

**INSTITUTO AGRONÔMICO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
AGRICULTURA TROPICAL E SUBTROPICAL**

**FORNECIMENTO DE MICRONUTRIENTES E
BIOESTIMULANTE APLICADOS VIA *DRENCH* EM
POMARES RECÉM-PLANTADOS DE CITROS**

RAJA YAMMA RODRIGUES SOUZA

Orientador: Dr. Rodrigo Marcelli Boaretto

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical e Subtropical do Instituto Agronômico, como requisito parcial para a obtenção do **título de Mestre**, na área de concentração Sistemas de Manejo e Qualidade Ambiental.

Campinas - SP
2026

Ficha elaborada pela bibliotecária do Seção de Documentação Científica do Instituto Agrônômico

S729f Souza, Raja Yamma Rodrigues

Fornecimento de micronutrientes e bioestimulante aplicados via drench em pomares recém-plantados de citros./ Raja Yamma Rodrigues Souza. Campinas, 2026. 39fls.

Orientador: Rodrigo Marcelli Boaretto

Dissertação (Mestrado) Agricultura Tropical e Subtropical – Instituto Agrônômico

1. *Citrus sinensis*. 2. Antioxidantes. 3. Aplicação via solo. 4. Estresse oxidativo. 5. manejo nutricional. I. Boaretto, Rodrigo Marcelli II. Título

CDD.631.816



GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS
INSTITUTO AGRONÔMICO



Pós-Graduação – Agricultura Tropical e Subtropical
Reconhecimento Homologado pela Portaria MEC Nº 609 de 14/03/2019 - D.O.U. 18/03/2019


ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aos 25 de março de 2026, às 09h00, reuniu-se a banca examinadora homologada pelo Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical e Subtropical, composta pelos membros abaixo listados visando à defesa de dissertação de mestrado de Raja Yamma Rodrigues Souza, para obtenção do título de "MESTRE", conforme Processo SAA nº PRT6925/2024-52. A sessão presidida pelo Prof. Dr. Rodrigo Marcelli Boaretto, orientador do aluno, foi realizada em sessão pública aberta. Iniciados os trabalhos, o candidato submeteu-se ao exame de sua dissertação, intitulada "Fornecimento de zinco, manganês e bioestimulante aplicados via *drench* em pomares recém-plantado de citros". Terminado o exame, procedeu-se ao julgamento, cujo resultado foi o seguinte:

Prof. Dr. Rodrigo Marcelli Boaretto - IAC	APROVADO <input checked="" type="checkbox"/>	REPROVADO ()
Prof. Dr. Fernando César Bachiega Zambrosi - IAC	APROVADO <input checked="" type="checkbox"/>	REPROVADO ()
Prof. Dr. Eduardo Fermino Carlos - SSagrado	APROVADO <input checked="" type="checkbox"/>	REPROVADO ()

Apurados os resultados, constatou-se que o candidato foi habilitado, fazendo jus, portanto, ao título de "MESTRE EM AGRICULTURA TROPICAL E SUBTROPICAL", na área de concentração: Sistema de Manejo e Qualidade Ambiental, do que, para constar, lavrou-se a presente ata, assinada pelos membros da comissão examinadora:


Prof. Dr. Rodrigo Marcelli Boaretto - IAC


Prof. Dr. Fernando César Bachiega Zambrosi - IAC


Prof. Dr. Eduardo Fermino Carlos - SSagrado

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Rodrigo Marcelli Boaretto, pela orientação, ensinamentos, oportunidade, confiança e apoio durante todo o desenvolvimento deste trabalho.

À CAPES pelo financiamento do projeto e concessão da bolsa (projeto n° 88887.949353/2024-00)

Aos meus familiares, pelo amor, compreensão e apoio ao longo desta jornada. Em especial, à minha mãe, Patrícia, ao meu pai, Valdeci, à minha irmã, Naíla, à minha madrinha, Celi, ao meu padrinho, Hamilton, e a minha namorada Julia pelo incentivo constante, pelos exemplos de dedicação e honestidade e por sempre acreditarem em mim.

Aos meus amigos, agradeço o apoio, incentivo e companheirismo ao longo desta trajetória. A convivência e a parceria de vocês foram fundamentais para tornar este percurso mais leve e enriquecedor.

Aos servidores e colaboradores do Centro de Citricultura, pelo suporte técnico, auxílio nas atividades experimentais e pela disposição em contribuir para a execução deste trabalho.

Aos amigos e colegas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, meu sincero agradecimento.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE TABELAS	viii
RESUMO	ix
ABSTRACT	x
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	2
2.1 A citricultura.....	2
2.2 Estratégias de manejo de Zn e Mn em citros.....	2
2.3 Zn e Mn no solo.....	3
2.4 Zn e Mn na planta.....	4
2.5 Bioestimulante.....	5
2.6 Drench	6
3 HIPÓTESE.....	8
4 OBJETIVO	8
4.1 Objetivo geral.....	8
4.2 Objetivos específicos.....	8
5 MATERIAL E MÉTODOS	8
5.1 Delineamento experimento 1: Avaliação de doses de Zn e Mn via <i>drench</i>	9
5.2 Delineamento experimento 2: Efeito de bioestimulantes aplicados via <i>drench</i> no fornecimento de zinco e manganês em pomares jovens de citros.....	10
5.3 Características do solo.....	10
5.4 Análises experimento 1 e 2	11
5.5 Análise de solo	11
5.6 Teor de nutrientes	12
5.7 Análises de crescimento	12
5.8 Pigmento fotossintéticos.....	12
5.9 Enzimas antioxidantes e estresse oxidativo.....	12
5.9.1 Extrato enzimático	12
5.9.2 Determinação de proteínas	13
5.9.3 Determinação da superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1).....	13
5.9.4 Determinação da catalase (CAT, E.C. 1.11.1.6).....	14
5.9.5 Determinação da Peroxidase (POD, EC 1.11.1.7).....	14
5.9.6 Determinação do conteúdo de malondialdeído (MDA).....	14
5.9.7 Determinação do conteúdo de peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂).....	14

5.10	Forma de análise dos resultados	15
6	RESULTADOS	16
6.1	Experimento 1	16
6.1.1	Fertilidade do solo, estado nutricional e crescimento das plantas	16
6.1.2	Pigmentos fotossintéticos	22
6.1.3	Enzimas antioxidantes e estresse oxidativo	22
6.2	Experimento 2	24
6.2.1	Fertilidade do solo, estado nutricional e crescimento das plantas	24
6.2.2	Pigmentos fotossintéticos	27
6.2.3	Enzimas antioxidantes e estresse oxidativo	28
7	DISCUSSÃO	30
7.1	Experimento 1	30
7.2	Experimento 2	32
8	CONCLUSÃO	33
9	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Aplicação de inseticida sistêmico via <i>drench</i> em pomar jovem de laranaja Valencia.	7
Figura 2 - Pomar de laranaja Valencia enxertada em citrandarim 1711, implantado em 2024 no Centro de Citricultura Sylvio Moreira, município de Cordeiropolis – SP.	9
Figura 3 - Amostragem do solo realizado a 20cm (dentro da area de molhamento do dench) e 40cm de distrancia do caule.realizado em pomar de laranaja Valencia enxertada em citrandarim 1711, implantado em 2024 no Centro de Citricultura Sylvio Moreira, município de Cordeiropolis – SP.....	11
Figura 4 - Concentração de Mn e Zn solo nas camadas de 0 a 20 (A e C) e 20 a 40 cm (B e D) de profundidade, coletado a 20cm de distância do caule.	16
Figura 5 - Concentração de Mn e Zn solo nas camadas de 0 a 20 (A e C) e 20 a 40 cm (B e D) de profundidade, coletado a 40cm de distância do caule.	19
Figura 6 - Teor de Mn e Zn nas folhas novas (A e B) e velhas (C e D) em laranjeiras ‘Valência’.	20
Figura 7 - Altura de planta (A), Diâmetro de copa (B), Diâmetro do caule (C) e Volume de copa (D) de laranjeiras ‘Valência’.....	21
Figura 8 - Clorofila a (A), b (B), total (C), relação clorofila a/b (D), carotenóides (E) e relação clorofila total e carotenódies (F) de laranjeiras ‘Valência’.	22
Figura 9 - Parâmetros relacionados ao metabolismo oxidativo em plantas de laranja ‘Valência’ submetidas à aplicação de doses de Zn + Mn e via <i>drench</i> . Proteína total (A), atividade da superóxido dismutase (SOD, B), catalase (CAT, C), peroxidase (POD, D), peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂ , E) e malondialdeído (MDA, F).....	23
Figura 10 – Disponibilidade de Mn e Zn em solo submetido à aplicação de Zn + Mn e bioestimulantes via <i>drench</i> . Concentração de Mn e Zn solo nas camadas de 0 a 20 (A e C) e 20 a 40 cm (B e D) de profundidade, coletado a 20cm de distância do caule.....	25
Figura 11 - Concentração foliar de Mn e Zn em plantas de laranja ‘Valência’ submetidas à aplicação de Zn + Mn e bioestimulantes via <i>drench</i> . Teor de Mn e Zn nas folhas novas (A e C) e velhas (B e D).	26
Figura 12 - Medidas de crescimento de plantas de laranja ‘Valência’ submetidas à aplicação de Zn + Mn e bioestimulantes via <i>drench</i> . Altura de planta (A), Diâmetro de copa (B), Diâmetro do caule (C) e Volume de copa (D).....	27

Figura 13 - Teores de pigmentos fotossintéticos em plantas de laranja ‘Valência’ submetidas à aplicação de Zn + Mn e bioestimulantes via *drench*. Clorofila *a* (A), Clorofila *b* (B), Clorofila total (C), Relação Clorofila *a/b* (D), Carotenoides (E) e Relação Clorofila total/Carotenoides (F).28

Figura 14 – Parâmetros relacionados ao metabolismo oxidativo em plantas de laranja ‘Valência’ submetidas à aplicação de Zn + Mn e bioestimulantes via *drench*. Proteína total (A), atividade da superóxido dismutase (SOD, B), catalase (CAT, C), peroxidase (POD, D), peróxido de hidrogênio (H₂O₂, E) e malondialdeído (MDA, F).....30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Descrição dos tratamentos do Experimento 1, doses de Zn e Mn aplicados via <i>drench</i> em pomar jovem de laranjeira Valência.	9
Tabela 2. Descrição dos tratamentos do Experimento 2, fator Zn + Mn combinado com fator bioestimulante, aplicados em pomar jovem de laranjeira Valência.	10
Tabela 3. Características químicas do solo de pomar de laranja Valencia, localizado no Centro de Citricultura Sylvio Moreira, Cordeirópolis – SP, pré-implantação experimental nas profundidades 0-20 e 20-40cm.	11
Tabela 4 – Atributos químicos do solo na camada de 0–20 cm, coletado a 20 cm do caule das plantas, abrangendo matéria orgânica (M.O.), pH, P, K, Ca, Mg, H+Al, soma de bases (S.B.), capacidade de troca catiônica (C.T.C.), saturação por bases (V%) e teores de B, Cu e Fe.....	17
Tabela 5 - Atributos químicos do solo na camada de 20-40 cm, coletado a 20 cm do caule das plantas, abrangendo matéria orgânica (M.O.), pH, P, K, Ca, Mg, H+Al, soma de bases (S.B.), capacidade de troca catiônica (C.T.C.), saturação por bases (V%) e teores de B, Cu e Fe.....	18
Tabela 6 - Teor de macro e micronutrientes nas folhas novas e velhas de laranjeiras ‘Valência’ sob aplicação de doses de Zn e Mn.	20

Fornecimento de micronutrientes e bioestimulante aplicados via *drench* em pomares recém-plantado de citros

RESUMO

No Brasil, zinco (Zn) e manganês (Mn) estão entre os micronutrientes que mais limitam a produção dos citros, pelos baixos teores no material de origem do solo e pela alta adsorção que ocorre na matriz coloidal do solo. A prevenção ou correção de sua deficiência é usualmente realizada pela aplicação dos micronutrientes via foliar. Entretanto, alguns estudos indicam que a aplicação via solo pode trazer respostas positivas na construção da fertilidade do solo e nos teores dos nutrientes na planta. O uso de bioestimulantes também pode promover respostas fisiológicas e bioquímicas, e sua utilização junto à aplicação de micronutrientes pode trazer benefícios na disponibilização e assimilação de nutrientes. A aplicação de inseticidas sistêmicos via *drench* em pomares de citros abriu uma nova possibilidade de fornecimento de compostos como micronutrientes e bioestimulantes, misturados com o defensivo. Assim, o objetivo do trabalho foi estudar uma nova estratégia de fornecimento de micronutrientes e os efeitos de bioestimulantes nesse processo, de modo a contribuir com ajustes nas atuais recomendações na produção citrícola. Desse modo, foram testadas duas hipóteses: (i) o fornecimento de Zn e Mn via *drench* contribuiria para a construção da fertilidade do solo; e (ii) a aplicação de Zn, Mn e bioestimulantes via *drench* favoreceria o estado nutricional e os parâmetros fisiológicos e bioquímicos de plantas de citros. Para isso, foram conduzidos dois experimentos em delineamento de blocos inteiramente casualizados. O primeiro utilizando diferentes doses de Zn e Mn aplicados via *drench*, e o segundo diferentes tipos de bioestimulantes, na presença e ausência de uma dosagem de Zn e Mn (fatorial 2×3), aplicados via *drench*. Foram realizadas análises de nutrientes no solo, teor nas folhas, crescimento, teor de clorofila a e b, carotenoides, atividade de enzimas antioxidantes, teor de malondialdeído e peróxido de hidrogênio. A aplicação de Zn e Mn via *drench* foi eficiente no aumento dos teores disponíveis no solo; entretanto, não houve diferenças nos teores desses elementos nas folhas, no crescimento e nas demais análises de teor de pigmentos e bioquímicas. O uso de bioestimulantes promoveu o aumento da atividade da catalase; entretanto, esse resultado foi isolado das demais avaliações. Deste modo, concluímos que o fornecimento de Zn e Mn via *drench* é eficiente na construção da fertilidade do solo. O uso de bioestimulantes não promoveu a absorção de Zn e Mn, não havendo efeito sinérgico entre esses fatores.

Palavras-chave: *Citrus sinensis*, antioxidantes, aplicação via solo, estresse-oxidativo, manejo nutricional.

Supply of micronutrients and biostimulants applied via drench in young citrus orchards

ABSTRACT

In Brazil, zinc (Zn) and manganese (Mn) are among the micronutrients that most limit citrus production due to their low concentrations in the parent material of soil and the high adsorption that occurs in the soil colloidal matrix. The prevention or correction of their deficiency is usually carried out through foliar application of micronutrients. However, some studies indicate that soil application may provide positive responses in building soil fertility and increasing nutrient concentrations in plants. The use of biostimulants can also promote physiological and biochemical responses, and their combined use with micronutrient application may bring benefits in nutrient availability and assimilation. The application of systemic insecticides via drench in citrus orchards has opened a new possibility for supplying compounds such as micronutrients and biostimulants, mixed with crop protection products. Thus, the objective of this study was to evaluate a new strategy for micronutrient supply and the effects of biostimulants in this process, aiming to contribute to adjustments in current recommendations for citrus production. Accordingly, two hypotheses were tested: (i) the supply of Zn and Mn via drench would contribute to the build-up of soil fertility; and (ii) the application of Zn, Mn, and biostimulants via drench would improve the nutritional status and physiological and biochemical parameters of citrus plants. To this end, two experiments were conducted in a completely randomized block design. The first experiment evaluated different doses of Zn and Mn applied via drench, and the second evaluated different types of biostimulants, in the presence and absence of a Zn and Mn dose (2×3 factorial), applied via drench. Soil nutrient analyses, leaf nutrient concentrations, plant growth, chlorophyll a and b contents, carotenoids, antioxidant enzyme activity, malondialdehyde content, and hydrogen peroxide levels were assessed. The application of Zn and Mn via drench was effective in increasing the available levels in the soil; however, there were no differences in the levels of these elements in the leaves, in plant growth, or in the other analyses of pigment content and biochemical parameters. The use of biostimulants promoted an increase in catalase activity; however, this response was isolated from the other evaluated parameters. Thus, it was concluded that the supply of Zn and Mn via drench is effective in building soil fertility. The use of biostimulants did not promote Zn and Mn uptake, and no synergistic effect was observed between these factors.

