de Mn em ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) extraíveis por  $\text{NH}_4\text{OAc}$   $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  pH 4,7 e absorvidas pela planta de soja, dos solos N Vef, NV e LVdf, nas condições naturais e com 2% de composto organomineral, em função das temperaturas de secagem estão ilustradas na Figura 7, onde pode ser observado que as concentrações de Mn disponíveis e biodisponíveis, são influenciadas pelas temperaturas de secagem dos três solos.

O aumento de Mn disponível é proporcional ao aumento da temperatura de secagem das amostras, quando extraído por  $\text{NH}_4\text{OAc}$   $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  pH 4,7 as variações são ainda mais pronunciadas, obtendo um aumento de até 183% para as amostras secas à  $60^\circ\text{C}$  e de até 400% para as amostras secas em  $105^\circ\text{C}$ . Já na absorção pela planta de soja, as concentrações variam em menor escala, uma vez que os teores de Mn extraídos pelas plantas, em solos secos a  $25^\circ\text{C}$ , são maiores em relação ao extraído por  $\text{NH}_4\text{OAc}$   $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  pH 4,7, isto evidencia que a planta de soja extraiu Mn não apenas das frações prontamente disponíveis na solução do solo como também pode ter usado de mecanismos de absorção para aquisição de Mn de outras frações do solo.

A adição do composto organomineral gerou um incremento nas concentrações de Mn nos solos, em uma magnitude de até 20 vezes. Este efeito foi melhor visualizado nas concentrações de Mn extraível por  $\text{NH}_4\text{OAc}$ , mas apesar dos elevados teores de Mn nos solos incubados com o composto organomineral, ainda sim, houve aumento significativo de Mn com a elevação da temperatura destes solos, porém, em menores proporções em relação ao solo em condição natural. Este efeito pode ser explicado pelo fato de que a adição de matéria orgânica oriunda do composto organomineral aumentou os sítios adsortivos, havendo menor liberação de Mn para a solução do solo.

O aumento das concentrações de Mn absorvidas pela planta teste em função da temperatura de secagem do solo confirma que o Mn extraível por  $\text{NH}_4\text{OAc}$  nos experimentos deste trabalho é o  $\text{Mn}^{2+}$  biodisponível. As correlações entre o Mn extraível por  $\text{NH}_4\text{OAc}$  e pela planta de soja estão representadas na Figura 8, para os Nitossolos, N Vef e NV, o  $R^2$  foi de 0,83 e 0,88 respectivamente, já para o Latossolo LVdf o  $R^2$  foi de 0,33, valor baixo se comparado aos demais solos, isso pode ser explicado pela alta concentração de C-org deste

solo, onde a planta pode ter utilizado de mecanismos de aquisição de Mn de outras frações no solo, como o  $\text{NH}_4\text{OAc}$  extrai o Mn apenas de frações mais solúveis, isso não foi observado.

O desenvolvimento das plantas de soja foi afetado com o aumento das temperaturas do solo e também com a adição do composto organomineral, como pode ser observado na Figura 9. As plantas apresentaram enrugamento e clorose nas folhas, sintomas de toxicidade do elemento, o que confirma visualmente as altas concentrações de Mn absorvidas pela planta de soja. Os sintomas de toxicidade de manganês nas plantas de soja corroboram com Voss e Pottker (2000) e Heenan e Campbell (1980). Segundo Santos et al., 2017, o desenvolvimento reduzido da planta deve-se a baixa taxa fotossintética provocada pela toxicidade de Mn.

Figura 7- Concentrações de Mn em ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) (a) extraíveis por  $\text{NH}_4\text{OAc}$  pH 4,7 e (b) absorvidos pela planta de soja, dos solos NVef, NV e LVdf, nas condições naturais e com 2% de composto organomineral, em função das temperaturas de secagem

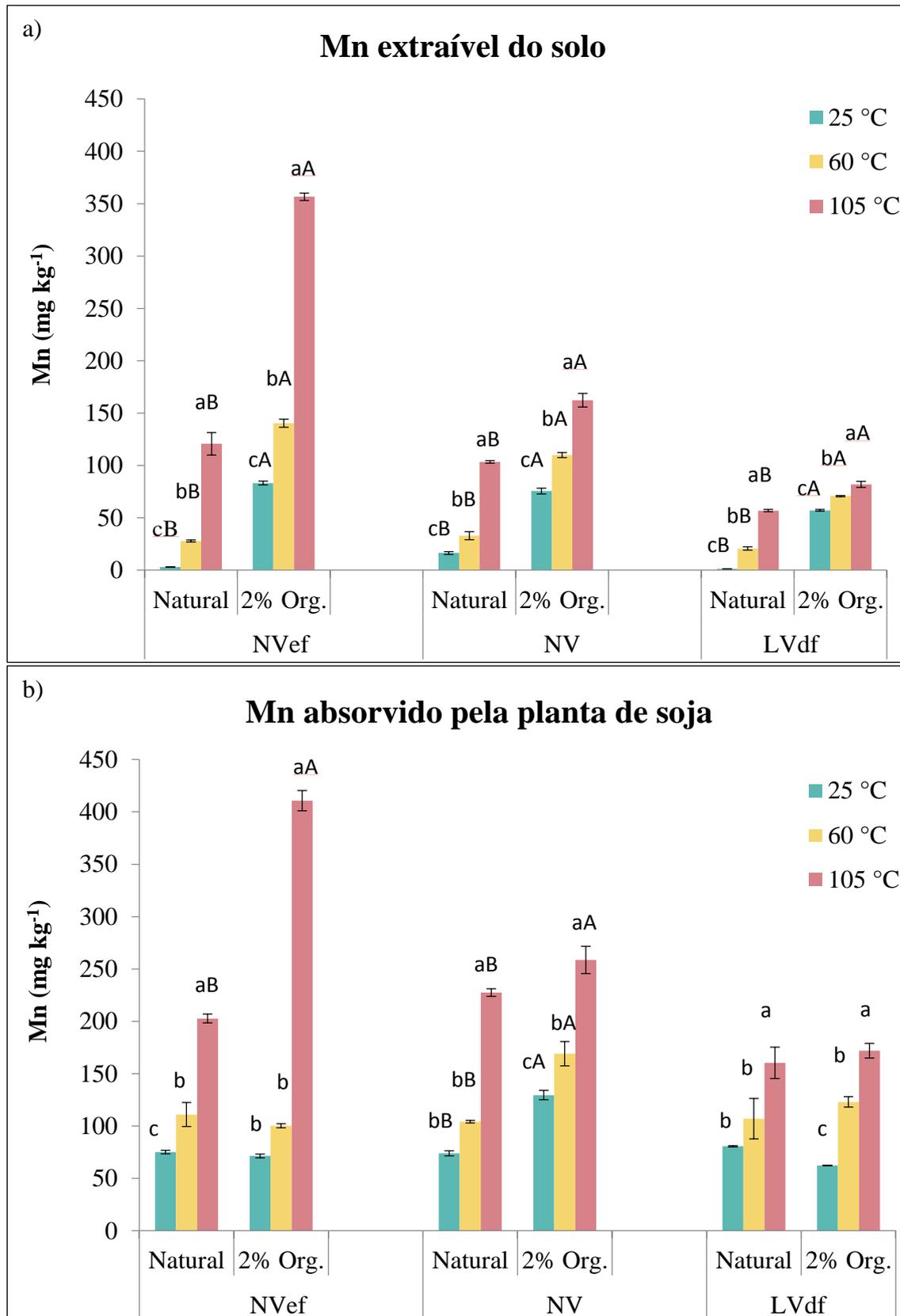


Figura 8- Concentrações de Mn em ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) extraíveis do solo por  $\text{NH}_4\text{OAc}$  pH 4,7 e absorvidos pela planta de soja, dos solos NVef (a), NV (b) e LVdf (c), nas condições naturais e com 2% de composto organomineral, em função das temperaturas de secagem

