

CARLOS ALBERTO SILVA

**MINERALIZAÇÃO DE NITROGÊNIO E ENXOFRE E
CARACTERIZAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS EM SOLOS
BRASILEIROS POR ^{13}C -RMN E CROMATOLOGRAFIA POR
EXCLUSÃO DE TAMANHO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências para obtenção do título de "Doutor" em Agronomia, área de concentração em Solos e Nutrição de Plantas.

Orientador
Prof. Fabiano Ribeiro do Vale

LAVRAS

DESCARTE

ASSINATURA

Data

BIBLIOTECA UNIVERSITÁRIA
UFLA

Silva, Carlos Alberto

Mineralização de nitrogênio e enxofre e caracterização de substâncias húmicas em solos brasileiros por ^{13}C -RMN e cromatografia por exclusão de tamanho / Carlos Alberto Silva. -- Lavras : UFLA, 1997. 82p. : il.

Orientador: Fabiano Ribeiro do Vale

Tese (Doutorado) - UFLA.

Bibliografia.

1. Solo - Matéria orgânica. 2. Substâncias húmicas. 3. Mineralização - Nitrogênio - Enxofre. 4. Calcário. 5. Fósforo. 6. ^{13}C -RMN. 7. Cromatografia. 8. Húmus. 9. Correção - Acidez. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-631.417

-631.8

CARLOS ALBERTO SILVA

**MINERALIZAÇÃO DE NITROGÊNIO E ENXOFRE E CARACTERIZAÇÃO DE
SUBSTÂNCIAS HÚMICAS EM SOLOS BRASILEIROS POR ^{13}C -RMN E
CROMATOGRÁFIA POR EXCLUSÃO DE TAMANHO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Doutorado em Agronomia, área de concentração em Solos e Nutrição de Plantas, para obtenção do título de "Doutor".

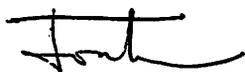
APROVADA EM: 15 de julho de 1997.



Dr. Fabiano Ribeiro do Vale
- Orientador -



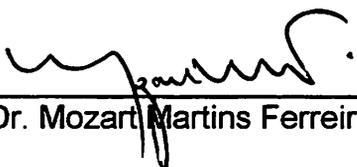
Dr. Eduardo de Sá Mendonça
-Co-orientador-



Dr. José Maria de Lima



Drª Janice Guedes de Carvalho



Dr. Mozart Martins Ferreira

À minha família,

pela confiança em mim depositada

OFEREÇO

À minha esposa,

pelo amor, dedicação e compreensão

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras, à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária e à Michigan State University pela oportunidade de realizar o curso e o presente estudo.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à CAPES pela concessão das bolsas de estudo.

Aos professores Fabiano Ribeiro do Vale e Sharon Jill Anderson pela paciência na orientação, pela amizade, oportunidade e ensinamentos.

Aos amigos Luiz Roberto Guimarães Guilherme e Pedro Machado pelo apoio incondicional e, sobretudo, pela grande amizade.

Ao professor Eduardo de Sá Mendonça pelo apoio, amizade, ensinamentos e incentivo constante.

Aos professores do Departamento de Ciência do Solo, e em especial aos professores José Maria de Lima, Nilton Curi, Mozart Martins Ferreira, José Oswaldo Siqueira e Janice Guedes de Carvalho pelos ensinamentos e amizade.

Aos colegas Antônio Quaggio, Thomas Rein, Léo Miranda e José Antônio Maior Bono pela ajuda incondicional e pela amizade.

Aos amigos Luiz Arnaldo Fernandes e Álvaro Vilela Resende pela convivência saudável e pela colaboração.

Aos colegas de Pós-Graduação pelo saudável convívio, incentivo e pela solidariedade.

Aos colegas do Centro Nacional de Pesquisa de Solos/Embrapa pelo apoio incondicional na realização do curso de Doutorado.

LISTA DE ABREVIATURAS

- AF - ácido fúlvico
- AF_p - ácido fúlvico padrão adquirido junto à SISH
- AH - ácido húmico
- AH_p - ácido húmico padrão adquirido junto à SISH
- C - Cambissolo
- CETAE - cromatografia por exclusão de tamanho de alta eficiência
- CTC - capacidade de troca de cátions a pH 7,0
- E_C - fator de enriquecimento de carbono
- E_N - fator de enriquecimento de nitrogênio
- FF - fração fúlvica
- HGH - Glei Húmico
- HGP - Glei Pouco Húmico
- LE1 - Latossolo Vermelho-Escuro (IAC)
- LE2 - Latossolo Vermelho-Escuro (Embrapa/CPAC)
- LR - Latossolo Roxo
- LV1 - Latossolo Vermelho-Amarelo (Itumirim)
- LV2 - Latossolo Vermelho-Amarelo (Rio de Janeiro)
- MO - matéria orgânica
- N_m - nitrogênio mineral nas formas de nitrato e amônio
- N_t - nitrogênio total no solo
- PM - peso molecular
- PV - Podzólico Vermelho-Amarelo
- RMN - ressonância magnética nuclear
- SH - substâncias húmicas
- SISH - Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas
- S_t - enxofre total no solo, excluindo formas cristalinas desse elemento
- VR - volume de retenção

SUMÁRIO

	página
LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	x
RESUMO.....	xii
ABSTRACT.....	xiv
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
CAPÍTULO I - MINERALIZAÇÃO DO NITROGÊNIO E ENXOFRE EM DIFERENTES SOLOS SOB INFLUÊNCIA DA CALAGEM E DA APLICAÇÃO DE FÓSFORO.....	5
RESUMO.....	5
ABSTRACT.....	6
1.1 - INTRODUÇÃO.....	7
1.2 - MATERIAL E MÉTODOS.....	9
1.3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	11
1.4 - CONCLUSÕES.....	21
1.5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	22
CAPÍTULO II - TEORES E DISTRIBUIÇÃO DE CARBONO E NITROGÊNIO EM LATOSSOLOS CULTIVADOS E SOB VEGETAÇÃO NATURAL.....	25
RESUMO.....	25
ABSTRACT.....	26
2.1 - INTRODUÇÃO.....	27
2.2 - MATERIAL E MÉTODOS.....	28
2.3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
2.4 - CONCLUSÕES.....	39
2.5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39

CAPÍTULO III - CARACTERIZAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS EM SOLO CULTIVADO E SOB FLORESTA: USO DA CROMATOGRAFIA POR EXCLUSÃO DE TAMANHO.....	42
RESUMO.....	42
ABSTRACT.....	44
3.1 - INTRODUÇÃO.....	45
3.2 - MATERIAL E MÉTODOS.....	46
3.3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
3.4 - CONCLUSÕES.....	56
3.5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57
CAPÍTULO IV - COMPOSIÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA EM LATOSSOLO CULTIVADO E SOB FLORESTA: USO DAS TÉCNICAS DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR E COMPOSIÇÃO ISOTÓPICA DE ¹³ C.....	59
RESUMO.....	59
ABSTRACT.....	61
4.1 - INTRODUÇÃO.....	62
4.2 - MATERIAL E MÉTODOS.....	64
4.3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	66
4.4 - CONCLUSÕES.....	77
4.5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	78
CONCLUSÕES GERAIS.....	81

LISTA DE TABELAS

TABELA		página
1.1	Caracterização química e textura dos sete materiais de solo utilizados no estudo, antes da aplicação dos tratamentos.....	9
1.2	Curvas de neutralização dos solos estudados.....	10
1.3	Análise química de amostras da camada superficial (0-20 cm) dos sete materiais de solo, após a aplicação dos tratamentos, no início (i) e ao término (f) do período de incubação.....	12
1.4	Teores totais de carbono, formas de nitrogênio e enxofre e relações entre estes elementos nos sete solos utilizados no estudo.....	13
2.1	Principais propriedades químicas e textura dos solos e dos respectivos tratamentos destes estudados.....	30
2.2	Teores e fator de enriquecimento de carbono nos solos LE1 e LE2 e em suas frações texturais.....	32
2.3	Teores e fator de enriquecimento de nitrogênio no LE1 e em suas frações texturais.....	33
3.1	Concentrações e proporções de AH _p e AF _p e valores de área obtidos via monitoramento do carbono a 280 nm.....	50
3.2	Pesos moleculares estimados de AH e AF, obtidos via CETAE, sob influência do uso e manejo dos solos e do método de extração das substâncias húmicas.....	52
3.3	Teores de C total e de substâncias húmicas (Fracionamento convencional proposto pela SISH) de um latossolo sob floresta e cultivado, com (Calc) ou sem calcário (Test).....	55
4.1	Textura e principais propriedades químicas dos materiais de solo coletados na floresta e nas parcelas cultivadas Calc e Test.....	66

4.2	Valores de $\delta^{13}\text{C}$ do solo e de partículas texturais originárias da floresta e das áreas cultivadas do LE1.....	74
-----	---	----



LISTA DE FIGURAS

FIGURA		página
1.1	Mineralização líquida de nitrogênio, ao término dos cinco períodos de incubação, sob influência da calagem e da adição de fósforo.....	15
1.2	Percentagem de nitrogênio mineral na forma de nitrato sob influência dos tratamentos estudados	18
1.3	Mineralização líquida de enxofre, ao término dos cinco períodos de incubação, sob influência da calagem e da adição de fósforo.....	19
2.1	Relações C/N em solo e em frações texturais de áreas do LE1 sob influência de diferentes uso e manejo.....	36
2.2	Distribuição relativa de carbono e nitrogênio nas áreas cultivadas e sob floresta do LE1.....	37
2.3	Distribuição relativa de carbono nas áreas cultivadas e sob cerrado do LE2.....	38
3.1	Cromatogramas de misturas de substâncias húmicas padrões, nas seguintes proporções: a) 08%(AH _p):92%(AF _p) e b) 57(AH _p):43%(AF _p).....	50
3.2	Cromatogramas de substâncias húmicas originárias de latossolo sob floresta e extraídas: a) Com NaOH 0,1 M e b) Com resina Chelex.....	51
3.3	Proporções de ácidos húmico (AH) e fúlvico (AF) e fração fúlvica (FF) sob influência do uso e manejo do LE1 e de métodos de extração e fracionamento de substâncias húmicas (SH). Legenda: AH e FF SISH: proporções de AH e FF presentes em SH extraídas com NaOH e fracionadas pelo método proposto pela SISH; AH e AF Resina: proporções de AH e AF presentes em SH extraídas	

	pela resina Chelex e fracionadas via CETAE; AH e AF NaOH: proporções de AH e AF presentes em SH extraídas com NaOH e fracionadas via CETAE.....	54
4.1	Espectros de ^{13}C RMN no estado líquido de substâncias húmicas originárias da floresta e das áreas sob cultivo Calc e Test a) Fração fina e b) Fração intermediária.....	67
4.2	Distribuição de grupos funcionais de carbono em substâncias húmicas de solo e Fr. fina, extraídas com NaOH 0,1M e resina Chelex e frações intermediária e grossa, extraídas com NaOH originárias da floresta (Fr), da área calcariada (Calc) e da testemunha (Test). C-alif.:C-alifático; C-carb.: C-carboidrato; C-arom.: C-aromático; C-carbox.: C-carboxílico.....	69
4.3	Curvas de titulação potenciométrica de substâncias húmicas originárias da floresta e das áreas Calc e Test e extraídas com NaOH 0,1 M e resina Chelex.....	76

RESUMO

SILVA, Carlos Alberto. **Mineralização de nitrogênio e enxofre e caracterização de substâncias húmicas em solos brasileiros por ^{13}C -RMN e cromatografia por exclusão de tamanho.** Lavras: UFLA, 1997. 82 p. (Tese - Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas)*

Conduziram-se quatro estudos em condições de laboratório, objetivando-se avaliar a dinâmica da matéria orgânica e da mineralização de nitrogênio e enxofre em solos sob vegetação natural e cultivados, sob efeito ou não da calagem e da adição de fósforo. No primeiro estudo, avaliou-se a influência da acidez do solo e/ou da aplicação de fósforo sobre a mineralização de nitrogênio e enxofre em sete solos com uma ampla variabilidade nas características químicas e físicas. No segundo estudo, analisaram-se os teores e a distribuição de carbono e nitrogênio em solos e em suas frações texturais e suas relações com a capacidade de troca catiônica (CTC) em Latossolo vermelho-escuro (LE1) sob floresta e cultivado, sob efeito ou não da calagem, e em Latossolo vermelho-escuro (LE2) sob cerrado e sob cultivo, com ou sem fósforo. As amostras de solo foram dispersas com ultra-som, sem o uso de agentes químicos. No terceiro estudo, foram avaliados o peso molecular estimado e as proporções de ácidos húmico (AH) e fúlvico (AF) presentes em substâncias húmicas extraídas com NaOH 0,1M e resina Chelex e originárias das três áreas amostradas do LE1, através do uso da Cromatografia por Exclusão de Tamanho de Alta Eficiência (CETAE). No quarto estudo, avaliou-se a composição da matéria orgânica oriunda das áreas cultivadas e sob floresta do LE1. Neste estudo, a extração das substâncias húmicas foi efetuada

*Orientador: Fabiano Ribeiro do Vale. Membros da banca: Eduardo de Sá Mendonça, José Maria de Lima, Janice Guedes de Carvalho e Mozart Martins Ferreira.

com o uso de NaOH e resina Chelex, sendo os materiais húmicos caracterizados pelas técnicas de ^{13}C -ressonância magnética nuclear (RMN) no estado líquido e composição isotópica de ^{13}C em materiais de solo e em suas frações texturais. Os resultados obtidos no presente estudo evidenciaram que os teores de nitrogênio mineralizado não foram afetados pela calagem, contudo a adoção dessa prática acelerou a mineralização do nitrogênio no HGH e LV2. Ao contrário, a mineralização de enxofre nos solos HGP e LV2 foi afetada pela calagem, que promoveu maior disponibilidade de sulfato nestes solos. A maior prevalência de nitrato e sulfato nos solos calcariados pode significar elevada perdas desses ânions do sistema solo-planta, o que enfatiza a importância em se adotar novos critérios no estabelecimento da época de aplicação de corretivo. A caracterização cromatográfica das substâncias húmicas revelou o alto potencial da CETAE em determinar proporções e peso molecular de ácidos fúlvico e húmico oriundos de matrizes de solo. Revelou ainda ser a matéria orgânica no LE1 composta majoritariamente por frações mais ativas e de baixo peso molecular (aprox. 1375 daltons), os ácidos fúlvicos. Em menor proporção, encontram-se os ácidos húmicos, frações de maior tamanho e com peso molecular estimado de 31500 daltons. A análise qualitativa da matéria orgânica via ^{13}C -RMN revelou a presença de materiais orgânicos ricos em estruturas aromáticas e carboxílicas. O cultivo do LE1 resultou em drásticas perdas de carbono e nitrogênio, redução da CTC em pH 7,0 e em uma maior presença de estrutura aromáticas, possivelmente com baixo potencial de liberação de nutrientes e de difícil utilização pelos microrganismos. Nestas condições, seria desejável a adoção de práticas de manejo que priorizassem a maior adição e permanência de restos vegetais nas áreas de plantio. Tais práticas contribuiriam no sentido de aumentar os reservatórios e a biodisponibilidade da matéria orgânica, ou mesmo para evitar as drásticas reduções nos estoques de carbono e nitrogênio observadas com o cultivo.

ABSTRACT

NITROGEN AND SULFUR MINERALIZATION AND HUMIC SUBSTANCES CHARACTERIZATION IN BRAZILIAN SOILS BY ¹³C-NMR AND SIZE EXCLUSION CHROMATOGRAPHY

With the purpose of evaluating the dynamic of organic matter and nitrogen and sulfur mineralization in soils under natural vegetation and cultivated, with and without liming and phosphorus, four experiments were conducted under laboratory conditions. In the first experiment, it was evaluated the effect of soil acidity and phosphorus application on nitrogen and sulfur mineralization in seven soils with a large variability in chemical and physical properties. In the second experiment, the content and distribution of carbon and nitrogen in whole soil and particle-size fractions and their effect on cation exchange capacity (CEC) were analyzed in a very clayey textured red latosol (LE1) under forest and cropped, with and without correction of soil acidity, and in a clayey textured red latosol (LE2) under cerrado and cropped, with or without phosphorus. In the third experiment it was evaluated the molecular weight (mw) as well as the proportions of humic and fulvic acids in soil humic substances extracted with NaOH and Chelex resin, via High Pressure Size Exclusion Chromatography (HPSEC). Finally, in the four experiment soil organic matter composition as a consequence of cropping was investigated using a combination of natural ¹³C abundance technique and Liquid State ¹³C Nuclear Magnetic Resonance (NMR) in a forested and cultivated latosol (LE1). Mineralized nitrogen amounts were not affected by soil acidity, although liming accelerated nitrogen mineralization in HGH and LV2 soils. Liming the soils to a pH around 6.0 resulted in increased net sulfur mineralization in HGP and LV2 soils. Addition of superphosphate did not influence nitrogen and sulfur mineralization

processes. The greater prevalence of nitrate and sulphate in some of the limed soils suggests that the criterion used to choose time of lime application needs to be changed. Chromatographic analyzes of humic substances revealed the usefulness of HPSEC in determining the molecular weight and proportions of humic and fulvic acids from soil humic material. Organic matter in the LE1 is composed majority by low molecular weight and active fractions, the fulvic acids (mw=1375 daltons). The molecular weight of the organic fractions in lower proportions, the humic acids, was 31500 daltons. ^{13}C NMR spectra revealed the presence of extensively decomposed organic fractions, rich in aromatic-C and COOH. The drastic reduction of carbon and nitrogen in the cultivated areas of the LE1 was followed by intensive depletion in CEC pH 7,0 and in an increase of aromaticity and decreased proportions of alkyl C on whole soil and particle size fractions in limed and control plots, stressing the importance of management and conservation of organic matter in this soil. Increased addition of fresh and active organic matter, by the adoption of more sustainable management practices, is proposed in order to increase the fertility and sustainability of the tropical soils studied.

INTRODUÇÃO GERAL

No Brasil, há um domínio de solos ácidos, em cuja fração argila predominam minerais 1:1 e óxidos de ferro e alumínio (goetita e gibbsita). Esses solos caracterizam-se ainda por possuírem carga superficial variável, baixa capacidade de troca catiônica e baixa saturação por bases. Por se tratar de solos de avançado estágio de intemperização e baixa fertilidade, o papel desempenhado pela matéria orgânica se torna extremamente importante, não somente como principal fonte de cargas negativas e nutrientes, mas também como agente formador e estabilizador de agregados, com todas as implicações sobre os processos erosivos.

Nos agroecossistemas, os níveis de matéria orgânica se mostram dependentes dos tipos e quantidades de insumos agrícolas usados e da intensidade dos processos de decomposição. Na maioria das áreas sob plantio, o cultivo contínuo com revolvimento intensivo do solo e a baixa permanência de resíduos vegetais nas áreas cultivadas concorrem para decréscimos substanciais nos reservatórios de carbono e nitrogênio e mudanças na composição da matéria orgânica. Nos solos brasileiros, as perdas de carbono com o cultivo se tornam ainda mais drásticas, a ponto de se notar reduções de até 80%, num período de cinco anos, nos níveis de matéria orgânica de solos arenosos. Diante dessas considerações, torna-se importante elucidar o efeito de diferentes estratégias de manejo sobre a composição e níveis de matéria orgânica, tendo em vista, principalmente, a identificação de práticas de manejo de maior sustentabilidade.

No âmbito desta investigação, optou-se pelo estudo da influência da calagem e da adição de fósforo sobre a dinâmica da matéria orgânica e da mineralização de

nitrogênio e enxofre em solos sob vegetação natural e cultivados, muito em função dessas práticas concorrerem para mudanças drásticas nas propriedades físicas, químicas e biológicas dos solos.

Nas condições de baixa fertilidade dos solos brasileiros, uma elevação no pH de 4,5 a valores próximos da neutralidade normalmente resulta em maior produção vegetal e de resíduos culturais. Contudo, a calagem pode resultar em maior atividade microbiana e maior decomposição da matéria orgânica, sendo difícil prever o efeito dessa prática sobre os níveis de carbono e nitrogênio presentes nos solos cultivados. Na maioria dos estudos, a prática da calagem tem resultado em um aumento nas quantidades de nitrogênio e enxofre mineralizados, e em maior disponibilidade desses nutrientes às plantas. Em termos qualitativos, a correção da acidez do solo tem acarretado mudanças na composição da matéria orgânica, com maior presença de frações orgânicas de maior biodisponibilidade e menor concentração de ácidos fúlvicos nos horizontes superficiais dos solos calcariados.

A aplicação de fósforo se constitui também em etapa essencial na obtenção de altas produtividades e maiores quantidades de resíduos culturais, dado a maioria das culturas responder favoravelmente à aplicação desse nutriente e ser elevada a capacidade dos solos brasileiros em fixar fósforo. Estudos voltados à compreensão do efeito desse nutriente nos reservatórios e na qualidade da matéria orgânica, assim como sobre a mineralização do nitrogênio e enxofre, adquirem importância, pelo fato desses serem escassos nas condições dos solos brasileiros.

No que diz respeito ao processo de mineralização, um melhor entendimento das transformações do nitrogênio e do enxofre no solo se mostra também muito útil no sentido de maximizar-se o uso desses nutrientes pelas plantas e, por conseguinte, na busca por uma maior eficiência no uso de adubos contendo nitrogênio e enxofre. Tais estudos adquirem importância também na modelagem do ciclo desses nutrientes em diferentes sistemas de cultivo, mais especificamente nas áreas calcariadas e fosfatadas.

No estudo da dinâmica da mineralização de nitrogênio e enxofre em solos calcariados e adubados com fósforo, procurou-se envolver classes de solos com uma ampla variabilidade nas propriedades químicas e físicas. Foram selecionados sete

materiais de solo com teores de carbono que variaram de 8,12 a 136,89 g/kg, assim como solos de textura arenosa a argilosa, tendo em vista principalmente a obtenção de informações de espectro amplo, que pudessem ser extrapoladas para vários sistemas de cultivo. Optou-se também pela medição periódica dos teores de nitrogênio e enxofre mineralizados, em períodos de incubação que se estenderam a até 70 dias, tempo normalmente decorrente entre as etapas de aplicação do corretivo e plantio das culturas.

Na avaliação dos reservatórios de carbono e nitrogênio e da composição da matéria orgânica, as análises se concentraram em experimentos a campo de longa duração, mais especificamente em amostras de solos cultivadas por mais de dez anos, sob efeito da calagem e da adição de fósforo. A título de comparação, amostras desses mesmos solos sob condições naturais foram também incluídas no estudo. A avaliação da composição da matéria orgânica se concentrou na análise das substâncias húmicas, preferivelmente do que em ácidos fúlvico e húmico, na medida em que a composição do primeiro grupo de moléculas, presumivelmente, aproxima-se mais da composição da matéria orgânica como um todo. Optou-se também pela extração dos materiais húmicos em solos e em suas frações texturais, já que as frações orgânicas associadas à argila, silte e areia diferem em estrutura química, biodisponibilidade e taxa de decomposição.

Na caracterização da composição da matéria orgânica, foram utilizadas as técnicas de Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ^{13}C (^{13}C -RMN) e Cromatografia por Exclusão de tamanho de Alta Eficiência (CETAE). No caso da ^{13}C -RMN, optou-se pela análise das substâncias húmicas em estado líquido, haja visto que os altos teores de ferro presentes nos solos brasileiros comprometem sobremaneira a qualidade dos espectros de ^{13}C -RMN obtidos no estado sólido. O uso da ^{13}C -RMN propicia uma estimativa valiosa dos diferentes grupos funcionais de carbono componentes da matéria orgânica, permitindo ainda a avaliação da dinâmica desses grupos durante os processos de decomposição e humificação. O uso da CETAE na caracterização das substâncias húmicas se justifica pelo fato dessa técnica estar sendo usada com bastante sucesso nas análises de quantificação e distribuição de pesos moleculares de ácidos fúlvicos em aquíferos. Por tudo isso, a análise de substâncias húmicas oriundas de matrizes de solo via CETAE se mostra muito promissora no

sentido de se obter informações mais rápidas das proporções e pesos moleculares de ácidos fúlvico e húmico em diferentes sistemas de cultivo, com a vantagem da utilização de pequenas quantidades de materiais húmicos e da eliminação de etapas laboriosas normalmente utilizadas no fracionamento das substâncias húmicas.

O teste de um novo extrator de substâncias húmicas, a resina Chelex, foi também objeto de estudo dessa investigação. O uso dessa resina, quando comparada às soluções alcalinas, concorre para uma diminuição no pH de extração, oferecendo também a vantagem da obtenção de materiais húmicos mais puros, isentos de artefatos, cuja presença tem sido atribuída ao uso do NaOH.