Keywords: *Citrus sinensis*, antioxidants, soil application, oxidative stress, nutritional management.

1 INTRODUÇÃO

Pomares jovens de citros frequentemente apresentam sintomas visuais de deficiência de micronutrientes, principalmente zinco (Zn) e manganês (Mn) (Boaretto et al., 2020). O Zn e Mn são nutrientes, que desempenham funções essenciais em diferentes processos no metabolismo das plantas, como as reações redox, fotossíntese e respiração, participando de diversas proteínas de forma estrutural, como ligante ou sendo transportados (Hansch et al., 2009). De forma geral, o fornecimento desses micronutrientes em pomares de citros é realizado via adubação foliar, devido a facilidade de aplicação junto as operações de controle fitossanitário e a menor interação desses cátions com a matriz coloidal do solo, sendo recomendada de 4 a 6 aplicações foliares por ano desses nutrientes (Quaggio et al., 2022). Contudo, resultados recentes de pesquisas demonstraram respostas a longo prazo da aplicação desses micronutrientes no solo, as quais são dependentes da interação do micronutriente com a matriz coloidal do solo, das fontes e doses do fertilizante, cujas informações são importantes para o entendimento e formulação de novas recomendações do manejo dos citros (Hippler et al., 2015; Boaretto et al., 2023).

De forma geral, o fornecimento de micronutrientes ocorre em conjunto com outras práticas culturais, como por meio de defensivos (inseticidas, fungicidas e outros), herbicidas, água de irrigação, ou juntamente com o fertilizante de base (Quaggio et al., 2022). O avanço do greening (HLB), principal doença encontrada na citricultura brasileira (Fundecitrus, 2025b) intensificou o manejo fitossanitário nos pomares, a fim de prevenir a infecção de plantas jovens, o uso de inseticidas sistêmicos tem sido adotado como ferramenta para controle do psilídeo, visto que possui um longo período de controle e menor impacto em insetos benéficos (Vieira et al., 2023; Miranda et al., 2021). Dessa forma, atualmente são recomendadas de três a quatro aplicações de inseticidas sistêmicos via *drench* (aplicação cuja calda é depositada no solo a um raio de 20cm do caule ou no tronco) a partir do intumescimento das gemas no início e durante o período chuvoso, o que também possibilita o fornecimento substâncias como micronutrientes e bioestimulante (Alquézar et al., 2022).

A aplicação de bioestimulantes a base de extrato de algas, pode modular a expressão gênica das plantas e como resultado, aumentar a absorção de nutrientes e tolerância a estresses a partir da modulação hormonal e estímulo à produção de compostos antioxidantes (Shukla et al., 2019; Saeger et al., 2020). Essas respostas são atribuídas a composição dos extratos que pode conter substâncias como fitoreguladores, proteínas, aminoácidos, açúcares entre outros compostos que podem promover diferentes respostas fisiológicas e bioquímicas (Choulot et

al., 2023; Ramos et al. 2023). Apesar dessas evidências, os efeitos dos bioestimulantes sobre a absorção de micronutrientes via solo ainda são inconsistentes, especialmente em culturas perenes como a citricultura.

Assim, dadas características do Zn e Mn, e a possibilidade de melhorar os parâmetros fisiológicos e bioquímicos como crescimento, absorção de nutrientes e atividade antioxidante das plantas pela aplicação de bioestimulantes, vê-se a necessidade da ampliação dos trabalhos sobre o estudo da eficiência das aplicações destes via solo. A aplicação de inseticida via *drench* abriu mais uma possibilidade de fornecimento de micronutrientes, para a citricultura, entretanto, ainda não existe na literatura resultados de pesquisas demonstrando sua eficiência, especialmente quando combinado com bioestimulantes.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A citricultura

Os citros estão entre as frutíferas mais cultivadas do mundo (Li et al., 2025). O Brasil é atualmente o maior produtor mundial de laranja, com estimativa de safra para o ciclo 2025/2026 de 314,6 milhões de caixas (Fundecitrus, 2025a), o que demonstra a importância do setor no agronegócio nacional. No Brasil, os citros são produzidos majoritariamente no ‘Cinturão Citrícola’, uma área de mais de 400 mil hectares distribuídos entre o estado de São Paulo e Triângulo/Sudeste de Minas Gerais, cuja produção contempla tanto o mercado de frutas de mesa como o de sucos naturais (NFC) e concentrados (FCOJ) (Angelo et al., 2023; Kist et al., 2023; IBGE, 2024).

Nos últimos 30 anos a produtividade média dos pomares no cinturão citrícola passou de 400 caixas/ha para aproximadamente a 1000 caixas/ha (Fundecitrus, 2025a). Este aumento de produtividade dos pomares citrícolas está relacionado, principalmente, a adoção de novos manejos nos pomares, como mudanças no preparo do solo durante a implantação do pomar, adensamento de plantio, utilização de fertirrigação, combinações de copa e porta enxerto, manejo fitossanitário e nos ajustes das recomendações de adubação (Boaretto et al, 2020). Nesse contexto, em pomares de alta produtividade a exigência por micronutrientes se torna cada vez mais imperativa, o que justifica a busca por novas estratégias de manejo destes nutrientes.

2.2 Estratégias de manejo de Zn e Mn em citros

A alta produtividade e qualidade dos frutos cítricos dependem do suprimento adequado de macro e micronutrientes (Krug et al., 2023), a partir da otimização de estratégias de manejo nutricional, que permitam definir de forma mais eficiente as épocas de aplicações, o local

correto de aplicação, as fontes a serem aplicadas de cada fertilizante e as doses corretas (Quaggio et al., 2022). A seleção de variedades mais produtivas, associada à intensificação dos sistemas de produção e ao conseqüente aumento da extração de nutrientes, tem intensificado a manifestação de deficiências de micronutrientes, como Zn e Mn, especialmente em solos com baixa concentração desses elementos e elevada interação com a matriz coloidal (Hippler et al., 2015; Xu et al., 2025).

Comumente, o manejo de micronutrientes, como Zn e Mn, em pomares de citros é realizado a partir do uso de fontes solúveis, aplicadas via foliar, associado ao manejo fitossanitário (Boaretto et al., 2023). Contudo, devido à baixa mobilidade dos micronutrientes nos tecidos vegetais, essa prática demanda reaplicações frequentes o que impõe limitações visto que a ocorrência de pulverizações é feita de acordo com o planejamento fitossanitário e não a necessidade nutricional, além disso essa forma de aplicação restringe às doses utilizadas, a fim de prevenir efeitos de fitotoxicidade e estresse salino (Macedo et al., 2017).

Além disso, as mudanças recentes no manejo de defensivos, vem reduzindo o volume de calda de pulverização nas aplicações de defensivos, o que conseqüentemente reduz as quantidades de micronutrientes aplicadas (Macedo et al., 2017). Nesse sentido, esse cenário tem contribuído para o aumento da de deficiências nutricionais, especialmente de Zn e Mn, evidenciando a necessidade de novas estratégias de manejo que assegurem o suprimento adequando desses elementos em sistemas citrícolas intensivos (Boaretto et al., 2020).

2.3 Zn e Mn no solo

O Zn e o Mn são micronutrientes metálicos absorvidos pelas plantas principalmente na forma de cátions divalente (Zn^{2+} e Mn^{2+}), dada sua maior solubilidade. No solo o contato ion-raiz desses cátions é feito principalmente por difusão e fluxo de massa o que torna o processo dependente de água (Kabata-Pendias, 2000; Alloway, 2008; Rengel et al., 2022). A disponibilidade de Zn e Mn no solo é regulada por outros fatores como o pH, cuja disponibilidade de Zn e de Mn é aumentada ao passo que a acidez aumenta; e a interação com a matriz coloidal do solo, que tende a adsorver esses elementos (Millaleo et al., 2010; Gupta et al., 2016). A adsorção de Zn e Mn na matriz coloidal do solo ocorre com maior intensidade em solos argilosos, dada a alta reatividade das partículas, e em solos ricos em óxido e hidróxidos de ferro (Fe) e alumínio (Al), devido a formação de complexos que indisponibilizam os nutrientes (González-Costa et al., 2017; Moreno-Lora & Delgado, 2020). Desse modo, a resposta das plantas ao fornecimento de diferentes fontes de Zn e Mn pode variar de acordo com tipo de solo.

Vitti et al. (1993) constataram que em solo arenoso a aplicação Zn e Mn via solo, a partir do uso de fontes silicáticas, combinada com a aplicação foliar (Zn e Mn quelatados), aumentou as concentrações de Zn e Mn no solo e nas folhas em comparação as aplicações individuais via solo e foliar. Hippler et al. (2015) observaram em plantas de laranjeira que a aplicação de Zn e Mn no solo, aumentou a disponibilidade destes nutrientes no solo e seus teores nas folhas. Esses mesmos autores observaram ainda que, a aplicação de fontes solúveis (sulfato) de Zn e Mn em solos arenosos aumentou disponibilidade de Zn e Mn, em comparação a disponibilidade desses nutrientes em solos argilosos, o que está relacionado a alta adsorção desses elementos em solos argilosos.

Apesar do Zn ter baixa mobilidade no floema, e consequentemente baixa capacidade de redistribuição (Sartori et al., 2008), Boaretto et al. (2023) constataram em experimento conduzido em pomar comercial de citros por 4 anos, que a construção de reservas de Zn no sistema solo-planta tanto em aplicações via foliar como via solo, é uma estratégia que contribui para o fornecimento deste nutriente para os novos fluxos de crescimento. Em cultivo protegido as doses com melhor respostas foram as de 0,7 g/planta de Mn e 1 g/planta Zn, entretanto, ainda não se sabe a eficiência destas doses a campo (Hippler et al., 2015).

2.4 Zn e Mn na planta

Os sintomas de deficiência de Zn e Mn apresentam semelhanças, caracterizados, principalmente, pela clorose internerval dos tecidos foliares (Alloway, 2008). No caso do Zn, ocorre a redução do tamanho das folhas, associada à inibição da síntese do ácido indolacético (AIA) (Alloway, 2008; Cakmak et al., 1989).

A absorção de Zn^{2+} e Mn^{2+} é dependente de água, dados os mecanismos de contato ion-raiz. A exsudação radicular de açúcares, proteínas, aminoácidos, ácidos orgânicos e prótons também possui papel no aumento da disponibilidade de Zn e Mn, pela acidificação da região rizosférica, formação de complexos solúveis e consequente aumento capacidade de absorção desses elementos pelas plantas (Gupta et al., 2016).

O Zn é absorvido pelas plantas de forma passiva, utilizando água como solvente, e pela diferença do gradiente eletroquímico entre as células da membrana plasmática (Broadley et al., 2007). O influxo de Zn é favorecido pela hiperpolarização das células da membrana plasmática da raiz, promovida pela H^+ -ATPase, e o transporte ocorre através de proteínas de transporte específicas e pelos canais não seletivos de cátions (Ex. ZIP, NRAMP, IRT e ZNT) (Gupta et al., 2016; Clemens et al., 2002). De forma similar, a absorção de Mn^{2+} ocorre por transportadores não seletivos de cátions, localizados na membrana plasmática das células

radiculares, incluindo membros das famílias NRAMP, ZIP e IRT, os quais são regulados em resposta às condições de disponibilidade do elemento no solo (Alejandro et al., 2020; Clemens et al., 2002).

Ao serem absorvidos, o Zn e o Mn atuam nas plantas em diversos processos metabólicos como cofatores enzimáticos, reações redox, fotossíntese, respiração celular, entre outros (Hansch et al., 2009). O Zn participa de cerca de 1200 proteínas na forma estrutural, como ligante ou sendo transportado, entre elas enzimas envolvidas na regulação da transcrição de DNA, processamento de RNA, além de compor oxireductases, enzimas hidrolíticas (Kramer & Clemens, 2005). O Mn também possui participação em diferentes classes de proteínas com 2 funções principais em enzimas, receber pares de elétrons e atuar como catalizador de oxidação (Rengel et al., 2022). Além disso, ambos os elementos são exigidos em processos de produção de energia. O Zn é utilizado na ativação de enzimas proteolíticas dentro dos cloroplastos, por exemplo, durante o processo de reparação da proteína D1 danificada pela luz (Bailey et al., 2002). O Mn possui papel como precursor na síntese de clorofila e no complexo de evolução do oxigênio, no qual oxidação da água no fotossistema II, é dependente de enzimas com Mn (Fischer et al., 2015; Willows, 2007). Portanto, a deficiência desses micronutrientes pode comprometer mecanismos bioquímicos e fisiológicos, tornando as plantas mais suscetíveis a diferentes condições de estresse (Cakmak, 2000). O Zn e Mn também possuem papel em enzimas que atuam na defesa do estresse oxidativo como superóxido dismutase (SOD; EC 1.15.1.1), responsável por catalisar a conversão da espécie reativa de oxigênio superóxido ($O_2^{\cdot-}$) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e água (H_2O), e que possui isoformas que utilizam o Zn (Zn-SOD) e Mn (Mn-SOD; Stephenie et al. 2020).

2.5 Bioestimulante

No Brasil, bioinsumo é definido como produto, processo ou tecnologia que utiliza como matéria prima recursos biológicos e que produzem respostas positivas nos processos químicos, físicos ou biológicos dos organismos-alvo (Brasil, 2020). Entre os bioinsumos, os bioestimulantes são compostos que promovem diferentes respostas fisiológicas nas plantas dada sua composição, que pode conter aminoácidos, substância húmicas e fúvicas, fitorreguladores, entre outros (Ramos et al., 2023).

Diferentes espécies de algas podem ser utilizadas na composição de extratos de algas, como *Ascophyllum nodosum*, *Laminaria* spp., *Durvillaea* spp., *Ecklonia* spp., *Fucus* spp., *Macrosystis pyrifera*, *Lithothamnium calcareum* e *Solieria chordalis*, e as aplicações podem ser feitas de diferentes modos, via solo, via foliar ou no tratamento de sementes (Sible et al.,

2022). Alguns resultados de pesquisa relacionam a aplicação de bioestimulantes a respostas positivas na produção, qualidade de fruto e no conteúdo de massa de matéria seca, em plantas de maracujá, mamão, café e citros, ao estimular processos endógenos nas plantas (Teixeira et al., 2009; Souza et al., 2009; Moreira et al., 2012). Os bioestimulantes produzidos a partir de extratos de alga, promovem efeitos estimulantes mesmo quando aplicados em pequenas quantidades, devido a presença de compostos, como ulvans e agarans, que normalmente as plantas terrestres não teriam acesso (Sible et al., 2022). Além disso, esses bioestimulantes também fornecem compostos benéficos como ácidos graxos poli-insaturados, enzimas, peptídeos bioativos e fitorreguladores (Santos et al., 2023). Nesse sentido, a utilização de extrato de alga pode regular positivamente a expressão de genes responsáveis pela produção endógena de hormônios como auxinas (Rayorath et al., 2008), citocininas (Wally et al., 2013), ácido abscísico (Shukla et al., 2018), etileno (Subramanian et al., 2011).

Em condições ambientais estressantes como em restrição hídrica, salinidade e altas temperaturas ocorre a superprodução de espécies reativas de oxigênio (EROs). As EROs são moléculas instáveis que oxidam diferentes estruturas celulares nas plantas como as membranas celulares, os pigmentos fotossintéticos e os ácidos nucleicos e assim prejudicando diferentes processos metabólicos (Yan et al., 2015, Souza et al., 2025). A aplicação de extrato de alga está relacionada a atenuação de danos causados por estresses abióticos, a partir da alteração da morfologia da raiz, acúmulo de carboidratos, regulação osmótica, acúmulo de prolina e aumento da atividade de enzimas antioxidantes (Ali et al., 2021; Yildiztekin et al., 2018).