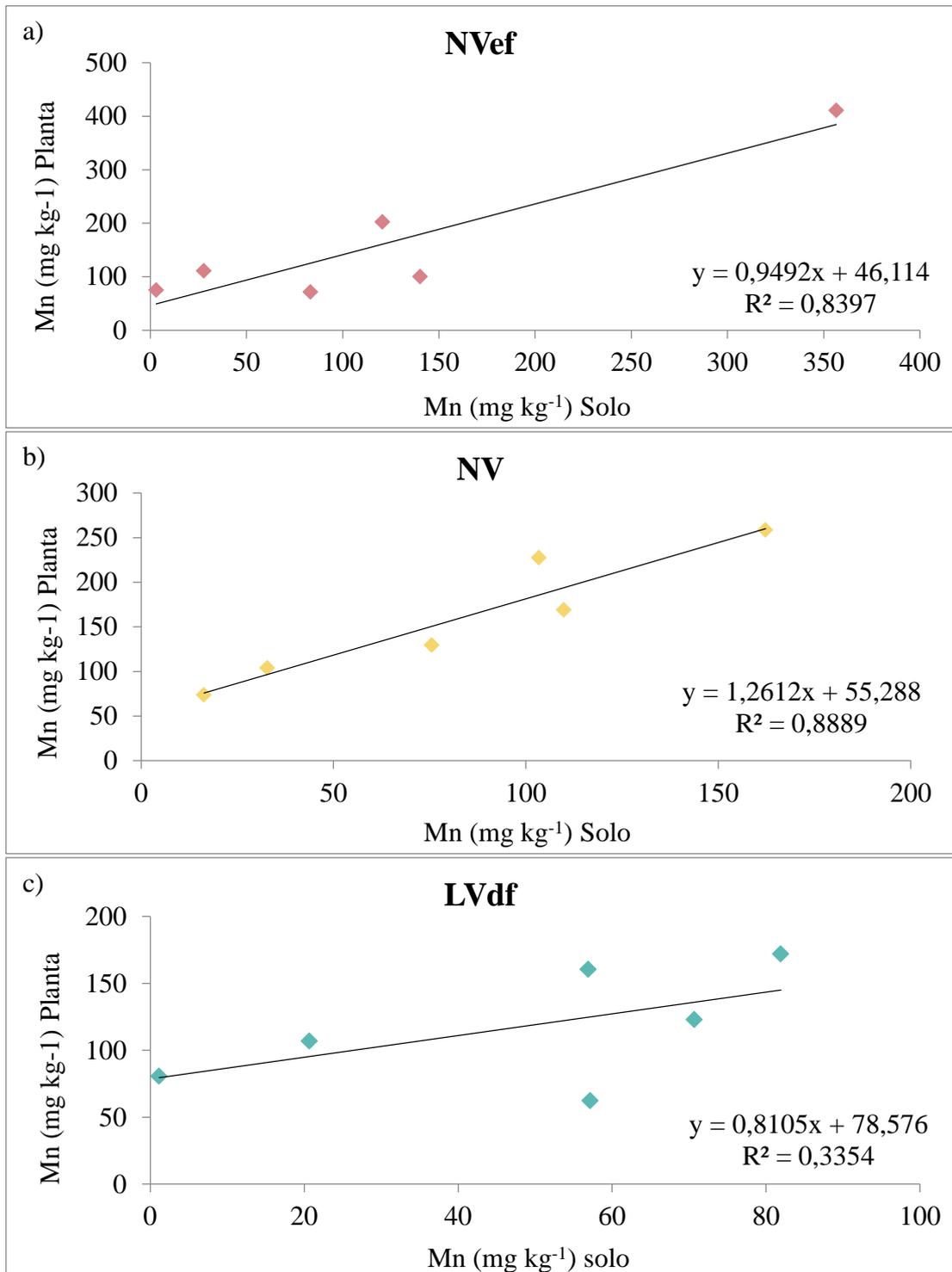
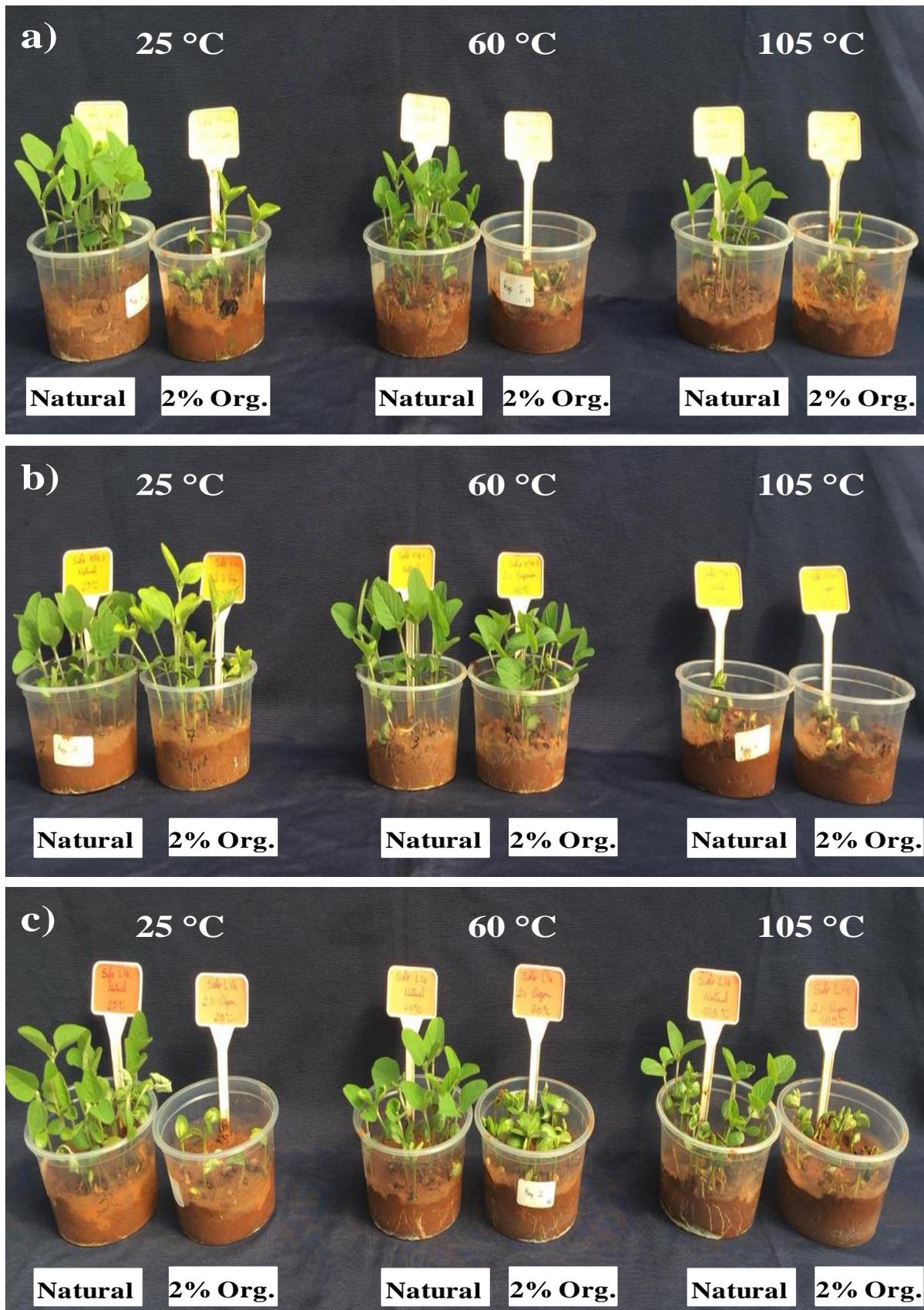


Figura 9- Plantas de soja cultivadas em solos NVer (a), NV (b) e LVdf (c), nas condições naturais e com 2% de Organomineral, em função das temperaturas de secagem



### 4.3 Influência do tempo de armazenamento das amostras de solo, na disponibilidade de Mn

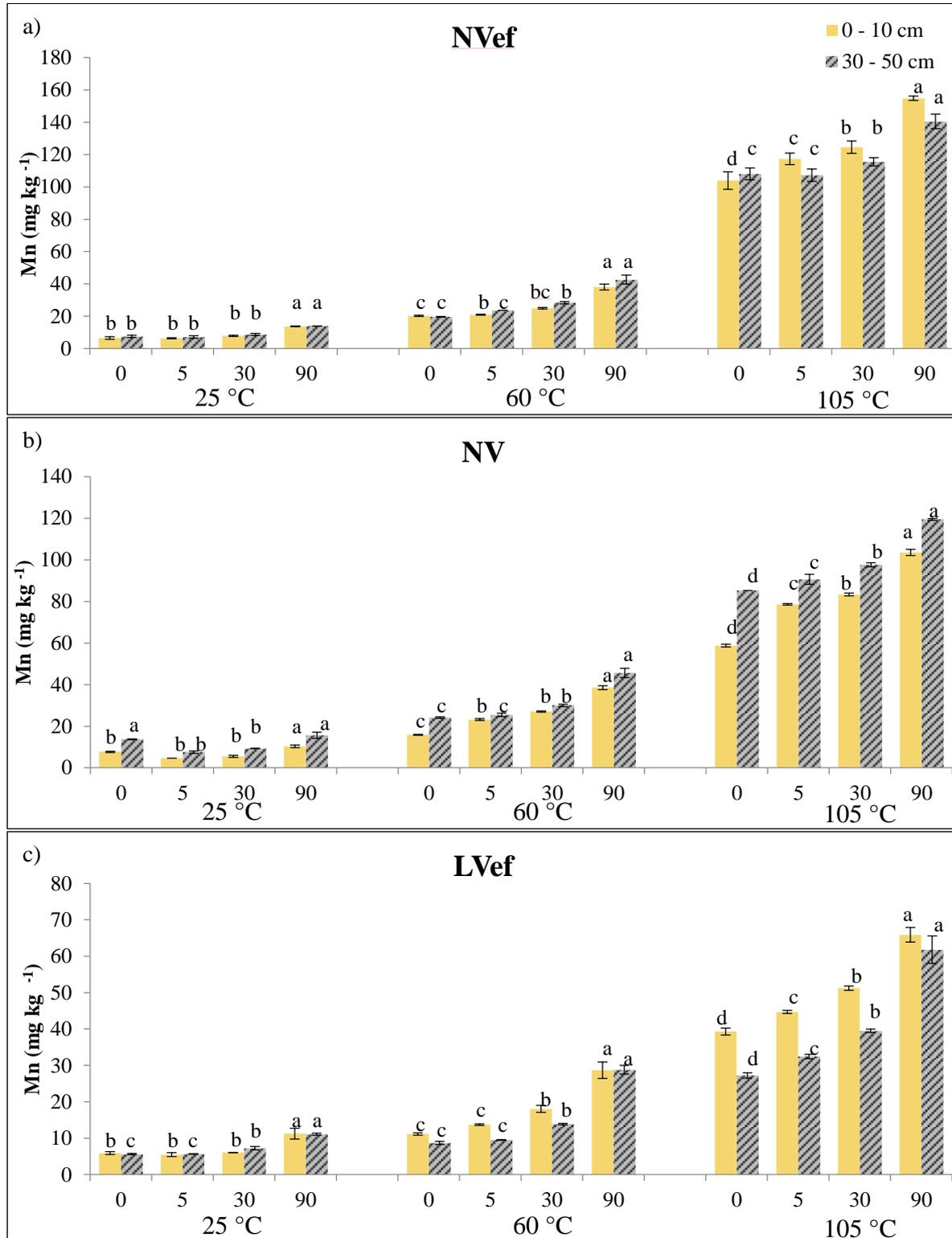
Com a secagem das amostras de solo à sombra, (25 °C), foi possível verificar uma pequena variação de Mn nas três amostras de solo com o decorrer dos dias, variando de 6,6 a 13,7 mg kg<sup>-1</sup> em camadas superficiais e 7,3 a 14,4 mg kg<sup>-1</sup> nas subsuperficiais em solo NVef, não havendo diferença significativa entre as duas camadas como pode ser observado na Figura 10 (a). O mesmo ocorre nas demais amostras de solo, Figura 10 (b) e (c). Contudo, nas amostras que foram submetidas à secagem em 60 °C, foi possível observar um aumento das concentrações de Mn com o tempo de armazenamento das amostras, com uma variação de até 100%, como ocorre no solo LVdf, nas camadas superficiais, ilustrado na Figura 10 (b). Este efeito é ainda mais pronunciado nas amostras de solo que foram expostas a aquecimento a 105 °C, onde os teores de mínimo e máximo foram até três vezes maiores.