O presente estudo teve por objetivo avaliar o efeito da correção da acidez do solo e da adição de fósforo sobre o processo de mineralização de nitrogênio e enxofre, em solos com uma ampla variabilidade nas propriedades químicas e físicas. Nesta investigação, as técnicas de ^{13}C -RMN no estado líquido, Cromatografia por Exclusão de Tamanho de Alta Eficiência, Composição isotópica de ^{13}C , dispersão física de solo por ultra-som e titulometria potenciométrica foram também usadas em amostras de solos sob vegetação natural, calcariados ou fosfatados, com o propósito de :

- 1) Avaliar a composição química de substâncias húmicas originárias de solo e de suas frações texturais.
- 2) Avaliar os níveis de carbono e nitrogênio e a redistribuição desses elementos em solos e em suas frações texturais.
- 3) Avaliar o peso molecular e as proporções de ácidos húmico e fúlvico em substâncias húmicas originárias de solos.
- 4) Analisar a influência dos extratores NaOH e resina Chelex na composição das substâncias húmicas.

CAPÍTULO I

MINERALIZAÇÃO DO NITROGÊNIO E ENXOFRE EM DIFERENTES SOLOS BRASILEIROS SOB INFLUÊNCIA DA CALAGEM E DA APLICAÇÃO DE FÓSFORO

RESUMO - O presente estudo, desenvolvido em condições de laboratório no período de outubro de 1995 a janeiro de 1996, objetivou avaliar a influência da calagem e da aplicação de fósforo sobre a mineralização do nitrogênio e do enxofre em sete solos brasileiros com uma ampla variabilidade nas características químicas e físicas. 200 g de solo, pré-incubadas com e sem CaCO_3 e P, foram incubadas em condições aeróbias por um período de 70 dias, sendo os teores de nitrogênio ($\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+$) e enxofre (SO_4^{2-}) mineralizados avaliados a cada quatorze dias. Os processos de mineralização do nitrogênio e enxofre apresentaram dinâmica diferenciada, com os teores de nitrogênio mineralizado apresentando maiores variações dos que os de sulfato. Os teores de nitrogênio mineralizado não se mostraram dependentes dos níveis de acidez do solo, sendo notado, porém, uma aceleração na mineralização do nitrogênio com a calagem dos solos HGH e LV2. Ao contrário, a mineralização de enxofre no HGP e LV2 foi afetada pela calagem, que promoveu maior disponibilidade de sulfato nestes solos. No geral, os teores de nitrogênio e enxofre mineralizados não foram influenciados pelos níveis de fósforo disponível. Foi muito baixa a capacidade do HGH, LR, LV1 e C em suprir enxofre, e do LV1 e C em suprir nitrogênio às plantas, independentemente da aplicação de calcário e fósforo. A maior prevalência de nitrato e sulfato em alguns dos solos calcariados implica em maior cuidado no estabelecimento da época de aplicação de corretivo, pelo fato desses dois ânions apresentarem elevada mobilidade nos solos brasileiros.

CHAPTER I

NITROGEN AND SULFUR MINERALIZATION IN DIFFERENT SOILS UNDER INFLUENCE OF LIMING AND PHOSPHORUS APPLICATION

ABSTRACT - This study was carried out under laboratory conditions, from October 1995 to January 1996, in order to evaluate the influence of liming and phosphorus application on nitrogen and sulfur mineralization in seven Brazilian (0-20 cm) soils with a wide variability in chemical and physical properties. 200 g of soil samples were incubated under aerobic conditions during seventy days, and the content of mineralized nitrogen (NH_4^+ and NO_3^-) and sulfur (SO_4^{2-}) were measured every other week. Transformation of nitrogen and sulfur showed different mineralization patterns from each other, with mineral nitrogen levels undergoing much greater variation than sulfate levels. Mineralized nitrogen amounts were not affected by soil acidity, although liming accelerated nitrogen mineralization in HGH and LV2 soils. Liming the soils to a pH around 6.0 resulted in increased net sulfur mineralization in HGP and LV2 soils. Addition of superphosphate did not influence nitrogen and sulfur mineralization processes. The capacity in supplying sulfur of HGH, LR, LV1, and C, and nitrogen of LV1, and C, was very low, regardless the application of lime and phosphorus. The greater prevalence of nitrate and sulphate in some of the limed soils suggests that the criterion used to choose time of lime application needs to be changed.

1.1 INTRODUÇÃO

Os solos brasileiros são, na sua maioria, caracterizados pelo avançado estágio de intemperização, pela elevada acidez e pela baixa disponibilidade de nutrientes (Goedert, 1983). Nessas condições, a produtividade das culturas é reduzida, a menos que se proceda a correção da acidez via calagem. A aplicação de fósforo se constitui também em etapa essencial na obtenção de altas produtividades, dado a maioria das culturas responder favoravelmente à aplicação desse nutriente e ser elevada a capacidade dos solos brasileiros em fixar fósforo (Lopes, 1983).

Os efeitos da aplicação de calcário e de fósforo sobre algumas características químicas dos solos e sobre o crescimento das plantas são bastante conhecidos, contudo poucos tem sido os estudos voltados à investigação da influência dessas práticas sobre a mineralização do nitrogênio e enxofre. O processo da mineralização consiste na conversão de formas orgânicas de nitrogênio e enxofre para as formas inorgânicas, amônio e sulfato, respectivamente. A intensidade desse processo se mostra bastante influenciada por fatores bióticos e abióticos (Black, 1968). Dentre estes, há um destaque para o pH do solo, pelo fato da correção da acidez estar associada a um aumento na disponibilidade de nitrogênio para as plantas, muito em função das maiores quantidades de nitrogênio mineralizadas nos solos calcariados (Silva, Vale e Guilherme, 1994; Haynes, 1986). Há que se considerar, porém, que a intensidade desse efeito varia com o tipo de solo estudado, podendo também ser apenas temporária em alguns agroecossistemas (Silva, Vale e Guilherme, 1994; Nyborg e Hoyt, 1978).

O aumento de pH e a maior disponibilidade de cátions trocáveis nos solos calcariados tem se mostrado também eficientes em aumentar as quantidades de enxofre orgânico convertido a sulfato (Alvarez, 1988; Wainwright, 1984). Nos solos menos sujeitos à lixiviação, estes maiores teores de enxofre mineralizado podem representar maior disponibilidade desse nutriente às plantas. Nos solos mais arenosos e permeáveis, onde o sulfato se mostra majoritariamente presente na solução, a aplicação de calcário pode resultar em maior fluxo desse nutriente para as camadas mais profundas, inacessíveis às raízes das plantas, e em um maior agravamento dos

sintomas de deficiência de enxofre, cada vez mais freqüentes nos solos brasileiros (Alvarez, 1988).

Quanto à influência do fósforo sobre a mineralização do nitrogênio, poucos tem sido os estudos efetuados, na maioria das vezes com resultados não conclusivos. Em solos australianos sob floresta, a maior disponibilidade de fósforo resultou numa elevação nas taxas de nitrogênio mineralizado e, por conseguinte, em maiores teores de nitrogênio absorvido pelas plantas, por períodos que se estenderam a até dois anos (Falkiner, Khanna e Raison, 1993). Resultados semelhantes foram observados por Munevar e Wollum (1977) em solos vulcânicos, muito embora o processo de mineralização de nitrogênio só tenha se mostrado controlado pelos níveis de fósforo quando da aplicação de altas doses desse nutriente, superiores a 1200 mg/kg de solo. De certa forma, os resultados alcançados pelos últimos autores concordam com aqueles apresentados por Coelho (1992), o qual observou não ser o processo de mineralização do nitrogênio afetado pela aplicação de pequenas doses de fósforo. Nos estudos relatados, menores taxas de mineralização de nitrogênio têm sido, invariavelmente, associadas à baixa atividade dos organismos mineralizadores nos solos com deficiência de fósforo (Haynes, 1986).

Em termos de dinâmica, a maioria dos estudos tem evidenciado que muitas vezes as quantidades de nitrogênio e enxofre mineralizados não se relacionam aos teores totais desses nutrientes presentes nos solos. Maiores teores de nitrogênio mineralizado não implicam necessariamente em maior conversão de enxofre orgânico a sulfato, pelo fato dos processos de mineralização de nitrogênio e enxofre se mostrarem dissociados e com taxas diferenciadas (Tabatabai e Al-Khafaji, 1980).

Diante de todas essas considerações, estudos direcionados a um melhor entendimento das transformações do nitrogênio e do enxofre no solo se mostram muito úteis na modelagem do ciclo desses elementos em diferentes sistemas agrícolas, tendo em vista uma maximização no uso desses nutrientes pelas plantas e, por pressuposto, na busca de uma maior eficiência no uso de adubos nitrogenados e sulfurados.

O presente estudo teve por objetivo avaliar os efeitos da calagem e da adição de fósforo sobre a mineralização do nitrogênio e enxofre, em solos com uma ampla variabilidade nas características químicas e físicas.

1.2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas amostras de sete solos (0-20 cm), as quais, após a coleta, foram secas ao ar e tamisadas em peneira de 2 mm. A caracterização química e física dos solos Glei Húmico (HGH), Glei Pouco Húmico (HGP), Latossolo Roxo (LR), Latossolo Vermelho-Amarelo (LV1), Latossolo Vermelho-Amarelo (LV2), Podzólico Vermelho-Amarelo (PV) e Cambissolo (C) encontram-se na Tabela 1.1. Os solos HGH e LR foram coletados em Lavras, MG, o HGP, LV2 e PV no município do Rio de Janeiro, RJ, o LV1, em Itumirim, MG e o C no município de Nazareno, MG. A condução do presente estudo se deu no Departamento de Ciência do Solo da UFLA - Lavras (MG), no período de outubro de 1995 a janeiro de 1996.

TABELA 1.1 Caracterização química e textura dos sete materiais de solo utilizados no estudo, antes da aplicação dos tratamentos.

Solo	pH CaCl ₂	CTC _{pH 7,0}	cmol/kg		K ⁺ -mg/kg-	Argila	Silte g/kg	Areia
			Ca ²⁺	Mg ²⁺				
HGH	4,1	18,5	1,0	0,5	17	190	670	140
HGP	4,0	9,9	2,4	1,2	32	350	390	260
LR	4,0	10,4	0,7	0,5	32	550	110	340
LV1	4,2	2,7	1,0	0,7	32	190	30	780
LV2	3,5	10,4	0,6	0,4	40	190	100	710
PV	4,5	5,8	2,8	2,0	37	370	190	440
C	4,1	3,9	0,8	0,4	29	210	150	640

As análises químicas foram efetuadas segundo os métodos descritos pela Embrapa (1979), para pH em água e em CaCl₂, Ca²⁺, Mg²⁺ e K⁺, sendo o fósforo extraído pelo método da resina (Raij e Quaggio, 1983). Os teores de carbono foram determinados segundo método descrito por Raij e Quaggio (1983), quantificando-se este elemento pelo método da colorimetria. No HGH, o teor de carbono total foi determinado pelo método de Walkley-Black. A acidez potencial (H+Al) foi determinada indiretamente pelo método SMP, sendo a capacidade de troca catiônica (CTC) em pH 7,0 estimada mediante a expressão: $CTC = (H+Al) + Ca^{2+} + Mg^{2+} + K^{+}$, em cmol(+)/kg. O nitrogênio total foi analisado conforme o método descrito por Bremner e Mulvaney

(1982), e a análise granulométrica feita de acordo com Camargo et al. (1986). O enxofre total foi determinado através da combustão (500 °C) de uma mistura de 2,5 g de solo e 1,0 g de NaHCO₃ p.a. a 500 °C, conforme Bardsley e Lancaster (1960). O S-SO₄²⁻ foi extraído com solução de Ca(H₂PO₄)₂.H₂O em ácido acético 2N contendo 500 ppm de fósforo e determinado por turbidimetria, segundo Nascimento e Morelli (1980).

A necessidade de calagem foi determinada baseando-se em curvas de neutralização (Tabela 1.2) dos diferentes solos, visando-se atingir valor de pH em água igual a 6,0, à exceção do HGH, cujo valor de pH visado foi 5,2. As declividades das curvas de neutralização demonstram maior e menor poder tampão, respectivamente, do LR e do LV1. Coincidentemente, o LR é o solo com maior teor de argila, sendo o LV1 o solo mais arenoso e com o menor conteúdo de carbono. Os solos, após a calagem (CaCO₃ p.a., Tabela 1.2), foram pré-incubados por sete dias, numa etapa anterior à fertilização dos mesmos com fósforo (KH₂PO₄ p.a.). A adição de fósforo foi efetuada visando-se atingir níveis de fósforo disponível - extraído pela resina - próximos de 25 mg/kg de solo, baseando-se em curvas de calibração previamente obtidas.

TABELA 1.2 Curvas de neutralização dos solos estudados.

Solo	Equação ¹	r ²	b ²	CaCO ₃ ³
HGH	pH=4,8691+0,005884(CaCO ₃)	0,95	0,005884	56,24
HGP	pH=4,779+0,006338(CaCO ₃)	0,99	0,006338	192,65
LR	pH=4,806+0,004629(CaCO ₃)	0,97	0,004629	257,94
LV1	pH=5,1685+0,01784(CaCO ₃)	0,99	0,017840	46,61
LV2	pH=4,2991+0,007691(CaCO ₃)	0,95	0,007691	221,15
PV	pH=5,099+0,01521(CaCO ₃)	0,96	0,015210	59,24
C	pH=4,975+0,01418(CaCO ₃)	0,98	0,014180	72,28

¹ Equações obtidas relacionam quantidade de CaCO₃ p.a. (mg/100 g solo) necessária para atingir-se um dado valor de pH do solo.

² b=declividade das curvas de neutralização.

³ Quantidade de CaCO₃ p.a. necessária para se atingir pH=5,2 no HGH e 6,0 nos demais solos.

O experimento, considerando-se cada tipo de solo em separado, dentre os sete estudados, constou de quatro tratamentos: sem calagem e sem fósforo (Test), com calagem e sem fósforo (Cal), com fósforo e sem calagem (P) e com calagem e fósforo (Cal+P), em delineamento experimental inteiramente casualizado, com três repetições.

Na montagem do experimento, transferiram-se para copos plásticos de 250 mL 200 g de solo de cada tratamento, que foram incubados por períodos contínuos de 14, 28, 42, 56 e 70 dias. Todos os copos foram cobertos com folhas de alumínio, com a finalidade de evitar perdas excessivas de água por evaporação. A incubação foi realizada em laboratório à temperatura ambiente (21 a 29 °C), sendo o grau de umidade dos solos mantido próximo de 60% do volume total de poros.

No início e ao término de cada período de incubação, determinaram-se os teores de nitrogênio mineral em cada tratamento, através da extração do nitrato e do amônio com KCl 1M e destilação dessas formas de nitrogênio por arraste de vapores (Keeney e Nelson, 1982). O cálculo do nitrogênio mineralizado foi efetuado deduzindo-se do nitrogênio mineral determinado ao término de cada período de incubação o amônio e nitrato quantificado no início de cada período. Adotou-se procedimento semelhante na avaliação do enxofre mineralizado, quantificando-se os teores de sulfato (Nascimento e Morelli, 1980) no início e ao término de cada período de incubação.

1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por ocasião da instalação e do término do presente estudo, os solos apresentavam uma ampla variabilidade nas propriedades químicas, as quais são apresentadas na Tabela 1.3. Em termos gerais, foi notado uma diminuição nos valores de pH ao término dos setenta dias de incubação, muito provavelmente relacionada aos processos de mineralização e nitrificação, processos sabidamente acidificantes. Foi notado uma tendência de aumento da CTC a pH 7,0 no tratamento P. Acréscimos na capacidade dos solos fosfatados em reter cátions são associados ao decréscimo, pelos

TABELA 1.3 Análise química de amostras da camada superficial (0-20 cm) dos sete materiais de solo, após a aplicação dos tratamentos, no início (i) e ao término (f) do período de incubação.

Solo	Trat ¹	pH _i	pH _f	CTC _i	CTC _f	P _i	P _f	Al _i ³⁺	Al _f ³⁺	V _i	V _f
				---cmol _e /kg---	--mg/kg--		--cmol _e /kg--		----%----		
HGH	Test	4,8	4,6	18,5	17,6	11	15	3,0	2,2	10	08
	Cal	5,2	5,1	15,4	16,0	13	17	1,5	0,9	28	23
	P	4,8	4,6	16,7	19,3	36	32	2,7	2,0	10	06
	Cal+P	5,2	5,1	15,1	17,4	35	38	1,4	1,1	25	22
HGP	Test	4,6	4,5	9,9	14,8	10	10	1,9	1,1	36	26
	Cal	6,0	5,6	9,8	11,9	10	11	0,1	0,2	76	63
	P	4,7	4,5	11,0	13,8	17	18	1,8	1,2	43	29
	Cal+P	6,0	5,6	9,8	11,9	18	16	0,1	0,1	76	66
LR	Test	4,6	4,5	10,4	12,8	9	8	2,4	1,9	07	04
	Cal	5,7	5,5	9,5	11,2	9	9	0,1	0,1	54	44
	P	4,6	4,5	11,4	13,1	40	33	2,1	1,7	14	06
	Cal+P	5,6	5,5	9,7	11,0	42	31	0,1	0,1	54	47
LV1	Test	5,0	4,9	2,7	3,6	10	11	0,6	0,4	22	19
	Cal	5,8	5,8	3,1	3,9	10	12	0,1	0,1	54	46
	P	5,0	5,0	2,8	3,5	22	21	0,5	0,4	22	26
	Cal+P	5,8	5,7	2,9	3,9	24	25	0,0	0,1	55	46
LV2	Test	4,4	4,4	10,4	11,9	4	7	3,2	2,3	15	08
	Cal	5,7	5,6	8,2	8,2	5	8	0,1	0,1	61	51
	P	4,4	4,4	10,4	11,8	20	17	2,6	2,2	15	07
	Cal+P	5,6	5,6	8,7	9,0	14	21	0,0	0,1	62	51
PV	Test	4,9	5,0	5,8	6,0	4	7	0,4	0,3	43	42
	Cal	5,9	5,4	5,7	6,3	4	7	0,0	0,1	59	59
	P	4,9	4,9	5,8	5,9	14	12	0,5	0,3	40	40
	Cal+P	5,9	5,5	5,7	6,3	18	13	0,0	0,1	60	60
C	Test	4,8	4,8	3,9	4,5	4	7	1,0	0,9	18	16
	Cal	5,8	5,7	4,0	4,3	4	6	0,0	0,1	57	47
	P	4,7	4,7	4,1	4,3	20	15	0,9	1,0	17	17
	Cal+P	5,8	5,8	4,2	4,3	20	14	0,0	0,1	52	47

¹ Test: Sem calagem e sem fósforo; Cal: Com calagem e sem fósforo; P: Com fósforo e sem calagem e Cal+P: Com calagem e fósforo.

íons fosfatos, no número de cargas positivas e uma maior densidade de cargas negativas nas superfícies de sorção (Guadalix e Pardo, 1994). Nos solos com os maiores teores de carbono, foi verificado uma diminuição nos níveis de alumínio trocável. É muito provável que, no curso dos processos de mineralização e decomposição da matéria orgânica, estejam sendo liberadas frações orgânicas com

maior capacidade de neutralizar o alumínio, o que explicaria os resultados aqui relatados.

Os teores de carbono variaram entre os diferentes tipos de solo, sendo o valor mais alto observado no HGH e o mais baixo, no solo mais arenoso, o LV1 (Tabela 1.4). Os teores de nitrogênio total apresentaram distribuição semelhante àquela de carbono, mostrando-se positivamente correlacionados com os teores deste elemento nos sete materiais de solo ($r=0,99^{**}$). Os teores totais de carbono se mostraram também muito associados àqueles de enxofre total ($r=0,84^{**}$), quando se excluíram os teores totais de carbono e enxofre presentes no HGH.

Tabela 1.4 Teores totais de carbono, formas de nitrogênio e enxofre e relações entre estes elementos nos sete solos utilizados no estudo.

Solo	C	N _t ¹	S _t ¹	N _m ²	SO ₄ ²⁻	C:N	C:N:S
	g/kg		mg/kg				
HGH	136,9	9,53	116	91,8	4,9	14,4	1183:82:1
HGP	19,7	2,10	171	18,1	31,6	9,5	117:12:1
LR	28,4	3,10	200	17,2	3,0	9,0	140:16:1
LV1	8,1	0,90	69	10,3	4,9	8,9	116:13:1
LV2	26,1	3,30	273	65,2	8,0	7,9	95:12:1
PV	12,8	1,58	179	13,9	7,0	8,2	72:09:1
C	11,6	1,40	88	6,6	8,8	7,8	125:16:1

¹ Nitrogênio e enxofre totais presentes nos sete materiais de solo;

² Teores de nitrogênio (NH₄⁺ + NO₃⁻) mineral presentes nos materiais de solo no início da incubação.

O enxofre total apresentou valor médio de 157 mg/kg, sendo o valor mais baixo encontrado no LV1 e o mais alto no LV2. Surpreendentemente, as maiores reservas de carbono e nitrogênio observadas para o HGH não estiveram associadas ao maior armazenamento de enxofre neste solo. Os teores de enxofre total se situaram muito próximos dos valores de enxofre orgânico apresentados por Nascimento e Morelli (1980) e um pouco abaixo dos dados relacionados com o enxofre total. De certa forma, os dados apresentados pelos últimos autores se aproximam daqueles observados para solos de região temperada (Tabatabai e Al-Khafaji, 1980) e denotam uma maior contribuição da fase mineral para os teores totais de enxofre nos solos oriundos do Rio Grande do Sul. É muito provável que os estoques de enxofre total dos sete materiais de solos estudados esteja mais associado à fase orgânica, pelo fato de

se tratar de solos mais intemperizados, com predominância de argila do tipo 1:1. Os dados de enxofre disponível se mostraram muito próximos àqueles apresentados por Nascimento e Morelli (1980), à exceção do HGP que apresentou altos teores de sulfato. De modo geral, os teores de sulfato estiveram abaixo do valor crítico recomendado para maioria das culturas, 10 mg/kg solo, e evidenciam a alta possibilidade de reposta à aplicação de enxofre na maioria dos solos estudados, principalmente no LR, LV1 e HGH.

A relação C:N englobou valores próximos de 10:1, à exceção do solo de várzea HGH, que apresentou relação C:N mais alta, muito possivelmente devido à presença de frações orgânicas menos humificadas, preservadas pelo excesso de água no HGH (Tabela 1.4). As diferenças nas relações C:N verificadas nos sete solos, de certa forma, evidenciam o grau de humificação diferenciado da matéria orgânica. Evidenciam também que, a medida que a intensidade de decomposição da matéria orgânica avança no sentido de equilíbrio das frações orgânicas com o solo, há uma perda de carbono do sistema solo-planta e uma concentração relativa de nitrogênio. Os valores de relação C:N:S concordam com aqueles valores apresentados por Nascimento e Morelli (1980) e por Schnitzer e Khan (1972). O único solo a diferir dos demais foi o HGH, que apresentou uma relação C:N:S muito alta.

Na figura 1.1 são apresentados os teores de nitrogênio mineralizado (mineralização líquida), na ausência e/ou presença de calcário e fósforo, considerando-se a incubação dos sete solos por intervalos seguidos de 14, 28, 42, 56 e 70 dias. Os dados apresentados se referem às quantidades líquidas de nitrogênio mineralizado, refletindo o balanço entre os processos de mineralização e imobilização. A título de esclarecimento, valores negativos demonstram serem as quantidades de nitrogênio imobilizado maiores do que aquelas de nitrogênio mineralizado. Isto posto, verificou-se no presente estudo que a taxa de mineralização do nitrogênio decresceu com o tempo de incubação, sendo, no geral, maior nos períodos iniciais de incubação, o que está de acordo com Silva, Vale e Guilherme (1994) e Stanford e Smith (1972). No LV1, C e LV2, as taxas de mineralização foram muito baixas nos períodos iniciais de incubação, sendo observado nesses solos, após 42 dias de incubação, um aumento nas quantidades de nitrogênio mineralizado. Os padrões de liberação de nitrogênio

mineralizado verificados no LR e HGP foram muito semelhantes, sendo observado nesses dois solos taxas de mineralização de nitrogênio similares nos cinco períodos de incubação.