Além disso, o uso de bioestimulantes pode aumentar a absorção de nutrientes pelas plantas, dado o aumento do desenvolvimento do sistema radicular e modulação das respostas ao estresse, e consequente aumento da eficiência fisiológica e metabólica (Khoulati et al., 2025; Alebidi & Abdel-Sattar, 2024). Embora o setor de bioestimulantes esteja em crescimento e se posicione como uma alternativa sustentável aos insumos tradicionais, há desafios substanciais relacionados à eficácia variável entre produtos e à compreensão limitada de seus mecanismos de ação, justificando a ampliação de estudos sobre as respostas promovidas pelos bioestimulantes e sua interação com outros insumos de interesse, como os micronutrientes (Khoulati et al., 2025).

2.6 Drench

Diferentes métodos de controle fitossanitário são utilizados na citricultura, entre eles, o *drench*, método de aplicação no qual a calda é depositada em um raio de aproximadamente 20 cm de distância do caule da planta (Figura 1), é utilizado na aplicação de inseticidas sistêmicos

em pomares de citros em formação. Essa prática pode ser utilizada para a aplicação de bioestimulantes, fungicidas, inseticidas sistêmicos, entre outros produtos, em culturas como café e citros (Eshghi & Garazhian 2015; Torres et al., 2010; Vieira et al., 2023).



Figura 1 - Aplicação de inseticida sistêmico via *drench* em pomar jovem de laranja Valencia.

Atualmente, o greening (HLB) é o maior desafio da citricultura brasileira com incidência média de aproximadamente 47,63% das plantas do cinturão citrícola (Fundecitrus, 2025b). Essa doença é disseminada pelo psilídeo *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) e está relacionada à erradicação de mais de 50 milhões de árvores cítricas (Fundecitrus, 2025b). Dessa forma, é considerada a pior doença da citricultura mundial (Parra et al., 2022). Dentre as principais formas de controle, o controle químico é o principal método utilizado para mitigar a disseminação do vetor do HLB.

Atualmente a recomendação para controle do inseto é a aplicação periódica de inseticidas de contato via pulverização, além da aplicação de inseticidas sistêmicos neonicotinoides (imidacloprido ou tiametoxam) via solo ou tronco, de três a quatro vezes por ano, especialmente em pomares novos (Boinaa & Bloomquistb, 2015; Bassanezi et al., 2020). Entre as vantagens do uso de inseticidas sistêmicos via *drench* na citricultura destaca-se o maior período de controle de psilídeos quando comparado aos inseticidas de contato e o menor impacto nos inimigos naturais (Miranda et al., 2016).

As recomendações de aplicação via *drench* abriram uma alternativa para o fornecimento de outros compostos e nutrientes via solo. Tendo em vista que a aplicação de Zn, B e Cu via

drench, aumentou os teores disponíveis destes nutrientes no solo. (Umar et al. 2022). Desse modo, considerando o uso do drench na citricultura, e a necessidade de se aplicar micronutrientes junto a outros manejos agrícolas, este trabalho buscou investigar a viabilidade de se aplicar micronutrientes e bioestimulantes via drench em pomares recém implantados de laranja.

3 HIPÓTESE

As hipóteses do trabalho foram: (i) o fornecimento de Zn e Mn via drench poderá contribuir para a construção da fertilidade do solo; e (ii) a aplicação de Zn, Mn e bioestimulantes via drench poderá favorecer o estado nutricional e os parâmetros fisiológicos e bioquímicos de plantas de citros.

4 OBJETIVO

4.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos no solo e na planta de uma nova estratégia de aplicação de micronutrientes e bioestimulantes em pomar jovem de citros.

4.2 Objetivos específicos

- (i) Avaliar a eficiência do fornecimento de diferentes doses de Zn e Mn aplicadas via *drench* em pomar recém implantado de citros;
- (ii) Verificar se a aplicação de Zn e Mn via *drench* promove a disponibilidade desses no solo e nos aspectos nutricionais, fisiológicos e bioquímicos das plantas de laranja;
- (iii) Avaliar as respostas das plantas à aplicação de dois tipos de bioestimulantes via *drench* e o efeito sinérgico desses bioestimulantes com Mn e Zn nas variáveis de crescimento, disponibilidade de Zn e Mn no solo, teor s plantas e bioquímicas.

5 MATERIAL E MÉTODOS

Para atender os objetivos do projeto foram realizados concomitantemente dois experimentos no Centro de Citricultura Sylvio Moreira (CCSM) município de Cordeiropolis – SP (22° 27' 32.17" S 47° 24' 18.33" W), em pomar de laranja Valencia [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] enxertada em citrandarim 1711 (*Citrus reticulata* blanco cv. changsa x *Poncirus trifoliata* raf. rv. english large) implantado em 2024 (Figura 2). No primeiro experimento foi avaliado efeito de doses de Zn e Mn via *drench*, enquanto no segundo experimento avaliou o efeito de dois bioestimulantes na absorção de Mn e Zn.



Figura 2 - Pomar de laranja Valencia enxertada em citrandarim 1711, implantado em 2024 no Centro de Citricultura Sylvio Moreira, município de Cordeiropolis – SP.

5.1 Delineamento experimento 1: Avaliação de doses de Zn e Mn via *drench*

O Experimento 1 foi constituído por quatro doses de Zn e Mn conforme, aplicadas anualmente por planta conforme a Tabela 1. A dose total de Zn e Mn de cada tratamento foi parcelada em 3 aplicações, realizadas em agosto e novembro de 2024 e fevereiro de 2025. As fontes de Zn e Mn utilizadas foram a base de nitrato. A coleta de dados ocorreu 30 dias após a última aplicação (DAA). O experimento 1 foi conduzido em delineamento de blocos casualizado com quatro repetições, utilizando quatro plantas por parcela, considerando a média dessas quatro plantas por avaliação. As fontes de Zn e Mn utilizadas foram a base de nitrato. As soluções foram aplicadas via *drench* próximo à base planta (tangenciando a ponta do equipamento no caule), junto com o inseticida Actara® 250 WG (~200 mL/planta).

Tabela 1. Descrição dos tratamentos do Experimento 1, doses de Zn e Mn aplicados via *drench* em pomar jovem de laranjeira Valência.

<i>Experimento 1</i>		
Tratamento	Zn	Mn
g/planta.ano		
T1	0,0	0,0
T2	0,3	0,2
T3	1,0	0,65
T4	3,0	2,0

Legenda: T1 – Controle; T2 - 0,3 g.ano⁻¹ de Zn + 0,2 g.ano⁻¹ de Mn; T3 - 1,0 g.ano⁻¹ de Zn + 0,65 g.ano⁻¹ de Mn; T4 - 3,0 g.ano⁻¹ de Zn + 2,0 g.ano⁻¹ de Mn.

5.2 Delineamento experimento 2: Efeito de bioestimulantes aplicados via *drench* no fornecimento de zinco e manganês em pomares jovens de citros

O experimento 2 foi conduzido em delineamento fatorial duplo (2x3), combinando dois níveis do fator Zn e Mn (nível 0: 0g de Zn + 0g de Mn; nível 1:1g de Zn + 0,65g de Mn) e bioestimulantes a base de alga de *Ascorphyllum nodosum* (Bio 1), *A. nodosum* + *Solieria chordalis* (Bio 2) e controle (Tabela 2). Assim como o experimento 1, a dose total dos micronutriente e bioestimulantes foi parcelada em 3 aplicações anuais, realizadas em agosto e novembro de 2024 e fevereiro de 2025. O experimento 2 foi conduzido em delineamento de blocos casualizado com quatro repetições e quatro plantas por parcela, considerando a média dessas quatro plantas por avaliação. foram aplicados via *drench* próximo à base da planta, junto com o inseticida Actara® 250 WG (~200 mL/planta).

Tabela 2. Descrição dos tratamentos do Experimento 2, fator Zn + Mn combinado com fator bioestimulante, aplicados em pomar jovem de laranjeira Valência.

<i>Experimento 2</i>				
Tratamento	Zn	Mn	Bio 1	Bio 2
	g/planta.ano		ml/planta.ano	
T1	0	0	0	0
T2	1,0	0,65	0	0
T3	0,0	0,0	3	0
T4	0,0	0,0	0	3
T5	1,0	0,65	3	0
T6	1,0	0,65	0	3

Legenda: T1 – Controle; T2 – 1,0 g.ano⁻¹ de Zn + 0,65 g.ano⁻¹ de Mn; T3 – 3ml.ano⁻¹ de Bio 1 (*A. nodosum*); T4 – 3ml.ano⁻¹ de Bio 2 (*A. nodosum* + *S. chordalis*); T5 – 1,0 g.ano⁻¹ de Zn + 0,65 g.ano⁻¹ de Mn + 3ml.ano⁻¹ Bio 1 ; T6 – 1,0 g.ano⁻¹ de Zn + 0,65 g.ano⁻¹ de Mn + 3ml.ano⁻¹ de Bio 2.

5.3 Características do solo

Ambos os experimentos foram instalados em solo de textura media-argilosa textura (>500 g.kg⁻¹ na fração argila). As características iniciais da camada superficial solo (0-20 cm) pré-implantação eram: pH_{CaCl2}= 5,7; P= 42 mg/dm³; K= 4,8 mmol/dm³; Ca = 61 mmol/dm³; Mg= 29 mmol/dm³; Zn= 2,4 mg/dm³; Mn= 5,0 mg/dm³ e saturação por bases (V%) 81. As características da camada subsuperficial (20-40 cm) eram: pH_{CaCl2}= 5,7; P= 51 mg/dm³ K= 3,8 mmol/dm³; Ca = 68 mmol/dm³; Mg= 29 mmol/dm³; Zn= 3,4 mg/dm³; Mn= 6,1 mg/dm³ e saturação por bases (V%) 83, segundo método proposto por van Raij et al. (2001) (Tabela 3).

Tabela 3. Características químicas do solo de pomar de laranja Valencia, localizado no Centro de Citricultura Sylvio Moreira, Cordeirópolis – SP, pré-implantação experimental nas profundidades 0-20 e 20-40cm.

Perfil do solo	M.O.	pH	P-res	K	Ca	Mg	H + Al	S.B.	C.T.C.	V%
cm	g dm ⁻³	CaCl ₂	mg dm ⁻³	-----mmol _c dm ⁻³ -----						%
0-20	22	5.7	42	5	61	29	22	94.5	116.2	81
20-40	19	5.7	51	4	68	29	20	100.5	120.8	83
	B		Cu		Fe		Mn		Zn	
	-----mg dm ⁻³ -----									
0-20	0.2		2.1		21		5		2.4	
20-40	0.3		2.3		25		6.1		3.4	

5.4 Análises experimento 1 e 2

Os experimentos 1 e 2 seguiram o mesmo calendário de coleta de dados e de avaliações subsequentes, conforme descrito nas seções a seguir.

5.5 Análise de solo

Aos 30 DAA foram realizadas as amostragens de solo nas profundidades de 0-20 cm e 20-40 cm para análise de nutrientes, matéria orgânica (M.O.), pH, soma de bases (SB), saturação por bases (V%) e acidez potencial (H+Al), seguindo metodologia proposta por Raij et al., (2001). A coleta foi realizada a duas distancias do caule, 20 e 40 cm (Figura 3).



Figura 3 - Amostragem do solo realizado a 20cm (dentro da area de molhamento do dench) e 40cm de distrancia do caule.realizado em pomar de laranaja Valencia enxertada em citrandarim 1711, implantado em 2024 no Centro de Citricultura Sylvio Moreira, município de Cordeiropolis – SP.

5.6 Teor de nutrientes

Aos 30 DAA foram coletadas as 3^a e 4^a folha de ramos desenvolvidos com aproximadamente 6 meses de idade e padrão semelhante para amostragem de folhas novas e folhas do ramo do segundo fluxo de crescimento para amostragem de folhas velhas. Foram utilizadas 2 pares de folhas novas e velhas de cada planta da parcela para compor uma amostra.

Após a coleta, as folhas foram lavadas com solução de detergente a 10% seguido de duplo enxague em água destilada. Posteriormente as plantas foram secas em estufa de circulação forçada a 65C° por 72 horas, moídas e submetidas a análise de nutrientes conforme metodologia proposta por Bataglia et al. (1983).

5.7 Análises de crescimento

Aos 30 DAA a altura (cm) e diâmetro médio das copas (cm) foram mensurados com auxílio de uma trena e o diâmetro do caule (mm) com auxílio de um paquímetro. Com essas informações, calculamos o volume da copa (m³) utilizando a seguinte formula.

$$VC (m^3) = \frac{3}{2}\pi R^2 H$$

Sendo:

R = raio da copa da planta

H = altura de planta

5.8 Pigmento fotossintéticos

30 DAA, foram coletadas dois pares de folha, 3^a e 4^a folha de ramos desenvolvidos com aproximadamente 6 meses de idade, de cada planta da parcela. A determinação do teor de clorofila *a*, *b* e carotenoides foi realizada conforme método proposto por Wellburn et al., (1994) e adaptado por Bernado et al., (2021). Cinco discos foliares (aproximadamente 28 mm² cada) foram cortados em tiras finas, colocados em um tubo de ensaio contendo 5 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) e incubados a 70 °C por 30 minutos no escuro. Após o resfriamento do extrato no escuro, foi lida a absorbância em 480, 649 e 665 nm. As concentrações de clorofila *a*, *b* e carotenoides, foram determinadas de acordo com Hiscox et al., (1979).

5.9 Enzimas antioxidantes e estresse oxidativo

5.9.1 EXTRATO ENZIMÁTICO

30 DAA, a 3^a e 4^a folha de ramos desenvolvidos com aproximadamente 6 meses de idade foram coletadas e congeladas em nitrogênio líquido (N₂) para o preparo do extrato enzimático. O extrato enzimático seguiu a metodologia proposta por Kar e Mishra (1976), as folhas

congeladas e foram maceradas com constante adição de N₂ em pilão pré-resfriado até que se formasse um pó fino. Posteriormente, a amostra foi homogeneizada em solução-tampão de fosfato de potássio (K₂HPO₄) (0,1 mol L⁻¹, pH 6,8), na proporção de 300 mg para 15 mL, respectivamente. Após a homogeneização da amostra foi adicionado 200 mg de Polivinilpirrolidona (PVPP) e por fim, a amostra foi centrifugada a 10.000 x g por 10 min a -4 °C. O sobrenadante formado foi dividido em 3 microtubos e armazenado a -80 °C em ultra freezer.

5.9.2 DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS

A quantificação do total de proteínas solúveis foi realizada conforme método proposto por Bradford (1976), utilizando o reagente azul brilhante de Coomassie. Em um tubo de ensaio limpo, foi adicionado 100 µL do extrato enzimático e 5mL reativo de Bradford, após 15 minutos foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 595 nm. A proteína foi estimada utilizando albumina sérica bovina (BSA) como padrão.

5.9.3 DETERMINAÇÃO DA SUPERÓXIDO DISMUTASE (SOD, EC 1.15.1.1)

A determinação da superóxido dismutase (SOD) seguiu a metodologia proposta por Peixoto et al. (1999). Foi preparada uma solução-tampão de K₂HPO₄ (50 mmol L⁻¹, pH 7,8), e a cada 120 mL foi adicionado 238,8 mg de L-Metionina (19 mmol), 7,2 mg de cloreto azul de nitrotetrazólio (NBT) (13 mmol), 228 µL de ácido etilenodiamino tetraacético (EDTA) (100 nM) e 4,48 mL de solução de riboflavina (2 µM). Em seguida, 3.000 µL da solução preparada (“Solução de Trabalho”) foi adicionada a um tubo de ensaio de 5 mL com exposição a luz, em temperatura ambiente, por 5 min. Na sequência a solução foi transferida para uma cubeta de vidro de 5 mL e seguiu para o espectrofotômetro para leituras em 560 nm. Em outro tubo de ensaio, a “Solução de Trabalho” foi misturada com o extrato enzimático na proporção de 2950 µL para 50 µL, respectivamente. Em seguida, o tubo foi agitado, embrulhado em papel alumínio e exposto a luz em temperatura ambiente por 5 min. O conteúdo foi transferido para uma cubeta de vidro, e levada ao espectrofotômetro para a realização das leituras de absorbância a 560 nm. Um terceiro tubo de ensaio foi preparado com 2950 µL da “Solução Trabalho” e 50 µL do extrato enzimático e prosseguiu com o mesmo processo do segundo tubo, 5 min de agitação, exposição a luz em temperatura ambiente, porém sem a utilização do papel alumínio. Por fim deve ser transferido para uma cubeta e realizada a leitura em espectrofotômetro a 560nm. O resultado foi expresso em U SOD mg⁻¹ prot.

