

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS

**COMPOSTOS ORGÂNICOS DE ORIGEM  
AGROINDUSTRIAL E URBANA APLICADOS À PRODUÇÃO  
VEGETAL E FERTILIDADE DO SOLO**

Lívia Botacini Favoretto Pigatin

Dissertação apresentada ao Instituto de  
Química de São Carlos, da  
Universidade de São Paulo para  
obtenção do título de Mestre em  
Química (Química Analítica).

Orientador: Dr. Ladislau Martin Neto

São Carlos  
2011

Este exemplar foi revisado e alterado em relação à versão original, sob a exclusiva responsabilidade do autor.

São Carlos, 15/04/2011

*Livia Botacini Favoretto Pigatin*

---

Livia Botacini Favoretto Pigatin

À Deus  
pela inspiração, força e sabedoria.

## **OFEREÇO**

Aos meus pais Reinaldo e Goreti,  
meus exemplos de vida, de caráter e determinação.  
Meus verdadeiros anjos da guarda.

## **DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Ladislau Martin Neto pela orientação, incentivo, confiança, amizade e preocupação com o meu bem estar durante a realização deste trabalho. Meus sinceros agradecimentos.

Ao Dr. Wilson Tadeu Lopes da Silva e ao Dr. Marcelo Luiz Simões, pelo exemplo de profissional, seriedade, respeito e dedicação e pela valiosa colaboração na realização deste trabalho.

Ao Dr. Aurélio Vinicius Borsato, da Embrapa Pantanal, pelo grande auxílio na montagem e condução dos experimentos e pelo seu atencioso acompanhamento durante todo o trabalho.

Ao Renê e ao Dr. Adonai Gimenez Calbo por sua valiosa e prestativa ajuda na montagem do sistema de irrigação do experimento e principalmente pela criatividade tecnológica.

Ao Dr. Adônis Moreira e a Dra. Débora M. B. P. Milori pela colaboração.

Aos secretários, bibliotecárias, telefonistas, estagiários, técnicos, pesquisadores, etc., a todos os colegas da Embrapa, sempre atenciosos e prestativos.

Aos colegas e amigos de trabalho, Lilian, Tânia, Larissa, Aline, Úrsula, Fernanda, Kelly, Humberto, Cleber, Matheus Martins e Matheus Postigo, Bruno, Gabi, Poliana, Lucimar, Joana, meus agradecimentos pela agradável convivência e amizade.

Aos meus pais, pelas sábias palavras e pelos incansáveis conselhos em todos os momentos.

Ao meu marido Paulo, pelo amor, cumplicidade e total apoio durante todos esses anos.

Ao meu irmão André e toda minha família pelo apoio e carinho.

Aos meus amigos de faculdade e de infância, Danianne (Danão), Dani Semedo, Saionara, Lívia (Livinha), Tatiana (Tatão), Polyana, Giovana, Ayla, Fernanda, Taís, Ana Lívia, Flaísa, Marina, meus agradecimentos pelo incentivo e amizade.

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

Ao CNPq pelo apoio financeiro do projeto e pela bolsa de estudos concedida.

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

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

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS</b>	<b>i</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b>	<b>iv</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS</b>	<b>v</b>
<b>RESUMO</b>	<b>vii</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>viii</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
OBJETIVOS	2
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>4</b>
2.1 RESÍDUOS ORGÂNICOS	4
2.1.1 Compostagem	8
2.1.2 Adubação orgânica e o solo	10
2.1.2.1 Latossolos	10
2.1.2.2 Efeito do adubo orgânico nas propriedades químicas, físicas e biológicas do solo	11
2.2 MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO	12
2.2.1 Importância da matéria orgânica para o solo	13
2.2.2 Substâncias húmicas	13
2.2.3 Caracterização da matéria orgânica	21
2.2.3.1 Métodos químicos	22
2.2.3.1.1 Determinação da composição elementar (CHNS)	22
2.2.3.2 Métodos espectroscópicos	23
2.2.3.2.1 Espectroscopia na região do Infravermelho Médio com Transformada do Fourier (FTIR)	23
2.2.3.2.2 Fluorescência	28
2.2.3.2.3 Fluorescência Induzida por Laser (FIL)	34
2.2.3.2.4 Espectroscopia na região do Infravermelho Próximo (NIRS)	36
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>39</b>
3.1 MONTAGEM DO EXPERIMENTO EM CASA DE VEGETAÇÃO	39
3.1.1 Classificação do solo	39
3.1.2 Correção da acidez do solo	40
3.1.3 Semeadura	41
3.1.4 Tratamentos	42
3.1.4.1 Características gerais dos compostos orgânicos aplicados	44
3.2 AMOSTRAGENS	44
3.2.1 Parte aérea das plantas	45
3.2.2 Solo	45
3.3 DETERMINAÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL DAS PLANTAS	46
3.3.1 Diagnóstico do estado nutricional pelo método visual	46
3.3.2 Teor de macro e micronutrientes, Altura, MSF e MSC	47
3.4 ANÁLISE DE ROTINA DO SOLO	48
3.5 PREPARO DAS AMOSTRAS DE SOLO PARA A EXTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS	49
3.6 EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO Das SUBSTÂNCIAS HÚMICAS	51
3.7 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA	51
3.7.1 Métodos químicos	51
3.7.1.1 Determinação de carbono elementar	51
3.7.2 Métodos espectroscópicos	51
3.7.2.1 Solos inteiros	51
3.7.2.1.1 Fluorescência Induzida por Laser (FIL)	51