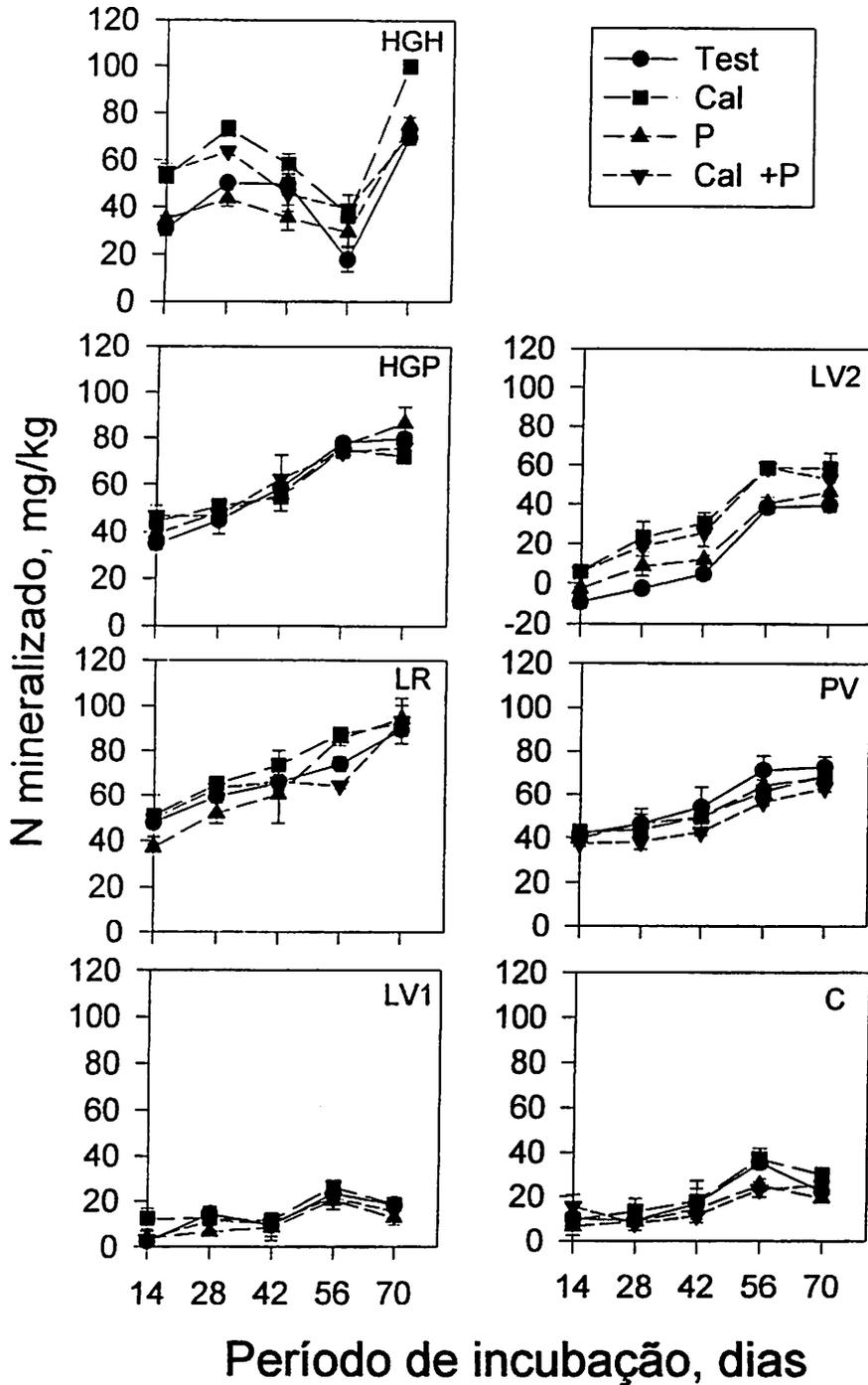


FIGURA 1.1 Mineralização líquida de nitrogênio, ao término dos cinco períodos de incubação, sob influência da calagem e da adição de fósforo.

No HGH, o processo de mineralização do nitrogênio se mostrou dependente dos tratamentos, sendo notado nesse solo, nos primeiros 28 dias de incubação, um aumento nas quantidades líquidas de nitrogênio mineralizado nas amostras com calcário. Nos cinco períodos de incubação, foi verificada mineralização líquida de nitrogênio no HGH. Contudo, nos períodos de incubação de 42 e 56 dias, foi notado níveis maiores de nitrogênio imobilizado, com concomitante diminuição nas quantidades líquidas de nitrogênio mineralizado. Novamente, após 52 dias e ao término de 70 dias de incubação, foi verificada diminuição nos níveis de nitrogênio imobilizado, sendo notado também maior quantidade de nitrogênio mineralizado no tratamento Cal do HGH. A prática da calagem no LV2 concorreu também para um aumento significativo nas quantidades de nitrogênio mineralizado nos períodos de 42 e 56 dias de incubação.

Em termos gerais, a correção da acidez do solo não resultou em aumento nas quantidades de nitrogênio mineralizado nos sete solos estudados, concorrendo sim para uma maior aceleração no processo de mineralização, muito provavelmente devido a uma diminuição nas quantidades de nitrogênio imobilizado. De modo geral, os dados obtidos estão de acordo com os apresentados por Dancer, Peterson e Chesters (1973) e Nyborg e Hoyt (1978), os quais observaram efeito temporário da calagem no sentido de acelerar o processo de mineralização de nitrogênio. Discordam, porém, dos resultados apresentados por Silva, Vale e Guilherme (1994), os quais verificaram maiores teores de nitrogênio mineralizado nos materiais de solo calcariados. O efeito da calagem em aumentar as quantidades de nitrogênio mineralizado tem sido associado a uma elevação nos valores de pH, nos teores de cátions trocáveis e na maior atividade dos organismos mineralizadores (Silva, Vale e Guilherme, 1994; Nyborg e Hoyt, 1978; Dancer, Peterson e Chesters, 1973). Maiores taxas de nitrogênio mineralizado nos solos com calagem podem estar associadas ainda à maior degradação de compostos fenólicos inibitórios à decomposição da matéria orgânica (Marschner e Wilczynski, 1991). Uma maior presença de frações orgânicas ligadas ao cálcio nos solos corrigidos, em comparação com estas mesmas moléculas ligadas ao alumínio, pode também resultar em maior decomposição da matéria orgânica e, por conseguinte, em maior mineralização do nitrogênio (Mendonça e Rowell, 1994).

As quantidades de nitrogênio mineralizado no LR, HGP e PV não se mostraram afetadas pela correção da acidez do solo, tampouco pela adição de fósforo. Resultados semelhantes foram verificados para os solos LV1 e C, sendo notado também nesses solos uma intensidade muito reduzida da mineralização de nitrogênio, o que revela a baixa capacidade do LV1 e C em suprir nitrogênio às plantas.

A quantificação dos teores de nitrato, ao término de setenta dias de incubação, nos sete materiais de solos estudados, revelou que, nos solos HGH e LR e nos quatro tratamentos estudados, em torno de 80% do nitrogênio mineral encontra-se como N-nítrico (Figura 1.2). Nos solos LV1 e, principalmente, no LV2 foi observado uma redução nos níveis de nitrato, constatando-se, inclusive, uma predominância do amônio no último solo. Nos solos HGP e PV, as percentagens de nitrogênio mineral como de nitrato foram maiores nos tratamentos com calcário, verificando-se também nesses solos um estímulo à nitrificação no tratamento com fósforo (P). No Cambissolo, a percentagem de nitrogênio mineral como amônio na testemunha foi próxima de 30%, com o nitrato perfazendo em torno de 60% do nitrogênio mineral nos demais tratamentos. A predominância de nitrato em alguns solos estudados, ou em tratamentos destes, causa preocupação pela grande mobilidade desta forma de nitrogênio nos solos. Diante de tal constatação, seria aconselhável a adoção de práticas de manejo diferenciadas para os solos estudados, no sentido de que estas proporcionem uma maior manutenção do nitrato no sistema solo-planta e visando, numa etapa subsequente à aplicação do corretivo de acidez do solo, um maior aproveitamento dessa forma nitrogenada pelas plantas.

As quantidades líquidas de enxofre mineralizado foram afetadas pelos tratamentos e pelos diferentes tipos de solo, no decorrer dos setenta dias de incubação (Figura 1.3). A prática da calagem nos solos HGP e LV2 resultou em maior intensidade na mineralização do enxofre. Os resultados obtidos estão de acordo com os apresentados por Nor e Tabatabai (1977), Wainwright (1984) e Alvarez (1988) e evidenciam ser as bactérias do grupo *Thiobacillus* spp (principais grupos de microrganismos envolvidos na oxidação do enxofre) mais ativas em condições de pH próximas da neutralidade (Alexander, 1977). A resposta do processo de mineralização do enxofre à aplicação de calcário esteve associada aos solos com maiores teores de

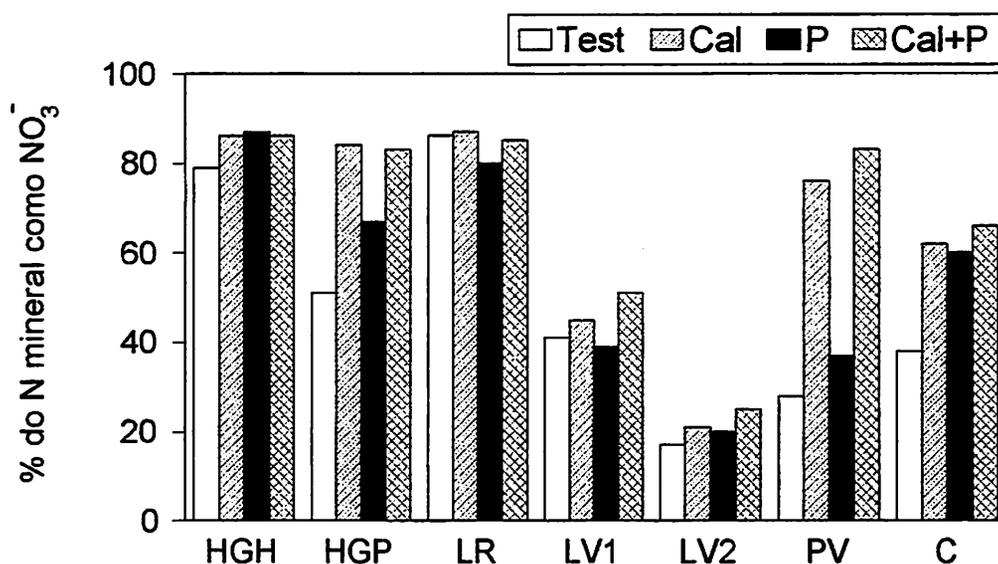


FIGURA 1.2. Percentagem de nitrogênio mineral na forma de nitrato sob influência dos tratamentos estudados.

enxofre total, à exceção do LR, onde os teores de enxofre mineralizado foram muito baixos. No LR verificou-se, inclusive, imobilização líquida de sulfato nos tratamentos Test e P. No PV, as quantidades líquidas de enxofre mineralizado foram maiores do que as verificadas no LR, sendo verificada uma tendência de estímulo na oxidação do enxofre orgânico nos tratamentos com calcário.

No curto prazo, os maiores teores de sulfato podem significar maior disponibilidade de enxofre para as plantas. A longo prazo e principalmente nos solos mais sujeitos à lixiviação, os maiores teores de sulfato nos solos calcariados HGP e LV2 podem significar maior perda de enxofre do sistema solo-planta, pelo fato do CaSO_4 (Ca da calagem, mais sulfato mineralizado) formado concorrer para uma maior movimentação de cálcio e enxofre no perfil dos solos. A calagem pode acarretar ainda menor adsorção de SO_4^{2-} nos solos, em função da maior presença de cargas negativas nos óxidos de ferro e alumínio, principais minerais envolvidos na sorção de enxofre no solo (Alvarez, 1988).

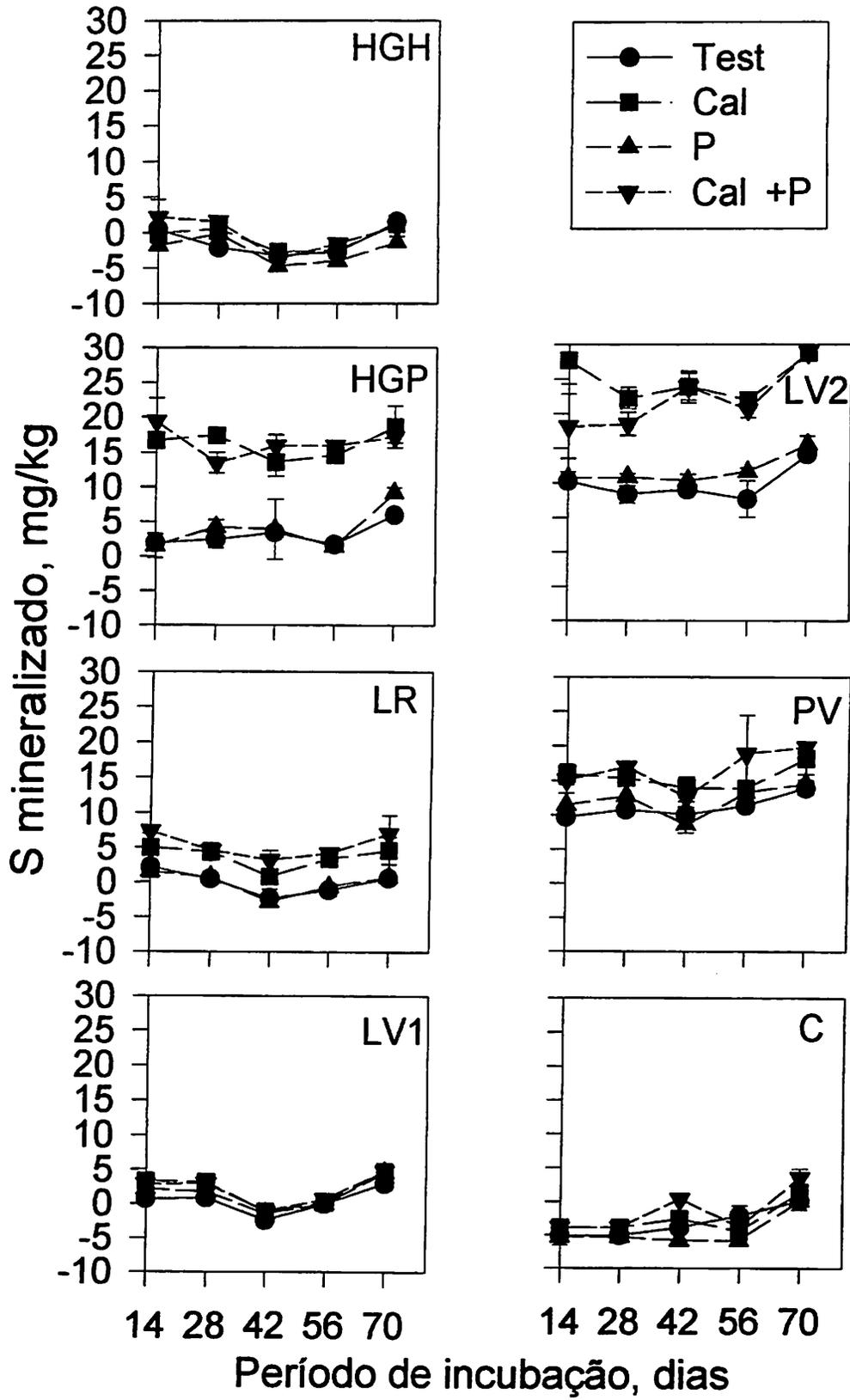


FIGURA 1.3. Mineralização líquida de enxofre, ao término dos cinco períodos de incubação, sob influência da calagem e da adição de fósforo.

Nos solos HGH, LV1 e C, o processo de mineralização do enxofre não se mostrou afetado pela aplicação de calcário e fósforo, sendo verificado nestes solos pequenas quantidades de enxofre mineralizado, ou imobilização líquida de sulfato. Coincidentemente, estes são os solos com menores reservatórios de enxofre total, sendo o LV1 e o C englobados entre os solos mais arenosos. Tais dados evidenciam a baixa capacidade dos solos HGH, LV1 e C em suprir enxofre às plantas, permitindo a inferência de que o cultivo destes solos necessariamente dar-se-á com a adição de adubos contendo enxofre e com a adoção de práticas agrícolas que visem uma maior preservação do enxofre no sistema solo-planta.

A maior disponibilidade de fósforo nos sete materiais de solos estudados não resultou em maior conversão do enxofre orgânico a sulfato, ao contrário a associação da calagem com maiores teores disponíveis de fósforo no LV2 acarretou maior imobilização de sulfato, pelo menos até os 42 dias de incubação.

Analisados conjuntamente, os processos de mineralização do nitrogênio e do enxofre apresentaram dinâmica diferenciada, com os teores de nitrogênio mineralizado experimentando maiores variações do que os de sulfato. Nesse sentido, apesar de se ter notado diminuição nas taxas de mineralização de nitrogênio com o avanço do período de incubação, as quantidades líquidas de nitrogênio mineralizado foram, na maioria dos solos, crescentes. Tal não foi o caso do processo de mineralização de enxofre, na medida em que, após 14 dias de incubação, as taxas de mineralização de enxofre reduziram drasticamente, sendo os níveis de sulfato mais ou menos constantes com o avanço do período de incubação. Uma possível explicação para esse comportamento reside no fato de que as formas de enxofre orgânico presentes nos solos serem mineralizadas independentemente do nível de demanda da biomassa microbiana por carbono (Sakadevan, Hedley e Mackay, 1993). McGill e Cole (1981) sugerem também que a taxa e a extensão da mineralização de enxofre é menos dependente da mineralização de carbono do que o processo de mineralização do nitrogênio, já que o enxofre pode ser também liberado da matéria orgânica por processos bioquímicos, via hidrólise enzimática de ésteres de sulfato. Compartimentalizando o efeito da correção da acidez do solo, mais uma vez é notado padrões de mineralização de nitrogênio e enxofre distintos, com a calagem

promovendo um incremento nas quantidades de enxofre mineralizado no HGP e LV2, tal não sendo o caso das quantidades de nitrogênio mineralizado nesses dois solos.

1.4 CONCLUSÕES

Os processos de mineralização do nitrogênio e enxofre apresentaram dinâmica diferenciada, com os teores de nitrogênio mineralizado apresentando maiores variações do que os de sulfato, no decorrer dos setenta dias de incubação.

A calagem promoveu uma aceleração na mineralização do nitrogênio no HGH e LV2, não concorrendo para um aumento nas quantidades de nitrogênio mineralizado nos sete materiais de solo estudados.

A mineralização de enxofre no HGP e LV2 foi afetada pela calagem, que promoveu maior disponibilidade de sulfato nestes solos.

É muito baixa a capacidade dos solos HGH, LR, LV1 e C em suprir enxofre e do LV1 e C em suprir nitrogênio às plantas, independentemente da aplicação ou não de calcário e fósforo.

Os processos de mineralização de nitrogênio e enxofre não se mostraram dependentes dos níveis de fósforo disponíveis nos sete materiais de solo estudados.

A maior presença de nitrato e sulfato em alguns dos solos calcariados implica em maior cuidado no estabelecimento da época de aplicação de corretivo, visando um maior aproveitamento pelas plantas destes dois ânions de extrema mobilidade nos solos brasileiros.

1.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEXANDER, M. **Introduction to soil microbiology**. 2ed. New York: John Wiley, 1977. 467p.
- ALVAREZ, V.H. Enxofre: critérios de diagnose para solo e planta, correção de deficiências e excessos. In: BORKERT, C.M.; LANTMANN, A.F. **Enxofre e micronutrientes na agricultura brasileira**. Londrina: Embrapa/CNPSo/IAPAR/SBCS, 1988. p.31-59.
- BARDSLEY, C.E.; LANCASTER, J.D. Determination of sulfur and soluble sulfates in soils. **Soil Science Society of America Proceedings**, Madison, v. 24, n.2, p.265-268, Feb. 1960.
- BLACK, C.A. **Soil-plant relationships**. New York: John Wiley, 1968. 792p.
- BREMNER, J.M.; MULVANEY, R.L. Nitrogen Total. In: PAGE, A.L. ed. **Methods of soil analysis; chemical and microbiological properties**. 2 ed. Madison: Am. Soc. Agronomy/Soil Science Soc. America, 1982. p.595-622.
- 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 Campinas**. Campinas: Instituto Agronômico, 1986. 94p.
- COELHO, A.M. **Mineralização e nitrificação do nitrogênio em amostras do perfil de um Latossolo vermelho-escuro fase cerrado**. Sete Lagoas: EMBRAPA/CNPMS, 1992. p.216.
- DANCER, W.S.; PETERSON, L.A.; CHESTERS, G. Ammonification and nitrification of N as influenced by soil pH and previous N treatments. **Soil Science Society of America Proceedings**, Madison, v.37, n.1, p.67-69, 1973.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Serviço Nacional de Levantamento e Conservação do Solo. **Manual de métodos de análises de solo**. Rio de Janeiro, 1979. 247p.
- FALKINER, R.A.; KHANNA, P.K.; RAISON, R.J. Effect of superphosphate addition on N mineralization in some australian forest soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.31, n.2, p.285-296, Feb. 1993.
- GOEDERT, W.J. Management of the cerrado soils of Brazil: a review. **Journal of Soil Science**, Oxford, v.34, n.3, p.405-428, Sept. 1983.

- GUADALIX, M.E.; PARDO, M.T. Effects of liming on soil properties and P solubility in some Spanish Andosols. **Geoderma**, Amsterdam, v.63, p.53-61, 1994.
- HAYNES, R.J. Nitrification. In: HAYNES, R.J. (ed.) **Mineral nitrogen in the plant-soil system**. Madison: Academic Press, 1986. p.127-165.
- KEENEY, D.R.; NELSON, D.W. Nitrogen-inorganic forms. In: PAGE, A.L. (ed.) **Methods of soil analysis; chemical and microbiological properties**. 2 ed. Madison: Am. Soc. Agronomy/Soil Science Soc. America, 1982. c.33, p.643-698.
- LOPES, A.S. **Solos sob cerrado; características, propriedades e manejo**. Piracicaba: Inst. Potassa & Fosfato/Instituto Internacional da Potassa, 1983. 162p.
- MARSCHNER, B.; WILCZYNSKI, A.W. The effect of liming on quantity and chemical composition of organic matter in pine forest in Berlin, Germany. **Plant and Soil**, The Hague, v.137, n.2, p.229-236, Nov. 1991.
- McGILL, W.B.; COLE, C.V. Comparative aspects of cycling of organic C, N, S and P through soil organic matter. **Geoderma**, Amsterdam, v.26, p.267-286, 1981.
- MENDONÇA, E.S.; ROWELL, D.L. Dinâmica do alumínio e de diferentes frações orgânicas de um latossolo argiloso sob cerrado e soja. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.18, n.3, p.295-303, mai./ago. 1994.
- MUNEVAR, F.; WOLLUM, A.G. Effects of the addition of phosphorus and inorganic nitrogen on carbon and nitrogen mineralization in Andepts from Colombia. **Soil Science Society of American Journal**, Madison, v.41, n.3, p.540-545, May/July. 1977.
- NASCIMENTO, J.A.L.; MORELLI, M. Enxofre em solos do Rio Grande do Sul. I. forams nos solos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.4, n.3, p.131-135, set./dez. 1980.
- NOR, Y.M.; TABATABAI, M.A. Oxidation of elemental sulfur in soils. **Soil Science Society of America Proceedings**, Madison, v.41, n.4, p.736-741, July/Aug., 1977.
- NYBORG, M.; HOYT, P.B. Effects of soil acidity and liming on mineralization of soil nitrogen. **Canadian Journal of Soil Science**, Ottawa, v.58, p.331-338, 1978.
- RAIJ, B. van; QUAGGIO, J.A. **Métodos de análise de solo para fins de fertilidade**. Campinas: IAC, 1983. 31p. (Boletim Técnico, 81).
- SAKADEVAN, K.; HEDLEY, M.J.; MACKAY, A.D. Sulphur cycling in New Zealand hill country pastures. I. Laboratory sulphur, nitrogen and carbon mineralization studies. **Journal of Soil Science**, Oxford, v.44, n.1, p.73-83, Mar. 1993.

SCHNITZER, M.; KHAN, S.U. **Soil organic matter**. Amsterdam: Elsevier Scientific Publishing, 1972. 319 p.

SILVA, C.A.; VALE, F.R.; GUILHERME, L.R.G. Efeito da calagem na mineralização do nitrogênio em solos de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.18, n.3, p.471-476, set./dez. 1994.

STANFORD, G.; SMITH, S.J. Nitrogen mineralization potentials of soils. **Soil Science Society of America Proceedings**, Madison, v.36, n.2, p.465-472, 1972.

TABATABAI, M.A.; AL-KHAFAJI, A.A. Comparison of nitrogen and sulfur mineralization in soils. **Soil Science Society of American Journal**, Madison, v.44, n.3, p.1000-1006, 1980.

WAINWRIGHT, M. Sulfur oxidation in soils. **Advances in Agronomy**, San Diego, v.37, p. 349-396, 1984.