5.9.4 DETERMINAÇÃO DA CATALASE (CAT, E.C. 1.11.1.6)

A determinação da atividade da catalase (CAT) foi realizada a partir da metodologia proposta por Peixoto et al. (1999). Foi preparado 100 mL de solução-tampão K_2HPO_4 (50 mmol L^{-1} , pH 7,0), adicionando-se ao final 53,75 μL de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (12,5 mmol L^{-1}). Em um tubo de ensaio de 5ml, foram misturados 950 μL da solução de K_2HPO_4 e H_2O_2 com 50 μL da extração enzimática. A absorbância da mistura foi analisada em espectrofotômetro (240 nm, mensuradas a cada 20 s até atingirem estabilidade) utilizando cubetas de quartzo. Para o cálculo da atividade enzimática, foi utilizado o coeficiente de extinção molar de 36 mmol L^{-1} , o qual expressou os resultados em $\mu Kat/\mu g$ de proteína $^{-1}$.

5.9.5 DETERMINAÇÃO DA PEROXIDASE (POD, EC 1.11.1.7)

A determinação da peroxidase (POD) seguiu a metodologia proposta por Teisseire e Guy (2000). Em um tubo de ensaio de foi misturado 500 μL de K_2HPO_4 (50 mmol L^{-1} , pH 6,5), 30 μL de extrato enzimático, 250 μL de ácido pirogálico (20 mmol L^{-1}) e 220 μL de H_2O_2 (5 mmol L^{-1}). Em seguida a mistura foi alocada em uma cubeta de 1 mL, e seguiu para leitura em espectrofotômetro (430nm). O resultado foi expresso em U POD mg^{-1} prot.

5.9.6 DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO DE MALONDIALDEÍDO (MDA)

As mesmas folhas utilizadas no preparo do extrato enzimático foram utilizadas para a determinação do malondialdeído (MDA). As folhas foram trituradas com constante aplicação de N_2 . Em seguida 0,2 g do material foi homogeneizado com 5 mL de solução de ácido tricloroacético a 10% e ácido tiobarbitúrico 0,25%, as amostras foram encubadas em banho-maria a 90°C por 1h. Após esse período as amostras foram resfriadas e centrifugadas a 10000 rpm por 15min a 4°C. A leitura do sobrenadante foi realizada em espectrofotômetro com absorbância de 560 e 600nm. Para o cálculo, foi utilizado a coeficiente de extinção molar do malondialdeído (155 mmol $L^{-1} cm^{-1}$). O resultado foi expresso em nmol de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) g^{-1} de matéria fresca (Devi & Prasad, 1998).

5.9.7 DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO DE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO (H_2O_2)

As mesmas folhas utilizadas no preparo do extrato enzimático foram utilizadas para a determinação do conteúdo de H_2O_2 . A determinação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) foi realizada conforme metodologia proposta por Alexieva et al. (2001). As folhas foram maceradas com de ácido tricloroacético (TCA) 0,1% na relação de 0,25 g/2,5 mL (w:v). Após a completa homogeneização, o material foi e centrifugados a 10.000 rpm por 15 min, a 4°C.

200µL do sobrenadante foi misturado com 200 µL de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,5) e 800 µL de solução 1 M de iodeto de potássio. Após 1 hora de reação no escuro e no gelo, as amostras permaneceram no escuro por 20 min, em temperatura ambiente para estabilização da reação, e em seguida foi realizada a leitura em espectrofotômetro 390 nm.

5.10 Forma de análise dos resultados

A compilação, organização e tratamento dos dados foi realizada com o auxílio de software Microsoft®Excel e R® (R Core Team, 2020). Os resultados serão submetidos a análise de variância (ANOVA), seguidos de análise de regressão ou teste médias Tukey a 5% de significância ($\alpha=0,05$), para casos em que a variância foi significativa.

6 RESULTADOS

6.1 Experimento 1

6.1.1 FERTILIDADE DO SOLO, ESTADO NUTRICIONAL E CRESCIMENTO DAS PLANTAS

Os tratamentos com Zn e Mn apresentaram diferenças significativas nos teores de Zn e Mn do solo amostrado a 20 cm do caule (Figura 4). O T4, que forneceu dose mais elevada de Zn e Mn (3,0 g de Zn + 2,0 g de Mn), aumentou 113% e a concentração de Mn no solo amostrado nas camadas 0-20 e 20-40cm, com valores de $12,5 \pm 1,0$ vs. $26,7 \pm 4,0$ mg dm⁻³ (0-20 cm de solo) e de $9,9 \pm 1,0$ vs. $21,1 \pm 2,4$ mg dm⁻³ (20-40 cm de solo), para controle e T4, respectivamente (Figura 4).

Além disso, o T4 aumentou 1552% e 1380% o teor de Zn no solo amostrado na camada 0-20 e 20-40, com valores de $5,3 \pm 0,6$ vs. $87,6 \pm 16,7$ mg dm⁻³ (0-20 cm de solo) e $4,7 \pm 0,9$ vs. $69,6 \pm 12,0$ mg dm⁻³ (20-40 cm de solo), para controle e T4, respectivamente (Figura 4).

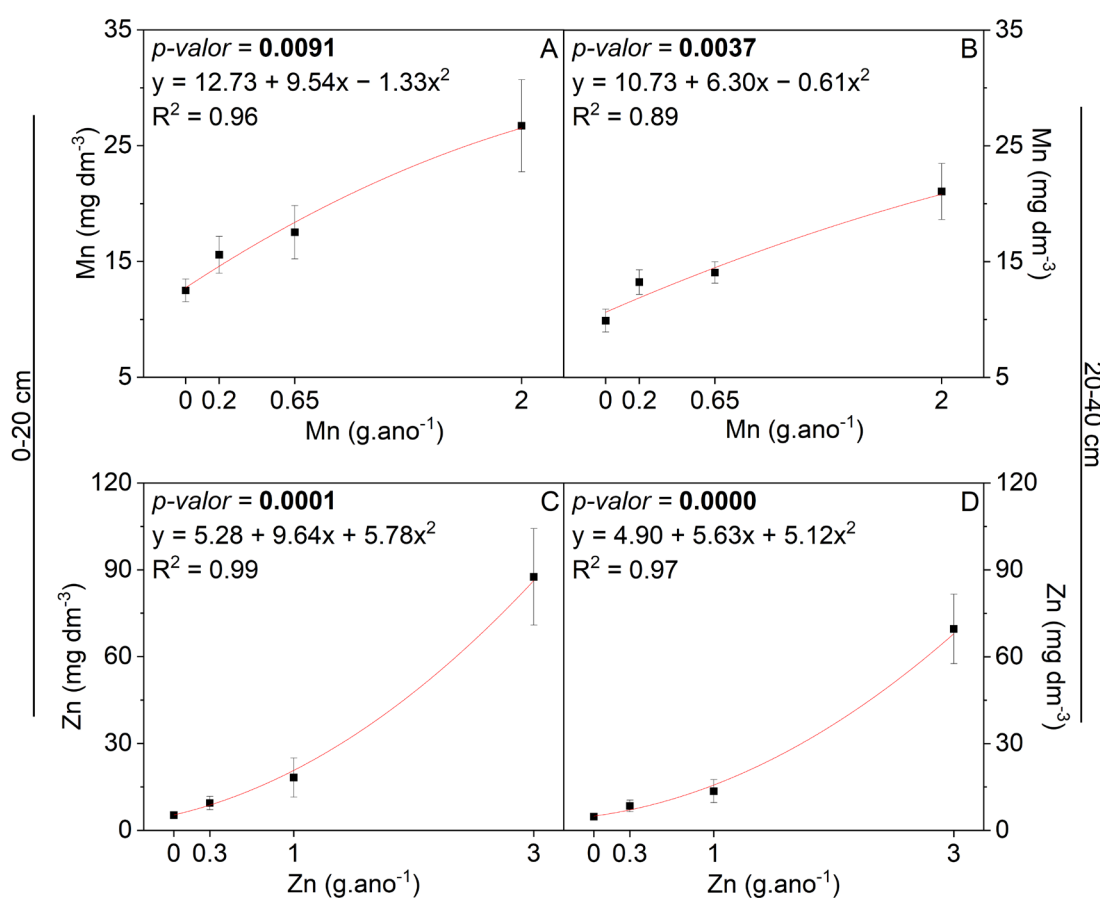


Figura 4 - Concentração de Mn e Zn solo nas camadas de 0 a 20 (A e C) e 20 a 40 cm (B e D) de profundidade, coletado a 20cm de distância do caule.

Legenda: T1 – Controle; T2 - 0,3 g.ano⁻¹ de Zn + 0,2 g.ano⁻¹ de Mn; T3 - 1,0 g.ano⁻¹ de Zn + 0,65 g.ano⁻¹ de Mn; T4 - 3,0 g.ano⁻¹ de Zn + 2,0 g.ano⁻¹ de Mn. Os pontos representam a média ± erro padrão (n = 4). Nos casos em que a análise de variância (ANOVA) indicou efeito significativo dos tratamentos a 5% de probabilidade (p < 0,05), foi ajustada e plotada a curva de regressão correspondente.

A disponibilidade dos demais nutrientes avaliados não diferiu entre os tratamentos para o solo amostrados a 20 cm de distância do caule, nas profundidades 0-20 e 20-40 cm (Tabela 4 e 5).

Tabela 4 – Atributos químicos do solo na camada de 0–20 cm, coletado a 20 cm do caule das plantas, abrangendo matéria orgânica (M.O.), pH, P, K, Ca, Mg, H+Al, soma de bases (S.B.), capacidade de troca catiônica (C.T.C.), saturação por bases (V%) e teores de B, Cu e Fe.

Tratamentos	M.O.		pH	P	K	Ca	Mg	H+Al	
	Zn	Mn							
	g/planta.ano	g/dm ³		mg/dm ³	-----mmolc/dm ³ -----				
T1	0.0	0.0	25	5.6	50	5.0	53	21	31
T2	0.3	0.2	26	5.6	47	4.7	79	24	31
T3	1.0	0.65	24	5.6	38	4.1	53	25	32
T4	3.0	2.0	25	5.7	53	4.6	60	25	29
		média	25ns	6ns	47ns	5ns	61ns	24ns	31ns
		CV%	4	7	35	12	59	21	20

Tratamentos	S.B.		C.T.C.	V%	B	Cu	Fe	
	Zn	Mn						
	g/planta.ano	mmolc/dm ³		%	-----mg/dm ³ -----			
T1	0.0	0.0	79	110	71	0.8	7.2	33
T2	0.3	0.2	107	137	73	1.1	7.1	34
T3	1.0	0.65	82	113	70	1.0	7.1	33
T4	3.0	2.0	89	118	74	1.2	6.8	33
		média	89ns	120ns	72ns	1ns	7ns	33ns
		CV%	45	30	11	26	9	12

Legenda: T1 - Controle; T2 - 0,3 g.ano⁻¹ de Zn + 0,2 g.ano⁻¹ de Mn; T3 - 1,0 g.ano⁻¹ de Zn + 0,65 g.ano⁻¹ de Mn; T4 - 3,0 g.ano⁻¹ de Zn + 2,0 g.ano⁻¹ de Mn. Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (p ≤ 0,05), após análise de variância (ANOVA).

Tabela 5 - Atributos químicos do solo na camada de 20-40 cm, coletado a 20 cm do caule das plantas, abrangendo matéria orgânica (M.O.), pH, P, K, Ca, Mg, H+Al, soma de bases (S.B.), capacidade de troca catiônica (C.T.C.), saturação por bases (V%) e teores de B, Cu e Fe.

Tratamentos		M.O.	pH	P	K	Ca	Mg	H+Al	
Zn	Mn								
g/planta.ano		g/dm ³	mg/dm ³		-----mmolc/dm ³ -----				
T1	0,0	0,0	20	5.4	42	4.7	49	25	33
T2	0,3	0,2	21	5.2	34	4.2	40	21	37
T3	1,0	0,65	20	5.3	37	4.1	41	22	35
T4	3,0	2,0	21	5.4	42	4.6	45	23	33
média		21ns	5ns	39ns	4ns	44ns	23ns	35ns	
CV%		9	7	40	12	31	25	19	

Tratamentos		S.B.	C.T.C.	V%	B	Cu	Fe	
Zn	Mn							
g/planta.ano		mmolc/dm ³	%	-----mg/dm ³ -----				
T1	0,0	0,0	78	111	68	0.8	5.7	32
T2	0,3	0,2	65	102	63	1	6.3	35
T3	1,0	0,65	68	103	65	1	6	31
T4	3,0	2,0	73	106	68	1.1	5.8	33
média		71ns	106ns	66ns	1ns	6ns	33ns	
CV%		27	14	12	28	12	14	

Legenda: T1 – Controle; T2 - 0,3 g.ano⁻¹ de Zn + 0,2 g.ano⁻¹ de Mn; T3 - 1,0 g.ano⁻¹ de Zn + 0,65 g.ano⁻¹ de Mn; T4 - 3,0 g.ano⁻¹ de Zn + 2,0 g.ano⁻¹ de Mn. Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade ($p \leq 0,05$), após análise de variância (ANOVA).

Não houve diferenças significativas entre os tratamentos para o teor de Zn e Mn no solo amostrado a 40 cm do caule (Figura 5).

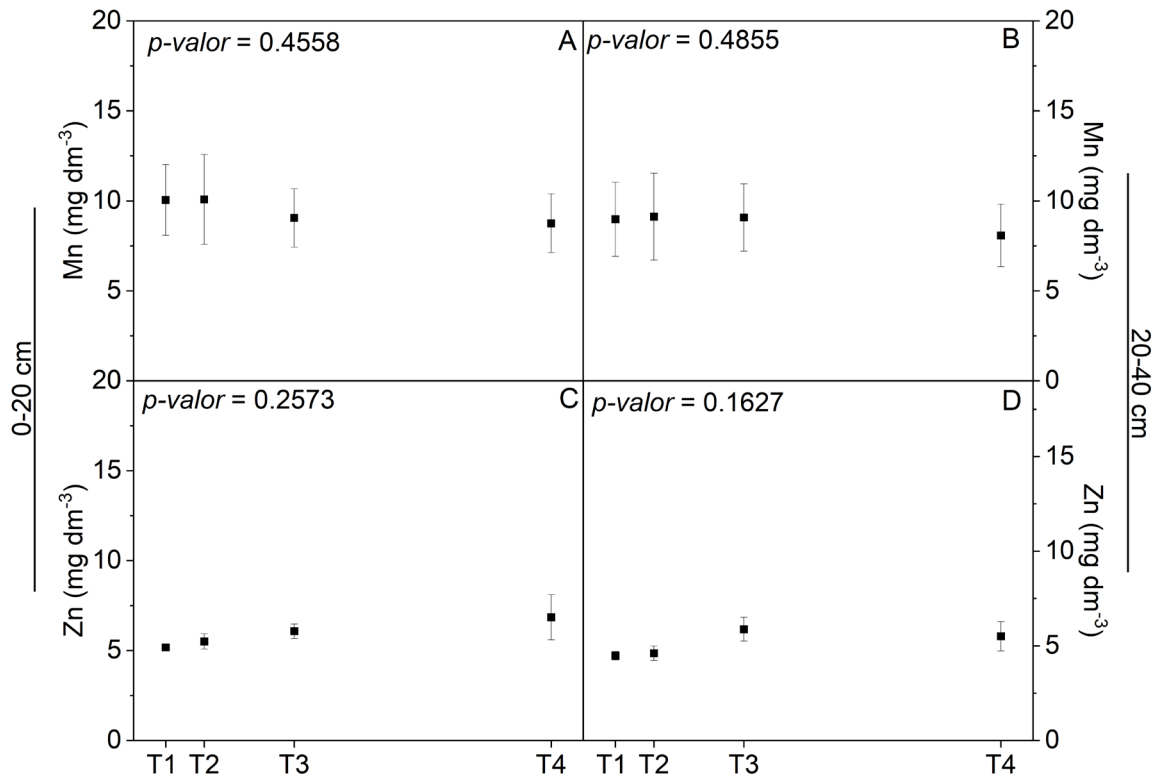


Figura 5 - Concentração de Mn e Zn solo nas camadas de 0 a 20 (A e C) e 20 a 40 cm (B e D) de profundidade, coletado a 40cm de distância do caule.
 Legenda: T1 – Controle; T2 - 0,3 g.ano⁻¹ de Zn + 0,2 g.ano⁻¹ de Mn; T3 - 1,0 g.ano⁻¹ de Zn + 0,65 g.ano⁻¹ de Mn; T4 - 3,0 g.ano⁻¹ de Zn + 2,0 g.ano⁻¹ de Mn. Os pontos representam a média ± erro padrão (n = 4).

