

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS

**ESTRUTURA E ESTABILIDADE DA MATÉRIA ORGÂNICA
EM ÁREAS COM POTENCIAL DE SEQÜESTRO DE
CARBONO NO SOLO**

Aline Segnini

Tese apresentada ao Instituto de
Química de São Carlos, da
Universidade de São Paulo para a
obtenção do título de Doutor em
Ciências (Química Analítica).

Orientador: Dr. Ladislau Martin Neto

São Carlos
2007

Dedico este trabalho às pessoas mais importantes da minha vida...

*Aos meus queridos pais José Luis e Marilene,
pela oportunidade, apoio, confiança e presença em todas as horas;
Aos meus irmãos Heloíse e Luis Paulo e à minha avó querida, pelo carinho;
Ao meu esposo e companheiro, Eleandro, minha felicidade maior, e por estar sempre ao meu
lado, em todos os momentos;*

A DEUS, por tudo...

AGRADECIMENTOS

... Ao Dr. Ladislau Martin Neto pela orientação, incentivo, ensinamentos, confiança e amizade adquirida nesses anos de convivência. Meus sinceros agradecimentos;

... Ao Dr. Wilson Tadeu Lopes da Silva, à Dra. Débora Marcondes Bastos Pereira Milori e ao Dr. Marcelo Luiz Simões, por também fazerem parte do meu aprendizado, obrigada pela valiosa colaboração na realização deste trabalho;

... Ao Dr. Odó Primavesi, por ter concedido as amostras de solo e pelo seu atencioso acompanhamento durante todo o trabalho;

... À Ana Maria Felicori, pela sua competência, paciência e auxílio em todos os meus relatórios;

... À Profa. Dra. Maria Olímpia de Oliveira Rezende, Diva e especialmente Jussara Cotta, do IQSC, pelas análises de TOC;

... Ao Renê por ser sempre prestativo, não só no Laboratório, mas também sempre quando precisamos;

... À Ana Rita Nogueira e ao Gilberto Batista, da Embrapa Pecuária Sudeste, pelo auxílio com algumas análises;

... Ao Dr. Denizart Bolonhezi / APTA e ao Dr. Antonio L. Cerdeira / Embrapa Meio Ambiente, pelas amostras de solos;

... Ao Hugo de Souza Dias, do Sítio Canaçu – Tarumã, Assis/SP, pelas amostras de solos;

... À Larissa, pela amizade e parceria em alguns resultados desse trabalho;

... A Valéria, bibliotecária da Embrapa Instrumentação Agropecuária, pelo seu prestativo auxílio;

... As bibliotecárias do IQSC e à Sílvia e Andréa, da Pós Graduação, pela simpatia e ótimo atendimento;

... Aos secretários, telefonistas (em especial à Kika e Kelen), estagiários, técnicos, pesquisadores, etc., à todos os colegas da Embrapa Instrumentação Agropecuária, sempre tão solícitos;

... Aos colegas e amigos de trabalho, Kelly, Poliana, Marcilene, Lílian, Fernanda, Rosilene, Adriana, Bruno, Miguel, Garbin, Martha, Humberto, Cleber, Daniele, Edilene, Robson, Juliana Manieri, Ana Flávia, André, Fábio Leite, Paulo, Eduarda, Nelson, Elisângela, Maria Alice, em especial às minhas amigas Lucimar, Larissa e Ursula, meus agradecimentos pela agradável convivência e amizade;

... Aos colegas da Embrapa que já não estão mais aqui: Alessandra, Tati, Priscila, Érica, Juliana Barreiro, Giu, Tiago, Hélder, Vanessa, Milena, Jeferson, Carlos Eduardo, Jean;

... A Embrapa Instrumentação Agropecuária pela infra-estrutura e pelo excelente ambiente de trabalho;

... Ao Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo;

... Aos meus amigos de São Carlos, que tornam a minha vida muito mais agradável e feliz;

... A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho;

*... À **FAPESP**, pela bolsa concedida.*

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

RESUMO

ABSTRACT

INTRODUÇÃO GERAL.....	15
CAPÍTULO 1. Estudo comparativo de métodos para a determinação da concentração de carbono em solos com altos teores de Ferro (Latosolos).....	17
1.1. INTRODUÇÃO.....	17
1.1.1. Objetivos.....	18
1.2. TEORIA DOS MÉTODOS UTILIZADOS.....	18
1.2.1. Metodologias para se determinar carbono em amostras de solo.....	18
1.2.1.1. Determinação clássica da MOS por Walkley-Black	18
1.2.1.2. Determinação da MOS por gravimetria.....	19
1.2.1.3. Análise Elementar.....	20
1.2.1.4. Carbono Orgânico Total (TOC).....	21
1.3. PARTE EXPERIMENTAL.....	21
1.3.1. Amostras e áreas experimentais.....	21
1.3.2. Determinação do teor de MOS por oxidação via úmida (Walkley-Black).....	22
1.3.3. Determinação da composição elementar (CNHS).....	23
1.3.4. Determinação do TOC por via seca.....	23
1.3.5. Determinação da MOS por termogravimetria.....	23
1.3.6. Análise multivariada.....	23
1.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	24
1.5. CONCLUSÕES.....	29
CAPÍTULO 2. Seqüestro de carbono no solo em áreas de pastagem de <i>Brachiaria decumbens</i>.....	30
2.1. INTRODUÇÃO.....	30
2.1.1. O ciclo do carbono e as Mudanças Climáticas Globais.....	30
2.1.2. O efeito estufa natural e o antrópico.....	31
2.1.3. Ratificação do Protocolo de Kyoto.....	32
2.1.4. Seqüestro de carbono por sistemas de manejo do solo.....	33
2.1.4.1. Seqüestro de carbono por pastagens de <i>Brachiaria decumbens</i>	34
2.1.5. A matéria orgânica do solo (MOS).....	36
2.1.6. Objetivos.....	37
2.2. TEORIA DOS MÉTODOS UTILIZADOS.....	38
2.2.1. Quantificação dos estoques de carbono dos solos.....	38
2.3. PARTE EXPERIMENTAL.....	39
2.3.1. Área experimental.....	39
2.3.2. Histórico do experimento.....	39
2.3.3. Descrição dos tratamentos utilizados.....	40
2.3.4. Coletas das amostras.....	42
2.3.5. Análise de carbono total.....	43
2.3.6. Determinação da densidade do solo.....	43
2.3.7. Estoques de carbono (EC).....	43
2.3.8. Taxas de seqüestro de carbono.....	43
2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	43

2.4.1. Determinação de carbono.....	43
2.4.2. Estoques de carbono (EC).....	46
2.5. CONCLUSÕES.....	50
CAPÍTULO 3. Avaliação da estabilidade da matéria orgânica do solo em áreas de pastagem de <i>Brachiaria decumbens</i>.....	51
3.1. INTRODUÇÃO.....	51
3.1.1. A estabilidade da matéria orgânica do solo (MOS).....	51
3.1.1.1. A estrutura das substâncias húmicas (SH).....	52
3.1.2. Fracionamento da MOS.....	56
3.1.3. Caracterização da MOS por métodos espectroscópicos.....	57
3.1.4. Objetivos.....	59
3.2. TEORIA DOS MÉTODOS UTILIZADOS.....	59
3.2.1. Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE).....	60
3.2.2. Fluorescência.....	61
3.2.2.1. Fenômeno de Fluorescência.....	61
3.2.2.2. Espectroscopia de fluorescência.....	63
3.2.2.3. Espectroscopia de Fluorescência Induzida por Laser (FIL).....	65
3.2.2.3.1. Introdução.....	65
3.2.2.3.2. Fluorescência de solo.....	65
3.3. PARTE EXPERIMENTAL.....	66
3.3.1. Área experimental.....	66
3.3.2. Análise do solo.....	67
3.3.2.1. Fluorescência Induzida por Laser (FIL).....	67
3.3.3. Fracionamento químico: extração e purificação dos AH.....	69
3.3.4. Caracterização das amostras de AH.....	69
3.3.4.1. Determinação de C dos AH por análise elementar.....	65
3.3.4.2. Análise do teor de cinzas das amostras de AH.....	69
3.3.4.3. Caracterização dos AH em solução por Espectroscopia de Fluorescência de luz no UV-vis.....	70
3.3.4.4. Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE).....	70
3.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	71
3.4.1. Análise do solo inteiro.....	71
3.4.1.1. Fluorescência Induzida por Laser (FIL).....	71
3.4.2. Análises do solo fracionado.....	75
3.4.2.1. Análise elementar e teor de cinzas.....	75
3.4.2.2. Espectroscopia de Fluorescência de luz no UV-vis das amostras de AH.....	76
3.4.2.3. Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE).....	80
3.5. CONCLUSÕES.....	82
CAPÍTULO 4. Avaliação da matéria orgânica do solo em sistema de plantio direto de soja em área de renovação de cana.....	84
4.1. INTRODUÇÃO.....	84
4.1.1. Seqüestro de carbono por sistema de plantio direto (PD).....	84
4.1.2. Renovação da cana-de-açúcar crua (sem queima).....	88
4.1.3. Objetivos.....	91
4.2. TEORIA DOS MÉTODOS UTILIZADOS.....	91
4.3. PARTE EXPERIMENTAL.....	91
4.3.1. Área experimental e tratamentos.....	91
4.3.2. Histórico do experimento.....	93
4.3.3. Coleta das amostras.....	94
4.3.4. Análise do solo.....	94
4.3.4.1. Taxas de seqüestro de carbono.....	94

4.3.4.2. Avaliação da estabilidade da MOS por Fluorescência Induzida por Laser (FIL)	94
4.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	95
4.4.1. Determinação de carbono nas amostras de solo.....	95
4.4.2. Estoques de carbono (EC).....	98
4.4.3. Fluorescência Induzida por Laser (FIL).....	100
4.5. CONCLUSÕES.....	101
CAPÍTULO 5. Determinação do teor de carbono e da estabilidade da matéria orgânica do solo em áreas sob sistemas de plantio direto com grãos.....	103
5.1. INTRODUÇÃO.....	103
5.1.1. Objetivos.....	105
5.2. TEORIA DOS MÉTODOS UTILIZADOS.....	105
5.3. PARTE EXPERIMENTAL.....	105
5.3.1. Área experimental, tratamentos e histórico do local.....	105
5.3.2. Coleta das amostras.....	107
5.3.3. Análise do solo.....	107
5.3.3.1. Fluorescência Induzida por Laser (FIL).....	107
5.3.4. Fracionamento químico: extração e purificação dos AH.....	107
5.3.5. Caracterização das amostras de AH.....	107
5.3.5.1. Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE).....	107
5.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	107
5.4.1. Análises com o solo.....	107
5.4.1.1. Determinação de carbono.....	107
5.4.1.2. Estoques de carbono (EC).....	108
5.4.1.3. Fluorescência Induzida por Laser (FIL).....	110
5.4.2. Análises do solo fracionado.....	112
5.4.2.1. Análise elementar e teor de cinzas.....	112
5.4.2.2. Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE).....	113
5.5. CONCLUSÕES.....	114
CONCLUSÕES FINAIS.....	116
SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS.....	118
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	119

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Análise de componentes principais: PC1 × PC2 Scores das metodologias de determinação de carbono por (a) Walkley-Black, (b) Análise Elementar, (c) TOC e (d) Walkley-Black, Análise Elementar e Carbono Orgânico Total (TOC) para determinação do carbono em amostras de solo.....	26
Figura 1.2. Diagrama termogravimétrico das 4 regiões características no intervalo de 25 a 600°C: primeira região (< 110°C); segunda região (150-280°C); terceira região (270-370°C) e quarta região (380-530°C), para a amostra de solo mantido sob sistema de plantio direto, profundidade 0-10 cm, de um Latossolo Vermelho eutroférico (LVef). (a) perda de massa relativa e (b) perda de massa diferencial.....	28
Figura 1.3. Análise de componentes principais: PC1 x PC2 Loadings correspondentes aos métodos de Walkley-Black, análise elementar, carbono orgânico total (TOC) e Análise Termogravimétrica (TGA) para determinação de carbono em amostras de solo.....	29
Figura 2.1. Principais reservatórios globais de carbono (C): oceano, geológico, solo, atmosférico e biosfera. Figura adaptada de Lal (2004a).....	31
Figura 2.2. Vista aérea do experimento de pastagens de <i>Brachiaria decumbens</i> localizado na Embrapa Pecuária Sudeste, em São Carlos-SP.....	39
Figura 2.3. Área do experimento de pastagens de <i>Brachiaria decumbens</i> , localizado na Embrapa Pecuária Sudeste em São Carlos-SP, referente ao tratamento t4sa (4 t ha ⁻¹ de calcário superficial sem adubação NK).....	40
Figura 2.4. Valores de C (g kg ⁻¹) das amostras de solos coletadas após 27 anos sob pastagens de <i>Brachiaria decumbens</i> nos diferentes tratamentos, em função da profundidade: T00 (sem N e calcário); t0 (zero de calcário na superfície, recebendo 400 kg ha ⁻¹ ano ⁻¹ de N-sulfato de amônio e K ₂ O); t2m (2 t ha ⁻¹ de calcário na superfície, adubação NK, e reforço anual de 1 t ha ⁻¹ de calcário) e t4sa (4 t ha ⁻¹ de calcário na superfície em parcelas sem NK), além da área de cerradão (área de transição da mata nativa e cerrado).....	44
Figura 2.5. Decaimento do teor de C em função da profundidade em amostras de solos obtidos sob diferentes tratamentos de pastagem: T00 (sem N e calcário); t0 (zero de calcário na superfície, recebendo 400 kg ha ⁻¹ ano ⁻¹ de N-sulfato de amônio e K ₂ O); t2m (2 t ha ⁻¹ de calcário na superfície, com adubação NK, e com reforço anual de 1 t ha ⁻¹ de calcário) e t4sa (4 t ha ⁻¹ de calcário na superfície em parcelas sem NK), além da área de cerradão	45
Figura 3.1. Modelo proposto por Schulten e Schnitzer (1993) para a estrutura dos ácidos húmicos (AH).....	53
Figura 3.2. Modelos conceituais propostos pela teoria macromolecular: (a) moléculas das substâncias húmicas (SH) aleatoriamente enoveladas (Swift, 1989) e (b) modelo tridimensional de ácidos húmicos (AH) proposto por Schulten e Schnitzer (1997), carbono=azul; oxigênio=vermelho; nitrogênio=preto e hidrogênio=branco. As letras A, B e C indicam os espaços “vazios” presentes na molécula das SH capazes de interagir com outros compostos.....	54
Figura 3.3. Esquema de estrutura das substâncias húmicas (SH) proposto por Simpson et al. (2002b). As unidades vermelhas representam os cátions metálicos, as unidades pretas os polissacarídeos, as unidades azuis os polipeptídios, as unidades verdes as cadeias alifáticas e as unidades marrons os fragmentos aromáticos provenientes da lignina.....	55
Figura 3.4. Esquema da estabilização do radical livre do tipo semiquinona (Senesi e Schnitzer, 1977).....	61
Figura 3.5. Espectro típico de Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE) de ácidos húmicos (AH) mostrando o sinal do radical livre do tipo semiquinona.....	61
Figura 3.6. Níveis mostrando as transições eletrônicas na fluorescência molecular.....	62

Figura 3.7. Sistema para medida de Fluorescência Induzida por Laser, onde: 1- Laser de Argônio; 2- Prisma; 3,4,5- Espelhos planos, 6- Lente convergente; 7- Modulador (optical chopper); 8- Filtro; 9- Monocromador; 10- Fotomultiplicadora; 11- Amplificador Lock-in; 12- Sistema de aquisição.....	68
Figura 3.8. Fotos (a) de parte do equipamento de FIL, mostrando a incidência do laser na pastilha de solo e (b) das pastilhas de solo e suporte utilizados nas análises.....	68
Figura 3.9. Espectros de emissão de Fluorescência característicos de amostras de solo, obtidos por Fluorescência Induzida por Laser (FIL). Esses espectros são referentes ao tratamento t2m (2 t ha ⁻¹ de calcário na superfície, com adubação NK, e com reforço anual de 1 t ha ⁻¹ de calcário) nas profundidades 0-10, 10-20, 20-40, 40-60, 60-80 e 80-100 cm.....	72
Figura 3.10. Espectros característicos da razão intensidade de fluorescência por FIL das amostras de solos normalizados pelo teor de C para os diferentes tratamentos: área de cerradão ; T00 (pastagem sem N e calcário); t0 (zero de calcário na superfície, recebendo NK); t2m (2 t ha ⁻¹ de calcário na superfície, adubação NK, e reforço anual de 1 t ha ⁻¹ de calcário) e t4sa (4 t ha ⁻¹ de calcário na superfície em parcelas sem NK), na profundidade 0-10 cm.....	73
Figura 3.11. Valores dos graus de humificação (H _{FIL}) obtidos por Fluorescência Induzida por Laser (FIL) em amostras de solos coletados após 27 anos de pastagem, em diferentes tratamentos: T00 (pastagem sem N e calcário); t0 (zero de calcário na superfície, recebendo NK); t2m (2 t ha ⁻¹ de calcário na superfície, adubação NK e reforço anual de 1 t ha ⁻¹ de calcário) e t4sa (4 t ha ⁻¹ de calcário na superfície em parcelas sem NK) além da área de cerradão	74
Figura 3.12. Espectros de emissão de Fluorescência de AH do experimento em áreas de pastagem de <i>Brachiaria decumbens</i> segundo metodologias propostas por: (a) Zsolnay et al. (1999), (b); Kalbitz et al. (1999) e (c) Milori et al (2002), para os tratamentos: área de cerradão ; T00 (sem N e calcário); t0 (zero de calcário na superfície, recebendo NK); t2m (2 t ha ⁻¹ de calcário na superfície, adubação NK, e reforço anual de 1 t ha ⁻¹ de calcário) e t4sa (4 t ha ⁻¹ de calcário na superfície em parcelas sem NK) nas profundidades de 0-10 e 10-20 cm.....	77
Figura 3.13. Graus de Humificação dos AH do experimento em áreas de pastagem de <i>Brachiaria decumbens</i> , obtidos a partir dos estudos de Fluorescência propostos por: (a) Zsolnay et al., 1999 [A ₄ /A ₁]; (b); Kalbitz et al., 1999 [I ₄₆₅ /I ₃₉₉] e (c) Milori et al. 2002 [A ₄₆₅], para os tratamentos: área de cerradão , T00 (pastagem sem N e calcário); t0 (zero de calcário na superfície, recebendo NK); t2m (2 t ha ⁻¹ de calcário na superfície, com adubação NK, e com reforço anual de 1 t ha ⁻¹ de calcário) e t4sa (4 t ha ⁻¹ de calcário na superfície em parcelas sem NK) nas profundidades de 0-10 e 10-20 cm.....	79
Figura 3.14. Níveis de radicais livres do tipo semiquinona [spins g ⁻¹ (×10 ¹⁷)] de ácidos húmicos (AH) determinados por Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE) sob diferentes tratamentos: área de cerradão , T00 (pastagem sem N e calcário); t0 (zero de calcário na superfície, recebendo NK); t2m (2 t ha ⁻¹ de calcário na superfície, com adubação NK, e com reforço anual de 1 t ha ⁻¹ de calcário) e t4sa (4 t ha ⁻¹ de calcário na superfície em parcelas sem NK), nas profundidades 0-10 e 10-20 cm.....	81
Figura 3.15. Relação entre os índices A ₄ /A ₁ , I ₄₆₅ /I ₃₉₉ e A ₄₆₅ propostos respectivamente por Zsolnay et al. (1999), Kalbitz et al. (1999) e Milori et al. (2002) pela Fluorescência de luz no UV-vis com o nível de radicais livres do tipo semiquinona [spins g ⁻¹ (×10 ¹⁷)] de ácidos húmicos (AH) determinados por Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE).....	82
Figura 4.1. Exemplos de manejo de solos sob plantio convencional (PC): (a) tratores fazendo a aragem do solo; (b) plantação sobre o solo após a aragem.....	85
Figura 4.2. Ilustrações mostrando sistemas de manejo de solos sob plantio direto (PD): (a) Foto de área típica sob sistema de PD; (b) Detalhe para a preservação da cobertura vegetal na superfície do solo.....	86
Figura 4.3. Foto mostrando um sistema de colheita mecanizada de cana-de-açúcar sem queima (cana crua).....	89
Figura 4.4. Rebrotas da cana-de-açúcar em sistema de colheita sem queima (cana crua) (Scarpellini e Bolonhezi, 2007).....	90

Figura 4.5. Esquema do ensaio de calagem no sistema de plantio direto (PD) e plantio convencional (PC) de soja em renovação de cana crua (sem queima).....	93
Figura 4.6. Teores de C (em g kg ⁻¹) das amostras de solos analisadas para os sistemas de cultivo estudados: plantio convencional (PC) e plantio direto (PD), com e sem aplicações de calcário, onde C0 representa a não adição de calcário, C1 representa adição de 2 t ha ⁻¹ de calcário e C3 aplicação de 6 t ha ⁻¹ de calcário, nas profundidades de 0-5, 5-10, 10-20 e 20-60 cm. As coletas das amostras foram realizadas em 1999 (a) e 2005 (b).....	95
Figura 4.7. Teores de C (em g kg ⁻¹) das amostras de solos analisadas para os sistemas de cultivo estudados: plantio convencional (PC) e plantio direto (PD), com e sem aplicações de calcário, onde C0 representa a não adição de calcário, C1 representa adição de 2 t ha ⁻¹ de calcário e C3 aplicação de 6 t ha ⁻¹ de calcário, além da mata nativa, nas profundidades de 0-5, 5-10, 10-20 e 20-60 cm. As coletas das amostras foram realizadas em 2005.....	96
Figura 4.8. Soma dos teores de C (em g kg ⁻¹), nas profundidades de 0-60 cm, das amostras de solos analisadas para os sistemas de cultivo estudados: plantio convencional (PC) e plantio direto (PD), com e sem aplicações de calcário, onde C0 representa a não adição de calcário, C1 representa adição de 2 t ha ⁻¹ de calcário e C3 representa a aplicação de 6 t ha ⁻¹ de calcário. Dados referentes às coletas de 1999 e 2005.....	97
Figura 4.9. Grau de Humificação (H _{FIL}) obtidos por Fluorescência Induzida por Laser (FIL) das amostras de solos analisadas para os sistemas de cultivo estudados: plantio convencional (PC) e plantio direto (PD), com e sem aplicações de calcário, onde C0 representa a não adição de calcário, C1 representa a adição de 2 t ha ⁻¹ de calcário e C3 representa a aplicação de 6 t ha ⁻¹ de calcário, além da mata nativa, nas profundidades de 0-5, 5-10, 10-20 e 20-60 cm. Os dados são referentes às amostras coletadas em 1999 (a) e 2005 (b).....	100
Figura 5.1. Teores de C (em g kg ⁻¹) das amostras de solos analisadas para os sistemas de cultivo estudados: cultivo mínimo (CM), plantio direto (PD) e mata nativa, nas profundidades de 0-5, 5-10 e 10-20 cm.....	108
Figura 5.2. Espectros característicos da razão intensidade da Fluorescência Induzida por Laser (FIL) das amostras sob diferentes sistemas de manejo normalizados pelo teor de C na profundidade 0-5 cm.....	111
Figura 5.3. Valores dos graus de humificação (H _{FIL}) obtidos por Fluorescência Induzida por Laser (FIL) em amostras de solo sob diferentes sistemas de cultivo: cultivo mínimo (CM), plantio direto (PD) de 6, 14 e 22 anos, e mata nativa, em função da profundidade.....	112
Figura 5.4. Níveis de radicais livres do tipo semiquinona [spins g ⁻¹ (×10 ¹⁷)] de ácidos húmicos (AH) determinados por Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE) sob diferentes sistemas de manejo, na profundidade de 0-5 cm.....	114

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1. Dados referentes às amostras de solo analisadas em função dos tipos de solo, sistemas de manejo, tratamentos e profundidades.....	22
Tabela 1.2. Resultados de carbono obtidos pelos métodos de Walkley-Black, Análise Elementar, Carbono Orgânico Total (TOC) e Análise Termogravimétrica (TGA).....	24
Tabela 1.3. Coeficiente de variação dos resultados obtidos para determinação de carbono pelos métodos de Walkley-Black, análise elementar, carbono orgânico total (TOC) e análise termogravimétrica (TGA).....	27
Tabela 2.1. Dados do pH do solo em CaCl ₂ nos diferentes tratamentos analisados e em cada profundidade.....	41
Tabela 2.2. Saturação por bases (V, em %), em função de calagem em pastagem de <i>Brachiaria decumbens</i> adubada com doses elevadas de NK.....	41
Tabela 2.3. Teor de cálcio trocável (mmolc dm ⁻³), em função de calagem em pastagem de <i>Brachiaria decumbens</i> adubada com doses elevadas de NK.....	42
Tabela 2.4. Teor de potássio trocável (mmolc dm ⁻³), em função de calagem em pastagem de <i>Brachiaria decumbens</i> adubada com doses elevadas de NK.....	42
Tabela 2.5. Valores de carbono (g kg ⁻¹), densidade (g cm ⁻³) e espessura das camadas (m) das amostras de solo para os diferentes tratamentos sob pastagem: T00 (sem N e calcário); t0 (zero de calcário na superfície, recebendo 400 kg ha ⁻¹ ano ⁻¹ de N-sulfato de amônio e K ₂ O); t2m (2 t ha ⁻¹ de calcário na superfície, com adubação NK, e com reforço anual de 1 t ha ⁻¹ de calcário) e t4sa (4 t ha ⁻¹ de calcário na superfície em parcelas sem NK), além da área de cerradão	47
Tabela 2.6. Estoques de carbono (Mg ha ⁻¹) em cada profundidade e total (0-100 cm) para diferentes tratamentos do solo.....	48
Tabela 2.7. Taxas de seqüestro de C e CO ₂ calculadas para cada tratamento tendo como base os EC da área de referência (cerradão), na profundidade total (0-100 cm), em 27 anos de experimento.....	49
Tabela 3.1. Análises elementares de C, H e N, relação C/N e teores de cinzas (%) das amostras de AH extraídas do Latossolo Vermelho-Amarelo nas profundidades de 0-10 cm (1) e 10-20 cm (2) nos diferentes tratamentos: T00 (pastagem sem N e calcário); t0 (zero de calcário na superfície, recebendo NK); t2m (2 t ha ⁻¹ de calcário na superfície, adubação NK e reforço anual de 1 t ha ⁻¹ de calcário) e t4sa (4 t ha ⁻¹ de calcário na superfície em parcelas sem NK) além da área de cerradão	75
Tabela 4.1. Valores de carbono (g kg ⁻¹), densidade (g cm ⁻³) e espessura das camadas (m) das amostras de solo para os diferentes sistemas de manejo: mata nativa, plantio direto (PD) e plantio convencional (PC), em função das profundidades (0-5, 5-10, 10-20 e 20-60 cm) e das aplicações de calagem, onde C0 representa a não adição de calcário, C1 representa adição de 2 t ha ⁻¹ de calcário e C3 representa a aplicação de 6 t ha ⁻¹ de calcário. Dados referentes às coletas de 2005.....	98
Tabela 4.2. Estoques de carbono (Mg ha ⁻¹) em cada profundidade (0-5, 5-10, 10-20 e 20-60 cm), na profundidade de 0-20 cm e no total (0-60 cm) para diferentes sistemas de manejo: mata nativa, plantio direto (PD) e plantio convencional (PC), em função das aplicações de calagem. Dados referentes às coletas de 2005...	99
Tabela 4.3. Taxas de seqüestro de C e CO ₂ calculadas para cada tratamento de plantio direto (PD) tendo como base os estoques de carbono (EC) da área de referência, plantio convencional (PC), na profundidade de 0-20 cm e no total (0-60 cm), em 7 anos de experimento.....	99
Tabela 5.1. Histórico da área experimental do Sítio Canaçu, em Tarumã, na região de Assis-SP.....	106

Tabela 5.2. Valores de carbono (g kg^{-1}), densidade (g cm^{-3}) e espessura das camadas (m) das amostras de solo para os diferentes sistemas de manejo: cultivo mínimo (CM), plantio direto (PD) de 6, 14 e 22 anos e mata nativa, em função das profundidades: 0-5, 5-10 e 10-20 cm.....	109
Tabela 5.3. Estoques de Carbono (EC) das amostras em cada profundidade (0-5, 5-10 e 10-20 cm) e no total (0-20 cm) para os sistemas de manejo: cultivo mínimo (CM), plantio direto (PD) de 6,14 e 22 anos e mata nativa.....	109
Tabela 5.4. Análises de C, H, N e S, relação C/N e teores de cinzas das amostras de AH extraídas do Latossolo Vermelho eutrófico na profundidade 0-5 cm, nos diferentes sistemas de manejo.....	113

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AF	ácidos fúlvicos
AH	ácidos húmicos
C	carbono
CM	cultivo mínimo
CO₂	dióxido de carbono
COS	carbono orgânico do solo
COT	carbono orgânico total
CV	coeficiente de variação
EC	estoques de carbono
FIL	Fluorescência Induzida por Laser
FTIR	Infravermelho com Transformada de Fourier
GEE	gases do efeito estufa
IHSS	Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas
IPCC	Intergovernmental Panel on Climate Change
LVAd	Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico
LVd	Latossolo Vermelho distrófico
LVef	Latossolo Vermelho eutroférico
MOS	matéria orgânica do solo
MO	matéria orgânica
PC	plantio convencional
PCA	Análise dos componentes principais
PD	plantio direto
RMN de ¹³C	Ressonância Magnética Nuclear de carbono 13
RPE	Ressonância Paramagnética Eletrônica
SH	substâncias húmicas
SnH	Substâncias não húmicas
TGA	Análise Termogravimétrica
TOC	Total Organic Carbon
UV-Vis	Ultravioleta-Visível

RESUMO

A agricultura pode ser uma aliada importante para a mitigação da concentração de gás carbônico (CO₂) na atmosfera. Pela fotossíntese pode-se converter o CO₂ da atmosfera em massa vegetal, e, além disso, por meio de um manejo adequado desta massa, pode-se reter parte do carbono (C) no solo, caracterizando um “seqüestro de C” da atmosfera pelo solo. Pesquisas têm se voltado para entender o papel da produção agrícola, como os sistemas conservacionistas de manejo, ou seja, o plantio direto (PD), e das pastagens de *Brachiaria* sobre a dinâmica do C no solo. Estudos sobre a dinâmica e a estabilidade da matéria orgânica do solo (MOS) são necessários, já que variáveis como estoques de carbono (EC) e graus de humificação podem ser avaliados, e sendo assim, obter parâmetros fundamentais para a mitigação de CO₂ na atmosfera, tema que se insere num dos enfoques das Mudanças Climáticas Globais. Nesse contexto, espectroscopias, como por exemplo, a Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE), a Fluorescência de luz no ultravioleta-visível (UV-vis) e a Fluorescência Induzida por Laser (FIL) podem ser fundamentais na avaliação da estabilidade da MOS. Este trabalho teve como objetivo verificar o comportamento da MOS em áreas com potencial para seqüestro de C, por meio da avaliação dos estoques deste no solo, em diferentes sistemas de manejo e posterior caracterização por Espectroscopia. Além disso, e em função das dificuldades encontradas na seleção da melhor metodologia para a quantificação de C, foi também possível avaliar métodos de determinação de C, comparando-os entre si pelos coeficientes de variação e análise multivariada, e assim propondo uma melhor metodologia. Em área tropical de pastagens de *Brachiaria decumbens*, no Brasil, os resultados mostraram que a determinação dos EC foram maiores nesses sistemas, comparado com a vegetação nativa de cerrado, após 27 anos de experimento. Os maiores EC obtidos pelas pastagens foram favorecidos pela constante entrada de material vegetal na superfície do solo, também influenciado pela entrada do nitrogênio (N), além do sistema radicular da gramínea, considerando o tratamento de pastagem com adição anual de N e aplicação de 2 t ha⁻¹ de calcário (com reforço de 1 t ha⁻¹ anual), o melhor tratamento em função do acúmulo da MOS. Os resultados mostraram que essas pastagens bem manejadas podem possibilitar um seqüestro de 6,1 a 12,8 Mg CO₂ ha⁻¹ ano⁻¹ da atmosfera. Com a avaliação qualitativa da MOS, também foi possível obter resultados promissores na determinação da estabilidade da MOS. A detecção do aumento do conteúdo de C no solo foi acompanhada pela redução do grau de humificação, por meio da FIL. Esta redução na humificação foi devido à entrada de material orgânico mais lábil, ou seja, menos transformado. Na Fluorescência convencional e RPE, com amostras de AH em solução, os maiores graus de humificação foram obtidos para os AH dos tratamentos de pastagem, principalmente os que tiveram adição de calagem. O Ca²⁺, além de aumentar a atividade microbiana, pode complexar com os AH, associado ao aumento da estabilidade da MO. No sistema de PD de soja com renovação de cana-de-açúcar, os maiores teores de C foram obtidos nas amostras referentes aos sistemas sob PD após 7 anos sob esse manejo, em comparação com áreas sob manejo convencional. O acúmulo de MOS foi devido principalmente à preservação da cobertura vegetal associada com o não revolvimento do solo, rotação de culturas e a não queimada da cana-de-açúcar. Nessa área experimental, foi possível constatar um seqüestro de 0,15 a 5,29 Mg CO₂ ha⁻¹ ano⁻¹ da atmosfera. Com relação à estabilidade da MO avaliada por Espectroscopia de FIL, verificou-se que o sistema de PD apresentou menor grau de humificação, devido à maior entrada de material orgânico lábil. Os resultados obtidos em área experimental de PD com grãos, com até 22 anos de duração, estão provavelmente associados com o tipo de solo analisado. Nos Latossolos com alto conteúdo de argila pode haver proteção física da MO, provavelmente impedindo alterações estruturais desse material, mesmo após longo período sem o revolvimento do solo. Outro fato importante é que o estudo de seqüestro de C depende muito da área avaliada, ou seja, delineamento do experimento, histórico do local, duração, condições climáticas, taxas de decomposição do C, produção de massa vegetal e aporte de resíduos.

ABSTRACT

Agriculture can play an important role in mitigating carbon dioxide (CO₂) concentration in the atmosphere. Through photosynthesis, it is possible to convert CO₂ from atmosphere to plant biomass, and moreover, through an adequate agricultural system CO₂ can be stored in soil, characterizing “carbon sequestration”. Nowadays, many researches want to understand the role of agriculture production, as no-tillage, and *Brachiaria* pastures, in carbon dynamics in soil. Studies about organic matter dynamics and stability are necessary, since variables such as carbon stocks and degree of humification can be evaluated, and as a result, to obtain essential parameters to CO₂ mitigation to the atmosphere. This topic is inserted in some Global Climate Change interests. In this context, spectroscopic methods, for example, Electron Paramagnetic Resonance (EPR), UV-Vis light fluorescence and Laser Induced Fluorescence (LIF) can be fundamental in the stability of soil organic matter (SOM) evaluation. The present study aims to examine the SOM behavior in areas with carbon sequestration potential, through evaluation of carbon stocks in soils, in different tillage systems followed by characterization by spectroscopy. Therefore, the knowledge of the organic matter (OM) quantity is important in soil management regarding to a sustainable agriculture. However, little consistent information is found to compare and recommend the most adequate method to obtain satisfactory results for each study. Consequently, it was possible to evaluate the OM quantity in Oxisols by different methods and compare them, using coefficient of variation and principal component analysis, to propose the best methodology. In the tropical regions of Brazil, in *Brachiaria decumbens* pastureland, the results showed that the greatest SOM content occurred under pastureland, against the native dense Cerrado vegetation, after 27 years of experiment. The highest carbon stocks obtained by pasture samples were favored by accumulations of plant biomass on the soil surface, nitrogen input, besides *Brachiaria* root systems. According to the results obtained, the annual input of adequate amounts of limestone (2 t ha⁻¹ addition and 1 t ha⁻¹ year⁻¹ reinforcement) and N seemed to be the best treatment regarding different pastureland treatments, mainly due to its higher C accumulation. The results also showed that non-degraded pastures can enable an annual sequestration rate ranging from 6.1 to 12.8 Mg CO₂ ha⁻¹ year⁻¹. Qualitative evaluation of SOM also obtained satisfactory results on the soil surface. Results showed that higher C amount was followed by lower degree of humification, obtained by LIF. This lower humification was due to labile organic material, or greater fresh input of crop residues. In conventional fluorescence and EPR, with humic acids, the greatest degree of humification was obtained in pastures treatments, especially in treatments with lime input. Ca²⁺, in addition to increasing the biological activity, can combine with humic acids, increasing OM stability. In the no-tillage system of soya and sugar cane renovation, higher C amounts were obtained in no-tillage samples, after 7 years of experiment. The maintenance of a permanent vegetal cover, without soil disturbing and without sugar cane burning was essential to SOM accumulation against conventional management. In the no-tillage system, in a period of 7 years, it was possible to verify a sequestration rate ranging from 0.15 to 5.29 Mg CO₂ ha⁻¹ year⁻¹. In relation to SOM stability by LIF, no-tillage presented lower degree of humification, due to input labile OM. The results obtained under no-tillage cropping system after 22 years are probably associated with the kind of soil analyzed. In Latossols, with high amount of clay, there may be a physical protection of OM, probably preventing structural changes in this material, even after a long period without soil disturbing. Another important factor is that C sequestration studies depend on the evaluated area, such as experiment outline, historical area, time, climate conditions, C decomposition rates, vegetal biomass production and residue input.

INTRODUÇÃO GERAL

Para uma melhor apresentação e compreensão do trabalho realizado, a presente tese está dividida em cinco capítulos. Além desses capítulos, também estão apresentados uma conclusão geral do trabalho sobre a estrutura e estabilidade da matéria orgânica em áreas com potencial para seqüestro de carbono no solo, sugestões para trabalhos futuros e as referências utilizadas no presente trabalho.

No primeiro capítulo está descrito um estudo comparativo de métodos para determinação da concentração de carbono em solos com altos teores de ferro (latossolos), considerando as dificuldades encontradas na seleção da melhor metodologia para a quantificação de carbono e da matéria orgânica do solo, principalmente para uso em metodologias não convencionais como métodos espectroscópicos, os quais necessitam dos valores de carbono para a determinação do grau de humificação. Com isso, será apresentado a avaliação do teor de matéria orgânica em amostras de latossolos a partir de diferentes métodos e a comparação por meio da análise multivariada e coeficiente de variação, identificando as características de cada metodologia na determinação do carbono. Esse trabalho foi aceito para publicação, em 2007, na revista *Química Nova*.

No segundo capítulo está apresentado um estudo de quantificação dos estoques de carbono e cálculos das taxas de seqüestro de carbono em uma área experimental de pastagens de *Brachiaria decumbens* de 27 anos de idade, comparando com vegetação nativa de cerrado, em São Carlos-SP. Também teve como finalidade observar diferenças no potencial de seqüestro de carbono em tratamentos de pastagem envolvendo práticas de calagem e/ou adubação. Esses dados são comparados primeiramente com a área total sob pastagens de *Brachiaria* no Brasil, posteriormente faz-se um paralelo com os valores mundiais correspondentes às emissões provenientes do desmatamento e mudança no uso do solo, segundo o Painel Intergovernamental sobre Mudança Climática (do inglês, Intergovernmental Panel on Climate Change ou IPCC). Esses resultados foram submetidos, em 2007, para publicação na revista *Agriculture, Ecosystems & Environment*.

No terceiro capítulo procurou-se avaliar a estabilidade da matéria orgânica do solo na mesma área experimental de pastagens de *Brachiaria decumbens*, comparativamente à uma área de cerrado, utilizando métodos espectroscópicos, como a Espectroscopia de Fluorescência e a Ressonância Paramagnética Eletrônica. Os métodos espectroscópicos têm sido utilizados na caracterização da matéria orgânica do solo e, portanto, podem ser também empregados na avaliação do índice de humificação em diferentes sistemas de manejo do solo,

em particular em situações sob seqüestro de carbono. Esses resultados serão submetidos para publicação na revista *Chemosphere*.

No quarto capítulo estão apresentados os estudos quantitativos, pela determinação dos estoques de carbono, e qualitativos, por meio da avaliação da estabilidade da matéria orgânica do solo por Espectroscopia de Fluorescência Induzida por Laser, em área experimental de cana-de-açúcar, em Ribeirão Preto-SP, sob calagem no sistema de plantio direto de soja em renovação de cana sem queima, já que esta é considerada uma área promissora para seqüestro de carbono no solo. A área do sistema de manejo conservacionista, ou seja, área sob plantio direto foi comparada com sistema de manejo convencional e mata nativa. Esses resultados também serão submetidos posteriormente.

Finalmente, no quinto capítulo estão apresentados os estudos quantitativos, pela determinação dos teores de carbono, e qualitativos, por meio da avaliação da estabilidade da matéria orgânica do solo por Espectroscopia de Fluorescência Induzida por Laser e Ressonância Paramagnética Eletrônica, em área experimental de Assis-SP no sistema de plantio direto de grãos de 6, 14 e 22 anos de duração. Essas áreas experimentais foram comparadas com sistemas de cultivo mínimo e mata nativa.

1.1. INTRODUÇÃO

A matéria orgânica do solo (MOS) é um componente importante na definição da qualidade dos sistemas agrícolas (Reeves, 1997), bem como a capacidade do solo sequestrar carbono da atmosfera (Lal, 2004a). O conhecimento dos seus teores é fundamental em diversas áreas da ciência do solo e vários métodos têm sido utilizados para tal, como: gravimetria por incineração em mufla, termogravimetria, cromatografia, oxidação da matéria orgânica (MO) por via úmida, (destacando-se os métodos preconizados por Schollenberger, Walkley-Black, Walkley-Black modificado) e oxidação por via seca (Miyazawa et al., 2000). Entretanto, ao considerar a literatura, nota-se que há uma carência de informações consistentes quanto à definição e recomendação do método de determinação de MO mais adequado para a obtenção de resultados precisos e satisfatórios (Conceição et al., 1999), principalmente para uso em metodologias não convencionais como métodos espectroscópicos, os quais necessitam dos valores precisos de carbono para a determinação do grau de humificação (Milorí et al., 2006).

O método de Walkley-Black (Walkley e Black, 1934; Jackson, 1982) é ainda hoje o mais empregado em laboratórios de solos devido à simplicidade e baixo custo, porém pode apresentar problemas analíticos e ambientais, devido ao uso de cromo (Brunetto et al., 2006).

A utilização de analisadores elementares automáticos trouxe avanços consideráveis, permitindo análises rápidas e confiáveis (Jimenez e Ladha, 1993), contudo, o custo de cada análise e a manutenção dos equipamentos são elevados.