CAPÍTULO II

TEORES E DISTRIBUIÇÃO DE CARBONO E NITROGÊNIO EM LATOSSOLOS CULTIVADOS E SOB VEGETAÇÃO NATURAL

RESUMO - A distribuição de carbono e nitrogênio em solos e em suas frações texturais e suas relações com a capacidade de troca catiônica (CTC) foram analisadas em Latossolo vermelho-escuro (LE1) em áreas com e sem calagem e sob floresta e em Latossolo vermelho-escuro (LE2) em áreas adubadas ou não com fósforo e sob cerrado. As amostras de solo foram dispersas com ultra-som, sem o uso de agentes químicos. Os teores de carbono e nitrogênio foram determinados em analisador automático, através da combustão das amostras em altas temperaturas. A drástica redução no conteúdo de carbono do LE1 com o cultivo resultou em diminuição da CTC em pH 7,0 na área calcariada e na testemunha, indicando a importância do manejo e conservação da matéria orgânica nesse solo. O sistema de manejo adotado nas áreas cultivadas do LE2 se mostrou eficiente em preservar a matéria orgânica, em níveis iguais àqueles verificados na área sob cerrado. A fração fina ($<2 \mu\text{m}$) exerce papel crucial na estabilização da matéria orgânica nos solos estudados, já que, majoritariamente, os maiores reservatórios de carbono e nitrogênio nas áreas cultivadas e sob vegetação natural se encontram associados a essa fração textural. Os principais efeitos do cultivo sobre os reservatórios de carbono e nitrogênio estiveram associados a um enriquecimento relativo desses elementos na fração fina, à expensas das frações orgânicas associadas às frações grossa (2000-53 μm) e intermediária (53-2 μm).

CHAPTER II

CONTENTS AND DISTRIBUTION OF CARBON AND NITROGEN IN FORESTED AND CULTIVATED OXISOLS

ABSTRACT - Amount and distribution of carbon and nitrogen in whole soil and in particle-size fractions and their effect on cation exchange capacity (CEC) were analyzed in a very clayey textured red latosol (LE1) under forest and cropped, under effect of liming, and without correction of soil acidity, and in a clayey textured red latosol (LE2) under cerrado and cropped with, or without phosphorus. Particle-size fractions were obtained by ultrasonic dispersion in water, without using chemical agents. Total carbon and N were determined by dry combustion in an automatic analyzer. The drastic reduction of carbon in the cultivated areas of LE1 was followed by an intensive depletion in pH 7,0 CEC at limed and control plots, stressing the importance of management and conservation of organic matter in this soil. The management system adopted in the cultivated areas of LE2 was efficient in preserving organic matter, at levels with the same magnitude as that determined in the area under cerrado. Fine fraction plays a crucial role in the stabilization of soil organic matter, since the biggest reservoirs of carbon and nitrogen were associated to this particle-size. The distribution of carbon and nitrogen between particle-size fractions is characterized by a depletion of organic materials associated to coarse and intermediate fractions and a shift towards fine fraction associated materials.

2.1 INTRODUÇÃO

A matéria orgânica (MO) engloba resíduos de plantas, animais e microrganismos em diversos estádios de decomposição e uma gama enorme de frações orgânicas em íntima associação com a fase mineral dos solos (Christensen, 1992). Entender melhor essas interações organo-minerais, em ambientes naturais e agrícolas, constitui-se em etapa indispensável na elucidação do papel da matéria orgânica na sustentabilidade dos solos.

Em solos sob vegetação natural, as frações orgânicas estão, na sua maioria, associadas à argila e ao silte, de forma que as quantidades de carbono e nitrogênio associadas à areia não perfazem mais do que 10% (Rosell, Galantini e Iglesias, 1996). Apesar de contribuir somente com uma pequena parte da matéria orgânica presente nos solos, é à areia que se associam as frações orgânicas de maior biodisponibilidade do que aquelas ligadas à argila e ao silte (Christensen, 1996). Tal fato se deve ao processo de separação da areia das demais partículas texturais, na medida em que durante a dispersão dos solos, mais especificamente na etapa de peneiramento, são agregadas à areia partículas macroorgânicas com grau de decomposição mais próximo àqueles dos materiais vegetais frescos, recentemente adicionados aos solos. À argila e, em menor intensidade, ao silte se ligam compostos de relação C:N baixa, normalmente resultantes do metabolismo de microrganismos (Christensen, 1996).

Nos agroecossistemas menos equilibrados, onde predomina a remoção intensiva de resíduos vegetais da área de plantio e o preparo excessivo do solo, são drásticas as reduções nos níveis de carbono e nitrogênio, muito em função do aumento na taxa de mineralização das frações menos decompostas associadas também à argila e, principalmente, à areia (Guggenberger, Christensen e Zech, 1994). Tais práticas de manejo resultam em intensa diminuição nos níveis de matéria orgânica do solo como um todo (Silva, Lemanski e Resck, 1994) e num enriquecimento relativo de compostos com elevado grau de decomposição na argila (Tiessen e Stewart, 1983).

Diante de tais considerações, torna-se necessário lançar mão de técnicas que monitorem essas mudanças indesejáveis, no sentido de identificar práticas de

manejo mais conservacionistas, que resultem em maior preservação e armazenamento de carbono e nitrogênio nos solos. Quando associada às análises químicas, biológicas e físicas, a técnica de dispersão física do solo se presta bem a esse objetivo, na medida em que a mesma permite a identificação da distribuição, composição química e grau de decomposição de frações orgânicas expostas a diferentes sistemas de manejo.

O presente estudo examinou os teores e a distribuição de carbono e nitrogênio em frações texturais de solos sob vegetação natural e cultivados, através de dispersão física das matrizes de solos com ultra-som.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

Solos

Procedeu-se a coleta, no mês de novembro de 1995, de dois materiais de solo com a mineralogia da fração argila dominada por caulinita e gibbsita. Inicialmente, coletou-se no campo experimental de citricultura do IAC em Cordeirópolis, SP a unidade Latossolo Vermelho-Escuro (LE1) textura muito argilosa, sob floresta (Fr) (cerca de 1500 m distante da área experimental) e sob cultivo nos últimos treze anos com citrus (laranjeira valência), em parcela calcariada (Calc) e na testemunha (Test, cultivo sem correção da acidez do solo). Os materiais de solo do LE1 foram coletados na profundidade de 0-10 cm, através da amostragem, em cada repetição, de quatro pontos sob as copas das laranjeiras, os quais foram misturados de forma a se obter a amostra composta utilizada nas análises. A correção da acidez do solo se deu pela aplicação a lanço de 18 ton/ha de calcário (9 ton de calcário calcítico + 9 ton de calcário dolomítico), no ano de 1983, por ocasião da instalação do experimento e plantio das laranjeiras, e em 1994, aplicando-se novamente 18 ton/ha de calcário, visando a restituição dos níveis de pH e bases trocáveis de 1983. Na área experimental com citrus, o controle das ervas daninhas, predominantemente gramíneas, foi efetuado via uso de roçadeira nas entrelinhas e capina sob a copa das laranjeiras. Numa fase

anterior ao estabelecimento do experimento com as laranjeiras, a área amostrada foi utilizada por cerca de vinte anos com pastagens, predominando o plantio de capim kikuio.

A segunda unidade de solo foi coletada em experimento localizado em Latossolo Vermelho-Escuro (LE2), no campo experimental do Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados (CPAC) - EMBRAPA. Numa etapa anterior ao primeiro plantio, toda a área amostrada recebeu 2,2 ton/ha de calcário dolomítico e adubação corretiva de potássio, 150 kg/ha de K_2O , na forma de KCl e de micronutrientes (40 kg/ha de FTE BR-10). Em janeiro de 1976, foi semeado o trigo; em novembro de 1976 e 1977, a soja e em novembro de 1978, o arroz. No ano de 1979, efetuou-se o plantio de sorgo, que foi cultivado até 1980. Para as culturas de trigo e arroz foram aplicados 30 kg/ha de N, em cobertura. O plantio do capim andropogon se deu no ano agrícola de 1980/81, sendo esta gramínea cultivada até 1995, ano de encerramento do experimento. O manejo do andropogon até 1987 consistiu de dois cortes/ano dessa gramínea. A partir daí, os tratos culturais na área experimental se restringiram a uma passagem de roçadeira nas parcelas com andropogon, com permanência dos restos culturais na área de plantio. Nos últimos quatro anos de cultivo, o capim andropogon recebeu adubação, através da aplicação por ano de 160 kg/ha de N, mais 160 kg/ha de K_2O . Na área experimental, cujo histórico foi descrito, foram amostradas duas parcelas, uma onde se havia adicionado, no ano de 1976, 1660 kg/ha de P_2O_5 , na forma de superfosfato triplo (P), que foi aplicado a lanço e incorporado por enxada rotativa, e numa segunda área cultivada sem a aplicação de fósforo (Test). Para fins de comparação, coletou-se também uma terceira área sob cerrado (Cerr), localizada a cerca de 200 m da área experimental. A caracterização química e a textura dos solos LE1 e LE2 são apresentadas na Tabela 2.1.

A análise granulométrica foi efetuada usando-se o método da pipeta (Gee e Bauder, 1986). Basicamente, adicionou-se 200 mL de NaOH 0,1 M a 50 g de solo, procedeu-se a agitação da solução por 30 minutos em agitador do tipo 'milk-shaker', sendo a areia separada das frações silte e argila por meio de tamisamento (53 μ m). Na separação da argila do silte, lançou-se mão do princípio de sedimentação diferenciada dessas duas frações em soluções aquosas.

TABELA 2.1. Principais propriedades químicas e textura dos solos e dos respectivos tratamentos destes estudados.

Solo	pH água	P mg/kg	CTC --cmol _d /dm ³ --	Ca	m -----%	V	Argila	Silte	Areia
							-----g/kg-----		
LE1									
Fr	3,9	2	17,1	0,8	71	7	680	140	180
Calc	6,6	43	10,3	5,9	1	80	680	120	200
Test	4,2	21	11,4	0,8	60	12	690	110	200
LE2									
Cerr	4,3	1	9,4	0,4	64	6	520	160	320
P	4,7	5	7,3	0,7	45	13	510	160	330
Test	4,4	1	8,7	0,5	58	9	500	140	360

A análise química dos solos foi realizada de acordo com o método da Embrapa (1979), sendo determinados o pH em água, os teores de Al^{3+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} e K^+ trocáveis e o teor de fósforo disponível (Extrator Mehlich). A acidez potencial ($\text{Al}^{3+} + \text{H}^+$) foi avaliada indiretamente, via medição do pH do extrato de solo em solução SMP. Calculou-se a seguir, via uso dos parâmetros anteriormente descritos, a saturação por bases e por alumínio dos solos. A capacidade de troca catiônica (CTC) em pH 7,0 foi estimada mediante a expressão: $\text{CTC} = (\text{H} + \text{Al}) + \text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+} + \text{K}^+$, em $\text{cmol}(+)/\text{kg}$. As determinações dos teores totais de carbono no LE1 e LE2 e de nitrogênio no LE1, em solo e em frações texturais desses, foram realizadas em analisador automático de C/N/S Carlo Erba, modelo NA 1500, através da combustão das amostras em altas temperaturas (900 °C). Os resultados obtidos ao término dessas análises são expressos com base no teor de umidade presente nas amostras após secagem a 104 °C.

Fracionamento físico dos solos

Na dispersão física dos materiais de solo, seguiu-se metodologia proposta por Christensen (1992), através do uso de ondas de ultra-som. Basicamente, 30 g de solo foi adicionada em 250 mL de água destilada, sendo essa solução sonificada durante 15 min. (3 intervalos de 5 min), em sonificador Misonix, modelo W385. Buscando-se evitar superaquecimento das amostras sonificadas, procedeu-se o

envolvimento em gelo do béquer contendo a solução de solo. Ao término da etapa de sonificação, procedeu-se a separação de três frações texturais, com os seguintes tamanhos: 2000-53 μm , 53-2 μm e <2 μm , respectivamente denominadas de fração grossa (Fr. grossa), fração intermediária (Fr. interm.) e fração fina (Fr. fina). A escolha dessa nomenclatura baseou-se no fato de que a recuperação das frações grossa, intermediária e fina pelo método de dispersão via sonificação representou de 92 a 98% dos teores de argila, silte e areia determinados pelo método da pipeta. A separação da fração de 2000-53 μm das demais foi efetuada via tamisamento. A separação da fração fina da de tamanho intermediário foi realizada por repetidas etapas de sedimentação, centrifugação (9.000 rpm, por 10 min.) e sonificação.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O cultivo do LE1 por mais de trinta e três anos resultou em drásticas perdas de matéria orgânica, a ponto da área sob floresta registrar teores de carbono e nitrogênio quase duas vezes superiores àqueles determinados nas áreas calcariada e cultivada sem correção da acidez (Tabela 2.2 e 2.3). Mais especificamente, o cultivo das parcelas Calc e Test resultou numa diminuição de 42% e 48%, respectivamente, no nível de carbono observado na área sob floresta do LE1. Os estoques de nitrogênio foram reduzidos em 35% na área com calagem e em 44% na parcela testemunha. Os teores de carbono e nitrogênio nas áreas cultivadas do LE1 foram iguais estatisticamente, sendo notado, porém, uma tendência de maior preservação de C e N na área com calagem. Os resultados obtidos estão de acordo àqueles apresentados por Silva, Lemanski e Resck (1994); Resck, Pereira e Silva (1991); Bonde, Christensen e Cerri (1992); Vitorello et al. (1989) e Tiessen e Stewart (1983), os quais observaram uma redução drástica no conteúdo de MO em solos sob cultivo. A título de ilustração, uma perda sistemática de MO nos cinco anos de plantio da soja em solos de cerrado do Oeste baiano foi observada por Silva, Lemanski e Resck (1994), a ponto de se ter constatado decréscimos de 80, 76 e 41% do estoque inicial de MO, respectivamente,

da Areia Quartzosa, do Latossolo Vermelho-Amarelo textura média e do Latossolo Vermelho-Amarelo argiloso.

TABELA 2.2. Teores e fator de enriquecimento de carbono nos solos LE1 e LE2 e em suas frações texturais.

Solo	C total	Fr. fina	Fr. interm.	Fr. grossa	E _c ¹		
					Fr. fina	Fr. interm.	Fr. grossa
	-g/kg solo-	-----g/kg fração-----					
LE1							
Fr	42,4a ²	36,2	64,1	21,3	0,85	1,51	0,50
Calc	24,7b	21,5	38,0	13,7	0,87	1,54	0,55
Test	22,1b	24,6	34,0	6,1	1,11	1,54	0,28
LE2							
Cerr	18,0a	24,0	40,4	3,8	1,33	2,24	0,21
+P	17,8a	24,6	33,5	2,3	1,38	1,88	0,13
Test	18,1a	25,3	31,3	2,6	1,40	1,73	0,15

¹E_c(Fator de enriquecimento de C)=(Teor de C na fração textural analisada/Teor de C total).

²Médias seguidas por letras diferentes nas linhas, para cada solo e tratamento, diferem entre si (Tukey 5%).

Os estoques de matéria orgânica nos solos representam o balanço entre as práticas de manejo voltadas para a incorporação de resíduos vegetais nas áreas de plantio e aquelas que resultam numa decomposição mais acelerada da matéria orgânica (Christensen, 1996). Nesse sentido, é inegável que a floresta, dentre as três áreas estudadas, seja o sistema de menor perturbação de solo e, pela exuberância da vegetação, de maior adição de matéria orgânica ao solo. Desse modo, as adições elevadas de resíduos vegetais, aliadas à maior proteção e baixa taxa de decomposição da MO na floresta, contribuem sobremaneira para o teores elevados de carbono e nitrogênio observados nesse ecossistema. Seguindo esse raciocínio, não é difícil supor que as etapas de estabelecimento e renovação das pastagens e o plantio do pomar de citrus tenham contribuído sobremaneira para uma maior exposição das frações orgânicas aos microrganismos decompositores, em função de uma maior quebra de macroagregados pelo manejo inadequado do solo, e, por conseguinte, para a redução acelerada nos estoques de matéria orgânica. Contudo, é bastante provável que o fator

que mais tenha contribuído para a decomposição da matéria orgânica seja o relacionado ao menor aporte de carbono e nitrogênio nas áreas cultivadas, em relação à floresta. Tal suposição se justifica pelo fato do manejo implementado nos últimos treze anos de cultivo de citrus ter sido bastante conservacionista, caracterizando-se pelo baixo revolvimento do solo e pela permanência dos restos de ervas daninhas nas áreas de cultivo das laranjeiras. Os altos teores de argila, em torno de 70%, presentes nas três áreas amostradas do LE1 parecem não ter contribuído para uma maior proteção da MO contra o ataque microbiano nas áreas sob cultivo.

TABELA 2.3. Teores e fator de enriquecimento de nitrogênio no LE1 e em suas frações texturais.

Solo	N total	Fr. fina	Fr. interm.	Fr. grossa	E _N ¹		
					Fr. fina	Fr. interm.	Fr. grossa
	-g/kg solo-	-----g/kg fração-----					
Fr	3,44a ²	3,08	3,84	1,21	0,89	1,12	0,35
Calc	2,23b	1,88	2,64	0,66	0,84	1,18	0,29
Test	1,94b	2,09	2,28	0,37	1,08	1,18	0,19

¹E_N(Fator de enriquecimento de N)=(Teor de N na fração textural analisada/Teor de N total)

²Médias seguidas por letras diferentes nas linhas diferem entre si (Tukey 5%)

Concordando com os dados apresentados por Mendonça e Rowell (1994), o desmatamento do cerrado e o cultivo do LE2, em áreas adubadas ou não com fósforo, não resultou em reduções no conteúdo de carbono (Tabela 2.2). Analisando os estoques de carbono nas áreas cultivadas, não é difícil supor que o plantio de culturas anuais na fase inicial de exploração da área desmatada do LE2, e por pressuposto, o maior revolvimento do solo e retirada de restos culturais das áreas sob cultivo, certamente contribuíram para decomposição mais acelerada da matéria orgânica. Por outro lado, o maior aporte de resíduos vegetais provenientes do cultivo de uma gramínea de relação C:N mais larga (andropogon), durante os últimos quinze anos de exploração das áreas P e Test, aliado às práticas de menor revolvimento do solo e maior preservação de macroagregados nas áreas com capim, foram certamente os fatores que mais contribuíram para a preservação da MO nas áreas cultivadas, no nível originalmente registrado na área sob cerrado. Há que se considerar também que o

aporte de carbono nas áreas sob cerrado com predominância de árvores esparsas e vegetação mais rala, como a área amostrada no presente estudo, provavelmente seja igual àquele observado em sistemas de plantio de maior produção vegetal e mais conservacionistas, que priorizam a maior permanência de resíduos vegetais nas áreas de plantio. Desse modo, nos sistemas de manejo utilizados nas áreas cultivadas do LE2, os balanços dos processos de entrada e de consumo de carbono foram bastante similares àquele verificado no cerrado, não se notando efeito da aplicação de fósforo sobre os estoques de matéria orgânica.

A redução intensiva no conteúdo de carbono com o cultivo do solo LE1 resultou em diminuição da CTC em pH 7,0 (Tabela 2.1). Nas áreas cultivadas do LE1, foi notado uma tendência de maior CTC na parcela testemunha, apesar das áreas Calc e Test apresentarem teores similares de carbono. No solo LE2, apesar de não se ter detectado redução significativa nos teores de C com o cultivo, notou-se também uma pequena diminuição na capacidade do solo sob plantio em reter cátions. O menor valor de CTC observado na parcela com calagem do LE1 pode ser explicado pela menor presença de ácidos fúlvicos e húmicos nessa área, em relação à testemunha (Silva, 1997, Cap. III). Uma outra possível explicação para a menor CTC na área com calagem se relaciona à maior prevalência de moléculas com baixa CTC nas camadas superficiais dos solos corrigidos, em função de uma maior movimentação de compostos orgânicos com alta densidade de cargas para as camadas mais profundas (Wylczynski et al., 1993).

As drásticas perdas de matéria orgânica na camada superficial (0-10 cm) das áreas cultivadas do LE1 e os seus efeitos sobre a CTC revelam a fragilidade desse solo, enfatizando a importância em se adotar práticas de manejo que priorizem a maior permanência de restos culturais nas áreas sob plantio, a fim de se manter os níveis de MO originalmente presente na floresta.

Os dados relativos aos teores de carbono nas partículas texturais do LE1 e LE2 são apresentados na Tabela 2.2. Os conteúdos de carbono nas áreas cultivadas e sob vegetação natural dos solos LE1 e LE2 aumentaram na seguinte ordem: Fr.grossa < fina < intermediária, concordando com os dados apresentados por Bonde, Christensen e Cerri (1992). Os teores de nitrogênio no LE1 (Tabela 2.3) apresentaram

padrões de concentração semelhantes aos de carbono. Independentemente da fração textural analisada, os maiores conteúdos de carbono e nitrogênio foram determinados na área sob floresta do LE1. A retirada da vegetação de cerrado e o cultivo do LE2 resultou em diminuição nos teores de C nas frações intermediária e grossa e pequenos acréscimos nos teores desse elemento na fração fina. Diminuições acentuadas nos teores de C e N nas frações fina, intermediária e, em maior escala, na Fr. grossa foram os principais efeitos relacionados ao desmatamento e cultivo do solo LE1.

Com a finalidade de eliminar-se os efeitos de diferentes teores de carbono e nitrogênio totais nas áreas Calc, Test e sob floresta do LE1, fatores de enriquecimento de C (E_C , solos LE1 e LE2) e N (E_N , LE1) (Tabelas 2.2 e 2.3) foram calculados para as frações grossa, intermediária e fina, seguindo-se Christensen (1992). A fração intermediária foi a mais enriquecida em carbono e nitrogênio, com os teores de carbono nessa fração sendo superiores de 51 a 124%, e os de nitrogênio de 12 a 18% aos teores totais de carbono e nitrogênio. Os teores de carbono na fração fina do LE1 se mostraram muito próximos dos teores totais desse elemento nas áreas Fr, Calc e Test. No LE2, os teores de carbono na fração fina se mostraram de 33 a 40% mais altos do que os do solo como um todo. Os valores de E_C obtidos para as frações fina e intermediária foram muito próximos àqueles obtidos por Bonde, Christensen e Cerri (1992) para as partículas argila e silte, enquadrando-se na faixa de valores (0,5 a 11,1) apresentada por Christensen (1996), em revisão avaliando diferentes classes de solos. No caso da fração grossa, os valores do E_C foram um pouco acima do valor citado pelo último autor (0,1), porém estão dentro da faixa (0,2 a 0,8) apresentada por Guggenberger, Christensen e Zech (1994). Há que se ressaltar, todavia, que os valores de E_C nas frações argila e silte se mostram inversamente associados aos teores dessas frações texturais presentes nos solos, mostrando-se também extremamente dependentes do processo usado na dispersão das matrizes de solos (Christensen, 1992). Os efeitos do cultivo, pela análise dos dados de E_C e E_N , se restringiram a uma diminuição nos teores de C e N na fração grossa e, em algumas áreas, na intermediária, e um enriquecimento relativo desses elementos na fração fina.

As diferenças entre os fatores de enriquecimento de carbono e nitrogênio das frações texturais do LE1 são refletidas nas relações C:N obtidas (Figura 2.1).

Independentemente da área analisada, foi verificado um decréscimo das relações C:N no sentido das frações grosseiras para as mais finas. As relações C:N observadas para o solo se mostraram muito próximas daquelas observadas para a fração fina, muito em função da dominância dessa partícula textural no LE1. As menores relações C:N foram observadas para a fração fina, com valores similares aqueles normalmente encontrados nas frações orgânicas com maior grau de humificação, normalmente resultantes do metabolismo de microrganismos (Baldock et al., 1992 e Guggenberger, Christensen e Zech, 1994). Dentro desse contexto, é bastante provável que à fração grossa estejam associados os materiais orgânicos mais prontamente disponíveis, ou pelo menos de menor grau de decomposição, pelas maiores relações C:N dessa fração. De modo geral, as relações C:N determinadas nas áreas cultivadas se mostraram muito próximas daquelas observadas nas frações texturais da área sob floresta do LE1. A exceção a esse comportamento esteve relacionada à parcela com calagem do LE1, em cuja fração grossa se verificou a mais alta relação C:N (Figura 2.1). É bastante provável que a maior presença de carbono na área calcariada se deva a maior produção vegetal constatada a campo e, por conseguinte, a maior entrada de resíduos vegetais frescos, de relação C:N mais larga, na área sob efeito da calagem.