Avaliando a crescente elevação das concentrações de Mn em função do tempo de armazenamento das amostras, pode-se dizer que a alteração não é perdida com o tempo, pois o Mn produzido pelo aquecimento permanece até 90 dias e também que o aumento com o tempo demonstra que a reação ainda está ocorrendo. Visto que o solo está seco, a reação que ocorre provavelmente é devida ou à absorção de umidade ou à reação com o oxigênio atmosférico.

Este aumento com o decorrer do tempo pode ser explicado pela provável desestabilização de óxidos de Mn, como sugere a (Equação 13) que podem estar sendo desestruturados pelo efeito da temperatura de secagem, sofrendo maior transformação com o decorrer do tempo, uma vez que, quanto maior a temperatura de secagem dos solos maior o aumento de Mn com o passar dos dias.



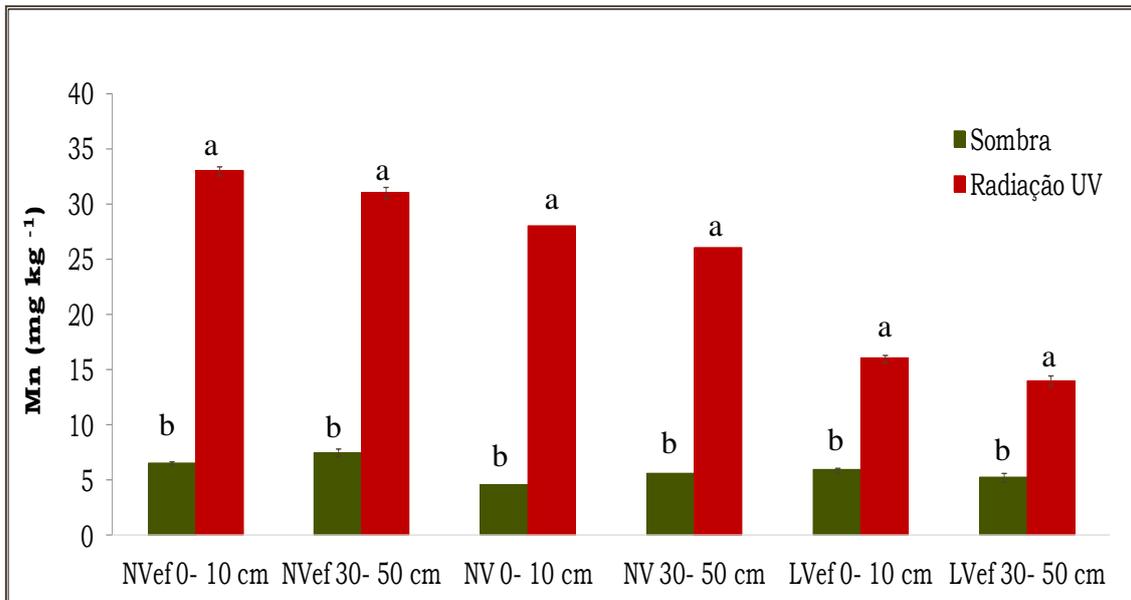
Figura 10 - Concentrações em ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) de Mn extraíveis por  $\text{NH}_4\text{OAc}$  do solo: (a) NVef, (b) NV e (c) LVef, das camadas de 0-10 cm e 30- 50 cm, em função do tempo de armazenamento das amostras submetidas as temperaturas de secagem de 25 °C, 60 °C e 105 °C



#### 4.4 Influência da exposição das amostras de solo em atmosfera oxidante, na disponibilidade de Mn

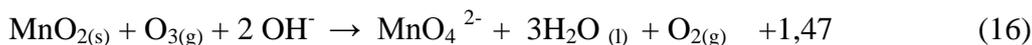
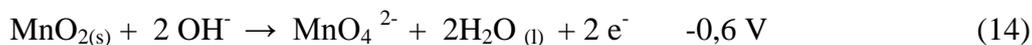
A exposição das amostras de solo à radiação UV levou a incrementos significativos de Mn-Bio nos três solos, como observado na Figura 11, efeito mais pronunciado também nas camadas superficiais, onde o teor de C-org é maior em todas as amostras. As concentrações aumentaram de 200 a até 400%, em solos NVef 0- 10 cm e LVdf respectivamente 30- 50 cm respectivamente. O que evidencia que o aumento de Bio-Mn deriva de ações catalisadas por uma fase gasosa.

Figura 11- Concentrações em ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) de Mn dos solos NVef, NV e LVef, das camadas de 0-10 cm e 30- 50 cm, em função da exposição das amostras à Radiação UV



A radiação UV pode influenciar as concentrações de Mn por reações oxidativas, uma vez que a interação da radiação UV da lâmpada germicida com a água ocorre o que se chama de fotólise da água, gerando os radicais hidroxil ( $\bullet\text{OH}$ ) e hidrogênio ( $\bullet\text{H}$ ), que são altamente reativos, provocando a oxidação ou redução de compostos. Além disso, também afeta a microbiota do meio (DEZOTTI, 2008). Esses resultados são concordantes com o experimento mostrado na Figura 5, onde o Mn do solo aumenta com a exposição do solo à radiação solar.

As reações oxidativas também podem se dar pela formação de ozônio que por sua vez pode reduzir óxidos de Mn no solo para compostos de manganato, que são espécies solúveis, como mostram as (Equações 14, 15 e 16). No entanto, é pouco provável que ocorra esta reação em condição ambiente no solo.



#### 4.5 Fracionamento químico de Mn nas amostras de solo

Os resultados obtidos pelo Fracionamento Químico de Mn do solo NVef, NV e LVdf, apresentados na Figura 12, 13 e 14, respectivamente, respondem questões de mobilidade de Mn no solo em função da temperatura e de características químicas dos solos em estudo.

Quando as amostras foram submetidas a aquecimento a 60 °C, as frações solúveis ou facilmente trocáveis, extraídas por KCl e NH<sub>4</sub>OAc pH 4,7 aumentaram até quatro vezes. Essa variação ocorreu para os três solos, nas camadas superficiais e subsolo, evidenciando que o Mn disponível aumenta com a temperatura de secagem do solo, independentemente das características químicas dos solos. Em contrapartida, as concentrações de Mn que diminuem com o aquecimento do solo são oriundas das frações extraíveis por EDTA e/ou por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, que varia com o tipo de solo, ou seja, o Mn que emerge nas frações disponíveis é dependente das características dos solos.

Para o solo NVef, as concentrações de Mn aumentaram com o aquecimento do solo não só para as frações disponíveis, mas também para EDTA, tanto na camada superficial quanto subsolo. Para a camada superficial a somatória deste aumento para as três frações foi de 94 mg kg<sup>-1</sup> e 57 mg kg<sup>-1</sup> para subsolo, a diminuição de Mn na fração H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> com o aquecimento foi de 143 mg kg<sup>-1</sup> para superfície e 59 mg kg<sup>-1</sup> para subsolo. Não obstante, para o solo NV, as concentrações de Mn também aumentaram com o aquecimento do solo, mas apenas para as frações disponíveis, nas duas camadas, para a camada superficial a somatória foi de 45 mg kg<sup>-1</sup> e subsolo de 40 mg kg<sup>-1</sup>, a diminuição de Mn se deu na fração EDTA e

$H_2O_2$  de  $34 \text{ mg kg}^{-1}$  para superfície e  $21 \text{ mg kg}^{-1}$  para subsolo. Já para o solo LVdf, assim como nos dois últimos solos, as concentrações de Mn aumentaram com o aquecimento nas frações disponíveis, em menor escala, sendo de  $23 \text{ mg kg}^{-1}$  da camada superficial e  $12 \text{ mg kg}^{-1}$  para subsolo, porém, não houve diminuição significativa nas frações EDTA e  $H_2O_2$ . Isso provavelmente se deve pelas baixas variações de Mn com o aquecimento deste solo e a influência da matéria orgânica, que encontra-se em concentração elevada nesta amostra.