A metodologia de quantificação de carbono orgânico total (TOC - Total Organic Carbon) é uma análise rápida, altamente reprodutível e facilmente automatizada. Os métodos gravimétricos (Miyazawa et al., 2000; Beyer et al., 1998) foram praticamente abandonados devido à baixa velocidade analítica e dificuldade de automação nos laboratórios, entretanto tem sido proposto seu uso em laboratórios de rotina na substituição do método de Walkley-Black (Miyazawa et al., 2000).

Silva et al. (1999) avaliaram a eficiência de cinco métodos na quantificação do teor de MO das cinco principais classes de solos (três latossolos, um argissolo e um organossolo) do

Centro Sul de Minas Gerais. Foram testados comparativamente por análise estatística cinco métodos: Walkley-Black modificado (utilizado em rotina nos laboratórios do Brasil), pirofosfato, analisador elementar (padrão mundial, como referência), calcinação a 250 °C e Calcinação a 500 °C. Os métodos de calcinação (mufla 250 e 500°C) superestimaram os teores de MOS; o método adotado pelos laboratórios do Brasil (Walkley-Black) subestimaram os teores de MOS; o método do pirofosfato mostrou-se somente adequado para amostras com teores de MO acima de 29,5 g kg⁻¹. Para amostras com teores de MO mais baixos, este método tende a superestimar os resultados.

A análise de componentes principais (PCA) é um método de análise multivariada utilizado para projetar dados n-dimensionais em um espaço de baixa dimensão, normalmente duas ou três. A PCA é um método exploratório porque auxilia na elaboração de hipóteses gerais a partir dos dados coletados, contrastando com estudos direcionados, nos quais hipóteses prévias são testadas. Em uma PCA, o agrupamento das amostras define a estrutura dos dados através de gráficos de “scores” e “loadings”, cujos eixos são componentes principais (PCs) nos quais os dados são projetados. Os “scores” fornecem a composição das PCs em relação às amostras, enquanto os “loadings” fornecem essa mesma composição em relação às variáveis (Ferreira et al., 2002).

1.1.1. Objetivos

Em função das dificuldades encontradas na seleção da melhor metodologia para a quantificação de carbono e da MOS, este trabalho teve como objetivos: *i*) avaliar o teor de MO em amostras de latossolos a partir de diferentes métodos e *ii*) comparar os métodos utilizados por meio da análise multivariada e coeficiente de variação, e com isso, identificar as características de cada metodologia na determinação do carbono e da MOS (Segnini et al., 2008).

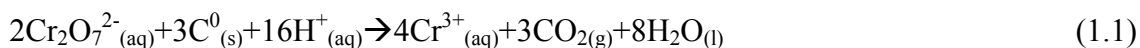
1.2. TEORIA DOS MÉTODOS UTILIZADOS

1.2.1. Metodologias utilizadas na determinação de carbono em amostras de solo

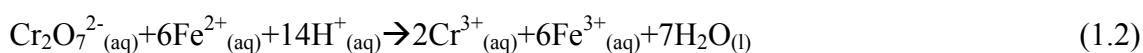
1.2.1.1. Determinação clássica da MOS por Walkley-Black

Um método clássico para determinação de MOS (Walkley e Black, 1934) e que foi adaptado por Jackson (1982), se baseia na oxidação do carbono orgânico do solo por íons dicromato, em meio fortemente ácido. Em amostras que requeiram maior precisão, a determinação da quantidade de íons Cr³⁺ reduzidos é feita indiretamente, por titulação dos

íons dicromato em excesso com íons Fe^{2+} . Alternativamente, pode-se determinar diretamente a quantidade de íons Cr^{3+} por colorimetria, medindo-se a intensidade da cor esverdeada produzida por esses íons em solução. A determinação por colorimetria, normalmente usada em rotina, requer a montagem de uma curva-padrão de calibração. Nos dois casos, a oxidação da MO é expressa pela reação:



Nessa reação (Equação 1.1), considera-se o dicromato reduzido equivalente ao carbono orgânico existente na amostra de solo, e o excesso de dicromato é titulado com íons Fe^{2+} obtidos a partir de uma solução padronizada de sulfato ferroso amoniacal.



A quantidade de carbono orgânico é obtida pela diferença entre a quantidade de Fe^{2+} gasta na titulação, quando o Cr^{6+} foi adicionado, e àquela gasta na titulação do dicromato que restou (Cr^{3+}) após a oxidação do carbono da amostra, assumindo que todo o carbono da MO está no estado de oxidação zero (Equação 1.2) (Cantarella et al., 2001). A fórmula comumente empregada na determinação da matéria orgânica do solo é: $\text{MOS} (\text{g kg}^{-1}) = \text{C} \times 1,724$, sendo (1,724) o fator de van Bemmelen, face ao conceito de que o teor de carbono da MOS é igual a 58%. Entretanto, esta é somente uma estimativa, já que este fator varia conforme determinadas características do solo (Conceição et al., 1999).

1.2.1.2. Determinação da MOS por gravimetria

Os métodos gravimétricos e termogravimétricos podem também ser utilizados na análise da MOS. Baseiam-se na perda de massa do solo por incineração e aquecimento (Ball, 1964; Beltrán et al., 1988; Miyazawa et al., 2000) e têm sido utilizados rotineiramente em determinações de carbono em solos. Essa metodologia foi bastante empregada antes do método de Walkley-Black (Walkley e Black, 1934), porém foi praticamente abandonada devido à baixa velocidade analítica e dificuldade de automação nos laboratórios. Quando comparado com o método de Walkley-Black mostra-se mais vantajoso já que não contamina o ambiente com metal tóxico (Cr^{3+}) (Brunetto et al., 2006) e não oferece riscos aos analistas com o uso de ácido sulfúrico concentrado.

1.2.1.3. Análise Elementar

Grande parte das características de uma amostra de MOS são obtidas a partir de sua composição elementar. Os primeiros experimentos para determinação da composição elementar das substâncias húmicas (SH) foram realizados por Sprengel e Berzelius entre os anos de 1826 e 1845 (Stevenson, 1994). Segundo eles, as SH eram constituídas essencialmente por carbono (C), hidrogênio (H), nitrogênio (N) e oxigênio (O), sendo o carbono e o oxigênio os elementos mais abundantes.

Os métodos para determinação desses elementos são muito variados, dentre eles os métodos químicos. Assim, carbono e hidrogênio podem ser determinados por combustão completa a seco, nitrogênio pelos métodos de Dumas ou de Kjeldahl, oxigênio por pirólise redutiva e enxofre por combustão (Huffman Jr. e Stuber, 1985).

Entretanto, a utilização de analisadores elementares automáticos trouxe avanços consideráveis nesse sentido, permitindo análises rápidas e confiáveis (Jimenez e Ladha, 1993). Os analisadores elementares atuais são baseados na oxidação da amostra em alta temperatura (1000 °C), após os gases resultantes são separados por uma coluna cromatográfica e detectados, geralmente, por condutividade térmica (Skoog et al., 2002). Analisa simultaneamente C, H, N e S presentes em amostras orgânicas ou inorgânicas, podendo elas estar na forma líquida, gasosa ou sólida. O princípio da operação é baseado em três passos seqüenciais: a amostra, mantida em cápsula de estanho, é oxidada produzindo uma mistura de gases (N₂, CO₂, H₂O e SO₂) que são separados em uma coluna cromatográfica por combustão, por meio de um detector de termocondutividade, gerando um sinal elétrico proporcional à quantidade do gás eluente. Com o analisador elementar, detecta-se, na seqüência N₂, CO₂, H₂O e SO₂ na forma de gases, podendo ser convertidos em %N, %C, %H e %S. A determinação do elemento oxigênio (O) pode, neste caso ser calculado por diferença, caso a quantidade de cinzas de material seja baixa ou descontada do total:

$$\%O = [(100-(C+N+H+S))] \% \quad (1.3)$$

Por meio dessa metodologia pode-se calcular os estoques de carbono de amostras de solos, a razão C/N, pela qual se estabelece a disponibilidade do nitrogênio para as plantas e microrganismos, além de estimativas do grau de humificação da MOS. É uma metodologia que facilita a caracterização de uma substância, não só pela rapidez, como pelas informações que podem ser obtidas. Entretanto, a quantidade de amostra utilizada nessas análises pode influenciar na representatividade do resultado obtido, visto que na maioria dos equipamentos

de análises elementares, apenas 1 mg de amostra é utilizada, e para amostras heterogêneas como o solo, esse método pode apresentar a desvantagem de não apresentar boa repetibilidade e podendo gerar um alto desvio padrão na média das réplicas avaliadas. O custo de cada determinação e a manutenção do equipamento são elevados.

1.2.1.5. Carbono Orgânico Total (TOC)

Com a metodologia de quantificação de carbono orgânico total (TOC - Total Organic Carbon) pode-se fazer uso de amostras sólidas, método que fornece os teores de carbono total e inorgânico, permitindo, por diferença, obter o valor do carbono orgânico. O carbono total é determinado pela oxidação do carbono orgânico e inorgânico da amostra a CO₂, devido ao aumento da temperatura a 900°C. Para a determinação do carbono inorgânico é necessário acidificar o meio, com ácido fosfórico, e posteriormente, aquecer a amostra a 200°C, o que leva à liberação de CO₂ proveniente do carbono inorgânico. Essa análise possui algumas vantagens e, principalmente por sua rapidez nas medidas, é altamente reprodutível e facilmente automatizada. É também possível, por esse método, determinar carbono orgânico em amostras líquidas.

1.3. PARTE EXPERIMENTAL

1.3.1. Amostras e áreas experimentais

O trabalho foi realizado com 25 amostras de solos coletadas em horizontes superficiais e subsuperficiais de latossolos (solos com altos teores de Fe) representativos da região norte do estado de São Paulo. Essas amostras foram obtidas em experimentos de campo instalados na Estação Experimental do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) – Pólo Regional do Centro-Leste (APTA), em Ribeirão Preto, e na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP, em Jaboticabal, e. O clima das regiões de Jaboticabal e de Ribeirão Preto é do tipo Cwa, segundo a classificação climática de Köppen. As precipitações médias anuais são de 1360 e 1427 mm, com temperaturas máximas de 21 e 25°C e mínimas de 15 e 19°C, e altitudes locais de 575 e 646 m para Jaboticabal e Ribeirão Preto, respectivamente.

O experimento de Ribeirão Preto foi conduzido sob sistema de cultivo mínimo, plantio direto e plantio convencional, em Latossolo Vermelho eutroférico (LVef), classificado conforme o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (Embrapa, 1999), sendo as amostras de solo coletadas nas profundidades 0-10, 10-20 e 20-30 cm (amostras 1 a 9 da Tabela 1.1). O experimento de Jaboticabal foi conduzido sob sistema de cultivo mínimo em LVef e

Latossolo Vermelho distrófico (LVd), com e sem adição de lodo de esgoto, sendo que amostras de solo foram coletadas nas profundidades 0-10, 10-20, 20-40 e 40-60 cm (amostras 10 a 25 da Tabela 1.1).

Tabela 1.1. Dados referentes às amostras de solo analisadas em função dos tipos de solo, sistemas de manejo, tratamentos e profundidades.

amostras	solos	sistemas de manejo	tratamentos	profundidade (cm)
1	LVef	Plantio Direto	Sem adição de lodo	0-10
2	LVef	Plantio Direto	Sem adição de lodo	10-20
3	LVef	Plantio Direto	Sem adição de lodo	20-30
4	LVef	Cultivo Mínimo	Sem adição de lodo	0-10
5	LVef	Cultivo Mínimo	Sem adição de lodo	10-20
6	LVef	Cultivo Mínimo	Sem adição de lodo	20-30
7	LVef	Plantio Convencional	Sem adição de lodo	0-10
8	LVef	Plantio Convencional	Sem adição de lodo	10-20
9	LVef	Plantio Convencional	Sem adição de lodo	20-30
10	LVef	Cultivo Mínimo	Sem adição de lodo	0-10
11	LVef	Cultivo Mínimo	Sem adição de lodo	10-20
12	LVef	Cultivo Mínimo	Sem adição de lodo	20-40
13	LVef	Cultivo Mínimo	Sem adição de lodo	40-60
14	LVef	Cultivo Mínimo	Com adição de lodo	0-10
15	LVef	Cultivo Mínimo	Com adição de lodo	10-20
16	LVef	Cultivo Mínimo	Com adição de lodo	20-40
17	LVef	Cultivo Mínimo	Com adição de lodo	40-60
18	LVd	Cultivo Mínimo	Sem adição de lodo	0-10
19	LVd	Cultivo Mínimo	Sem adição de lodo	10-20
20	LVd	Cultivo Mínimo	Sem adição de lodo	20-40
21	LVd	Cultivo Mínimo	Sem adição de lodo	40-60
22	LVd	Cultivo Mínimo	Com adição de lodo	0-10
23	LVd	Cultivo Mínimo	Com adição de lodo	10-20
24	LVd	Cultivo Mínimo	Com adição de lodo	20-40
25	LVd	Cultivo Mínimo	Com adição de lodo	40-60

Após a coleta, as amostras de solo foram secas ao ar, peneiradas a 0,5 mm, trituradas e submetidas à determinação dos teores de carbono e MOS.

1.3.2. Determinação do teor de MOS por oxidação via úmida (Walkley-Black)

A quantificação da MOS foi realizada a partir do teor de carbono orgânico em 1 g de amostra de solo, utilizando-se o fator de van Bemmelen (1,724), já discutido no item 1.2.1.1 (Cantarella et al., 2001).

As análises químicas para a determinação do teor de carbono orgânico pelo método de Walkley-Black foram realizadas em duplicata no Laboratório de Preparo de Amostras da

Embrapa Pecuária Sudeste, em São Carlos-SP. Após a realização das análises, o resíduo de sulfocrômica foi tratado segundo o Protocolo de Tratamento de Resíduos do Laboratório de Tratamento de Resíduos Químicos da Embrapa Pecuária Sudeste.

1.3.3. Determinação da composição elementar (CNHS)

A análise química para avaliação da composição elementar (C, N, H e S) das amostras de solo foi realizada em duplicata a partir de 1 mg de amostra, por combustão a 1000 °C.

As medidas foram realizadas no equipamento Carlo-Erba - Instruments modelo EA 1110, pertencente ao Instituto de Química de São Carlos-SP (USP) e no equipamento da Carlo-Erba modelo EA 1108, pertencente à Universidade Federal de São Carlos (UFSCar).

1.3.4. Determinação do TOC por via seca

A determinação do TOC foi realizada em duplicata em 100 mg de amostra de solo por oxidação a 900°C. Para os cálculos, fez-se uso de uma curva de calibração obtida com padrão de biftalato de potássio.

As medidas foram realizadas no aparelho Total Organic Carbon Analyser, TOC-V, da marca Shimadzu, acoplado ao Solid Sample Module, modelo SSM-5000 A, da marca Shimadzu, pertencente ao Laboratório de Química Ambiental, do Instituto de Química de São Carlos-SP (IQSC-USP).

1.3.5. Determinação da MOS por termogravimetria

A análise termogravimétrica foi realizada em duplicata em 10 mg de amostra de solo, com taxa de aquecimento de 15°C min⁻¹ no intervalo de 25 a 700°C sob atmosfera de ar. Foi utilizado um módulo termogravimétrico TGA Q-500, pertencente à Embrapa Instrumentação Agropecuária. O carbono (% m/m) foi estimado através da equação $y = 3,72x + 0,29$, onde x corresponde ao carbono orgânico (base seca) e y a perda de massa de 100 a 300°C (Miyazawa et al., 2000).

1.3.6. Análise multivariada

A análise de componentes principais (PCA) (Ferreira et al., 2002) foi aplicada aos valores médios das 25 amostras. Foram tratadas duas matrizes 25×3 e 8×4. Os cálculos foram feitos no “software” “MATLAB 6.1”.

1.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De uma maneira geral, os valores de carbono (Tabela 1.2) obtidos pela aplicação do método de Walkley-Black foram menores em relação aos obtidos por análise elementar e TOC, deixando claro que o método de Walkley-Black não é capaz de oxidar as formas de carbono do solo que se encontram mais protegidas ou complexadas com a fração mineral do solo, ocorrendo apenas uma oxidação parcial da MO, excluindo carvão e carbonatos (Cantarella et al., 2001). A oxidação parcial da MO pelo método de Walkley-Black fez com que os valores obtidos fossem em média 22,9 e 17,7% menores que aqueles observados via TOC e Análise Elementar, respectivamente.

Tabela 1.2. Resultados de carbono obtidos pelos métodos de Walkley-Black, Análise Elementar, Carbono Orgânico Total (TOC) e Análise Termogravimétrica (TGA).

Amostras	Walkley-Black % (m/m)	Análise Elementar % (m/m)	TOC % (m/m)	TGA % (m/m)
1	1,7 ± 0,3	3,1 ± 0,5	2,5 ± 0,3	2,46 ± 0,08
2	1,7 ± 0,2	2,4 ± 0,2	2,2 ± 0,3	2,39 ± 0,02
3	1,0 ± 0,1	2,3 ± 0,5	1,9 ± 0,4	nd
4	1,3 ± 0,4	2,2 ± 0,3	2,5 ± 0,1	2,47 ± 0,01
5	1,3 ± 0,2	2,0 ± 0,2	2,4 ± 0,0	nd
6	0,9 ± 0,2	1,6 ± 0,3	1,8 ± 0,4	nd
7	1,4 ± 0,1	2,3 ± 0,1	2,6 ± 0,1	2,52 ± 0,07
8	1,5 ± 0,3	2,1 ± 0,1	2,4 ± 0,3	nd
9	1,3 ± 0,2	1,9 ± 0,2	2,3 ± 0,1	nd
10	1,9 ± 0,4	2,2 ± 0,1	1,9 ± 0,3	nd
11	1,8 ± 0,3	1,8 ± 0,1	1,9 ± 0,1	nd
12	1,3 ± 0,3	1,4 ± 0,2	1,4 ± 0,1	nd
13	0,9 ± 0,1	1,5 ± 0,8	1,0 ± 0,1	nd
14	2,0 ± 0,3	1,8 ± 0,2	2,0 ± 0,2	nd
15	1,8 ± 0,4	1,6 ± 0,3	1,9 ± 0,2	nd
16	1,6 ± 0,2	1,5 ± 0,9	1,7 ± 0,2	2,16 ± 0,02
17	1,0 ± 0,1	1,0 ± 0,1	1,2 ± 0,1	2,34 ± 0,08
18	1,3 ± 0,2	0,9 ± 0,4	1,2 ± 0,1	0,82 ± 0,10
19	1,1 ± 0,2	1,1 ± 0,2	1,0 ± 0,1	0,78 ± 0,11
20	0,9 ± 0,2	0,7 ± 0,2	1,0 ± 0,1	nd
21	0,7 ± 0,1	0,7 ± 0,2	0,8 ± 0,1	nd
22	1,7 ± 0,2	1,1 ± 0,1	1,7 ± 0,1	nd
23	1,3 ± 0,1	1,2 ± 0,1	1,4 ± 0,2	nd
24	0,98 ± 0,04	1,0 ± 0,3	1,2 ± 0,2	nd
25	0,7 ± 0,1	0,8 ± 0,1	1,0 ± 0,1	nd

*nd = não determinado.

A Figura 1.1a apresenta os resultados de PCA referente ao Walkley-Black. Segundo os valores de PC1, o gráfico 1.1b referente à Análise Elementar, agrega maior quantidade de informação sobre o sistema (95,10%). Contudo, através do gráfico 1.1c, referente à análise de TOC, consegue-se visualizar mais claramente as diferenças entre as amostras. A PC1 (89,95%) pode ser responsável pela diferenciação entre a origem dos solos, enquanto a PC2 (10,05%) pode estar relacionada à diferenciação entre os sistemas de manejo e profundidade. A Figura 1.1d, referente aos métodos de Walkley-Black, Análise Elementar e TOC, mostra que a PC1 (78,95%) pode ser responsável pela diferenciação entre os tipos de solos, enquanto a PC2 (17,13%) deve estar relacionada com a área de origem. Na PC1 as faixas de LVef, 1 a 17, apresentam-se no segundo e terceiro quadrante, contrastando com as faixas de LVd, 18 a 25, que se apresentam no primeiro e quarto quadrantes. Na PC2 as faixas da área experimental de Ribeirão Preto, 1 a 9, apresentaram-se no segundo quadrante, diferenciando das demais faixas, da área experimental de Jaboticabal.

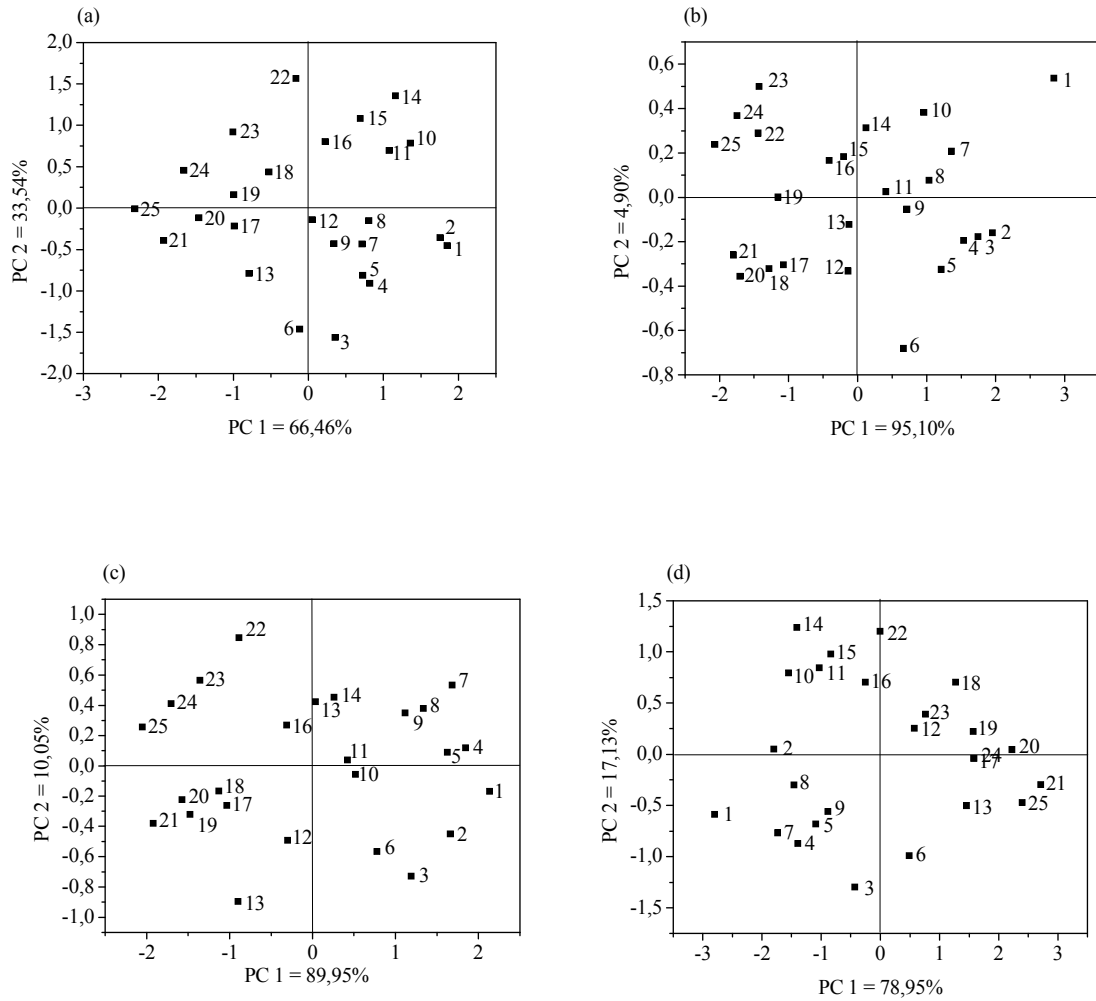


Figura 1.1. Análise de componentes principais: PC1 × PC2 Scores das metodologias de determinação de carbono por (a) Walkley-Black, (b) Análise Elementar, (c) TOC e (d) Walkley-Black, Análise Elementar e Carbono Orgânico Total (TOC) para determinação do carbono em amostras de solo.

A Tabela 1.3 contém os coeficientes de variação (CV) das determinações de C pelos métodos de Walkley-Black, Análise Elementar, TOC e TGA.

Tabela 1.3. Coeficiente de variação dos resultados obtidos para determinação de carbono pelos métodos de Walkley-Black, análise elementar, carbono orgânico total (TOC) e análise termogravimétrica (TGA).

Amostras	Coeficiente de Variação (CV)			
	Walkley-Black	Análise Elementar	TOC	TGA
1	15,7	17,6	12,0	3,3
2	10,1	8,2	13,3	0,8
3	14,3	21,5	21,4	nd
4	31,1	12,3	5,9	0,4
5	14,2	12,1	0,4	nd
6	18,1	16,8	20,9	nd
7	3,5	5,8	4,2	2,8
8	19,6	5,7	13,1	nd
9	12,0	10,9	4,8	nd
10	21,1	21,1	15,8	nd
11	16,7	16,7	5,3	nd.
12	23,1	23,1	7,1	nd
13	11,1	11,1	10,0	nd
14	15,0	15,0	10,0	nd
15	22,2	22,2	10,5	nd.
16	12,5	12,5	11,8	0,9
17	10,0	10,0	8,3	3,4
18	15,4	15,4	8,3	12,2
19	18,2	18,2	10,0	14,1
20	22,2	22,2	10,0	nd
21	14,3	14,3	12,5	nd
22	11,8	11,8	5,9	nd
23	7,7	7,7	14,3	nd
24	4,1	4,1	16,7	nd
25	14,3	14,3	9,1	nd.
CV médio	15,1	14,0	10,5	4,7

*nd = não determinado.

Pela Tabela 1.3, a análise via TOC apresentou resultados mais satisfatórios, com menor coeficiente de variação se comparado ao Walkley-Black e a Análise Elementar. Isto pode ser atribuído à maior massa de amostra analisada via TOC se comparada à Análise Elementar (100 mg e 1 mg, respectivamente) e também ao fato da oxidação da MO ser mais eficiente no procedimento de TOC, quando comparado com o método de Walkley-Black.

A Figura 1.2 apresenta um diagrama termogravimétrico característico de uma amostra de solo. Nele observam-se 4 regiões de perda de massa no intervalo de 25 a 600°C. A primeira região (< 110 °C) mostra a perda de massa referente à água livre ou água de volatilização. Na segunda região (150-280°C), a perda de massa é devida à decomposição da MO, principalmente dos grupos funcionais carboxílicos e fenólicos dos ácidos húmicos, fúlvicos, hidrocarbonetos e MO volátil. Neste intervalo, a perda de massa também pode ser devida à

liberação de compostos orgânicos de baixo peso molecular. A terceira região (270-370°C) apresenta a perda de massa principalmente devida à oxidação de carbono da MeO ($R-CH + O_2 \rightarrow CO_2 + H_2O$). Finalmente, na quarta região (380-530°C), a perda de massa é devida à perda de água de constituição de hidróxidos metálicos ($Me-OH \rightarrow MeO + H_2O$, onde Me= metais como Al, Fe, Mn e outros) (Beyer et al., 1998; Miyazawa et al., 2000).

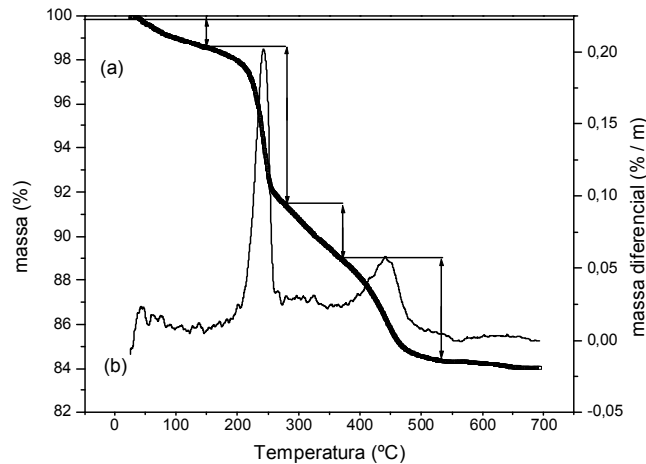


Figura 1.2. Diagrama termogravimétrico das 4 regiões características no intervalo de 25 a 600°C: primeira região (< 110°C); segunda região (150-280°C); terceira região (270-370°C) e quarta região (380-530°C), para a amostra de solo mantido sob sistema de plantio direto, profundidade 0-10 cm, de um Latossolo Vermelho eutrófico (LVef). (a) perda de massa relativa e (b) perda de massa diferencial.

Fazendo-se a comparação dos resultados obtidos pelos diferentes métodos, observou-se pela PCA, que com apenas duas componentes principais, foi possível descrever 92,65% dos resultados obtidos, sendo 78,35% da variância total descrita pela primeira componente principal (PC1) e 14,30% pela segunda componente principal (PC2). Confirma-se maior proximidade entre os métodos de Análise Elementar e TOC, diferenciando dos demais (Walkley-Black e TGA).

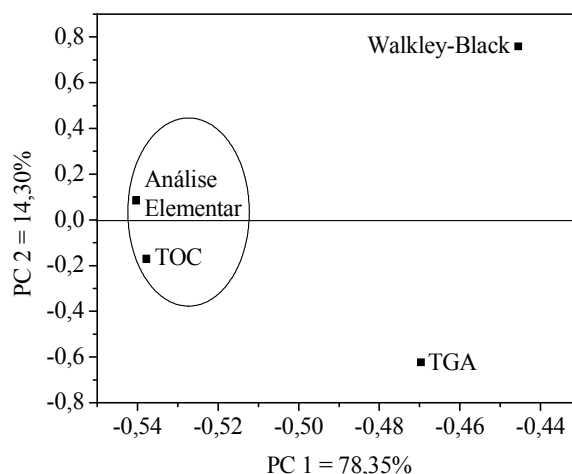


Figura 1.3. Análise de componentes principais: PC1 x PC2 Loadings correspondentes aos métodos de Walkley-Black, análise elementar, carbono orgânico total (TOC) e Análise Termogravimétrica (TGA) para determinação de carbono em amostras de solo.

1.5. CONCLUSÕES

Dentre os métodos de determinação de carbono, Walkley-Black, TOC e Análise Elementar, o TOC apresentou desvios menores. Isto se deveu provavelmente à maior massa de amostra analisada via TOC se comparada à análise elementar. A oxidação parcial da MO pelo método de Walkley-Black fez com que os valores obtidos fossem em média 22,9 e 17,7% menores que aqueles observados via TOC e Análise Elementar, respectivamente. Quando foi comparado solos de mesma origem e textura, a dispersão dos dados foi menor. Uma visão ambiental mais crítica sugere também a substituição desse método de oxidação por via úmida, visto sua desvantagem relacionada à produção do resíduo que contém Crômio em meio fortemente ácido. A dificuldade de distinção entre a perda de água de constituição das argilas e a degradação da MO, fez com que os resultados obtidos por termogravimetria apresentassem valores bastantes dispersos, em função das características de cada solo. Os resultados obtidos não inviabilizam o uso de qualquer método de determinação, mas evidenciam a necessidade de uma visão crítica sobre as limitações e vantagens de cada método na determinação de carbono em solos. Devido aos resultados apresentados, foram utilizados, no decorrer do trabalho, os métodos de TOC e Análise Elementar para as determinações de carbono das amostras de solo.

CAPÍTULO 2 Seqüestro de carbono no solo em áreas de pastagem de *Brachiaria decumbens*

2.1. INTRODUÇÃO

2.1.1. O ciclo do carbono e as Mudanças Climáticas Globais

Nos últimos anos, o ciclo do carbono (C) tem sido exaustivamente avaliado por diversos pesquisadores, uma vez que o C, sobretudo na forma de gás carbônico (CO₂), é o elemento chave nos processos que envolvem as mudanças climáticas globais (Batjes, 1998; Lal et al., 2004a; Cerri et al., 2005).

Para que se conheça o ciclo global do C, é necessário inicialmente, estimar os estoques contidos nos principais compartimentos do globo terrestre, sendo estes: os oceanos, a atmosfera, as formações geológicas contendo C fóssil e mineral, e os ecossistemas terrestres (biota + solo) (Machado, 2005). Na Figura 2.1 constata-se que o maior compartimento de C existente na Terra está presente nos oceanos, com 38000 Pg C (sendo 1 Pg = 10¹⁵ g = 1 bilhão de toneladas), seguido do compartimento presente nas formações geológicas (5000 Pg C). Considerando apenas a atmosfera e os ecossistemas terrestres, estimativas evidenciam que há aproximadamente 760 Pg C na atmosfera, 560 Pg C na biota e 2500 Pg C no solo, sendo para esse último considerado até 1 metro de profundidade (IPCC ou Intergovernmental Panel on Climate Change, 2001; Lal, 2004a). Observa-se que o solo contém quatro vezes mais C que a biosfera (vegetação) e aproximadamente três vezes o C da atmosfera. A partir desses valores, referentes ao solo, fica evidente a importância da quantificação dos seus estoques de carbono (EC), principalmente no que diz respeito ao estudo do seqüestro de C pelos solos.

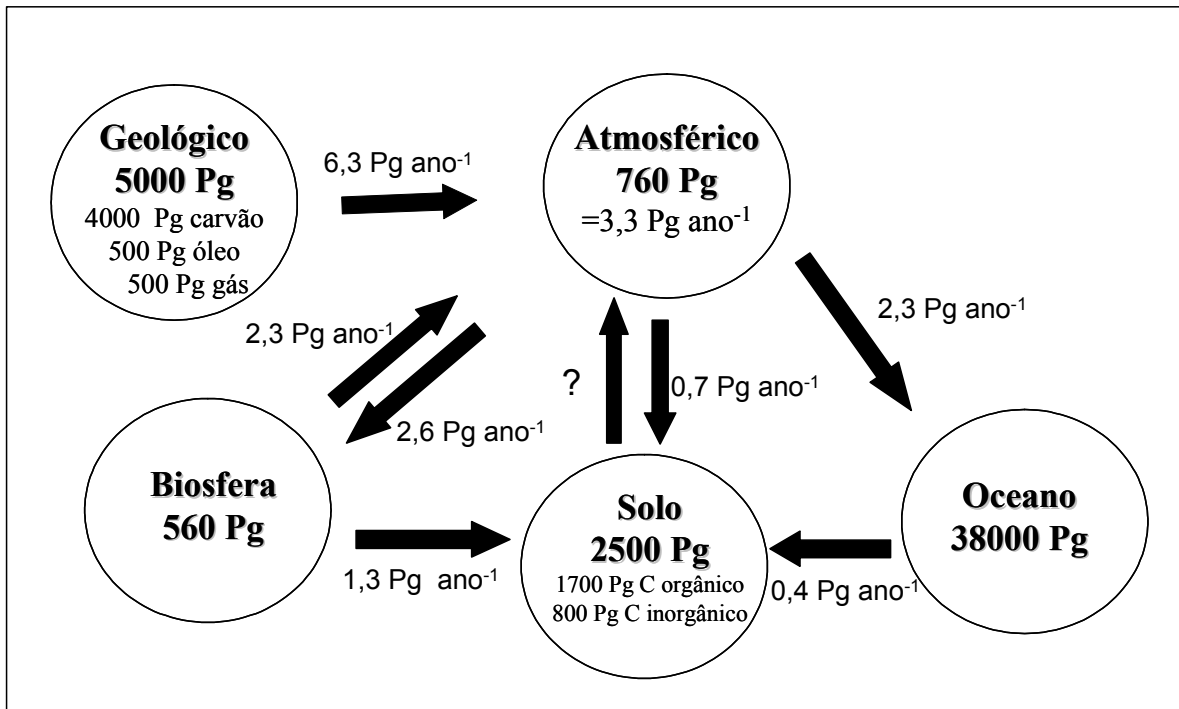


Figura 2.1. Principais reservatórios globais de carbono (C): oceano, geológico, solo, atmosférico e biosfera. Figura adaptada de Lal (2004a).

2.1.2. O efeito estufa natural e o antrópico

Pode-se dizer que há dois tipos de efeito estufa: o natural e o antrópico. O efeito estufa natural existe desde antes do aparecimento do homem devido às concentrações naturais de gases na atmosfera. A Terra recebe radiação solar e os diferentes gases presentes na atmosfera, metano (CH₄), óxido nitroso (N₂O), vapor d'água e principalmente CO₂, conhecidos como gases do efeito estufa (GEE), absorvem a radiação infravermelha (energia de comprimento de onda mais longo) emitida pela Terra, que por sua vez, emitem essa radiação para cima e para baixo. Este processo de absorção e emissão gera um aumento na temperatura próxima à superfície da Terra (média de 15°C) resultando num efeito estufa natural e importante para o surgimento e manutenção da vida. Se não houvesse este efeito, a temperatura da Terra seria 33°C mais fria, o que inviabilizaria a vida da maioria dos seres vivos. No entanto, principalmente após a Revolução Industrial, em meados do século XIX, a concentração desses gases tem aumentado significativamente. A consequência mais evidente desse fato é a intensificação do “Efeito Estufa”, ou seja, o aumento da quantidade dos raios infravermelhos impedidos de se dissiparem para a estratosfera e que, refletidos para a Terra, aumentam a temperatura do ar atmosférico. Esse aumento da temperatura global, que é denominado Aquecimento Global, atua nas Mudanças Climáticas, tais como distribuição

irregular das chuvas, aumento ou diminuição de temperaturas da atmosfera, elevação do nível do mar, entre outros (Baird, 2002; Cerri et al., 2005).

Da quantidade total de GEE que é lançada na atmosfera, 66% provêm da queima dos combustíveis fósseis, 20% são gerados pela agricultura e 14% vêm da mudança do uso do solo. A agricultura e a mudança do uso do solo somam 34%, ou seja, um terço de todas as emissões, sendo essa a situação global. O padrão de emissão de gases pelas atividades humanas no Brasil é completamente diferente da situação global, já que 75% do CO₂ emitido para a atmosfera vem da agricultura e da mudança do uso do solo. Devido a essa proporção, o Brasil está situado em 18º lugar na classificação mundial dos países emissores de GEE, não levando em consideração o desmatamento. No entanto, está colocado em 5º lugar ao considerar o desmatamento, sendo essa ação antrópica bastante criticada nos últimos tempos (Cerri et al., 2007).

2.1.3. Ratificação do Protocolo de Kyoto

Sete anos e quase dois meses após ser assinado, o Protocolo de Kyoto (Dumanski, 2004) começou a vigorar a partir de 16 de fevereiro de 2005, envolvendo 141 países que o ratificaram. O acordo, cujo objetivo é reduzir entre 2008 e 2012, 5,2% das emissões dos gases causadores do efeito estufa, relativo aos níveis do ano de 1990, deixa de fora o maior poluidor do planeta, os Estados Unidos, já que, alegando fragilidade econômica, não foram a favor da participação no Protocolo. O Mecanismo de Desenvolvimento Limpo (MDL) foi uma solução possível para que, países em desenvolvimento como o Brasil, também participassem das reduções nas emissões, obtendo “créditos de carbono” (Machado, 2002). Criado com base em uma proposta brasileira durante a Conferência de Kyoto, em 1997, o MDL prevê investimentos dos países com metas a cumprir na reformulação do modelo energético das nações em desenvolvimento, para a obtenção desses créditos. É um dos mecanismos de flexibilização para auxiliar o processo de redução das emissões de GEE ou de seqüestro de C por parte dos países do Anexo 1 (IPCC, 2001; Machado, 2002).

Devido à sua extensão territorial e aptidão agrícola/florestal, o Brasil apresenta potencial para assumir projetos que visam o seqüestro de C pelo solo, sendo portanto, amparado pelo MDL (IPCC, 2001). Nesse contexto, espera-se que em um futuro próximo, as técnicas conservacionistas, como o plantio direto (PD) (sistema de manejo onde não há o revolvimento do solo e onde a entrada de material orgânico ao solo é constante e maior que em sistemas de manejo convencionais), possam obter compensações pela prestação de serviços ambientais.

2.1.4. Seqüestro de carbono por sistemas de manejo do solo

O aumento de 35% de CO₂ na atmosfera por combustíveis fósseis e mudança no uso do solo desde a revolução industrial demanda esforços e estratégias na mitigação do aquecimento global (Lal, 2004a; Lal, 2004b; IPCC, 2007). Dados extraídos do IPCC (2007) mostraram que a média anual das emissões globais de CO₂ é de 29,4 Pg ano⁻¹. Considerando somente as emissões de CO₂ associadas com o desmatamento e mudança no uso do solo, estima-se um valor de 5,9 Pg ano⁻¹, após 1990. Entretanto, a agricultura pode ser uma aliada importante para a mitigação da concentração de CO₂ na atmosfera. Pela fotossíntese pode-se converter o CO₂ da atmosfera em massa vegetal, e, além disso, por meio de um manejo adequado desta massa pode-se reter parte do C no solo caracterizando um “seqüestro de C” da atmosfera pelo solo (Lal, 2004a; Lal, 2004b; Lal, 2004c).

O processo básico do seqüestro de C no solo acontece da seguinte forma: o CO₂ é capturado pelas plantas no processo de fotossíntese que transforma esse gás, na presença de água e minerais, em biomassa vegetal. A decomposição de resíduos de plantas e animais no solo constitui um processo biológico, no qual o C é reciclado para a atmosfera como CO₂. Nesse processo, parte do C é incorporado ao tecido microbiano e parte é convertida em húmus. Ao mesmo tempo, parte do húmus nativo é mineralizado. Em consequência, o conteúdo total de matéria orgânica (MO) é mantido em estado de equilíbrio característico do solo e do sistema de manejo aplicado (Resck, 2005).

Alternativas viáveis para a mitigação das emissões de CO₂ pela agricultura seria a possibilidade de seqüestro de C pelo solo por meio de ações de reflorestamento, recuperação de áreas degradadas, sistemas de integração lavoura-pecuária (Nicoloso, 2005), como a utilização de pastagens de gramíneas da espécie *Brachiaria* spp. (Bolinder et al., 1999; Boddey et al., 2001; Boddey et al., 2004; D’Andrea et al., 2004; Silva et al., 2004; Lal, 2004a) e o uso de práticas conservacionistas de manejo, como o sistema de PD (Lal, 2004c; Dieckow et al., 2005a; Bayer et al., 2006a; Bayer et al., 2006b; Bayer et al., 2006c). Este processo de seqüestro e recuperação do estoque de MO em solos agrícolas pode ser verificado logo nos primeiros anos de adoção de práticas conservacionistas e pode se estender por décadas. Os processos de incremento do teor de MO e agregação ocorrem de forma interdependente resultando em gradativo aumento da qualidade do solo. Evidentemente que as condições de clima, relevo, solo, drenagem e manejo irão determinar as taxas de aumento do teor de MO.