3.7.2.1.2	Espectroscopia na região do Infravermelho Próximo (NIRS)	52
3.7.2.2	Ácidos Húmicos	52
3.7.2.2.1	Espectroscopia na região do Infravermelho Médio com Transformada de Fourier (FTIR)	52
3.7.2.2.2	Fluorescência	53
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES</b>	54
4.1	DETERMINAÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL DAS PLANTAS	54
4.1.1	Diagnóstico do estado nutricional pelo método visual	54
4.1.2	Teor de macro e micronutrientes, altura, MSF e MSC	56
4.1.2.1	Teor de macro e micronutrientes	56
4.1.2.2	Altura, Massa Seca das Folhas (MSF) e Massa Seca do Caule (MSC)	59
4.2	TEOR DE MACRO E MICRONUTRIENTES DO SOLO, CAPACIDADE DE TROCA DE CÁTIONS E SATURAÇÃO DE BASES	63
4.3	CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA	68
4.3.1	Solo	68
4.3.1.1	Teor de carbono	68
4.3.1.2	Fluorescência Induzida por Laser (FIL)	70
4.3.1.3	Espectroscopia na região do Infravermelho Próximo (NIRS)	72
4.3.2	Ácidos húmicos	77
4.3.2.1	Espectroscopia na região do Infravermelho Médio com Transformada de Fourier (FTIR)	77
4.3.2.2	Fluorescência	83
4.3.2.2.1	Espectros de emissão	84
4.3.2.2.2	Espectros de varredura sincronizada	89
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	92
<b>6</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	94

## LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 - Modelo macromolecular de ácido húmico mostrando os diversos grupos funcionais, estruturas aromáticas e alifáticas adaptado por Schulten & Schnitzer (1993).	17
Figura 2.2 - Modelo conceitual proposto pela teoria macromolecular: ácido húmico 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 substâncias húmicas capazes de interagir com outros compostos.	18
Figura 2.3 - Esquema das substâncias húmicas 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.	20
Figura 2.4 - Vibrações típicas de átomos. Os sinais + e – significam vibrações perpendiculares ao plano do papel (Stuart, 1996).	25
Figura 2.5 - Transição eletrônica fluorescência molecular.	29
Figura 2.6 - Espectro de emissão de fluorescência de AH extraídos de solo tratado com lodo de esgoto, obtido segundo metodologia de Zsolnay et al. (1999). Comprimento de onda de excitação $\lambda_{exc} = 240$ nm (Narimoto, 2006).	32
Figura 2.7 - Espectro de emissão de fluorescência de AH extraídos de solo tratado com lodo de esgoto, obtido segundo metodologia de Milori et al. (2002). Comprimento de onda de excitação $\lambda_{exc} = 465$ nm (Narimoto, 2006).	33
Figura 2.8 - Espectro de varredura sincronizada de AH extraídos de solo tratado com lodo de esgoto, obtido segundo metodologia de Kalbitz et al. (2000). $\Delta\lambda = 55$ nm (Narimoto, 2006).	34
Figura 2.9 - Sistema de FIL portátil com excitação em 405 nm (direita): 1 – chave de energia laser; 2 – caixa de controle laser; 3 – saída para o cabo óptico; 4 – ponta emissora/coletora do cabo óptico.	36
Figura 2.10 - Espectro de NIRS de solos afetados por diferentes ocorrências de fogo. Traduzida de: Vergnoux et al., 2009.	37
Figura 3.1 - Casa de vegetação com umidade controlada, pertencente à Embrapa Pecuária Sudeste.	39
Figura 3.2 - Sistema de irrigação implementado.	40
Figura 3.3 - Sementes de <i>Ocimum Selloi</i> Benth.	41
Figura 3.4 - Mudas de <i>Ocimum Selloi</i> Benth.	41
Figura 3.5 - Compostos orgânicos agrícolas antes e após o processo de moagem. L1: composto de poda de árvores, L2: composto de poda de árvores + esterco bovino, L3: composto de poda de árvores + bagaço de laranja, L4: composto de poda de árvores + torta de filtro.	43
Figura 3.6 - Amostragem do tecido vegetal da <i>Ocimum Selloi</i> Benth e secagem em estufa com circulação de ar forçada.	45
Figura 3.7 - Amostragem do solo dos 42 vasos.	45
Figura 3.8 - Esquema simplificado de extração e purificação das substâncias húmicas do solo.	49