Figura 12 – Porcentagem de cada fração do solo na disponibilidade de Mn das amostras: NVef 0-10cm, NVef 30-50cm expostas a 25 e 60 °C

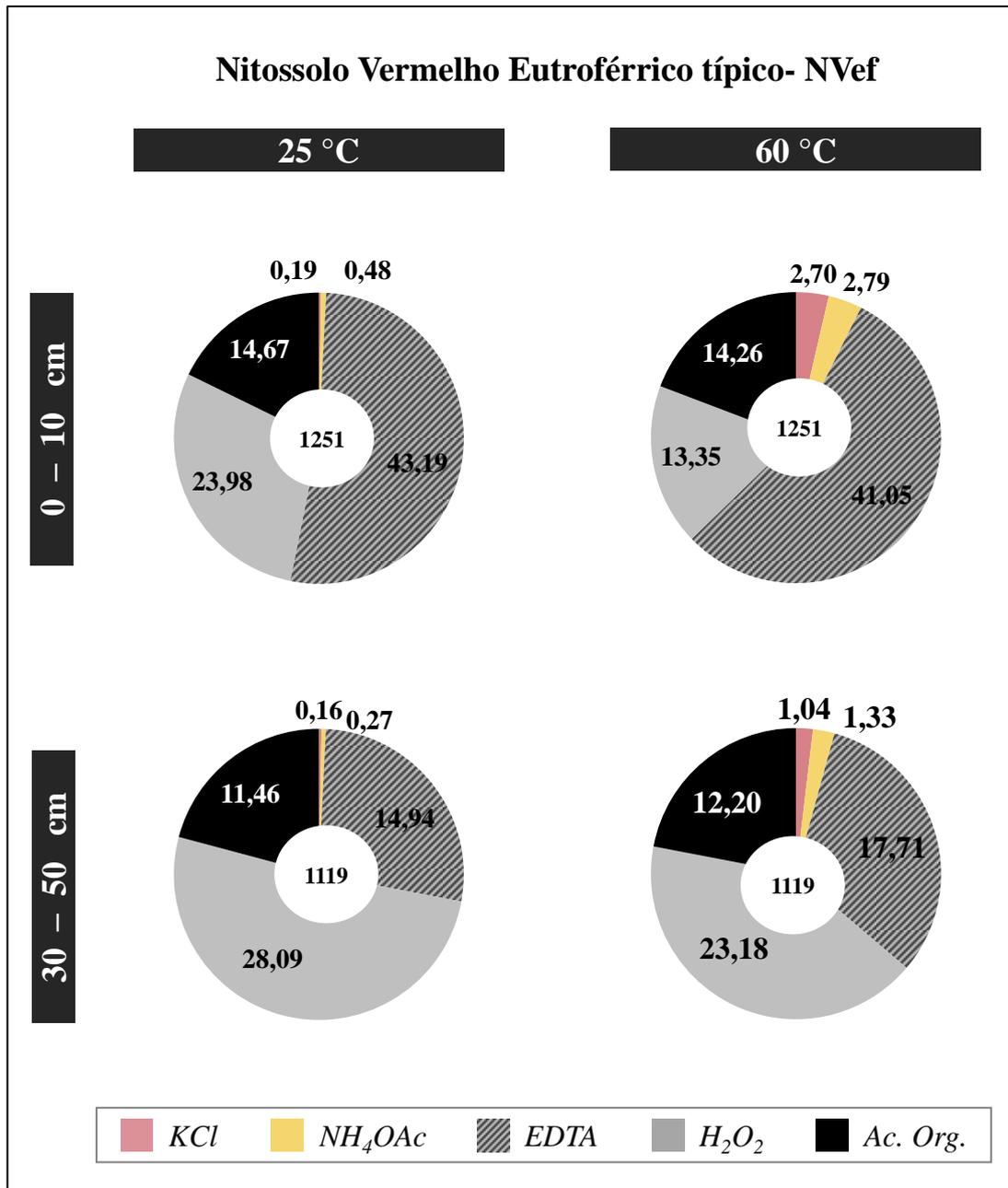


Figura 13 – Porcentagem de cada fração do solo na disponibilidade de Mn das amostras: NV 0-10cm, NV 30-50cm expostas a 25 e 60 °C

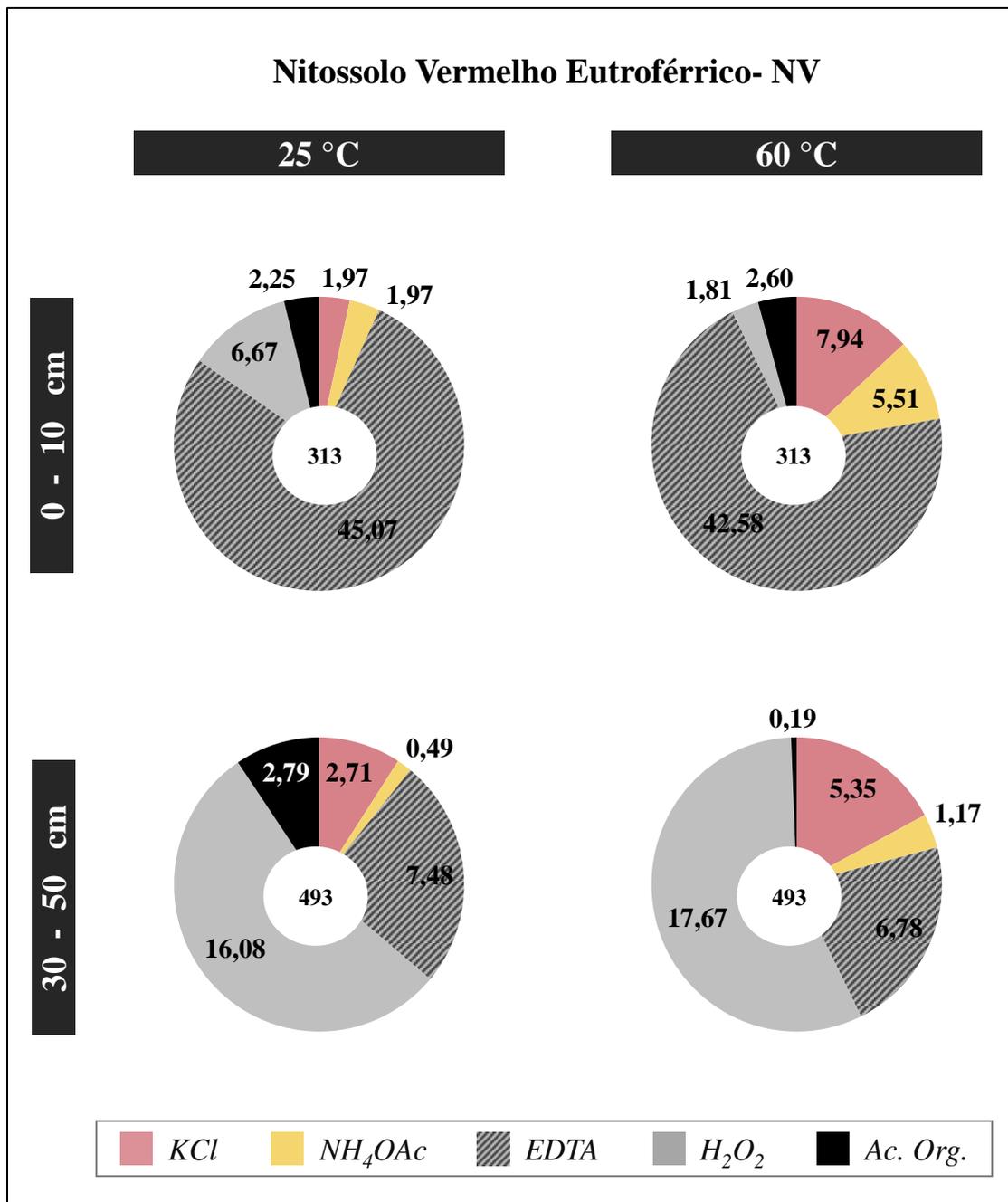
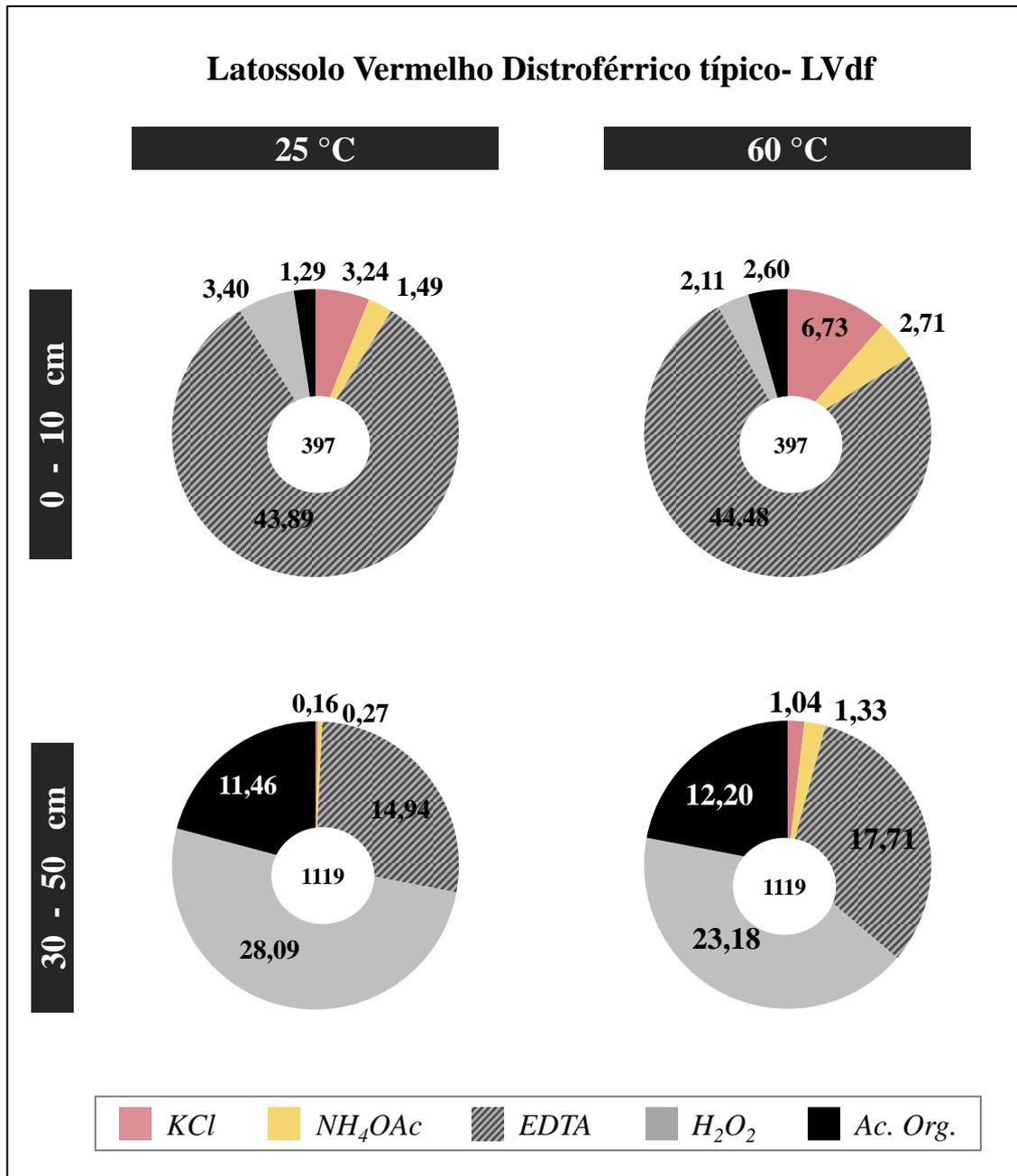