O balanço de C nos sistemas agrícolas deve ser avaliado com a finalidade de definir as potencialidades de seqüestro de CO₂ atmosférico em cada sistema de manejo do solo e o seu impacto na mitigação dos problemas causados pelo Efeito Estufa. Com isso, o conhecimento

da dinâmica da matéria orgânica do solo (MOS) pode indicar alternativas para o aumento do seqüestro ou estoque de C (Lal, 2004a; Lal, 2004b; Lal, 2004c).

Bayer et al. (2006a) avaliaram o potencial de seqüestro de C proveniente de áreas de grãos sob PD, na região do Cerrado Brasileiro, nas cidades de Luziânia-GO e Costa Rica-MS. Além das áreas experimentais analisadas, um amplo levantamento de dados disponíveis na literatura foi feito. Adicionalmente, foi possível avaliar a influência dos sistemas de manejo nos EC, comparando as taxas de seqüestro de C de solos tropicais e subtropicais brasileiros, sob PD, com taxas de seqüestro de C para sistemas de PD em áreas temperadas da América do Norte. A taxa de seqüestro de C em regiões tropicais sob PD foi estimada em $0,35 \text{ Mg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$, similar à taxa de seqüestro de C para solos temperados, porém foram menores que à taxa de seqüestro de C da região subtropical do Brasil, com $0,48 \text{ Mg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$.

Na literatura, existem alguns trabalhos utilizando o solo como reservatório de C e a avaliação dos EC com a introdução de pastagens (Brossard et al., 2004). De acordo com Conant et al. (2001), taxas de seqüestro de carbono orgânico do solo (COS) por meio das pastagens foram avaliadas em 17 países, incluindo Reino Unido, Nova Zelândia, Canadá, Brasil e Estados Unidos, que contém 26% da área de gramínea do mundo. As taxas variaram de $0,11$ to $3,04 \text{ Mg C ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$, com média de $0,54 \text{ Mg C ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$, sendo altamente influenciadas pelo tipo de bioma e clima.

2.1.4.1. Seqüestro de carbono por pastagens de *Brachiaria decumbens*

A área de Cerrado no Brasil, com 210 milhões de hectares (Mha), representando aproximadamente 4% da área agricultável do mundo (Bayer et al., 2006a) e na qual possui várias atividades agrícolas em expansão, tem incluído pastagens cultivadas, principalmente de gramíneas de origem africana, do gênero *Brachiaria* spp. (Boddey et al., 2001; Silva et al., 2004). Essas áreas sob pastagens de gramíneas ocupam mais de 80 Mha no Brasil, representando aproximadamente 70% de nossas pastagens, quase 10% do território nacional (Boddey et al., 2001).

Existe na literatura estudos que mostram indicadores de declínio / degradação e possíveis soluções para o restabelecimento de pastagens de *Brachiaria* no Brasil (Rezende et al., 1999; Oliveira et al., 2004; Boddey et al., 2004). Considerando pastagens bem manejadas, dados de acúmulo de C têm sido avaliados (Fisher et al., 1994; Tarré et al., 2001). Rezende et al., (1999) verificaram que as pastagens bem manejadas apresentam grande potencial para retirar CO_2 da atmosfera e enriquecer o solo com MO. Esses autores também mostraram que após 10 anos de retirada da vegetação nativa de cerrado e da instalação das pastagens

cultivadas de *Brachiaria*, o estoque de MOS foi repostado pela forrageira e tendeu a aumentar, por meio da decomposição de seus resíduos aéreos e raízes, acumulando grande quantidade de C. Segundo Kluthcouski et al. (2006), os teores de MO nas pastagens de *Brachiaria* também podem ser maiores que o dos Cerrados virgens. Essas forrageiras tropicais são conhecidas também pela sua capacidade de adaptação às condições de clima e solos tropicais, produção de matéria seca em abundância, durante todo o ano, se as condições de temperatura e umidade do solo forem favoráveis. Segundo estudos de Barber e Navarro (1994), foi verificado que o *Panicum maximum* e a *Brachiaria brizantha* foram eficientes quanto ao aumento do teor de MO em um solo degradado. A *Brachiaria brizantha* foi a melhor opção a ser introduzida na rotação cultura-pastagem para melhorar a qualidade do solo, no refere à quantidade e distribuição de biomassa radicular. Qualquer mudança nos EC provocada por introdução dessas espécies de gramíneas proporciona um enorme impacto no balanço de GEE (Boddey et al., 2001).

Fisher et al. (1994) estimaram que os EC até uma profundidade de 80 cm no perfil de um solo sob pastagem de *Brachiaria humidicola*, de 9 anos de idade, foi 26 Mg C ha⁻¹ maior que o estoque de C no solo sob vegetação nativa em Carimagua, nos Llanos Orientales da Colômbia. As taxas de seqüestro de C avaliadas foram de 0.1-0.507 Pg ano⁻¹, uma quantidade expressiva ao considerar as condições de clima e solo predominantes, e potencialmente válidos, para os 250 Mha de vegetação de savanas da América do Sul.

O uso de fertilizantes e calcário no solo são de grande importância na sustentabilidade agrícola. De acordo com Sá et al. (2001a; 2001b), o retorno dos resíduos culturais em uma taxa de 10-12 t ha⁻¹ de matéria seca representa a entrada de 265 kg C ha⁻¹ nos primeiros 10 cm de profundidade do solo. De acordo com Primavesi et al. (2004) o uso do calcário e de fontes nitrogenadas podem favorecer o enriquecimento do perfil do solo com cálcio, o que também estimula o desenvolvimento radicular em profundidade. Isso representa um aumento na capacidade de retenção de água de 65-90mm, potencializando mais de 5-12 % na produção de milho ou soja, e um aumento na renda de US\$ 40 a 80 por hectare (Sá et al., 2001a; Sá et al., 2001b). Haynes e Naidu (1998) observaram que a prática da calagem pode causar aumento da atividade microbiana, mas seu efeito na agregação do solo ainda não foi totalmente esclarecido. Em longo prazo, a calagem pode aumentar a produção da colheita, retorno de material orgânico, conteúdo de MOS e portanto, agregação do solo. Os fertilizantes são utilizados com a finalidade de manter ou melhorar a produção da colheita e retorno de MO para a superfície, por uso regular de N, resultando também em maiores quantidades de MOS. Armelin et al. (2007) observou que o efeito dos tratamentos com a aplicação da calagem no

solo foi melhor com o uso de fertilizantes NK, já que a calagem tem sido feita com a incorporação do N na recuperação de pastagens degradadas. Entretanto, ainda não são conhecidos realmente os efeitos do N no impacto das Mudanças Climáticas, sendo que neste trabalho, esses possíveis fatores não foram avaliados. Contudo, de acordo com Magnani et al. (2007), estudos de cronosequência em áreas com alta deposição de N poderiam ser realizados para entender se os efeitos benéficos do N no reservatório de C poderiam persistir no futuro.

2.1.5. A matéria orgânica do solo (MOS)

A dinâmica da MOS é o resultado da interação entre os diversos fatores ambientais e as interferências antropogênicas. O adequado entendimento dessa dinâmica permite melhor manejo de solo, uma vez que a MOS afeta diretamente sua qualidade e produtividade (Roscoe et al., 2006). A expressão “dinâmica da MOS” refere-se às alterações quantitativas e qualitativas que ocorrem nos EC ao longo do tempo.

A MOS é decomposta no solo em taxas bastante lentas, o que permite que este seja um importante reservatório de C nos sistemas terrestres (Roscoe et al., 2006). A MOS engloba resíduos de plantas, animais e microrganismos de diversos estágios de decomposição e transformações químicas, desde resíduos lábeis até material recalcitrante quimicamente (humificado) (Christensen, 1996). Nesse sentido, conseqüentemente, o C pode ser acumulado em frações lábeis ou estáveis da MOS. O conceito dessas frações está baseado na taxa de decomposição no solo de um constituinte orgânico, como o C. Os compostos lábeis se decompõem dentro de poucas semanas ou meses, já os compostos recalcitrantes são mais estáveis e demoram mais tempo para se decompor. Quanto mais recalcitrante, ou de difícil decomposição for o material, maior será o tempo de seqüestro do C no solo (Silva e Pasqual, 1999; Lorenz e Lal, 2005; Milori et al., 2006). A humificação, controlada por variáveis como temperatura, pH, umidade e disponibilidade de nutrientes, pode então ser entendida como a degradação de compostos lábeis e acúmulo de materiais quimicamente recalcitrantes (Zech et al, 1997).

A MOS exerce um papel importante na química dos solos, na estrutura destes (fornecimento de estruturas agregantes), no suprimento de macro e micronutrientes, na capacidade de troca catiônica (CTC) e tamponamento do meio, entre outros. Em termos de benefício ao meio ambiente, a MOS pode adsorver traços de elementos poluentes, pesticidas e outros elementos químicos orgânicos, reduzindo a possibilidade de carreamento destes compostos e prevenindo a contaminação do meio ambiente (Silva e Pasqual, 1999).

Dependendo das práticas de manejo adotadas, o solo pode agir como fonte ou dreno do CO₂ atmosférico, contribuindo diretamente no efeito estufa. Contudo, do ponto de vista agrícola, o solo pode tornar-se uma fonte de CO₂ para a atmosfera quando as perdas por oxidação forem maiores que as adições de C (Sá et al., 2005).

Nos sistemas nativos ou conservacionistas, ou seja, quando é mantido ao solo sua cobertura vegetal, sem queimadas e revolvimento, evitando portanto, a oxidação da MO, os microrganismos do solo decompõem os resíduos orgânicos; porém existe um equilíbrio, já que essa decomposição é compensada pela caída de folhas, galhos, etc. Nos sistemas de manejo convencionais, como o plantio convencional (PC) e cultivo mínimo (CM), ocorrem as arações e gradagens, ativando a população de microrganismos fazendo com que estes consumam mais rapidamente as reservas de nutrientes do solo. Os microrganismos decompõem a MO, quebrando suas moléculas, que contêm C e N, e como resultado do processo, liberam gases, dentre eles, os GEE. A combinação de reposição mais lenta com microrganismos mais ativos fazem com que eles passem a consumir também as reservas estocadas no húmus do solo. Ao fazê-lo, geram os gases mencionados — que, antes, estavam 'presos' no solo na forma de húmus ou MO. Reicosky et al. (1995), estudando estes processos, concluiu que é praticamente impossível aumentar o teor de MO do solo quando a aração e gradagem são utilizadas como sistema de preparo. Este fato está associado à eliminação de fatores que determinam a estabilidade física da MO, principalmente a ruptura de agregados organo-minerais e o incremento da oxigenação do solo.

2.1.6. Objetivos

Isso posto, este trabalho teve como objetivo quantificar os EC e estimar as taxas de seqüestro de C de uma área experimental de pastagens de *Brachiaria decumbens* de 27 anos de idade, comparando com uma vegetação nativa de cerrado. Além disso, foi possível avaliar neste trabalho alguns tratamentos de pastagem (com calagem e/ou adubação) com a finalidade de observar diferenças na dinâmica da MOS (Segnini et al., 2007). A calagem tem sido utilizada no solo para corrigir sua acidez (Caires et al., 2006), entretanto a eficiência da aplicação e sua quantidade tem sido questionada. Adicionalmente, a adubação NK tem sido fundamental para o aumento do teor de MO nos solos, considerada como um fator limitante para o crescimento da *Brachiaria decumbens* (Oliveira et al., 2004).

2.2. TEORIA DOS MÉTODOS UTILIZADOS

Atualmente, o que está validado para o Protocolo de Kyoto é a avaliação dos fluxos de C para a atmosfera, ou seja, as mudanças nos níveis de C para a possível mitigação do Efeito Estufa, contudo as determinações dos EC no compartimento do solo também merecem destaque, já que a avaliação dos diferentes compartimentos de C no solo e suas dinâmicas são imprescindíveis para a identificação de usos e manejos do solo que promovam o seqüestro de C.

2.2.1. Quantificação dos estoques de carbono dos solos

A quantificação dos EC do solo consiste de duas etapas: a amostragem de solo no campo para a análise do C total e da densidade do solo, e da determinação de C total nessas amostras e quantificação dos estoques em Mg C ha⁻¹. A densidade do solo (g cm⁻³), antigamente denominada de densidade aparente ou global do solo, corresponde à massa de solo seco por unidade de volume, ou seja, o volume do solo ao natural, incluindo os espaços porosos. A coleta de amostras de solos no campo e determinação da densidade do solo é essencial para se calcular a massa ou o estoque de C total do solo a partir da concentração de C total do solo (C: g C kg⁻¹ de solo). Na quantificação dos EC há necessidade de se estabelecer a profundidade do solo a que se refere o estoque. O cálculo dos EC para uma determinada profundidade dá-se da seguinte maneira:

$$EC \text{ (Mg ha}^{-1}\text{)} = 10 \times [C \times d \times l] \quad (2.1)$$

onde [C] é a quantidade de C em g kg⁻¹, (*d*) a densidade em g cm⁻³ e (*l*) a espessura da camada em metros (Silva et al., 2004; Machado, 2005; Janzen, 2005).

A medição da densidade do solo é imprescindível em qualquer situação, pois somente através dessa medida será possível quantificar a massa de solo presente em determinada profundidade.

Após a coleta das amostras no campo, estas são transferidas para o laboratório onde são preparadas (secas ao ar, moídas e passadas em peneiras de 500 µm ou 1 mm) para a quantificação do C. As amostras para a densidade do solo são igualmente transferidas para o laboratório, secas a 100 °C até peso constante para a determinação da massa de solo. Alguns métodos quantitativos para a determinação de C foram apresentados no capítulo 1, juntamente com suas vantagens e limitações (Machado, 2005).

2.3. PARTE EXPERIMENTAL

2.3.1. Área experimental

Esse estudo é referente ao experimento instalado na Embrapa, no Centro de Pesquisa de Pecuária do Sudeste (Embrapa Pecuária Sudeste) (21°58'Sul, 47°50'Oeste), localizado em São Carlos, no estado de São Paulo, região sudeste do Brasil. A área experimental compreendeu um sistema de pastagens de *Brachiaria decumbens*, estabelecido em 1978. A temperatura média anual é de 20°C e o índice pluviométrico é de 1360 mm. O solo é do tipo Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico, com 25% de argila e apresentando acidez elevada.



Figura 2.2. Vista aérea do experimento de pastagens de *Brachiaria decumbens* localizado na Embrapa Pecuária Sudeste, em São Carlos-SP.

2.3.2. Histórico do experimento

O experimento analisado foi uma área de gramíneas da espécie forrageira *Brachiaria decumbens*, com 27 anos de idade. Essa área era coberta anteriormente com floresta tropical semi-decídua, até 1930, seguida por vegetação de pastagem em que predominavam grama-batatais e capim-jaraguá, onde foi reformada em 1978 para formação de pastagem com *Brachiaria decumbens* em sobressemeadura na cultura do milho, o que arcou com os custos de correção do solo (calagem) e adubação. Em 1999 foram estabelecidos alguns tratamentos para estudar a melhor forma de recuperação dessa pastagem, não submetida a queimadas, utilizando calagem e adubação com doses elevadas de nitrogênio-potássio (NK). Essa área experimental não estava sob a presença de animais, com a manutenção da gramínea sobre o

solo, sendo somente realizado os cortes. Esse capim cortado foi retirado da área experimental, para não haver efeitos paralelos que não pudessem ser controlados.

2.3.3. Descrição dos tratamentos utilizados

Os tratamentos avaliados neste trabalho foram: **cerradão** - mata mesófila semi-decídua (formação florestal mais seca que a Mata Atlântica e menos xenomorfa que o cerrado), denominada cerradão ou área de transição; **T00** - área de pastagem de *Brachiaria decumbens* sem adição de N e calcário; **t0** - área de pastagem de *Brachiaria decumbens* com zero de calcário superficial, recebendo 400 kg ano⁻¹ de N-sulfato de amônio e de K₂O; **t2m** - área de pastagem de *Brachiaria decumbens* com 2 t ha⁻¹ de calcário superficial, adubação NK e reforço anual de 1 t ha⁻¹ de calcário; e **t4sa** - área de pastagem de *Brachiaria decumbens* com 4 t ha⁻¹ de calcário superficial, sem adubação NK.



Figura 2.3. Área do experimento de pastagens de *Brachiaria decumbens*, localizado na Embrapa Pecuária Sudeste em São Carlos-SP, referente ao tratamento t4sa (4 t ha⁻¹ de calcário superficial sem adubação NK).

A análise química do solo, a partir dos tratamentos descritos anteriormente, estão descritos nas Tabelas 2.1, 2.2, 2.3 e 2.4, incluindo dados de pH, saturação por bases, teor de cálcio e potássio trocável.

Tabela 2.1. Dados do pH do solo em CaCl₂ nos diferentes tratamentos analisados e em cada profundidade.

profundidade (cm)	pH em CaCl ₂				
	cerradão ^a	T00 ^b	t0 ^c	t2m ^d	t4sa ^e
0-10	4,6	4,3	3,7	3,9	5,5
10-20	4,2	4,2	3,7	3,7	4,6
20-40	4,1	4,3	3,7	3,8	4,3
40-60	4,2	4,8	3,9	4,0	4,3
60-80	4,2	4,9	4,1	4,3	4,3
80-100	4,2	4,8	4,3	4,5	4,5

^a referência: área de transição da mata florestal mesófila semi-decídua;

^b área de pastagem de *Brachiaria decumbens* sem N e sem calcário;

^c área de pastagem de *Brachiaria decumbens* com zero de calcário superficial, recebendo 400 kg ano⁻¹ de N-sulfato de amônio e de K₂O;

^d área de pastagem de *Brachiaria decumbens* com 2 t ha⁻¹ de calcário superficial, adubação NK, e reforço anual de 1 t ha⁻¹ de calcário;

^e área de pastagem de *Brachiaria decumbens* com 4 t ha⁻¹ de calcário superficial sem adubação NK.

Tabela 2.2. Saturação por bases (V, em %), em função de calagem em pastagem de *Brachiaria decumbens* adubada com doses elevadas de NK.

profundidade (cm)	V, em %				
	cerradão ^a	T00 ^b	t0 ^c	t2m ^d	t4sa ^e
0-10	44	24	6	20	66
10-20	31	16	<u>5</u>	<u>13</u>	36
20-40	19	21	<u>5</u>	17	30
40-60	19	30	<u>11</u>	24	22
60-80	12	22	17	39	25
80-100	12	15	20	31	22

^a referência: área de transição da mata florestal mesófila semi-decídua;

^b área de pastagem de *Brachiaria decumbens* sem N e sem calcário;

^c área de pastagem de *Brachiaria decumbens* com zero de calcário superficial, recebendo 400 kg ano⁻¹ de N-sulfato de amônio e de K₂O;

^d área de pastagem de *Brachiaria decumbens* com 2 t ha⁻¹ de calcário superficial, adubação NK, e reforço anual de 1 t ha⁻¹ de calcário;

^e área de pastagem de *Brachiaria decumbens* com 4 t ha⁻¹ de calcário superficial sem adubação NK.

Tabela 2.3. Teor de cálcio trocável ($\text{mmol}_c \text{dm}^{-3}$), em função de calagem em pastagem de *Brachiaria decumbens* adubada com doses elevadas de NK.

profundidade (cm)	Ca trocável ($\text{mmol}_c \text{dm}^{-3}$)				
	cerradão ^a	T00 ^b	t0 ^c	t2m ^d	t4sa ^e
0-10	27	9	2	11	36
10-20	15	5	2	8	13
20-40	6	6	2	8	11
40-60	4	7	4	9	6
60-80	3	3	5	14	6
80-100	2	2	4	7	5

^a referência: área de transição da mata florestal mesófila semi-decídua;

^b área de pastagem de *Brachiaria decumbens* sem N e sem calcário;

^c área de pastagem de *Brachiaria decumbens* com zero de calcário superficial, recebendo 400 kg ano^{-1} de N-sulfato de amônio e de K_2O ;

^d área de pastagem de *Brachiaria decumbens* com 2 t ha^{-1} de calcário superficial, adubação NK, e reforço anual de 1 t ha^{-1} de calcário;

^e área de pastagem de *Brachiaria decumbens* com 4 t ha^{-1} de calcário superficial sem adubação NK.

Tabela 2.4. Teor de potássio trocável ($\text{mmol}_c \text{dm}^{-3}$), em função de calagem em pastagem de *Brachiaria decumbens* adubada com doses elevadas de NK.

profundidade (cm)	K trocável ($\text{mmol}_c \text{dm}^{-3}$)				
	cerradão ^a	T00 ^b	t0 ^c	t2m ^d	t4sa ^e
0-10	1,9	1,0	3,5	2,5	1,1
10-20	1,8	0,7	2,1	1,8	1,0
20-40	1,1	0,3	1,4	1,3	0,5
40-60	1,7	0,4	1,2	1,4	0,4
60-80	0,4	0,4	1,2	1,3	0,3
80-100	0,5	0,3	1,2	0,9	0,3

^a referência: área de transição da mata florestal mesófila semi-decídua;

^b área de pastagem de *Brachiaria decumbens* sem N e sem calcário;

^c área de pastagem de *Brachiaria decumbens* com zero de calcário superficial, recebendo 400 kg ano^{-1} de N-sulfato de amônio e de K_2O ;

^d área de pastagem de *Brachiaria decumbens* com 2 t ha^{-1} de calcário superficial, adubação NK, e reforço anual de 1 t ha^{-1} de calcário;

^e área de pastagem de *Brachiaria decumbens* com 4 t ha^{-1} de calcário superficial sem adubação NK.

2.3.4. Coletas das amostras

As amostras de solos foram coletadas em 2005 nas profundidades de 0-10, 10-20, 20-40, 40-60, 60-80 e 80-100 cm, sendo que cada amostra de solo foi composta por 4 blocos, cada um constituindo uma repetição, tomado a partir de 5 sub-amostras.

2.3.5. Análise de carbono total

A determinação do teor de C total (% em m/m) das amostras de solo foi realizada no equipamento LECO CR 412 pertencente ao Laboratório de Biogeoquímica Ambiental do CENA/USP, em Piracicaba / SP.

2.3.6. Determinação da densidade do solo

As amostras indeformadas de solo foram coletadas com anel de Kopeck com borda biselada e volume interno de 50 cm³. A coleta foi realizada em trincheiras com 100 cm de profundidade. Os anéis foram coletados em 4 réplicas para cada parcela experimental.

2.3.7. Estoques de carbono (EC)

Os EC de cada profundidade foram calculados a partir da equação 2.1 descrita no item 2.2.1 do presente capítulo.

2.3.8. Taxas de seqüestro de carbono

As taxas de seqüestro de C foram calculadas para cada tratamento considerando os EC do cerradão como referência. A taxa anual foi estimada considerando a profundidade total, de 0 a 100 cm, após 27 anos sob pastagem. Ao comparar dois tratamentos, estimou-se:

$$\text{Taxa média de seqüestro de C (Mg C ha}^{-1}\text{ ano}^{-1}) = [\text{EC}_{(\text{pastagem})} - \text{EC}_{(\text{cerrado})}] / 27 \text{ anos} \quad (2.2)$$

A taxa de CO₂ atmosférico também foi estimada. Para converter o valor do C para o CO₂, multiplicou-se o C por 44/12, relação entre as massas molares do CO₂ e C, respectivamente. Assim, a taxa de seqüestro de CO₂ atmosférico estimado foi igual à taxa de seqüestro de C (em Mg CO₂ ha⁻¹ ano⁻¹) × 3,67.

2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.4.1. Determinação de carbono

As quantidades de C total (g de C por kg de solo) das amostras de um Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico, com 25 % de argila, obtido a partir do experimento de campo de gramíneas da espécie forrageira *Brachiaria decumbens*, com 27 anos de duração, estão representados na Figura 2.4. As análises foram realizadas com as amostras coletadas em 2005 nas profundidades 0-10, 10-20, 20-40, 40-60, 60-80 e 80-100 cm.

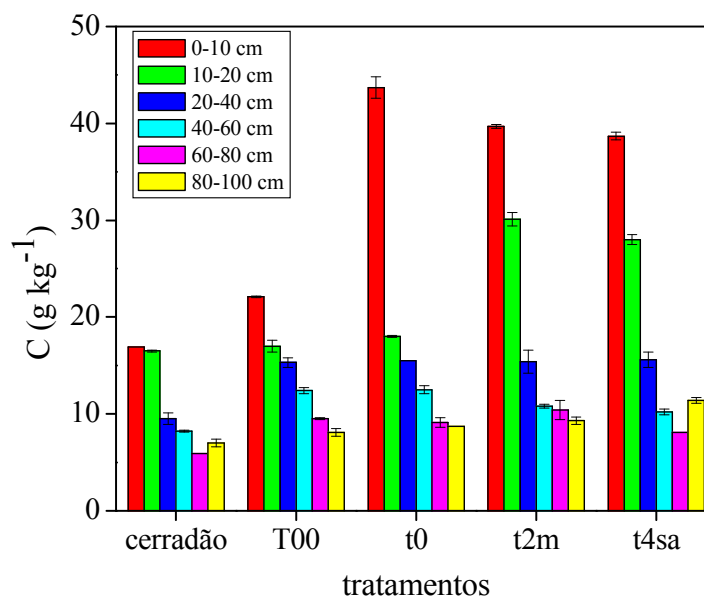


Figura 2.4. Valores de C (g kg^{-1}) das amostras de solos coletadas após 27 anos sob pastagens de *Brachiaria decumbens* nos diferentes tratamentos, em função da profundidade: **T00** (sem N e calcário); **t0** (zero de calcário na superfície, recebendo $400 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ de N-sulfato de amônio e K_2O); **t2m** (2 t ha^{-1} de calcário na superfície, adubação NK, e reforço anual de 1 t ha^{-1} de calcário) e **t4sa** (4 t ha^{-1} de calcário na superfície em parcelas sem NK), além da área de **cerradão** (área de transição da mata nativa e cerrado).

Os maiores teores de C foram observados nas amostras de solo sob pastagem, principalmente nos tratamentos com adição de adubação (t0 e t2m). A diferença de C é maior na superfície (0-10 cm), onde ocorre maior entrada e acúmulo de biomassa de planta. De acordo com Bayer et al. (2000, 2002a), a concentração de resíduos vegetais recentes na superfície do solo acelera a entrada de compostos orgânicos metabolizáveis, sendo às vezes maior até que a capacidade dos microrganismos do solo em metabolizá-los. Esse efeito foi observado por esses autores em sistemas sob PD, similar com que foi observado nesse experimento.

Houve uma tendência geral de diminuição nos teores de C com o aumento da profundidade em todos os tratamentos, visto que a camada superficial do solo é onde a deposição de materiais orgânicos ocorre com maior intensidade, corroborando com os resultados obtidos por Neves et al. (2004). Os teores de C diminuíram exponencialmente com o aumento da profundidade (Figura 2.5), como verificado também por Machado e Silva (2001) e Sisti et al. (2004).

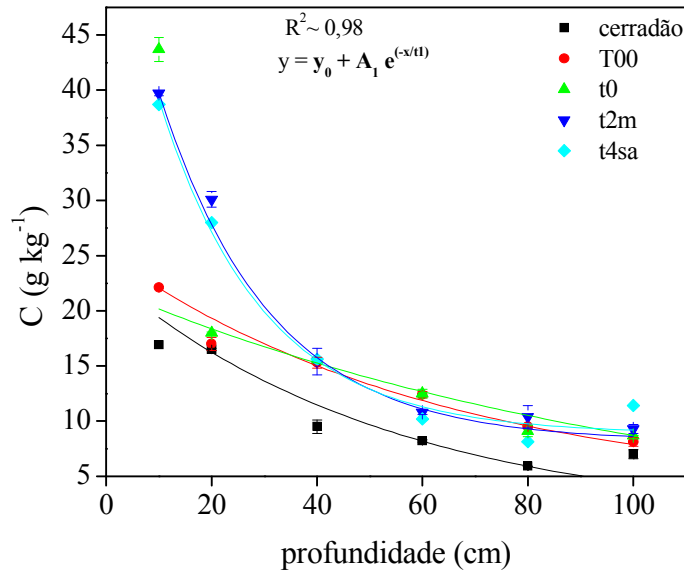


Figura 2.5. Decaimento do teor de C em função da profundidade em amostras de solos obtidos sob diferentes tratamentos de pastagem: **T00** (sem N e calcário); **t0** (zero de calcário na superfície, recebendo 400 kg ha⁻¹ ano⁻¹ de N-sulfato de amônio e K₂O); **t2m** (2 t ha⁻¹ de calcário na superfície, com adubação NK, e com reforço anual de 1 t ha⁻¹ de calcário) e **t4sa** (4 t ha⁻¹ de calcário na superfície em parcelas sem NK), além da área de **cerradão**.

Essa relação exponencial, verificada em todos os tratamentos analisados, apresentou coeficiente de correlação $R^2 \sim 0,98$ com equação da curva: $y = y_0 + A_1 e^{-(x/t_1)}$.

Tendo como referência a pastagem comum (T00) e considerando a profundidade de 0-10 cm, a adição do N fez com que aumentasse a quantidade de C na superfície do solo em 98%, como foi observado no tratamento t0, em relação ao valor do C do tratamento T00. A aplicação da calagem e adição de N fez com que aumentasse o teor de C em 80%, em t2m; e somente a aplicação da calagem fez com que o C aumentasse em 75%, como observado para o t4sa. Foram também observadas mudanças na profundidade de 10-20 cm, em relação à pastagem comum (T00). A presença do N aumentou o teor de C em 6%, referente ao tratamento t0; a adição de calagem e N aumentou a quantidade de C em 77% no t2m; e somente a aplicação de calcário aumentou o C em 65%, observado no tratamento t4sa. Não houveram mudanças significativas nas profundidades abaixo de 20 cm.

O teor de C foi menor no cerradão devido ao menor aporte de biomassa comparado aos tratamentos de pastagens, certamente também devido à baixa fertilidade desse solo nativo. Considerando somente as amostras de pastagens, os maiores valores de C ocorreram nos tratamentos t0, t2m e t4sa, principalmente em t0 e t2m, devido à entrada do N (Figura 2.4). O aumento da biomassa de planta produzido pelos fertilizantes resultou em um maior retorno de material orgânico à superfície do solo, na forma de raízes, palhada e resíduos culturais, como

também foi observado por Haynes e Naidu (1998). Segundo Boddey et al. (2001), para que o solo sob essas pastagens acumule mais C do que o existente sob a vegetação nativa, é necessário que: *i*) a taxa de deposição da MO nesses solos seja maior do que na vegetação nativa e/ou *ii*) a taxa de decomposição da MO das pastagens seja menor.

A introdução de gramíneas de origem africana, como as *Brachiaria*, também favorecem a qualidade do solo produzindo mais biomassa. De acordo com Oliveira et al. (2004), o nutriente limitante para o crescimento da *Brachiaria decumbens* em pastagens degradadas foi o N. Em pastagens não degradadas (produtivas), a entrada de N é o elemento essencial para o aumento da MO por resíduos e raízes. A aplicação da calagem (nos tratamentos t2m e t4sa), bem como sua quantidade, também é importante, principalmente como fonte de cálcio. Chan e Heenan (1996) observaram que a calagem inicialmente pode reduzir a quantidade de C, contudo pode aumentar o conteúdo de biomassa microbiana, desde que a calagem promova mineralização de C. Entretanto, após certo tempo, a presença do calcário, juntamente com o fertilizante tem resultado em aumentar o retorno de MO ao solo, devido ao acúmulo de biomassa. Com isso, de acordo com os resultados apresentados, o tratamento t2m, com aplicação de 2 t ha⁻¹ de calcário, e adição anual de adubação NK e 1 t ha⁻¹ de calcário no solo, foi considerado o melhor tratamento, devido principalmente ao acúmulo da MOS.

2.4.2. Estoques de carbono (EC)

Na Tabela 2.5 encontram-se os valores dos teores de C (em g kg⁻¹) e densidades (g cm⁻³) referentes às amostras de solo do experimento de pastagens de *Brachiaria decumbens*, em função dos diferentes tratamentos e profundidades avaliados.

Tabela 2.5. Valores de carbono (g kg^{-1}), densidade (g cm^{-3}) e espessura das camadas (m) das amostras de solo para os diferentes tratamentos sob pastagem: **T00** (sem N e calcário); **t0** (zero de calcário na superfície, recebendo $400 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ de N-sulfato de amônio e K_2O); **t2m** (2 t ha^{-1} de calcário na superfície, com adubação NK, e com reforço anual de 1 t ha^{-1} de calcário) e **t4sa** (4 t ha^{-1} de calcário na superfície em parcelas sem NK), além da área de cerradão.

amostra	profundidade (cm)	teor de C (g kg^{-1})	densidade do solo (g cm^{-3})	espessura da camada (m)
cerradão	0-10	$16,9 \pm 0,0$	1,50	0,1
cerradão	10-20	$16,5 \pm 0,1$	1,51	0,1
cerradão	20-40	$9,5 \pm 0,6$	1,32	0,2
cerradão	40-60	$8,2 \pm 0,1$	1,31	0,2
cerradão	60-80	$5,9 \pm 0,01$	1,30	0,2
cerradão	80-100	$7,0 \pm 0,4$	1,25	0,2
T00	0-10	$22,1 \pm 0,1$	1,42	0,1
T00	10-20	$17,0 \pm 0,6$	1,43	0,1
T00	20-40	$15,3 \pm 0,5$	1,37	0,2
T00	40-60	$12,4 \pm 0,3$	1,31	0,2
T00	60-80	$9,5 \pm 0,1$	1,30	0,2
T00	80-100	$8,1 \pm 0,4$	1,25	0,2
t0	0-10	$43,7 \pm 1,1$	1,46	0,1
t0	10-20	$18,0 \pm 0,1$	1,48	0,1
t0	20-40	$15,5 \pm 0,0$	1,32	0,2
t0	40-60	$12,5 \pm 0,4$	1,35	0,2
t0	60-80	$9,1 \pm 0,5$	1,32	0,2
t0	80-100	$8,7 \pm 0,03$	1,27	0,2
t2m	0-10	$39,7 \pm 0,2$	1,43	0,1
t2m	10-20	$30,1 \pm 0,7$	1,45	0,1
t2m	20-40	$15,4 \pm 1,2$	1,32	0,2
t2m	40-60	$10,8 \pm 0,2$	1,35	0,2
t2m	60-80	$10,4 \pm 1,0$	1,32	0,2
t2m	80-100	$9,3 \pm 0,4$	1,27	0,2
t4sa	0-10	$38,7 \pm 0,4$	1,45	0,1
t4sa	10-20	$28,0 \pm 0,5$	1,50	0,1
t4sa	20-40	$15,6 \pm 0,8$	1,32	0,2
t4sa	40-60	$10,2 \pm 0,3$	1,31	0,2
t4sa	60-80	$8,1 \pm 0,1$	1,30	0,2
t4sa	80-100	$11,4 \pm 0,3$	1,25	0,2

Na Tabela 2.6 encontram-se os valores dos EC, em Mg ha^{-1} , dos tratamentos de pastagens e cerradão, calculados em cada profundidade (0-10, 10-20, 20-40, 40-60, 60-80 e 80-100 cm) e no total (0-100 cm).

Tabela 2.6. Estoques de carbono (Mg ha^{-1}) em cada profundidade e total (0-100 cm) para diferentes tratamentos do solo.

profundidade (cm)	ESTOQUES DE CARBONO (Mg ha^{-1})				
	cerradão ^a	T00 ^b	t0 ^c	t2m ^d	t4sa ^e
0-10	25	31	64	57	56
10-20	25	24	27	44	42
20-40	25	42	41	41	41
40-60	22	32	34	29	27
60-80	15	25	24	28	21
80-100	17	20	22	24	28
TOTAL (0-100)	129	174	212	223	215

^a referência: área de transição da mata florestal mesófila semi-decídua;

^b área de pastagem de *Brachiaria decumbens* sem N e sem calcário;

^c área de pastagem de *Brachiaria decumbens* com zero de calcário superficial, recebendo 400 kg ano^{-1} de N-sulfato de amônio e de K_2O ;

^d área de pastagem de *Brachiaria decumbens* com 2 t ha^{-1} de calcário superficial, adubação NK, e reforço anual de 1 t ha^{-1} de calcário;

^e área de pastagem de *Brachiaria decumbens* com 4 t ha^{-1} de calcário superficial sem adubação NK.

Pela Tabela 2.6 observa-se que os maiores EC totais (0-100 cm) foram obtidos nos tratamentos de pastagens. Enquanto foi encontrado 129 Mg ha^{-1} no sistema de cerradão (referência), os EC determinados para as pastagens foram de 174 a 223 Mg ha^{-1} . A magnitude dos valores dos EC encontrados neste trabalho (cerca de 200 Mg ha^{-1}) é similar ao determinado por Fisher et al. (1994), também de aproximadamente 200 Mg ha^{-1} , nas savanas colombianas, com 9 anos de experimento e ao encontrado por Corazza et al. (1999), 150 Mg ha^{-1} , em pastagens cultivadas com *Brachiaria decumbens* após 23 anos de experimento, sendo todos esses valores avaliados nas mesmas profundidades. Os maiores EC obtidos nos solos sob pastagem em relação ao cerradão podem estar relacionados à maior entrada de material orgânico proveniente dos resíduos da gramínea, favorecendo o acúmulo de C, já que o solo não é revolvido nesse sistema de manejo.

A mudança da área de cerradão para pastagem (T00) resultou em um aumento de 35% nos EC do solo, considerando a profundidade total de 0-100 cm. A entrada de N (no tratamento t0) aumentou os EC em 22% em relação à pastagem comum (T00). A aplicação de calcário contribuiu para um aumento de 1,5% (em t4sa) e 5% (em t2m) dos EC em relação à pastagem somente com fertilizantes NK (em t0). Com isso, o maior impacto, associado ao acúmulo de C, ocorreu com a mudança da vegetação de cerradão para a pastagem, possivelmente devido à presença de mais resíduo proveniente da gramínea. O segundo impacto observado foi devido à adubação, resultando em uma maior produção de forragem, adição de resíduos lábeis na superfície do solo e, conseqüentemente, mais C. O terceiro

impacto foi devido ao uso da calagem, favorecendo o aumento da atividade microbiana e sistema radicular.

Considerando o tempo de pastagem de 27 anos, foi verificado a partir dos dados de EC totais calculados para os tratamentos avaliados neste experimento, que os EC dos sistemas de pastagens foram de 1,7 a 3,5 Mg C ha⁻¹ ano⁻¹ (obtidos pela Equação 2.2) maiores que os EC no solo sob vegetação de cerradão (Tabela 2.7). Comparativamente ao solo sob área de cerradão, o uso durante 27 anos do sistema de manejo de pastagens de *Brachiaria* promoveu um seqüestro de 6,1 a 12,8 Mg CO₂ ha⁻¹ ano⁻¹ da atmosfera. Esses valores de seqüestro de C em áreas de pastagens mostraram taxas elevadas de acúmulo de C, principalmente quando é comparado com sistemas de PD em áreas de Cerrado Brasileiro. Por exemplo, Bayer et al. (2006a) calcularam as taxas de seqüestro de CO₂ nas principais áreas de PD do Cerrado do Brasil e verificaram que os valores médios variavam de -0,03 a 0,60 Mg C ha⁻¹ ano⁻¹ (camada 0-20 cm). Contudo, em cada região, as taxas de seqüestro de CO₂ podem mudar em decorrência do tipo de solo (textura e mineralogia), condições climáticas (temperatura e precipitação) e sistema de rotação de culturas adotado (com aporte de resíduos) (Roscoe et al., 2006).

Tabela 2.7. Taxas de seqüestro de C e CO₂ calculadas para cada tratamento tendo como base os EC da área de referência (cerradão), na profundidade total (0-100 cm), em 27 anos de experimento.

tratamento	taxa de seqüestro de C (Mg C ha ⁻¹ ano ⁻¹)	taxa de seqüestro de CO ₂ (Mg CO ₂ ha ⁻¹ ano ⁻¹)
T00 ^a	1,7	6,1
t0 ^b	3,1	11,3
t2m ^c	3,5	12,8
t4sa ^d	3,2	11,7

^a área de pastagem de *Brachiaria decumbens* sem N e sem calcário;

^b área de pastagem de *Brachiaria decumbens* com zero de calcário superficial, recebendo 400 kg ano⁻¹ de N-sulfato de amônio e de K₂O;

^c área de pastagem de *Brachiaria decumbens* com 2 t ha⁻¹ de calcário superficial, adubação NK, e reforço anual de 1 t ha⁻¹ de calcário;

^d área de pastagem de *Brachiaria decumbens* com 4 t ha⁻¹ de calcário superficial sem adubação NK.

Assumindo que a área total sob pastagens de *Brachiaria* no Brasil é de 80 Mha, considerando pastagens bem manejadas e com adubação NK, é possível estimar um seqüestro de CO₂ da ordem de 0,49 a 1,02 Pg CO₂ ano⁻¹. Quando comparado às emissões globais do Planeta, que é da ordem de 29,4 Pg CO₂ ano⁻¹, sendo que 5,9 Pg CO₂ ano⁻¹ corresponde às

emissões provenientes do desmatamento e mudança no uso do solo (IPCC, 2007), é possível obter nessas áreas um seqüestro de cerca de 8,3 a 17,3% do total de CO₂ atualmente emitido pelas atividades relacionadas ao desmatamento e à mudança de uso do solo. Naturalmente esse quadro é de difícil realização, dada a necessidade de manejar as pastagens com procedimentos similares aos adotados na área experimental. Mas de qualquer forma dá um indicativo do potencial de mitigação do aumento do efeito estufa que o Brasil dispõe.

Os resultados ressaltam a importância das gramíneas no aumento dos estoques e seqüestros de C, principalmente nas áreas tropicais, onde as gramíneas são mais fibrosas e resistentes à degradação que outras espécies (Van Soest, 1982).

2.5. CONCLUSÕES

Considerando a área sob pastagens no Brasil (200 Mha), torna-se imprescindível avaliar práticas agrícolas que evitam a degradação dos solos. De acordo com os resultados obtidos, os sistemas de pastagens bem manejados de *Brachiaria*, podem aumentar a MOS e com isso, proporcionar o seqüestro de CO₂ da atmosfera, em comparação com a vegetação nativa de cerrado.