Os tratamentos não diferiram os valores de teor de macro e micronutrientes (Tabela 6; Figura 6) nas folhas novas e velhas.

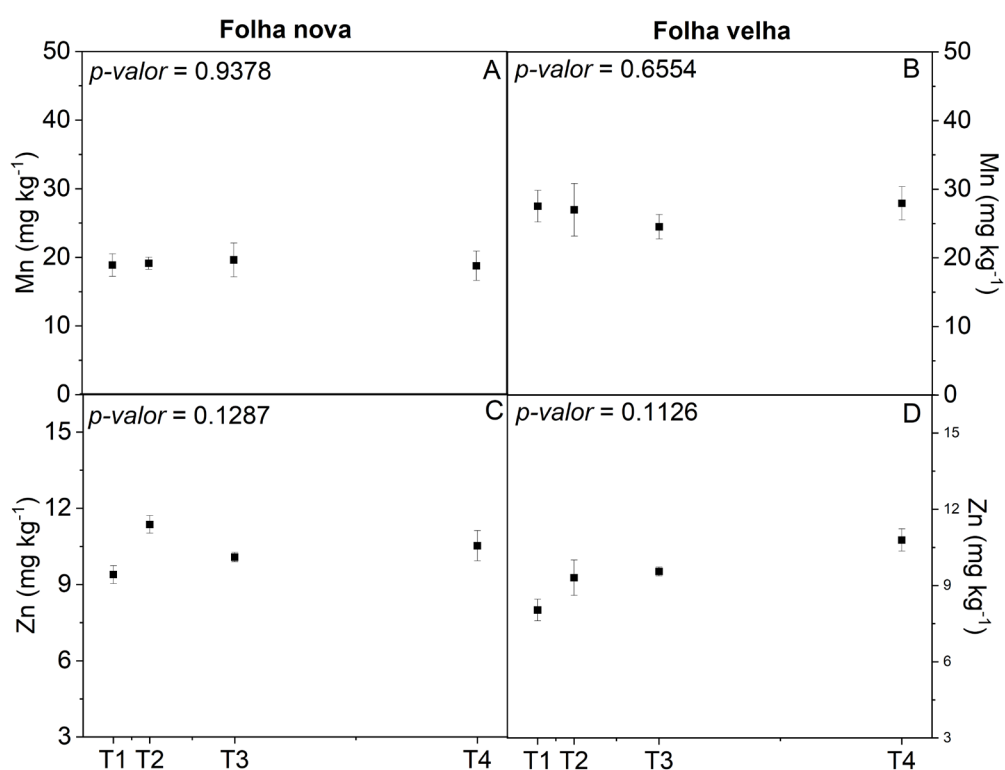


Figura 6 - Teor de Mn e Zn nas folhas novas (A e B) e velhas (C e D) em laranjeiras ‘Valência’. Legenda: T1 – Controle; T2 - 0,3 g.ano⁻¹ de Zn + 0,2 g.ano⁻¹ de Mn; T3 - 1,0 g.ano⁻¹ de Zn + 0,65 g.ano⁻¹ de Mn; T4 - 3,0 g.ano⁻¹ de Zn + 2,0 g.ano⁻¹ de Mn. Os pontos representam a média ± erro padrão (n = 4).

Tabela 6 - Teor de macro e micronutrientes nas folhas novas e velhas de laranjeiras ‘Valência’ sob aplicação de doses de Zn e Mn.

Folha Nova																	
Treatamento	N		P		K		Ca		Mg		S	Fe	Cu	B			
	g/kg						mg/kg										
T1	29	ns	1.5	ns	14	ns	19	4	ns	1.6	ns	91	ns	90	ns	47	ns
T2	29	ns	1.5	ns	14	ns	19	4	ns	1.7	ns	75	ns	67	ns	44	ns
T3	29	ns	1.5	ns	14	ns	20	4	ns	1.7	ns	83	ns	83	ns	46	ns
T4	29	ns	1.4	ns	14	ns	19	4	ns	1.7	ns	88	ns	107	ns	42	ns
CV%	3		7		10		7 ^{ns}	6		4		10		19		12	

Folha Velha																		
Treatamento	N		P		K		Ca		Mg		S	Fe	Cu	B				
	g/kg						mg/kg											
T1	23	ns	1.0	ns	16	ns	24	ns	4	ns	2.0	ns	252	ns	63	ns	50	ns
T2	24	ns	1.0	ns	13	ns	24	ns	4	ns	2.0	ns	252	ns	49	ns	49	ns
T3	23	ns	0.9	ns	15	ns	23	ns	4	ns	1.9	ns	198	ns	63	ns	49	ns
T4	24	ns	1.0	ns	16	ns	23	ns	4	ns	2.0	ns	230	ns	51	ns	55	ns
CV%	1		9		15		8	15		9		9		28		6		

Legenda: T1 – Controle; T2 - 0,3 g.ano⁻¹ de Zn + 0,2 g.ano⁻¹ de Mn; T3 - 1,0 g.ano⁻¹ de Zn + 0,65 g.ano⁻¹ de Mn; T4 - 3,0 g.ano⁻¹ de Zn + 2,0 g.ano⁻¹ de Mn. Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade ($p \leq 0,05$), após análise de variância (ANOVA).

As variáveis de crescimento, altura de planta, diâmetro de copa, diâmetro do caule e volume de copa também não apresentaram diferença entre os tratamentos (Figura 7).

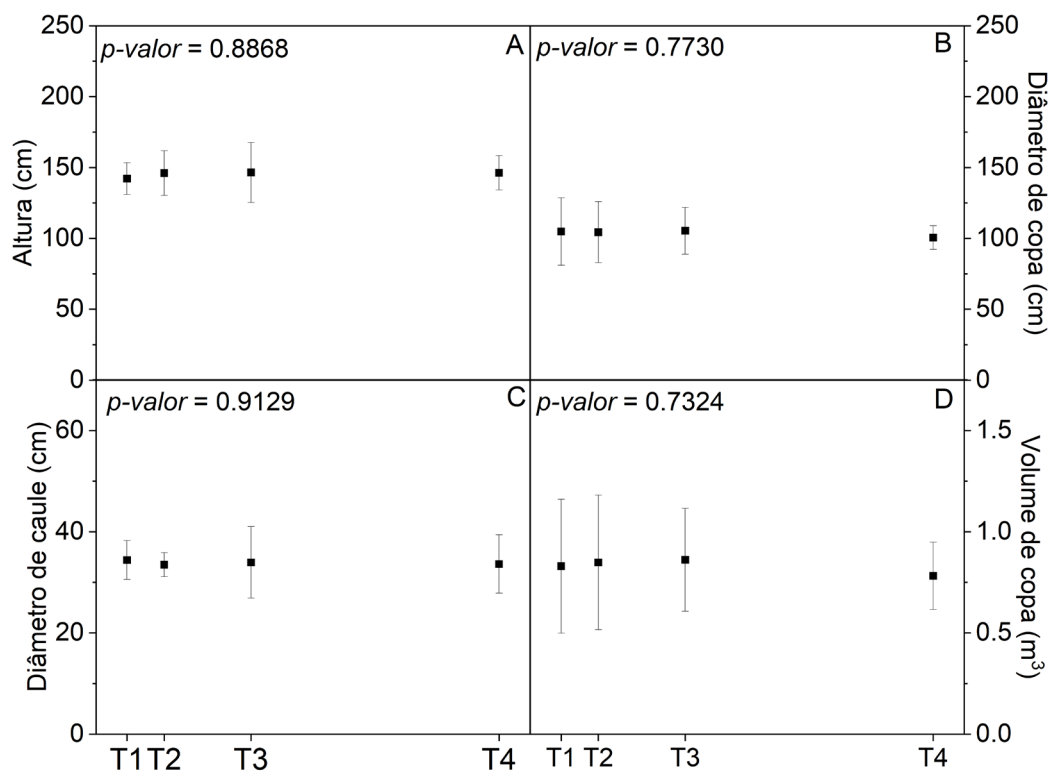


Figura 7 - Altura de planta (A), Diâmetro de copa (B), Diâmetro do caule (C) e Volume de copa (D) de laranjeiras ‘Valência’.

Legenda: T1 – Controle; T2 - 0,3 g.ano⁻¹ de Zn + 0,2 g.ano⁻¹ de Mn; T3 - 1,0 g.ano⁻¹ de Zn + 0,65 g.ano⁻¹ de Mn; T4 - 3,0 g.ano⁻¹ de Zn + 2,0 g.ano⁻¹ de Mn. Os pontos representam a média \pm erro padrão (n = 4).

6.1.2 PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS

Os tratamentos não apresentaram diferenças significativas para as avaliações de teor de clorofila *a*, *b*, total, carotenóides, clorofila *a/b* e clorofila total/carotenóides (Figura 8).

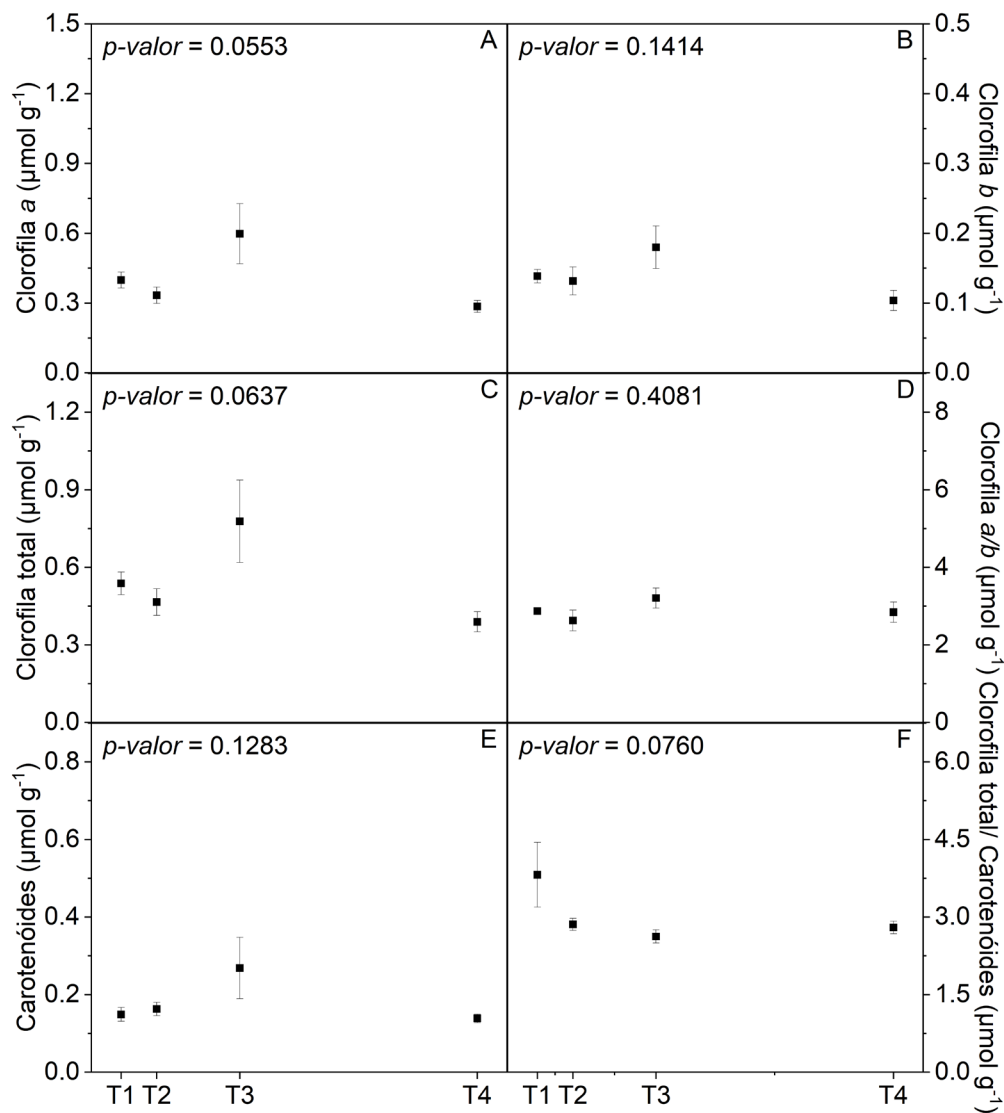


Figura 8 - Clorofila *a* (A), *b* (B), total (C), relação clorofila *a/b* (D), carotenóides (E) e relação clorofila total e carotenóides (F) de laranjeiras 'Valência'.

Legenda: T1 – Control; T2 - 0,3 g.ano⁻¹ de Zn + 0,2 g.ano⁻¹ de Mn; T3 - 1,0 g.ano⁻¹ de Zn + 0,65 g.ano⁻¹ de Mn; T4 - 3,0 g.ano⁻¹ de Zn + 2,0 g.ano⁻¹ de Mn. Os pontos representam a média ± erro padrão (n = 4).

6.1.3 ENZIMAS ANTIOXIDANTES E ESTRESSE OXIDATIVO

Não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos para as avaliações de teor de proteína, atividade da superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidase

(POD) (Figura 9). A concentração de H_2O_2 apresentou diferença entre os tratamentos com valores de $11,4 \pm 1,4$ vs. $19,4 \pm 7,0 \mu\text{mol g}^{-1}$ FW, para T1 e T4, respectivamente (Figura 9). Os tratamentos não apresentaram diferença para a concentração de MDA (Figura 9).

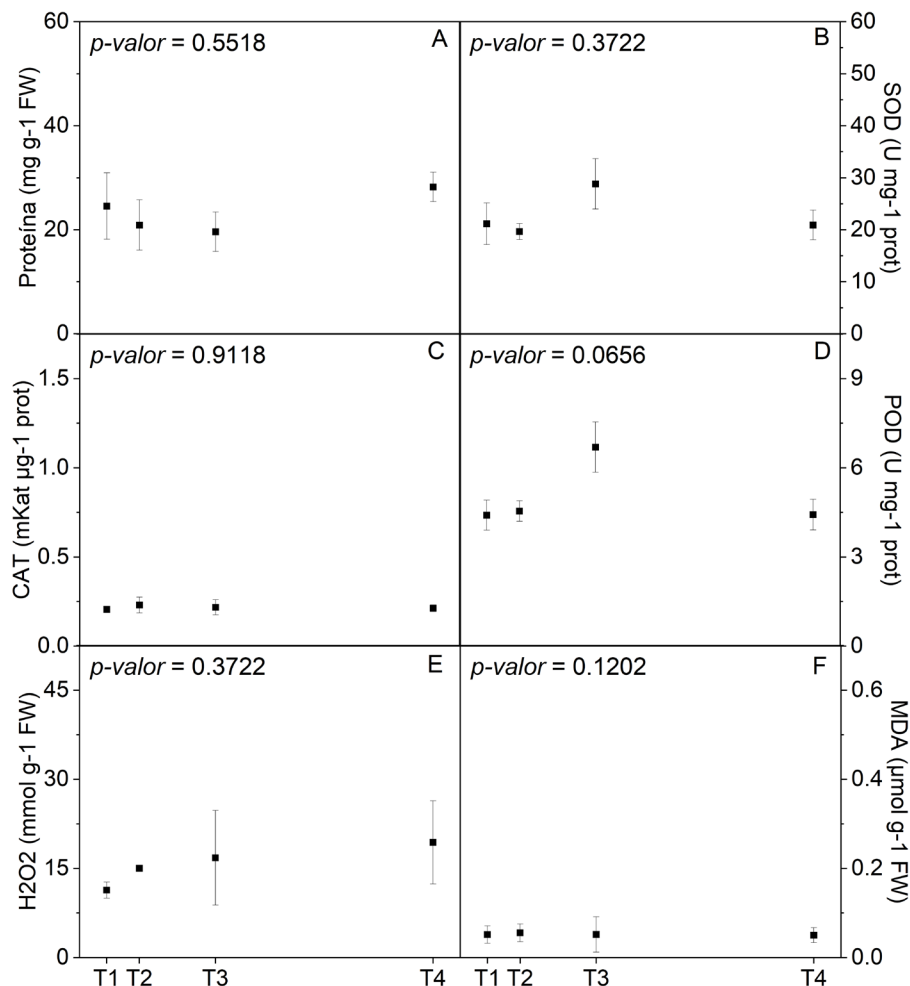


Figura 9 - Parâmetros relacionados ao metabolismo oxidativo em plantas de laranja 'Valência' submetidas à aplicação de doses de Zn + Mn e via *drench*. Proteína total (A), atividade da superóxido dismutase (SOD, B), catalase (CAT, C), peroxidase (POD, D), peróxido de hidrogênio (H_2O_2 , E) e malondialdeído (MDA, F).