Figura 14 – Porcentagem de cada fração do solo na disponibilidade de Mn das amostras: LVef 0-10cm, LVef 30-50cm expostas a 25 e 60 °C



As maiores variações nas concentrações de Mn em função da temperatura do solo foram observadas no solo NVef, seguido por NV e por fim LVdf, para os nitossolos essa diferença pode ser explicada pela alta concentração de Mn total que o NVef possui em sua origem, uma vez que as concentrações de argila e matéria orgânica dos dois solos são

semelhantes. A baixa variação das concentrações de Mn em função da temperatura de exposição para o latossolo se dá a provavelmente além de baixa concentração de Mn total em relação ao N<sub>vef</sub>, também à elevada concentração de C-org se comparado aos nitossolos, ou seja, onde há mais sítios adsortivos para Mn, há também menor liberação de Mn para o meio, com o aquecimento do solo.

Apesar das diferenças nas variações de Mn entre os diferentes tipos de solo, em geral, com a elevação da temperatura, as concentrações de Mn disponíveis aumentaram e as concentrações de Mn das frações extraíveis por EDTA e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> diminuíram. Estas últimas frações representam compostos oxidáveis no solo, podendo ser tanto compostos orgânicos de alta estabilidade, como também compostos que sofrem oxidação no solo, como óxidos e hidróxidos. Sendo assim, o Mn que emerge na fração trocável no solo em função do aumento da temperatura de secagem das amostras, é proveniente de frações orgânicas estabilizadas e compostos oxidáveis no solo. Porém, como as determinações de Mn foram feitas por FAAS, técnica de atomização em chama, não foi possível determinar a espécie química de Mn presente nestas frações.

Também cabe ressaltar que as maiores frações extraídas de Mn por EDTA, fração que extrai Mn das frações orgânicas e óxidos, se deram nas camadas superficiais, camadas mais expostas ao oxigênio atmosférico, evidenciando que o oxigênio atmosférico tem influencia sobre a transformação química de Mn no solo.

Sendo assim, há indícios de que óxidos podem influenciar no aumento da disponibilidade de Mn em função da temperatura de secagem o solo. Para confirmação desta hipótese, foi realizada a caracterização de óxidos de Mn nas amostras de solo secas à sombra e a 60 °C, melhor discutidas no item 4.6 desta seção.

#### **4.6 Caracterização de óxidos de Mn pela técnica de espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X (XPS)**

As medidas de XPS trazem informações sobre os estados de oxidação de óxidos e hidróxidos por ser capaz de medir as energias de ligação dos elementos na superfície, superfície esta de até 4 nm.

As energias de ligação de óxidos de Mn variam entre 500 e 600 eV segundo Reiff; Laverne (2016) e Salla (2017), porém como pode ser observado nas Figuras 15, 16 e 17, não foi possível observar nenhum pico de intensidade nestes valores de energia de ligação, apenas ruídos. Como o XPS é uma técnica de superfície, entende-se que os óxidos de Mn não se encontram em quantidades detectáveis na superfície do solo, não sendo possível verificar se os óxidos de manganês sofrem alguma transformação com a temperatura de secagem das amostras de solo.

Figura 15- Espectros de XPS do solo NVer seco a 25 °C (a) com resolução aumentada para manganês (b) e 105°C (c), com resolução aumentada para manganês (d)

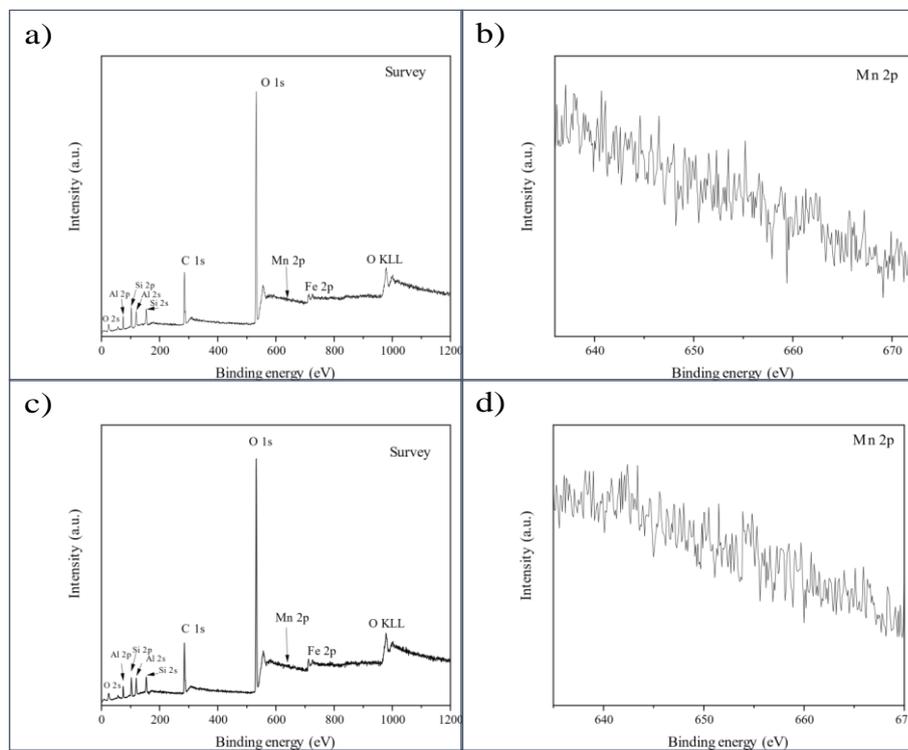


Figura 16- Espectros de XPS do solo NV seco a 25 °C (a) com resolução aumentada para manganês (b) e 105°C (c), com resolução aumentada para manganês (d)

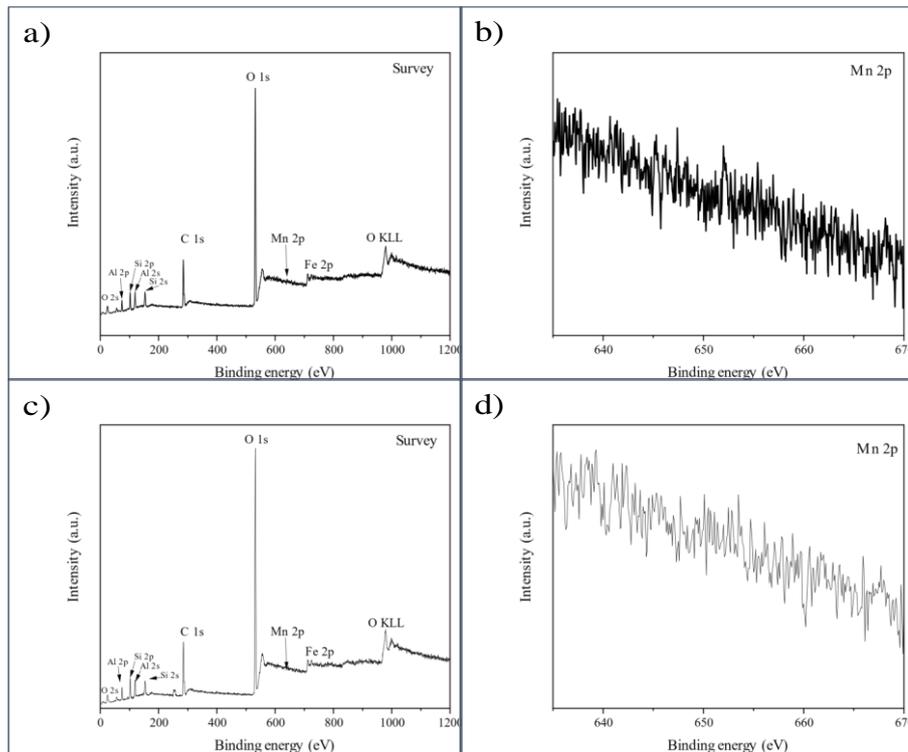
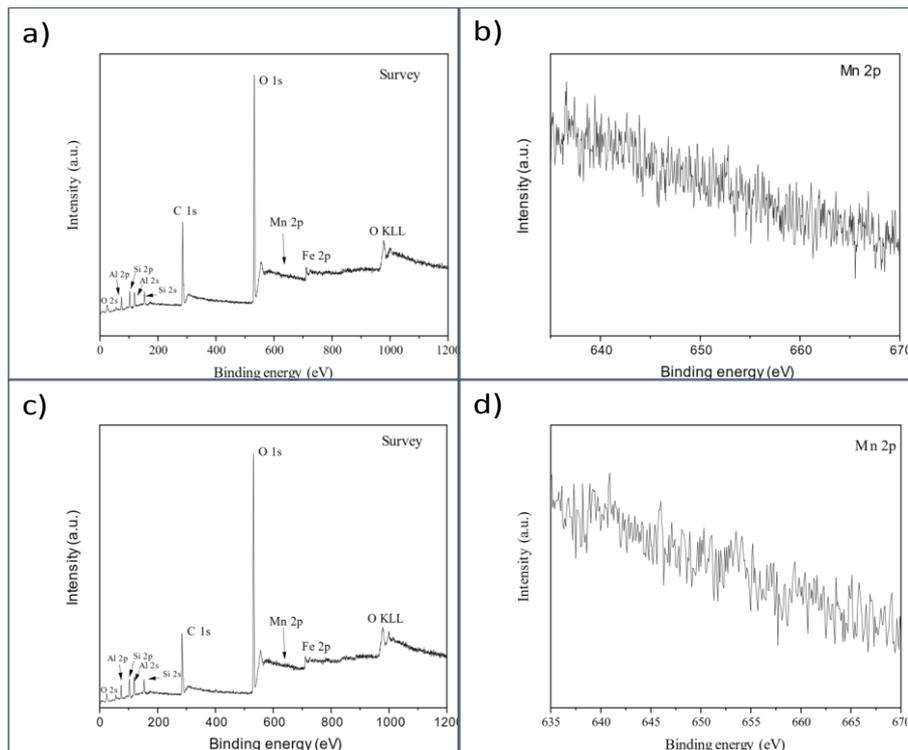