Os maiores EC obtidos pelas pastagens são favorecidos pela constante entrada de material vegetal na superfície do solo, também influenciado pela entrada do N, na forma de fertilizante ou de mineralização do material orgânico, além do sistema radicular da gramínea. O aumento da MOS até a profundidade de 20 cm, comparando a pastagem de *Brachiaria* comum (T00) com os outros tratamentos, foram de aproximadamente 65 a 98% do teor de C, em função, principalmente, da adubação, e de menor relevância, do calcário. De acordo com esses estudos, considerou-se o tratamento t2m, com adição anual de N e aplicação de 2 t ha⁻¹ de calcário, o melhor tratamento em função do acúmulo da MOS.

Os resultados mostraram que as pastagens bem manejadas de *Brachiaria decumbens* podem possibilitar um seqüestro de 6,1 a 12,8 Mg CO₂ ha⁻¹ ano⁻¹ da atmosfera. Ao considerar a área total de pastagens de *Brachiaria* no Brasil, pode-se estimar um potencial de seqüestro de cerca de 8,3 a 17,3% do total de CO₂ atualmente emitido pelas atividades relacionadas ao desmatamento e à mudança de uso do solo. A adoção de sistemas de manejo por pastagens não degradadas podem apresentar significativo reservatório de C no solo, contribuindo para a mitigação do aquecimento global devido ao não revolvimento e não queimada do solo.

3.1. INTRODUÇÃO

3.1.1. A estabilidade da matéria orgânica do solo (MOS)

A estabilidade da matéria orgânica do solo (MOS) tem sido associada a alguns mecanismos incluindo proteção física, interação organomineral e recalcitrância molecular (Bayer et al., 2006b). Como parte da MOS, o húmus, que quimicamente significa matéria orgânica (MO) decomposta, consiste de materiais originários de plantas e animais que passaram por um processo de decomposição via hidrólise, oxidação, redução e síntese por microrganismos.

A MOS pode ser dividida em substâncias não húmicas (SnH) e substâncias húmicas (SH). As SnH pertencem a grupos bem conhecidos e possuem características físicas e químicas bem definidas, como por exemplo: aminoácidos, carboidratos, proteínas, ácidos orgânicos, entre outros. As SnH correspondem aos compostos mais facilmente degradados por microrganismos, tendo normalmente tempo de vida curto no ambiente. As SH são compostos orgânicos mais transformados e num estágio de estabilização química mais avançado, sendo então o produto final da ação dos microrganismos. Em função disso, as SH não exibem características físicas e químicas específicas, sendo, por sua vez, estruturas bastante complexas, ou macromoléculas (Schulten e Schnitzer, 1997) ou estruturas supramoleculares (Piccolo e Conte, 2000), com massa molecular e estruturas variáveis, que serão discutidos no próximo item. Quimicamente, possuem grupos ácidos (carboxílicos e fenólicos), aromáticos e alifáticos com parte da cadeia hidrofílica e parte hidrofóbica (Stevenson, 1994).

As SH são formadas via processo de humificação. Zech et al. (1997) definem a humificação como sendo a transformação de reservas macromorfológicamente identificáveis em compostos húmicos amorfos. Esse processo é caracterizado por alterações nas estruturas químicas dos resíduos orgânicos e são controladas por variáveis como temperatura, umidade, pH e disponibilidade de nutrientes. Durante a humificação, geralmente ocorre aumento de C-carboxílico, C-alquil e C-aromático (principalmente grupos fenólicos) e decréscimo na concentração de C O-alquil (proveniente de açúcares e polissacarídeos) (Zech et al., 1997), aumentando, portanto, a resistência da MO contra a biodegradação (Christensen, 1996;

Sollins et al., 1996). As SH são constituídas por ácidos húmicos (AH), ácidos fúlvicos (AF) e humina, que se diferenciam de acordo com suas características de solubilidade. Os AH constituem a fração solúvel das SH em meio alcalino, que precipita após acidificação. Os AF permanecem em solução quando o meio é acidificado e a humina é a fração insolúvel, tanto em ácidos quanto em álcali diluídos (Stevenson, 1994).

No Brasil, a maior parte dos solos apresentam teores de MO entre 1 e 3%, contudo, pode-se encontrar solos com teores superiores a esses. Apesar desse valor, que poderia ser considerado baixo em relação a fração mineral, a MO é extremamente relevante e seu conteúdo é considerado um dos principais indicadores de sustentabilidade e qualidade ambiental em agroecossistemas (Silva e Pasqual, 1999). Atualmente, a forma de se manejar os solos tem trazido conseqüente efeito na quantidade das emissões de GEE, uma vez que as atividades agrícolas podem ser responsáveis pelo aumento ou não da MOS. As SH podem compor mais de 80% da MO de um solo, representando uma das frações mais estáveis ou recalcitrantes (existem ainda os AF e a humina) da MO, e por essa razão essas substâncias têm um importante papel nos aspectos físicos e químicos do solo.

3.1.1.1. A estrutura das substâncias húmicas (SH)

A composição química e o modelo estrutural das SH tem tido grandes avanços nas últimas décadas, entretanto, ainda hoje não existe um modelo estrutural para as SH que explique totalmente a composição química, a estrutura, a forma e o tamanho, sendo que os modelos existentes geram controvérsias e discussões (Clapp e Hayes, 1999; Burdon, 2001; MacCarthy, 2001; Piccolo, 2001).

Muitas estruturas foram propostas, cada uma delas foi caracterizada por grupos funcionais similares e a presença de componentes alifáticos e aromáticos.

A Figura 3.1 mostra um modelo proposto por Schulten e Schnitzer (1993) a partir de estudos com espectroscopia, pirólise, degradação oxidativa e microscopia eletrônica.

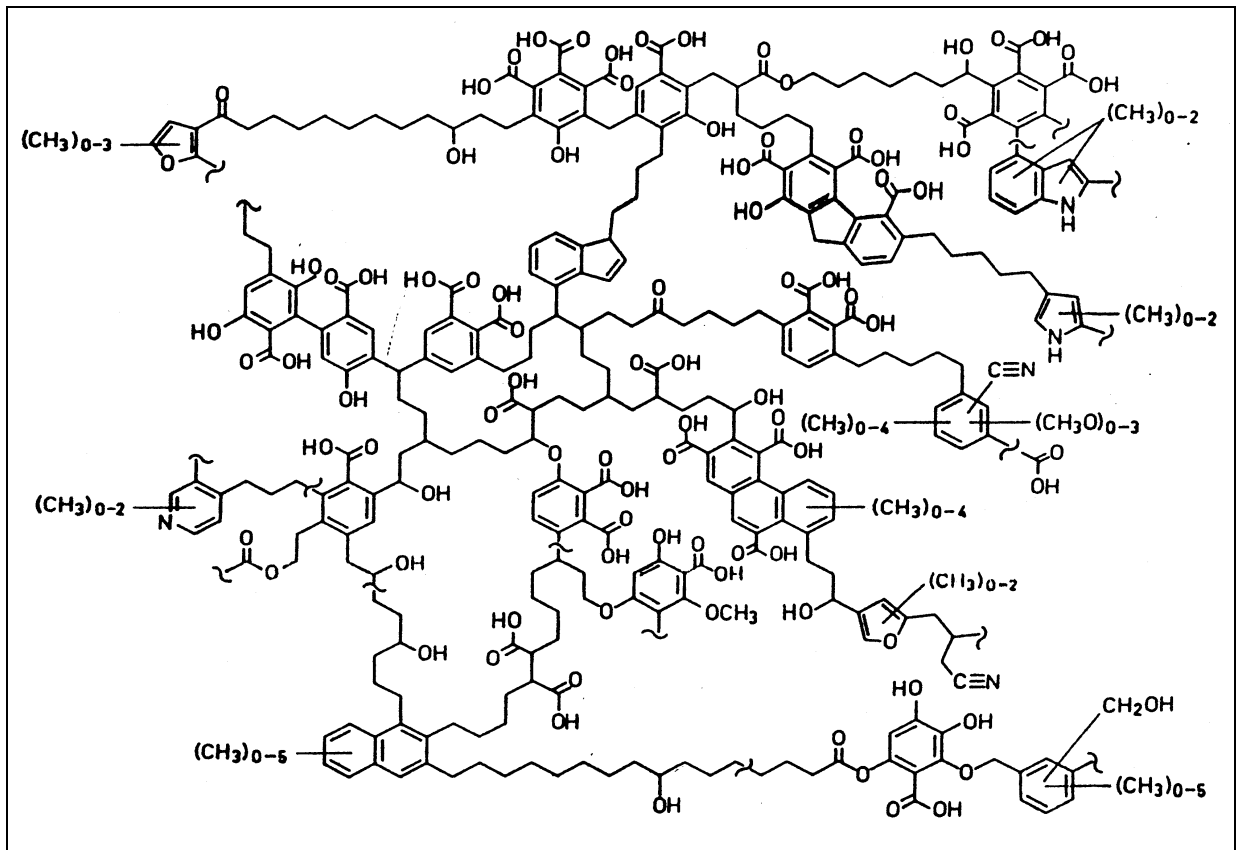


Figura 3.1. Modelo proposto por Schulten e Schnitzer (1993) para a estrutura dos ácidos húmicos (AH).

Neste modelo (Figura 3.1) o oxigênio está presente em grupos carboxílicos, fenólicos, hidroxílicos, ésteres e éteres; e o nitrogênio está presente em estruturas heterocíclicas e nitrilas. A composição elemental determinada para essa estrutura dos AH foi o $C_{308}H_{328}O_{90}N_5$, com tamanho molecular de 5540 Da (Schulten e Schnitzer, 1993).

Essas afirmações e citações foram baseadas na proposta que as SH seriam macromoléculas orgânicas, com características similares às macromoléculas biológicas como, proteínas, polissacarídeos, ácidos nucleicos e lignina (Swift, 1989). A Figura 3.2a apresenta um conceito macromolecular para as SH aleatoriamente enoveladas.

A Figura 3.2b mostra uma proposta de estrutura tridimensional, baseada, na Figura 3.1, obtida a partir da modelagem molecular. Segundo Schulten e Schnitzer (1997), nesse modelo, obtido utilizando a técnica de pirólise e espectrometria de massas, os AH comportam-se como uma macromolécula.

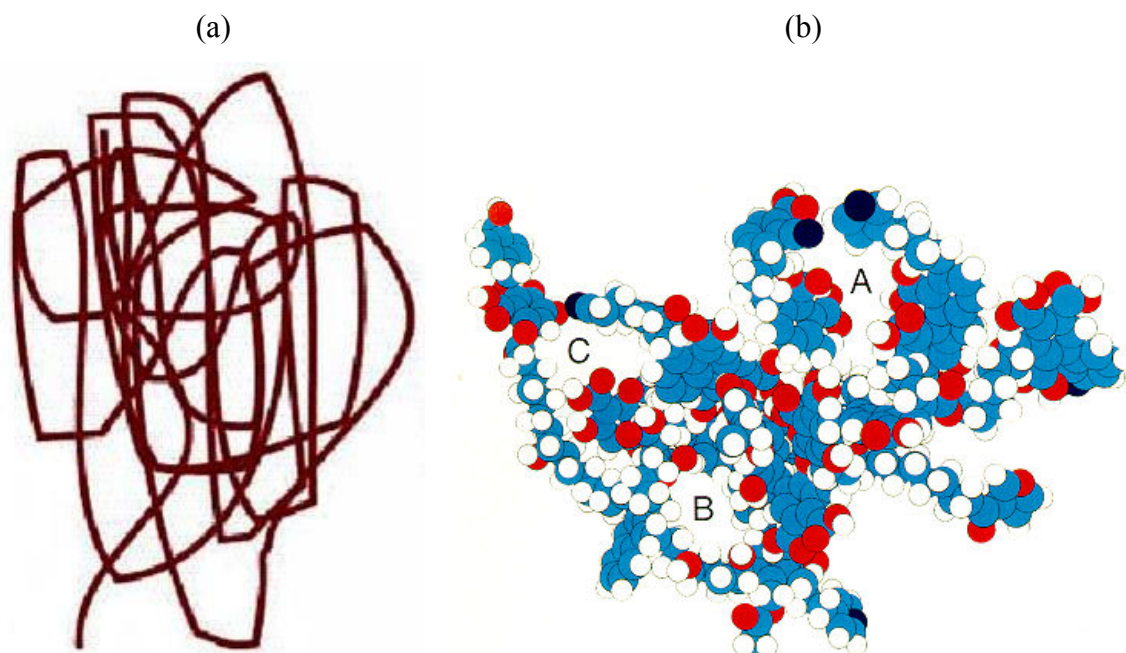


Figura 3.2. Modelos conceituais propostos pela teoria macromolecular: (a) moléculas das substâncias húmicas (SH) aleatoriamente enoveladas (Swift, 1989) e (b) modelo tridimensional de ácidos húmicos (AH) proposto por Schulten e Schnitzer (1997), carbono=azul; oxigênio=vermelho; nitrogênio=preto e hidrogênio=branco. As letras A, B e C indicam os espaços “vazios” presentes na molécula das SH capazes de interagir com outros compostos.

Esses modelos macromoleculares foram questionados por alguns autores, ao introduzirem um novo conceito de SH: o modelo supramolecular. Nesse caso, as SH não possuiriam estrutura extremamente complexas e seriam formadas pela agregação de pequenas moléculas. As SH são apresentadas como estruturas supramoleculares e onde as moléculas componentes unem-se por meio de interações hidrofílicas (van der Waals, π - π , e ligações CH- π) e hidrofóbicas (cadeias polimetilênicas, ácidos graxos e esteróides), e complexos metálicos. Além disso, é proposto que as SH são provenientes de produtos da degradação enzimática de plantas e complexos de ligninas (Wershaw, 1986; Wershaw, 1993). Este modelo foi sustentado por Piccolo e Conte (2000), que utilizando a cromatografia e a eletroforese capilar, deu origem à teoria supramolecular, na qual as SH são formadas por moléculas pequenas e heterogêneas de várias origens, auto-organizadas em conformações supramoleculares, o que explicaria o grande tamanho molecular aparente das SH.

O modelo supramolecular foi reforçado pelos resultados obtidos por Simpson (2002a; 2002b). Esses autores demonstraram que as SH extraídas de solos são formadas por uma mistura de substâncias agregadas de menor peso molecular (em torno de 2000 Da) e propuseram um esquema de estrutura (Figura 3.3) para ilustrar como as principais estruturas

identificadas nas SH poderiam formar um agregado na presença de cátions metálicos de ocorrência natural nos ecossistemas terrestres. Essa proposta supramolecular sugere que as SH em solução formariam agregados mistos ou micelas sendo que estes agregados húmicos seriam mantidos por ligações fracas tais como ligações de H e interações hidrofóbicas (Piccolo e Conte, 2000; Piccolo, 2001). Tal modelo das SH pode levar à reconsideração da definição clássica das frações de AH e AF da MO humificada. Os AF seriam formados por pequenas micelas estáveis que permaneceriam dispersas pela repulsão das cargas negativas originadas da dissociação da grande quantidade de grupos ácidos presentes na sua estrutura. As micelas de AH, por outro lado, por apresentarem uma menor quantidade de grupos funcionais ácidos, poderiam aproximar-se o suficiente para formar agregados aparentemente de massa molar mais elevada (Piccolo et al., 1996a; Piccolo et al., 1996b).

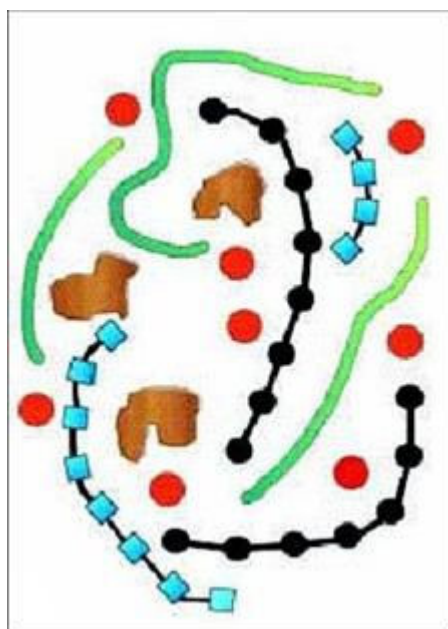


Figura 3.3. Esquema de estrutura das substâncias húmicas (SH) proposto por Simpson et al. (2002b). As unidades vermelhas representam os cátions metálicos, as unidades pretas os polissacarídeos, as unidades azuis os polipeptídios, as unidades verdes as cadeias alifáticas e as unidades marrons os fragmentos aromáticos provenientes da lignina.

O impasse sobre a estrutura das SH permanece, enquanto novos procedimentos analíticos e desenvolvimentos especialmente na área de espectroscopia têm sido desenvolvidos visando à obtenção de resultados mais contundentes para suportar as hipóteses propostas (Rocha e Rosa, 2003)

Uma revisão acerca da estrutura das SH também foi realizada por Sutton e Sposito (2005). De acordo com suas análises, o modelo que melhor descreve as propriedades das SH é

aquele que propõe que as SH são agrupamentos de diversos componentes de relativamente baixa massa molecular formando associações dinâmicas estabilizadas por interações hidrofóbicas e pontes de hidrogênio, capazes de se organizar em estruturas micelares. Contudo, uma revisão mais recente realizada por Schaumann (2006) discutiu novamente os aspectos estruturais das SH, tendo em vista as teorias macromolecular e supramolecular, sugerindo que nenhuma das teorias devem ser excluídas para a efetiva caracterização dessas estruturas.

Kelleher e Simpson (2006) avançaram nos estudos das SH, e por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) determinaram os componentes majoritários das SH, como as proteínas, carboidratos, biopolímeros alifáticos e ligninas, e identificaram suas “impressões digitais” nesses compostos. Teoricamente, uma vez que todos os componentes fossem identificados, os sinais remanescentes deveriam ser a partir de materiais com novas estruturas, formando uma categoria química distinta de materiais húmicos. Eles mostraram que as SH são predominantemente misturas de plantas e de derivados de síntese microbiana. Estas informações podem ser usadas para prever as transformações químicas e também para determinar os mecanismos que esta fração exibe no aumento da recalcitrância ambiental.

Apesar de ainda não existir um modelo único e consensual que se aplique à estrutura das SH, várias pesquisas estão sendo realizadas tendo como objetivo o entendimento dos componentes húmicos da MOS. Esses estudos podem ser úteis, entre outras coisas, na obtenção com maior precisão dos estoques de carbono e da avaliação da qualidade do carbono orgânico do solo (COS), visando as Mudanças Climáticas Globais, para que se consiga mais informações acerca do Aquecimento Global (Kelleher e Simpson, 2006).

3.1.2. Fracionamento da MOS

Uma grande variedade de métodos químicos e físicos tem sido utilizada para fracionar a MOS em partes menos complexas, porém distinguíveis entre si (Stevenson, 1994) e assim, facilitar sua caracterização.

Para avaliar a composição química da MOS, geralmente esta é extraída a partir da amostra de solo “inteiro” (amostra de solo coletada da área experimental, seguida de retirada das raízes e posterior peneiramento). Durante esses procedimentos de extração há a possibilidade da perda de parte do material orgânico devido às várias etapas envolvidas. Entretanto, a extração é considerada em muitos casos um procedimento inevitável, dada a necessidade de se eliminar qualquer interferência da fração mineral. Segundo o método sugerido pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS) (Swift, 1996) utiliza-se

NaOH e HCl 0,1 mol L⁻¹ como soluções extratoras. O material extraído pode ser então separado em AH, AF ou huminas, baseado em características de solubilidade (González-Pérez et al., 2007).

Além do fracionamento químico, existe o fracionamento físico da MOS, que tem se mostrado menos destrutivo e mais seletivo, resultando em frações mais associadas à estrutura e função da MOS *in situ* do que aquelas obtidas pelos métodos químicos (Bayer et al., 2003). Existem diferentes tipos de métodos físicos de fracionamento: por tamanho, que envolve peneiramento e sedimentação, e densimetria. A separação por peneiramento é usada para partículas com diâmetro > 53 µm; a separação por sedimentação é baseada no diâmetro esférico equivalente das partículas (lei de Stokes) (Tanner e Jackson, 1947), que podem variar em tamanho, forma e densidade, e é usada para partículas <53 µm. O fracionamento por densidade permite acessar o processo de decomposição da MOS através da separação das frações “leve” e “pesada”. De maneira geral, a primeira apresenta ainda características do material vegetal que a originou e taxa de decomposição mais rápida, enquanto a última consiste em material altamente decomposto, com taxa de decomposição mais lenta (Christensen, 1992; Golchin et al., 1994).

De acordo com Swift (1996), o fracionamento é um importante procedimento para melhor compreender importantes propriedades físicas e químicas das SH, tais como solubilidade, comportamento de adsorção, capacidade complexante com íons metálicos, propriedades ácido-base, distribuição de grupos funcionais/estruturais reativos, etc. (Rocha e Rosa, 2003).

Neste trabalho, o solo foi fracionado quimicamente para a obtenção das frações de AH e em seguida essas frações foram caracterizadas por métodos espectroscópicos, como Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE) e Fluorescência de luz no UV-vis. Também foi avaliado o solo “inteiro” por Fluorescência Induzida por Laser (FIL), sendo essas metodologias bastante empregadas em estudos qualitativos da MOS. A avaliação das frações físicas da MOS não serão mostradas na presente tese devido dificuldade em se analisar essas frações por espectroscopia, já que a interferência de metais paramagnéticos, como o ferro, presentes principalmente nos solos tropicais, dificultaram essas análises.

3.1.3. Caracterização da MOS por métodos espectroscópicos

As características químicas da MOS indicam a qualidade das práticas de manejo adotadas. Com isso, as frações lábeis e recalcitrantes (estáveis ou humificadas) da MOS são afetadas pelas práticas de manejo do solo. Para que a dinâmica do solo seja favorecida, é

necessário avaliar a magnitude desse processo. A labilidade da MO, por exemplo, reflete a ação de mecanismos de proteção física das estruturas orgânicas mais lábeis por mecanismos como a agregação do solo, o qual é normalmente intensificado por sistemas de preparo reduzido ou PD. Por outro lado, a maior concentração de estruturas recalcitrantes é um indicativo de que o material lábil sofreu um maior grau de mineralização, um processo típico em solos manejados convencionalmente através do preparo com arações e gradagens (Dieckow et al., 2005b). O grau de humificação da MO pode ser avaliado por meio de medidas que refletem mudanças estruturais que ocorrem durante o processo de humificação. Com o aumento do grau de humificação, a MOS torna-se mais estável, ou seja, mais resistente perante a decomposição microbiana (Sollins et al., 1996), devido à presença de estruturas moleculares mais recalcitrantes. As estruturas aromáticas em diferentes graus de condensação são as mais estáveis à decomposição biológica que estruturas derivadas de polissacarídeos e agregados proteicos (Bayer et al., 2006b). O acúmulo de C em partículas lábeis da MOS sob sistemas de PD tem indicado que esses solos podem apresentar maiores estoques de carbono (EC). O uso contínuo de sistemas conservacionistas, como o PD, pode proporcionar a redução das perdas de CO₂ da atmosfera. O revolvimento do solo faz com que acelere a decomposição das frações lábeis da MOS gerando um fluxo maior de CO₂ para a atmosfera (Bayer et al., 2006c).

Vários métodos espectroscópicos de análise são adaptados e aplicados aos estudos da MOS. O uso da espectroscopia permite a identificação de grupos funcionais e estruturas moleculares fornecendo um melhor entendimento da decomposição da MOS e das mudanças qualitativas que podem ser relacionadas às práticas de manejo, ao avaliar a estabilidade desse material.

Os métodos espectroscópicos têm sido utilizados na caracterização da MOS (Miloni et al., 2002; Bayer et al., 2002a; Bayer et al., 2002b; González-Pérez et al., 2004; Poirier et al., 2005; Miloni et al., 2006) e, portanto, podem ser também empregados na avaliação do índice ou grau de humificação em diferentes sistemas de manejo do solo (Martin-Neto et al., 1998; Miloni et al., 2002; Bayer et al., 2002a; Bayer et al., 2002b; Miloni et al., 2006).

O método mais adequado para medir grau de humificação é ainda tema de discussão, pois, como já discutido anteriormente, não há um modelo bem definido para a estrutura das SH. Entretanto, o processo de humificação tem sido estudado por meio das mudanças químicas e estruturais da MOS durante o processo de decomposição, bem como o efeito do uso e manejo do solo sobre as características da MO.

Usualmente, o grau de humificação é avaliado por meio de medidas indiretas que refletem essas mudanças estruturais, como a Espectroscopia na região do Ultravioleta-visível (UV-vis) (Martin-Neto et al., 1998), a Espectroscopia na região do Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) (González-Pérez et al., 2004), a Espectroscopia de RMN (Chen et al., 2002; González-Pérez et al., 2004; Polak et al., 2005; Leifeld e Kögel-Knabner, 2005) e a Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE) (Martin-Neto et al., 1998; Bayer et al., 2002a; Bayer et al., 2002b; Watanabe et al., 2005; Bayer et al., 2006b; Bayer et al., 2006c; González-Pérez et al., 2007; Senesi et al., 2007).

A RMN tem sido utilizada na análise de solos ou em suas frações húmicas medindo-se o grau de aromaticidade das SH, o qual tem sido relacionado ao grau de humificação das SH. Acredita-se que estruturas aromáticas condensadas e complexas estabilizem radicais livres do tipo semiquinona (Senesi, 1990a; Senesi, 1990b) e assim, sua concentração determinada por RPE poderia se correlacionar com a humificação (Bayer et al., 2000). Mais recentemente, a espectroscopia de Fluorescência tornou-se amplamente conhecida como um método simples, sensível e útil no estudo de estrutura química e de grupos funcionais de amostras do meio ambiente tais como os AH de solos (Senesi et al., 1990b; Milori et al., 2002; Senesi et al., 2003; Fuentes et al., 2006).

3.1.4. Objetivos

Devido a importância de se analisar a estabilidade da MOS, e assim obter o grau de humificação por espectroscopia, o objetivo deste trabalho foi avaliar o comportamento da MOS em função de sua estabilidade, em área de pastagem de *Brachiaria decumbens*, submetida a tratamentos com calagem e / ou adubação, comparado a um sistema nativo de cerradão (Segnini et al.¹, 2007).

3.2. TEORIA DOS MÉTODOS UTILIZADOS

Neste item serão abordados de forma sucinta os fundamentos teóricos das espectroscopias utilizadas no presente trabalho. Serão mostrados os fenômenos, princípios básicos de aquisição de espectros e algumas informações para o estudo e caracterização da MO e SH pelas espectroscopias de RPE, Fluorescência e FIL.

¹ SEGNINI, A.; PRIMAVERESI, O.; MILORI, D. M. B. P.; SIMÕES, M. L.; LOPES da SILVA, W. T.; MARTIN-NETO, L. Evaluation of organic matter stability in Brazilian pastureland using spectroscopic methods. 2007. (em fase de elaboração).

3.2.1. Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE)

A Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE) é o fenômeno de absorção de energia de elétrons não emparelhados de um átomo, molécula ou íon quando estes se encontram sujeitos a aplicações de um campo magnético e um pulso de radiofrequência, obedecendo ao efeito Zeeman (Poole e Farach, 1972). A transição entre os dois níveis ocorrerá quando uma energia $\Delta E = g\beta H_0$ (g é o fator giromagnético para o elétron, β é o magnéton de Bohr e H_0 é o campo magnético) for fornecida ao sistema.

Os processos de transformação da MO no ambiente são conectadas com várias reações envolvendo radicais livres e estes podem ser estabilizados em estruturas “spins traps” (armadilhas de spins), tais como polifenóis, melaninas e melanoidinas (Jeziński et al., 1998). Estes radicais livres podem ser detectados em SH pela espectroscopia de RPE como um sinal estreito e intenso com g entre 2,0030 e 2,0043. Este sinal é atribuído a semiquinonas possivelmente conjugadas a anéis aromáticos, embora contribuições de radicais metoxibenzênicos e radicais associados a nitrogênio não podem ser excluídas (Senesi, 1990a) (Figura 3.4 e Figura 3.5). Podem ser observáveis elétrons desemparelhados provenientes de íons paramagnéticos e radicais livres orgânicos (Poole e Farach, 1972; Weil e Bolton, 1994).

A concentração destes radicais livres orgânicos em SH é um importante parâmetro que pode ser obtido por RPE (Senesi, 1990a). Tal parâmetro pode ser usado na estimativa do grau de humificação das SH (Riffaldi e Schnitzer, 1972; Senesi, 1990a; Martin-Neto, 1991; Novotny, 2002); em estudos do impacto de diferentes sistemas de cultivo do solo (Martin-Neto et al., 1994a); para estimar a reatividade das SH no ambiente (Senesi, 1990a; Martin-Neto et al., 1994b); assim como no monitoramento ambiental (Jeziński et al., 1998). Tem sido mostrados que quanto maior a concentração de radicais livres orgânicos, maior a humificação da MOS. (Senesi, 1990a; Martin Neto et al., 1994a; Martin Neto et al., 1994b; Martin-Neto et al., 1998; Novotny e Martin-Neto, 2002). Normalmente, a maior humificação está relacionada à formação de compostos mais aromáticos, sendo portanto estimado indiretamente que a concentração de radicais livres orgânicos pode ser relacionada ao grau de aromaticidade das SH.

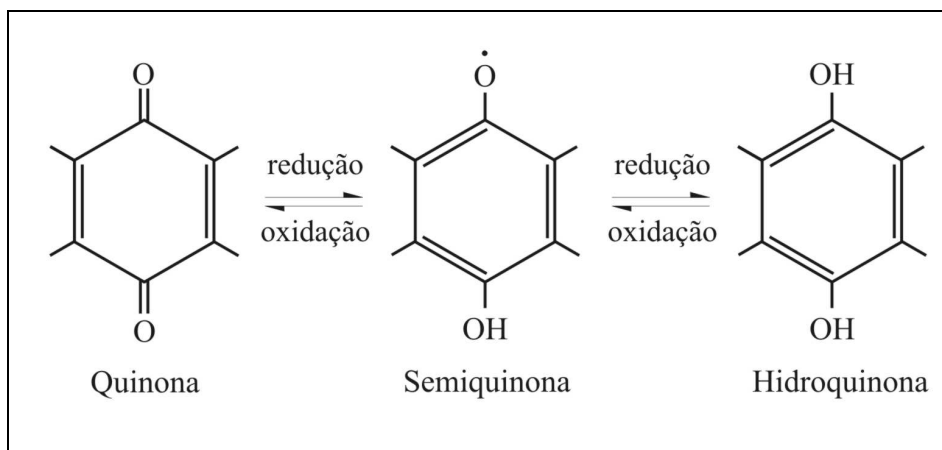


Figura 3.4. Esquema da estabilização do radical livre do tipo semiquinona (Senesi e Schnitzer, 1977).

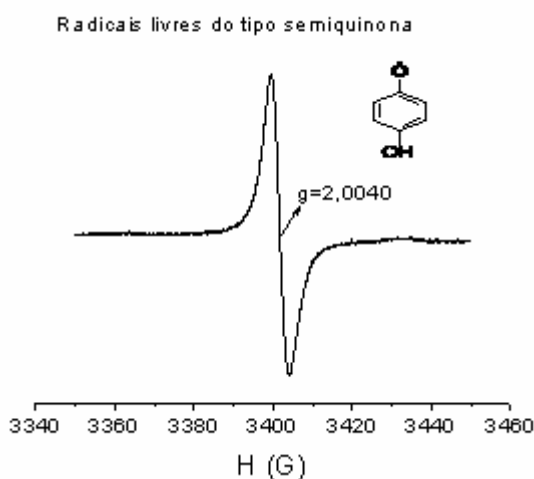


Figura 3.5. Espectro típico de Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE) de ácidos húmicos (AH) mostrando o sinal do radical livre do tipo semiquinona.

Com isso, essa possibilidade de caracterização das SH, e como seus íons metálicos paramagnéticos estão envolvidos em praticamente todos os processos que ocorrem no solo, fica totalmente viável o estudo dessa metodologia para o auxílio nas caracterizações dessas substâncias. A espectrometria de RPE é não-destrutiva, já que envolve energia microondas e de alta sensibilidade (da ordem de 10^{-8} segundos), com a possibilidade de estudar amostras nos estados: sólido, líquido e gasoso.

3.2.2. Fluorescência

3.2.2.1. Fenômeno de Fluorescência

Luminescência é a propriedade que numerosas substâncias têm de emitir luz sob o efeito de uma excitação que pode ser mecânica (triboluminescência), térmica (termoluminescência ou crioluminescência), elétrica (eletroluminescência), química

(quimioluminescência), biológica (bioluminescência), ou ainda luminosa, causada por radiação ultravioleta ou na região do visível (fotoluminescência). Sendo fluorescência se o fenômeno for instantâneo e fosforescência se ocorrer um lapso de tempo entre a excitação e a emissão. Portanto, na fluorescência, a radiação emitida cessa imediatamente após a radiação de excitação ser extinta (cerca de 10^{-8} segundos) e na fosforescência, a emissão espontânea pode persistir desde segundos ou frações de segundos até horas (Atkins, 1998).

O fenômeno de fluorescência é o decaimento radioativo resultante do retorno de um elétron excitado para seu estado fundamental, logo há a necessidade de que a molécula de interesse esteja no estado excitado. Transições típicas deste tipo envolvem a promoção de elétrons não ligantes (n) ou ligantes (π) para orbitais antiligantes (π^*) (Figura 3.6). Esses processos são altamente prováveis em sistemas moleculares contendo átomos com pares de elétrons não compartilhados, tais como oxigênio e nitrogênio, e em estruturas aromáticas e/ou sistemas alifáticos conjugados de insaturações com alto grau de ressonância (deslocalização eletrônica), como é o caso das SH (Senesi et al., 1991).

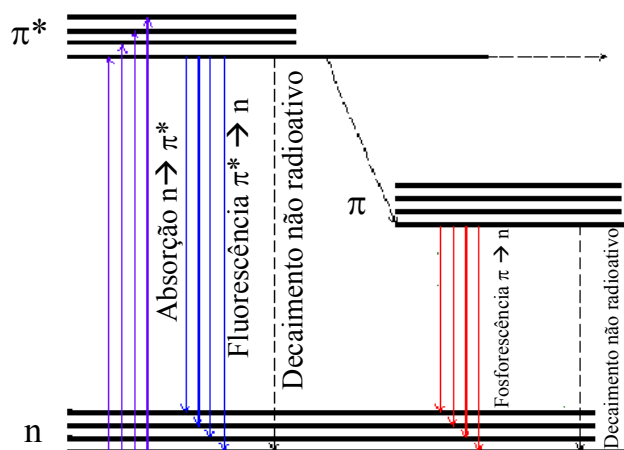


Figura 3.6. Níveis mostrando as transições eletrônicas na fluorescência molecular.

Devido à heterogeneidade das SH, a espectroscopia de fluorescência pode ser utilizada como critério para se distinguir aspectos baseados na natureza, origem e gênese dessas substâncias. Por outro lado, esta mesma complexidade representa um obstáculo para a identificação de componentes estruturais individuais responsáveis pela fluorescência (Senesi et al., 1991).

3.2.2.2. Espectroscopia de fluorescência

A espectroscopia de fluorescência é aplicada para o estudo seletivo de fluoróforos, ou grupos que apresentam fluorescência em comprimentos de onda (λ) específicos. Os espectros de fluorescência das SH são constituídos pela soma desses fluoróforos. A potencialidade desse método para o estudo das estruturas e grupos funcionais dos materiais húmicos é devido à presença de uma variedade de estruturas fluorescentes, incluindo aromáticos condensados com vários grupos funcionais e cadeias alifáticas insaturadas (Senesi et al., 1991).

Como a fluorescência em substâncias orgânicas é um processo devido a sistemas π , principalmente de grupos aromáticos presentes na cadeia, Zsolnay et al. (1999), Kalbitz et al. (1999) e Milori et al. (2002) mostraram a possibilidade da determinação do grau de humificação de AH de solo por meio dessa metodologia.

A idéia básica de Zsolnay et al. (1999) é que a humificação da MO leva à condensação de anéis aromáticos e esse processo faz com que a fluorescência desse grupo se desloque para o vermelho do espectro de emissão. Os espectros de emissão de amostras de AH, excitados em 240 nm e obtidos na região de 350 a 650 nm, foram divididos em 4 regiões, e o grau de humificação foi calculado por meio da razão entre a última região de emissão A_4 (570-641 nm) e a primeira região do espectro A_1 (356-432 nm), ou seja, A_4/A_1 . Com isso, a área do último quarto corresponde à fluorescência de estruturas mais humificadas e a área do primeiro quarto seria oriunda de estruturas mais simples (Zsolnay et al., 1999; Milori et al., 2002).

Com a proposta de Kalbitz et al. (1999), mediu-se o espectro de varredura sincronizada na região de 300 a 520 nm, na qual foi proposto um outro índice de humificação baseado na razão da intensidade de fluorescência em 400 e 360 nm, ou em 470 e 360 nm. As intensidades dessas bandas mudam dependendo do grau de humificação da amostra. A região do espectro com comprimentos de onda mais para o vermelho (maior comprimento de onda) é associada a núcleos aromáticos substituídos e/ou conjugados, ou sistemas insaturados conjugados com elétron muito delocalizado. A região mais para o azul (menor comprimento de onda) é associada a compostos mais simples. Assim, a razão entre a intensidade de fluorescência em 460 e 399 nm (I_{460} / I_{399}) pode ser utilizada para medir o grau de humificação das SH dissolvidas (Kalbitz et al., 1999; Milori et al., 2002).

O método proposto por Milori et al. (2002) consiste em excitar as SH com luz na região do azul do espectro e medir a emissão de fluorescência nessa região. Essa absorção é mais ressonante com estruturas cuja concentração aumenta com o avanço do processo de humificação da MO. Portanto, nessa proposta, a área total do espectro de emissão de

fluorescência com excitação em 465 nm, A_{465} , (em condições experimentais idênticas: concentração = 20 mg L⁻¹; pH = 8 e mesma força iônica) deve ser proporcional ao grau de humificação.

Bayer et al. (2002a) avaliaram a MO por espectroscopia de um solo Podzólico Vermelho-escuro em experimento localizado no sul do Brasil, utilizando sistemas de manejo de PD e plantio convencional (PC). Os AH extraídos de solos sob PD apresentaram menores intensidades de fluorescência e menores concentrações de radicais livres do tipo semiquinona, portanto, menores graus de humificação, se comparado com os resultados sob PC. Essas diferenças observadas aumentaram do quinto para o nono ano do experimento, em sistema de PD, devido a constante incorporação de material orgânico ao solo, demonstrando a continuidade do processo de humificação. Os métodos espectroscópicos de RPE e Fluorescência foram satisfatórios no estudo dos efeitos das mudanças do solo por esses sistemas de manejo.

Rosa et al. (2005) determinaram os graus de humificação de SH extraídas de seis solos da Amazônia utilizando métodos espectroscópicos de fluorescência e RPE, correlacionando também com as relações C/H, C/O e C/N, obtidas a partir das análises elementares das SH. Os autores encontraram baixas correlações entre a concentração de spins, avaliado por RPE e as relações C/H, C/O e C/N levando a resultados contraditórios no que diz respeito à humificação. Entretanto, os graus de humificação obtidos por Fluorescência e RPE mostraram eficiência ao se avaliar a MOS nestas condições. O aumento da intensidade dos espectros de emissão de Fluorescência e da concentração de radicais livres semiquinonas por RPE servem de parâmetros nas análises de estabilidade da MOS em sistemas agrícolas, sendo extremamente úteis em estudos de sequestro de C por solos quando associados às emissões de CO₂.

Fuentes et al. (2006) utilizaram espectroscopias de UV-vis e fluorescência para avaliar o grau de humificação de diferentes extratos orgânicos alcalinos de materiais como SH, compostos e não compostos, de acordo com a metodologia proposta por Milori et al. (2002). Os resultados sugerem que a humificação é relacionada ao caráter aromático das moléculas, pela presença de anéis aromáticos e / ou estruturas poliaromáticas condensadas, além do maior grau de conjugação em cadeias alifáticas insaturadas. Os valores obtidos por UV-vis correlacionaram com o grau de humificação encontrado na Fluorescência, proposto por Milori et al. (2002).

3.2.2.3. Espectroscopia de Fluorescência Induzida por Laser (FIL)

3.2.2.3.1. Introdução

Os métodos de Fluorescência em solução citados anteriormente exigem a extração e fracionamento químico das SH, tornando as análises de solos um processo trabalhoso. Além disso, os produtos desse tratamento (AH, AF e humina) podem sofrer modificações em relação a sua forma *in situ*. Em contrapartida, a FIL aplicada em solos é uma metodologia que tem se mostrado eficiente na análise da MO, fornecendo resultados precisos de uma maneira ágil e em condições próximas das naturais. Milori et al. (2006) estudaram a aplicabilidade da FIL em amostras de solo, sem qualquer pré-tratamento. Foi proposto um índice de humificação (H_{FIL}) para a avaliação de amostras de solo e correlacionado com os índices de humificação de AH dissolvidos já propostos anteriormente por Zsolnay et al. (1999), Kalbitz et al. (1999) e Milori et al. (2002). O índice de humificação $H_{FIL} = ACF/COT$, onde ACF é a área sob a curva de emissão de fluorescência, com excitação em 458 nm e COT é o conteúdo de C orgânico total (Milori et al., 2006), feito para normalizar a relação entre a intensidade de emissão e a concentração de fluoróforos presentes na MO da amostra. Milori et al. (2006) concluíram que o sinal de fluorescência emitido a partir de uma amostra de solo inteiro excitado próximo à radiação azul do ultravioleta é devido à MO, e com isso, pôde ser estabelecida a humificação desse material. Comparando os sistemas de manejo de solos, a MOS proveniente do manejo convencional é mais recalcitrante que a MOS sob PD, consistente com os resultados obtidos em amostras de SH purificadas e analisadas por RPE, RMN e Fluorescência em solução (Bayer et al., 2000; Bayer et al., 2002a; Milori et al., 2002).

3.2.2.3.2. Fluorescência de solo

O processo de humificação utilizando a fluorescência conduziria ou produziria um aumento de estruturas fluorescentes (Milori et al., 2002; Milori et al., 2006). Os postulados de Zsolnay et al. (1999), Kalbitz et al. (1999) e Milori et al. (2002) também podem ser aplicados à fluorescência de solo inteiro. No caso de fluoróforos orgânicos, a estrutura individual de cada molécula é responsável pela fluorescência. Portanto, quando uma substância passa do estado sólido cristalino para o estado fundido ou vapor, ou é dissolvida, sua fluorescência persiste (Krasovitskii e Bolotin, 1998).