Figura 4.1 - Plantas ( <i>Ocimum Selloi</i> Benth) com 1 mês após transplantes aos vasos, referentes aos tratamento L1 (apresenta amarelecimento das folhas) e L2 (aparentemente saudável), em dosagem máxima (30 ton ha <sup>-1</sup> ). L1: adubação com composto de poda de árvores e L2: adubação com composto de poda de árvores + esterco bovino.	55
Figura 4.2 - Análise da Componente Principal: gráficos de <i>scores</i> (a) e <i>loadings</i> (b) para os dados da matriz, com 42 amostras e 9 variáveis.	58
Figura 4.3 - Plantas submetidas aos tratamentos L2 nas dosagens 5, 15 e 30 ton ha <sup>-1</sup> . TEST: solo referência sem adubação orgânica ou mineral, L1: adubação com composto de poda de árvores e L2: adubação com composto de poda de árvores + esterco bovino. *A etiqueta vermelha corresponde a 1,0 x 1,0 cm.	60
Figura 4.4 - Plantas submetidas aos tratamentos L2 (adubação com composto de poda de árvore + esterco bovino) nas dosagens 5, 15 e 30 ton ha <sup>-1</sup> . *A etiqueta vermelha corresponde a 1,0 x 1,0 cm.	60
Figura 4.5 - Crescimento da <i>Ocimum Selloi</i> Benth, submetida aos diferentes tratamentos, em altura.	61
Figura 4.6 - Massa seca das folhas de <i>Ocimum Selloi</i> Benth, submetida aos diferentes tratamentos.	62
Figura 4.7 - Massa seca dos caules de <i>Ocimum Selloi</i> Benth, submetida aos diferentes tratamentos.	63
Figura 4.8 - Análise da Componente Principal: gráficos de <i>scores</i> (a) e <i>loadings</i> (b) para os dados da matriz, com 42 amostras e 9 variáveis.	65
Figura 4.9 - Análise da Componente Principal: gráficos de <i>scores</i> (a) e <i>loadings</i> (b) para os dados da matriz, com 42 amostras e 2 variáveis.	67
Figura 4.10 - Gráficos de valores de teor de carbono de amostras de solo submetido aos diferentes tipos de tratamentos. TEST: testemunha (sem adubação orgânica/mineral), MIN: adubação mineral (NPK), L1: adubação com composto de poda de árvores, L2: adubação com composto de poda de árvores + esterco bovino, L3: adubação com composto de poda de árvores + bagaço de laranja, L4: adubação com composto de poda de árvores + torta de filtro. As doses 5, 15 e 30 ton ha <sup>-1</sup> (0,5; 1,5 e 3,0 % v/v) são representadas respectivamente pelos números 5,15 e 30.	69
Figura 4.11 - Valores de H <sub>FIL</sub> referentes às amostras de solo submetido aos diferentes tipos de tratamentos. TEST: testemunha (sem adubação orgânica/mineral), MIN: adubação mineral (NPK), L1: adubação com composto de poda de árvores, L2: adubação com composto de poda de árvores + esterco bovino, L3: adubação com composto de poda de árvores + bagaço de laranja, L4: adubação com composto de poda de árvores + torta de filtro. As doses 5, 15 e 30 ton ha <sup>-1</sup> são representadas respectivamente pelos números 5,15 e 30.	71
Figura 4.12 - Espectros de absorvância em infravermelho próximo dos solos sem adubação (TEST), com adubação mineral (MINERAL), com aplicação do composto L1 nas dosagens, 5, 15 e 30 ton ha <sup>-1</sup> (L1-5, L1-15 e L1-30 respectivamente).	72
Figura 4.13 - Espectros de NIRS centrados na média (a) e gráfico de <i>scores</i> (b) para os dados da matriz, com 42 amostras.	74
Figura 4.14 - Espectros de NIRS centrados na média (a) e gráfico de <i>scores</i> (b) para os dados da matriz, com 42 amostras. Apenas as áreas selecionados em branco no espectros foram consideradas na PCA (exclusão das demais áreas mais ruidosas).	75
Figura 4.15 - Espectros de NIRS centrados na média (a), gráficos de <i>scores</i> (b) e <i>loadings</i> (c) para os dados da matriz, com 42 amostras. Apenas as áreas selecionados em branco no espectros foram consideradas na PCA (áreas de maior peso estatístico).	76
Figura 4.16 - Espectros de FTIR de ácidos húmicos extraídos dos solos sem adubação (TEST), com adubação mineral (MINERAL), com aplicação do composto L1 nas dosagens, 5, 15 e 30 ton ha <sup>-1</sup> (L1-5, L1-15 e L1-30 respectivamente).	78



Figura 4.17 - Espectros de FTIR de ácidos húmicos extraídos dos solos sem adubação (TEST), com adubação mineral (MINERAL), com aplicação do composto L2 nas dosagens, 5, 15 e 30 ton ha <sup>-1</sup> (L2-5, L2-15 e L2-30 respectivamente).	79
Figura 4.18 - Espectros de FTIR de ácidos húmicos extraídos dos solos sem adubação (TEST), com adubação mineral (MINERAL), com aplicação do composto L3 nas dosagens, 5, 15 e 30 ton ha <sup>-1</sup> (L3-5, L3-15 e L3-30 respectivamente).	80
Figura 4.19 - Espectros de FTIR de ácidos húmicos extraídos dos solos sem adubação (TEST), com adubação mineral (MINERAL), com aplicação do composto L4 nas dosagens, 5, 15 e 30 ton ha <sup>-1</sup> (L4-5, L4-15 e L4-30 respectivamente).	81
Figura 4.20 - Espectros de emissão de fluorescência ( $\lambda_{exc} = 465$ nm) de ácidos húmicos extraídos do (a) solo submetido ao tratamento L1 nas dosagens 5, 15 e 30 ton ha <sup>-1</sup> , solo sem adubação (testemunha) e solo com adubação mineral (b) solo submetido ao tratamento L2 nas dosagens 5, 15 e 30 ton ha <sup>-1</sup> , solo sem adubação (testemunha) e solo com adubação mineral .	84
Figura 4.21 - Índice de humificação, $A_{465}$ , obtido segundo a metodologia sugerida por Milori et al. (2002) de ácidos húmicos extraídos do (a) solo submetido ao tratamento L1 nas dosagens 5, 15 e 30 ton ha <sup>-1</sup> , solo sem adubação (testemunha) e solo com adubação mineral (b) solo submetido ao tratamento L2 nas dosagens 5, 15 e 30 ton ha <sup>-1</sup> , solo sem adubação (testemunha) e solo com adubação mineral.	85
Figura 4.22 - Espectros de emissão de fluorescência ( $\lambda_{exc} = 220$ nm) de ácidos húmicos extraídos do (a) solo submetido ao tratamento L1 nas dosagens 5, 15 e 30 ton ha <sup>-1</sup> , solo sem adubação (testemunha) e solo com adubação mineral (b) solo submetido ao tratamento L2 nas dosagens 5, 15 e 30 ton ha <sup>-1</sup> , solo sem adubação (testemunha) e solo com adubação mineral .	88
Figura 4.23 - Índice de humificação, $A_4/A_1$ , obtido segundo a metodologia sugerida por Zsolnay et al. (1999) de ácidos húmicos extraídos do (a) solo submetido ao tratamento L1 nas dosagens 5, 15 e 30 ton ha <sup>-1</sup> , solo sem adubação (testemunha) e solo com adubação mineral (b) solo submetido ao tratamento L2 nas dosagens 5, 15 e 30 ton ha <sup>-1</sup> , solo sem adubação (testemunha) e solo com adubação mineral.	88
Figura 4.24 - Espectros de varredura sincronizada, obtidos segundo metodologia sugerida por Kalbitz et al. (1999) de ácidos húmicos extraídos do (a) solo submetido ao tratamento L1 nas dosagens 5, 15 e 30 ton ha <sup>-1</sup> , solo sem adubação (testemunha) e solo com adubação mineral (b) solo submetido ao tratamento L2 nas dosagens 5, 15 e 30 ton ha <sup>-1</sup> , solo sem adubação (testemunha) e solo com adubação mineral .	90
Figura 4.25 - Índice de humificação, $I_{377}/I_{470}$ , obtido segundo a metodologia sugerida por Zsolnay et al. (1999) de ácidos húmicos extraídos do (a) solo submetido ao tratamento L1 nas dosagens 5, 15 e 30 ton ha <sup>-1</sup> , solo sem adubação (testemunha) e solo com adubação mineral (b) solo submetido ao tratamento L2 nas dosagens 5, 15 e 30 ton ha <sup>-1</sup> , solo sem adubação (testemunha) e solo com adubação mineral.	90
Figura 4.26 - Correlação entre as metodologias utilizadas: Milori e Kalbitz.	91

## LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 - Teor de macro e micronutrients nos compostos.	6
Tabela 2.2 - Bandas de absorção dos principais grupos funcionais no espectro no infravermelho médio ( $\text{cm}^{-1}$ ) (NIEMEYER, 1992).	27
Tabela 2.3 - Bandas de absorção das vibrações de estiramento dos principais grupos funcionais no espectro no infravermelho próximo ( $\text{cm}^{-1}$ ). Adaptada de: Workman, (1998).	38
Tabela 4.1 - Teor de macro e micronutrientes do tecido vegetal das plantas de cada vaso do experimento.	57
Tabela 4.2 - Teor de macro e micronutrientes, capacidade de troca de cátions e saturação de bases do solo sob os diferentes tratamentos.	64
Tabela 4.3 - Teor de carbono (%) das amostras de solo submetidas aos diferentes tratamentos determinados pelo método de análise elementar.	68

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACF	Área do espectro de emissão de FIL
AF	Ácido Fúlvico
AH	Ácido Húmico
COT	Valor do Carbono Orgânico Total
CTC	Capacidade de Troca de Cátions
FIL	Fluorescência Induzida por Laser
FTIR	Infravermelho com Transformada de Fourier
ICP OES	Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Indutivamente Acoplado
IHSS	Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas
IV	Infravermelho
LVAd	Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico
L1	Composto de poda de árvores
L2	Composto de poda de árvores e esterco bovino
L3	Composto de poda de árvores e bagaço de laranja
L4	Composto de poda de árvores e torta de filtro
MIN	Adubação mineral
MO	Matéria Orgânica
MOS	Matéria Orgânica do Solo
MSC	Massa Seca de Caule
MSF	Massa Seca de Folhas
NIRS	Espectroscopia na Região de Infravermelho Próximo
PCA	Principal Component Analysis
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RPE	Ressonância Paramagnética Eletrônica

SB	Saturação de Bases
SHs	Substâncias Húmicas
TEST	Testemunha (solo sem adubação orgânica ou mineral)
TFSA	Terra Fina Seca ao Ar
TOC	Total Organic Carbon
UFPR	Universidade Federal do Paraná
UV/Vis	Ultravioleta-Visível

## RESUMO

A definição mais amplamente aceita estabelece que compostagem é a decomposição controlada, exotérmica e biooxidativa de materiais de origem orgânica por microorganismos autóctones, num ambiente úmido, aquecido e aeróbio, com produção de dióxido de carbono, água, minerais e uma matéria orgânica estabilizada, definida como composto. Em função do potencial inerente aos compostos orgânicos tem-se observado sua crescente utilização na agricultura, tomando lugar dos fertilizantes minerais. Devido à disponibilidade e baixo custo na região de São Carlos-SP, os compostos a serem utilizados foram provenientes de resíduos de poda de árvores, bagaço de laranja, torta de filtro e esterco bovino. A humanidade produz uma grande quantidade de tipos de resíduos, os quais podem ser utilizados como matéria-prima no processo de compostagem. A poda de árvores é um resíduo facilmente encontrado tanto na zona rural como nas cidades, sendo geralmente descartada. Nas cidades este descarte pode se tornar um problema, na medida em que aumenta o volume de lixo produzido, sobrecarregando os depósitos ou aterros sanitários. O bagaço de laranja é o principal subproduto da indústria de processamento de citrus, correspondendo a cerca de 45% da massa total da fruta e pode se tornar um grande problema para indústria, pois se deteriora muito rápido durante a estocagem. A torta de filtro é um resíduo proveniente da indústria sucroalcooleira e é obtido do processo de clarificação do caldo de cana. O esterco bovino é um resíduo amplamente usado *in natura* como adubo orgânico, porém, o processo de compostagem torna-o mais estável e otimiza suas propriedades fertilizantes. De maneira geral, a influência dos compostos orgânicos na produção vegetal e na fertilidade do solo requer mais estudos devido à complexidade dos agroecossistemas. O objetivo desse trabalho foi avaliar a influência de diferentes compostos orgânicos nas doses selecionadas, na produção da planta medicinal *Ocimum selloi* Benth em um solo tropical arenoso (Latosolo Vermelho-Amarelo distrófico, coletado na Fazenda Canchin, na região de São Carlos-SP), em comparação com fertilizante mineral. Para observar os efeitos da adubação orgânica ou mineral foram analisados os ácidos húmicos extraídos dos solos utilizando espectroscopia na região do infravermelho próximo com transformada de Fourier, fluorescência e análise elementar. Para a análise do solo intacto utilizou-se a fluorescência induzida por laser e espectroscopia na região do infravermelho médio. Também foram realizadas análises de fertilidade do solo e do tecido vegetal, bem como análises para avaliação do desenvolvimento vegetal. A análise estatística dos dados (Análise de Componentes Principais) de fertilidade do tecido vegetal e do solo, e dos dados de NIRS, mostraram uma separação dos tratamentos em dois grupos. Foi possível verificar que o tratamento L2 foi o mais próximo do tratamento com adubação mineral, enquanto que os tratamentos L1, L3 e L4 ficaram mais próximos ao tratamento referência (sem adubação). Esses resultados são condizentes com o diagnóstico nutricional das plantas pelo método visual, além de serem similares com as análises químicas e espectroscópicas feitas por Fialho et al. (2010). Experimentos de infravermelho com transformada de Fourier forneceram espectros com bandas características de grupos alifáticos para o ácido húmico extraído do lodo, comprovando seu alto grau de alifaticidade. Dados de fluorescência utilizando diferentes metodologias e fluorescência induzida por laser, de amostras de solo intacto, apresentaram comportamento similar. É importante salientar, que de maneira geral, o tratamento L2 (adubação com composto que possui como material de partida esterco bovino e poda de árvores) é o mais similar ao fertilizante mineral, podendo trazer maiores benefícios quando aplicados ao solo em questão. De modo geral constata-se a viabilidade do uso de compostos orgânicos como alternativa ao uso de fertilizantes minerais, contudo o manejo e as implicações na nutrição de plantas e a plena produtividade das culturas ainda representa desafio importante para as pesquisas.