Figura 17- Espectros de XPS do solo L Vef seco a 25 °C (a) com resolução aumentada para manganês (b) e 60 °C (c), com resolução aumentada para manganês (d)



#### 4.7 Avaliação da contribuição dos microrganismos na disponibilidade de Mn no solo

Após a esterilização dos solos pela radiação gama, partes das amostras de solo foram mantidas em três tratamentos: continuamente secas; incubadas com água esterilizada e inoculadas com extrato de solo da mata e avaliando os teores de Mn com o decorrer do tempo.

Foi possível observar que para os três solos, as concentrações de Mn variaram com o tratamento submetido nas amostras esterilizadas. Como mostra a Figura 18 (a), para os solos NVef no período de 5 dias as concentrações foram de 138, 97 mg kg<sup>-1</sup>, 135, 9 mg kg<sup>-1</sup> e 89, 67 mg kg<sup>-1</sup> para as amostras secas, incubadas e inoculadas respectivamente, sendo observada uma diminuição significativa das concentrações para as amostras inoculadas com extrato de solo da mata, este comportamento seguiu para os demais solos.

Essa diminuição nas concentrações de Mn com os tratamentos das amostras foi maior com o decorrer do tempo, neste mesmo solo, NVef, ao tempo de 60 dias, as concentrações foram de 128,07; 50,61 e 30, 95 mg kg<sup>-1</sup>, para as amostras secas, incubadas e inoculadas, respectivamente. Este efeito evidencia que a atividade microbiana tem influencia nas concentrações de Bio-Mn no solo, uma vez que os menores valores de Mn se deram nas amostras de solo incubadas com extrato de solo, amostras que possuem maior atividade microbiana, como pode ser observado nas Tabelas 3 e 4. Resultados concordantes com Nogueira e Cardoso (2002) onde mostraram que sintomas de toxicidade de Mn em bioensaios com planta de soja foram atenuados com a reativação da microbiota de solos esterilizados.

A atividade microbiana pode influenciar nas concentrações de Mn no solo de três formas: utilizando a redução de Mn<sup>4+</sup> para Mn<sup>2+</sup> como fonte energética, aumentando as concentrações de Mn<sup>2+</sup> no solo em condições anaeróbias (a) (PONNAMPERUMA, 1972). Complexando Mn pela produção de exsudatos orgânicos no solo, diminuindo Mn<sup>2+</sup> da solução do solo (b) (MIYAZAWA, et al., 1993). E oxidando Mn<sup>2+</sup> à Mn<sup>4+</sup>, também diminuindo Mn<sup>2+</sup> da solução do solo (VAN VEEN, 1973; ZHANG, et al., 2015; WANG, et al., 2017). As hipóteses mais prováveis para dadas condições são (b) e (c), uma vez que o Mn diminui com o favorecimento das condições microbiológicas no solo.

As concentrações de Mn disponíveis no solo aumentam com a temperatura de secagem, de 60 e 105 °C como pode ser observado na Figura 18, o que sugere que a elevação dos teores de Mn pela temperatura de secagem do solo ainda ocorre independente da condição

microbiológica do solo. Desta forma, a atividade microbiana diminui as concentrações de Mn no solo por complexar Mn pela produção de exsudatos orgânicos no solo, mas não tem influencia nas variações de Mn com o aumento da temperatura do solo.

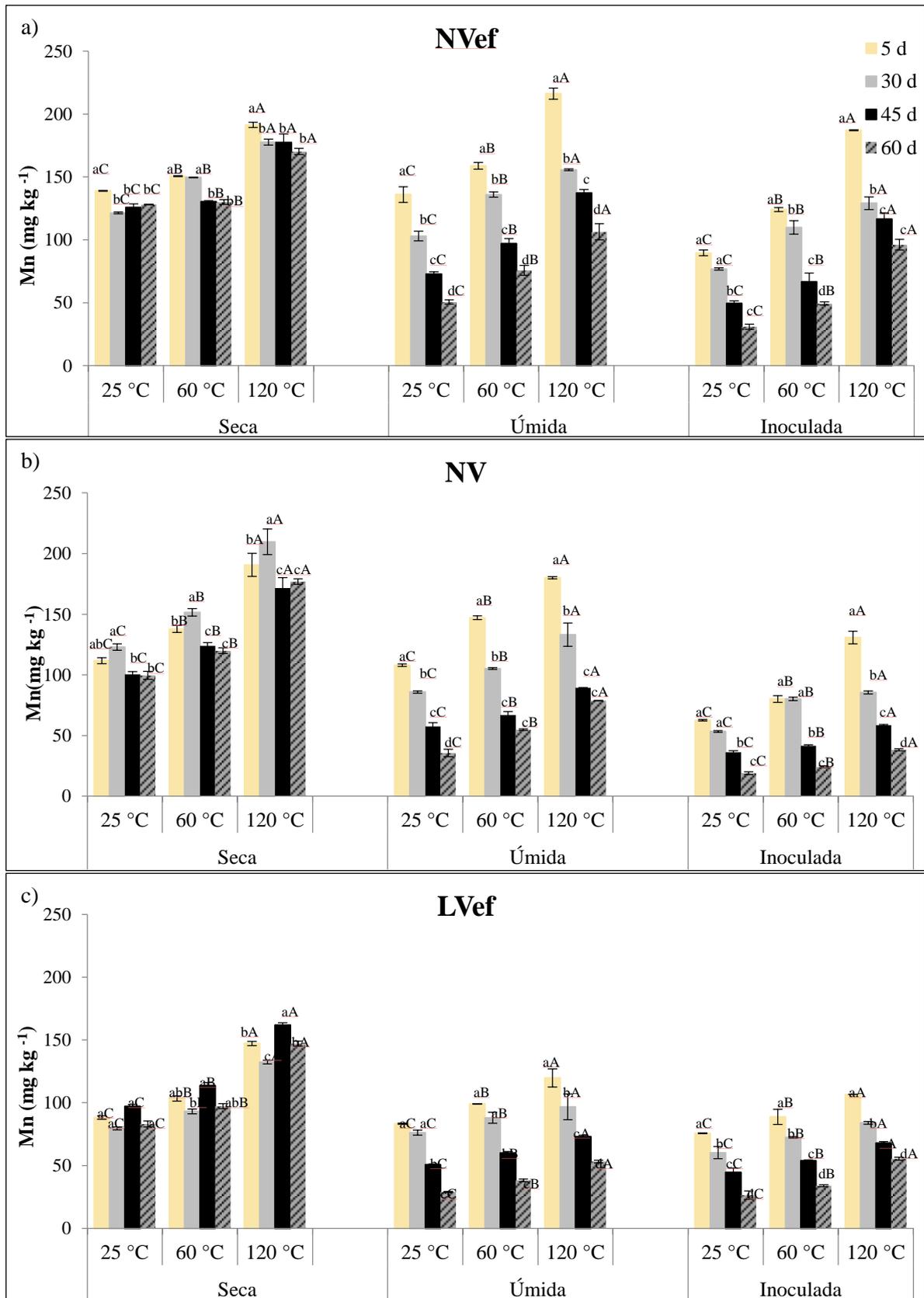
Tabela 3- Número de unidades formadoras de colônias (UFC) de bactérias em função do tempo de armazenamento das amostras de solo esterilizadas: continuamente secas, incubadas com água esterilizada e inoculadas com extrato da mata.