Quando os fluoróforos pertencentes na amostra de solo são excitados com um laser no azul-ultravioleta próximo, o espectro de emissão é uma banda alargada sem estruturas significativas, atribuída à MO. De forma similar aos AH em solução, essa excitação é mais ressonante com estruturas mais complexas. A intensidade do sinal é relacionada com a

presença de estruturas aromáticas condensadas rígidas, e dessa forma pode fornecer informação sobre a magnitude da recalcitrância molecular da MOS. Como a intensidade do sinal de fluorescência é proporcional à quantidade de C fluorescente presente na amostra, é necessário que essa intensidade seja normalizada pela concentração de C na amostra. Essa normalização é similar ao se trabalhar com soluções de mesma concentração, da mesma forma que foi feito para se aplicar o índice de humificação A_{465} (Milori et al., 2002). Como já mencionado no capítulo 1, a concentração de C do solo foi medida por Análise Elementar ou pelo método de carbono orgânico total (TOC).

As modificações nas intensidades de emissão do espectro normalizado podem ser associadas às variações estruturais dos fluoróforos. Como a excitação é na região do azul-ultravioleta próximo, a área sob a emissão de fluorescência normalizada deve ser proporcional ao grau de humificação.

González-Pérez et al. (2007) utilizaram a espectroscopia de FIL para avaliar a MOS de um Latossolo em diferentes sistemas de manejo: PD, PC e uma área sob vegetação nativa não cultivada. A avaliação da MO em amostras de solos por FIL apresentou alta correlação com os outros métodos avaliados, como a RPE, a RMN e a fluorescência convencional, utilizando amostras em solução de AH. O gradiente do grau de humificação da MO no sistema sob PD foi similar ao observado em vegetação natural, apesar das variações das profundidades serem menores. Em sistema sob PC não foi observada praticamente nenhuma mudança no grau de humificação com o aumento da profundidade. Isso indica que a aragem (aração ou o revolvimento da camada superficial do solo) realizada no PC leva a uma homogeneização do solo e por conta disso, interfere no grau de humificação. Em sistema sob PD foram reproduzidas as condições mais próximas da vegetação nativa, por esse manejo causar um menor impacto ambiental nos solos. Com essa metodologia de FIL, proposta anteriormente por Milori et al. (2006), foi possível observar diferenças significativas na avaliação qualitativa da MOS pelos sistemas de manejo avaliados, indicando sua potencialidade para uso em estudos da MO para determinação do grau de humificação (H_{FIL}) de solos.

3.3. PARTE EXPERIMENTAL

3.3.1. Área experimental

A área experimental utilizada nesse estudo foi o de pastagens de *Brachiaria decumbens*, com 27 anos de idade, localizada na Embrapa Pecuária Sudeste, em São Carlos-SP. A área

que serviu como referência era composta de uma vegetação de cerradão. Mais informações relevantes dessa área experimental estão descritos no item 2.3 do capítulo 2 da presente tese.

Para a caracterização da MOS por espectroscopia foram utilizadas amostras de solos, nas profundidades de 0-10, 10-20, 20-40, 40-60, 60-80 e 80-100 cm, em diferentes tratamentos: **cerradão** - mata mesófila semi-decídua (formação florestal mais seca que a Mata Atlântica e menos xenomorfa que o cerrado); **T00** - área de pastagem de *Brachiaria decumbens* sem adição de N e calcário; **t0** - área de pastagem de *Brachiaria decumbens* com zero de calcário superficial, recebendo 400 kg ano⁻¹ de N-sulfato de amônio e de K₂O; **t2m** - área de pastagem de *Brachiaria decumbens* com 2 t ha⁻¹ de calcário superficial, adubação NK, e reforço anual de 1 t ha⁻¹ de calcário; e **t4sa** - área de pastagem de *Brachiaria decumbens* com 4 t ha⁻¹ de calcário superficial sem adubação NK.

3.3.2. Análise do solo

3.3.2.1. Fluorescência Induzida por Laser (FIL)

Os espectros de emissão de FIL foram obtidos utilizando montagem experimental para amostras de solo (pastilhas preparadas a partir de aproximadamente 0,5 g de solo seco).

A montagem experimental do sistema de FIL está mostrada na Figura 3.7. O princípio da metodologia consiste na excitação da amostra utilizando fluorescência um laser de argônio (Coherent – modelo Innova 90C) sintonizado na linha de 458 nm e potência de 300mW. Na saída do laser foi colocado um prisma para remover a fluorescência de fundo do gás. A fluorescência das amostras foi coletada por uma lente convergente e focalizada sobre a fenda do monocromador. A detecção foi feita por meio de uma fotomultiplicadora, em seguida o sinal elétrico passa por um amplificador Lock-in e é enviado para o sistema de aquisição de dados. Um software foi desenvolvido para a aquisição de dados e controle do sistema. Neste sistema a emissão de fluorescência espalhada é medida provendo informações sobre estruturas presentes na superfície da amostra.

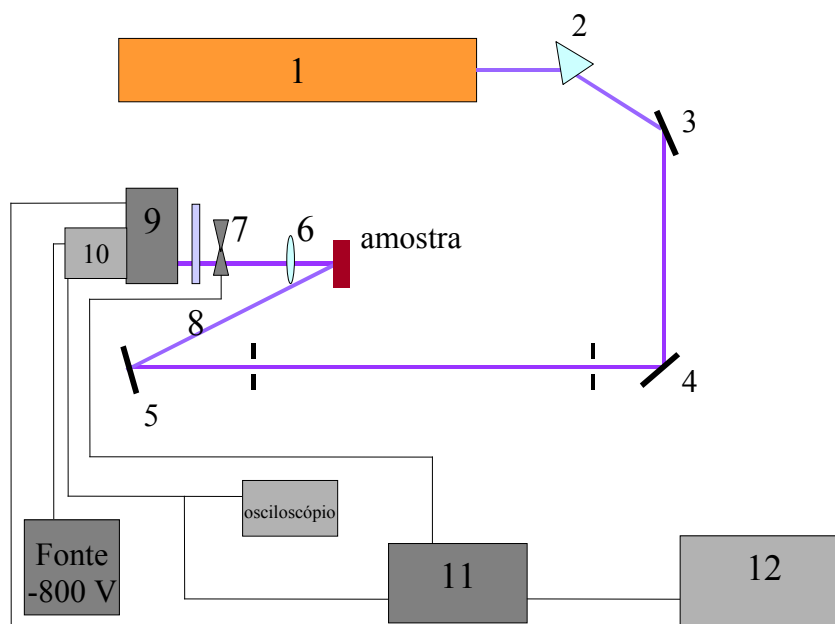


Figura 3.7. Sistema para medida de Fluorescência Induzida por Laser, onde: 1- Laser de Argônio; 2- Prisma; 3,4,5- Espelhos planos, 6- Lente convergente; 7- Modulador (optical chopper); 8- Filtro; 9- Monocromador; 10- Fotomultiplicadora; 11- Amplificador Lock-in; 12- Sistema de aquisição.

Como cada pastilha de solo possui duas faces ideais para as medidas de FIL, foi possível obter dois espectros para cada pastilha. Fotos de parte do equipamento de FIL e das pastilhas de solo estão apresentados na Figura 3.8.

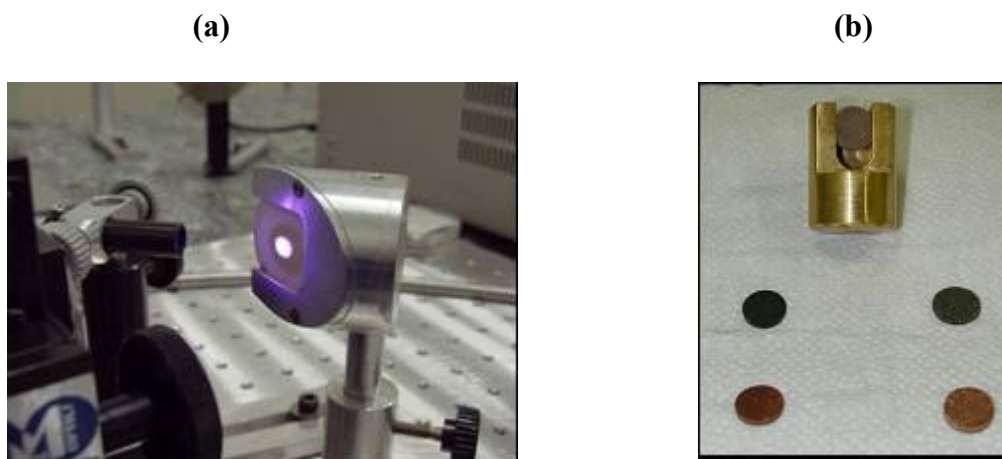


Figura 3.8. Fotos (a) de parte do equipamento de FIL, mostrando a incidência do laser na pastilha de solo e (b) das pastilhas de solo e suporte utilizados nas análises.

De acordo com Milori et al. (2006), para a avaliação do grau de humificação H_{FIL} é necessário dividir a área do espectro de fluorescência pela concentração de C total correspondente (o procedimento de determinação de C está descrito no item 2.2.5). O equipamento de FIL utilizado pertence à Embrapa Instrumentação Agropecuária.

3.3.3. Fracionamento químico: extração e purificação dos AH

As amostras de solo, nas profundidades de 0-10 e 10-20 cm, foram submetidas ao fracionamento químico para a extração dos AH, de acordo com a metodologia sugerida pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS) (Swift, 1996), baseada nas características de solubilidade.

As raízes das amostras de solo foram removidas com peneira de 0,5 mm. Após, as amostras foram acidificadas a pH 1-2 e, então, o volume da solução foi ajustado com solução 0,1 mol L⁻¹ de HCl para que o volume final obedecesse à proporção 10 mL líquido / 1 g de amostra. A suspensão foi agitada e, após decantação do resíduo, houve a separação do sobrenadante (extrato 1 – AF).

O resíduo sólido foi neutralizado com solução 1 mol L⁻¹ de NaOH até pH 7. Após agitação e repouso, o sobrenadante foi separado e acidificado a pH 1-1,5. Separou-se então as frações dos AH (precipitado) e dos AF (extrato 2). As frações de AH foram redissolvidas adicionando mínimo volume de 0,1 mol L⁻¹ de KOH e KCl sólido para obter [K⁺] de 0,03 mol L⁻¹. Após, os AH foram precipitados novamente, suspensos em solução 0,1 mol L⁻¹ de HCl / 0,3 mol L⁻¹ de HF e então agitou-se durante 24 horas à temperatura ambiente. Esse procedimento foi repetido 5 vezes devido à dificuldade de eliminar ferro e outros metais dessas amostras de AH. As amostras de AH foram então dialisadas (McPhie, 1971) e liofilizadas.

3.3.4. Caracterização das amostras de AH

3.3.4.1. Determinação de C dos AH por análise elementar

A análise química para avaliação da composição elementar de carbono, nitrogênio, hidrogênio e enxofre (C, N, H, S) das amostras de AH foi realizada em duplicata a partir de 1 mg de amostra, por combustão a 1000°C. As medidas foram realizadas no equipamento Carlo-Erba - Instruments modelo EA 1110, pertencente ao Instituto de Química da USP de São Carlos-SP.

3.3.4.2. Análise do teor de cinzas das amostras de AH

O teor de cinzas foi obtido por calcinação em cadinho de platina. Aproximadamente 10 mg de amostra livre de umidade permaneceu, a 600 °C, em mufla, durante 2 horas.

3.3.4.3. Caracterização dos AH em solução por Espectroscopia de Fluorescência de luz no UV-vis

Os AH extraídos das amostras de solo foram analisados por Espectroscopia de Fluorescência de luz UV-vis, nas profundidades 0-10 e 10-20 cm. As análises foram realizadas em um espectrômetro de luminescência Perkin-Elmer modelo LS50B pertencente à Embrapa Instrumentação Agropecuária. Foram utilizadas soluções aquosas de 20 mg L⁻¹ de AH em 0,05 mol L⁻¹ de NaHCO₃. Três métodos para avaliação do grau de humificação foram correlacionados conforme proposto na literatura (Zsolnay et al., 1999; Kalbitz et al., 1999 e Milori et al., 2002).

No método proposto por Zsolnay et al. (1999), os espectros de emissão das amostras de AH foram medidos com a excitação em 240 nm. Como esses espectros foram obtidos na região de 350 a 650 nm, o espectro de emissão total foi dividido em 4 regiões, e o grau de humificação foi calculado por meio da razão entre a última região de emissão, A₄ (570-641 nm) e a primeira região do espectro, A₁ (356-432 nm), ou seja, A₄/A₁.

Com o método proposto por Kalbitz et al. (1999), o espectro de varredura sincronizada foi medido em uma região de 300 a 520 nm por varreduras simultâneas dos comprimentos de onda de excitação e emissão utilizando um $\Delta\lambda$ de 55 nm. De acordo com essa metodologia, o espectro de fluorescência de varredura sincronizada das SH apresenta duas bandas com máxima intensidade em aproximadamente 365 e 399 nm com um ombro por volta de 470 nm. Nesse caso, o grau de humificação foi medido por meio da razão das intensidades em 465 nm e 399 nm, ou seja, a relação I₄₆₅/ I₃₉₉.

O terceiro método de fluorescência, proposto por Milori et al. (2002), foi medido na região de 480 nm a 800 nm. O grau de humificação das SH foi obtido através da área total do espectro de fluorescência resultante do comprimento de onda de excitação em 465 nm, ou seja, A₄₆₅.

As fendas utilizadas nos experimentos foram de 7 nm e as velocidades de varredura foram de 200 nm/min.

3.3.4.4. Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE)

As medidas foram realizadas em um espectrômetro de onda contínua da Bruker, modelo EMX, operando em 9 GHz (banda X), 100 KHz de frequência de modulação, utilizando cavidade retangular, à temperatura ambiente, com equipamento pertencente à Embrapa Instrumentação Agropecuária. As amostras de AH, com massa variando de 20 a 30 mg, foram colocadas em tubos de quartzo de 2,5 mm de diâmetro interno. Todas as medidas de radicais

livres do tipo semiquinona foram feitas nas seguintes condições: $H_0 = 3400$ G, potência de microondas = 0,2 mW, amplitude de modulação = 0,1 mT e com no mínimo 16 varreduras. A concentração de radicais livres do tipo semiquinona foi determinado usando a aproximação $I \times \Delta H^2$ (Poole e Farach, 1972), e utilizando o método do padrão secundário, com um cristal de rubi contendo Cr^{3+} (Singer, 1959; Martin-Neto et al., 1994a). Os resultados apresentados foram a média de duas medidas feitas nas mesmas condições.

3.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.4.1. Análise do solo inteiro

3.4.1.1. Fluorescência Induzida por Laser (FIL)

Na Figura 3.9 estão apresentados os espectros de emissão da fluorescência das amostras de solo do experimento em áreas de pastagem de *Brachiaria decumbens*. De acordo com González-Pérez et al. (2007), para analisar a qualidade do C total presente no solo por FIL, é necessário excitar a amostra próximo à região do UV ou azul do espectro, obtendo assim informações acerca das estruturas humificadas. Os espectros representados são referentes às amostras do tratamento t2m, em função da profundidade. As intensidades de fluorescência já estão normalizadas pelo teor de C (os valores de C dessas amostras estão representados na Tabela 2.5 do capítulo 2). Observa-se que ocorreu aumento da intensidade de fluorescência em função do aumento da profundidade. Os sinais dos espectros de Fluorescência para os outros tratamentos são semelhantes, por isso não serão mostrados.

Na FIL analisa-se a fluorescência da MOS total, que é proporcional à área total do espectro (normalizado pelo teor de C). Os espectros de emissão mostram uma banda entre 480 e 650 nm, similar aos espectros obtidos para os AH avaliados por Milori et al. (2002). Esses espectros também apresentam comprimentos de onda (λ) de máxima intensidade em torno de 520 nm, em todas as profundidades.

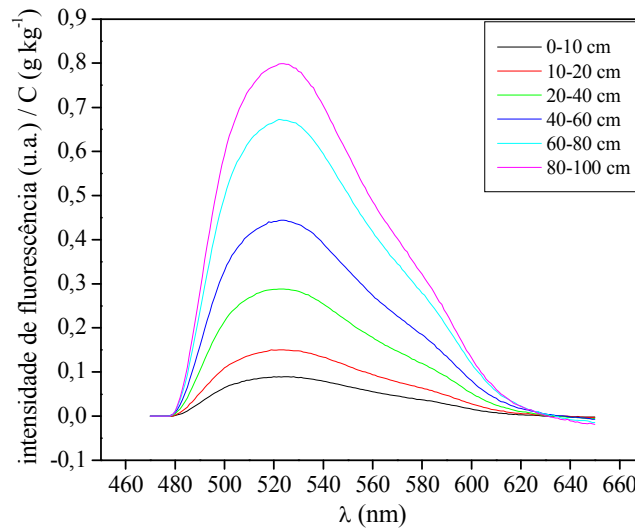


Figura 3.9. Espectros de emissão de Fluorescência característicos de amostras de solo, obtidos por Fluorescência Induzida por Laser (FIL). Esses espectros são referentes ao tratamento **t2m** (2 t ha⁻¹ de calcário na superfície, com adubação NK, e com reforço anual de 1 t ha⁻¹ de calcário) nas profundidades 0-10, 10-20, 20-40, 40-60, 60-80 e 80-100 cm.

De acordo com González-Pérez et al. (2007), os espectros de fluorescência são emitidos por sistemas conjugados em moléculas ou estruturas (provavelmente aromáticos) carregando substituintes como grupos carbonilas e carboxilas. No caso de se avaliar a MO total presente no solo, como na FIL, mede-se o C em estruturas mais complexas ou rígidas, como os grupos aromáticos e quinonas presentes no solo.

Na Figura 3.10 estão apresentados os espectros de emissão de fluorescência de amostras de solo (normalizados pelo teor de C) obtidos por FIL a partir dos tratamentos propostos, na profundidade 0-10 cm.

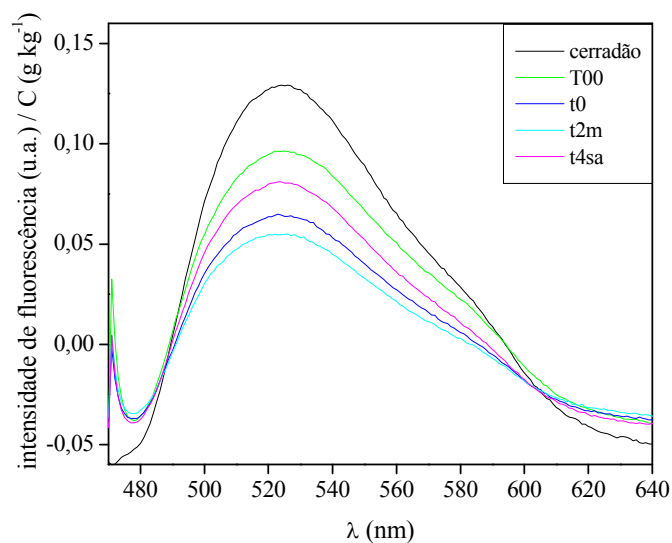


Figura 3.10. Espectros característicos da razão intensidade de fluorescência por FIL das amostras de solos normalizados pelo teor de C para os diferentes tratamentos: **área de cerradão**; **T00** (pastagem sem N e calcário); **t0** (zero de calcário na superfície, recebendo NK); **t2m** (2 t ha⁻¹ de calcário na superfície, adubação NK, e reforço anual de 1 t ha⁻¹ de calcário) e **t4sa** (4 t ha⁻¹ de calcário na superfície em parcelas sem NK), na profundidade 0-10 cm.

O cerradão apresentou maior intensidade de fluorescência (normalizado pelo teor de C), seguido pelos tratamentos T00>t4sa>t0>t2m. Para todos os tratamentos avaliados, o λ de fluorescência de máxima intensidade foi em torno de 520 nm. Com esses resultados foi possível calcular os índices de humificação, H_{FIL} , como pode ser mostrado na Figura 3.11, em todas as profundidades analisadas.

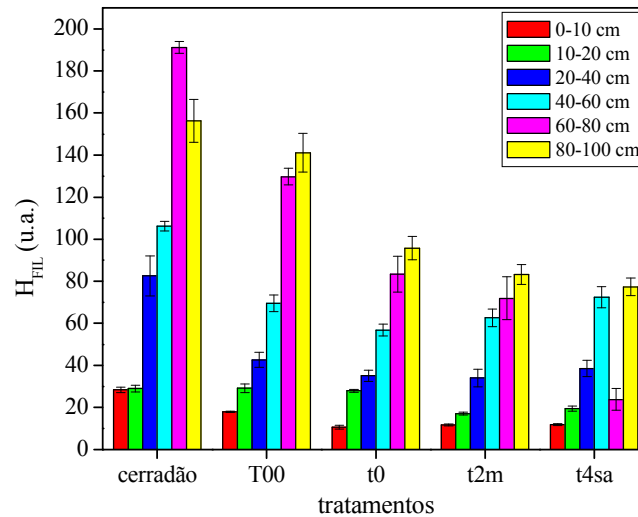


Figura 3.11. Valores dos graus de humificação (H_{FIL}) obtidos por Fluorescência Induzida por Laser (FIL) em amostras de solos coletados após 27 anos de pastagem, em diferentes tratamentos: **T00** (pastagem sem N e calcário); **t0** (zero de calcário na superfície, recebendo NK); **t2m** (2 t ha^{-1} de calcário na superfície, adubação NK e reforço anual de 1 t ha^{-1} de calcário) e **t4sa** (4 t ha^{-1} de calcário na superfície em parcelas sem NK) além da área de **cerradão**.

Em sistemas sob pastagem observou-se uma diminuição no grau de humificação se comparado à área de cerradão. Isso se deve à presença de MO mais lábil ou menos estável presente nos tratamentos de pastagens com maior aporte de resíduos. Verifica-se também que na superfície (0-10 cm) a MOS encontra-se menos humificada para todas as amostras, já que a quantidade dos resíduos orgânicos presentes são maiores que a capacidade dos organismos de metabolizá-los (Bayer et al., 2000; Bayer et al., 2002a). Já em maiores profundidades houve um aumento gradual na humificação, portanto, uma maior estabilização da MO devido à presença de C mais recalcitrante. Os sistemas de pastagens podem ser comparados aos sistemas de PD, já que combinam o não revolvimento do solo, a manutenção da cobertura vegetal de gramíneas e o elevado aporte de resíduos, ou em função da rápida ocupação do solo por atividade radicular ou pela entrada de N, encontrado nos fertilizantes (tratamentos t0 e t2m) no sistema. De acordo com os resultados obtidos, os tratamentos t0, t2m e t4sa foram os que apresentaram menores graus de humificação, em todas as profundidades, se comparados com a vegetação de cerradão e a pastagem comum (T00).

3.4.2. Análises do solo fracionado

3.4.2.1. Análise elementar e teor de cinzas

A partir da extração das amostras de solo segundo metodologia sugerida pela IHSS, obteve-se a separação e purificação dos AH dos tratamentos avaliados no experimento em área de pastagem de *Brachiaria decumbens*, após 27 anos, nas profundidades 0-10 (1) e 10-20 (2) cm. Estas profundidades foram escolhidas principalmente por ser mais provável considerar situações de seqüestro de C em amostragens mais superficiais do solo (Machado, 2005).

Na Tabela 3.1 estão apresentados os teores de cinzas e as análises elementares de C, H e N (em %, m/m), juntamente com a relação C/N, obtidos após o fracionamento químico das amostras de AH.

Tabela 3.1. Análises elementares de C, H e N, relação C/N e teores de cinzas (%) das amostras de AH extraídas do Latossolo Vermelho-Amarelo nas profundidades de 0-10 cm (1) e 10-20 cm (2) nos diferentes tratamentos: **T00** (pastagem sem N e calcário); **t0** (zero de calcário na superfície, recebendo NK); **t2m** (2 t ha⁻¹ de calcário na superfície, adubação NK e reforço anual de 1 t ha⁻¹ de calcário) e **t4sa** (4 t ha⁻¹ de calcário na superfície em parcelas sem NK) além da área de **cerradão**.

amostra de AH	profundidade (cm)	%C (m/m)	%H (m/m)	%N (m/m)	%Cinzas	C/N
cerradão 1	0-10	36,0	4,3	3,9	8,8	9,2
cerradão 2	10-20	32,3	4,0	3,6	12,2	9,0
T00 1	0-10	38,0	4,2	2,8	4,9	13,6
T00 2	10-20	35,2	4,0	2,6	4,5	13,5
t0 1	0-10	40,3	4,7	2,9	3,8	13,9
t0 2	10-20	36,6	2,6	2,7	7,4	13,6
t2m 1	0-10	36,7	2,2	2,7	5,7	13,6
t2m 2	10-20	38,4	3,9	2,8	6,4	13,7
t4sa 1	0-10	37,4	3,4	2,6	5,1	14,4
t4sa 2	10-20	37,2	3,8	2,8	8,7	13,3

O conteúdo de C para as amostras de AH obtidos apresentaram valores entre 32-40 % (m/m). A maior quantidade de N foi determinada para as amostras de cerradão (3,9 e 3,6%). Nesse caso, pode-se afirmar que o processo de fracionamento químico não mostrou diferenças expressivas para os diferentes tratamentos, já que em todos os casos foram obtidas amostras purificadas de AH.

A razão C/N, associada ao grau de decomposição do material, fornece informações sobre a incorporação do N na estrutura húmica e sobre o estado de humificação da MO. Uma alta razão C/N significa baixa incorporação de N e baixo grau de humificação. Observa-se,

pela Tabela 3.1, que a maior razão C/N foi obtida para a amostra t4sa 1, porém, de uma maneira geral, esta razão foi similar para a maioria dos tratamentos. De acordo com Rocha e Rosa (2003), a razão C/N não apresenta grande variação para os AH, o que foi evidenciado nos resultados apresentados.

Os teores de cinzas determinados para as amostras de AH foram em torno de 3,8 a 12,2%. Amostras com teores de cinzas menores que 5% indicariam que os teores de ferro e outros metais estariam baixos nas amostras, sendo praticamente eliminado na etapa do HF do fracionamento químico. Contudo, mesmo apresentando teores maiores que 5% em algumas amostras, foi possível a caracterização desses AH por espectroscopia.

3.4.2.2. Espectroscopia de Fluorescência de luz no UV-vis das amostras de AH

A Figura 3.12 apresenta os espectros de fluorescência para amostras de AH extraídas dos solos do experimento de pastagem provenientes de três métodos propostos na literatura: (3.12a) Zsolnay et al. (1999); (3.12b) Kalbitz et al. (1999) e (3.12c) Milori et al. (2002).

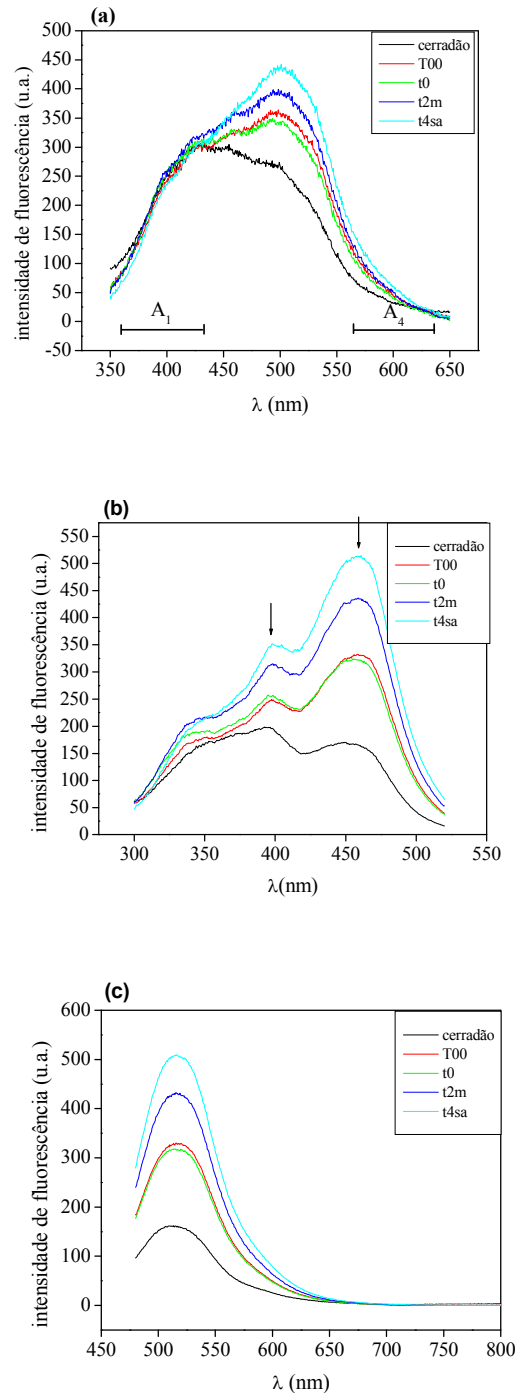


Figura 3.12. Espectros de emissão de Fluorescência de AH do experimento em áreas de pastagem de *Brachiaria decumbens* segundo metodologias propostas por: (a) Zsolnay et al. (1999), (b); Kalbitz et al. (1999) e (c) Milori et al (2002), para os tratamentos: **área de cerradão**; **T00** (sem N e calcário); **t0** (zero de calcário na superfície, recebendo NK); **t2m** (2 t ha^{-1} de calcário na superfície, adubação NK, e reforço anual de 1 t ha^{-1} de calcário) e **t4sa** (4 t ha^{-1} de calcário na superfície em parcelas sem NK) na profundidades de 0-10 cm.

Esses métodos, baseados na espectroscopia de fluorescência, propõem parâmetros diferentes, portanto cada um pode fornecer resultados específicos para posteriormente serem comparados. Enquanto Zsolnay et al. (1999) usa excitação no ultravioleta, onde vários

fluoróforos das SH são excitados, a proposta de Milori et al. (2002) exclui grande parte deles, atuando em grupos específicos de fluoróforos, sendo, portanto, mais seletivo. A diferença entre esses grupos pode ser visualizada através do formato dos espectros de emissão com excitação em 240 nm (Figura 3.12a) e 465 nm (3.12c). Como a fluorescência parte do estado singleto de menor energia e o espectro de emissão de uma substância pura independe do comprimento de onda de excitação, é evidente que há interação com diferentes fluoróforos quando se varia o comprimento de onda da excitação. O método proposto por Kalbitz et al. (1999) também é mais seletivo que o de Zsolnay et al. (1999) (Figura 3.12b), pois mostra ressonâncias específicas quando a diferença entre o comprimento de onda da excitação e da emissão ($\Delta\lambda$) é igual a 55 nm. Também difere da proposta de Milori et al. (2002), pois, interage principalmente com dois grupos, um com excitação em 399 nm e emissão em 520 nm que estaria associado a grupos mais humificados.

Na Figura 3.13a, 3.13b e 3.13c estão os gráficos obtidos dos graus de humificação, referentes às três metodologias de fluorescência propostas na literatura.

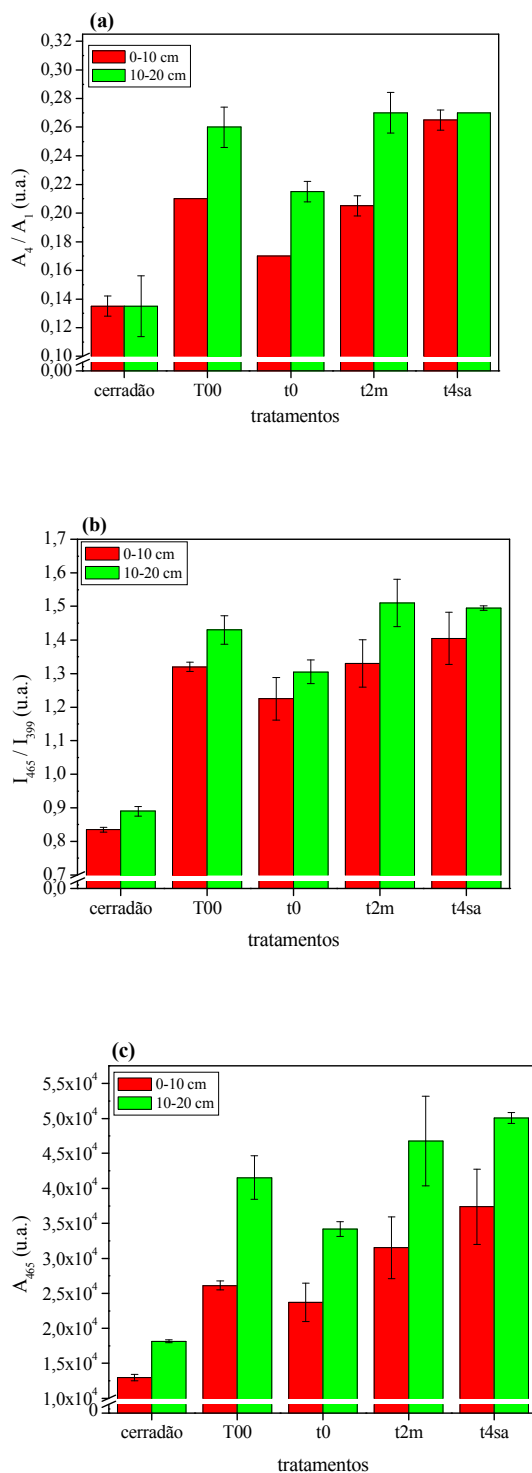


Figura 3.13. Graus de Humificação dos AH do experimento em áreas de pastagem de *Brachiaria decumbens*, obtidos a partir dos estudos de Fluorescência propostos por: (a) Zsolnay et al., 1999 [A_4/A_1]; (b); Kalbitz et al., 1999 [I_{465}/I_{399}] e (c) Milori et al. 2002 [A_{465}], para os tratamentos: **área de cerradão**, **T00** (pastagem sem N e calcário); **t0** (zero de calcário na superfície, recebendo NK); **t2m** (2 t ha⁻¹ de calcário na superfície, com adubação NK, e com reforço anual de 1 t ha⁻¹ de calcário) e **t4sa** (4 t ha⁻¹ de calcário na superfície em parcelas sem NK) nas profundidades de 0-10 e 10-20 cm.

Pelos gráficos, os maiores graus de humificação foram obtidos para os AH dos tratamentos de pastagem (T00, t0, t2, e t4sa), nas 3 metodologias avaliadas. Já o menor grau de humificação foi determinado nos AH provenientes da vegetação de cerrado. Considerando o grau de humificação somente de materiais mais humificados do solo, como os AH, observa-se que houve uma tendência de aumento do grau de humificação nos tratamentos que tiveram adição de calcário (t2m e t4sa).

Os maiores graus de humificação obtidos em t2m t4sa podem estar associados a alguns fatores relacionados à aplicação da calagem. O calcário é adicionado para corrigir a acidez do solo, aumentando o valor do pH. Segundo Caires et al. (2006), o calcário pode interferir no conteúdo da MOS, principalmente na superfície do solo, já que sua incorporação faz com que ocorra o desarranjo dos macroagregados, no aumento da atividade microbiana, acelerando a decomposição daquela MO que estava protegida. A hidroxila (-OH) desloca as SH das partículas da argila, principalmente Al, tornando-se sujeito ao ataque microbiano. Existe a ligação Ca-AH, entretanto o Al que complexa mais com os AH (Al-AH), além da complexação com o Fe. Essa complexação da MO, favorecida pela presença das substâncias mais recalcitrantes, os AH, pode estar associada ao aumento da estabilidade da MO e conseqüentemente ao aumento do grau de humificação.

Os valores dos índices A_4/A_1 , I_{465}/I_{399} e A_{465} seguiram a mesma tendência. Os coeficientes de correlação linear obtidos com as metodologias de fluorescência foram $R= 0,98$ para Zsolnay et al. (1999) e Kalbitz et al. (1999) e $R= 0,91$ para Zsolnay et al. (1999) e Milori et al. (2002), comparadas duas a duas. Diferenças na caracterização da MOS quando se analisa o solo inteiro por FIL e os AH em solução, por Fluorescência de luz no UV-vis, podem ser relacionadas ao tipo ou ao modo de como a amostra se encontra. Com isso, a aplicação da FIL em amostras de solo não fracionadas permite avaliar a MO total do solo e não apenas a sua fração mais humificada. Na amostra de solo existe um efeito de diluição, devido à presença de material não humificado e, portanto, muito C presente não contribui para o sinal de fluorescência e conseqüentemente para o grau de humificação. Já nos AH, basicamente é medido somente as frações mais recalcitrantes com um percentual elevado de C contribuindo para a fluorescência.

3.4.2.3. Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE)

O sinal do radical livre orgânico das SH, detectável por RPE, pode ser atribuído a radicais livres do tipo semiquinona. Como já discutido anteriormente, quanto maior a concentração de radicais livres do tipo semiquinona, maior a humificação da MO e, portanto,

está associado com o grau de humificação da MOS (Senesi, 1990a; Martin-Neto et al., 1991, 1998; Bayer et al., 2002a; Bayer et al., 2002b). Com isso, a RPE pode ser utilizada em estudos qualitativos da MOS, como por exemplo, para avaliar diferentes sistemas de manejo (Bayer et al., 2006a).

A Figura 3.14 apresenta os níveis de concentração de radicais livres do tipo semiquinona em função da profundidade de AH provenientes de diferentes tratamentos de pastagens, além da área de cerradão.

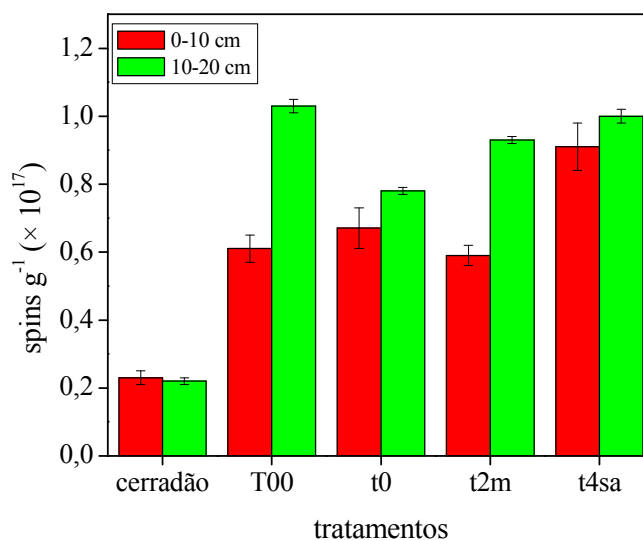


Figura 3.14. Níveis de radicais livres do tipo semiquinona [spins g⁻¹ (× 10¹⁷)] de ácidos húmicos (AH) determinados por Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE) sob diferentes tratamentos: **área de cerradão**, **T00** (pastagem sem N e calcário); **t0** (zero de calcário na superfície, recebendo NK); **t2m** (2 t ha⁻¹ de calcário na superfície, com adubação NK, e com reforço anual de 1 t ha⁻¹ de calcário) e **t4sa** (4 t ha⁻¹ de calcário na superfície em parcelas sem NK), nas profundidades 0-10 e 10-20 cm.

Pela Figura 3.14 observa-se que os AH dos tratamentos de pastagens (T00, t0, t2m e t4sa) apresentaram maiores concentrações de radicais livres do tipo semiquinona quando comparado com a área de cerradão. Os AH dos tratamentos de pastagens tiveram valores de $0,59 \pm 0,03 (\times 10^{17})$ a $1,03 \pm 0,02 (\times 10^{17})$ spins g⁻¹. Os valores para o cerrado foram de $0,22 \pm 0,01 (\times 10^{17})$ a $0,23 \pm 0,02 (\times 10^{17})$ spins g⁻¹.

Pode-se observar que o grau de humificação foi maior no tratamento t4sa, devido principalmente ao efeito do calcário no AH, afetado também pelo aumento do pH, de aproximadamente 5 (Tabela 2.1 do capítulo 2). O tratamento t2m também apresenta tendência em aumentar o grau de humificação, contudo, somente na profundidade 0-10 cm foi obtido menor humificação. Na profundidade 10-20 cm, o aumento da humificação foi verificado novamente.

A Figura 3.15 mostra a correlação entre as metodologias de Fluorescência de luz no UV-vis (Zsolnay, Kalbitz e Milori) e RPE, apresentando correlação linear significativa, da ordem de 94%. A Fluorescência em solução e a RPE mostraram grande potencial na avaliação da recalcitrância ou estabilidade da MOS nos tratamentos de pastagem, principalmente nos que tiveram adição de calagem.

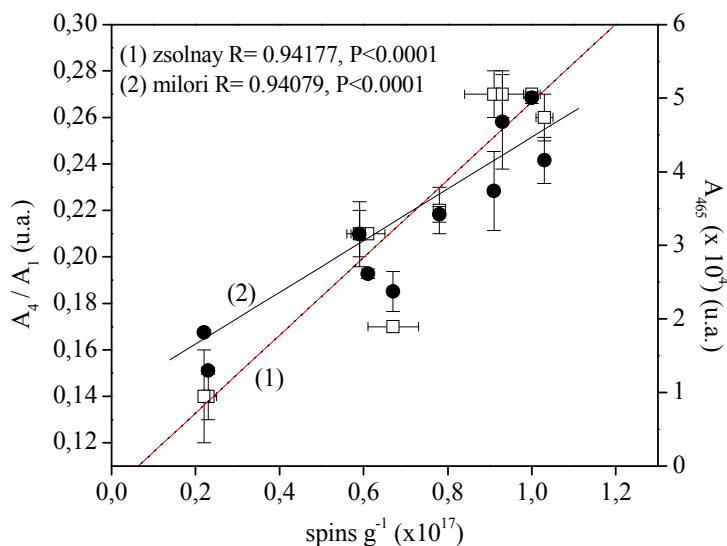


Figura 3.15. Relação entre os índices A_4/A_1 , I_{465}/I_{399} e A_{465} propostos respectivamente por Zsolnay et al. (1999), Kalbitz et al. (1999) e Milori et al. (2002) pela Fluorescência de luz no UV-vis com o nível de radicais livres do tipo semiquinona [$\text{spins g}^{-1} (\times 10^{17})$] de ácidos húmicos (AH) determinados por Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE).

3.5. CONCLUSÕES

Em área tropical de pastagens de *Brachiaria decumbens*, no Brasil, estudos anteriores mostraram que a determinação dos EC foram maiores nesses sistemas, comparado com a vegetação nativa de cerradão, após 27 anos de experimento. Contudo, a avaliação qualitativa da MOS também trouxe resultados promissores na determinação da estabilidade da MOS por espectroscopia por meio da determinação dos graus de humificação utilizando metodologias de Fluorescência e RPE.