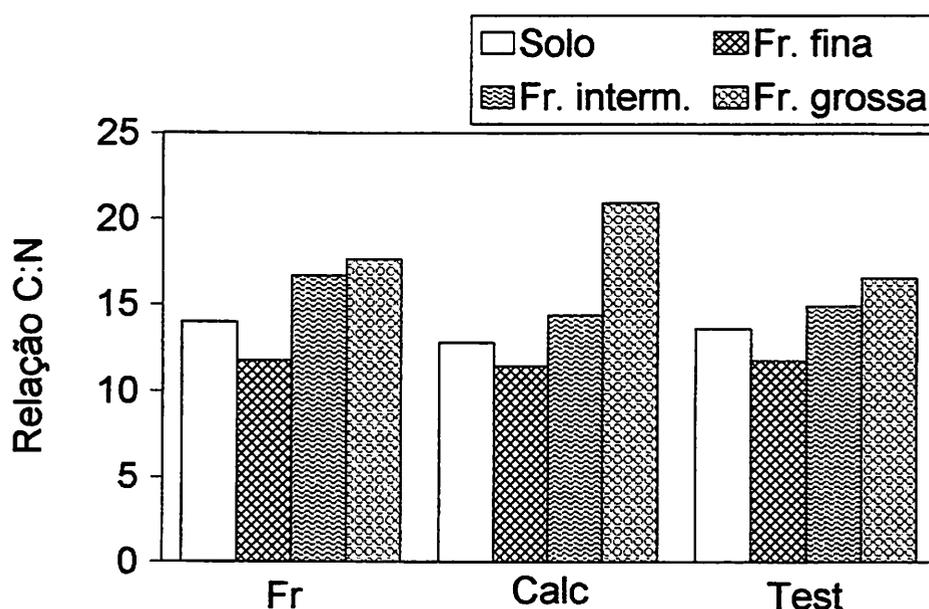


FIGURA 2.1. Relações C:N em solo e em frações texturais de áreas do LE1 sob influência de diferentes uso e manejo.

Os dados de distribuição de carbono e nitrogênio no LE1 (Figura 2.2) e de carbono no LE2 (Figura 2.3) revelaram que grande parte do carbono e, em maior grau, do nitrogênio estiveram associados à fração fina. Analisados conjuntamente, as frações fina e intermediária contribuem para mais de 90% das reservas de C e N presentes nos solos estudados. A textura muito argilosa do LE1 e argilosa do LE2 explica, em parte, o fato da maioria do carbono e nitrogênio estar associada à fração fina nesses dois solos, já que essa fração textural, face a sua maior área superficial e maior densidade de cargas, exerce papel crucial na estabilização da MO contra o ataque de microrganismos (Rosell, Galantini e Iglesias, 1996; Baldock et al., 1992). Em termos gerais, os reservatórios de carbono e nitrogênio associados à areia foram muito baixos, perfazendo menos de 10% dos estoques totais desses dois elementos presentes nos solos estudados.

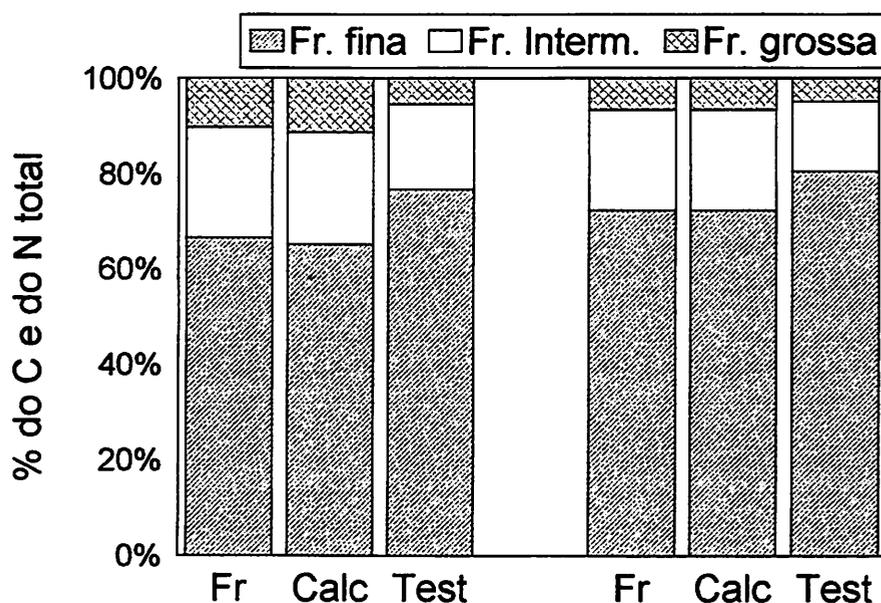


FIGURA 2.2. Distribuição relativa de carbono e nitrogênio nas áreas cultivadas e sob floresta do LE1.

Em resumo, os principais efeitos do cultivo nas áreas estudadas estiveram associados a uma redução de carbono e nitrogênio associados às frações grossa e intermediária e um enriquecimento relativo desses elementos na fração fina, principalmente na área testemunha do LE1. Diante dessa constatação, a adoção de práticas de manejo conservacionistas, visando-se evitar perdas excessivas de solo, se mostra essencial, principalmente se levar em conta que uma perda diferenciada da fração fina resultaria em um elevado esgotamento nas reservas de carbono e nitrogênio, por serem esses elementos majoritariamente concentrados nessa fração textural.

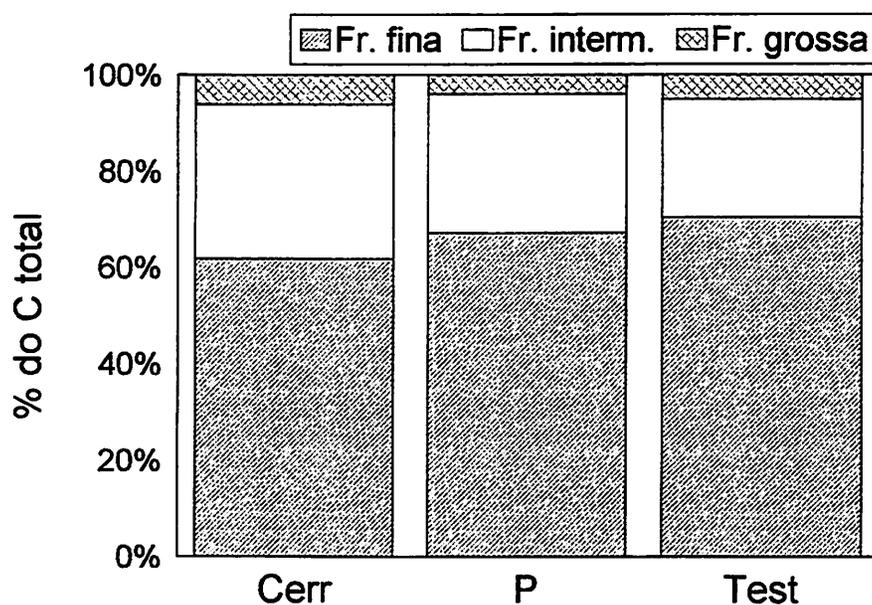


FIGURA 2.3. Distribuição relativa de carbono nas áreas cultivadas e sob cerrado do LE2.

2.4 CONCLUSÕES

A redução drástica nos estoques de C e N nas áreas cultivadas do LE1 e os seus efeitos sobre a CTC em pH 7,0 enfatizam a importância do manejo e conservação da matéria orgânica após a retirada da floresta.

Os sistemas de manejo adotados nas áreas sob cultivo do LE2 se mostraram adequados no sentido de preservar a matéria orgânica, no nível verificado no cerrado.

Os níveis de carbono e nitrogênio nas áreas cultivadas do LE1 não foram afetados pela calagem. A aplicação de fósforo não resultou em diminuição nos estoques de carbono do LE2.

A fração fina (<2 μm) exerce papel crucial na estabilização da MO nos solos estudados, já que, majoritariamente, os maiores reservatórios de C e N nas áreas cultivadas e sob vegetação natural se encontram associados a essa fração textural.

O cultivo contribuiu para um enriquecimento relativo de carbono no LE1 e LE2 e de nitrogênio no LE1 na fração fina, a expensas das frações orgânicas associadas às frações grossa e intermediária.

2.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BALDOCK, J.A.; OADES, J.M.; WATERS, A.G.; PENG, X.; VASSALLO, A.M.; WILSON, M.A. Aspects of the chemical structure of soil organic materials as revealed by solid-state ^{13}C NMR spectroscopy. **Biogeochemistry**, Dordrecht, v.16, p.1-42, 1992.
- BONDE, T.A.; CHRISTENSEN, B.T.; CERRI, C.C. Dynamics of soil organic matter as reflected by natural ^{13}C abundance in particle size fractions of forested and cultivated oxisols. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.24, n.3, p.275-277, Mar. 1992.
- CHRISTENSEN, B.T. Carbon in primary and secondary organomineral complexes. In: CARTER, M.R.; STEWART, B.A. (eds.). **Structure and organic matter storage in agricultural soils**. Boca Raton: Lewis Publishers, 1996. p.97-165.

- CHRISTENSEN, B.T. Physical fractionation of soil and organic matter in primary particle size and density separates. **Advances in Soil Science**, New York, v.20, p.1-90. 1992.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Serviço Nacional de Levantamento e Conservação do Solo. **Manual de métodos de análise do solo**. Rio de Janeiro, 1979. 247p.
- GEE, G.W.; BAUDER, J.W. Particle-size analysis. In: KLUTE, A. **Methods of soil analysis**. Madison: American Society of Agronomy, 1986. p.383-411.
- GUGGENBERGER, G.; CHRISTENSEN, B.T.; ZECH, W. Land-use effects on the composition of organic matter in particle-size separates of soil: I. Lignin and carbohydrate signature. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v.45, n.4, p.449-458, Dec. 1994.
- MENDONÇA, E.S.; ROWELL, D.L. Dinâmica do alumínio e de diferentes frações orgânicas de um latossolo argiloso sob cerrado e soja. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.18, n.2, p.295-303, mai./ago. 1994.
- RESCK, D.V.S.; PEREIRA, J.; SILVA, J.E. **Dinâmica da matéria orgânica na região dos cerrados**. Planaltina: Embrapa/CPAC, 1991. 22 p. (Documentos, 36).
- ROSELL, R.A.; GALANTINI, J.A.; IGLESIAS, J.O. Organic carbon changes in soil fractions of two texturally-different Haplustolls under cultivation. In: CLAPP, C.E.; HAYES, M.H.B.; SENESI, N.; GRIFFITH, S.M. (eds.). **Humic substances in Soil and Water Environments**. St. Paul: IHSS, 1996. p.161-162.
- SILVA, C.A. **Mineralização de nitrogênio e enxofre e caracterização de substâncias húmicas em solos brasileiros por ¹³C-RMN e cromatografia por exclusão de tamanho**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 1997. 82p. (Tese - Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas).
- SILVA, J.E.; LEMAINSKI, J.; RESCK, D.V.S. Perdas de matéria orgânica e suas relações com a capacidade de troca catiônica em solos da região de cerrados do oeste baiano. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.18, n.3, p.541-547, set./dez. 1994.
- TIESSEN, H.; STEWART, J.W.B. Particle-size fractions and their use in studies of soil organic matter: II. Cultivation effects on organic matter composition in size fractions. **Soil Science Society of American Journal**, Madison, v.47, n.3, p. 509-514, May/June 1983.

VITORELLO, V.A.; CERRI, C.C.; ANDREUX, F.; VICTÓRIA, R.L. Organic matter and natural carbon-13 distributions in forested and cultivated oxisols. **Soil Science Society of American Journal**, Madison, v. 53, n.3, p.773-778, May/June 1989.

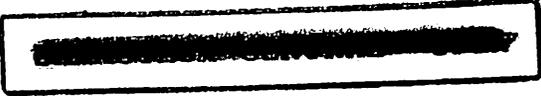
WILCZYNSKI, A.W.; RENGGER, M.; JÓZEFACIUK, G.; HAJNOS, M. Negative charge - pH dependence of organic matter of forest soil under influence of liming as determined from titration curves. **Zeitschrift. fuer Pflanzenernahrung und Bodenkunde**, Leipzig, v.156, p.267-271, 1993.

CAPÍTULO III

CARACTERIZAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS EM SOLO CULTIVADO E SOB FLORESTA: USO DA CROMATOGRAFIA POR EXCLUSÃO DE TAMANHO

RESUMO - O presente estudo objetivou avaliar o peso molecular estimado (PM) e as proporções de ácidos húmico (AH) e fúlvico (AF) presentes em substâncias húmicas (SH) extraídas com NaOH 0,1M e resina Chelex e originárias de latossolo sob floresta e cultivado com citrus, com e sem calagem, através do uso da Cromatografia de Exclusão de Tamanho de Alta Eficiência (CETAE). Utilizou-se como fase móvel o NaCl 0,1 M, mais KH_2PO_4 10 mM e K_2HPO_4 10 mM (pH=6,84), à vazão de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$. Na calibração do PM com o tempo de retenção na coluna cromatográfica, utilizou-se moléculas de sulfonato de poliestireno de sódio (SPS) e acetona. Para fins de comparação, moléculas padrões de ácido fúlvico (AF_p) e húmico (AH_p) adquiridas junto à Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (SISH) foram também eluídas, apresentando, respectivamente, os seguintes pesos moleculares: 1330 e 27700 daltons. A análise das SH revelou que os AF e AH dos materiais de solo apresentaram tempo de eluição e, portanto, pesos moleculares muito similares aqueles determinados para os ácidos padrões. Os cromatogramas obtidos mostraram que o uso e manejo dos solos introduziram pequenas mudanças no PM e na relação AF:AH das SH. Ao contrário, o método de extração influenciou de forma marcante as proporções de AH e AF, com mais AH nos materiais extraídos com a resina Chelex e maiores proporções de AF nos materiais húmicos extraídos com NaOH. As proporções de AF e AH obtidas via método oficial da SISH estiveram muito próximas àquelas determinadas no material húmico extraído com a resina Chelex, via CETAE, demonstrando o potencial desta

técnica na determinação do PM e das proporções de AH e AF em substâncias húmicas originárias de solos.


CHAPTER III**HUMIC SUBSTANCES CHARACTERIZATION IN FORESTED AND CULTIVATED
OXISOL: USE OF SIZE EXCLUSION CHROMATOGRAPHY**

ABSTRACT - This work evaluated the molecular weight (mw) as well as the proportions of humic and fulvic acids in humic substances extracted with NaOH and Chelex resin, via High Pressure Size Exclusion Chromatography (HPSEC). Samples of a red dark latosol were collected from three conditions: under forest and cultivated, with and without liming. For the experiment it was used as mobile phase 0.1 M NaCl with 10 mM of KH_2PO_4 and 10 mM K_2HPO_4 (pH=6,84) at 1.0 mL min^{-1} . Standards of sodium polystyrene sulfonate and acetone were used to calibrate the molecular weight and retention time ratio. Soil humic acid (HA_s) and aquatic fulvic acid (FA_s) standards (obtained from the International Humic Substances Society - IHSS) were included for comparison. All chromatograms of both NaOH- and resin-extracted humic substances contained two peaks: one that eluted at the same time as the reference HA_s (mw=27700 daltons) and another one at the same time as the reference aquatic FA_s (mw=1330 daltons). The chromatograms showed small differences in the distribution of soil humic substances from different agricultural systems. However, the relative proportions of HA and FA differed between NaOH-extracted and resin-extracted humic substances, with more HA in the resin-humic material and greater proportions of FA in the NaOH-humic extracts. The proportions of HA and FA obtained by using the method proposed by IHSS were close to those determined by HPSEC in the Chelex resin-humic substances, showing the applicability of this separation technique to the analyses of molecular weight and proportions of humic and fulvic acids from soil humic substances.

3.1 INTRODUÇÃO

Na maioria dos solos, as substâncias húmicas (SH) representam os componentes majoritários mais estáveis da matéria orgânica (MO). Esse grupo de substâncias engloba uma mistura complexa de moléculas com larga variação de peso molecular, que se constituem, face à presença maciça de grupamentos carboxílicos e fenólicos, na principal matriz de desenvolvimento de cargas nos solos (Schnitzer, 1991).

Uma adequada caracterização das SH presentes nos diferentes sistemas agrícolas brasileiros se mostra central para a melhor compreensão do papel exercido pela MO na fertilidade dos solos, mais especificamente na eficiência do uso de nutrientes, no fenômeno de troca iônica e na correção de acidez de superfície e de subsuperfície (Liu e Hue, 1996).

Diversas técnicas tem sido usadas na caracterização de ácidos húmico (AH) e fúlvico (AF) em solos e em aquíferos (Chin e Gschwend, 1991 e Shaw, Jones e Haan, 1994). Dentre essas, há um destaque para a cromatografia por exclusão de tamanho de alta eficiência (CETAE), técnica que se caracteriza pela rapidez e confiabilidade na aferição do peso molecular e proporções de AH e AF. O uso da CETAE se baseia no princípio de migração diferenciada do material húmico na coluna cromatográfica. Moléculas de maior peso molecular exibem menor interação com o espaço poroso da coluna cromatográfica, sendo excluídas no menor tempo possível. Moléculas de menor peso molecular exibem caminamento mais tortuoso, pelo maior aprofundamento na matriz sílica que empacota a coluna. Compostos de tamanho molecular intermediário exibem velocidades de migração médias àquelas das classes de compostos anteriormente citadas (Meyer, 1993).

O uso da CETAE possui a vantagem de requerer pequenas quantidades de material a ser analisado, propicia ainda medições diretas, as quais resultam em avaliações de propriedades das SH mais próximas daquelas verificadas 'in situ'. Contudo, a principal vantagem do uso da CETAE se relaciona à eliminação de etapas laboriosas no fracionamento de AH e AF em matrizes de solos em meio ácido e alcalino, como àquelas propostas por Schnitzer (1982).

Levando-se em consideração que variações de pH, força iônica e concentração do material húmico podem acarretar mudanças em termos de tamanho e forma das frações húmicas (Chin e Gschwend, 1991), e que essas mudanças podem resultar em interpretações errôneas das propriedades das SH, procedeu-se no presente estudo a extração do material húmico com o uso do NaOH e de uma resina trocadora de íons. Em comparação com soluções alcalinas de NaOH, a resina Chelex se caracteriza como sendo em um extrator de força média, com pH de extração inferior ao NaOH, e que produz extratos húmicos menos oxidados e mais puros, contudo possui a desvantagem de extrair menores quantidades de matéria orgânica, em períodos de extração maiores do que aqueles usados nas extrações com NaOH (Gerzabek e Ullah, 1989). O custo elevado tem sido outro fator a impossibilitar o uso mais frequente da resina como extrator de substâncias húmicas. Há que se destacar, porém, que o uso da resina pode resultar na extração de material húmico em solução de menor força iônica, com baixa concentração de eletrólitos, devido a elevada afinidade da resina Chelex por ferro, cobre e outros elementos.

O presente estudo teve como objetivo avaliar a capacidade da CETAE, quando comparada ao método de fracionamento proposto pela SISH, em determinar as proporções e estimar os pesos moleculares de AH e AF em substâncias húmicas extraídas com NaOH e com a resina Chelex, oriundas de solos sob floresta e cultivados, sob efeito ou não da calagem.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

Solos

Procedeu-se a coleta de material de solo de textura muito argilosa e com a mineralogia da fração argila dominada por caulinita e gibbsita na camada de 0-10 cm, no ano de 1995. Coletou-se no campo experimental de citricultura do IAC em Cordeirópolis, SP a unidade Latossolo Vermelho-Escuro (LE1), sob floresta (Fr) e sob cultivo de pastagens (20 anos) e citrus (13 anos, laranjeira valência), em parcela calcariada (Calc) e na testemunha (Test, cultivo sem correção da acidez do solo).

Informações mais detalhadas, a caracterização química e a textura das áreas amostradas são fornecidas por Silva (1997), cap. II.

Extração das substâncias húmicas

Utilizaram-se dois procedimentos analíticos na extração das substâncias húmicas (ácido húmico e fração fúlvica) dos materiais de solos. Numa fase inicial, procedeu-se a extração do material húmico através da agitação por 24 horas de 10 g de solo e 100 mL de NaOH 0,1 M, em ambiente de N₂ (Schnitzer, 1982). Procedeu-se também a extração das substâncias húmicas com a resina Chelex (Chelex 100, Bio Rad), na seguinte relação solo:resina:água - 10g:25g:50mL (Gerzabek e Ullah, 1989). A extração das SH com a resina se deu em ambiente de N₂, estendendo-se por um período de três dias, com coleta do material húmico extraído a cada 24 horas. Desse, às 10 g de solo e às 25 g de resina pesadas no início do período de extração, eram adicionados novamente, a cada 24 h, 50 mL de água destilada, procedendo-se a seguir nova agitação. A separação do sobrenadante alcalino do material de solo foi efetuada, em ambos processos de extração, pela centrifugação das amostras a 9.000 rpm, durante 30 min. Ao término da etapa de centrifugação, o extrato alcalino de ambos os extratores foi dialisado por 12 dias (Peso molecular de exclusão, PME=500), liofilizado e armazenado em dessecador, até a sua utilização no estudo de cromatografia. Numa fase anterior à diálise, avaliaram-se também os valores de pH das soluções contendo os materiais húmicos. No caso da resina, o valor do pH de extração se situou em torno de 9,6, sendo o pH das soluções de substâncias húmicas extraídas com NaOH próximo de 12,6.

CETAE

O sistema cromatográfico usado consistiu-se de uma bomba injetora Waters, um injetor de amostras Beckman com 'loop' de 20 µL, um detector de absorvância Waters e um integrador HP, modelo 3390A. A coluna cromatográfica (Waters protein Pak-125, 7,8 x 30 cm) escolhida tem como características a baixa hidrofobicidade e a pequena capacidade trocadora de íons, possibilitando a detecção de moléculas com uma ampla faixa de peso molecular (100 a 80.000 daltons).

Utilizou-se como fase móvel solução tamponada (pH=6,83) 10 mM de KH_2PO_4 e K_2HPO_4 , mais NaCl 0,1M, com vazão de 1 mL min^{-1} , muito embora outras fases móveis tenham sido testadas. Na confecção da curva de calibração relacionando peso molecular (PM) e volume de retenção (VR), foram usadas moléculas de sulfonato de poliestireno de sódio (SPS), com os seguintes pesos moleculares: 1.800, 4.600, 18.000 e 35.000 daltons. Analisou-se também a acetona (102 daltons) a 1% (v/v), com a finalidade de adicioná-la à curva já mencionada. Para fins de comparação, foram analisadas, cromatograficamente, moléculas de ácido húmico (AH_p , ref. IR102H) e ácido fúlvico (AF_p , ref. IR101F) padrões, adquiridos junto à Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (SISH).

Na análise das frações húmicas via uso da CETAE, 15 mg de SH dialisada e liofilizada foram dissolvidas em 50 mL de solução tampão de composição idêntica àquela usada como fase móvel. Todas as soluções húmicas analisadas foram filtradas em membranas com diâmetro de 0,45 μm , numa etapa anterior à injeção na coluna cromatográfica. A absorvância dos materiais húmicos eluídos foi monitorada a 280 nm. Todas as análises cromatográficas foram conduzidas em triplicata.

Para fins de comparação, as substâncias húmicas, extraídas com NaOH 0,1 M durante 24 horas, de acordo com Melo et al. (1994), foram também fracionadas em frações fúlvicas (FF) e ácidos húmicos (AH), pelo método proposto pela SISH, descrito por Schnitzer (1982), sendo as FF e o AH quantificados através do teor de carbono neles presentes (Defelipo e Ribeiro, 1981). Para obtenção das FF e do AH e término de 24 horas de agitação, adicionou-se 1,5 g de sulfato de sódio anidro à solução contendo 100 mL de NaOH 0,1 M e 10 g de solo, centrifugou-se esse material a 4.300 rpm por 15 min, e procedeu-se a acidificação do sobrenadante (HCl 2,0 N), de modo a abaixar o pH do meio a 2,0. A seguir, procedeu-se a filtragem do extrato acidificado, sendo o AH precipitado nos filtros lixiviado com NaOH 0,1N, numa etapa subsequente à eluição do extrato acidificado contendo as FF. Numa fase anterior à determinação dos teores de carbono nas FF e no AH, procedeu-se a secagem do material húmico em estufa de circulação forçada a 50-60 °C. O teor de carbono dos AH foi medido após remoção dos sólidos suspensos na solução pelo tratamento com HF-HCl. O carbono orgânico da fração AF foi dosado após passagem da FF em coluna empacotada com

resina XAD-8 e recuperação do AF retido na resina com NaOH 0,1M e água deionizada.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao término das análises dos padrões de sulfonato de poliestireno de sódio, obteve-se uma curva de calibração do tipo log-log linear, com os seguintes parâmetros: $\text{Log}(\text{PM}_i) = [-7,9272 \times \text{Log}(\text{VR}_i)] + 10,807$ ($r^2=0,9979$), onde PM_i é o peso molecular de uma fração orgânica qualquer num dado volume de retenção (VR_i). No cálculo do VR, multiplicou-se o volume eluído pelo tempo de eluição. Dessa forma, o parâmetro VR confunde-se com o tempo de eluição, pelo fato de se ter utilizado neste estudo a vazão de 1 mL/min. Na determinação dos pesos moleculares das frações húmicas estudadas, bem como dos AH_p e AF_p , utilizou-se a curva padrão anteriormente listada.