	5 dias	30 dias	45 dias	60 dias
----- Bactérias UFC/ g -----				
NVef				
Seca	0	0	0	0
Úmida	$3,2 \cdot 10^4$	$9,7 \cdot 10^5$	$5,4 \cdot 10^6$	$8,9 \cdot 10^6$
Inoculada	$6,8 \cdot 10^6$	$1,1 \cdot 10^7$	$1,9 \cdot 10^7$	-
NV				
Seca	0	0	0	0
Úmida	$8,2 \cdot 10^3$	$8,2 \cdot 10^5$	$3,6 \cdot 10^6$	$7,9 \cdot 10^6$
Inoculada	$2,8 \cdot 10^6$	$9,3 \cdot 10^6$	$1,0 \cdot 10^7$	-
LVef				
Seca	0	0	0	0
Úmida	$7,6 \cdot 10^3$	$7,6 \cdot 10^5$	$9,1 \cdot 10^5$	$2,2 \cdot 10^6$
Inoculada	$1,1 \cdot 10^6$	$8,5 \cdot 10^6$	$3,3 \cdot 10^7$	-

Tabela 4- Número de unidades formadoras de colônias (UFC) de fungos em função do tempo de armazenamento das amostras de solo esterilizadas: continuamente secas, incubadas com água esterilizada e inoculadas com extrato da mata.

	5 dias	30 dias	45 dias	60 dias
----- Fungos UFC/ g -----				
NVef				
Seca	0	0	0	0
Úmida	$9,9 \cdot 10^3$	$4,7 \cdot 10^4$	$8,3 \cdot 10^4$	$2,8 \cdot 10^5$
Incubada	$3,1 \cdot 10^5$	$5,4 \cdot 10^5$	$1,1 \cdot 10^6$	-
NV				
Seca	0	0	0	0
Úmida	$3,9 \cdot 10^3$	$5,0 \cdot 10^4$	$7,7 \cdot 10^4$	$3,1 \cdot 10^5$
Incubada	$4,4 \cdot 10^5$	$6,0 \cdot 10^5$	$9,5 \cdot 10^5$	-
LVef				
Seca	0	0	0	0
Úmida	$5,0 \cdot 10^3$	$6,7 \cdot 10^4$	$8,1 \cdot 10^4$	$3,7 \cdot 10^5$
Incubada	$2,8 \cdot 10^5$	$8,5 \cdot 10^5$	$1,1 \cdot 10^6$	-

Figura 18 - Concentrações de Bio- Mn ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) dos solos: (a) Nvef; (b) NV e (c) LVdf em função do tempo de armazenamento das amostras de solo esterilizadas mantidas: continuamente secas, úmidas e inoculadas, submetidas às temperaturas de 25, 60 e 120 °C.



## 5. CONSIDERAÇÕES GERAIS

Com os resultados obtidos, pode-se dizer que com o aumento das temperaturas do solo, há também elevação dos teores de manganês, esta elevação foi confirmada nos ensaios com a planta de soja, o Mn que aumenta com a elevação da temperatura é o  $Mn^{2+}$ , biodisponível (Mn-Bio).

O aumento de Mn-Bio com a elevação da temperatura do solo está diretamente relacionado a reações redox, uma vez que Mn-Bio aumenta com a exposição ao oxigênio no solo e também com a radiação UV, tendendo a aumentar com o tempo de exposição ao oxigênio atmosférico.

O Mn-Bio que emerge na solução do solo com o aumento da temperatura do solo é proveniente de frações oxidáveis no solo, podendo ser de compostos orgânicos mais estabilizados e/ou óxidos-hidróxidos, porém não se sabe quais são as espécies de Mn envolvidas neste processo.

A técnica de XPS, a princípio, demonstrou ser uma alternativa viável para especificação de óxidos- hidróxidos de Mn, uma vez que consegue medir a energia de ligação destes compostos, indicando o estado de oxidação destes compostos. Porém, por ser uma técnica de superfície, não foi possível detectar os óxidos de Mn no solo por ser uma matriz muito complexa.

Para trabalhos futuros, acreditamos ser importantes técnicas de raios X mais energéticas, como por exemplo, Luz Síncrotron, para a especificação de óxidos- hidróxidos de Mn no solo, com o intuito de definir o estado de oxidação e forma química original do Mn.

## 6. CONCLUSÕES

A presença do oxigênio atmosférico durante o processo de secagem influencia as concentrações de manganês no solo, sendo a combinação causadora deste aumento são temperatura e oxigênio.

A disponibilidade de Mn no solo, alterada pela temperatura tende a aumentar com o tempo e a exposição ao oxigênio atmosférico.

O aumento da disponibilidade de manganês com a elevação da temperatura do solo, também foi observada pela extração com a soja, confirmando a espécie química  $Mn^{2+}$ .

A disponibilidade Mn no solo aumenta com a atmosfera oxidante pela provável liberação de Mn em compostos oxidáveis no solo e formação de espécies solúveis de Mn.

O manganês que emerge na fração trocável no solo em função do aumento da temperatura de secagem das amostras, é proveniente de frações orgânicas estabilizadas e compostos oxidáveis no solo.

A atividade microbiana diminui as concentrações de Mn no solo por complexar Mn pela produção de exsudatos orgânicos no solo, independente das variações dos teores de Mn com o aumento da temperatura do solo.

## REFERÊNCIAS

ALLOWAY, B. J. **Heavy metals in soils**. 2. ed. London: Chapman and Hall, 1995. 368 p.

ABREU, C. A.; VAN RAIJ, B.; ABREU, M. F.; PAZ GONZALEZ, A. Avaliação da disponibilidade de Manganês e Ferro em solos pelo uso do método modificado da resina de troca iônica. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 28, p. 579-584, 2004.

BLOOM, P. R. Metal-organic matter interactions in soil. In: DOWDY, R. H. (Ed.). **Chemistry in the soil environment**. Madison: ASA, 1981, p. 129-150.

BORGES, B. G. A. L. **Estudo da estrutura eletrônica e transferência de carga de polímeros derivados do tiofeno com aplicação em dispositivos fotovoltaicos**. 2015. 140 f. Tese (Doutorado em Ciências: Química) - Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2015.

BURNETT, G.W.; PELCZAR JUNIOR, M.J.; CONN, H.J. Preparation of media. In: SOCIETY OF AMERICAN BACTERIOLOGISTS. **Manual of microbiological methods**. New York: McGraw-Hill Book Company, 1957. 315 p.

CAMARGO, O.A.; MONIZ, A.C.; JORGE, J.A.; VALADARES, J.M.A.S. Métodos de Análise Química, Mineralógica e Física de Solos do Instituto Agronômico de Campinas. **Boletim técnico**, **106**. Instituto Agronômico, 2009, 77 p.

CERRATO, J. M.; ROCHELLA, M. F.; KNOCKE, W. R.; DIETRICH, A. M.; CROMER T. F. Use of XPS to Identify the Oxidation State of Mn in Solid Surfaces of Filtration Media Oxide Samples from Drinking Water Treatment Plants. **Environmental Science & Technology**, Washington, DC, v. 44, p. 5881-5886, 2010.

DEZOTTI, M. **Técnicas de controle ambiental em efluentes líquidos**. Rio de Janeiro: E-papers, 2008. p. 360. Série Escola Piloto de Engenharia Química, COPPE/ UFRJ v. 5. ISBN 978-85-7650-175-2.

EINSTEIN, A. Concerning na Heuristic Point of View Toward the Emission and Transformation of Light. **Annals of Physics**, New York, v. 17, p.132, 1905.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 1997. p.212. ISBN 85-85864-03-6.

FLORES, E. M. M.; KRUG, F. J.; BARIN, J. S.; ARRUDA, M. A. Z. Decomposição de materiais orgânicos por via úmida. In: KRUG, F. J. (Ed.). **Métodos de preparo de amostras: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar**. Piracicaba: Edição do autor, 2008. cap. 7, p. 141-165.

FUJIMOTO, C. K.; SHERMAN, G. D. The effect of drying, heating and wetting on the level of exchangeable manganese in Hawaiian soil. **Soil Science Society of America Proceedings**, Madison, v. 10, p. 107-112, 1945.

HEENAN, D. P.; CAMPBELL, L. C. Soybean nitrate reductase activity influenced by manganese nutrition. **Plant and Cell Physiology**, Oxford, v. 21, p. 731–736, 1980.

HORWITZ, W. Nomenclature for sampling in analytical chemistry. **Pure and Applied Chemistry**, Oxford, v. 62, p. 1193-1208, 1990.

INGLEZAKIS, V. J.; POULOPOULOS, S. G. Adsorption, ion exchange, and catalysis. In: INGLEZAKIS, V. J.; POULOPOULOS, E. S. G. (Ed.). **Adsorption, ion exchange and catalysis: design of operations and environmental applications**. Amsterdam: Elsevier, 2006. p.31-56.

KÄMPF, N.; SCHEINOST, A. C.; SCHULZE, D. G. Oxide minerals. In: SUMNER, M. E. **Handbook of soil science**. Athens, GA: University of Georgia, 2000. p. 125-168.

KHAN, A.; SOLTANPOUR, P. N. Effect of wetting and drying on DTPA- EXTRACTABLE. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, 1978. v. 9, p. 193-202.

KRAUSKOPF, K. B. Geochemistry of micronutrients. In: MORTVEDT, J. J. (Ed.). **Micronutrients in agriculture**. Madison: Soil Science Society of America, 1972. p. 7-40.

KRUG, F. J.; NÓBREGA, J. A. A sequência analítica. In: KRUG, F. J. (Ed.). **Métodos de preparo de amostras: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar**. Piracicaba: Edição do autor, 2008. cap. 1, p. 1-12.