Resultados de FIL mostraram que em sistemas sob pastagem observou-se uma diminuição no grau de humificação se comparado à área de cerradão. Isso se deve à presença de MO mais lábil ou menos estável presente nos tratamentos de pastagens com maior aporte de resíduos. Verifica-se também que na superfície (0-10 cm) a MOS encontra-se menos humificada para todas as amostras, já que a quantidade dos resíduos orgânicos presentes são maiores que a capacidade dos organismos em metabolizá-los. Já em maiores profundidades

houve um aumento gradual na humificação, portanto, uma maior estabilização da MO devido à presença de C mais recalcitrante.

Na Fluorescência convencional com amostras de AH em solução, aplicada seguindo metodologias propostas na literatura, os maiores graus de humificação foram obtidos para os AH dos tratamentos de pastagem, principalmente nos tratamentos que tiveram adição de calagem (t2m e t4sa). O Ca^{2+} , além de aumentar a atividade microbiana, pode complexar com os AH, levando ao aumento da estabilidade da MO.

Em RPE, pode-se observar que o grau de humificação foi maior no tratamento t4sa, devido provavelmente ao efeito do calcário nos AH, com formação da ligação Ca-AH. A RPE apresentou correlação significativa com as metodologias de Fluorescência de luz no UV-vis, da ordem de 94%.

Diferenças na caracterização da MOS quando se analisa o solo inteiro por FIL e os AH em solução, por Fluorescência de luz no UV-vis, podem ser relacionadas ao tipo de amostra caracterizada. Com isso, a aplicação da FIL em amostras de solo não fracionadas permite avaliar a MO total do solo e não apenas a sua fração mais humificada. Na amostra de solo existe um efeito de diluição, devido à presença de material não humificado e, portanto, muito C presente não contribui para o sinal de fluorescência e conseqüentemente para o grau de humificação. Já nos AH, basicamente é medido somente as frações mais recalcitrantes com um percentual elevado de C contribuindo para a fluorescência.

4.1. INTRODUÇÃO**4.1.1. Seqüestro de carbono por sistema de plantio direto (PD)**

Como dito no capítulo 2 e 3, a agricultura pode contribuir para a emissão ou o seqüestro de carbono (C), dependendo do efeito de manejo adotado. Sistemas de manejo do solo inadequados podem mineralizar a matéria orgânica do solo (MOS) e transferir os Gases do Efeito Estufa (GEE) para a atmosfera (Six et al., 2004). Entre os sistemas de manejo, destacam-se as práticas conservacionistas, como o plantio direto (PD), onde o solo não é revolvido, fazendo com que haja uma diminuição na mineralização da MOS. Este tipo de manejo, que prioriza a manutenção e o aumento dos estoques de carbono (EC) no solo (Pillon et al., 2001), teve início no sul do Brasil, em 1972 (Cerri et al., 2007).

O sistema de PD é um sistema de manejo do solo onde a palha e outros restos vegetais são deixados na superfície do solo, sendo este revolvido apenas no sulco, onde são depositadas as sementes e os fertilizantes. As plantas infestantes são controladas por herbicidas. Não existe preparo do solo além da mobilização no sulco de plantio. Considera-se que para o sucesso do sistema são fundamentais a rotação de culturas e o manejo integrado de pragas, doenças e plantas invasoras. A adoção do PD pode reduzir a erosão do solo, aumentar o uso eficiente da água, melhorar a biodiversidade do solo, aumentar a sustentabilidade dos sistemas agrícolas pelo aumento da produção por unidade de fertilizante aplicado, energia e irrigação com água e outros recursos não renováveis (Borges e Gassen, 2006). O PD é uma situação ideal devido aos seus benefícios econômicos, ambientais e ecológicos. De acordo com Lal (2005), é importante estabelecer experimentos sob sistemas de PD de longa duração nas principais regiões do mundo para quantificar o potencial de seqüestro de C do solo em diversos agroecossistemas. O ambiente menos oxidativo do solo em PD associado a sistemas de rotação de culturas com alto aporte de resíduos vegetais intensificam os fluxos de matéria (C fotossintetizado, nutrientes, etc.) e energia no solo, os quais contribuem para a interação dos componentes minerais e orgânicos que se reflete no aumento do nível de ordem, evidenciados pelo acúmulo de matéria orgânica (MO), agregação e biomassa microbiana, entre outros (Bayer e Dieckow, 2005). Resultados de pesquisa têm demonstrado que o

aumento da MO, em solos sob PD, ocorre principalmente na fração lábil (Bayer et al., 2000; Bayer et al., 2002a; Bayer et al., 2002b, Sá et al., 2004).

Bayer et al. (2000) observaram que em sistemas sob PD, as maiores quantidades de resíduos na superfície aumentam a quantidade de compostos orgânicos metabolizáveis na superfície do solo, às vezes até mais que a capacidade dos microrganismos de metabolizá-los. Por outro lado, sistemas com revolvimento, como o plantio convencional (PC), resultam numa ampla distribuição de resíduos na camada arável (em aproximadamente 20 cm de profundidade) permanecendo pouca quantidade de C e nutrientes para os microrganismos na superfície. Como consequência, o processo de humificação alcança estágios mais avançados, com relativo aumento da concentração de compostos mais recalcitrantes, como por exemplo, as estruturas aromáticas condensadas (Bayer et al., 2002a). Amado et al. (2006) também observaram que o acúmulo da MO, bem como o aumento do C lábil em solos, são verificados em sistemas sob PD, comparativamente ao manejo sob PC.

Nas Figuras 4.1 e 4.2 encontra-se ilustrações referentes aos sistemas de manejo sob PC e PD, respectivamente.



Figura 4.1. Exemplos de manejo de solos sob plantio convencional (PC): (a) tratores fazendo a aragem do solo; (b) plantação sobre o solo após a aragem.



Figura 4.2. Ilustrações mostrando sistemas de manejo de solos sob plantio direto (PD): (a) Foto de área típica sob sistema de PD; (b) Detalhe para a preservação da cobertura vegetal na superfície do solo.

Segundo a Federação Brasileira de Plantio Direto na Palha (2007), o Brasil apresenta atualmente uma área de 25,5 milhões de hectares (Mha) manejados sob esse sistema (aproximadamente 30% de sua área cultivada com grãos). Na região Sul, onde o clima viabiliza a adoção de rotação de culturas com alto aporte de resíduos vegetais ao solo, cerca de 75% da área cultivada está sob esta forma de plantio. Na região Sudeste, a adoção do PD e a rotação de culturas também têm aumentado substancialmente nos últimos anos. Um exemplo é a rotação cana-de-açúcar/soja, a qual pode ser empregada como uma das alternativas para o uso da colheita de cana sem queima (cana crua) no estado de São Paulo. A colheita sem queima realizada por máquinas, que possibilita a deposição da palhada sobre o solo, é uma alternativa para a redução das emissões desses gases, uma vez que o C que seria emitido durante a queimada, pode ficar em parte retido no sistema (Abramo Filho et al., 1993). Estudo realizado na região de Ribeirão Preto, onde a colheita mecanizada de cana crua está presente em mais de 80% das áreas, concluiu-se que este sistema aliado ao aproveitamento do bagaço, confere um seqüestro de 19,55 Mt de C ano⁻¹ (Mt ou Megaton= 10¹²g ou 1 Tg) (Cerri et al., 2003).

Bayer et al. (2006a) obtiveram os valores médios de taxa de seqüestro de C em solos sob PD no Brasil variando de -0,03 a 0,81 Mg C ha⁻¹ ano⁻¹, com taxa média de seqüestro no Cerrado de 0,35 Mg C ha⁻¹ ano⁻¹ e em região subtropical, de 0,48 Mg C ha⁻¹ ano⁻¹. Contudo, em cada região, as taxas de seqüestro de CO₂ são bastante variáveis em decorrência do tipo de solo (textura e mineralogia), condições climáticas (temperatura e precipitação) e sistema de rotação de culturas adotado (com aporte de resíduos) (Roscoe et al., 2006).

Trabalhos envolvendo medidas de fluxo de gás carbônico (CO₂) podem também ser encontrados na literatura, buscando obter informações das taxas de CO₂ emitido na atmosfera em diferentes sistemas de manejo. Bolonhezi et al. (2005) mediram o fluxo de CO₂ evoluído ao longo do ciclo de desenvolvimento de dois cultivares de amendoim, em diferentes sistemas de cultivo para renovação da pastagem. Concluíram que o preparo ou PC emitiu cerca de duas vezes mais CO₂ que os sistemas conservacionistas de PD e cultivo mínimo (CM), mesmo após um período crítico de deficiência hídrica.

Determinações de C no solo também têm sido avaliadas por diversos autores. Sisti et al. (2004) investigaram mudanças nos EC e nitrogênio (N) no solo em até 1 metro de profundidade em diferentes rotações de culturas e sistemas de manejo. Após 13 anos de experimento, não observaram diferença significativa entre PD e PC. Entretanto, sistemas de rotações onde ocorriam fixações de N aumentaram seus EC em aproximadamente 10 Mg ha⁻¹, atingindo 17 Mg ha⁻¹ em até 1 m. Sugeriu-se que o acúmulo de C no solo foi devido à presença do N, derivado de resíduos radiculares. Dados de ¹³C também indicaram que, sob PD, a decomposição de MOS original não foi afetada nas diferentes rotações, mas que sob manejo convencional, sim.

Bernoux et al. (2006) revisaram os efeitos do PD e da cobertura de vegetação permanente para o seqüestro de C e controle da erosão. A introdução do PD, principalmente o “DMC”, do inglês “Direct seeding Mulch-based Cropping” que significa que o sistema de PD está sob cobertura vegetal permanente, poderia aumentar os níveis de C no solo. Entretanto, as comparações não deveriam estar limitadas somente aos EC no solo, mas também deveriam incluir o fluxo dos GEE associados. A maioria dos resultados preliminares indicou que a adoção do “DMC” no Brasil seria uma estratégia promissora na mitigação das emissões de CO₂ para a atmosfera já que não é dependente dos mercados de créditos de C nem de incentivos políticos.

Lovato et al. (2004) analisaram um experimento de longa duração (13 anos) que teve como objetivo avaliar o efeito de sistemas de manejo de solo, constituídos por sistemas de culturas, preparos de solo e adubação nitrogenada, nos EC orgânico total e N total de um Argissolo Vermelho degradado e na produtividade do milho. As leguminosas contribuíram para a maior adição anual de C e N ao solo pelos sistemas de culturas, que variaram de 4,17 a 8,39 Mg ha⁻¹ e de -21 a 178 kg ha⁻¹, respectivamente. A recuperação dos EC orgânico e de N total ocorreu apenas no solo em PD, o que indica que a eliminação do revolvimento do solo é uma prática fundamental quando se tem por objetivo a recuperação de solos degradados na região subtropical do sul do Brasil. Foram estimados ainda, os coeficientes de humificação

(k1) e da taxa anual de perda de MO (k2) no solo. Os maiores valores de k1 e os menores de k2 ocorreram em PD, o que explica o maior acúmulo de COT no solo, em comparação aos demais sistemas de preparo de solo. O N apresentou comportamento similar ao do C orgânico no solo.

4.1.2. Renovação da cana-de-açúcar sem queima (crua)

A queimada do canavial, usada para facilitar o corte manual da cana-de-açúcar libera para a atmosfera grande quantidade de GEE. A elevação das concentrações desses gases na atmosfera aumenta consideravelmente o Efeito Estufa, constituindo um dos principais problemas ambientais atuais (Campos, 2003).

A adoção do manejo da colheita da cana sem a queima prévia do canavial torna positivo o balanço de CO₂, uma vez que o C que seria emitido imediatamente durante a queimada pode permanecer no sistema, e ser incorporado ao solo. Com a colheita mecanizada, a palhada (palha seca, ponteiros e folhas verdes), pode permanecer depositada sobre o solo e agir de maneira positiva na proteção, conservação e recuperação dos solos (Figuras 4.3 e 4.4). A decomposição da palhada pode ocasionar aumento no teor de MOS, já que parte do material decomposto pode ser incorporado ao solo, possibilitando aumento da agregação, da capacidade de troca catiônica (CTC) e aumento do poder tampão do solo (Silva e Pasqual, 1999).

Com mais de 5 milhões de hectares de cana atualmente plantados no Brasil, 1 milhão tende a ser renovado anualmente, utilizando-se para renovação dos canaviais culturas de sucessão como soja, amendoim, girassol, entre outras culturas alimentícias, podendo todas ser plantadas sobre a palhada da cana-de-açúcar (em média 15 t ha⁻¹ de matéria seca são deixados após a colheita da cana sem queima), o que significa um ganho enorme em retenção de água e redução do aquecimento do solo. Este benefício pode ser perdido no momento da renovação do canavial, caso seja utilizado os sistemas de preparo do solo convencional, através da incorporação da palhada da cana. Pesquisas demonstram que em um período de 27 dias, o sistema de PC emite cerca de 9 t ha⁻¹ de CO₂ a mais que o sistema de PD (Scarpellini e Bolonhezi, 2007).



Figura 4.3. Foto mostrando um sistema de colheita mecanizada de cana-de-açúcar sem queima (cana crua).

Campos (2003) analisou a influência da palhada depositada sobre o solo na dinâmica do C em áreas de plantações de cana-de-açúcar com e sem queimada prévia da colheita. Considerando todos os compartimentos de EC (planta, palhada e solo) e de fluxos de GEE, foi estabelecido um balanço do CO₂ emitido ou seqüestrado pelo manejo sem queima, em comparação ao manejo tradicional com queima. Em um período de 3 anos, em solo do tipo Latossolo Vermelho, ocorreu mitigação das emissões dos GEE de cerca de 5 Mg CO₂ ha⁻¹ ano⁻¹.

Cerri et al. (2004) compararam o balanço das emissões de CO₂ a partir do setor agrícola e o seqüestro de C pelo solo no Brasil, quantificando esse efeito do balanço de C na introdução do PD e PC. Estimativas indicaram que as emissões atingiram 12,65 Mt C no período de 1975 a 1995. Entretanto, as principais mudanças observadas em função do tipo de manejo e da colheita da cana-de-açúcar mecanizada ao invés da colheita com queima de palha podem contribuir juntos para a mitigação total de 9,53 Mt C ano⁻¹. Deste total, 9 Mt C ano⁻¹ está relacionado à adoção do PD e 0,53 Mt C ano⁻¹ é devido à introdução da colheita da cana-de-açúcar sem a queima. A implementação dessas duas práticas é quase suficiente para compensar as emissões de gases do solo em 12,65 Mt C ano⁻¹.

La Scalla Júnior et al. (2006) avaliaram quantitativamente as emissões de CO₂ provenientes de uma área de cana-de-açúcar crua sem a queima, com adição de resíduos vegetais de colheita sob diferentes sistemas de manejo: PC, CM e PD. As taxas de emissões de CO₂ foram também relacionadas à umidade desses solos. As maiores emissões de CO₂ durante um período de 4 semanas foram obtidas em PC, após o revolvimento do solo, e as menores emissões foram determinadas em PD. Os resultados do trabalho sugerem que 30%

do C que foi adicionado ao solo pelos resíduos vegetais poderiam ser perdidos após o revolvimento em PC, quando comparados ao solo sob PD.



Figura 4.4. Rebrotas da cana-de-açúcar em sistema de colheita sem queima (cana crua) (Scarpellini e Bolonhezi, 2007).

A adoção de novas tecnologias, tais como o sistema de PD e a colheita mecanizada da cana-de-açúcar, são importantes estratégias de mitigação do efeito das mudanças climáticas globais (Cerri et al., 2004; Cerri et al., 2007). Os sistemas de cana crua constituem importantes fronteiras agrícolas no estado de São Paulo para expansão da produção de grãos, por ocasião do período de renovação. Nessas áreas, a adoção do sistema PD, com destaque para o controle da erosão, poderá contribuir para a redução do efeito estufa. Juntamente com as técnicas agrícolas, destaca-se a calagem realizada com preparo intensivo do solo.

Caires et al. (2006) analisaram um sistema de PD, após aplicações de calcário, sendo anteriormente uma área de pastagem. Foram avaliados as propriedades químicas do solo e o ganho de produção na colheita de grãos após a calagem. Na profundidade de 0-5 cm, a incorporação de calcário resultou em menores teores de MOS quando comparado às aplicações na superfície. Levou cerca de 4-5 anos para que a incorporação de calcário tivesse retorno na MOS. A aplicação da calagem na superfície foi a melhor alternativa para neutralizar a acidez do solo na passagem para outro sistema de manejo, conservando a estrutura do solo, além de obter um melhor retorno econômico.

Segundo Caires et al. (2006), para a correção da acidez do solo no sistema sob PD, o calcário é distribuído na superfície sem incorporação. A eficiência da aplicação e da quantidade do calcário adicionado ao solo tem sido questionada por pesquisadores da área, entretanto o que se pretendeu aqui, neste trabalho, foi somente avaliar um sistema agrícola, com maior enfoque na avaliação quantitativa de C e de estabilidade da MO, não querendo

entrar no mérito de discussões mais avançadas sobre a influência da calagem. Esse assunto pode ser muito melhor desenvolvido por produtores, agrônomos e outros profissionais da área.

4.1.3. Objetivos

Considerando a necessidade de investigar a contribuição do PD e do impacto da calagem neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar os EC e a estabilidade da MOS, por Espectroscopia de Fluorescência Induzida por Laser (FIL), em área de calagem no sistema PD de soja em renovação de cana sem queima (crua). Este sistema de PD com cana crua é considerado um sistema promissor para seqüestro de C no solo.

4.2. TEORIA DOS MÉTODOS UTILIZADOS

Estudos sobre acúmulo e estabilidade da MOS são necessários, já que parâmetros como EC e graus de humificação podem ser avaliados. O seqüestro de C pelo solo ocorre quando a entrada de C orgânico é maior que a quantidade mineralizada, ou seja, que retorna à atmosfera sob a forma de CO₂. Além de dados de acúmulo de C e caracterizações de seqüestro de C, a estabilidade deste C no solo é também extremamente relevante. Nesse contexto, métodos espectroscópicos, como a FIL, podem ser fundamentais na avaliação da estabilidade da MOS. A FIL aplicada em solos é uma metodologia que tem se mostrado eficiente na análise da MO, fornecendo resultados precisos de uma maneira ágil e em condições próximas das naturais. A metodologia de FIL está detalhada no item 3.2.2.3 do capítulo 3 da presente tese.

4.3. PARTE EXPERIMENTAL

4.3.1. Área experimental e tratamentos

Foi avaliado um experimento de campo em sistema de cultivo para soja em renovação com cana crua, conduzido em Latossolo Vermelho eutrófico muito argiloso (aproximadamente 60% de argila), localizado na Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA) Regional Centro-Leste em Ribeirão Preto-SP (21°12'25" latitude sul e 47°52'20" longitude oeste). Nessa área analisada, a temperatura média anual é de 21,6°C e a umidade relativa do ar é de 71%.

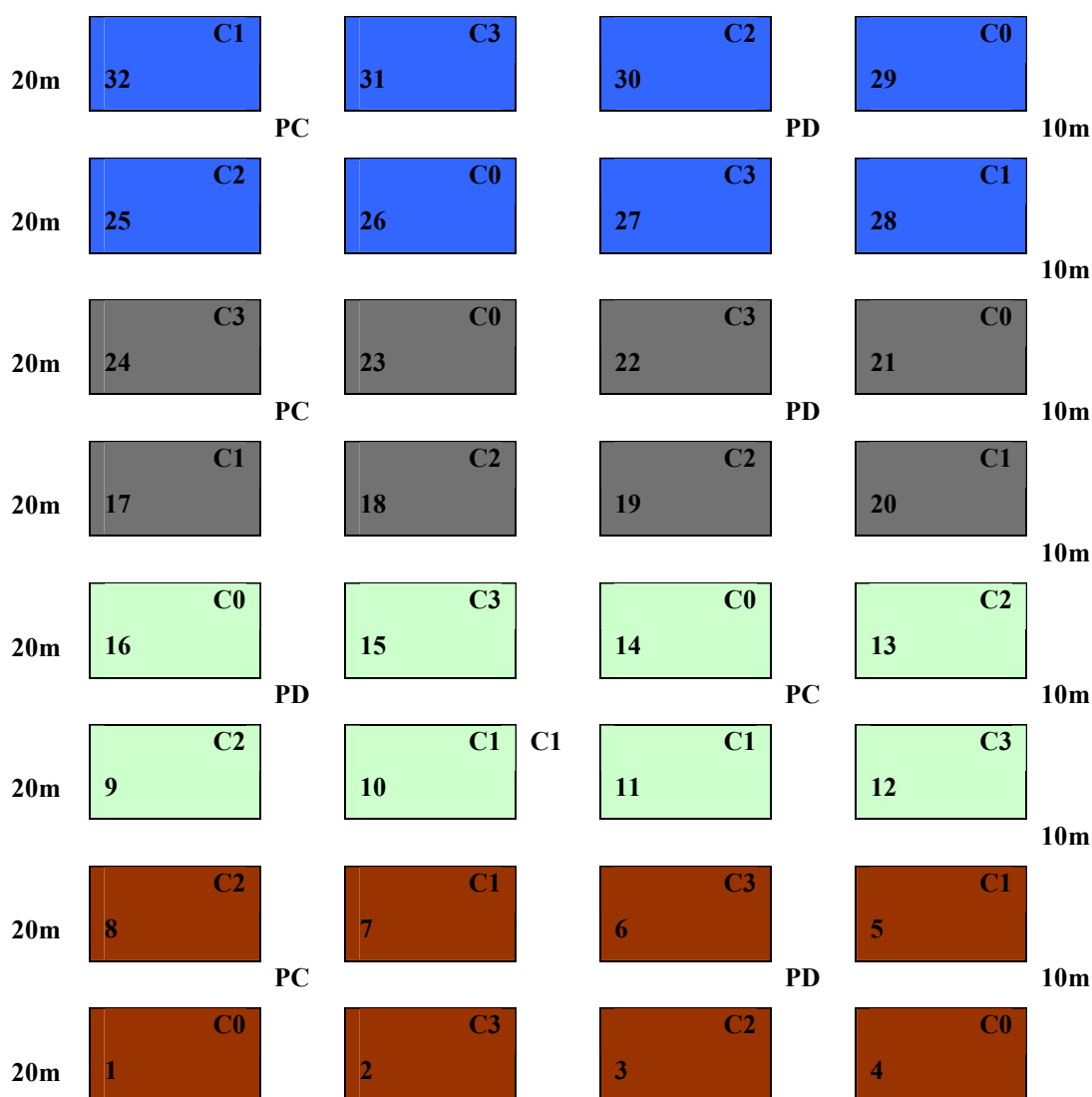
Os tratamentos foram realizados a partir de 32 parcelas divididas em 4 blocos (4 repetições no campo), onde os tratamentos principais envolvem sistemas de manejo

convencional (PC) e direto (PD). Foram aplicados doses de calcário de 0; 1,7; 3,4 e 5,7 t ha⁻¹ (equivalentes a 0, 2, 4 e 6 t ha⁻¹) de calcário dolomítico, aplicados em novembro de 1998 e reaplicados em novembro de 2003 nas mesmas parcelas. Cada amostra foi composta de 10 pontos por parcela. Posteriormente, juntou-se os canteiros, de modo a diferenciar os sistemas de manejo e adições de calcário. O esquema experimental se estabeleceu da seguinte forma:

- **PC C0** (plantio convencional, sem aplicação de calcário): canteiros 1+14+23+26;
- **PC C1** (plantio convencional, com aplicação de 2 t ha⁻¹ de calcário): canteiros 7+11+17+32;
- **PC C2** (plantio convencional, com aplicação de 4 t ha⁻¹ de calcário): canteiros 8+13+18+25;
- **PC C3** (plantio convencional, com aplicação de 6 t ha⁻¹ de calcário): canteiros 2+12+24+31;
- **PD C0** (plantio direto, sem aplicação de calcário): canteiros 4+16+21+29;
- **PD C1** (plantio direto, com aplicação de 2 t ha⁻¹ de calcário): canteiros 5+10+20+28;
- **PD C2** (plantio direto, com aplicação de 4 t ha⁻¹ de calcário): canteiros 3+9+19+30;
- **PD C3** (plantio direto, com aplicação de 6 t ha⁻¹ de calcário): canteiros 6+15+22+27.

OBS: Os tratamentos PC C2 e PD C2 não foram avaliados nesse trabalho.

A Figura 4.5 apresenta o esquema do ensaio de calagem descrito anteriormente.



PC: sistema de preparo convencional – 1999 e 2003 (soja), 2000 e 2004 (cana) e **PD:** sistema plantio direto; **C0:** 0 t ha⁻¹ de calcário; **C1:** adição de 2 t ha⁻¹ de calcário; **C2:** adição de 4 t ha⁻¹ de calcário e **C3:** adição de 6 t ha⁻¹ de calcário.

OBS: As cores diferenciadas determinam os quatro blocos de amostras.

Figura 4.5. Esquema do ensaio de calagem no sistema de plantio direto (PD) e plantio convencional (PC) de soja em renovação de cana crua (sem queima).

4.3.2. Histórico do experimento

Os ensaios, envolvendo sistemas de cultivo em área de rotação cana-de-açúcar/soja foram instalados em 1998. O primeiro e segundo cultivo da soja na rotação foi, respectivamente, em dezembro de 1998 e novembro de 2003. Os plantios da cana-de-açúcar foram realizados em abril de 1999, com exploração de 4 anos, nos anos 2000, 2001, 2002 e

2003, e em março de 2004, com a primeira colheita realizada em agosto de 2005. Os sistemas de PD ficaram sem preparo por 7 anos, além dos 5 anos sem cultivo da cana, portanto, 12 anos sem revolvimento do solo.

4.3.3. Coleta das amostras

As amostras de solos foram coletadas em 1999 e 2005, nas profundidades: 0-5, 5-10, 10-20, 20-40 e 40-60 cm. As profundidades de 20-40 e 40-60 cm foram misturadas devido ao grande número de amostras. As amostras de mata nativa utilizadas como referências, foram coletadas em janeiro de 2006, nas mesmas profundidades que as outras.

4.3.4. Análise do solo

As determinações de C, densidade do solo e EC estão descritas nos itens 2.3.5, 2.3.6 e 2.3.7 do capítulo 2.

4.3.4.1. Taxas de seqüestro de carbono

As taxas de seqüestro de C foram calculadas para cada tratamento considerando os EC do sistema de manejo convencional como referência. Foi estimada a taxa anual considerando a profundidade total, de 0 a 60 cm, após 7 anos sob PD. Ao comparar dois tratamentos, estimou-se:

$$\text{Taxa de seqüestro de C (Mg C ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}) = [\text{EC}_{(\text{PD})} - \text{EC}_{(\text{PC})}] / 7 \text{ anos} \quad (4.1)$$

Foi estimada também a taxa de CO₂ atmosférico. Para converter C para CO₂, multiplicou-se o C por 44/12, valores referentes às massas molares do CO₂ e C, respectivamente. Assim, a taxa de seqüestro de CO₂ atmosférico estimado foi igual à taxa de seqüestro de C (em Mg CO₂ ha⁻¹ ano⁻¹) × 3,67.

4.3.4.2. Avaliação da estabilidade da MOS por Fluorescência Induzida por Laser (FIL)

O procedimento de determinação da FIL está descrito no item 3.3.2.1.

4.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.4.1. Determinação de carbono nas amostras de solo

Na Figura 4.6 estão representados os teores de C (em g kg^{-1}) das amostras referentes ao Latossolo Vermelho eutroférico muito argiloso ($\sim 60\%$ de argila). Os sistemas de cultivo analisados foram o PC e o PD, com e sem adição de doses de calcário nas amostras, além da mata nativa, nas profundidades de 0-5, 5-10, 10-20 e 20-60 cm. Os valores de C são referentes à coleta de solo de 1999, ou seja, após um ano de experimento (Figura 4.6a) e à coleta de solo de 2005, ou seja, após 7 anos de experimento (Figura 4.6b).

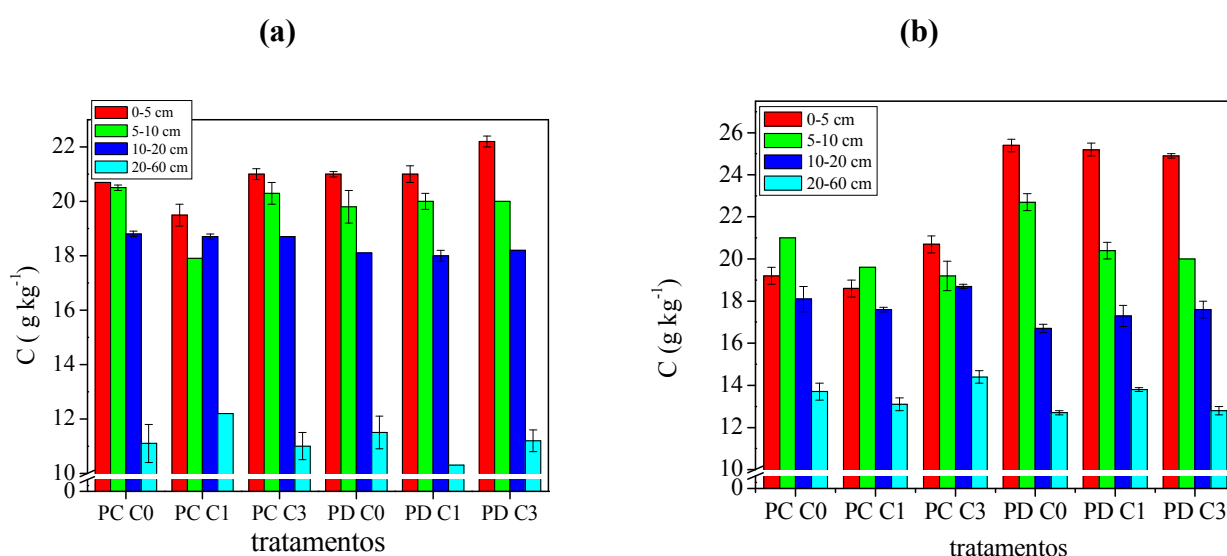


Figura 4.6. Teores de C (em g kg^{-1}) das amostras de solos analisadas para os sistemas de cultivo estudados: plantio convencional (PC) e plantio direto (PD), com e sem aplicações de calcário, onde C0 representa a não adição de calcário, C1 representa adição de 2 t ha^{-1} de calcário e C3 aplicação de 6 t ha^{-1} de calcário, nas profundidades de 0-5, 5-10, 10-20 e 20-60 cm. As coletas das amostras foram realizadas em 1999 (a) e 2005 (b).

Na Figura 4.7 estão representados os teores de C referentes às amostras de solo coletadas somente em 2005, juntamente com as amostras referentes à mata nativa.

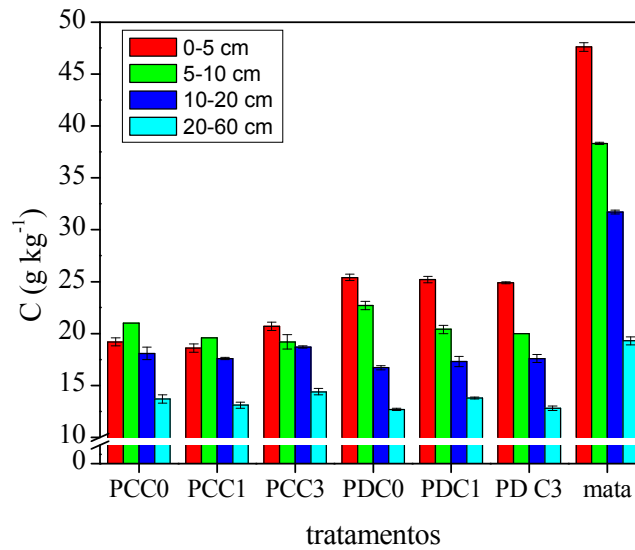


Figura 4.7. Teores de C (em g kg^{-1}) das amostras de solos analisadas para os sistemas de cultivo estudados: plantio convencional (PC) e plantio direto (PD), com e sem aplicações de calcário, onde C0 representa a não adição de calcário, C1 representa adição de 2 t ha^{-1} de calcário e C3 aplicação de 6 t ha^{-1} de calcário, além da mata nativa, nas profundidades de 0-5, 5-10, 10-20 e 20-60 cm. As coletas das amostras foram realizadas em 2005.

Ao comparar os dois sistemas de manejo avaliados, observa-se que os tratamentos referentes aos sistemas de PD, independente das adições ou não de calcário, apresentaram maiores teores de C que os tratamentos referentes ao PC. A diferença de C foi mais significativa na superfície, ou seja, na profundidade de 0-5 cm, como também observado por Costa et al. (2004) e Amado et al. (2006). Com esses valores, é evidente que em 2005 ocorreu acúmulo de C, ou seja, houve maior aporte de biomassa de planta com o decorrer do tempo. Aparentemente, existe uma pequena tendência de maior quantidade de C em PD C0, principalmente quando comparado com os outros tratamentos, porém esse valor pode não ser totalmente significativo. Os maiores teores de C foram encontrados para a mata nativa, praticamente o dobro dos valores verificados para os tratamentos sob PD. No PC, devido ao revolvimento do solo, a quantidade de C é muito próxima nas profundidades analisadas de 0-20 cm, contudo os teores de C obtidos nas profundidades de 20-60 cm foram menores, tanto em PC quanto em PD. Esses valores corroboram com dados da literatura, evidenciando que os teores de C diminuem exponencialmente com o aumento da profundidade (Machado e Silva, 2001; Sisti et al., 2004).

De uma maneira geral, verifica-se para o caso da cana, que a calagem não está influenciando na quantidade de C, tanto em PC quanto em PD, visto que a presença ou não do calcário não foi determinante no acúmulo de C em PD. Nesse caso verifica-se que a constante

entrada de material orgânico, a presença da cobertura vegetal e a ausência de queimadas foram suficientes para o acúmulo da MO em PD, mais significativo que o efeito da calagem.

A Figura 4.8 representa a quantidade de C total, ou seja, a soma de todos os valores de C (referentes às profundidades de 0-60 cm) dos anos de 1999 e 2005.

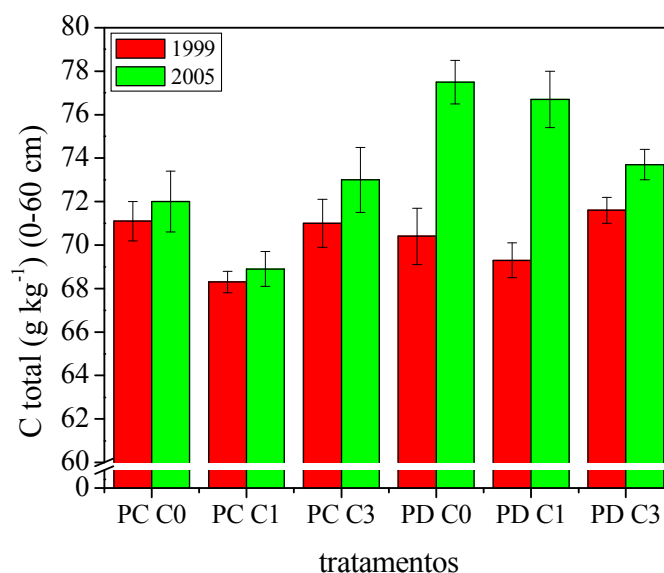


Figura 4.8. Soma dos teores de C (em g kg^{-1}), nas profundidades de 0-60 cm, das amostras de solos analisadas para os sistemas de cultivo estudados: plantio convencional (PC) e plantio direto (PD), com e sem aplicações de calcário, onde C0 representa a não adição de calcário, C1 representa adição de 2 t ha^{-1} de calcário e C3 representa a aplicação de 6 t ha^{-1} de calcário. Dados referentes às coletas de 1999 e 2005.

As maiores alterações nos teores de C totais, após 7 anos de experimento ocorreram nos sistemas sob PD, mais significativamente em PD C0 e PD C1, apresentando acúmulo de 10% e 11%, respectivamente. Para o PD C3 ocorreu aumento de 3% em relação ao início do experimento. Os tratamentos de PC apresentaram acúmulo de aproximadamente 1% de C.

Foi determinado o pH (em CaCl_2) de algumas amostras desse solo. Os valores de pH obtidos foram em torno de 5 e 6, mesmo para os tratamentos que apresentavam altas doses de calcário (C3, com adição de 6 t ha^{-1}). A partir desses resultados pode-se pressupor que o efeito da calagem foi limitado nessa situação experimental e que a incorporação da MO, devido à grande quantidade de biomassa depositada sobre o solo e a colheita sem queima, foi mais importante que o efeito do pH.

Essas informações mostram que, em longo período sob PD, o aporte contínuo de resíduos vegetais de colheita na superfície do solo, associado com o não revolvimento, pode acumular C no decorrer do tempo, aproximando da situação de mata nativa, ou seja, a condição natural em que ocorre maior acúmulo da MOS.

4.4.2. Estoques de Carbono (EC)

Na Tabela 4.1 encontram-se os valores de C, densidade e as espessuras das camadas referentes às amostras de solo.

Tabela 4.1. Valores de carbono (g kg^{-1}), densidade (g cm^{-3}) e espessura das camadas (m) das amostras de solo para os diferentes sistemas de manejo: mata nativa, plantio direto (PD) e plantio convencional (PC), em função das profundidades (0-5, 5-10, 10-20 e 20-60 cm) e das aplicações de calagem, onde C0 representa a não adição de calcário, C1 representa adição de 2 t ha^{-1} de calcário e C3 representa a aplicação de 6 t ha^{-1} de calcário. Dados referentes às coletas de 2005.

amostra	profundidade (cm)	teor de C (g kg^{-1})	densidade do solo (g cm^{-3})	espessura da camada (m)
mata nativa	0-5	47,6 ± 0,4	0,95 ± 0,13	0,05
mata nativa	5-10	38,3 ± 0,1	1,0 ± 0,08	0,05
mata nativa	10-20	31,7 ± 0,2	1,05 ± 0,06	0,1
mata nativa	20-60	19,3 ± 0,4	1,09 ± 0,12	0,4
PC C0	0-5	19,2 ± 0,4	1,32 ± 0,16	0,05
PC C0	5-10	21,0 ± 0,0	1,40 ± 0,12	0,05
PC C0	10-20	18,1 ± 0,6	1,38 ± 0,12	0,1
PC C0	20-60	13,7 ± 0,4	1,35 ± 0,10	0,4
PC C1	0-5	18,6 ± 0,4	1,32 ± 0,13	0,05
PC C1	5-10	19,6 ± 0,0	1,43 ± 0,10	0,05
PC C1	10-20	17,6 ± 0,1	1,41 ± 0,04	0,1
PC C1	20-60	13,1 ± 0,3	1,41 ± 0,05	0,4
PC C3	0-5	20,7 ± 0,4	1,39 ± 0,10	0,05
PC C3	5-10	19,2 ± 0,7	1,39 ± 0,11	0,05
PC C3	10-20	18,7 ± 0,1	1,38 ± 0,16	0,1
PC C3	20-60	14,4 ± 0,3	1,35 ± 0,14	0,4
PD C0	0-5	25,4 ± 0,3	1,32 ± 0,06	0,05
PD C0	5-10	22,7 ± 0,4	1,37 ± 0,08	0,05
PD C0	10-20	16,7 ± 0,2	1,42 ± 0,10	0,1
PD C0	20-60	12,7 ± 0,1	1,39 ± 0,10	0,4
PD C1	0-5	25,2 ± 0,3	1,31 ± 0,07	0,05
PD C1	5-10	20,4 ± 0,4	1,43 ± 0,09	0,05
PD C1	10-20	17,3 ± 0,5	1,45 ± 0,09	0,1
PD C1	20-60	13,8 ± 0,1	1,43 ± 0,10	0,4
PD C3	0-5	24,9 ± 0,1	1,37 ± 0,10	0,05
PD C3	5-10	24,2 ± 0,6	1,41 ± 0,03	0,05
PD C3	10-20	17,6 ± 0,4	1,49 ± 0,02	0,1
PD C3	20-60	12,8 ± 0,2	1,43 ± 0,10	0,4

Na Tabela 4.2 encontram-se os valores dos EC, em Mg ha^{-1} , calculados por tratamento, em cada profundidade, de 0-20 cm e no total (0-60 cm).

Tabela 4.2. Estoques de carbono (Mg ha^{-1}) em cada profundidade (0-5, 5-10, 10-20 e 20-60 cm), na profundidade de 0-20 cm e no total (0-60 cm) para diferentes sistemas de manejo: mata nativa, plantio direto (PD) e plantio convencional (PC), em função das aplicações de calagem. Dados referentes às coletas de 2005.

profundidade (cm)	ESTOQUES DE CARBONO (Mg ha^{-1})						
	mata nativa	C0 ^a		C1 ^b		C3 ^c	
		PC	PD	PC	PD	PC	PD
0-5	22,6	12,7	16,8	12,3	16,5	14,4	17,1
5-10	19,2	14,7	15,5	14,0	14,6	13,3	17,1
10-20	33,3	24,9	23,7	24,8	25,1	25,8	26,2
20-60	84,1	74,0	70,6	73,9	78,9	77,8	73,2
prof. (0-20)	41,8	27,4	32,3	26,3	31,1	27,7	34,2
total (0-60)	159,2	126,3	126,6	125,0	135,1	131,3	133,6

^a não adição de calcário; .

^b adição de 2 t ha^{-1} de calcário;

^c adição de 6 t ha^{-1} de calcário.

Enquanto foi encontrado aproximadamente 159 Mg ha^{-1} nos EC totais no sistema de mata nativa, os EC determinados para os sistemas de PC variaram de 125 a 131 Mg ha^{-1} e para o PD variaram de 126 a 135 Mg ha^{-1} , em 7 anos sob esses manejos.

Tabela 4.3. Taxas de seqüestro de C e CO_2 calculadas para cada tratamento de plantio direto (PD) tendo como base os estoques de carbono (EC) da área de referência, plantio convencional (PC), na profundidade de 0-20 cm e no total (0-60 cm), em 7 anos de experimento.

tratamentos	taxa de seqüestro de C ($\text{Mg C ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$)		taxa de seqüestro de CO_2 ($\text{Mg CO}_2 \text{ ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$)	
	0-20 cm	0-60 cm	0-20 cm	0-60 cm
C0 ^a	0,70	0,04	2,60	0,15
C1 ^b	0,69	1,44	2,53	5,29
C3 ^c	0,93	0,33	3,41	1,21

^a não adição de calcário;

^b adição de 2 t ha^{-1} de calcário;

^c adição de 6 t ha^{-1} de calcário.