O cromatograma das soluções de AH_p e AF_p (SISH) é apresentado na Figura 3.1. Os dois ácidos padrões apresentaram os seguintes tempos de eluição: 6,16 (AH_p) e 9,25 min (AF_p). Levando-se em consideração estes tempos e baseando-se na curva de calibração obtida com os padrões SPS, obtiveram-se peso molecular de 27247 ± 1196 daltons para AH_p e 1291 ± 30 para AF_p . O valor de PM determinado para o AF_p está de acordo com aqueles determinados por Chin e Gschwend (1991) e Miles e Brezonik (1983), encaixando-se na faixa de PM normalmente observada para essa classe de moléculas - 1000-5000 daltons (McBride, 1994). Os ácidos húmicos englobam moléculas de maior tamanho e com menor mobilidade que as de ácido fúlvico, apresentando PM variando de 10.000 a 100.000 daltons (McBride, 1994). As moléculas de AH_p analisadas apresentaram PM nesta faixa, contudo o valor encontrado é superior àquele determinado por Chin e Gschwend (1991), quando da análise de ácido húmico sintético Aldrich (14500 daltons).

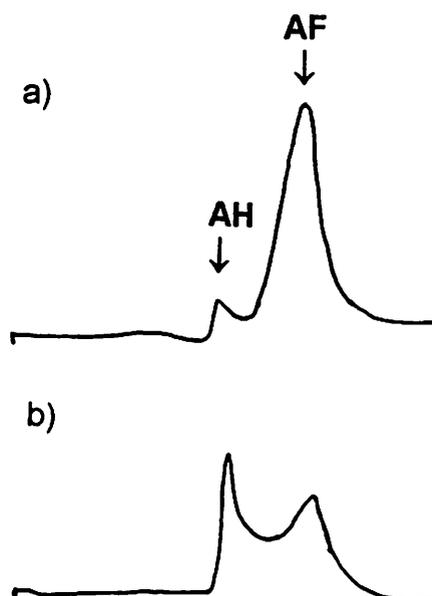


FIGURA 3.1. Cromatogramas de misturas de substâncias húmicas padrões, nas seguintes proporções: a) 08%(AH_p):92%(AF_p) e b) 57(AH_p):43%(AF_p).

Buscando averiguar a confiabilidade da CETAE, procedeu-se também a análise cromatográfica de diferentes proporções de AF_p e AH_p, as quais são apresentadas na Tabela 3.1. As relações teóricas de AF_p:AH_p estiveram muito próximas daquelas analisadas cromatograficamente. Os teores de carbono na forma de AH_p e AF_p se mostraram significativamente relacionados com os valores de área registrados via monitoramento do C a 280 nm, conforme equações apresentadas na Tabela 3.1. Os resultados alcançados demonstram ser a CETAE uma técnica adequada no sentido de avaliar diferentes proporções de AF e AH.

TABELA 3.1. Concentrações e proporções de AH_p e AF_p e valores de área obtidos via monitoramento do carbono a 280 nm.

AH _p	AF _p	Rel.AH _p :AF _p ¹	Rel.AH _p :AF _p ²	Area AH _p ³	Área AF _p ⁴
-----mg/L-----					
12	144	8:92	8:92	956	12480
24	108	18:82	15:85	2053	11862
30	90	25:75	20:80	2146	8738
36	72	33:67	28:72	3097	7898
48	36	57:43	41:59	4698	6831

¹ Relações teóricas obtidas via uso de diferentes concentrações de AH_p e AF_p;

² Relações obtidas via análise das diferentes proporções de AH_p e AF_p no sistema de CETAE.

³ AH_p(mg/L sol.)=5,7286 + 0,00937 (área) r=0,9788

⁴ AF_p(mg/L sol.)=-55,6456 + 0,015232 (área) r=0,9406

A eluição dos materiais húmicos oriundos de solos sob diferentes sistemas de manejo, via CETAE, evidenciou a presença de duas classes distintas de moléculas (Figura 3.2 e Tabela 3.2). Uma, composta por frações de maior peso molecular, similares em tamanho às frações orgânicas eluídas como AH_p, outra, por moléculas muito semelhantes em PM àquelas eluídas como AF_p. Dessa forma, os cromatogramas obtidos apresentaram distribuição do tipo bimodal, sendo o primeiro pico diretamente relacionado à presença de ácidos húmicos e o segundo, aos ácidos fúlvicos. Analisados separadamente, os dois picos apresentaram-se bastante largos, evidenciando a presença de uma mistura complexa de materiais húmicos, contíguos, com pesos moleculares distintos e de difícil separação em sistemas cromatográficos. Em termos comparativos, os ácidos húmicos originários dos materiais de solo apresentaram PM um pouco acima daquele utilizado como padrão, AH_p. No caso dos ácidos fúlvicos, os valores de PM para moléculas de solo e de aquífero (AF_p) se mostraram muito similares. Tais resultados evidenciam a proximidade de AF de aquíferos e de solos em termos de origem, em parte devido a maior mobilidade e solubilidade em água dos ácidos fúlvicos, em relação aos húmicos.

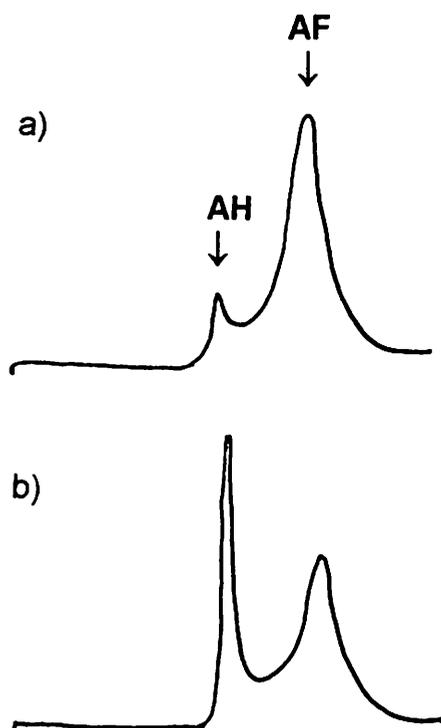


FIGURA 3.2. Cromatogramas de substâncias húmicas originárias de latossolo sob floresta e extraídas: a) Com NaOH 0,1 M e b) Com resina Chelex.

TABELA 3.2. Pesos moleculares estimados de AH e AF, obtidos via CETAE, sob influência do uso e manejo dos solos e do método de extração das substâncias húmicas.

Área	Resina		NaOH	
	AH	AF	AH	AF
Fr	31895±1424 ¹	1337±20	29194±1168	1413±25
Calc	34232±1862)	1448±75	31571±2785	1368±46
Test	32487± (292)	1314±31	29736±795	1372± 66

¹ Valores após os sinais ± se relacionam ao desvio padrão de cada média;

A análise cromatográfica das SH oriundas da floresta e das áreas Calc e Test revelou também que o uso e o manejo diferenciado do LE1 introduziram pequenas mudanças no PM e nas proporções de AF e AH (Tabela 3.2 e Figura 3.3). As proporções de AH:AF listadas na figura 3.3 dizem respeito à relação entre o teor de carbono presente na forma de AH, a título de exemplo, dividido pelo teor total de carbono na forma de AH, mais aquele na forma de AF. Desse modo, os dados obtidos evidenciaram serem as proporções de AH significativamente maiores no solo sob floresta, do que nas áreas cultivadas. As mudanças introduzidas pelos métodos de extração de substâncias húmicas foram mais intensas, na medida em que estes influenciaram significativamente as proporções de AH e AF, com maiores teores de AH no material extraído com a resina Chelex e maiores proporções de AF no material húmico extraído com NaOH. As proporções de AH:AF obtidas com material extraído com a resina se mostraram muito próximas àquelas determinadas por Mendonça e Rowell (1994) em latossolos.

Buscando-se explicações para o comportamento diferenciado dos materiais húmicos extraídos com NaOH e resina na coluna cromatográfica, é sabido que a conformação estrutural das substâncias húmicas se mostra extremamente influenciada pelo pH, força iônica da solução eluente e concentração de eletrólitos do material

húmico eluído. Quando comparados, os valores de pH das soluções preparadas com a solução tampão usada com fase móvel e os materiais húmicos liofilizados extraídos com NaOH e resina Chelex se mostraram muito similares, em torno de 6,85, portanto muito próximos daquele registrado para a solução tampão de NaCl utilizada na eluição das amostras. O parâmetro força iônica parece não ser também aquele que acarretou uma maior presença de AF no material húmico extraído com NaOH, muito em função do valor escolhido ser aquele recomendado na análise de materiais húmicos em sistemas cromatográficos (Chin e Gschwend, 1991). Uma melhor explicação para as mais altas relações de AF:AH nas SH extraídas com NaOH parece estar relacionada à concentração de eletrólitos nos dois materiais húmicos (Resina e NaOH), tendo em vista que, a título de exemplo, a maior presença de cálcio nos materiais húmicos, quando comparado ao sódio, pode resultar em maior tempo de retenção das frações orgânicas eluídas (Murphy e Zachara, 1995). Esse fenômeno se explica pelo fato de algumas frações orgânicas, notadamente as de maior tamanho, mostrarem maior interação com a matriz de sílica na coluna de CETAE, comportando-se como moléculas de menor PM. Tais resultados permitem a inferência de que as moléculas de ácido húmico extraídas com NaOH poderiam ter se comportado como frações de estrutura mais compactada, muito semelhantes, portanto, aos ácidos fúlvicos. Um outro fato importante diz respeito à uma possível presença de argila nos materiais húmicos extraídos com NaOH e resina Chelex. Nesse sentido, a análise dos dois materiais revelou maior presença de ferro e de cinzas e menor teor de carbono nas substâncias húmicas extraídas com NaOH, em comparação à resina Chelex. Diante de todas essas considerações, é bastante provável que a maior pureza e a menor concentração de eletrólitos no material húmico extraído com a resina tenham propiciado condições mais adequadas para que as substâncias húmicas eluídas manifestassem proporções de AH:AF mais próximas daquelas verificadas 'in situ'.

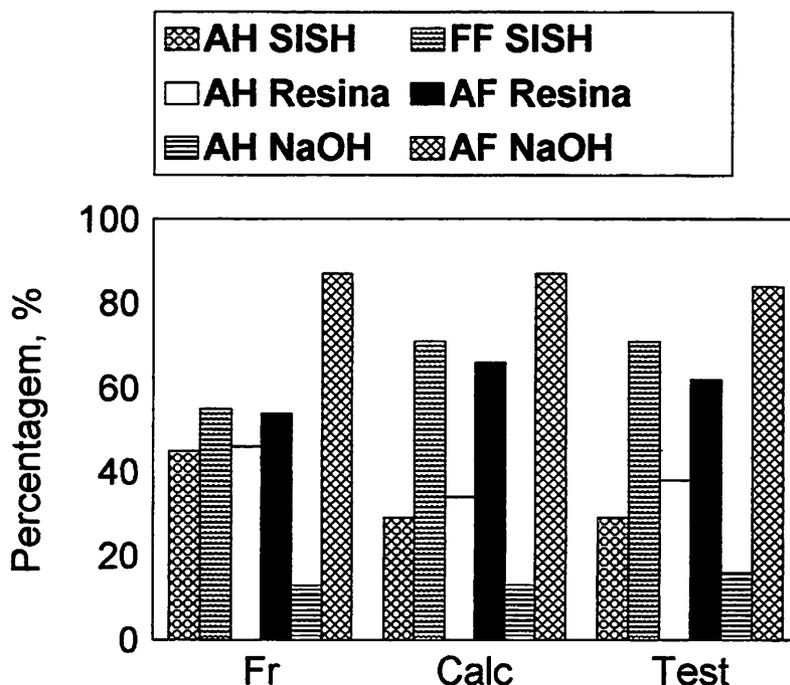


FIGURA 3.3. Proporções de ácidos húmico (AH) e fúlvico (AF) e fração fúlvica (FF) sob influência do uso e manejo do LE1 e de métodos de extração e fracionamento de substâncias húmicas (SH). Legenda: AH e FF SISH: proporções de AH e FF presentes em SH extraídas com NaOH e fracionadas pelo método proposto pela SISH; AH e AF Resina: proporções de AH e AF presentes em SH extraídas pela resina Chelex e fracionadas via CETAE; AH e AF NaOH: proporções de AH e AF presentes em SH extraídas com NaOH e fracionadas via CETAE.

O fracionamento das substâncias húmicas pelo método proposto pela SISH (Schnitzer, 1982) revelou que grande parte do carbono nas áreas estudadas se encontra presente na estrutura de ácidos húmicos e frações fúlvicas (Tabela 3.3). A relação SH/C total evidenciou a presença de maiores teores AH e FF na testemunha e menores teores de carbono na forma dessas frações na área com calagem. A redução intensiva nos teores de MO com o desmatamento e cultivo das áreas Calc e Test foi acompanhada por pequenas mudanças nas relações AH:FF, sendo a maior proporção de carbono orgânico na forma de ácido húmico observada na área sob floresta. Dessa

maneira, foi observado uma elevação nas proporções de C na forma de fração fúlvica nas áreas cultivadas, em relação à área sob floresta.

TABELA 3.3. Teores de C total e de substâncias húmicas (Fracionamento convencional proposto pela SISH) de um latossolo sob floresta e cultivado com citrus em áreas com (Calc), ou sem calcário (Test).

Área	C total	SH ¹	AH	FF	SH/C total
	-----g/kg-----				
Fr	42,4±0,7a ²	19,11a	8,58±0,06	10,53±0,46	0,45
Calc	24,7±1,3b	9,56c	2,78±0,04	7,49±0,12	0,39
Test	22,1±0,4b	12,47b	3,61±0,18	8,86±0,13	0,56

¹ SH representa a soma do carbono presente nos AH, mais aquele que compõe a FF.

² Médias seguidas de mesma letra não difererem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Pelo histórico de manejo das áreas cultivadas, seria esperado uma maior relação AH:FF na área Calc, em relação à área Test. Tal suposição poderia ser explicada pelo fato das análises terem se concentrado na camada de 0-10 cm e de que em solos calcariados é comum a formação de pares iônicos de íons fulvatos com Ca, o que confere a esses sais maior mobilidade no perfil, com concentração dessas moléculas nas camadas mais profundas dos solos corrigidos (Marschner e Wilczynski, 1991; Mendonça e Rowell, 1994). Os menores teores de carbono na forma de FF e AH na área Calc, de certa forma, dão algum suporte a essa hipótese de maior perda de substâncias húmicas para as camadas mais profundas do solo calcariado.

Independentemente da técnica analisada, foi observado uma dominância das frações fúlvicas na floresta e nas áreas cultivadas do LE1. Tais dados estão de acordo àqueles obtidos por Mendonça e Rowell (1994), em análise da dinâmica de frações orgânicas em solos sob cerrado e cultivados com soja. A maior predominância de ácido fúlvico nas áreas cultivadas traduz a tendência dos processos naturalmente espontâneos ocorrerem sempre na direção de maior estabilidade energética com o seu meio. Com vistas a isto, é muito provável que as moléculas de ácido húmico, em maior proporção na floresta, estejam sendo quebradas em frações mais reativas e de menor

tamanho nas áreas cultivadas. De acordo com Mendonça e Rowell (1994), a maior prevalência dos AF nos latossolos brasileiros se explica pela maior complexação dessas frações pelos óxidos de Fe e Al, o que resulta em maior preservação e proteção dessas moléculas ao ataque microbiano. A maior prevalência de ácidos fúlvicos nos solos ácidos pode resultar, a longo prazo, em perdas substanciais de MO via água percolada e em ambiente de solo menos favorável à atividade microbiana, com concomitante redução na fertilidade dos solos (Schnitzer, 1991)

As proporções de FF e AH obtidas via método oficial da SISH estiveram muito próximas daquelas determinadas no material húmico extraído com a resina Chelex, via CETAE, demonstrando o potencial desta técnica na determinação do peso molecular e das proporções de AH e AF em substâncias húmicas originárias de solos.

3.4 CONCLUSÕES

Os resultados alcançados nesse estudo demonstram o potencial da CETAE no fracionamento e na determinação de peso molecular e proporções de AF e AH em solos, sob diferentes sistemas de cultivo. O processo de eluição dos materiais húmicos em colunas de CETAE se caracterizou pela rapidez (10 a 20 min por amostra), pelo uso de pequena quantidade de SH e pela diminuição de etapas laboriosas nos processos de fracionamento e de determinação das proporções de AH e AF propostas pela SISH.

Os métodos de extração das SH influenciaram de forma marcante as proporções de AF:AH, com mais AH no material extraído com a resina Chelex e maiores proporções de AF no material extraído com o NaOH. O manejo e uso diferenciado dos solos não introduziram mudanças substanciais no PM e nas proporções de AF e AH, sendo notado, porém, maior preservação dos ácidos húmicos na área sob floresta e maiores teores de substâncias húmicas, em termos proporcionais ao C total, na área cultivada sem a correção da acidez do solo.

As substâncias húmicas analisadas são compostas majoritariamente por moléculas de pequeno tamanho, quimicamente mais ativas e com peso molecular estimado de aproximadamente 1375 daltons. Em menor proporção, encontram-se as frações de maior tamanho e com menor mobilidade no solo, os ácidos húmicos com peso molecular médio estimado de 31500 daltons.

3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CHIN, YU-PING; GSCHWEND, P.M. The abundance, distribution, and configuration of porewater organic colloids in recent sediments. **Geochemica et Cosmochemica Acta**, Kidlington, v.55, p.1309-1317. 1991.
- DEFELIPO, B.V.; RIBEIRO, A.C. **Análise química do solo**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1981. 17p. (Boletim de Extensão, 29).
- GERZABEK, M.H.; ULLAH, S.M. Humic substances in soils from Bangladesh, Namibia and Canada. **International Agrophysics**, Lublin, v.5, p.197-203. 1989.
- LIU, J.; HUE, N.V. Ameliorating subsoil acidity by surface application of calcium fulvates derived from common organic materials. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v.21, p.264-270, 1996.
- MARSCHNER, B.; WILCZYNSKI, A.W. The effect of liming on quantity, and chemical composition of soil organic matter in a pine forest in Berlin, Germany. **Plant and Soil**, The Hague, v.137, n.2, p.229-236, Nov. 1991.
- McBRIDE, M.B. **Environmental chemistry of soils**. New York: Oxford University Press, 1994. 406p.
- MELO, W.J.; MARQUES, M.O.; SANTIAGO, G.; CHELLI, R.A.; LEITE, S.A.S. Efeito de doses crescentes de lodo de esgoto sobre frações da matéria orgânica e CTC de um latossolo cultivado com cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 18, n.3, p.449-455, set./dez. 1994.
- MENDONÇA, E.S.; ROWELL, D.L. Dinâmica do alumínio e de diferentes frações orgânicas de um latossolo argiloso sob cerrado e soja. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.18, n.3, p.295-303, maio/ago. 1994.

- MEYER, V.R. 1993. **Practical High-Performance Liquid Chromatography**. West Sussex: John Wiley & Sons, 1993. 376p.
- MILES, C.J.; BREZONIK, P.L. High-performance size exclusion chromatography of aquatic humic substances. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v.259, p.499-503, 1983.
- MURPHY, E.M.; ZACHARA, J.M. The role of sorbed humic substances on the distribution of organic and inorganic contaminants in groundwater. **Geoderma**, Amsterdam, v.63, n.1-2, p.103-124, June 1995.
- SCHNITZER, M. Organic matter characterization. 2ed. In: PAGE, A.L. (ed.). **Methods of Soil Analysis**, Part 2. Chemical and microbiological properties. Madison, ASA/SSSA, 1982. p.581-593.
- SCHNITZER, M. Soil organic matter - The next 75 years. **Soil Science**, Baltimore, v.151, n.1, p.41-58, Jan. 1991.
- SHAW, P.J.; JONES, R.I.; HAAN, H. Separation of molecular size classes of aquatic humic substances using ultrafiltration and dialysis. **Environmental Technology**, Chiswick, v.15, p.765-774, 1994.
- SILVA, C.A. **Mineralização de nitrogênio e enxofre e caracterização de substâncias húmicas em solos brasileiros por ^{13}C -RMN e cromatografia por exclusão de tamanho**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 1997. 82p. (Tese - Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas).

CAPÍTULO IV

COMPOSIÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA EM LATOSSOLO CULTIVADO E SOB FLORESTA: USO DAS TÉCNICAS DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR E COMPOSIÇÃO ISOTÓPICA DE ^{13}C

RESUMO - Avaliou-se a composição da matéria orgânica em um Latossolo Vermelho-Escuro sob floresta e cultivado com citrus, em área corrigida ou não com calcário. Efetuou-se a extração das substâncias húmicas (SH) via uso de NaOH e resina Chelex, sendo os materiais húmicos caracterizados pelas técnicas de ^{13}C -ressonância magnética nuclear (^{13}C -RMN) no estado líquido e abundância natural de ^{13}C em materiais de solo e em frações texturais destes. Os procedimentos de extração das substâncias húmicas estudados não introduziram substanciais mudanças na composição da matéria orgânica (MO). Espectros de ^{13}C -RMN no estado líquido revelaram que a matéria orgânica nas áreas estudadas é composta por frações extensivamente decompostas, ricas em estruturas aromáticas e carboxílicas. O desmatamento e cultivo do LE1 com citrus resultou em aumento da aromaticidade da MO na área com calagem e, principalmente, na testemunha, à expensas do C ligado a radicais alifáticos. Estes efeitos foram notados em amostras de solo e em frações texturais, sendo mais evidentes nas frações intermediária e grossa. Os dados de composição isotópica de ^{13}C mostraram que as partículas texturais englobam frações orgânicas não homogêneas, sendo as de menor grau de decomposição associadas às frações texturais mais grosseiras. O consumo de HCl durante a análise titulométrica se mostrou afetado pelo método de extração das substâncias húmicas. A titulação do material húmico extraído com a resina Chelex revelou a presença de maiores

proporções de estruturas carboxílicas e fenólicas na área testemunha, com relação à área com calagem, o que de certa forma evidencia o estágio mais avançado de humificação da MO e a maior CTC observada nessa área. Este estudo demonstra o potencial em se utilizar experimentos a campo de longa duração no estudo da composição da matéria orgânica do solo via ^{13}C -RMN e composição isotópica de ^{13}C .

CHAPTER IV

ORGANIC MATTER COMPOSITION IN FORESTED AND CULTIVATED OXISOL: USE OF ^{13}C NMR AND ^{13}C ISOTOPE RATIOS

ABSTRACT - Soil organic matter composition as a consequence of cropping was investigated using a combination of natural ^{13}C abundance technique and Liquid-State ^{13}C NMR in a brazilian soil. One sample site was under native forest, and two others had been deforested and cultivated with citrus, with and without correction of soil acidity. Soil morphological and mineralogical characteristics in all three sampled sites were very similar. ^{13}C -NMR data showed only small structural differences between humic substances extracted with NaOH and Chelex resin. Solution ^{13}C NMR spectra revealed presence of extensively decomposed organic materials in whole soil and sizes separates of the oxisol studied. Continous cultivation of citrus resulted in an increase in aromaticity and decreased proportions of alkyl C on whole soil and particle size fraction material. In fact, the changes mentioned were more pronounced in the coarser fractions, being the physical fractionation essential to provide more detailed information on chemical structure of SOM. The isotope ^{13}C ratio showed that size separates from forest and cultivated soils comprise non-uniform organic matter fractions. Based on titration data, humic substances from control plot and extracted with Chelex resin had greater content of acidic functional groups than humic material from limed area. This could be one explanation for the higher CEC and humification degree of organic matter from the area cultivated without correction of soil acidity. This study demonstrates the potential of long-term field experiments for studying SOM quality by using the natural ^{13}C abundance and liquid ^{13}C NMR techniques.

4.1 INTRODUÇÃO

Elucidar a composição da matéria orgânica em diferentes agroecossistemas brasileiros constitui-se em etapa importante quando se busca avaliar o impacto de diferentes práticas de manejo nos reservatórios de nutrientes de plantas, na estrutura do solo, nos processos erosivos e na dinâmica do carbono em diferentes sistemas de cultivo.

Nos estudos voltados para esse fim, as frações mais acessadas têm sido as substâncias húmicas. Nos solos brasileiros com predomínio de argila de baixa atividade, as substâncias húmicas adquirem importância maior, na medida em que representam a principal matriz para desenvolvimento de cargas e se mostram diretamente envolvidas nos processos de agregação dos solos.