Legenda: T1 – Controle; T2 - $0,3 \text{ g.ano}^{-1}$ de Zn + $0,2 \text{ g.ano}^{-1}$ de Mn; T3 - $1,0 \text{ g.ano}^{-1}$ de Zn + $0,65 \text{ g.ano}^{-1}$ de Mn; T4 - $3,0 \text{ g.ano}^{-1}$ de Zn + $2,0 \text{ g.ano}^{-1}$ de Mn. Os pontos representam a média \pm erro padrão (n = 4).

6.2 Experimento 2

6.2.1 FERTILIDADE DO SOLO, ESTADO NUTRICIONAL E CRESCIMENTO DAS PLANTAS

Os tratamentos com Zn, Mn e bioestimulantes apresentaram diferenças no solo amostrado a 20 cm do caule (Figura 10). O fator Zn + Mn aumentou em 38% e 40% a concentração de Mn no solo amostrada nas camadas 0-20 cm e 20-40 cm, respectivamente, relação ao controle desse fator, com valores médios de $13,0 \pm 1,3$ para $17,9 \pm 2,3$ mg.dm^{-3} (0-20cm) e $10,4 \pm 1,0$ para $14,6 \pm 1,8$ mg.dm^{-3} (20-40cm) (Figura 10). O fator Zn + Mn também aumentou os teores médios de Zn no solo em 373% (0-20cm de profundidade) e 233% (20-40cm de profundidade), com valores de $5,2 \pm 1,1$ vs. $24,6 \pm 6,0$ mg.dm^{-3} na camada 0-20cm, e $5,4 \pm 1,2$ vs. $18,0 \pm 4,0$ mg.dm^{-3} na camada 20-40cm, para os níveis 0 e 1, respectivamente, do fator Zn + Mn (Figura 10). Os níveis do fator bioestimulante não alterou os valores de Zn e Mn no solo. Os tratamentos não alteraram o teor de Zn e Mn nas folhas, os quais ficaram com valores médios de 10,1 e 18,9 mg/kg de Zn e Mn, respectivamente, em folhas novas e 8,6 e 26,8 mg/kg de Zn e Mn, respectivamente, em folhas velhas (Figura 11).

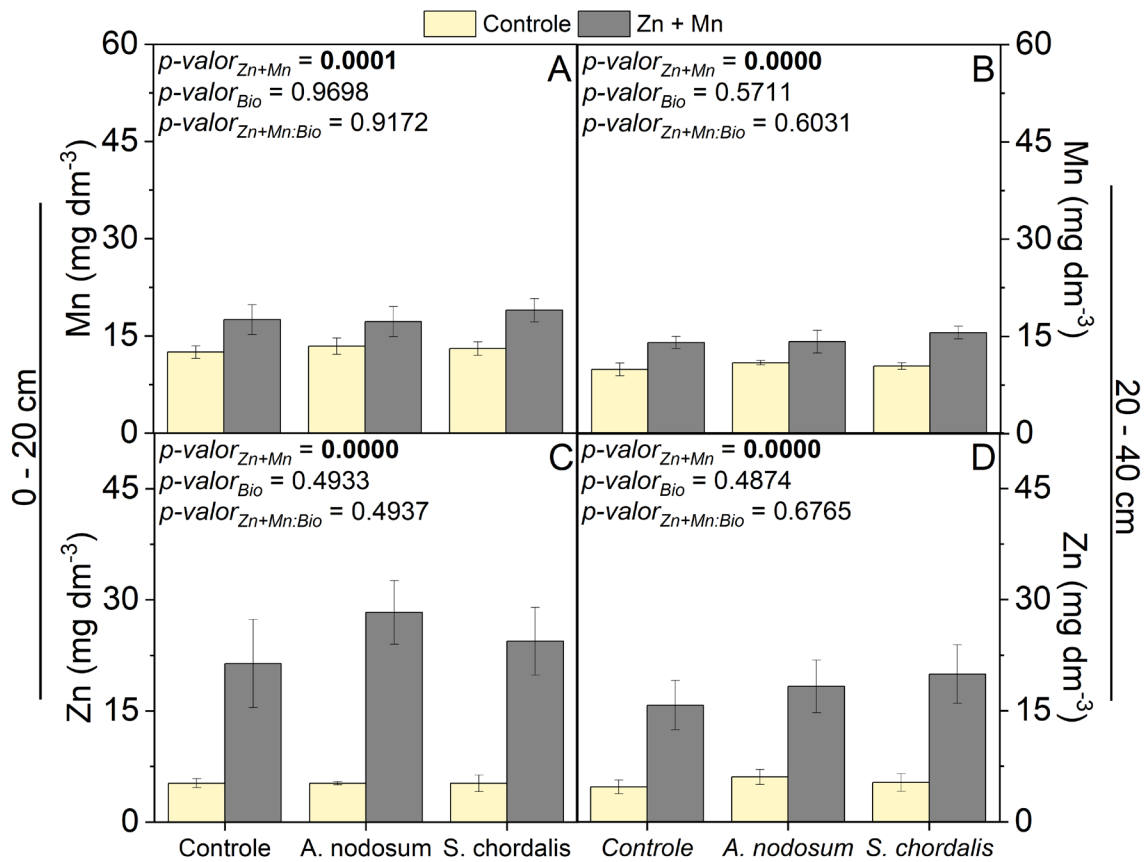


Figura 10 – Disponibilidade de Mn e Zn em solo submetido à aplicação de Zn + Mn e bioestimulantes via *drench*. Concentração de Mn e Zn solo nas camadas de 0 a 20 (A e C) e 20 a 40 cm (B e D) de profundidade, coletado a 20cm de distância do caule. Valores de p referem-se aos efeitos principais dos fatores Zn + Mn, bioestimulantes (*Bio*), e à interação entre eles (*Zn+Mn:Bio*) conforme análise de variância (ANOVA). Barras representam a média \pm erro padrão (n = 4).

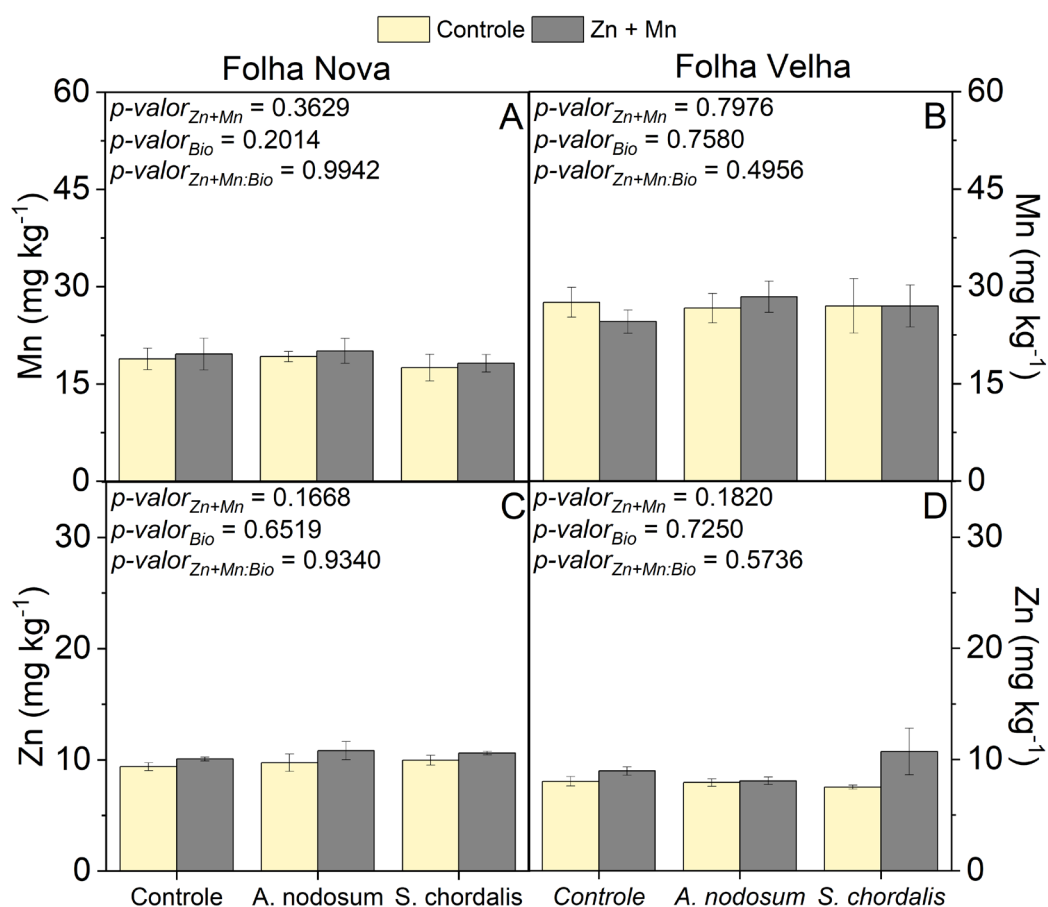


Figura 11 - Concentração foliar de Mn e Zn em plantas de laranja ‘Valência’ submetidas à aplicação de Zn + Mn e bioestimulantes via *drench*. Teor de Mn e Zn nas folhas novas (A e C) e velhas (B e D).

Valores de p referem-se aos efeitos principais dos fatores Zn + Mn, bioestimulantes (*Bio*), e à interação entre eles (*Zn+Mn:Bio*) conforme análise de variância (ANOVA). Barras representam a média \pm erro padrão ($n = 4$).

As variáveis de crescimento, altura de planta, diâmetro de copa, diâmetro do caule e volume de copa também não apresentaram diferença entre os tratamentos (Figura 12).

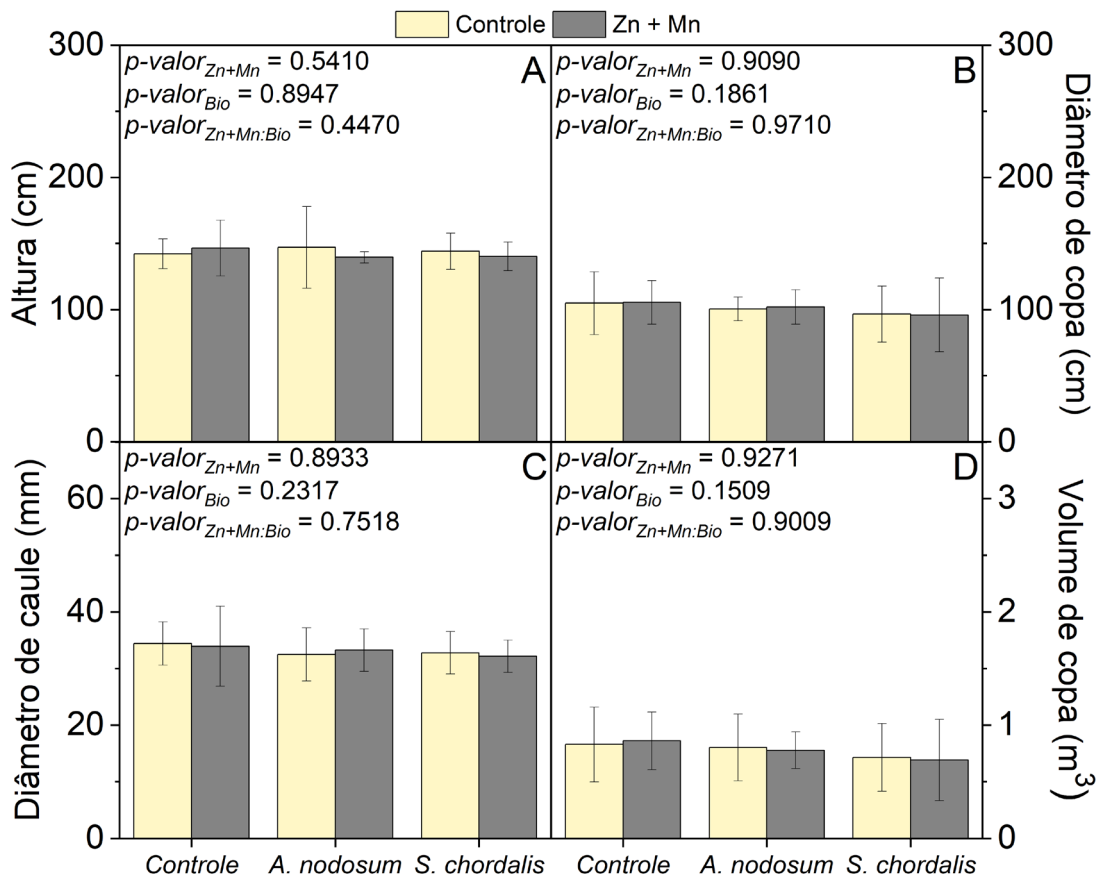


Figura 12 - Medidas de crescimento de plantas de laranja ‘Valência’ submetidas à aplicação de Zn + Mn e bioestimulantes via drench. Altura de planta (A), Diâmetro de copa (B), Diâmetro do caule (C) e Volume de copa (D).

Valores de p referem-se aos efeitos principais dos fatores Zn + Mn, bioestimulantes (*Bio*), e à interação entre eles (*Zn+Mn:Bio*) conforme análise de variância (ANOVA). Barras representam a média \pm erro padrão ($n = 4$).

6.2.2 PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS

As plantas não apresentaram diferença entre os tratamentos para as avaliações de teor de clorofila *a*, *b*, total, carotenóides e relação clorofila *a/b*. A relação de clorofila total/carotenóides apresentou diferença para o fator bioestimulante, sendo o controle desse fator, o mais alto, seguido do *A. nodosum*, seguido do *S. chordalis* (Figura 13).