## ABSTRACT

The most widely accepted definition about composting is that it is a controlled exothermic and biooxidative decomposition of organic materials by autochthonous microorganisms, resulting in a wet, warm and aerobic environment, with production of carbon dioxide, water, minerals and, a stabilized organic matter, defined as compost. Due to the availability and low cost in the region of São Carlos-SP, the organic composts used came from waste of tree pruning, orange bagasse, filter cake and manure. The humanity produces a lot of kinds of residues which can be used as raw material in composting production. Pruning trees is a waste easily found in both rural and urban areas, and they are generally discarded. In the cities, this disposal may become a problem, because it increases the volume of produced waste, overloading quickly deposits or landfills. The orange peel is the main by-product of citrus industry, representing about 45% of the total weight of the fruit and it can become a major problem for industry, because it deteriorates very rapidly during storage. The filter cake is a residue from the ethanol industry and is obtained from the solid precipitate from the sugarcane juice clarification (to produce sugar or ethanol) and, the boiler ash. The bovine manure is a waste widely used *in natura* as organic fertilizer however; the composting process makes it more stable and enhances its fertilizing properties. In general, the influence of organic composts in plant production and soil fertility requires more studies due to the complexity of agroecosystems. The objective of this work was to evaluate the influence of different composts and selected doses, on the production of the medicine plant *Ocimum selloi* Benth in a tropical sandy soil (collected at Canchin Farm in the region of the city of São Carlos, São Paulo state), in comparison to mineral fertilizer. The studies showed differences between composts applied in the soil. Non-additional application of mineral fertilizers was done. The results were compared with the former ones observed by Fialho et al. (2010), using chemical and spectroscopic methods to evaluate the compost humification. Analysis of fertility of the soils under organic composts application or not, analysis of fertility of plant tissues (leaves) and analysis for evaluation of plant development were done to evaluate the performance of the tested treatments (L1, L2, L3 and L4). In order to observe the effects of the composts addition, the humic acids extracted from soils were analyzed by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), fluorescence spectroscopy and elemental analysis. To analyse the intact soil laser induced fluorescence (LIF) and near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) was used. The results obtained with Principal Component Analysis (PCA) of fertility analysis of plant tissues and soils and NIRS, showed the treatments were separated into two main clusters. It was possible to verify the treatment called L2 and were nearest to commercial treatment (mineral fertilizer) and in the L1, L3 and L4 were nearest to the reference samples. These results are consistent with the nutritional diagnosis of plants by the visual method, and are similar to the chemical and spectroscopic analysis made by Fialho et al. (2010). The results obtained by Fourier transformed infrared showed spectra with characteristic bands from aliphaticity groups for humic acid from organic composts, confirming their high aliphaticity degree. Data from fluorescence utilizing different methodologies and laser induced fluorescence, from intact soil, showed similar results. Importantly, that in general, treatment L2 is most similar to mineral fertilizer, and can bring greater benefits when applied to the soil in question. Overall it appears the feasibility of using organic composts as an alternative to the use of mineral fertilizers, but management and the implications for plant nutrition and optimum crop yield still represents an important challenge for research.

O crescimento populacional e a busca por melhoria de vida pressionam a base dos recursos naturais. Assegurar o acesso e o uso sustentável desses recursos para o bem-estar do homem constitui desafio a ser enfrentado. A redução dos desperdícios e dos impactos ambientais e o uso racional dos recursos são estratégias importantes para reverter os processos dos mesmos. Não se trata de interromper o crescimento, mas eleger um caminho que garanta o desenvolvimento integrado e participativo da sociedade. E que considere a base dos recursos naturais e seus ciclos de produção e regeneração. A agricultura orgânica trata de um sistema no qual se observa uma estreita e permanente interação entre a estratégia de manejo do solo e a busca da sustentabilidade da atividade agrícola (GOEDERT & OLIVEIRA, 2007).

A compostagem é um dos principais processos empregados como alternativa para solucionar o eminente problema do aumento acentuado da produção de resíduos sólidos. Para a fração orgânica dos resíduos, a compostagem mostra-se como uma alternativa interessante, pois tem a capacidade de reduzir em aproximadamente 50% o volume e a massa dos resíduos, além de gerar um produto estável que pode ser benéfico à agricultura (SÁNCHEZ-MONEDERO et al., 2002; CHEFETZ et al., 1996). Em função do potencial inerente aos compostos orgânicos tem-se observado sua crescente utilização na agricultura, especialmente na agricultura familiar, tomando lugar dos fertilizantes minerais nos sistemas de produção agrícola.

Todas as propriedades químicas e físicas alteradas pela aplicação do composto ao solo, propiciam o aumento da produtividade das culturas. Segundo Sánchez- Monedero et al. (2002), a aplicação de compostos mais humificados proporciona um efeito duradouro na matéria orgânica do solo.

Além de influenciar as propriedades químicas, físicas e biológicas dos solos, determinando a produção biológica dos ecossistemas, estudos demonstram que a utilização de

compostos orgânicos exerce também efeito direto sobre o crescimento e metabolismo vegetal. Todavia, de um modo geral, a influência de compostos orgânicos na produção vegetal e fertilidade do solo requer maiores cuidados devido à complexidade dos agroecossistemas. Também são raros os estudos peculiares referentes à produção de plantas medicinais, aromáticas e condimentares, de modo a obter maior rendimento, qualidade e eficácia.