Considerando o tempo do experimento, ou seja, os 7 anos sob sistema de PD, e tendo o manejo convencional como referência, foi verificado a partir dos dados dos EC totais calculados para os tratamentos avaliados que os EC referentes aos sistemas de PD foram de 0,04 a 1,44 $\text{Mg C ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ (Equação 4.1), maiores que os EC nos sistemas sob PC (Tabela 4.3). O uso durante 7 anos do sistema de PD promoveu um seqüestro total de 0,15 a 5,29 $\text{Mg CO}_2 \text{ ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ da atmosfera (Tabela 4.3). Ao considerar somente os dados de 0-20 cm, já que o efeito do acúmulo em PD se dá principalmente nessa profundidade, foi

obtido valores de 2,53 a 3,41 Mg CO₂ ha⁻¹ ano⁻¹ (Tabela 4.3). Esses dados podem até ultrapassar os valores estimados por Bayer et al. (2006a), já que em áreas sob PD no Cerrado Brasileiro, foi encontrado valor médio de seqüestro de 1,28 Mg CO₂ ha⁻¹ ano⁻¹, e na região subtropical, foi obtido taxa média de seqüestro de 1,76 Mg CO₂ ha⁻¹ ano⁻¹, sendo esses dados tomados de áreas sob PD com grãos. Contudo, como já comentado anteriormente, as taxas de seqüestro de CO₂ podem ser variáveis em decorrência do tipo de solo, condições climáticas e sistema de rotação de culturas adotado (com aporte de resíduos) (Roscoe et al., 2006).

4.4.3. Fluorescência Induzida por Laser (FIL)

Na Figura 4.9 estão representados os valores dos graus de humificação (H_{FIL}) para as amostras de solos coletadas em 1999 (Figura 4.9a) e em 2005 (Figura 4.9b) sob os tratamentos avaliados, diferenciando sistema de manejo e aplicação ou não de calcário.

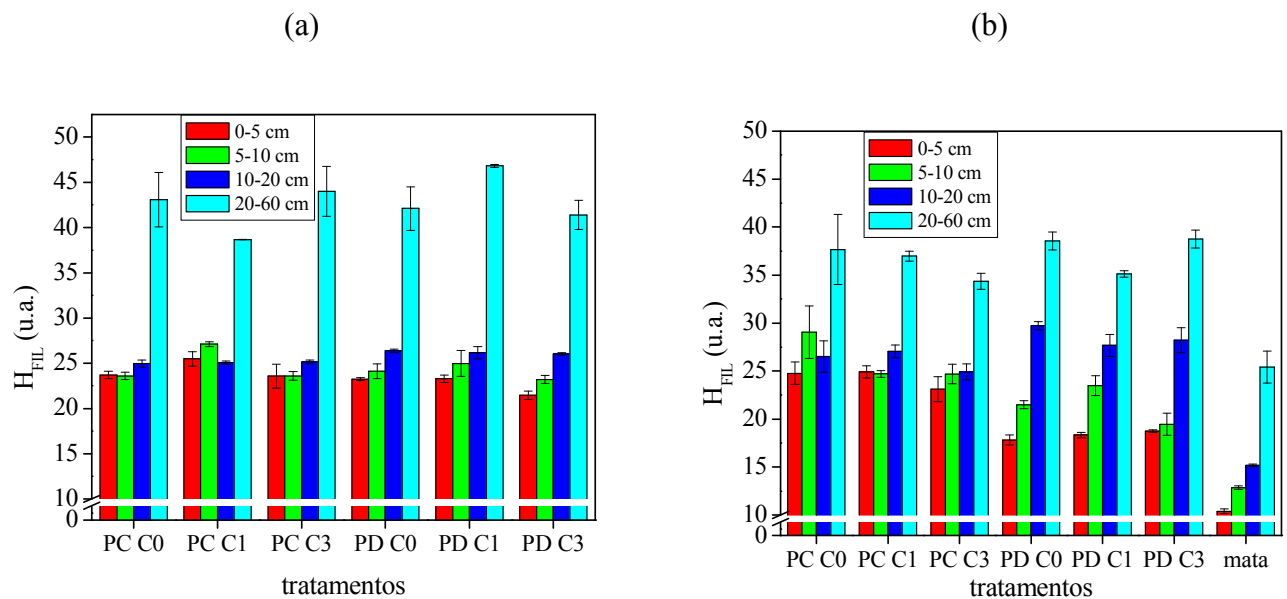


Figura 4.9. Graus de Humificação (H_{FIL}) obtidos por Fluorescência Induzida por Laser (FIL) das amostras de solos analisadas para os sistemas de cultivo estudados: plantio convencional (PC) e plantio direto (PD), com e sem aplicações de calcário, onde C0 representa a não adição de calcário, C1 representa a adição de 2 t ha⁻¹ de calcário e C3 representa a aplicação de 6 t ha⁻¹ de calcário, além da mata nativa, nas profundidades de 0-5, 5-10, 10-20 e 20-60 cm. Os dados são referentes às amostras coletadas em 1999 (a) e 2005 (b).

Nos resultados de 1999 (Figura 4.9a), ou seja, após um ano de experimento, não foi observada diferença significativa entre os diferentes tratamentos (em PC e PD), somente no tratamento PD C3 o grau de humificação foi ligeiramente menor que os outros tratamentos, entretanto esse valor pode não ser relevante. Após 7 anos de experimento (Figura 4.9b), os

valores dos graus de humificação, principalmente na superfície (0-5 cm), foram menores em PD, se comparado aos referentes do PC. Também, como nos dados de 1999, não observou-se diferença significativa em relação aos diferentes tratamentos analisados.

Verificou-se na superfície (0-5 cm) que a MOS encontrava-se menos humificada para todas as amostras. Já em maiores profundidades houve um aumento gradual da humificação, portanto, uma maior estabilização da MO devido à presença de C mais recalcitrante ou estável. Em situação de mata nativa, observou-se uma diminuição no grau de humificação se comparado com os outros tratamentos. Isso se deve à presença de MO mais lábil presente na mata, com maior aporte de resíduos.

Ao comparar os dados de 1999 com os de 2005 fica evidente que após 7 anos sob PD, a manutenção da cobertura vegetal associada com o não revolvimento do solo e a rotação de culturas faz com que haja maior acúmulo da MOS, também comprovado pelo menor grau de humificação. As diferenças mais significativas foram observadas na superfície, ou seja, na profundidade de 0-5 cm. Nas profundidades 10-20 e 20-60 cm, os graus de humificação, tanto em PC como em PD, apresentam valores mais próximos.

4.5. CONCLUSÕES

Os maiores teores de C foram obtidos nas amostras referentes aos sistemas sob PD após 7 anos sob esse manejo, representados pelos tratamentos PD CO, PD C1 e PD C3 de 2005. O acúmulo de C foi obtido principalmente na superfície. Ao comparar os dados de 1999 com os de 2005 fica evidente que com o passar do tempo, ou seja, com a preservação da cobertura vegetal associada com o não revolvimento do solo, rotação de culturas e a não queimada da cana-de-açúcar, fez com que houvesse maior acúmulo da MOS. A partir dos valores de pH desses solos, verifica-se que o efeito da calagem foi limitado e que a incorporação da MO, com grande quantidade de biomassa depositada sobre o solo, sem a prática da queimada, foi mais importante que o efeito do pH. A aplicação do PD em 7 anos de experimento foi possível constatar um seqüestro de 0,15 a 5,29 Mg CO₂ ha⁻¹ ano⁻¹ da atmosfera.

Com relação à estabilidade da MO avaliada por Espectroscopia de FIL, verifica-se que o sistema de PD apresentou menor grau de humificação, devido à maior entrada de material orgânico lábil, que em PC, para todos os tratamentos. Na superfície (0-5 cm) a MOS encontra-se menos humificada para todas as amostras. Já em maiores profundidades houve um aumento gradual da humificação, portanto, uma maior estabilização da MO devido à presença de C mais recalcitrante. Em situação de mata nativa, condição mais ideal, houve uma

diminuição no grau de humificação comparado com os outros tratamentos. Isso se deve à presença de MO mais lábil presente na mata oriunda do maior aporte de resíduos vegetais.

CAPÍTULO

5

Determinação do teor de carbono e da estabilidade da matéria orgânica do solo em áreas sob sistemas de plantio direto com grãos

5.1. INTRODUÇÃO

As vantagens da adoção do sistema de plantio direto (PD), principalmente no enfoque sobre a discussão da mitigação de gás carbônico (CO₂) para a atmosfera e sua potencialidade em sequestrar carbono (C) já foram discutidas anteriormente, bem como seus benefícios econômicos, ambientais e ecológicos. Contudo, o não revolvimento do solo e a capacidade desse sistema em suprir C para o solo devem estar associados a esquemas de rotação de culturas que resultem em elevada produção de resíduos, possibilitando saldo positivo no balanço entre entrada e saída de C no solo (Roscoe et al., 2006). Outros fatores que devem ser considerados para o estudo da dinâmica e estabilidade da matéria orgânica do solo (MOS) nessas áreas são o histórico do local, clima da região, tempo de experimento, sistemas de culturas com grãos, incluindo culturas leguminosas, que fixam nitrogênio (N) no sistema e também a característica e tipo do solo.

Deen e Katakai (2003), comparando sistemas de cultivo sob PD e plantio convencional (PC), mostraram que as diferenças de quantificação do carbono orgânico do solo (COS) foram influenciadas pelo manejo, sendo mais notório em experimentos de longa duração. Foi analisado o C orgânico presente em amostras de solo após 25 anos de experimento, em cinco diferentes sistemas de cultivo, observando que as profundidades e os tipos de cultivo influenciaram na concentração de C no solo.

González-Pérez et al. (2004) avaliaram ácidos húmicos (AH) extraídos de um Latossolo utilizando métodos espectroscópicos como a Ressonância Magnética Nuclear (RMN), a Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE), o Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) e a Fluorescência. O objetivo do trabalho foi identificar mudanças nos grupos funcionais e estruturais, em função de diferentes sistemas de manejo (PC, PD e vegetação nativa) após 5 anos de experimento. As análises espectroscópicas correlacionaram-se entre si, contudo não foram observadas diferenças significativas nos grupos funcionais e estruturais da matéria orgânica (MO), nem alterações qualitativas relacionadas aos diferentes sistemas de manejo avaliados nestas áreas nesse intervalo de tempo. Foi concluído que o Latossolo em questão, possuindo teor de argila relativamente alto (~ 53 %), poderia ser o

responsável pela proteção do complexo (argila-ferro-MO) contra alterações estruturais mais pronunciadas.

Puget e Lal (2005) observaram os efeitos que os diferentes sistemas de manejo podem afetar o seqüestro de COS, determinando os estoques de COS e de N através de diferentes profundidades e comparando com dados da literatura. Concluíram que as diferenças determinadas em PC e PD não foram tão efetivas, principalmente devido a pouca duração do experimento, 8 anos. Entretanto, um aumento na concentração de COS sob PD na profundidade de 0-5 cm foi determinado, com uma média de seqüestro de 0,33 Mg C ha⁻¹ ano⁻¹ com intervalo de confiança de 95% a partir de 0,05 a 0,62 Mg C ha⁻¹ ano⁻¹.

Jarecki e Lal (2005) mostraram a eficiência do PD em reduzir a perda da MOS em experimentos de longa duração, estimando a perda de COS a partir da profundidade de 0-30 cm. Essa diminuição de COS ocasionada pela mudança da vegetação natural para um sistema de manejo foi menor em solos argilosos (19 a 25%) que em solos siltosos (25 a 35%). Não houve diferença de seqüestro de C pelo solo em PD, nos solos argilosos.

De acordo com Chivenge et al. (2007), a quantidade de perda da MOS devido ao sistema de manejo é dependente do conteúdo da argila no solo. Em geral, as maiores perdas de MOS são observadas em solos arenosos (teores de argila abaixo de 25%), devido principalmente à falta de proteção física da MO em solos arenosos. Com isso, de acordo com os resultados obtidos pode-se pressupor que não houve perdas nem ganhos de C devido à condição argilosa do solo. O tipo e a duração do sistema de manejo, associado com a textura do solo podem influenciar na quantidade de C presente no solo (Chivenge et al., 2007).

Roscoe e Buurman (2003) observaram que a manutenção dos níveis de C mesmo após 30 anos e a ausência de diferenciação entre o sistema de PD e PC foram atribuídos aos altos teores de argila e concentrações de oxi-hidróxidos de ferro e alumínio do solo analisado.

Resultados obtidos por Silva et al. (1994) para Latossolos argilosos ricos em ferro e oxi-hidróxidos de Al, sugerem que a qualidade do resíduo deve também ser significativa. Eles observaram que solos com cultivo de soja produziram menos resíduo, com maior degradação, que a cultura do milho. A manutenção dos níveis de C após 30 anos de cultivo poderia ser resultado de uma combinação de alta capacidade de proteção do solo e fornecimento de resíduo suficiente pela cultura do milho. Então, além da textura do solo, a quantidade de resíduo que entra no sistema também é essencial na quantidade e qualidade da MOS.

Amado et al. (2006) constataram a necessidade de avaliar diferentes tipos de solos, associado à sistemas de manejo conservacionistas (PD), em áreas com grãos, principalmente

para o entendimento do mecanismo de estabilização da MO, como no efeito da textura e mineralogia do solo, no acúmulo de C.

Áreas de PD com grãos merece destaque no setor agrícola e de seqüestro de C, principalmente quando se trata de um sistema de longa duração, como é o caso desse experimento de até 22 anos sob PD, entretanto cabe aqui uma ressalva ou comentário a respeito de experimentos que não visam a pesquisa, e sim, a produção comercial. As vezes, os experimentos não tão bem delineados, onde não existe um histórico bem definido ou que não haja total preocupação em manter a cobertura vegetal e a entrada de resíduo, faz com que não seja possível comprovar alguns resultados, que seriam esperados.

5.1.1. Objetivos

O objetivo deste trabalho foi avaliar a quantidade de C e a estabilidade da MOS por Espectroscopia de um Latossolo Vermelho eutroférico muito argiloso (~ 60%) sob diferentes sistemas de manejo, incluindo sistema de PD de grãos de longa duração. Nessa área, localizada em propriedade privada no estado de São Paulo, foram estabelecidas áreas sob PD para fins de produção de grãos e foi acompanhada por um longo período de tempo (até 22 anos).

5.2. TEORIA DOS MÉTODOS UTILIZADOS

A determinação de C e cálculos dos EC estão detalhados no item 2.2.1 do capítulo 2. Para a avaliação da estabilidade da MOS nesse experimento foi utilizado a Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE) e a Espectroscopia de Fluorescência Induzida por Laser (FIL). Os aspectos teóricos estão nos itens 3.2.1 e 3.2.2.3 do capítulo 3.

5.3. PARTE EXPERIMENTAL

5.3.1. Área experimental, tratamentos e histórico do local

A localização da área experimental abrange o Sítio Canaçu, em Tarumã – região de Assis-SP (22°44'79 latitude sul e 50°34'71 longitude oeste). O solo é do tipo Latossolo Vermelho eutroférico muito argiloso. A temperatura média anual é de 22°C, altitude de 509m e o índice pluviométrico é de 1360 mm.

Os sistemas de preparo do solo utilizados foram: **CM** (cultivo mínimo) - sistema de cultivo onde o uso de máquinas agrícolas sobre o solo é minimizado com escarificação e nivelção (grade leve) antes do plantio de verão e PD sobre a palha no plantio de inverno; **PD**

- áreas com 6, 14 e 22 anos sob sistema de manejo conservacionista; **mata nativa** – vegetação de capoeira baixa.

De 1984-1992 as áreas que foram denominadas PD de 6 e 14 anos estavam sob CM com rotação de culturas. De 1992-2000, somente no sistema de PD de 6 anos houve cultivo de cana-de-açúcar, o restante continuou sob rotação de culturas que variavam de acordo com os períodos de seca/inverno e úmido/verão, onde eram plantados em rotações cana-milho-aveia no outono/inverno e soja-milho na primavera/verão. O histórico completo desta área experimental está apresentado na Tabela 5.1.

Tabela 5.1. Histórico da área experimental do Sítio Canaçu, em Tarumã, na região de Assis – SP.

Cultura/ Período			
Manejo	(1984-1992)	(1992-2000)	
PD 6 anos	Rotação de soja/ trigo/soja/ tremoço/milho	Cultivo cana	
PD 14 anos	Rotação de soja/ trigo/soja/ tremoço/milho	Rotação de soja/ trigo/soja/ tremoço/milho	
PD 22 anos	Rotação de soja/ trigo/soja/ tremoço/milho	Rotação de soja/ trigo/soja/ tremoço/milho	
Cultura/ Período			
Manejo	(out/ inv 2000)	(pri/ verão 2000/01)	(out/inv 2001)
PD 6 anos	Cana	Soja	Milho
PD 14 anos	Milho	Soja	Aveia Preta
PD 22 anos	Milho	Soja	Aveia Branca
Cultura/ Período			
Manejo	(pri/ verão 2001/02)	(out/ inv 2002)	(pri/ verão 2002/03)
PD 6 anos	Soja	Aveia Preta	Soja
PD 14 anos	Soja	Milho	Soja
PD 22 anos	Milho	Milho	Soja
Cultura/ Período			
Manejo	(out/ inv 2003)	(pri/verão 2003/04)	(out/inv 2004)
PD 6 anos	Milho	Soja	Aveia Preta
PD 14 anos	Milho	Soja	Milho
PD 22 anos	Aveia	Soja	Milho
Cultura/ Período			
Manejo	(pri/verão 2004/05)	(out/inv 2005)	(pri/verão 2005/06)
PD 6 anos	Milho	Aveia Preta	Soja
PD 14 anos	Soja	Milho	Soja
PD 22 anos	Soja	Milho	Milho

Nos sistemas sob PD, o solo foi corrigido com altas doses de calcário, de 1 a 4 t ha⁻¹. Na primeira dosagem, o calcário foi incorporado até a profundidade de 40 cm, com revolvimento. Após, anualmente, o calcário era incorporado somente na superfície (0-10 cm). Houve boa produtividade na área de PD de 6 anos, e obteve cobertura de palhada seca de 8000 kg ha⁻¹ de

massa. Já em área sob PD de 22 anos, a produção não foi tão significativa, e obteve aproximadamente 3 000 kg ha⁻¹ de massa de cobertura.

5.3.2. Coleta das amostras

As amostras de solo foram coletadas em janeiro de 2006 de maneira a alcançar uma boa representatividade em cada parcela. Esse material foi coletado em diferentes profundidades: 0-5, 5-10 e 10-20 cm em três pontos (réplicas) para após obter uma amostra composta (réplica 1 + 2 + 3).

5.3.3. Análise do solo

As determinações de C, densidade do solo e EC estão descritas, respectivamente, nos itens 2.3.5, 2.3.6 e 2.3.7 do capítulo 2.

5.3.3.1. Fluorescência Induzida por Laser (FIL)

O procedimento de determinação de FIL está descrito no item 3.3.2.1 do capítulo 3.

5.3.4. Fracionamento químico: extração e purificação dos AH

O procedimento de fracionamento químico para as amostras de solo está descrito no item 3.3.3.

5.3.5. Caracterização das amostras de AH

Os procedimentos de determinação de C e análise do teor de cinzas estão descritos nos itens 3.3.4.1 e 3.3.4.2 do capítulo 3.

5.3.5.1. Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE)

O procedimento de caracterização por RPE das frações de AH está descrito no item 3.3.4.4 do capítulo 3.

5.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.4.1. Análises com o solo

5.4.1.1. Determinação de carbono

Na Figura 5.1 estão representados os teores de C (em g kg⁻¹) das amostras referentes a um Latossolo Vermelho eutroférico muito argiloso, para os sistemas de cultivo estudados: CM, PD de 6, 14 e 22 anos e mata nativa, nas profundidades de 0-5, 5-10 e 10-20 cm.

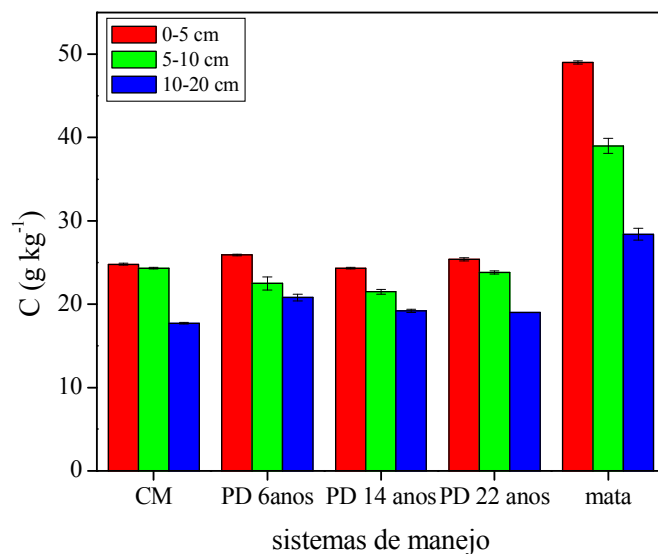


Figura 5.1. Teores de C (em g kg⁻¹) das amostras de solos analisadas para os sistemas de cultivo estudados: cultivo mínimo (CM), plantio direto (PD) e mata nativa, nas profundidades de 0-5, 5-10 e 10-20 cm.

Comparando os sistemas de manejo sob CM com os de PD verifica-se que não houve diferença significativa entre eles. Observa-se em todas as amostras que o C diminui à medida que a profundidade aumenta. Em CM, devido ao revolvimento do solo nas camadas superficiais (0-5 e 5-10 cm), a quantidade de C é semelhante. O maior teor de C foi observado em áreas de mata nativa (situação ideal).

Além da possibilidade de fatores externos, como o histórico do experimento, clima, tempo de experimento, manutenção da cobertura vegetal, entrada de resíduos, etc. influenciarem a área experimental, esse fato pode também ser devido à elevada quantidade de argila (~ 60%) presente nesses tipos de Latossolos muito argilosos. De acordo com Chivenge et al. (2007), a quantidade de perda da MOS devido ao sistema de manejo é dependente do conteúdo da argila no solo. Em geral, as maiores perdas de MOS são observadas em solos arenosos (teores de argila abaixo de 25%), devido principalmente à falta de proteção física da MO em solos arenosos. Com isso, de acordo com os resultados obtidos pode-se pressupor que não houve perdas nem ganhos de C devido à condição argilosa do solo. O tipo e a duração do sistema de manejo, associado com a textura do solo podem influenciar na quantidade de C presente no solo (Chivenge et al., 2007).

5.4.1.2. Estoques de carbono (EC)

A Tabela 5.2 apresenta os valores de C, densidade e as espessuras das camadas referentes às amostras de solo.

Tabela 5.2. Valores de carbono (g kg^{-1}), densidade (g cm^{-3}) e espessura das camadas (m) das amostras de solo para os diferentes sistemas de manejo: cultivo mínimo (CM), plantio direto (PD) de 6, 14 e 22 anos e mata nativa, em função das profundidades: 0-5, 5-10 e 10-20 cm.

amostra	profundidade (cm)	teor de C (g kg^{-1})	densidade do solo (g cm^{-3})	espessura da camada (m)
CM	0-5	24,8 ± 0,1	1,25 ± 0,15	0,05
CM	5-10	24,3 ± 0,1	1,26 ± 0,12	0,05
CM	10-20	17,7 ± 0,1	1,26 ± 0,02	0,1
PD 6 anos	0-5	25,9 ± 0,1	1,03 ± 0,12	0,05
PD 6 anos	5-10	22,5 ± 0,04	1,27 ± 0,1	0,05
PD 6 anos	10-20	20,8 ± 0,1	1,21 ± 0,04	0,1
PD 14 anos	0-5	24,3 ± 0,01	0,95 ± 0,02	0,05
PD 14 anos	5-10	21,5 ± 0,3	1,17 ± 0,06	0,05
PD 14 anos	10-20	19,2 ± 0,4	1,16 ± 0,19	0,1
PD 22 anos	0-5	25,4 ± 0,2	0,97 ± 0,01	0,05
PD 22 anos	5-10	23,8 ± 0,2	1,18 ± 0,11	0,05
PD 22 anos	10-20	19,0 ± 0,0	1,17 ± 0,04	0,1
mata	0-5	49,0 ± 0,2	0,82 ± 0,04	0,05
mata	5-10	39,0 ± 0,9	0,91 ± 0,06	0,05
mata	10-20	28,4 ± 0,7	1,05 ± 0,06	0,1

Na Tabela 5.3 estão apresentados os valores de EC, em Mg ha^{-1} , calculados por sistemas de cultivo, em cada profundidade e total (0-20 cm).

Tabela 5.3. Estoques de Carbono (EC) das amostras em cada profundidade (0-5, 5-10 e 10-20 cm) e no total (0-20 cm) para os sistemas de manejo: cultivo mínimo (CM), plantio direto (PD) de 6,14 e 22 anos e mata nativa.

Sistema de cultivo/ prof.	Estoque de Carbono (Mg ha^{-1})			
	0- 5 cm	5-10 cm	10-20 cm	total (0-20 cm)
CM	15,5	15,3	22,3	53,0
PD 6 anos	13,3	14,3	25,2	52,8
PD 14 anos	11,5	12,6	22,3	46,4
PD 22 anos	12,3	14,0	22,2	48,5
mata nativa	20,1	17,7	29,8	67,6

Os maiores valores de EC foram obtidos em área de mata nativa ($67,6 \text{ Mg ha}^{-1}$), seguido dos sistemas de CM e PD de 6 anos (aproximadamente 53 Mg ha^{-1}), porém, de uma maneira geral, os EC do CM e dos sistemas sob PD não apresentam diferenças significativas. Por esses resultados verifica-se que não houve aumento dos EC nos sistemas de PD, comparados com o CM e mata nativa, ou seja, não houve acúmulo de C para esse tipo de solo argiloso. De acordo com Roscoe et al. (2006), muitos resultados de pesquisa envolvendo acúmulos de C no sistema de PD não têm sido conclusivos. Enquanto em alguns trabalhos observaram-se

incrementos significativos nos teores de MOS, quando comparados a sistemas convencionais, em outros estudos nenhuma diferença significativa foi observada entre os tratamentos. Essa discrepância de resultados pode ser atribuída a muitos aspectos como: as condições experimentais e o que se convencionou a chamar de sistema de PD, duração do experimento, condições climáticas que podem interferir nas taxas de decomposição do C, histórico das áreas, produção de massa vegetal e aporte de resíduos. Tratamentos que não incluem, no esquema de rotação de culturas, materiais com alto aporte de resíduos, tendem a apresentar incrementos discretos nos EC, ou mesmo ausência de qualquer diferença em relação a sistemas convencionais. É importante considerar também que as taxas de decomposição de resíduos são maiores quando favorecidas pela presença de umidade no solo. Sendo assim, o sistema de culturas, para ser vantajoso, deve retornar quantidades elevadas de resíduos para o solo, de forma a possibilitar saldo positivo no balanço entre a entrada e saída de C no solo. Com isso, o sistema de rotação deve incluir culturas com alto aporte de resíduos e outras que teriam a função de inserir N no sistema (as leguminosas).

Nos sistemas de cultivo abordados aqui, neste trabalho, houve o esquema de culturas de rotação, com a inclusão de culturas leguminosas, como a soja e a aveia preta, e o milho, com grande produção de resíduos. Entretanto, pelos resultados apresentados, não foi possível obter acúmulo de C, principalmente nos dois sistemas de manejo de PD de longa duração (14 e 22 anos). Pode não ter havido entrada de material orgânico suficiente, apesar de o sistema apresentar culturas que teoricamente possuem grande aporte de resíduos. A condição do solo bastante argilosa, favorecendo a proteção da MO, como foi verificado por González-Pérez et al. (2004) e o fato de este ser um experimento em área privada e portanto com maior ênfase no aspecto de aumento de produção, pode ter sido outros fatores para não ter observado eventuais mudanças. De qualquer forma, é um dado relevante pois denota a importância do manejo adequado dos solos e também as diferenças que eles podem apresentar, especialmente em função da textura do solo (no caso com elevado teor de argila), o que minimiza as perdas de carbono, mesmo com situações de manejo inadequadas.

5.4.1.3. Fluorescência Induzida por Laser (FIL)

Estudos de FIL foram realizados com as amostras de solo, nas profundidades 0-5, 5-10 e 10-20 cm.

Na Figura 5.2 estão representados os espectros de fluorescência obtidos para amostras referentes à mata nativa, CM e PD (de 6, 14 e 22 anos). Como já mostrado anteriormente em análises de FIL, quando a amostra de solo é excitada com um laser no azul-ultravioleta próximo, o espectro de emissão é uma banda larga sem estruturas significativas. Para

comparar a intensidade de Fluorescência de amostras de solo é necessário normalizar com o valor do conteúdo de C no solo (Tabela 5.2). Essa área de fluorescência é proporcional ao grau de humificação (H_{FIL}) da MOS (Milori et al., 2006).

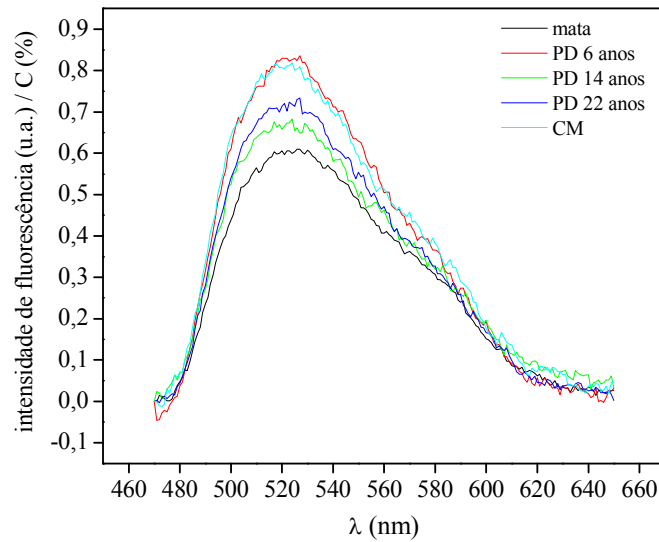


Figura 5.2. Espectros característicos da razão intensidade da Fluorescência Induzida por Laser (FIL) das amostras sob diferentes sistemas de manejo normalizados pelo teor de C na profundidade 0-5 cm.

De acordo com Milori et al. (2006), o processo de humificação conduz ou produz um aumento de estruturas fluorescentes. Tal fato pode ser evidenciado nesses resultados, já que os sistemas sob PD de 6 anos e CM são os que apresentam maiores intensidades de fluorescência, e deveria, portanto, obter os maiores graus de humificação, favorecendo o aumento de estruturas aromáticas, ou maior quantidade de C aromático devido a maior estabilidade da MO. Em contraste, a mata nativa e os outros sistemas de PD de maiores durações deveriam apresentar menores intensidades de fluorescência, já que nesses sistemas prevaleceriam a entrada constante de material lábil, como os resíduos vegetais.

Na Figura 5.3 estão representados os graus de humificação das amostras de solo obtidos segundo metodologia proposta por Milori et al. (2006).

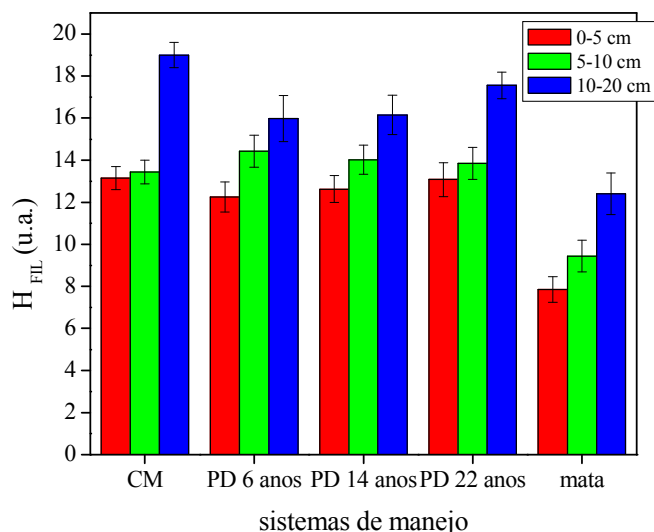


Figura 5.3. Valores dos graus de humificação (H_{FIL}) obtidos por Fluorescência Induzida por Laser (FIL) em amostras de solo sob diferentes sistemas de cultivo: cultivo mínimo (CM), plantio direto (PD) de 6, 14 e 22 anos, e mata nativa, em função da profundidade.

Com os dados de FIL observa-se que as áreas de mata nativa apresentaram menor grau de humificação. Isso é o resultado da presença de material orgânico mais lábil, que ocorre devido à incorporação de maior quantidade de MO mais recente no solo, ou seja, há um aumento das estruturas alifáticas. O grau de humificação aumenta com o aumento da profundidade. Com isso, a MOS atinge maiores estágios de humificação com preservação de estruturas complexas, geralmente aromáticas. No caso do PD, a ausência de revolvimento quando do preparo do solo e a proteção deste pela da massa seca, poderia favorecer a incorporação de MO mais recente, porém, devido a vários fatores já discutidos anteriormente esse fato não foi observado para esse tipo de solo e experimento. O que se observa é que não existe diferença significativa, em termos qualitativos ou de estabilidade, entre os sistemas de CM com os de PD, mesmo naquele onde não há revolvimento por 22 anos. Como os resultados de González-Pérez et al. (2004), os dados obtidos neste trabalho podem ser associados com o tipo de solo.

5.4.2. Análises do solo fracionado

5.4.2.1. Análise elementar e teor de cinzas

Fez-se a extração dos AH de amostras de diferentes sistemas de manejo, CM, PD de 6, 14 e 22 anos e mata nativa, na profundidade de 0-5 cm.

Na Tabela 5.4 estão apresentados as análises elementares, os teores de cinzas e as relações C/N das amostras de AH.

Tabela 5.4. Análises de C, H, N e S, relação C/N e teores de cinzas das amostras de AH extraídas do Latossolo Vermelho eutrófico na profundidade 0-5 cm, nos diferentes sistemas de manejo.

amostra	%C (m/m)	%H (m/m)	%N (m/m)	%S (m/m)	C/N	%Cinzas
Mata nativa	52,36	4,74	4,38	2,35	11,95	1,90
CM	53,32	5,04	4,51	2,46	11,82	1,61
PD 6 anos	50,99	5,31	4,52	2,42	11,28	1,74
PD 14 anos	51,33	5,34	4,25	2,09	12,08	1,20
PD 22 anos	51,45	5,19	4,49	2,97	11,46	1,71

O conteúdo de C são semelhantes para todos os AH, com valores na faixa de 51-53 % (m/m). A quantidade de N para todas as amostras estão na faixa de 4,7 a 5,3 %. A composição elementar foi similar aos valores obtidos por Stevenson (1994) para AH extraídos de solos tropicais. Também, esse resultados foram semelhantes aos encontrados por González-Pérez et al. (2004). De uma maneira geral, pode-se afirmar que o processo de fracionamento químico não mostrou diferenças expressivas de conteúdo de C, H, N e S para os diferentes sistemas de manejo.

Observa-se na tabela que a maior razão C/N foi para a amostra sob PD de 14 anos, porém, de uma maneira geral, esta razão foi similar para a maioria dos tratamentos, todos entre 11,3 e 12 (Rocha e Rosa, 2003).

Os teores de cinzas das amostras foram em torno de 1,2 – 1,9%, ou seja, menor que 5%, indicando que esses valores estão dentro da faixa estabelecida para a avaliação desse material por Espectroscopia, não interferindo nas análises dos graus de humificação.

5.4.2.2. Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE)

A Figura 5.4 apresenta os níveis de concentração de radicais livres orgânicos do tipo semiquinona para as amostras de AH provenientes dos diferentes sistemas de manejo, na profundidade de 0-5 cm.

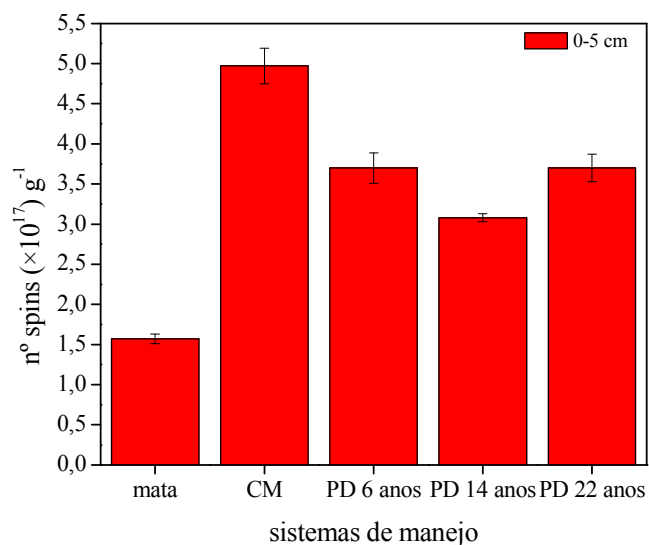


Figura 5.4. Níveis de radicais livres do tipo semiquinona [spins g⁻¹ ($\times 10^{17}$)] de ácidos húmicos (AH) determinados por Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE) sob diferentes sistemas de manejo, na profundidade de 0-5 cm.

A maior concentração de radicais livres do tipo semiquinona de AH foi obtido pelo sistema de CM, seguido em ordem decrescente por PD de 6 anos, PD de 22 anos e PD de 14 anos (Figura 5.4). quando comparado com a área de mata nativa. Os AH dos sistemas de manejo de CM e PD tiveram valores de $3,08 \pm 0,05 (\times 10^{17})$ à $4,97 \pm 0,22 (\times 10^{17})$ spins g⁻¹. Os valores para a mata nativa foram $1,57 \pm 0,06 (\times 10^{17})$ spins g⁻¹. De uma maneira geral, esses resultados foram concordantes com a literatura (Bayer et al., 2000, Bayer et al., 2002a). Em sistemas convencionais, representado nesse caso, pelo CM, a não entrada de material orgânico constante e o revolvimento do solo pode favorecer o aumento da concentração de radicais livres do tipo semiquinona, aumentando também o grau de humificação, com a presença de C mais aromático ou estável. Já em mata nativa, devido à entrada constante de material orgânico, favorece a presença de C mais lábil, ou seja, a diminuição da concentração de radicais livres do tipo semiquinona e conseqüentemente, a diminuição do grau de humificação. Os sistemas sob PD apresentaram resultados intermediários, ou seja, existe a entrada constante de biomassa, semelhante à situação ideal de mata nativa, com entrada de C lábil e menor que o sistema sob CM.

5.5. CONCLUSÕES

Ao analisar os EC totais, ou seja, considerando as profundidades de 0-20 cm, nos diferentes sistemas de manejo, pode-se levar em consideração alguns fatores. Ao comparar os

sistemas sob CM, PD e mata nativa, somente as amostras de mata apresentaram maiores teores de C. Não foi observado aumento significativo na taxa de C, em relação ao CM e PD, mesmo após longo tempo sob esse sistema (até 22 anos). Os resultados obtidos estão provavelmente associados com o tipo de solo analisado. Os Latossolos com alto conteúdo de argila (aproximadamente 60%), onde há proteção física da MO, pode impedir alterações estruturais desse material, não diferenciando as quantidades de C (pelos EC) nem a qualidade do C (pela caracterização por FIL) de sistemas de manejo como CM e PD, mesmo após longo período sem o revolvimento do solo. Esse fato pode ser devido a dificuldade de se romper o complexo (argila-ferro-MO). Os resultados de RPE, em relação aos AH, foram concordantes com a literatura, principalmente no que diz respeito ao aumento da concentração de radicais livres do tipo semiquinona, observável no CM (maior grau de humificação e portanto, maior estabilização do material). Foi observado na mata menor concentração de radicais livres do tipo semiquinona. Pode ser devido a constante entrada de material lábil e, conseqüentemente, menor grau de humificação. Os sistemas sob PD apresentaram valores intermediários. O fato de este ser um experimento em área privada e portanto com maior ênfase no aspecto de aumento de produção, pode ter sido outro fator para não ter observado eventuais mudanças.

CONCLUSÕES FINAIS

O balanço de carbono (C) nos sistemas agrícolas deve ser estudado a fim de ser possível definir as potencialidades de seqüestro de gás carbônico (CO₂) atmosférico em sistemas de manejo do solo e o seu impacto na mitigação dos problemas causados pelo aumento do Efeito Estufa.

A busca de metodologias confiáveis para a determinação de C tem sido essencial para a avaliação quantitativa e qualitativa da matéria orgânica do solo (MOS). As diferentes metodologias utilizadas neste trabalho (Walkley-Black, Análise Elementar, Carbono Orgânico Total - TOC e Análise Termogravimétrica - TGA), comparadas pelos coeficientes de variação e por análise dos componentes principais (PCA), trouxeram resultados expressivos para o TOC, devido principalmente a quantidade de amostra analisada e os menores desvios.

Considerando áreas com potencial para seqüestro de C pelo solo, os sistemas de pastagens bem manejadas de *Brachiaria*, com o não revolvimento do solo ou queimadas, podem aumentar a MOS e com isso, proporcionar o seqüestro de CO₂ da atmosfera, em comparação com a vegetação nativa de cerradão, dependendo da disponibilidade do nitrogênio, e também da quantidade de calagem adicionada. Ao relacionar os 80 milhões de hectares de pastagens de *Brachiaria* no Brasil, foi possível estimar, com os dados obtidos pelo experimento, um seqüestro de cerca de 8,3 a 17,3% do total de CO₂ atualmente emitido pelas atividades relacionadas ao desmatamento e à mudança de uso do solo. A avaliação qualitativa da MOS também trouxe resultados promissores na determinação da estabilidade desse material por espectroscopia por meio da determinação dos graus de humificação obtidos perante metodologias de Fluorescência e Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE). As caracterizações da MOS podem ser associadas também pelo tipo de amostra avaliada, ou do solo inteiro ou somente de uma fração mais recalcitrante ou estável do solo, os ácidos húmicos (AH).

Áreas sob manejo conservacionista de plantio direto (PD) também trouxeram resultados promissores no contexto de seqüestro de C no solo. A avaliação desses sistemas comparados com o manejo de plantio convencional (PC) mostraram maiores quantidades de C no solo em PD após 7 anos sob esse sistema, em rotação com cana crua (sem queima) / soja com / ou sem aplicações de calagem. As maiores mudanças foram observadas na superfície do solo. A manutenção da cobertura vegetal associada com o não revolvimento do solo e rotação de culturas fez com que houvesse maior acúmulo da MOS em sistema sob PD, evidenciada também pelo menor grau de humificação, observável por FIL, ou seja, maior entrada de

material lábil nesse sistema. A aplicação do PD em 7 anos de experimento foi possível constatar um seqüestro de 0,15 a 5,29 Mg CO₂ ha⁻¹ ano⁻¹ da atmosfera.