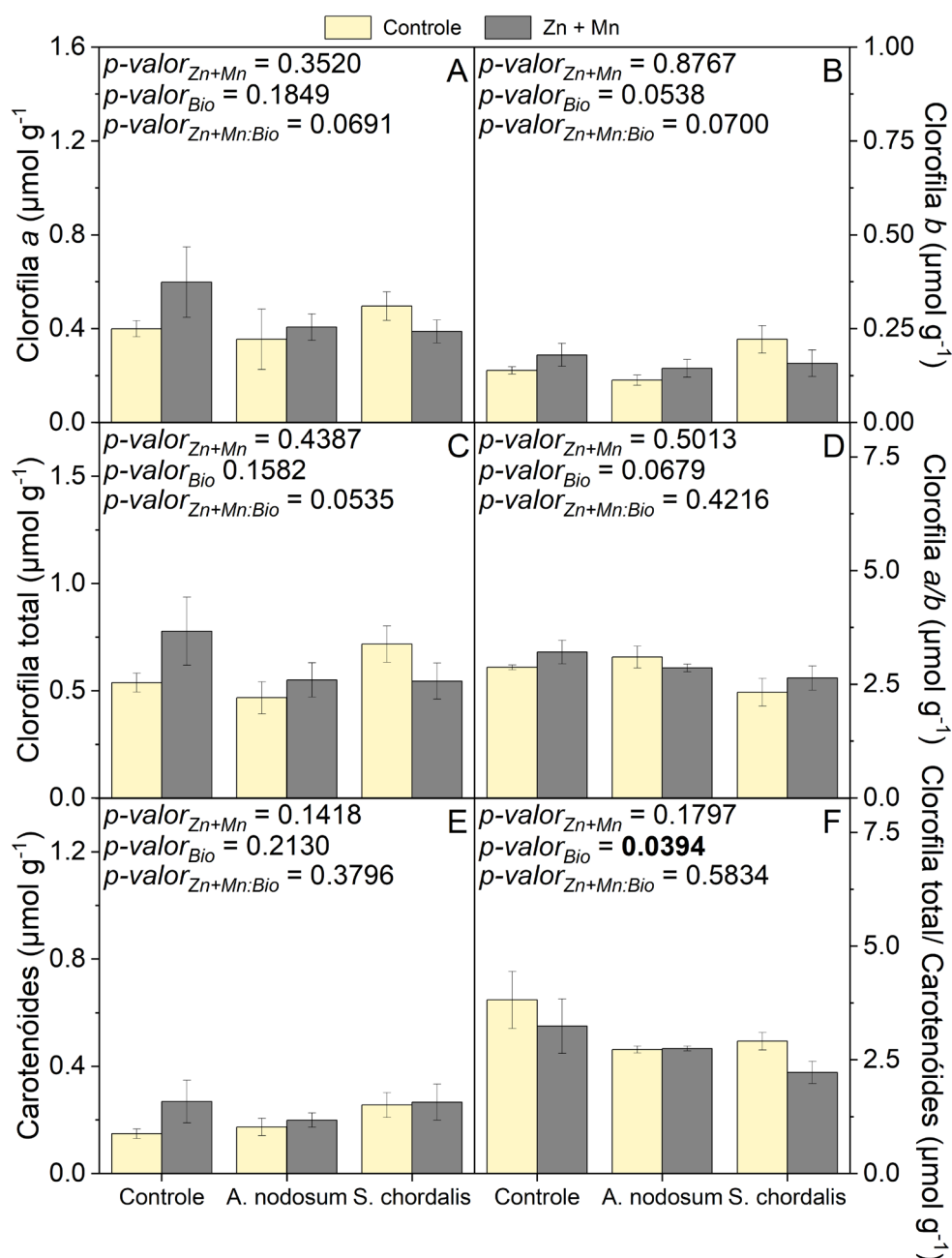


Figura 13 - Teores de pigmentos fotossintéticos em plantas de laranja 'Valência' submetidas à aplicação de Zn + Mn e bioestimulantes via *drench*. Clorofila a (A), Clorofila b (B), Clorofila total (C), Relação Clorofila a/b (D), Carotenóides (E) e Relação Clorofila total/Carotenóides (F).

Valores de *p* referem-se aos efeitos principais dos fatores Zn + Mn, bioestimulantes (*Bio*), e à interação entre eles (*Zn+Mn:Bio*) conforme análise de variância (ANOVA). Barras representam a média \pm erro padrão (n = 4).

6.2.3 ENZIMAS ANTIOXIDANTES E ESTRESSE OXIDATIVO

Os tratamentos não apresentaram diferença para as avaliações de proteína e atividade da SOD. A atividade da catalase apresentou diferença para o fator bioestimulante, sendo o nível S.

chordalis o mais alto, seguido do nível 0, seguido do nível *A. nodosum*. O fator Zn + Mn dentro do nível 0 de bioestimulante apresentou diferença significativa para a atividade da POD com valores médios de $4,4 \pm 0,5$ vs. $6,7 \pm 0,8$ U mg^{-1} prot. para o nível 0 e 1 do fator Zn+Mn, respectivamente. A atividade da POD também apresentou diferença entre os bioestimulantes dentro do nível 0 de Zn+Mn, sendo o nível *A. Nodosum* o com a maior média, seguido do *S. chordalis*, seguido do nível 0 (Figura 14).

O fator Zn + Mn apresentou diferença para a concentração de H_2O_2 no desdobramento dos níveis controle e *A. nodosum* de bioestimulantes, com valores superiores para nível 1 de Zn + Mn em ambos os casos. Também houve diferença para o conteúdo de H_2O_2 entre bioestimulantes dentro do nível 1 de Zn+Mn, sendo o nível 0 o com a maior média, seguido de *A. nodosum*, seguido de *S. chordalis*. Os tratamentos não apresentaram diferenças para a variável MDA (Figura 14).

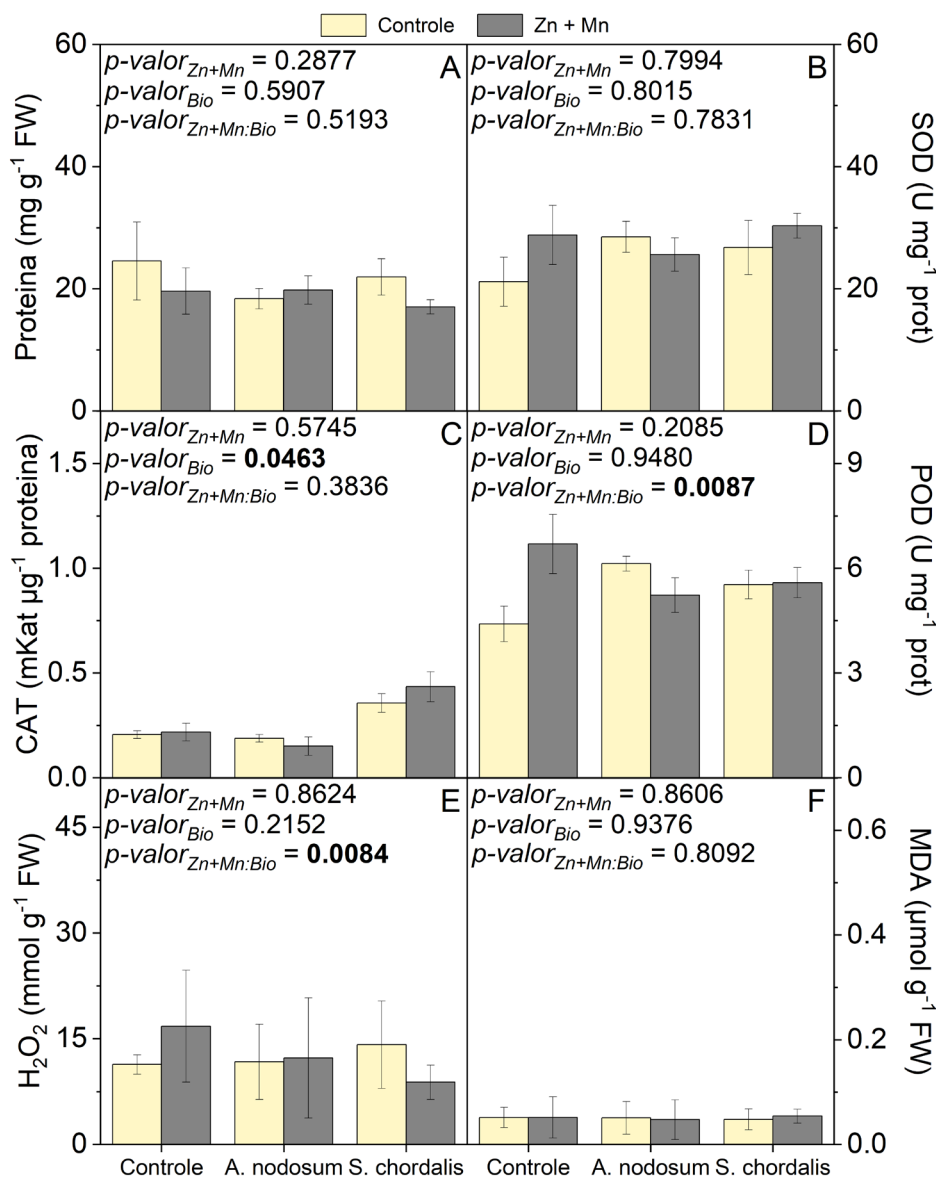


Figura 14 – Parâmetros relacionados ao metabolismo oxidativo em plantas de laranja ‘Valência’ submetidas à aplicação de Zn + Mn e bioestimulantes via *drench*. Proteína total (A), atividade da superóxido dismutase (SOD, B), catalase (CAT, C), peroxidase (POD, D), peróxido de hidrogênio (H₂O₂, E) e malondialdeído (MDA, F). Valores de *p* referem-se aos efeitos principais dos fatores Zn + Mn, bioestimulantes (*Bio*), e à interação entre eles (*Zn+Mn:Bio*) conforme análise de variância (ANOVA). Barras representam a média ± erro padrão (n = 4).

7 DISCUSSÃO

7.1 Experimento 1

Os resultados do Experimento 1 indicam que a aplicação de Zn e Mn via *drench* foi eficiente em aumentar os teores disponíveis desses micronutrientes no solo, tanto na camada de 0–20 cm quanto na de 20–40 cm, quando o solo foi amostrado dentro da área de molhamento

do drench (20 cm de distância do caule; Figura 3). Esses resultados evidenciam que, apesar da baixa mobilidade do Zn e do Mn no solo (Rengel, 2015), a aplicação via drench foi capaz de promover o carreamento dos elementos para camadas mais profundas do perfil, ampliando sua distribuição vertical até a zona radicular, o que pode beneficiar a absorção considerando o papel dos exsudatos radiculares na absorção de Zn e Mn, a partir processos de acidificação da rizosfera e formação de complexos solúveis (Gupta et al., 2016). Apesar da movimentação vertical dos nutrientes, não houve aumento nos teores de Zn e Mn no solo amostrado a 40 cm de distância do caule, o que indica que não houve movimentação horizontal dos íons no perfil do solo.

Apesar do aumento nos teores disponíveis no solo, não houve diferenças entre os tratamentos para as variáveis de crescimento e teor de nutrientes nas folhas. A disponibilidade de Zn e Mn está fortemente associada às características físico-químicas do solo, como a superfície específica, capacidade de troca de cátions e pH (Kabata-Pendias, 2000; Alloway, 2008; Gupta et al., 2016). Em solos com altos teores de argila, o Zn e o Mn tendem a formar ligações fortes e estáveis com os colóides, reduzindo sua mobilidade, essa interação é intensificada com o uso de fontes solúveis, assim restringindo o equilíbrio entre os nutrientes adsorvidos no complexo de troca e aqueles presentes na solução do solo (Hippler et al., 2014). Além disso, a solubilidade do Zn e Mn é dependente do pH do solo, sendo mais alta conforme a acidez aumenta (Cakmak, 2008). Dessa forma, considerando as características físicas do solo do experimento, que são favoráveis à adsorção do Zn e Mn, combinado com o pH que foi corrigido no momento da implantação e que continua em níveis adequados de acidez (5.6; V% \approx 70), possivelmente o solo adsorveu a maior parte do fertilizante fornecido, dificultando a difusão para a solução do solo e consequente absorção pelas plantas. Essa afirmação é corroborada pelos resultados de Hippler et al. (2014), cujas isotermas de adsorção evidenciaram aumento contínuo da adsorção de Zn e Mn em solos argilosos em função do incremento da concentração desses micronutrientes na solução, sem a ocorrência de saturação dos sítios de adsorção, mesmo em concentrações de até 400 mg L⁻¹.

A restrição da absorção de Zn e Mn pelas plantas explica a ausência de diferença nos resultados de parâmetros de crescimento, clorofila, enzimas antioxidantes e marcadores de estresse. Em experimento conduzido a campo em condições de fertirrigação, as respostas a aplicação de Zn via solo foram mais evidentes a partir do terceiro ano, aumentando os teores nos tecidos vegetais e atividade enzimática antioxidante e diminuindo a concentração de H₂O₂

(Boaretto et al., 2023). Desse modo, as respostas à aplicação de Zn e Mn via drench devem se tornar mais evidentes a médio e longo prazo.

7.2 Experimento 2

Os resultados do Experimento 2 demonstram que a aplicação de Zn e Mn via drench, independentemente da presença de bioestimulantes, foi eficiente em aumentar a disponibilidade desses micronutrientes no solo nas camadas de 0–20 e 20–40 cm. Esse comportamento é consistente com os resultados observados no Experimento 1 e corrobora a eficiência do drench como estratégia de fornecimento localizado de Zn e Mn, promovendo sua distribuição vertical no perfil do solo. O aumento da absorção de nutrientes pelas plantas em resposta à aplicação de bioestimulantes geralmente ocorre pela sinalização hormonal, que pode promover o desenvolvimento do sistema radicular e aumentar da área de absorção, pela modulação das respostas ao estresse e aumento da eficiência fisiológica e metabólica das plantas, ou por modificações na dinâmica química do solo e alterações da disponibilidade, mobilidade e forma química dos nutrientes (Khoulati et al., 2025; Alebidi & Abdel-Sattar, 2024). A ausência de efeito do fator bioestimulante sobre a disponibilidade de Zn e Mn no solo sugere que, nas condições avaliadas, seus mecanismos de ação não alteraram a dinâmica química do solo.

As plantas não diferiram entre os tratamentos para o teor de Zn e Mn nos tecidos e para as variáveis de crescimento, indicando que, assim como no experimento 1, o Zn e Mn aplicados (fator Zn + Mn) foram adsorvidos, formando ligações fortes com as argilas do solo, limitando a absorção pelas plantas (Kabata-Pendias, 2000; Alloway, 2008; Gupta et al., 2016). Essa resposta indica que, por mais que o fator bioestimulante possa ter causado alterações na bioquímica da planta, pela modulação hormonal, essas alterações não foram suficientes para promover o crescimento das plantas, e conseqüentemente aumentar a absorção de nutrientes (Alebidi & Abdel-Sattar, 2024; Khan et al., 2022).

Os fatores Zn + Mn e bioestimulantes não apresentaram diferença para as variáveis de clorofila a, b e carotenoides (Figura 13). De modo geral, a aplicação de bioestimulantes é associada a respostas positivas em parâmetros fotossintéticos, dado seu papel benéfico no ciclo do N, estimulando à biossíntese desses pigmentos, e pela redução da degradação da clorofila, decorrente do aumento da atividade do sistema antioxidante (Nardi et al., 2016; Zulfiqar et al., 2024). Contudo essa resposta não foi expressiva indicando que no desenho experimental utilizado os bioestimulantes não foram eficientes no beneficiamento dessas variáveis.

A aplicação de extrato de algas pode aumentar a expressão de genes relacionados ao sistema antioxidante das plantas, de modo a aumentar a atividade enzimática (Santaniello et al.,

2017). No entanto, em nosso estudo, a aplicação do bioestimulante aumentou apenas a atividade da CAT, sem efeitos significativos sobre as demais enzimas antioxidantes avaliadas (Figura 14). Em diferentes condições, o uso de bioestimulantes é relacionado ao aumento a tolerância ao estresse em plantas, pela promoção da regulação da atividade de enzimas antioxidantes e síntese de antioxidantes não enzimáticos, assim melhorando a eficiência fisiológica (Hasanuzzaman et al., 2021; Elansary et al., 2017). Entretanto, a resposta isolada da atividade da CAT pode indicar que o bioestimulante foi capaz de promover alterações bioquímicas, mas não é possível afirmar que há efeito sinérgico entre a aplicação de bioestimulantes e Zn+Mn, visto que essas alterações não foram suficientes para promover as demais variáveis, como teores disponíveis no solo, teores de nutrientes nas folhas e crescimento.

8 CONCLUSÃO

Considerando o aumento da incidência de sintomas de deficiência de Zn e Mn em pomares de citros no Brasil e as limitações associadas às atuais recomendações de fornecimento via foliar, torna-se relevante a busca por estratégias alternativas que possam otimizar o manejo desses micronutrientes.

Os resultados obtidos indicam que o fornecimento de Zn e Mn via drench promoveu aumento dos teores disponíveis desses micronutrientes no perfil do solo na região mais próxima da planta, evidenciando que essa estratégia contribui para a construção da fertilidade do solo. Dessa forma, a primeira hipótese do trabalho, de que o fornecimento de Zn e Mn via drench contribuiria para a construção da fertilidade do solo, foi aceita. Contudo, para o primeiro ano de desenvolvimento do pomar o incremento na disponibilidade de Zn e Mn no solo não se refletiu em respostas consistentes nas variáveis de crescimento ou no estado nutricional das plantas, o que não sustenta a recomendação dessa prática como substituta às aplicações foliares atualmente adotadas.