A *Ocimum selloi* Benth, espécie medicinal nativa das regiões Sul e Sudeste do Brasil, é cultivada em jardins e hortas domésticas nessas regiões. A espécie é de grande interesse terapêutico e condimentar. Conhecida popularmente como elixir-paregórico nos estados da Bahia, Espírito Santo e Rio de Janeiro, como alfavaquinha ou anis em Minas Gerais e, como atroveran, em São Paulo, tem largo uso popular, como antidiarréico, antiespasmódico e antiinflamatório (COSTA, et al. 2008; LORENZI & MATOS, 2002), além de ter comprovada atividade como repelente de insetos (Paula et al., 2004). Estudos da composição química do óleo essencial vêm apresentando variações dos constituintes majoritários: metil chavicol, metil eugenol (MARTINS, 1998) e trans-anetol com metil chavicol (MORAES et al., 2002), o que comprova a existência de diferentes quimiotipos nesta espécie.

No presente estudo, a espécie *Ocimum Selloi* Benth foi cultivada em casa de vegetação, na região de São Carlos, SP, em solo arenoso, sob aplicação de três doses de quatro diferentes compostos orgânicos de origem agroindustrial e urbana produzidos em estudo anterior (FIALHO, 2007).

## **OBJETIVOS**

- Avaliar a influência da aplicação de diferentes compostos orgânicos de origem agroindustrial e urbana em solo arenoso, no desenvolvimento da espécie vegetal *Ocimum Selloi* Benth em vasos, em casa de vegetação.
- Avaliar parâmetros como disponibilidade de nutrientes no solo e a conseqüente disponibilidade desses nutrientes às plantas cultivadas (*Ocimum Selloi* Benth).



- Estudar através das técnicas espectroscópicas de: infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), Fluorescência, fluorescência induzida por laser (FIL), a dinâmica, reatividade e aspectos estruturais da matéria orgânica e seus constituintes húmicos dos solos submetidos à adição dos diferentes compostos orgânicos.

## CAPÍTULO 2

## REVISÃO DE LITERATURA

---

### 2.1 RESÍDUOS ORGÂNICOS

Os resíduos orgânicos recebem esta denominação em função das elevadas quantidade de carbono, hidrogênio e oxigênio que armazenam em suas moléculas componentes (SILVA, 2008).

Em relação à distribuição geográfica, a oferta de resíduos orgânicos ocorre em diferentes regiões do planeta. As maiores quantidades ofertadas, em geral, são notadas nos países mais industrializados, nas nações com maior população, nas áreas agrícolas com uso mais intenso de insumos. Se o uso é inadequado e se o descarte não é feito de modo correto, aumentam as chances de haver contaminação do ambiente, o que, de fato ocorre em diferentes regiões do planeta, notadamente no Brasil, onde é comum a contaminação de difentes reservas hídricas por dejetos e outras matrizes poluentes. A utilização agrônômica desses materiais se caracteriza como uma das formas adequadas de aproveitamento, uma vez que os resíduos podem ser utilizados na fabricação de adubos orgânicos, na alimentação animal, como substrato para fermentações, como cobertura do solo e como matérias-primas para a agroindústria (GLÓRIA, 1992). Existe o aproveitamento na fabricação de biofertilizantes e produtos químicos, como ácidos orgânicos, adubos nitrogenados e materiais húmicos. Podem também ser aproveitados na geração de energia e como condicionadores, visando a melhoria das características químicas (capacidade de troca de cátions (CTC), complexação de elementos tóxicos, etc), físicas (estrutura, retenção de água, densidade) e biológicas do solo (WESTEMAN & BICUDO, 2005).

Estima-se que 95% dos reservatórios de água do país já tenham sido contaminados com resíduos sólidos e efluentes, nas cidades; com fertilizantes, esterco e defensivos agrícolas, nas zonas rurais, e com efluentes de áreas de mineração contaminados com metais pesados e elementos químicos tóxicos, nas regiões mais remotas do país. Diante desse

cenário, é preciso que o uso de resíduos na agricultura seja feito seguindo critérios técnicos, para minimizar os prejuízos ambientais originados a partir da poluição desse recurso escasso, que é a água, e de outros que se mostram essenciais para produção de alimentos (SILVA, 2008).

É possível diminuir, ao longo dos anos, a aplicação de adubos minerais e melhorar a qualidade do solo, aumentando-se o uso de resíduos orgânicos nas lavouras, já que estes atuam também como condicionadores do solo. Alia-se também, a redução no consumo de matérias-primas utilizadas na fabricação de fertilizantes minerais e menor poluição de recursos naturais, o que pode representar melhoria na qualidade ambiental. Dentre os resíduos orgânicos com maior potencial de aproveitamento estão os esterco animais, os restos culturais, os resíduos de adubos verdes, entre outros (SILVA, 2008).

Os resíduos podem ser classificados em produtos de origem animal, vegetal agroindustrial e industrial. Independente dessa classificação, a origem dos resíduos está ligada ao processo de produção, ao grau de processamento e de compostagem dos materiais utilizados, etc. São estes e outros fatores ligados à origem que exercem influência sobre a composição química, e por conseguinte, sobre as doses aplicadas nas lavouras (SILVA, 2008).

Os resíduos orgânicos são geralmente utilizados na agricultura como fertilizante orgânico. Há, porém uma diferença entre resíduo orgânico e fertilizante orgânico. Os resíduos orgânicos vegetais e animais constituem excelentes fontes de matéria-prima para ser transformada em fertilizante orgânico humificado, mas ainda não podem ser considerados adubos orgânicos. Os termos fertilizante e adubo são sinônimos, podendo ser usados indistintamente. No texto da legislação brasileira foi adotado o termo fertilizante (KIEHL, 2004).