A análise espectroscópica de ácidos fúlvicos e húmicos em agroecossistemas temperados tem revelado que o cultivo contínuo dos solos resulta em aumento nas proporções de C-alifático, às expensas do C ligado a carboidratos (Preston, 1996; Capriel, Harter e Stephenson, 1992). Tais efeitos resultam da perda das frações orgânicas de maior labilidade e em uma maior preservação de moléculas quimicamente mais estáveis, o C-alifático (Preston, 1996). Nos agroecossistemas intensivamente explorados, onde predominam o preparo excessivo do solo e a remoção intensiva dos restos de culturas, as frações orgânicas podem se tornar altamente estabilizadas, com altas proporções de compostos aromáticos e carboxílicos (Preston, 1996; Olk et al., 1996).

Em sistemas agrícolas tropicais, um número reduzido de estudos utilizando RMN de ^{13}C tem demonstrado que a MOS é composta por materiais com elevado grau de humificação (Zech, Haumaier e Hempfling, 1990; Olk et al., 1996), sendo os principais efeitos do cultivo nesses ambientes relacionados a um aumento da aromaticidade das frações orgânicas e uma diminuição do C-alifático (Zech, Haumaier e Hempfling, 1990; Nascimento, Almendros e Fernandes, 1992; Zech, Guggenberger e Thomas, 1996).

No que diz respeito às áreas cultivadas amostradas, o principal enfoque dessa investigação se relaciona ao efeito da calagem na composição da MO. A aplicação de calcário se mostra essencial para a obtenção de produções sustentáveis. Para maioria das culturas, o aumento de pH do solo resulta em produções mais elevadas e em maiores quantidades de C armazenado nos solos, principalmente se há a permanência de resíduos vegetais nas áreas de plantio. Contudo, o aumento de pH e de disponibilidade de nutrientes nos solos calcariados podem resultar em maiores teores de carbono mineralizado (Silva, Vale e Guilherme, 1994) e mudança na composição da MO (Kreutzer, 1995).

Levando-se em consideração que os diferentes grupos funcionais de carbono ligados à argila, ao silte e à areia diferem em estrutura química e em biodisponibilidade (Bonde, Christensen e Cerri, 1992; Baldock et al., 1992), procedeu-se nesse estudo a avaliação da composição da SH em partículas texturais do latossolo estudado. Avaliou-se também a composição isotópica de ^{13}C em amostras de solo das áreas Fr, Cal e Test.

A abundância natural de ^{13}C da MOS assemelha-se àquela da vegetação que lhe deu origem, sendo os maiores teores de ^{13}C observados para plantas C_4 (delta ^{13}C variando de $-19,0$ a $-9,0$ ‰), com valor de maior frequência igual a -12 ‰, e os menores, para as plantas C_3 (delta ^{13}C variando de $-40,0$ a $-13,0$ ‰, com valor de maior frequência igual a $-27,0$ ‰) (Smith e Epstein, 1971). Um outro fato importante é o de que a transformação dos resíduos de plantas em MOS é acompanhada por um pequeno enriquecimento de ^{13}C nas frações orgânicas dos solos, em função do uso preferencial de ^{12}C pelos organismos decompositores e da preservação de compostos mais ricos em ^{13}C durante a decomposição da MO (Balesdent, Wagner e Mariotti, 1988; Ågren, Bosatta e Balesdent, 1996). Dessa forma, a avaliação da composição isotópica de ^{13}C em amostras de solo se constitui em ferramenta útil no sentido de monitorar o efeito de diferentes práticas de manejo sobre o grau de decomposição da MOS.

O presente estudo teve como objetivo a caracterização de SH de um latossolo, e de suas frações texturais, sob floresta e cultivado, sob efeito ou não da calagem, via titulação dos materiais húmicos e uso das técnicas de ^{13}C -RMN e da Abundância Natural de ^{13}C .

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

Solo

Utilizou-se neste estudo um Latossolo Vermelho-Escuro sob floresta (Fr) e sob efeito (Calc), ou não (Test) da calagem, para fins de extração das substâncias húmicas (fração fúlvica e ácido húmico). O histórico detalhado das áreas amostradas é descrito por Silva (1997), cap. II. A caracterização química e a textura das áreas estudadas são apresentadas na tabela 4.1. A composição das substâncias húmicas foi também avaliada nas frações texturais do LE1, nas áreas Fr, Calc e Test. As frações fina, intermediária e grossa foram obtidas via dispersão física dos solos com ultra-som (Silva, 1997, Cap. II).

Espectroscopia de RMN de ^{13}C das substâncias húmicas

As substâncias húmicas foram extraídas com NaOH e resina Chelex. A metodologia de extração é aquela descrita por Silva (1997), Cap.III, à exceção do processo de diálise do material húmico, que foi efetuado durante 24 horas, via uso de membrana de diálise com peso molecular de exclusão de 2000 daltons. Após a etapa de liofilização, os materiais húmicos foram armazenados em dessecador, até que fossem usados no experimento de RMN.

A fim de proceder-se as análises de RMN, 400 mg de substâncias húmicas liofilizadas, oriundas do solo LE1 e das frações texturais destes, foram dissolvidas em 4 mL de NaOD 0,1 M, agitadas 24 horas e centrifugadas a 9,000 rpm, a fim de remover-se frações insolúveis. Ao término dessas etapas, a solução com as SH foi transferida para tubos de RMN de 10 mm de diâmetro e analisada em espectrômetro Varian VXR 500 (125,7 MHz), com o uso de um pulso de 45° , um tempo de aquisição de 0,1 s e um pulso de espera de 1.8 s. Ao término dessas análises, foram obtidos os espectros de ^{13}C -RMN no estado líquido, os quais foram processados usando-se uma linha de abertura de 40 Hz. Os espectros foram divididos em quatro regiões, de acordo com os diferentes tipos de carbono, como se segue: 0-45 ppm (C ligado a grupos do

tipo alkyl); 45-110 ppm (C ligado a carboidratos); 110-160 ppm (C aromático) e 160-200 ppm (C ligado a grupos carboxílicos).

Titulação dos grupos funcionais de carbono

Procedeu-se também a caracterização da MO via titulação das SH dialisadas (PME=500), extraídas com NaOH e resina Chelex e originárias da floresta e das parcelas Calc e Test, seguindo-se metodologia proposta por Dai et al. (1996). Basicamente, 50 mg de SH liofilizadas foram dissolvidas em 50 mL de água destilada e deionizada. 45 mL dessa solução foram misturados com 5 mL de KCl 0.1 M, com o fim de atingir-se força iônica constante de 0,01. Inicialmente, o pH das amostras analisadas foi elevado a valores próximos de 11, com o uso de KOH 0,05 M. A titulação foi realizada em titulador automático TR 156, marca Schott Geräte, via acidificação monitorada das soluções de material húmico com solução titrasol de HCl (0,0101-0,0099 N). O eletrodo do peagâmetro foi calibrado com soluções tampões de pH 10,0, 7,0 e 4,0, a 25 °C. No decorrer da titulação, procedeu-se a injeção de N₂ no interior dos erlenmeyers contendo as soluções de SH, com o propósito de obter-se uma atmosfera livre de CO₂. No preparo das soluções contendo as substâncias húmicas, utilizou-se água deionizada e desgazeificada ('Milli Q water').

Composição isotópica de ¹³C

A composição isotópica de ¹³C da MO foi determinada em espectrômetro de massa de fluxo contínuo acoplado a um analisador automatizado de ¹⁵N-¹³C (Europa Scientific Ltd., Crewe, England). A relação isotópica de cada amostra (solo, argila, silte e areia - peneira 102 mesh) foi determinada em triplicata e expressa em valores de delta (δ) ¹³C, parâmetro calculado de acordo com Wander et al. (1996). Utilizou-se a molécula de sacarose como referência, que foi calibrada em relação ao Pee Dee Belemnite (PDB). Os materiais de solo provenientes da área com calagem foram tratados com HCl 0,01 M, visando-se a remoção de carbonatos residuais.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Espectroscopia de ^{13}C -RMN das substâncias húmicas

A análise de ^{13}C -RMN no estado líquido foi realizada em amostras de SH do Latossolo Vermelho-Escuro e de suas frações texturais, nas áreas Fr, Calc. e Test. Os espectros obtidos (Figura 4.1) foram divididos em quatro regiões principais de grupos funcionais, cujas intensidades relativas são apresentadas na figura 4.2. Os picos observados englobam C-alifático (22, 31 e 38 ppm), C ligado a carboidratos (56, 61, 73 e 102 ppm), C-aromático (129 e 136 ppm) e C ligado a grupamento carboxílicos, amidas e ésteres (175 ppm) (Preston, Newman e Rother, 1994).

TABELA 4.1. Textura e principais propriedades químicas dos materiais de solo coletados na floresta e nas parcelas cultivadas Calc e Test.

Área	C total	pH H ₂ O	P ¹	CTC	m	Areia ²	Silte	argila
	g kg ⁻¹		mg kg ⁻¹	cmol _c kg ⁻¹	%	————	g/kg	————
Fr	42.4	3.9	2	22.7	72	180	140	680 [‡]
Calc	24.7	6.6	43	10.8	1	200	120	680 [‡]
Test	22.1	4.2	21	16.6	58	200	110	690 [‡]

¹ P disponível extraído com HCl 0,05 N e H₂SO₄ 0,025 N.

² Análise textural determinada pelo método da pipeta, como o uso de NaOH 0,1 M como dispersante (Gee and Bauder, 1986).

As análises de ^{13}C -RMN associadas às substâncias húmicas extraídas com NaOH e resina Chelex mostraram que os dois métodos de extração introduziram pequenas mudanças na composição da matéria orgânica. Estas mudanças estiveram confinadas à área com calagem, cuja substâncias húmicas extraídas com a resina apresentaram maiores proporções de C-aromático e menores proporções de C ligado a carboidratos, em comparação às SH extraídas com NaOH. Desse modo, a discussão dos dados de ^{13}C -RMN se restringirá à composição da substâncias húmicas extraídas com NaOH.

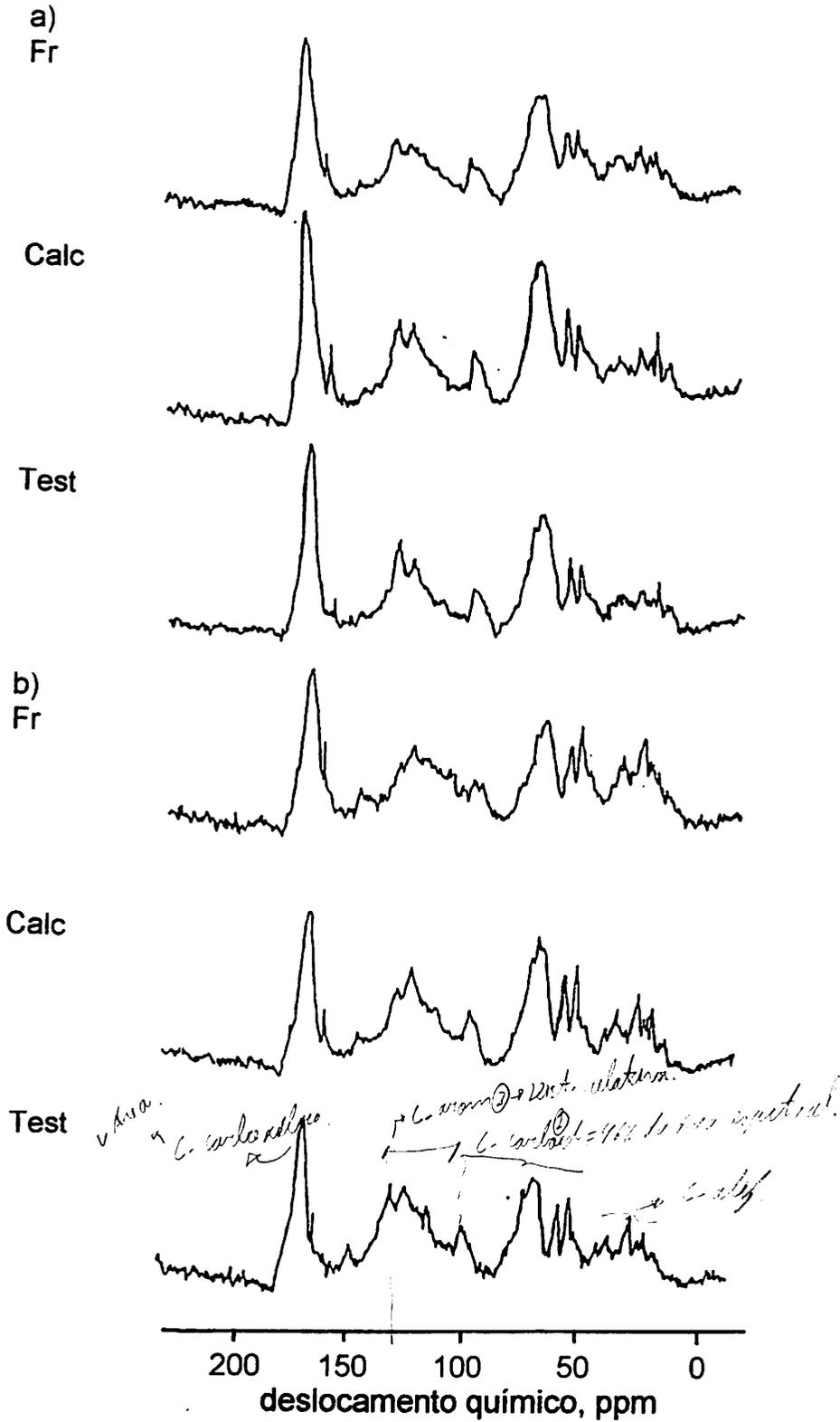


FIGURA 4.1. Espectros de ^{13}C RMN no estado líquido de substâncias húmicas originárias da floresta e das áreas sob cultivo Calc e Test a) Fração fina e b) Fração intermediária.

Os dados de ^{13}C -RMN relativos às SH extraídas dos solos evidenciaram que 46% da área espectral foi dominada pelo C ligado a carboidratos, independentemente do uso e manejo dos solos (Figura 4.2). A maior prevalência de carboidratos sobre outros grupos funcionais de carbono tem sido relatada para os solos tropicais (Baldock et al., 1992; Golchin et al., 1995 e Zech, Guggenberger e Thomas, 1996). O C-aromático foi o segundo pico mais importante em termos de distribuição relativa. As proporções de C ligado a grupos carboxílicos se mostraram intermediárias, com valores, em alguns espectros, superiores àqueles registrados para o C-alifático. Desse modo, para a maioria dos materiais húmicos analisados, as menores proporções de área estiveram associadas aos picos registrados no deslocamento químico de 0-45 ppm, ocupando o C-alifático de 6 a 12% da área total dos espectros de ^{13}C -RMN. O C-carboxílico normalmente contribui para as menores áreas nos espectros de RMN, com valores menores do aqueles registrados para os picos de C-alifático (Randall et al., 1995; Baldock et al., 1992; Preston, Newman e Rother, 1994).

A distribuição de carbono nas quatro regiões espectrais apresentadas na Figura 4.2 é muito similar àquela mostrada para solos das regiões tropicais. Nesses ambientes, a MO é caracterizada pelas elevadas proporções de estruturas aromáticas e carboxílicas (Zech, Haumaier, Hempfling, 1990; Nascimento, Almendros e Fernandes, 1992). Os espectros de ^{13}C -RMN mostraram também que as proporções de C-aromático e carboxílico são maiores do aquelas normalmente observadas para solos cultivados e sob vegetação natural localizados em regiões temperadas (Preston, Newman e Rother, 1994), muito embora a área dos picos de C-alifático sejam inferiores. De fato, os resultados aqui mostrados demonstram que as frações orgânicas dos materiais de solo estudados possuem maior grau de decomposição do aquelas oriundas de solos de áreas temperadas.

As proporções de C-aromático no solo aumentaram na seguinte ordem: floresta < Calc < Test. Em contraste, o C-alifático foi maior na floresta e menor na parcela testemunha. Em termos comparativos, o C-alifático é menos biodisponível do que o C ligado a carboidratos, ou o C-carboxílico, com o cultivo freqüentemente causando um

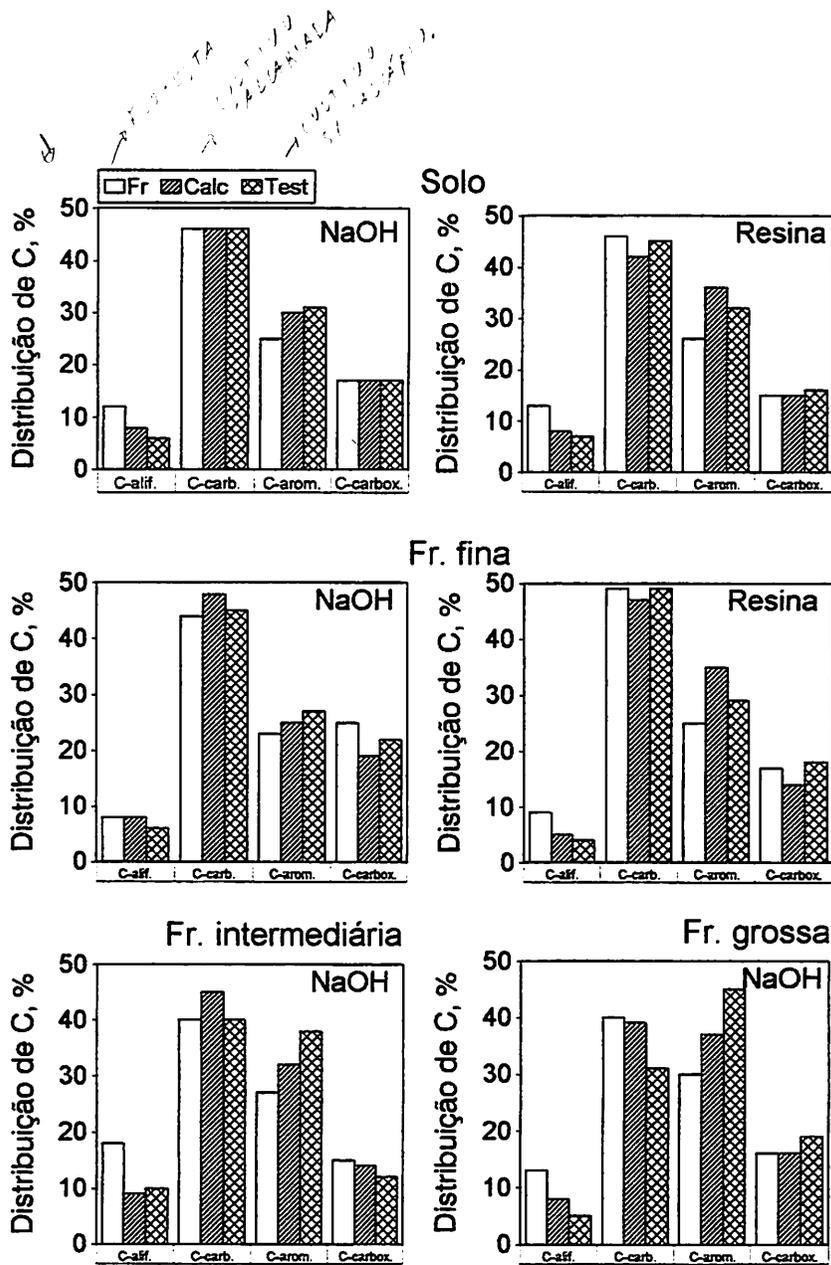


FIGURA 4.2. Distribuição de grupos funcionais de carbono em substâncias húmicas de solo e Fr. fina, extraídas com NaOH e resina Chelex, e frações intermediária e grossa, extraídas com NaOH e originárias da floresta (Fr), da área calcariada (Calc) e da testemunha (Test). C-alif.:C-alifático; C-carb.:C-carboidrato; C-arom.:C-aromático; C-carbox.:C-carboxílico.

decréscimo na relação C-carboidrato:C-alifático (Golchin et al., 1995; Preston, 1996). A relação C-aromático:C-alifático é alta em todas as três áreas estudadas, sendo mais elevada na área cultivada sem a correção da acidez do solo, e menor na floresta. Altas relações C-aromático:C-alifático tem sido relatadas para solos tropicais (Zech,

Haumaier e Hempfling, 1990; Zech, Guggenberger e Thomas, 1996), onde as altas pluviosidades e taxas de lixiviação resultam em maior remoção de fragmentos de lignina, o que promove a maior humificação da matéria orgânica (Preston, 1996). Dentro desse contexto, Baldock et al. (1992) observaram que a matéria orgânica originária de solos da ordem Oxisol foi a que apresentou a mais alta proporção de frações orgânicas com avançado estágio de decomposição, dentre aquelas isoladas de outras ordens de solos. A constatação de maiores relações C-aromático:C-alifático em áreas sob cultivo, do que em solos sob floresta, pode ser uma consequência de mais elevadas taxas de decomposição e humificação da MO nos solos cultivados, com concomitante aumento na aromaticidade da matéria orgânica, conforme relatos de Preston (1996), Schulten, Monreal e Schnitzer (1995) e Zech, Haumaier e Hempfling (1990). Por outro lado, estes maiores valores de relação C-aromático:C-alifático podem ser causados também pela presença frações orgânicas carbonizadas, as quais são relativamente ricas em C-aromático refratário e empobrecidas em C-alifático (Zech, Guggenberger e Thomas, 1996; Nascimento, Almendros e Fernandes, 1993 e Almendros et al., 1992) e em C ligado a carboidratos e grupamentos carboxílicos (Almendros et al., 1992). Embora o histórico de manejo das áreas estudadas não seja conhecido em profundidade, a prática de queimada é bastante rotineira no Brasil, principalmente nas áreas onde há retirada da floresta e cultivo dos locais desmatados, sendo, desse modo, muito provável a maior presença de estruturas orgânicas carbonizadas nas áreas sob cultivo, do que na área sob vegetação natural.

⊗ As áreas dos picos de ^{13}C -RMN da matéria orgânica isolada da argila, silte e areia oriundas da floresta, testemunha e do solo calcariado revelaram que as abundâncias relativas do C aromático e carboxílico elevaram-se com o aumento do tamanho da partícula textural, sendo notado também uma diminuição nas proporções de C ligado a carboidratos nas frações mais grosseiras. A causa exata dessa tendência é desconhecida, contudo ela pode estar relacionada a uma maior proteção física e química dos carboidratos e do C carboxílico na argila, como será discutido no próximo parágrafo. Por outro lado, as frações mais grosseiras podem encompassar materiais orgânicos carbonizados, ricos em estruturas aromáticas de elevada recalcitrância

(Skjemstad et al., 1996), as quais não foram separadas dos grãos de areia durante o fracionamento físico dos materiais de solo.

Na matéria orgânica isolada das frações finas foi observado a seguinte tendência: C-carboidratos>C-aromático>C-carboxílico>C-alifático, muito próxima àquela descrita para os solos. Esta similaridade entre a matéria orgânica originária da fração fina e aquela oriunda do solo já era esperada, na medida em que o teor de argila nas três áreas estudadas se situou próximo de 70% e que em torno de 70% do carbono presente nos materiais de solo se mostrou associado à fração fina (Silva, 1997, Cap. II). Em termos das proporções de grupos funcionais de C, foi notado um enriquecimento de C-carboxílico e um empobrecimento de C-aromático na fração fina. Este enriquecimento pode indicar que o C-carboxílico é fortemente ligado pelos minerais presentes na fração fina, ou que o C-carboxílico é fisicamente protegido dentro de agregados que englobam as partículas finas. Uma outra diferença evidente entre a MO da fração fina e aquela do solo, relaciona-se ao fato de que as proporções de C-carboxílico e de C ligado a carboidratos na fração fina depende do uso e manejo dos solos. Especificamente, a MO isolada da área calcariada se mostrou enriquecida em C-ligado a carboidratos e empobrecida em C-carboxílico, quando comparada com a MO originária da floresta e da parcela testemunha. A presença de maiores proporções de C ligado a carboidratos no solo corrigido (Calc), do que na floresta e na test., foi também observada na fração intermediária, mas não na fração grossa. A maior presença de C ligado a carboidratos na parcela Calc pode refletir as produções mais elevadas de biomassa no solo corrigido e, conseqüentemente, a maior incorporação de matéria orgânica prontamente disponível. Um aumento na proporção de carboidratos em solos calcariados foi também notado por Kreuzer (1995).

Os altos teores de C ligado a carboidratos na fração fina aparentemente não são causados pela presença de matéria orgânica fresca e não decomposta. As relações C:N das frações orgânicas ligadas à fração fina apresentaram valores (11 a 12) muito próximos àqueles do solo, valores esses característicos de biomassa microbiana, não de matéria orgânica prontamente disponível, a qual apresenta valores mais altos de relação C:N. Em geral, as relações C:N diminuíram com o decréscimo no tamanho das frações texturais, indicando que os materiais orgânicos ligados às frações

mais finas apresentam estágio mais avançado de decomposição do que aqueles associados às frações mais grosseiras (Baldock et al., 1992). Dessa maneira, os carboidratos ligados à fração fina provavelmente se associam mais intensivamente a compostos de origem microbiana. Nesse sentido, Guggenberger et al. (1994) relataram que, entre as frações orgânicas associadas à argila, há uma predominância de carboidratos de origem microbiana, sendo essa persistência relacionada à uma ligação forte desses compostos com minerais da argila.