KRUG, F. J.; NÓBREGA, J. A.; OLIVEIRA, E.; MATIAS, T. B. In: KRUG, F. J. (Ed.). **Métodos de preparo de amostras: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar**. Piracicaba: Edição do autor, 2008. cap. 5, p. 141-183.

LINDSAY, W. L. Inorganic phase equilibria of micronutrients in soils. In: MORTVEDT, J. J. (Ed.). **Micronutrients in agriculture**. Madison: Soil Science Society of America, 1972. p. 41-57.

LINDSAY, W. L.; NORVELL, W. A. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese, and copper. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v.42, p.421-428, 1978.

MACKAY, K. M.; MACKAY, R. A. **Introducción a la química inorganica moderna**. Barcelona: Reverté, 1974. p.530. ISBN-84-291-7329-3.

MAKINO, T.; HASEGAWA, S.; SAKURAI, Y.; OHNO, S.; UTAGAWA, H.; MAEJIMA, Y.; MOMOHARA, K. Influence of soil-drying under field conditions on exchangeable manganese, cobalt, and copper contents. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v. 46, p. 581-590, 2000.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: Potafós, 1997. p. 319.

MARTIN, J.P. Use of acid, rose bengal and streptomycin in the plate method for estimating soil fungus. **Soil Science**, Baltimore, v. 69, p.215-232, 1950.

MEHLICH, A. Mehlich-3 soil test extractant: A modification of Mehlich-2 extractant. **Soil Science and Plant Analysis**, New York, v.15, p.1409-1416, 1984.

MIYAZAWA, M.; PAVAN, M. A. Disponibilidade do manganês no solo: dificuldades e problemas na interpretação da análise para fins de fertilidade. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 8, n. 3, p. 285-289, 1984.

MIYAZAWA, M.; PAVAN, M. A.; MARTIN NETO, L. Provável mecanismo de liberação do Manganês no solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 28, n. 6, p. 725-731, 1993.

MIYAZAWA, M.; PAVAN, M. A.; BLOCH, M. F.; MARTIN NETO, L.; ARAÚJO, A. R. de. Efeitos da temperatura de secagem do solo e extratores na solubilidade do manganês. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 15, p. 225-227, 1991.

McKENZIE, R. M.; GILKES, R. J. Geochemistry and mineralogy of manganese in soils. In: GRAHAM, R. D.; HANNAM, R. J.; UREN, N. C. **Manganese in soil and plants**. Dordrech: Kluwer Academic, 1988. p. 23-35.

NELSON, D. W.; SOMMERS, L. E. Total carbon, organic carbon, and organic matter. In: SPARKS, D. L.; PAGE, A. L.; HELMKE, P. A.; LOEPPERT, R. H.; SOLTANPOUR, P. N.; TABATABAI, M. A.; JOHNSTON, C. T.; SUMNER, M. E. (Ed.). **Methods of soil analysis: Part 3 - Chemical methods**. Madison: Soil Science Society of America, 1996. p. 961-1010.

NOGUEIRA, M. A.; CARDOSO, E. J. B. N. Interações microbianas na disponibilidade e absorção de manganês por soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 37, n. 11, p. 1605-1612, 2002.

NOGUEIROL, R. C.; NOGUEIROL, R. C.; ALLEONI, L. R.; NACHTIGALL, G. R.; DE MELO, G. W. Sequential extraction and availability of copper in Cu fungicideamended vineyard soils from Southern Brazil. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 181, n. 1-3, p. 931-937, 2010.

OADES, J. M. An introduction to organic matter in mineral soils. In: DIXON, J. B.; WEED, S. B. (Ed. 2). **Minerals in soil environments**. Madison: Soil Science Society of America, 1989. p. 89-159.

OLIVEIRA JUNIOR, J. A.; MALAVOLTA, E.; CABRAL C. P. Efeitos do manganês sobre a soja cultivada em solo do cerrado do triângulo mineiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 35, n. 8, p. 1629-1636, 2000.

PAGANINI, É. R.; MANZINI, F. F.; PLICAS, L. M. de. Comportamento da concentração do metal manganês no solo de acordo com a sazonalidade. **Fórum Ambiental da Alta Paulista**, Tupã, v.11, n.8, p. 42-56, 2015.

PONNAMPERUMA, F. N. Chemistry of submerged soils. **Advances in Agronomy**, Amsterdam, 1972. v. 24, p. 29-96.

RAURET, G. et al. Improvement of the BCR three step sequential extraction procedure prior to the certification of new sediment and soil reference materials. **Journal of Environmental Monitoring**, Cambridge, 1999. v. 1, n. 3, p. 57–61.

REDDY, K. R.; DELAUNE, R. D. **Biogeochemistry of Wetlands: science and applications**. Boca Raton: CRC Press, 2008.

REIFF, S. C.; LAVERNE, J. A. Radiolysis of water with aluminum oxide surfaces. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 131, p. 46-50, 2016.

ROBINSON, B.; BOLAN, N.; MAHIMAIRAJA, S.; CLOTHIER, B. Solubility, mobility, and bioaccumulation of trace elements: abiotic processes in the rhizosphere. In: **Trace elements in the environment: Biogeochemistry, biotechnology and bioremediation**. London: Taylor & Francis, 1998. p. 97-110.

RODRIGUES, J. E. F. S.; ROSA, W. S.; FERRER; M. M.; CUNHA; T. R.; ZAPATA; M. J. M.; SABRANO J. R.; MARTINEZ, J. L.; PIZANI, P. S.; ALONSO, J. A.; HERNANDES, A. C.; GONÇALVES, R. V. Spin-phonon coupling in uniaxial anisotropic spin-glass based on Fe<sub>2</sub>TiO<sub>5</sub> pseudobrookite. **Journal of Alloys and Compounds**, Amsterdam, v. 799, p. 563-572, 2019.

ROSOLÉM, C. A.; BESSA, M. A.; AMARAL, P. G. do; PEREIRA, H. F. M. Manganês no solo, sua avaliação e toxidez de Manganês em soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 27, n. 2, p. 277-285, 1992.

SALLA, J. S. **Nanopartículas de óxido de manganês e alumínio aplicadas como catalisadores na ozonização de ácidos húmicos**. 2017. 108 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.

SANTOS, E. F.; KONDO SANTINI, J. M. ; PAIXÃO, A. P.; JÚNIOR, E. F.; LAVRES J.; CAMPOS, M.; REIS, A. R. Physiological highlights of manganese toxicity symptoms in soybean plants: Mn toxicity responses. **Plant Physiology and Biochemistry**., New York, v.113, p.6-19, 2017.

SCHLABITZ, C.; OLIVEIRA, E. C. Determinação de minerais disponíveis em solo. **Revista Destaques Acadêmicos**, Lajeado, v. 1, n. 4, p. 51-57, 2009.

SCHULTEN, H. R.; SCHNITZER, M. Chemical model structure for soil organic matter and soils. **Soil Science**, Baltimore, v. 162, n. 2, p. 115-130, 1993.

SHUMAN, L. M. Fractionation method for soil microelements. **Soil Science**, Baltimore, v.140, p.11-22, 1985.

SIMPSON, A. J. Determining the molecular weight, aggregation, structures and interactions of natural organic matter using diffusion ordered spectroscopy. **Magnetic Resonance in Chemistry**, Chichester, v. 40, p. 572-582. 2003.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de análise instrumental**. 5. ed. São Paulo: Bookman, 2002.

SOBRINHO, N. M. B. A.; BARRA, C. M.; LÃ, O. R. Química dos metais pesados no solo. In: MEL, V. F.; ALLEONI, L. R. F. (Ed.). **Química e mineralogia do solo**. Parte II: Aplicações. Viçosa: SBCS, 2009. cap. 16, p. 249-312.

STEVENSON, F. J. **Humus chemistry**: genesis, composition, reactions. 2. ed. New York: John Willey, 1994. p. 496.

SMITH, K. A. Manganese and cobalt. In. ALLOWAY, B. J. **Heavy metals in soils**. London: Chapman & Hall, 1990. p. 197-220.

TESSIER, A.; CAMPBELL, P. G. C.; BISSON, M. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. **Analytical Chemistry**, Washington, DC, v. 51, n. 7, p. 844-851, 1979.

USEPA. **Method 3051a** - Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils, and oils: SW-846. Washington, DC, 2007. 30 p.

VAN VEEN, W. L. Biological oxidation of manganese in soils. *Antonie van Leeuwenhoek J. Microbiology and Serology*. v. 39, p.657-662, 1973.

VEZZANI, F. M.; MIELNICZUK, J. **O solo como sistema**. Curitiba: Edição dos autores, 2011. p.104.

VOSS, M.; POTTKER, D. Estresses ocasionados por deficiências de nutrientes e por elementos tóxicos. In. BONATO, E. R. Estresses em soja. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2000. p. 254.

ZHANG, Z., ZHANG, Z., CHEN, H., LIU, J., LIU, C., NI, H., ZHAO, C., ALI, M., LIU, F. & LI, L. Surface Mn(II) oxidation actuated by a multicopper oxidase in a soil bacterium leads to the formation of manganese oxide minerals. **Scientific Reports**, London, v.5, p. 10895, 2015.

WANG, Z.; WANG, J.; LIU, J.; CHEN, L.; LI, M.; LI, L. Mechanistic insights into manganese oxidation of a soilborne Mn(II)-oxidizing *Escherichia coli* strain by global proteomic and genetic analyses. **Scientific Reports**, London, v.7, p. 1352, 2017.

WEDEPOHL, K. H. **Handbook of geochemistry**. Berlin: Springer-Verlag, 1978.

YATSIMIRSKII, K. B.; VASIL'EV, V. P. **Instability constants of complex compounds**. New York: Consultants Bureau Enterprises, 1960. p.214.