Com a avaliação do experimento sob PD de grãos, com até 22 anos de duração, não foi possível observar acúmulo de C com o decorrer do tempo. Esse fato se deve provavelmente ao efeito de proteção física da MOS em relação ao alto conteúdo de argila (aproximadamente 60%), na qual pode impedir alterações quantitativas e estruturais desse material, não diferenciando as quantidades de C (pelos estoques de C) nem a qualidade do C (pela caracterização por métodos espectroscópicos) de sistemas de manejo como CM e PD, mesmo após longo período sem o revolvimento do solo, ou seja, em sistemas de PD com 22 anos de duração. O fato de este ser um experimento localizado em área privada e portanto com maior ênfase no aspecto de aumento de produção, pode ter sido outro fator para não ter observado eventuais mudanças.

Para a avaliação do seqüestro de C em áreas consideradas de grande relevância para esse tema, há alguns fatores que precisam ser levados em consideração, como a área avaliada, ou seja, o delineamento do experimento, histórico do local, duração do experimento, condições climáticas, taxas de decomposição do C, produção de massa vegetal e aporte de resíduos. Em vista disso, o conjunto desses parâmetros devem funcionar paralelamente para que haja o total sucesso do sistema de manejo conservacionista.

Embora a contribuição da agricultura conservacionista seja ainda pequena no contexto geral das principais fontes emissoras, torna-se significativa do ponto de vista do armazenamento e seqüestro de C no solo. Na agricultura existe um importante papel porque uma grande quantidade de C do ciclo do C está presente no compartimento solo e pode ser relacionada aos sistemas de produção. A não adoção de rotações de culturas, associadas ao preparo intensivo do solo, pode reduzir a qualidade do solo e o conteúdo da MOS resultando em perdas de C.

O seqüestro de C isoladamente não resolve totalmente o problema das Mudanças Climáticas, contudo este já é um importante passo, principalmente aqui no Brasil, devido a sua grande extensão territorial e aptidão agrícola florestal. O avanço e a consolidação de estudos sobre dinâmica e estabilidade da MOS em condições tropicais tem sido o elemento chave para a sustentabilidade de sistemas agropecuários no país, ampliando a adoção de manejos conservacionistas e a recuperação de áreas degradadas, como no caso das pastagens de *Brachiaria*.

SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

- Avaliar os estoques, seqüestro de carbono e estabilidade da matéria orgânica em outras áreas experimentais, como em sistemas de Integração Lavoura-Pecuária e em áreas florestais;
- Avaliar a biomassa microbiana de carbono e nitrogênio, com cálculo da contribuição da biomassa microbiana para o carbono orgânico total do solo;
- Realizar medidas de fluxos de CO₂ evoluído e de outros gases do efeito estufa em sistemas agrícolas com potencial para seqüestro de carbono;
- Possibilitar a criação de uma base de dados com a finalidade de adquirir a informação necessária para garantir a sustentabilidade do nosso sistema produtivo e a posição do país em relação ao Mecanismo de Desenvolvimento Limpo;

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAMO FILHO, J.; MATSUOKA, S.; SPERANDIO, M. L.; RODRIGUES, R. C. D.; MARCHETTI, L. L. Resíduos da colheita mecanizada de cana crua. **Álcool & Açúcar**, n. 67, p. 23-25, 1993.
- AMADO, T. J. C. ; BAYER, C.; CONCEIÇÃO, P. C.; SPAGNOLLO, E.; CAMPOS, B. C.; VEIGA, M. Potential of carbon accumulation in no-till soils with intensive use and cover crops in southern Brazil. **Journal of Environmental Quality**, v. 35, p. 1599-1607, 2006.
- ARMELIN, M. J. A.; PRIMAVERESI, O.; PRIMAVERESI, A. C.; SAIKI, M. Effect of liming and fertilizer on mineral content and productivity of *Brachiaria Decumbens* grass forage. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 271, p. 221-224, 2007.
- ATKINS, P.W. **Physical Chemistry**. Oxford: University Press, 1998. p. 503.
- BAIRD, C. **Química Ambiental**. Porto Alegre: Bookman, 2002. 622 p.
- BALL, D. F. Loss-on-ignition as an estimate of organic matter and organic carbon in non calcareous soils. **Journal of Soil Science**, v. 15, p. 84-92, 1964.
- BARBER, R. G.; NAVARRO, F. Evaluation of the characteristics of 14 cover crops in a soil rehabilitation trial. **Land Degradation and Development**, v. 5, n. 3, p. 201-214, 1994.
- BATJES, N. H. Mitigation of atmospheric CO₂ concentrations by increased carbon sequestration in the soil. **Biology and Fertility of Soils**, v. 27, p. 230-235, 1998.
- BAYER, C.; MARTIN-NETO, L.; MIELNICZUCK, J.; CERETTA, C. A. Effect of no-till cropping system on soil organic matter in a sandy clay loam acrisol from southern Brazil monitored by electron spin resonance and nuclear magnetic resonance. **Soil & Tillage Research**, v. 53, p. 95-104, 2000.
- BAYER, C.; MARTIN-NETO, L.; MIELNICZUK, J.; SAAB, S. C.; MILORI, D. M. B. P.; BAGNATO, V. S. Tillage and cropping system effects on soil humic acid characteristics as determined by electron spin resonance and fluorescence spectroscopies. **Geoderma**, v. 105, p. 81-92, 2002a.
- BAYER, C.; MIELNICZUK, J.; MARTIN-NETO, L.; ERNANI, P. R. Stocks and humification degree of organic matter fractions as affected by no-tillage on a subtropical soil. **Plant and Soil**, v. 238, p.133-140, 2002b.
- BAYER, C.; MARTIN-NETO, L.; SAAB, S. C. Diminuição da humificação da matéria orgânica de um cambissolo húmico em plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, p. 537-544, 2003.
- BAYER, C.; DIEKOW, J. Metodologia para determinação do seqüestro de carbono em solos sob plantio direto no Brasil. In: SIMPÓSIO SOBRE PLANTIO DIRETO E MEIO AMBIENTE – SEQÜESTRO DE CARBONO E QUALIDADE DA ÁGUA, 1., 2005, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: Federação Brasileira de Plantio Direto na Palha, 2005. p. 58-62. 2007.

BAYER, C.; MARTIN-NETO, L.; MIELNICZUK, J.; PAVINATO, A.; DIECKOW, J. Carbon sequestration in two Brazilian cerrado soils under no-till. **Soil & Tillage Research**, v. 86, p. 237-245, 2006a.

BAYER, C.; MARTIN-NETO, L.; MIELNICZUK, J.; DIECKOW, J.; AMADO, T. J. C. C and N stocks and the role of molecular recalcitrance and organomineral interaction in stabilizing soil organic matter in a subtropical Acrisol managed under no-tillage. **Geoderma** v. 133, p. 258-268, 2006b.

BAYER, C.; MIELNICZUK, J.; GIASSON, E.; MARTIN-NETO, L.; PAVINATO, A. Tillage effects on particulate and mineral-associated organic matter in two tropical Brazilian soils. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 37, p. 389-401, 2006c.

BELTRÁN, V.; BLASCO, A.; ESCARDINO, A.; NEGRE, F. Formation of black core during the firing of floor and wall tiles. **Interceram**, v. 37, p. 15-21, 1988.

BERNOUX, M.; CERRI, C. C.; CERRI, C. E. P.; SIQUEIRA NETO, M.; METAY, A.; PERRIN, A.; SCOPEL, E.; RAZAFIMBELO, T.; BLAVET, D.; PICCOLO, M. C. PAVEI, M.; MILNE, E. Cropping systems, carbon sequestration and erosion in Brazil, a review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 26, p. 1-8, 2006.

BEYER, L.; DESLIS, K.; VOGT, B. Estimation of soil organic matter composition according to a simple thermoanalytical approach. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 29, p. 1277-1297, 1998.

BODDEY, R. M.; ALVES, B. J. R.; OLIVEIRA, O. C.; URQUIAGA, S. Potencial para acumulação e seqüestro de carbono em pastagens de *Brachiaria*. In: LIMA, M. A., CABRAL, O. M. R., MIGUEZ, J. D. G. (Eds.). **Mudanças climáticas globais e a agropecuária brasileira**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2001, p. 213-229.

BODDEY, R. M.; MACEDO, R.; TARRÉ, R. M.; FERREIRA, E.; OLIVEIRA, O. C.; REZENDE, C. de P.; CANTARUTTI, R. B.; PEREIRA, J. M.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S. Nitrogen cycling in *Brachiaria* pastures: the key to understanding the process of pasture decline. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 103, p. 389-403, 2004.

BOLINDER, M. A.; ANGERS, D. A.; GIROUX, M. Estimating C inputs retained as soil organic matter from corn (*Zea Mays* L.). **Plant and Soil**, v. 215, n. 1, p. 85-91, 1999.

BOLONHEZI, D.; SILVA, E. A.; BRUNINI, O.; MARTINS, A. L. M.; JUSTO, C. L.; COUTINHO FILHO, J. L. V.; PEREZ, R. M.; FERREIRA, W. M.; GENTILIN JUNIOR, O.; LA SCALA JUNIOR, N.; MUTTON, M. A. Emissão de CO₂ no solo nos sistemas convencional, cultivo mínimo e plantio direto de amendoim em rotação com pastagem. In: SIMPÓSIO SOBRE PLANTIO DIRETO E MEIO AMBIENTE – SEQÜESTRO DE CARBONO E QUALIDADE DA ÁGUA, 1., 2005, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: Federação Brasileira de Plantio Direto na Palha, 2005. p. 165-167.

BORGES, J.; GASSEN, D. N. Plantio direto: uma revolução na agricultura brasileira. In: PATERNIANI, E. **Ciência, agricultura e sociedade**. Brasília: Embrapa Informação e Tecnologia, 2006. p. 227-276.

BROSSARD, M.; BLANCHART, E.; BODDEY, R. M. Soil processes under pastures in intertropical areas - Preface. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 103, p. 267-268, 2004.

BRUNETTO, G.; MELO, G. W.; KAMINSKI, J.; FURLANETTO, V.; FIALHO, F. B. Avaliação do método de perda de peso por ignição na análise de matéria orgânica em solos da Serra Gaúcha do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, v. 36, n. 6, p. 1936-1939, 2006.

BURDON, J. Are the traditional concepts of structures of humic substances realistic? **Soil Science**, v. 166, n. 11, p. 752-769, 2001.

CAIRES, E. F.; BARTH, G.; GARBUIO, F. J. Lime application in the establishment of a no-till system for grain crop production in Southern Brazil. **Soil & Tillage Research**, v. 89, n. 1, p. 3-12, 2006.

CAMPOS, Dinailson Côrrea de. **Potencialidade do sistema de colheita sem queima da cana-de-açúcar para o seqüestro de carbono**. 2003. 103 f. Tese (Doutorado em Agronomia – Área de concentração: Microbiologia Agrícola) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; VAN RAIJ, B. Determinação da matéria orgânica. In: VAN RAIJ, B.; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. (Eds.). **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: UNICAMP, 2001. cap. 9, p. 173-180.

CERRI, C. C.; BERNOUX, M.; FEIGL, B. J.; PICCOLO, M. C.; CERRI, C. E. P. Balanço de gases em sistemas de produção. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 29., 2003, Ribeirão Preto. **Anais...** Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2003. 1 CD-ROM.

CERRI, C. C.; BERNOUX, M.; CERRI, C. E. P.; FELLER, C. Carbon cycling and sequestration opportunities in South America: the case of Brazil. **Soil Use and Management**, v. 20, p. 248-254, 2004.

CERRI, C. C.; BERNOUX, M.; CERRI, C. E. P.; FEIGL, B. J.; PICCOLO, M. C. Ciclo do Carbono e Efeito Estufa. In: SIMPÓSIO SOBRE PLANTIO DIRETO E MEIO AMBIENTE – SEQÜESTRO DE CARBONO E QUALIDADE DA ÁGUA, 1., 2005, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: Federação Brasileira de Plantio Direto na Palha, 2005. p. 15-19.

CERRI, C. E. P.; SPAROVEK, G.; BERNOUX, M.; EASTERLING, W. E.; MELILLO, J. M.; CERRI, C. C. Tropical agriculture and global warming: impacts and mitigation options. **Scientia Agricola (Piracicaba, Brazil)**, v. 64, n. 1, p. 83-99, 2007.

CHAN, K. Y.; HEENAN, D. P. Lime affected structural stability of red earth under different tillage, stubble and rotation management. **Proceedings of the Australia and New Zealand National Soils Conference**, v. 3, p. 39-40, 1996.

CHEN, J.; GU, B.; LEBOEUF, E. J.; PAN, H.; DAI, S. Spectroscopic characterization of the structural and functional properties of natural organic matter fractions. **Chemosphere**, v. 48, p. 59-68, 2002.

- CHIVENGE, P. P.; MURWIRA, H. K.; GILLER, K. E.; MAPFUNO, P.; SIX, J. Long-term impact of reduced tillage and residue management on soil carbon stabilization: Implications for conservation agriculture on contrasting soils. **Soil & Tillage Research**, v. 94, p. 328-337, 2007.
- CHRISTENSEN, B. T. Physical fractionation of soil and organic matter in primary particle size and density separates. **Advances in Soil Science**, v. 20, p. 1-90, 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: CRC, 1996. p. 97-165.
- CLAPP, C. E.; HAYES, M. H. B. Sizes and shapes of humic substances. **Soil Science**, v. 164, n. 12, p. 777-789, 1999.
- CONANT, R. T.; PAUSTIAN, K.; ELLIOTT, E. T. Grassland management and conversion into grassland: effects on soil carbon. **Ecological Applications**, v. 11, p. 343-355, 2001.
- CONCEIÇÃO, M.; MANZATTO, C. V.; ARAÚJO, W. S.; MARTIN-NETO, L.; SAAB, S. C.; CUNHA, T. J. F.; FREIXO, A. A. **Estudo comparativo de métodos de determinação do teor de matéria orgânica em organossolos**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 1999. p. 1-4. (Embrapa Solos Comunicado Técnico, 2).
- CORAZZA, E. J.; SILVA, J. E.; RESCK, D. V.; GOMES, A. C. Comportamento de diferentes sistemas de manejo como fonte ou depósito de carbono em relação à vegetação de cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 23, p. 425-432, 1999.
- COSTA, F. S.; BAYER, C.; ALBUQUERQUE, J. A.; FONTOURA, S. M. V. Aumento de matéria orgânica num latossolo bruno em plantio direto. **Ciência Rural**, v. 34, n. 2, p. 587-589, 2004.
- D'ANDRÉA, A. F.; SILVA, M. L. N.; CURI, N.; GUILHERME, L. R. G. Estoque de carbono e nitrogênio e formas de nitrogênio mineral em um solo submetido a diferentes sistemas de manejo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 2, p. 179-186, 2004.
- DEEN, W.; KATAKI, P. K. Carbon sequestration in a long-term conventional versus conservation tillage experiment. **Soil & Tillage Research**, v. 74, p. 143-150, 2003.
- DIECKOW, J.; MIELNICZUK, J.; KNICKER, H.; BAYER, C.; DICK, D. P.; KÖGEL-KNABNER, I. Soil C and N stocks as affected by cropping systems and nitrogen fertilization in a southern Brazil Acrisol managed under no-tillage for 17 years. **Soil & Tillage Research**, v. 81, p. 87-95, 2005a.
- DIECKOW, J.; MARTIN-NETO, L.; MILORI, D. M. B. P.; CONCEIÇÃO, P. C.; BAYER, C.; MIELNICZUK, J. **Sistemas de preparo do solo e características espectroscópicas da matéria orgânica em ambientes tropicais e subtropicais brasileiros**. São Carlos: Embrapa Instrumentação Agropecuária, 2005b. 16p. (Embrapa Instrumentação Agropecuária Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 12).
- DUMANSKI, J. Carbon sequestration, soil conservation, and the Kyoto Protocol: summary of implications. **Climate Change**, v. 65, p. 255-261, 2004.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. Brasília: Centro Nacional de Pesquisa de Solos, 1999. 412p.

FEDERAÇÃO BRASILEIRA DE PLANTIO DIRETO NA PALHA. Área de Plantio Direto no Brasil. Disponível em: <<http://www.febrapd.org.br>>. Acesso em: 26 fev. 2007.

FERREIRA, E. C.; RODRIGUES, S. H. B. G.; FERREIRA, M. M. C.; NÓBREGA, J. A.; NOGUEIRA, A. R. A análise exploratória dos teores de constituintes inorgânicos em sucos e refrigerantes de uva. **Eclética Química**, v. 27, p. 77-90, 2002.

FISHER, M. J.; RAO, I. M.; AYARZA, M. A.; LASCANO, C. E.; SANZ, J. I.; THOMAS, R. J.; VERA, R. R. Carbon storage by introduced deep-rooted grasses in the South American savannas. **Nature**, v. 371, p. 236-238, 1994.

FUENTES, M.; GONZÁLEZ-GAITANO, G.; GARCÍA-MINA, J. M. The usefulness of UV-visible and fluorescence spectroscopies to study the chemical nature of humic substances from soils and composts. **Organic Geochemistry**, v. 37, p. 1949-1959, 2006.

GOLCHIN, A.; OADES, J. M.; SKJEMSTAD, J. O. Study of free and occluded particulate organic matter in soils by solid state ^{13}C CP/MAS NMR spectroscopy and scanning electron microscopy. **Australian Journal of Soil Research**, v. 32, p. 285-309, 1994.

GONZÁLEZ-PÉREZ, M.; MARTIN-NETO, L.; SAAB, S. C.; NOVOTNY, E. H.; MILORI, D. M. B. P.; BAGNATO, V. S.; COLNAGO, L. A.; MELO, W. J.; KNICKER, H. Characterization of humic acids from a Brazilian Oxisol under different tillage systems by EPR, ^{13}C NMR, FTIR and Fluorescence spectroscopy. **Geoderma**, v. 118, p. 181-190, 2004.

GONZÁLEZ-PÉREZ, M.; MILORI, D. M. B. P.; COLNAGO, L. A., MARTIN-NETO, L.; MELO, W. J. A laser-induced fluorescent spectroscopic study of organic matter in a Brazilian Oxisol under different tillage systems. **Geoderma**, v. 138, p. 20-24, 2007.

HAYNES, R. J.; NAIDU, R. Influence of lime, fertilizer and manure applications on soil organic matter content and soil physical conditions: a review. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 51, p. 123-137, 1998.

HUFFMAN JR., E. W. D.; STUBER, H. A. Analytical methodology for elemental analysis of humic substances. In: AIKEN, G. R.; McKNIGHT, D. M.; WERSHAW, R. L.; MacCARTHY, P. (Eds.) **Humic Substances in soil, sediment and water: geochemistry, isolation and characterization**. New York: John Wiley, 1985. p. 433-455.

INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE (IPCC). Climate Change 2001: the scientific basis. Third Assessment Report. Disponível em: <<http://www.ipcc.ch/press/pr.htm>>. Acesso em: 25 maio 2005.

INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE (IPCC). Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Summary for Policymakers. Fourth Assessment Report. 21p. Disponível em: <<http://www.ipcc.ch/>>. Acesso em: 5 abr. 2007.

JACKSON, M. L. **Análisis químico de suelos**. Barcelona: Ediciones Omega, 1982. p. 282-309.

JANZEN, H. H. Soil carbon: a measure of ecosystem response in a changing world? **Canadian Journal of Soil Science**, v. 85, p. 467-480, 2005.

JARECKI, M. K.; LAL, R. Soil organic carbon sequestration rates in two long-term no-till experiments in Ohio. **Soil Science**, v. 170, p. 280-291, 2005.

JEZIEWSKI, A., DROZD, J., JERZYKIEWICZ, M., CHEN, Y., KAYE, K. J. EPR in the environmental control: copper complexes and free radicals in soil and municipal solid waste compost. **Applied Magnetic Resonance**, v. 14, p. 275-282, 1998.

JIMENEZ, R. R.; LADHA, J. K. Automated elemental analysis: a rapid and reliable but expensive measurement of total carbon and nitrogen in plant and soil samples. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 24, n. 15-16, p. 1897-1924, 1993.

KALBITZ, K.; GEYER, W.; GEYER, S. Spectroscopic properties of dissolved humic substances – a reflection of land use history in a fen area. **Biogeochemistry**, v. 47, p. 219-238, 1999.

KELLEHER, B. P.; SIMPSON, A. J. Humic substances in soils: are they really chemically distinct? **Environmental Science and Technology**, v. 40, p. 4605-4611, 2006.

KLUTHCOUSKI, J.; AIDAR, H.; COBUCCI, T.; STONE, L. F.; THUNG, M. D. T.; BALBINO, L. C.; SILVA, C. C. da; OLIVEIRA, F. R. Integração lavoura-pecuária: estudo de caso vivenciado pela Embrapa Arroz e Feijão. In: PATERNIANI, E. (Ed.). **Ciência, agricultura e sociedade**. Brasília: Embrapa Informação e Tecnologia, 2006. p. 277-330.

KRASOVITSKII, B. M.; BOLOTIN, B. M. **Organic luminescent materials**. Weinheim: VCH, 1988. 340 p.

LAL, R. Soil carbon sequestration to mitigate climate change. **Geoderma**, v. 123, p. 1-22, 2004a.

LAL, R. Soil carbon sequestration impacts on global climate change and food security. **Science**, v. 304, p. 1623-1627, 2004b.

LAL, R. Agricultural activities and the global carbon cycle. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 70, p. 103-116, 2004c.

LAL, R. No-till farming and environment quality. In: SIMPÓSIO SOBRE PLANTIO DIRETO E MEIO AMBIENTE – SEQÜESTRO DE CARBONO E QUALIDADE DA ÁGUA, 1., 2005, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: Federação Brasileira de Plantio Direto na Palha, 2005. p. 29-37.

LA SCALA JUNIOR, N.; BOLONHEZI, D.; PEREIRA, G. T. Short-term soil CO₂ emission after conventional and reduced tillage of a no-till sugar cane area in southern Brazil. **Soil & Tillage Research**, v. 91, p. 244-248, 2006.

LEIFELD, J.; KOGEL-KNABNER, I. Soil organic matter fractions as early indicators for carbon stock changes under different land use? **Geoderma**, v. 124, p. 143-155, 2005.

- LORENZ, K.; LAL, R. The depth distribution of soil organic carbon in relation to land use and management and the potential of carbon sequestration in subsoil horizons. **Advances in Agronomy**, v. 88, p. 35-66, 2005.
- LOVATO, T.; MIELNICZUK, J.; BAYER, C.; VEZZANI, F. Adição de carbono e nitrogênio e sua relação com os estoques no solo e com o rendimento do milho em sistemas de manejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, p. 175-187, 2004.
- MacCARTHY, P. The principles of humic substances. **Soil Science**, v. 166, n. 11, p. 738-751, 2001.
- MACHADO, P. L. O. A.; SILVA, C. A. Soil management under no-tillage systems in the tropics with special reference to Brazil. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 61, p. 119-130, 2001.
- MACHADO, P. L. O. A. **Mecanismos de Desenvolvimento Limpo (MDL): funcionamento, pontos críticos e possibilidades para alguns sistemas agrícolas no Brasil**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2002. 28 p. (Embrapa Solos Documentos, 41).
- MACHADO, P. L. O. A. Carbono no solo e a mitigação da mudança climática global. **Química Nova**, v. 28, n. 2, p. 329-334, 2005.
- MAGNANI, F.; MENCUCCINI, M.; BORGHETTI, M.; BERBIGIER, P.; BERNINGER, F.; DELZON, S.; GRELE, A.; PERTTI, H.; JARVIS, P. G.; KOLARI, P.; KOWALSKI, A. S.; LANKREIJER, H.; LAW, B. E.; LINDROTH, A.; LOUSTAU, D.; MANCA, G.; MONCRIEFF, J. B.; RAYMENT, M.; TEDESCHI, V.; VALENTINI, R.; GRACE, J. The human footprint in the carbon cycle of temperate and boreal forests. **Nature**, v. 447, p. 848-850, 2007.
- MARTIN-NETO, L.; NASCIMENTO, O. R.; TALAMONI, J.; POPPI, N. R. EPR of micronutrients-humic substances complexes extracted from brazilian soil. **Soil Science**, v. 151, p. 369-376, 1991.
- MARTIN-NETO, L.; ANDRIULO, A. E.; TRAGUETTA, D. Effects of cultivation on ESR spectra of organic matter from soil size fractions of a mollisol. **Soil Science**, v. 157, p. 365-372, 1994a.
- MARTIN-NETO, L.; VIEIRA, E.; SPOSITO, G. Mechanism of atrazine sorption by humic acid: a spectroscopic study. **Environmental Science and Technology**, v. 28, p. 1867-1873, 1994b.
- MARTIN-NETO, L.; ROSSEL, R.; SPOSITO, G. Correlation of spectroscopic indicators of humification with mean annual rainfall along a temperate grassland climosequence. **Geoderma**, v. 81, p. 305-311, 1998.
- McPHIE, P. Enzyme Purification and Related Techniques: dialysis. In: JACOBY, W. B. (Ed.). **Methods in Enzymology**. New York: Academic Press, 1971. v. 22, p. 25-175.
- MILORI, D. M. B. P.; MARTIN-NETO, L.; BAYER, C.; MIELNICZUK, J.; BAGNATO, V. S. Humification degree of soil humic acid determined by fluorescence spectroscopy. **Soil Science**, v. 167, p. 739-749, 2002.

- MILORI, D. M. P. B.; GALETI, H. V. A.; MARTIN-NETO, L.; DIEKOW, J.; GONZÁLEZ-PERÉZ, M.; BAYER, C.; SALTON, J. Organic matter study of whole soil samples using laser-induced fluorescence spectroscopy. **Soil Science Society of America Journal**, v. 70, p. 57-63, 2006.
- MIYAZAWA, M.; PAVAN, M. A.; OLIVEIRA, E. L.; IONASHIRO, M.; SILVA, A. K. Gravimetric determination of soil organic matter. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 43, n. 5, p. 475-478, 2000.
- NEVES, C. M. N.; SILVA, M. L. N.; CURI, N.; MACEDO, R. L. G.; TOKURA, A. M. Estoque de carbono em sistemas agrossilvopastoril, pastagem e eucalipto sob cultivo convencional na região noroeste do estado de Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, n. 5, p. 1038-1046, 2004.
- NICOLOSO, Rogério da Silveira. **Dinâmica da matéria orgânica do solo em áreas de integração lavoura-pecuária sob sistema plantio direto**. 2005. 149 f. Dissertação (Mestrado) – Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós Graduação em Ciências do Solo, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2005.
- NOVOTNY, Etelvino. H. **Estudos espectroscópicos e cromatográficos de substâncias húmicas de solos sob diferentes sistemas de preparo**. 2002. 231 f. Tese (Doutorado em Físico Química) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2002.
- NOVOTNY, E. H.; MARTIN-NETO, L. Effects of humidity and metal ions on the free radicals analysis of peat humus. **Geoderma**, v. 106, p. 305-317, 2002.
- OLIVEIRA, O. C. de; OLIVEIRA, I. P. de; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R. M. Chemical and biological indicators of decline/degradation of *Brachiaria* pastures in the Brazilian Cerrado. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 103, p. 289-300, 2004.
- PICCOLO, A.; NARDI, S.; CONCHERI, G. Micelle-Like conformation of humic substances as revealed by size exclusion chromatography. **Chemosphere**, v. 33, p. 595, 1996a.
- PICCOLO, A., NARDI, S., CONCHERI, G. Macromolecular changes of humic substances induced by interaction with organic acids. **European Journal of Soil Science**, v. 47, p. 319-328, 1996b.
- PICCOLO, A.; CONTE, P. Molecular Size of Humic Substances. Supramolecular Associations Versus Macromolecular Polymers. **Advances in Environmental Research**, v. 3, p. 508-521, 2000.
- PICCOLO, A. The supramolecular structure of humic substances. **Soil Science**, v. 166, p. 810-832, 2001.
- PILLON, C. N.; MIELNICZUK, J.; LOVATO, T.; MARTIN-NETO, L. Seqüestro de carbono por sistemas de manejo do solo e seus reflexos sobre o efeito estufa. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS, 4., 2001. Viçosa. **Anais...** Viçosa: UFV, Departamento de Solos, 2001. p. 20-22.

- POIRIER, N.; SOHI, S. P.; GAUNT, J. L.; MAHIEU, N.; RANDALL, E. W.; POWLSON, D. S.; EVERSLED, R. P. The chemical composition of measurable soil organic matter pools. **Organic Geochemistry**, v. 36, p. 1174-1189, 2005.
- POLAK, J.; SULKOWSKI, W. W.; BARTOSZEK, M.; PAPIEZ, W. Spectroscopic studies of the progress of humification processes in humic acid extracted from sewage sludge. **Journal of Molecular Structure**, v. 744-747, p. 983-989, 2005.
- POOLE, C. P.; FARACH, H. A. **Theory of magnetic resonance**. New York: Wiley-Interscience. 1972. 452 p.
- PRIMAVESI, O.; PRIMAVESI, A. C.; CORREA, L. A.; ARMELIN, M. J. A.; FREITAS, A. R. F. **Calagem em pastagem de *Brachiaria decumbens* recuperada com adubação nitrogenada em cobertura**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2004. 32p. (Embrapa Pecuária Sudeste Circular Técnica, 37).
- PUGET, P.; LAL, R. Soil organic carbon and nitrogen in a Mollisol in central Ohio as affected by tillage and land use. **Soil & Tillage Research**, v. 80, p. 201-213, 2005.
- REEVES, D. W. The role of soil organic matter in maintaining soil quality in continuous cropping systems. **Soil and Tillage Research**, v. 43, p. 131-167, 1997.
- REICOSKY, D. C.; KEMPER, W. D.; LANGDALE, G. W.; DOUGLAS, C. L.; RASMUNSSON, P. E. Soil organic matter changes resulting from tillage and biomass production. **Journal of Soil and Water Conservation**, v. 50, p. 253-261, 1995.
- RESCK D. V. S. O potencial de seqüestro de C em sistemas de produção de grãos sob plantio direto no cerrado. In: SIMPÓSIO SOBRE PLANTIO DIRETO E MEIO AMBIENTE – SEQÜESTRO DE CARBONO E QUALIDADE DA ÁGUA, 1., 2005, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: Federação Brasileira de Plantio Direto na Palha, 2005. p. 72-80.
- REZENDE, C. P.; CANTARUTTI, R. B.; BRAGA, J. M.; GOMIDE, J. A.; PEREIRA, J. M.; FERREIRA, E.; TARRÉ, R. M.; MACEDO, R. O.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S.; CADISH, G.; GILLER, K.; BODDEY, R. M. Litter deposition and disappearance in *Brachiaria* pastures in the Atlantic forest region of the South of Bahia, Brazil. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 54, p. 99-112, 1999.
- RIFFALDI, R.; SCHNITZER, M. Electron spin resonance spectrometry of humic substances. **Soil Science Society of America Proceeding**, v. 36, p. 301-305, 1972.
- ROCHA, J. C.; ROSA, A. H. **Substâncias húmicas aquáticas: interação com espécies metálicas**. São Paulo: Unesp, 2003. 120 p.
- ROSA, A. H.; SIMÕES, M. L.; OLIVEIRA, L. C.; ROCHA, J. C.; MARTIN-NETO, L.; MILORI, D. M. B. P. Multimethod study of the degree of humification of humic substances extracted from different tropical soil profiles in Brazil's Amazonian region. **Geoderma**, v. 127, p. 1-10, 2005.
- ROSCOE, R.; BUURMAN, P. Tillage effects on soil organic matter in density fractions of a Cerrado Oxisol. **Soil & Tillage Research**, v. 70, p. 107-119, 2003.

ROSCOE, R.; MERCANTE, F. M.; SALTON, J. C. **Dinâmica da matéria orgânica do solo em sistemas conservacionistas**: modelagem matemática e métodos auxiliares. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2006. 304 p.

SÁ, J. C. M.; CERRI, C. C.; LAL, R.; DICK, W. A.; VENZKE FILHO, S. P.; PICCOLO, M. C.; FEIGL, B. E. Organic matter dynamics and carbon sequestration rates for a tillage chronosequence in a Brazilian Oxisol. **Soil Science Society of America Journal**, v. 65, p. 1486-1499, 2001a.

SÁ, J. C. M.; CERRI, C. C.; DICK, W. A.; LAL, R.; VENSKE FILHO, S. P.; PICCOLO, M. C.; FEIGL, B. E. Carbon sequestration in a plowed and no-tillage chronosequence in a brazilian oxisol. In: STOTT, D. E.; MOHTAR, R.; STEINHARDT, G. (Eds.). **The global farm**: selected papers from the 10th International Soil Conservation Organization Meeting. USDA-ARS National Soil Erosion Research Laboratory, Maio, 24-29, 1999. West Lafayette, Indiana, USA: Purdue University. pp. 466-471. Disponível em: <<http://topsoil.nserl.purdue.edu/nserlweb/isco99/pdf/iscodisc/sustainingtheglobalfarm/p031-sa.pdf>>. Acesso em: 5 jan. 2007. 2001b.

SÁ, J. C. M.; CERRI, C. C.; PICCOLO, M. C.; FEIGL, B. E.; BUCKNER, J.; FORNARI, A.; SÁ, M. F.; SEGUY, L.; BOUZINAC, S.; VENZKE-FILHO, S. P.; PAULETTI, V.; NETO, M. S. O plantio direto como base do sistema de produção visando o seqüestro de C. **Revista Plantio Direto**, v. 84, p. 45-61, 2004.

SÁ, J. C. M.; CERRI, C. C.; PICCOLO, M. C.; FEIGL, B. E.; BUCKNER, J. FORNARI, A.; SÁ, M. F. M.; SEGUY, L.; BOUZINAC, S.; VENZKE-FILHO, S. P.; PAULETTI, V. Ciclo do Carbono e Efeito Estufa In: SIMPÓSIO SOBRE PLANTIO DIRETO E MEIO AMBIENTE – SEQÜESTRO DE CARBONO E QUALIDADE DA ÁGUA, 1., 2005, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: Federação Brasileira de Plantio Direto na Palha, 2005. p. 81-89.

SCARPELLINI, J. R.; BOLONHEZI, D. O aquecimento global e a agricultura em São Paulo, 2007. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <http://www.infobibos.com/artigos/2007_2/aquecimentoglobal/index.htm> Acesso em: 26 jun. 2007.

SCHAUMANN, G. E. Soil organic matter beyond molecular structure Part I: macromolecular and supramolecular characteristics. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 169, p. 145-156, 2006.

SCHULTEN, H. R.; SCHNITZER, M. A state of the art structural concept for humic substances. **Naturwissenschaften**, v. 80, p. 29-30, 1993.

SCHULTEN, H. R.; SCHNITZER, M. Chemical model structures for soil organic matter and soils. **Soil Science**, v. 162, p. 115-130, 1997.

SEGNINI, A.; PRIMAVESI, O.; MILORI, D. M. B. P.; SIMÕES, M. L.; LOPES da SILVA, W. T.; MARTIN-NETO, L. Soil carbon sequestration in *Brachiaria decumbens* pastureland in tropical area. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, 2007. Submetido No Prelo.

SEGNINI, A.; SANTOS, L. M.; LOPES da SILVA, W. T.; BORATO, C. E.; MELO, W. J.; BOLONHEZI, D.; MARTIN-NETO, L. Estudo comparativo de métodos para a determinação da concentração de carbono em solos com altos teores de Fe (Latosolos). **Química Nova**, v. 31, p. 94-97, 2008.

SENESI, N.; SCHNITZER, M. Effects of pH, reaction time, chemical reduction and irradiation on ESR spectra of fulvic acid. **Soil Science**, v. 123, p. 224-234, 1977.

SENESI, N. Molecular and quantitative aspects of the chemistry of fulvic acid and its interaction with metal ions and organic chemicals, Part I. The electron spin resonance approach. **Analytica Chimica Acta**, v. 232, p. 51-75, 1990a.

SENESI, N. Molecular and quantitative aspects of the chemistry of fulvic acid and its interaction with metal ions and organic chemicals, Part II. The fluorescence spectroscopy approach. **Analytica Chimica Acta**, v. 232, p. 77-106. 1990b.

SENESI, N.; MIANO, T. M.; PROVENZANO, M. R.; BRUNETTI, G. Characterization, differentiation and classification of humic substances by fluorescence spectroscopy. **Soil Science**, v. 152, p. 259-271, 1991.

SENESI, N.; D'ORAZIO, V.; RICCA, G. Humic acids in the first generation of EUROSOLS. **Geoderma**, v. 116, p. 325-344, 2003.

SENESI, N.; PLAZA, C.; BRUNETTI, G.; PÓLO, A. A comparative survey of recent results on humic-like fractions in organic amendments and effects on native soil humic substances. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 39, p. 1244-1262, 2007.

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**, v. 18, p. 541-547, 1994.

SILVA, L. M. V.; PASQUAL, A. Dinâmica e modelagem da matéria orgânica do solo com ênfase ao ecossistema tropical. **Energia na Agricultura**, v. 14, n. 3, p. 13-24, 1999.

SILVA, A. C.; TORRADO, P. V.; ABREU JÚNIOR, J. S. Métodos de quantificação da matéria orgânica do solo. **Revista da Universidade de Alfenas**, v. 5, p. 21-26, 1999.

SILVA, J. E.; RESCK, D. V. S.; CORAZZA, E. J.; VIVALDI, L. Carbon storage in clayey oxisol cultivated pastures in the "Cerrado" region, Brazil. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 103, p. 357-363, 2004.

SIMPSON, A. J. Determining the molecular weight, aggregation, structures and interactions of natural organic matter using diffusion ordered spectroscopy. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 40, p. S72-S80, 2002a.

SIMPSON, A. J.; KINGERY, W. L.; SWAW, D. R.; SPRAUL, M.; HUMPFER, E.; DVORTSAK, P. Molecular structures and associations of humic substances in the terrestrial environment. **Naturwissenschaften**, v. 89, p. 84-88, 2002b.

SINGER, L. S. Synthetic ruby as a secondary standard for the measurement of intensities in electron paramagnetic resonance. **Journal Applied Physiology**, v. 30, p. 1463-1464, 1959.

SISTI, C. P. J.; SANTOS, H. P. dos; KOHHANN, R.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R. M. Change in carbon and nitrogen stocks in soil under 13 years of conventional or zero tillage in southern Brazil. **Soil & Tillage Research**, v. 76, p. 39-58, 2004.

SIX, J.; FREY, S. D.; THIET, R. K.; BATTEN, K. M. Bacterial and fungal contributions to carbon sequestration in agroecosystems. **Soil Science Society of America Journal**, v. 70, p. 555-569, 2006.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Análise Instrumental**. Porto Alegre: Bookman, 2002. 836 p.

SOLLINS, P.; HOMANN, P.; CALDWELL, B. A. Stabilization and destabilization of soil organic matter: Mechanisms and controls. **Geoderma**, v. 74, p. 65-105, 1996.

STEVENSON, F. J. **Humus Chemistry: genesis, composition, reactions**. New York: Wiley, 1994. 496 p.

SUTTON, R.; SPOSITO, G. Molecular Structure in Soil Humic Substances: The New View. **Environmental Science and Technology**, v. 39, n. 23, p. 9009-9015, 2005.

SWIFT, R. S. Molecular weight, size, shape, and charge characteristics of humic substances: Some basic considerations. In: HAYES, M. H. B.; MacCARTHY, P.; MALCOLM, R. L.; SWIFT, R. S. (Eds.) **Humic substances II: in search of structure**. New York: John Wiley, 1989. p. 449-466.

SWIFT, R.S. Organic Matter Characterization. In: SPARKS, D. L.; PAGE, A. L.; HELMKE, P. A.; LOEPPERT, R. H.; SOLTANPOUR, P. N.; TABATABAI, M. A.; JOHNSTON, C. T.; SUMNER, M. E. (Eds.) **Methods of Soil Analysis**. Madison: Soil Science Society of America / American Society of Agronomy, 1996. p. 1011-1020.

TANNER, C. B.; JACKSON, M. L. Nomographs of sedimentation times for soil particles under gravity or centrifugal acceleration. **Soil Science Society Proceedings**, p. 60-65, 1947.

TARRÉ, R.; MACEDO, R.; CANTARUTTI, R. B.; REZENDE, C. de P.; PEREIRA, J. M.; FERREIRA, E.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R. M. The effect of the presence of a forage legume on nitrogen and carbon levels in soils under *Brachiaria* pastures in the Atlantic forest region of the South of Bahia, Brazil. **Plant and Soil**, v. 234, p. 15-26, 2001.

VAN SOEST, P. J. Environment and forage. In: VAN SOEST, P.J. (Ed.). **Nutritional ecology of the ruminant**. Oregon: O&B Books, 1982. pp. 58-74.

ZECH, W.; SENESI, N.; GUGGENBERGER, G.; KAISER, K.; LECHMANN, J.; MIANO, T.M.; MILTNER, A.; SCHROTH, G. Factors controlling humification and mineralization of soil organic matter in the tropics. **Geoderma**, v. 79, p. 117-161, 1997.

ZSOLNAY, Y. A.; BAIGAR, E.; JIMENEZ, M.; STEINWEG, B.; SACCOMANDI, F. Differentiating with fluorescence spectroscopy the sources of dissolved organic matter in soils subjected to drying. **Chemosphere**, v. 38, p. 45-50, 1999.

WALKEY, A.; BLACK, I. A. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. **Soil Science**, v. 37, p. 29-38, 1934.

WATANABE, A.; McPHAIL, D. B.; MAIE, N.; KAWASAKI, S.; ANDERSON, H. A.; CHESHIRE, M. V. Electron spin resonance characteristics of humic acids from a wide range of soil types. **Organic Geochemistry**, v. 36, p. 981-990, 2005.

WEIL, J. A.; BOLTON, J. R. **Electron paramagnetic resonance: elementary theory and practical applications**. New York: Willey, 1994. 568 p.

WERSHAW, R. L. A new model for humic materials and their interactions with hydrophobic organic chemicals in soil-water or sediment-water systems. **Journal of Contaminant Hydrology**, v. 1, p. 29-45, 1986.

WERSHAW, R. L. Model for humus in soils and sediments. **Environmental Science and Technology**, v. 27, p. 814-816, 1993.