Fialho (2007), utilizou resíduos de poda de árvores, bagaço de laranja, torta de filtro (resíduo de indústria sucroalcooleira) e esterco bovino para a montagem de leiras de

compostagem, visto que na região central do estado de São Paulo tem-se alta disponibilidade destes resíduos. O bagaço de laranja é o principal subproduto da indústria de processamento de citrus, correspondendo a cerca de 45% da massa total da fruta e pode se tornar um grande problema para indústria, pois se deteriora muito rápido durante a estocagem. A torta de filtro é um resíduo proveniente da indústria sucroalcooleira e é obtido do processo de clarificação do caldo de cana. A poda de árvores é um resíduo facilmente encontrado tanto na zona rural como nas cidades, sendo geralmente descartada. Nas cidades este descarte pode se tornar um problema, na medida em que aumenta o volume de lixo produzido, sobrecarregando os depósitos ou aterros sanitários. O esterco bovino é um resíduo amplamente usado *in natura* como adubo orgânico, porém, o processo de compostagem torna-o mais estável e otimiza suas propriedades fertilizantes (FIALHO, 2007).

Os compostos orgânicos L1 (composto de poda de árvores), L2 (composto de poda de árvores + esterco bovino), L3 (composto de poda de árvores + bagaço de laranja) e L4 (composto de poda de árvores + torta de filtro) aplicados no presente estudo foram preparados por Fialho (2007).

Segundo Fialho et al. (2010), o processo de compostagem das 4 leiras foi acompanhado durante 7 meses através de métodos físico-químicos e espectroscópicos. Os teores de macro e micronutrientes nos compostos orgânicos aplicados estão descritos na (Tabela 2.1).

Tabela 2.1 - Teor de macro e micronutrientes nos compostos.

Composto	N	P	(g kg <sup>-1</sup> )			(mg kg <sup>-1</sup> )			
			K	Ca	Mg	Fe	Mn	Cu	Zn
L1	12,1	6,3	8,8	10,2	4,3	6,0	232,0	45,0	155,0
L2	27,3	8,9	8,7	12,3	4,7	2,0	110,0	15,0	63,0
L3	20,6	20,2	8,2	18,0	4,2	17,0	892,0	40,0	121,0
L4	25,8	4,9	8,8	10,4	3,9	3,0	117,0	17,0	54,0

\* Análises realizadas no Laboratório de Nutrição de Plantas do Departamento de Solos da Universidade Federal do Paraná (UFPR).

É notável a diferença entre os compostos. A disponibilidade de macro/micronutrientes é fortemente dependente do material de origem. De acordo com Fialho et al. (2010), a relação CTC/C desses compostos aumenta ao longo do processo de compostagem o que sugere a capacidade de troca catiônica que o composto vai ter quando incorporado ao solo. A relação CTC/C dos compostos são diferentes ( $L2 \approx L3 > L4 > L1$ ), e então, o processo de humificação libera em partes os nutrientes. Para todas as pilhas a CTC/C estabilizou com 90 dias (exceto para leira 1 – L1). Outro parâmetro físico-químico avaliado pelos autores foi a temperatura, a qual é um indicativo da evolução do processo de compostagem, pois é consequência da ação dos microorganismos sobre os resíduos e também a dinâmica da população microbiana é fortemente influenciada pela temperatura (LIANG et al., 2003). A leira referente ao composto L1, apresentou a menor temperatura, permanecendo na fase mesofílica durante todo o processo, o que pode ser explicado pelo fato do material dessa leira (poda de árvores) apresentar alta relação C/N, dificultando a ação microbiana e consequentemente retardando o processo de compostagem. Segundo Liang et al. (2003), valores ótimos de temperatura, baseados na máxima decomposição dos resíduos, devem estar na faixa de 50 a 60° C. Essa faixa de valores de temperatura foi alcançada na fase termofílica das leiras L2, L3 e L4, enquanto que para a leira L1 a temperatura não ultrapassou 40° C (FIALHO et al., 2010). Neste mesmo artigo, os autores, usando várias análises espectrais (UV/Vis, FTIR e NMR) descrevem que as amostras L2, L3 e L4 alcançaram maior grau de humificação; entretanto, L1 não apresentou características de composto humificado, devido à grande quantidade de carbono e falta de outros elementos, principalmente nitrogênio. Outro fator importante é que resíduos de plantas, como a poda de árvores (L1), são materiais fibrosos, com alto teor de lignina o fez com que não sofresse muitas mudanças com a compostagem. Segundo LÓPEZ et al. (2002), os principais componentes das plantas são celulose, hemicelulose e lignina, sendo este último componente o mais difícil de ser degradado.

### 2.1.1 Compostagem

A definição mais amplamente aceita estabelece que compostagem é a decomposição controlada, exotérmica e biooxidativa de materiais de origem orgânica por microorganismos autóctones, em um ambiente úmido, aquecido e aeróbio, com produção de dióxido de carbono, água, minerais e uma matéria orgânica estabilizada, definida como composto (latim, componere = mistura) (RODRIGUES, 2006; BERNAL et al., 1998<sup>a</sup>; KIEHL, 2004; PEREIRA NETO, 2007).

Segundo Kiehl (2004), como resultado da compostagem são gerados dois importantes componentes: sais minerais, contendo nutrientes para as raízes das plantas, e húmus, como condicionador e melhorador das propriedades físicas, químicas e biológicas do solo. Kiehl, (2004), coloca que é por esta última razão que determinados autores se referem à matéria orgânica humificada apenas como condicionadora do solo, relegando seu importante valor como fornecedora de elementos essenciais à vida vegetal.

À medida que avança o processo de compostagem, as substâncias orgânicas são mineralizadas, disponibilizando nutrientes em formas que podem ser prontamente aproveitadas pelas plantas. O processo é mediado por microorganismos (termofílicos e mesofílicos) que resistem a uma faixa ampla de temperatura, que, durante a compostagem, pode variar de 20-70°C. Ao término desse processo, os materiais compostados assumem características que se assemelham aos materiais húmicos encontrados no solo, sendo comum o composto apresentar, depois de estabilizado bioquimicamente, menor relação C:N, menor carga de agentes patogênicos e presença de sementes de ervas daninhas viáveis, ausência de cheiro desagradável e composição mais definida do que os materiais que lhe deram origem (KIEHL, 1985).