A matéria orgânica oriunda da fração grossa diferiu daquela isolada do solo e de outras frações texturais, na medida em que as proporções relativas de C aromático nos solos cultivados foi igual, ou superior àquelas de C ligado a carboidratos. Desse modo, a fração grossa do solos cultivados se mostrou relativamente enriquecida em estruturas aromáticas de baixa biodisponibilidade, reflexo da associação à essa fração textural de matéria orgânica extensivamente humificada.

As drásticas perdas de carbono e nitrogênio (Silva, 1997) e o aumento da aromaticidade nas áreas cultivadas do LE1 evidenciam a importância de se adotar práticas de manejo sustentáveis no sentido de evitar o declínio rápido da matéria orgânica. Tais práticas incluem: rotação de culturas, plantio de pastagens melhoradas, uso de adubos verdes, adoção de plantio direto e cultivo mínimo, adição de adubos orgânicos, e o adequado manejo dos restos culturais.

Composição isotópica de ^{13}C das substâncias húmicas

Os valores de delta ^{13}C do solo sob floresta variaram de -26,9 a -24,9 ‰ (Tabela 4.2), sendo característicos de vegetação do tipo C_3 , plantas dominantes nas matas naturais (Smith e Epstein, 1971; Bonde, Christensen e Cerri, 1992). O valor de delta ^{13}C para a área calcariada foi de -20,5 ‰ e de -18,5 ‰ para a área testemunha. Usando -27,0 ‰ como um valor típico para plantas C_3 e -12,0 ‰ para plantas C_4 , os valores de delta ^{13}C na área com calagem permitem a inferência de que 55% e 45% do carbono foi derivado de plantas C_3 e C_4 , respectivamente. Na área testemunha, ocorreu o oposto, ou seja, 55% do carbono derivou de plantas C_4 e 45%, de C_3 .

Devido ao histórico complexo (Substituição da floresta com plantas C_3 por pastagens de gramíneas C_4 e, a seguir, o cultivo de citrus C_3 e a presença de ervas daninhas do tipo C_4) da área experimental investigada, os dados de composição isotópica de ^{13}C não podem ser usados no cálculo do tempo médio de residência, ou da taxa de decomposição da MO, nem no sentido de averiguar os efeitos do desmatamento e cultivo. Contudo, eles fornecem informações a respeito das proporções de resíduos de plantas C_3 e C_4 em cada área. Nesse sentido, a maior contribuição de carbono por plantas C_3 na área com calagem provavelmente se relaciona às maiores produções de frutos e de raízes com a correção da acidez do solo e, presumivelmente, maiores adições de resíduos de plantas do tipo C_3 no solo corrigido. Desse modo, os valores de delta ^{13}C evidenciam que, apesar dos teores de carbono serem similares na área com calagem e na testemunha, a matéria orgânica na área calacariada é mais nova, ou menos decomposta. De certo modo, os dados de ^{13}C -RMN suportam também esta inferência.

A retirada da floresta e o cultivo do LE1 com pastagem por vinte anos e depois com citrus, por mais treze anos, resultou em aumentos nos valores de delta ^{13}C , independentemente da área analisada, ou da fração textural avaliada. Analisando os valores de delta ^{13}C na floresta e nas áreas cultivadas, percebe-se que o cultivo acarretou acréscimos de até 9,7 ‰. Acréscimos dessa magnitude não poderiam ser atribuídos exclusivamente à maior intensidade nos processos de mineralização e humificação da MO nas áreas cultivadas (Vitorello et al., 1989). É muito provável que estes estejam diretamente relacionados à uma maior contribuição de plantas mais ricas em ^{13}C , muito provavelmente gramíneas C_4 cultivadas anteriormente à implantação dos pomares de citrus, ou mesmo ervas daninhas do tipo C_4 presentes nas entrelinhas das laranjeiras.

As áreas cultivadas e sob floresta apresentaram valores decrescentes de delta ^{13}C no sentido das partículas mais finas para as mais grosseiras. Os dados obtidos sugerem haver uma preservação seletiva das frações orgânicas nas partículas texturais, com deposição dos compostos mais envelhecidos e com maior delta ^{13}C na Fr. fina. Por outro lado, à fração grossa parece se ligar os compostos menos decompostos, face aos mais altos valores de delta ^{13}C observados nessa fração. De

modo geral, os valores de delta ^{13}C foram de 2 a 3,3 ‰ menos negativo (mais enriquecido em ^{13}C) na fração fina do que na fração grossa. Outros estudos têm reportado que os materiais orgânicos ligados à argila e à areia diferem de 1 a 2% em termos de valores de delta ^{13}C (Balesdent, Wagner e Mariotti, 1988; Bonde, Christensen e Cerr, 1992), valores comparáveis, portanto, à diferença observada no solo sob floresta, mas um pouco menores do que a diferença verificada nas frações texturais da testemunha. É muito provável que esse enriquecimento de ^{13}C na fração fina esteja relacionado à maior deposição de resíduos de plantas C_4 (mais ricos em ^{13}C) nessa fração. Os menores valores de delta ^{13}C na fração fina poderiam ser explicados também pela ligação preferencial à essa fração de compostos mais processados, pobres em ^{13}C e resultantes do metabolismo de microrganismos (Ahmed e Oades, 1984).

TABELA 4.2. Valores de $\delta^{13}\text{C}$ do solo e de partículas texturais originárias da floresta e das áreas cultivadas do LE1.

Área	$\delta^{13}\text{C}$			
	Solo	Fr. fina	Fr. interm.	Fr. grossa
	‰			
Fr	-25,9±0,1	-24,9±0,1	-26,5±0,1	-26,9±0,1
Calc	-20,3±0,1	-19,2±0,1	-20,5±0,1	-22,5±0,1
Test	-18,5±0,1	-17,8±0,1	-19,5±0,1	-20,8±0,1

De modo geral, os valores de delta ^{13}C do solo estiveram muito próximos daquele observado para a fração fina, muito em função da presença maciça das frações orgânicas nesta partícula textural. Em termos de composição isotópica de ^{13}C , independentemente da fração textural analisada e mesmo considerando-se uma maior contribuição de plantas C_4 nas áreas cultivadas, a área sob floresta engloba frações orgânicas de menor grau de decomposição do que aquelas presentes na área calcariada e na parcela testemunha.

Titulometria das substâncias húmicas

As curvas de titulação das SH extraídas com NaOH e resina Chelex e originárias da área sob floresta e das parcelas Calc e Test são apresentadas na Figura 4.3. Procedeu-se a titulação dos materiais húmicos numa ampla faixa de pH (3,0 - 10,9). Apesar dessa faixa de pH não ter muita significância em termos de manejo, do ponto de vista químico ela possibilita a obtenção de informações importantes no que se refere ao cálculo da CTC potencial das SH em valores extremos de pH (Schnitzer e Gupta, 1965).

A titulação do material húmico extraído com NaOH mostrou que o cultivo, mais notadamente a aplicação de calcário, não introduziu grandes mudanças na acidez total (COOH, mais grupos fenólicos) das SH, principalmente se se considerar a faixa de pH em que os solos são normalmente cultivados. Contrariamente, a análise das SH extraídas com resina Chelex evidenciou que os materiais húmicos oriundos da floresta e da área Test claramente englobam frações orgânicas com maior potencial de gerar cargas, do que aqueles originários da parcela com calagem. Uma possível explicação para esse comportamento diferenciado das substâncias húmicas extraídas com NaOH e resina Chelex poderia estar relacionada à pureza dos dois materiais húmicos. Nesse sentido, a maior presença de argila nas substâncias húmicas extraídas com NaOH poderia agir no sentido de bloquear cargas nos grupamentos carboxílicos e fenólicos, o que induziria a erros na análise potenciométrica desses materiais húmicos.

Analisando as curvas potenciométricas obtidas com a titulação das SH extraídas com a resina Chelex, foi verificado, com o cultivo, uma alteração drástica na acidez total dos materiais húmicos. Em termos da presença de grupamentos fenólicos ($pK_a > 8$), as SH oriundas da floresta e da área com calagem foram as que englobaram as frações orgânicas mais e menos reativas, respectivamente. O consumo de HCl na faixa de pH de 4 a 8, evidenciou comportamento semelhante em termos de presença de grupamentos carboxílicos nos materiais oriundos da floresta e das parcelas Test e Calc. As diferenças notadas em termos de ionização das SH na faixa de pH entre 4 e 8 tem consequências importantes para o manejo das áreas estudadas, dado ser esta a faixa de pH em que normalmente se cultiva os solos e ser os grupamentos carboxílicos as principais fontes de cargas negativas nos solos brasileiros.

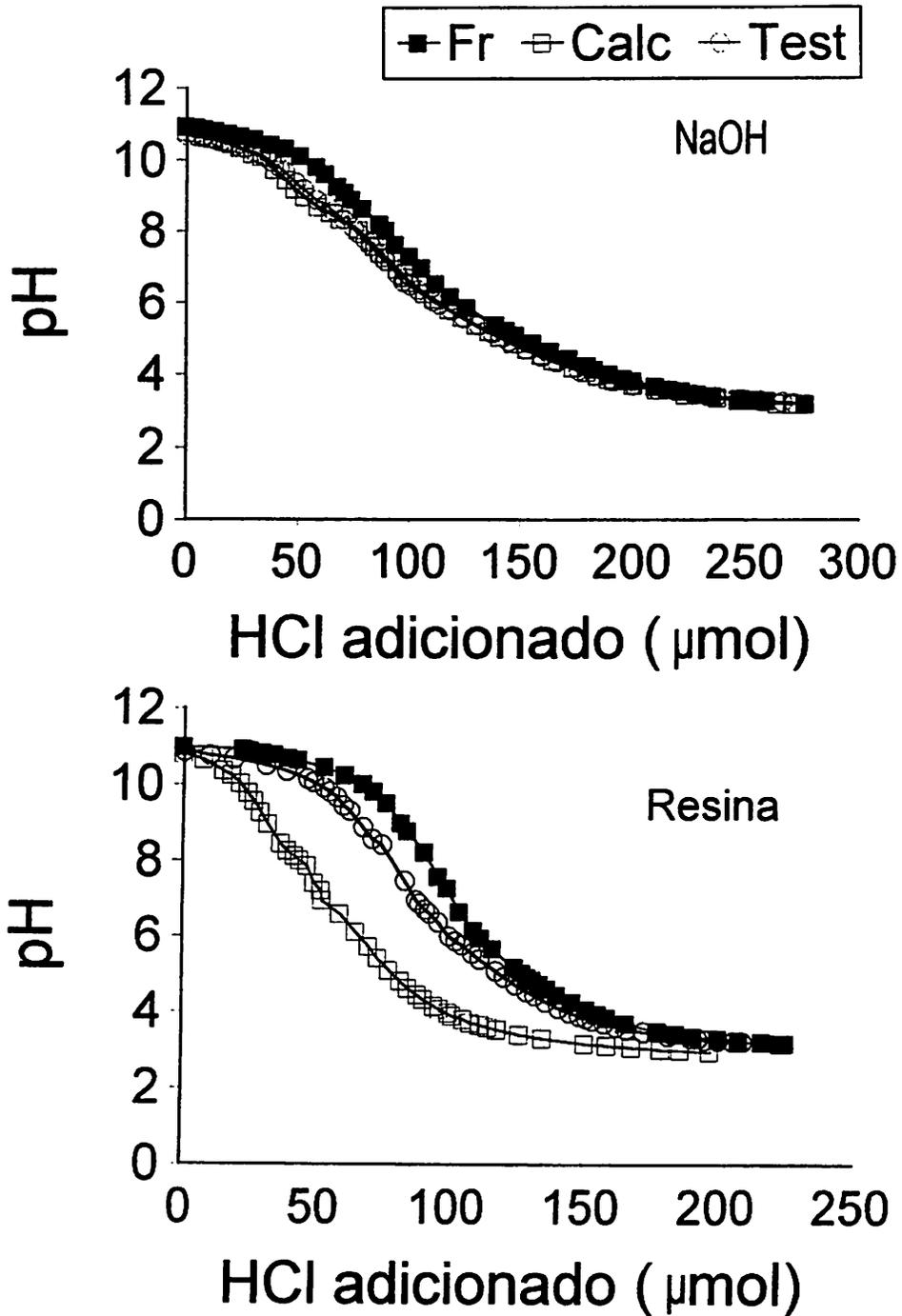


FIGURA 4.3. Curvas de titulação potenciométrica de substâncias húmicas originárias da floresta e das áreas Calc e Test e extraídas com NaOH 0,1 M e resina Chelex.

A titulação das SH extraídas com resina Chelex explicam em parte a menor CTC na área Calc (Silva, 1997, Cap. II), em relação à Test, mesmo apresentando as duas áreas teores similares de carbono. Desse modo, uma possível explicação para esses resultados poderia estar relacionada a um fluxo maior das moléculas com alta densidade de cargas para as camadas mais profundas do solo calcariado, via movimentação de fulvato de cálcio. Os maiores teores de carbono nas formas de ácidos fúlvico e húmico na área testemunha (Silva, 1997, Cap. III), em relação à parcela Calc, explicam também a maior presença de grupamentos carboxílicos e fenólicos na área cultivada sem correção da acidez do solo. É necessário, porém, mais estudos no sentido de verificar se uma maior presença de carbono na forma de humina na área com calagem contribuiria no sentido de diminuir a CTC, tendo em vista que essa fração engloba moléculas de menor reatividade do que aquelas componentes dos AF e AH.

4.4 CONCLUSÕES

Os dados de ^{13}C -RMN revelaram que a matéria orgânica na floresta e nas áreas cultivadas é composta por elevadas proporções de frações ricas em estruturas aromáticas e carboxílicas.

O cultivo do LE1 resultou em aumento da aromaticidade da matéria orgânica na área com calagem e, principalmente, na testemunha, a expensas do C ligado a radicais alifáticos.

Os dados de composição isotópica de ^{13}C revelaram que as frações texturais englobam materiais orgânicos não homogêneos, sendo os compostos menos decompostos associados às partículas mais grosseiras.

A análise titulométrica dos materiais húmicos extraídos com a resina Chelex revelou a maior presença de estruturas carboxílicas e fenólicas na testemunha, o que refletiu em maior CTC a pH 7,0 nessa área.

Com vistas a uma maior preservação da qualidade da matéria orgânica nas áreas estudadas, dever-se-ia priorizar, quando da adoção de práticas de manejo, a maior adição e permanência de resíduos vegetais nas áreas de plantio, visando um aumento na biodisponibilidade das frações orgânicas.

4.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ÅGREN, G.I.; BOSATTA, E.; BALESDENT, J. Isotope discrimination during decomposition of organic matter: A theoretical analysis. **Soil Science Society of American Journal**, Madison, v.60, n.4, p.1121-1126, July/Aug. 1996.
- AHMED, M.; OADES, J.M. Distribution of organic matter and adenosine triphosphate after fractionation of soils by physical procedures. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.16, n.5, p.465-470, May 1984.
- ALMENDROS, G.; GONZÁLEZ-VILA, F.J.; MARTÍN, F.; FRÜND, R.; LÜDEMANN, H.D. Solid state NMR studies of fire-induced changes in the structure of humic substances. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v.117/118, p.63-74, 1992.
- BALDOCK, J.A.; OADES, J.M.; WATERS, A.G.; PENG, X.; VASSALLO, A.M.; WILSON, M.A. Aspects of the structure of soil organic materials as revealed by solid-state ^{13}C NMR spectroscopy. **Biogeochemistry**, Dordrecht, v.116, p.1-42, 1992.
- BALESDENT, J.; WAGNER, G.H.; MARIOTTI, A. Soil organic matter turnover in long-term field experiments as revealed by carbon-13 natural abundance. **Soil Science Society of American Journal**, Madison, v.52, n.1, p.118-124, Jan./Feb. 1988.
- BONDE, T.A.; CHRISTENSEN, B.T.; CERRI, C.C. Dynamic of soil organic matter as reflected by natural ^{13}C abundance in particle size fractions of forested and cultivated oxisols. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.24, n.3, p.275-277, Mar. 1992.
- CAPRIEL, P.; HARTE, P.; STEPHENSON, D. Influence of management on the organic matter of a mineral soil. **Soil Science**, Baltimore, v.153, n.3, p.122-128, Feb. 1992.

- DAI, K.H.; DAVID, M.B.; VANCE, G.F.; McLAUGHLIN, J.M.; FERNANDEZ, I.J. Acidity characteristics of soluble organic substances in spruce-forest floor leachates. **Soil Science**, Baltimore, v.161, n.10, p.694-704, Oct. 1996.
- GEE, G.W.; BAUDER, J.W. Particle-size analysis. In: KLUTE, A. **Methods of soil analysis**. Madison, American Society of Agronomy, 1986. p.383-411.
- GOLCHIN, A.; OADES, J.M.; SKJEMSTAD, J.O.; CLARKE, P. Structural and dynamic properties of soil organic matter as reflected by ^{13}C natural abundance, pyrolysis mass spectrometry and solid-state ^{13}C NMR spectroscopy in density fractions of an oxisol under forest and pasture. **Australian Journal of Soil Research**, Melbourne, v.33, p.59-76, 1995.
- GUGGENBERGER, G.; CHRISTENSEN, B.T.; ZECH, W. Land-use effects on the composition of organic matter in particle-size separates of soil: I. Lignin and carbohydrate signature. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v.45, p.449-458, 1994.
- KREUTZER, K. Effects of forest liming on soil process. **Plant and Soil**, The Hague, v.168-169, p.447-470, 1995.
- NASCIMENTO, V.M.; ALMENDROS, G.; FERNANDES, F.M. Evolution patterns of the soil organic matter in some agricultural systems in the Brazilian "Cerrado" region. **European Journal of Soil Biology**, Cedex, v.29, p.177-182, 1993.
- NASCIMENTO, V.M.; ALMENDROS, G.; FERNANDES, F.M. Soil humus characteristics in virgin and cleared areas of the Paraná river basin in Brazil. **Geoderma**, Amsterdam, v.54, p.137-150, 1992.
- OLK, D.C.; CASSMAN, K.G.; RANDALL, E.W.; KINCESH, P.; SANGER, L.J.; ANDERSON, J.M. Changes in chemical properties of organic matter with intensified rice cropping in tropical lowland soil. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v.47, n.3, p.293-303, Sept. 1996.
- PRESTON, C. M. Applications of NMR to Soil Organic Matter Analysis: History and Prospects. **Soil Science**, Baltimore, v.161, n.3, p.144-166, Mar. 1996.
- PRESTON, C.M.; NEWMAN, R.H.; ROTHER, P. Using ^{13}C CPMAS NMR to assess effects of cultivation on the organic matter of particle size fractions in a grassland soil. **Soil Science**, Baltimore, v.157, n.1, p.26-35, Jan. 1994.
- RANDAL, E.W.; MAHIEU, N.; POWLSON, D.S.; CHRISTENSEN, B.T. Fertilization effects on organic matter in physically fractionated soils as studied by ^{13}C NMR: results from two long-term field experiments. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v.46, n.4, p.557-565, Dec. 1995.

- SCHNITZER, M.; GUPTA, U.C. Determination of acidity in soil organic matter. **Soil Science Society of America Proceedings**, Madison, v.29, p.274-277, 1965.
- SCHULTEN, H.R.; MONREAL, C.M.; SCHINTZER, M. Effect of Long-Term cultivation on the chemical structure of soil organic matter. **Naturwissenschaften**, Berlin, v.82, p.42-44, 1995.
- SILVA, C.A. **Mineralização de nitrogênio e enxofre e caracterização de substâncias húmicas em solos brasileiros por ^{13}C -RMN e cromatografia por exclusão de tamanho**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 1997. 82p. (Tese - Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas).
- SILVA, C.A.; VALE, F.R.; GUILHERME, L.R.G. Efeito da calagem na mineralização do nitrogênio em solos de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.18, n.3, p.471-476, set./dez., 1994.
- SKJEMSTAD, J.O.; CLARKE, P.; TAYLOR, J.A.; OADES, J.M.; McCLURE, S.G. The chemistry and nature of protected carbon in soil. **Australian Journal of Soil Research**, Melbourne, v.34, p.251-271, 1996.
- SMITH, B.N.; EPSTEIN, S. Two categories of $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios for higher plants. **Plant Physiology**, Rockville, v.47, n.3, p.380-384, Mar., 1971.
- VITORELLO, V.A.; CERRI, C.C.; ANDREUX, F.; FELLER, C.; VICTÓRIA, R.L.. Organic matter and natural carbon-13 distribution in forested and cultivated oxisols. **Soil Science Society of American Journal**, Madison, v.53, n.3, p.773-778, May/June 1989.
- WANDER, M.M.; DUDLEY, R.B.; TRAINA, S.J.; KAUFMAN, D.; STINNER, B.R.; SIMS, G.K.. Acetate fate in conventionally managed soils. **Soil Science Society of American Journal**, Madison, v.60, n.4, p.1110-1116, July/Aug. 1996.
- ZECH, W.; HAUMAIER, L.; HEMPFLING, R. Ecological Aspects of Soil Organic Matter in Tropical Land Use. In: McCARTHY, P.; CLAPP, C.E.; MALCOLM, R.L.; BLOOM, P.R. (eds). **Humic substances in Soil and Crop Sciences: Selected Readings**. Madison: ASA/SSSA, 1990. p.187-220.
- ZECH, W.; GUGGENBERGER, G.; THOMAS, R.J. Assessing the effects of land use practices on the organic matter of rain forest and savanna soils by chemical structural studies of bulk soils and of particle-size separates. In: CLAPP, C.E.; HAYES, M.H.B.; SENESI, N.; GRIFFITH, S.M. (eds). **Humic substances and organic matter in soil and water environments: characterization, transformations and interactions**. St. Paul: IHSS, 1996. p.141-147.

CONCLUSÕES GERAIS

A calagem promoveu uma aceleração na mineralização do nitrogênio no HGH e LV2, não concorrendo para um aumento nas quantidades de nitrogênio mineralizado nos sete materiais de solo estudados.

A mineralização de enxofre no HGP e LV2 foi afetada pela calagem, que promoveu maior disponibilidade de sulfato nestes solos.

Os processos de mineralização de nitrogênio e enxofre não se mostraram dependentes dos níveis de fósforo disponível.

A redução drástica nos estoques de carbono e nitrogênio nas áreas cultivadas do LE1 e os seus efeitos sobre a CTC em pH 7,0 enfatizam a importância do manejo e conservação da matéria orgânica após a retirada da floresta.

Os sistemas de manejo adotados nas áreas sob cultivo do LE2 se mostraram adequados no sentido de preservar a matéria orgânica, no nível verificado no cerrado.

O cultivo contribuiu para um enriquecimento relativo de carbono no LE1 e LE2 e de nitrogênio no LE1 na fração fina, à expensas dos compostos orgânicos associados às frações grossa e intermediária.

Os resultados alcançados nesse estudo demonstram o potencial da CETAE no fracionamento e na determinação de peso molecular e proporções de AF e AH em solos.

Os métodos de extração das SH influenciaram de forma marcante as proporções de AF:AH, com mais AH no material extraído com a resina Chelex e maiores proporções de AF no material extraído com o NaOH. O manejo e uso diferenciado dos solos não introduziram mudanças substanciais no peso molecular e

nas proporções de AF e AH, sendo notado, porém, maior preservação dos ácidos húmicos na área sob floresta e maiores teores de substâncias húmicas, em termos proporcionais ao carbono total, na área cultivada sem calagem.

As substâncias húmicas analisadas são compostas majoritariamente por moléculas de pequeno tamanho, quimicamente mais ativas e com peso molecular estimado de aproximadamente 1375 daltons. Em menor proporção, encontram-se as frações de maior tamanho e com menor mobilidade no solo, os ácidos húmicos com peso molecular médio estimado de 31500 daltons.

Os dados de ^{13}C -RMN revelaram que a matéria orgânica na floresta e nas áreas cultivadas é composta por elevadas proporções de frações ricas em estruturas aromáticas e carboxílicas.

O cultivo do LE1 acarretou em aumento da aromaticidade da matéria orgânica na área com calagem e, principalmente, na testemunha, a expensas do C ligado a radicais alifáticos.

Os dados de composição isotópica de ^{13}C revelaram que as frações texturais englobam materiais orgânicos não homogêneos, sendo os compostos menos decompostos associados às partículas mais grosseiras.

A análise titulométrica dos materiais húmicos extraídos com a resina Chelex revelou a maior presença de estruturas carboxílicas e fenólicas na testemunha, o que refletiu em maior CTC a pH 7,0 nessa área.