A aplicação de bioestimulantes promoveu alterações pontuais em parâmetros bioquímicos, com destaque para o aumento da atividade da catalase (CAT), sugerindo uma possível modulação do sistema antioxidante das plantas. No entanto, tais efeitos não se mostraram consistentes entre as demais avaliações fisiológicas, bioquímicas ou nutricionais. Assim, a segunda hipótese do estudo foi refutada, uma vez que a aplicação conjunta de Zn, Mn e bioestimulantes via drench não favoreceu de forma significativa o estado nutricional ou o desempenho fisiológico das plantas de citros.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alebidi, A. & Abdel-Sattar, M. Synergistic effect of seaweed extract and boric acid and/or calcium chloride on productivity and physico-chemical properties of Valencia orange. *PeerJ*, v. 12, p. e17378, 2024.
- Alejandro, S. et al. Manganese in plants: from acquisition to subcellular allocation. *Frontiers in plant science*, v. 11, p. 300, 2020.
- Alexieva, V. et al. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant, Cell & Environment*, v. 24, n. 12, p. 1337-1344, 2001.
- Ali, O. et al. Biostimulant properties of seaweed extracts in plants: Implications towards sustainable crop production. *Plants*, v. 10, n. 3, p. 531, 2021.
- Alloway, B. J. Zinc in soils and crop nutrition. 2008.
- Alquézar, B. et al. Cultural management of huanglongbing: Current status and ongoing research. *Phytopathology*, v. 112, n. 1, p. 11-25, 2022.
- Angelo, J.A. et al. Balança Comercial dos Agronegócios Paulista e Brasileiro, Janeiro a Novembro de 2023. *Análises e Indicadores do Agronegócio*, São Paulo, v. 18, n. 12, p. 1-16, 2023.
- Bailey, S. et al. A critical role for the Var2 FtsH homologue of *Arabidopsis thaliana* in the photosystem II repair cycle in vivo. *Journal of Biological Chemistry*, v. 277, n. 3, p. 2006-2011, 2002.
- Bassanezi, R.B. et al. Overview of citrus huanglongbing spread and management strategies in Brazil. *Tropical Plant Pathology*, v. 45, p. 251-264, 2020.
- Bataglia, O.C., et al. Métodos de análise química de plantas. Instituto Agronômico Campinas, 48 p., 1983.
- Bernado, W.P. et al. Biomass and leaf acclimations to ultraviolet solar radiation in juvenile plants of *Coffea arabica* and *C. canephora*. *Plants*, v. 10, n. 4, p. 640, 2021.
- Boaretto, R.M. et al. Levantamento de Micronutrientes no Cinturão Citrícola Brasileiro. *Anuário Brasileiro de Tecnologia e Produção Vegetal (Abisolo)*, São Paulo, p. 51 - 56, 2020.
- Boaretto, R.M. et al. Zinc fertilizers for Citrus production: assessing nutrient supply via fertigation or foliar application. *Plant and Soil*, p. 1-14, 2023.
- Boina, D.R.; Bloomquist, J.R. Chemical control of the Asian citrus psyllid and of huanglongbing disease in citrus. *Pest Management Science*, v. 71, n. 6, p. 808-823, 2015.
- Bradford, M.M. A rapid and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye-binding. *Anal. Biochem.*, v.72, p.248-254, 1976.

- Brasil. Decreto Nº 10.375, de 26 de maio de 2020. Institui o Programa Nacional de Bioinsumos e o Conselho Estratégico do Programa Nacional de Bioinsumos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, seção 1, n. 100, p. 105, 27 maio 2020.
- Broadley, M. R. et al. Zinc in plants. *New phytologist*, v. 173, n. 4, p. 677-702, 2007.
- Cakmak, I. et al. Effect of zinc nutritional status on growth, protein metabolism and levels of indole-3-acetic acid and other phytohormones in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Experimental Botany*, v. 40, n. 3, p. 405-412, 1989.
- Cakmak, I. Tansley Review No. 111 Possible roles of zinc in protecting plant cells from damage by reactive oxygen species. *The New Phytologist*, v. 146, n. 2, p. 185-205, 2000.
- Cakmak, I.. Enrichment of cereal grains with zinc: agronomic or genetic biofortification?. *Plant and soil*, v. 302, n. 1, p. 1-17, 2008.
- Choulot, M. et al. The Enzyme-Assisted Extraction of compounds of interest in agriculture: Case study of the red seaweed *Solieria chordalis* (C. Agardh) J. Agardh. *Algal Research*, v. 75, p. 103239, 2023.
- Clemens, S. et al. A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. *Trends in plant science*, v. 7, n. 7, p. 309-315, 2002.
- Devi, S.R.; Prasad, M.N.V. Copper toxicity in *Ceratophyllum demersum* L. (Coontail), a free floating macrophyte: response of antioxidant enzymes and antioxidants. *Plant science*, v. 138, n. 2, p. 157-165, 1998.
- Elansary, H.O. et al. Seaweed extracts enhance salam turfgrass performance during prolonged irrigation intervals and saline shock. *Frontiers in Plant Science*, v. 8, p. 830, 2017.
- Eshghi, S. & Garazhian, M. Improving growth, yield and fruit quality of strawberry by foliar and soil drench applications of humic acid. *Iran Agricultural Research*, v. 34, n. 1, p. 14-20, 2015.
- Fischer, W.W. et al. Manganese and the evolution of photosynthesis. *Origins of Life and Evolution of Biospheres*, v. 45, p. 351-357, 2015.
- Fundecitrus – Fundo de Defesa da Citricultura. Pesquisa de Estimativa de Safra (PES) – Safra 2025/2026. Araraquara: Fundecitrus, 2025a. Disponível em: <https://www.fundecitrus.com.br/pes/>
- Fundecitrus – Fundo de Defesa da Citricultura. Levantamento da incidência das doenças dos citros no cinturão citrícola de São Paulo e Triângulo/Sudoeste Mineiro. Araraquara: Fundecitrus, 2025b. Disponível em: https://www.fundecitrus.com.br/wp-content/uploads/2025/09/Levantamento-de-doencas-2025_Relatorio.pdf
- González-Costa, J.J. et al. Analysis of the importance of oxides and clays in Cd, Cr, Cu, Ni, Pb and Zn adsorption and retention with regression trees. *PLoS one*, v. 12, n. 1, p. e0168523, 2017.

- Gupta, N. et al. Mechanism of Zinc absorption in plants: uptake, transport, translocation and accumulation. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, v. 15, n. 1, p. 89-109, 2016.
- Hansch, R. et al. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). *Current opinion in plant biology*, v. 12, n. 3, p. 259-266, 2009.
- Hasanuzzaman, M. et al. Biostimulants for the regulation of reactive oxygen species metabolism in plants under abiotic stress. *Cells*, v. 10, n. 10, p. 2537, 2021.
- Hippler, F.W.R. et al. Towards soil management with Zn and Mn: estimates of fertilisation efficacy of Citrus trees. *Annals of Applied Biology*, v. 166, p. 484-495, 2015.
- Hiscox, J. D.; Israelstam, G. F. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. *Canadian journal of botany*, v. 57, n. 12, p. 1332-1334, 1979.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Produção Agrícola Municipal 2024. Rio de Janeiro: IBGE, 2024. Disponível em: <<https://biblioteca.ibge.gov.br/index.php/biblioteca-catalogo?view=detalhes&id=766>>. Acesso em: 23 nov. 2025.
- Kabata-Pendias, A. Trace elements in soils and plants. CRC press, 2000.
- Kar, M. et al. Catalase, Peroxidase, and Polyphenoloxidase Activities during Rice Leaf Senescence. *Plant Physiology*, v. 57, n. 2, p. 315–319, 1976.
- Khan, A.S. et al. Supplemental foliar applied mixture of amino acids and seaweed extract improved vegetative growth, yield and quality of citrus fruit. *Scientia Horticulturae*, v. 296, p. 110903, 2022.
- Khoulati, A. et al. Harnessing biostimulants for sustainable agriculture: innovations, challenges, and future prospects. *Discover Agriculture*, v. 3, n. 1, p. 56, 2025.
- Kist, B.B. et al. Anuário Brasileiro de Horti & Fruti 2023, Editora Gazeta Santa Cruz, 108p, 2023.
- Krämer, U.; Clemens, S. Functions and homeostasis of zinc, copper, and nickel in plants. In: *Molecular biology of metal homeostasis and detoxification: From microbes to man*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2005. p. 215-271.
- Krug, A.V. et al. Proposition of critical levels of nutrients in citrus leaves, grown in a subtropical climate, for fresh market fruit production. *Scientia Horticulturae*, v. 317, p. 112047, 2023.
- Macedo, L.O. et al. Use of sparingly soluble micronutrients sources for citrus production. *Citrus Research & Technology*, v. 38, n. 2, p. 1-10, 2017.
- Millaleo, R. et al. Manganese as essential and toxic element for plants: transport, accumulation and resistance mechanisms. *Journal of soil science and plant nutrition*, v. 10, n. 4, p. 470-481, 2010.

- Miranda, M.P. et al. Spray volumes and frequencies of insecticide applications for suppressing *Diaphorina citri* populations in orchards. *Crop Protection*, v. 140, p. 105406, 2021.
- Miranda, M.P. et al. Thiamethoxam and imidacloprid drench applications on sweet orange nursery trees disrupt the feeding and settling behaviour of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). *Pest Management Science*, v. 72, n. 9, p. 1785-1793, 2016.
- Moreira, R.A. et al. Granulado bioclástico associado ao raleio químico na produção e qualidade de tangerinas Ponkan. *Citrus Research & Technology*, v. 33, n. 2, p. 81-90, 2017.
- Moreno-Lora, A.; Delgado, A.. Factors determining Zn availability and uptake by plants in soils developed under Mediterranean climate. *Geoderma*, v. 376, p. 114509, 2020.
- Parra, J.R.P. et al. Sustainability in Brazilian citriculture: three decades of successful biological control of insect pests. *Frontiers in Agronomy*, v. 4, p. 874188, 2022.
- Peixoto, P. H. P. et al. Aluminum effects on lipid peroxidation and on the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, v. 11, n. 3, p. 137-143, 1999.
- Quaggio J.A et al. Citros. In: H. Cantarella, J.A. Quaggio, D. Mattos Jr., R.M. Boaretto, Raij, B. van. (Org.). *Boletim100: Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo*. 1ed.Campinas: Instituto Agrônômico, 2022, p. 187-198.
- Quaggio, J.A. et al. Fertilização com boro e zinco no solo em complementação à aplicação via foliar em Laranja Pêra. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 38, p. 627-634, 2003.
- Raij, B. et al. *Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais*. Campinas: Instituto Agrônômico, 285p., 2001.
- Ramos, E.P. et al. Lithothamnion sp. as biostimulant in plant cultivation. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, v. 53, p. e76273, 2023.
- Rayorath, P. et al. Rapid bioassays to evaluate the plant growth promoting activity of *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. using a model plant, *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Journal of applied phycology*, v. 20, n. 4, p. 423-429, 2008.
- Rengel, Z. Availability of Mn, Zn and Fe in the rhizosphere. *Journal of soil science and plant nutrition*, v. 15, n. 2, p. 397-409, 2015.
- Rengel, Zed; et al., (Ed.). *Marschner's mineral nutrition of plants*. Academic press, 2022.
- Saeger, J. et al. Toward the molecular understanding of the action mechanism of *Ascophyllum nodosum* extracts on plants. *Journal of Applied Phycology*, v. 32, n. 1, p. 573-597, 2020.
- Santaniello, A. et al. *Ascophyllum nodosum* seaweed extract alleviates drought stress in *Arabidopsis* by affecting photosynthetic performance and related gene expression. *Frontiers in plant science*, v. 8, p. 1362, 2017.
- Santos, J.P. et al. Biostimulant potential of Brazilian macroalgae: seasonal variations and effects on early growth and germination of lettuce. *Brazilian Journal of Botany*, v. 46, n. 4, p. 767-774, 2023.

- Sartori, R.H. et al. Absorção radicular e foliar de ^{65}Zn e sua redistribuição em laranjeiras. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, v. 30, n. 2, p. 523-527, 2008.
- Shukla, P.S. et al. *Ascophyllum nodosum* extract mitigates salinity stress in *Arabidopsis thaliana* by modulating the expression of miRNA involved in stress tolerance and nutrient acquisition. *PLoS One*, v. 13, n. 10, p. e0206221, 2018.
- Shukla, P.S. et al. *Ascophyllum nodosum*-based biostimulants: Sustainable applications in agriculture for the stimulation of plant growth, stress tolerance, and disease management. *Frontiers in plant science*, v. 10, p. 462648, 2019.
- Sible, C.N. et al. Plant biostimulants: A categorical review, their implications for row crop production, and relation to soil health indicators. *Agronomy*, v. 11, n. 7, p. 1297, 2022.
- Souza, H.A. de et al. Avaliação de doses e produtos corretores da acidez em variáveis biométricas na produção de mudas de maracujazeiro. *Acta Scientiarum. Agronomy*, v. 31, p. 607-612, 2009.
- Souza, R.Y.R. et al., Jasmonates enhance plants tolerance grown in Cd-contaminated environments: A comprehensive overview. *Annals of Applied Biology*, p. 1–16, 2025.
- Stephenie, S. et al. An insight on superoxide dismutase (SOD) from plants for mammalian health enhancement. *Journal of Functional Foods*, v. 68, p. 103917, 2020.
- Subramanian, S. et al. Extracts of the marine brown macroalga, *Ascophyllum nodosum*, induce jasmonic acid dependent systemic resistance in *Arabidopsis thaliana* against *Pseudomonas syringae* pv. tomato DC3000 and *Sclerotinia sclerotiorum*. *European journal of plant pathology*, v. 131, n. 2, p. 237-248, 2011.
- Teisseire, H. et al. Copper-induced changes in antioxidant enzymes activities in fronds of duckweed (*Lemna minor*). *Plant science*, v. 153, n. 1, p. 65–72, 2000.
- Teixeira, G.A. et al. Produção de mudas de mamoeiro formosa em substratos com doses de lithothamnium. *Revista da FZVA*, v. 16, n. 2, p. 220-229, 2009.
- Torres, F.Z.V. et al. Occurrence of thiamethoxam in coffee (*Coffea arabica* L.) leaves and fruits following a soil drench application of the insecticide. 2010.
- Umar, U.D. et al. Micronutrients foliar and drench application mitigate mango sudden decline disorder and impact fruit yield. *Agronomy*, v. 12, n. 10, p. 2449, 2022.
- Vieira, J.G.A. et al. Effect of Systemic Insecticides Applied via *Drench* on the Mortality of *Diaphorina citri* on Curry Leaf. *Insects*, v. 14, n. 5, p. 422, 2023.
- Vitti, G.C. et al. Influence of soil and leaf applications of micronutrients on yield and fruit quality of *Citrus sinensis* Osbeck, variety Pera. In: *Optimization of Plant Nutrition: Refereed papers from the Eighth International Colloquium for the Optimization of Plant Nutrition*. Springer Netherlands. p. 453-456. 1993
- Wally, O.S.D. et al. Regulation of phytohormone biosynthesis and accumulation in *Arabidopsis* following treatment with commercial extract from the marine macroalga *Ascophyllum nodosum*. *Journal of plant growth regulation*, v. 32, n. 2, p. 324-339, 2013.

- Wellburn, A.R. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of plant physiology*, v. 144, n. 3, p. 307-313, 1994.
- Willows, R.D. Chlorophyll synthesis. In: *The structure and function of plastids*. Dordrecht: Springer Netherlands, 2007. p. 295-313.
- Xu, Z. et al. Available medium and micronutrients in the soils of major citrus-producing areas in Southeast China. *Journal of Environmental Management*, v. 389, p. 126078, 2025.
- Yan, Z. et al. Methyl jasmonate alleviates cadmium toxicity in *Solanum nigrum* by regulating metal uptake and antioxidative capacity. *Biologia plantarum*, v. 59, n. 2, p. 373-381, 2015.
- Yildiztekin, M. et al. Physiological effects of the brown seaweed (*Ascophyllum nodosum*) and humic substances on plant growth, enzyme activities of certain pepper plants grown under salt stress. *Acta Biologica Hungarica*, v. 69, p. 325-335, 2018.