Os resíduos vegetais e animais são igualmente degradados, em que seus vários constituintes são decompostos em diversos estágios, com diferentes intensidades, por populações distintas de microorganismos que vão se alternando e predominando no meio em

virtude das características do substrato. Primeiramente, são degradados os compostos mais facilmente decomponíveis, como os açúcares, os amidos, os aminoácidos, etc. Em seguida, ocorre a degradação de certas hemiceluloses e proteínas. As substâncias de difícil degradação, (certas hemiceluloses, celuloses, óleos, gorduras, etc) são decompostas mais lentamente e, em geral, essa função é exercida por microorganismos específicos. O produto final da degradação das substâncias orgânicas na massa de compostagem, a exemplo da lignina, dos produtos mineralizados e das células mortas dos microorganismos, darão origem ao húmus (PEREIRA NETO, 2007).

Como um processo biológico, a compostagem é influenciada por todos os fatores que comumente afetam a atividade microbiológica. Dentre esses fatores, estão umidade, oxidação, temperatura, concentração de nutrientes, tamanhos das partículas e pH. A temperatura é um dos fatores mais indicativos da eficiência do processo de compostagem (PEREIRA NETO, 2007).

A maturidade do composto é o resultado de uma correta transformação microbiológica do material orgânico, componente fundamental para obtenção de compostos de qualidade. Considera-se como composto maturo aquele que atingiu o estágio final da ação de microorganismos durante o processo de compostagem, bem como apresenta o mínimo potencial para impactos negativos ao desenvolvimento vegetal e microbiológico do solo (BRINTON, 2000). Um composto imaturo pode causar danos ao solo e às plantas, inclusive levando-as à morte (KIEHL, 1998). Caso a opção seja pela adição direta dos resíduos ao solo, sem que o material sofra compostagem, a decomposição dos resíduos orgânicos orgânicos pode se estender por até 3 meses. Assim, a compostagem é um meio rápido de se estabilizar os resíduos orgânicos, principalmente quando se misturam diferentes materiais, como palhadas, esterco e outros resíduos, em razão do composto possuir uma composição mais definida, o que facilita os cálculos de doses a serem aplicadas nas lavouras (SILVA, 2008).

## **2.1.2 Adubação orgânica e o solo**

### **2.1.2.1 Latossolos**

O solo escolhido para o presente estudo consiste em um Latossolo Vermelho-Amarelo Distrófico (LVAd). Segundo o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (EMBRAPA, 1999), os latossolos, em geral, são solos em avançado estágio de intemperização, muito evoluídos, como resultado de transformações energéticas no material constitutivo. Estes solos são visualmente destituídos de minerais primários ou secundários menos resistentes ao intemperismo, e têm baixa capacidade de troca de cátions. Este tipo de solo é originado dos mais diversos tipos de rochas e sedimentos e é típico de regiões equatoriais e tropicais, ocorrendo também em zonas subtropicais, distribuídos, sobretudo, por amplas e antigas superfícies de erosão, sedimentos ou terraços fluviais antigos, normalmente em relevo plano e suave ondulado.

Os solos brasileiros em geral, apresentam limitações ao estabelecimento e desenvolvimento dos sistemas de produção de grande parte das culturas, em decorrência dos efeitos da acidez. Essa pode estar, de modo geral, associada à presença de Al e Mn em concentrações tóxicas e de baixos teores de cátions de caráter básico, como Ca e Mg. A acidez do solo, quando em excesso, pode ocasionar alterações nas propriedades químicas do mesmo assim como em sua fertilidade, restringindo o crescimento e desenvolvimento das plantas. Dessa forma, faz-se necessário atenuar ou eliminar os efeitos negativos da acidez do solo por meio da calagem. A calagem tem o objetivo de corrigir a acidez do solo, diminuindo ou anulando os efeitos tóxicos das altas concentrações de Al e Mn, além de fornecer os nutrientes Ca e Mg. A correção da acidez do solo (superficial e subsuperficial) faz-se necessária para promover maior eficiência de absorção da água e nutrientes pelas plantas, obtendo-se melhores produtividades das culturas. Para esta correção, o insumo mais utilizado para a camada mais superficial do solo é o calcário (SOUZA & LOBATO, 2004).



### **2.1.2.2 Efeito do adubo orgânico nas propriedades químicas, físicas e biológicas do solo**

O húmus é caracterizado como um produto estabilizado biologicamente, rico em nutrientes que passaram da forma orgânica para a mineral, com alto teor de material coloidal e com capacidade de melhoria da qualidade do solo. A incorporação do adubo orgânico pode trazer benefícios à planta através da melhoria das propriedades químicas do solo pelo fornecimento de nutrientes, aumento da capacidade de troca catiônica, formação de complexos e aumento do poder-tampão. Durante o processo de decomposição do adubo orgânico por parte dos microorganismos, ocorre a liberação, principalmente de N, P e S e micronutrientes utilizados pelas plantas nas suas formas iônicas (efeito fertilizante) (PEREIRA NETO, 2007; COSTA et al., 2008).

Os adubos orgânicos têm a propriedade de se ligarem com íons metálicos de ferro, manganês, alumínio, zinco e cobre, presentes no solo, complexando-os. Em alguns casos é possível eliminar efeitos tóxicos do manganês ou alumínio através da adubação orgânica. A formação desses complexos pode melhorar o fornecimento de alguns nutrientes, tornando-os disponíveis para as plantas (PEREIRA NETO, 2007).

O poder-tampão de um solo é avaliado através da maior ou menor dificuldade com que se consegue mudar o seu pH. Devido ao efeito da CTC, o adubo orgânico aumenta seu poder-tampão pelos ácidos fracos presentes (carboxílicos e fenólicos) o que minimiza as variações na reação do solo que pode ocorrer pela adição de adubos minerais (PEREIRA NETO, 2007).

As propriedades físicas do solo também são afetadas pela presença do adubo orgânico, o qual funciona como condicionador, pois as substâncias húmicas coloidais nele presentes atuam como agentes cimentantes das partículas do solo, formando agregados bastante estáveis. Além disso, o adubo orgânico é fonte energética de microorganismos, e estes, principalmente os fungos, fazendo com que ocorra agregação física das partículas. Em

consequência, há uma melhora na estrutura do solo, que se traduz em melhor aeração e permeabilidade, retenção de água e resistência, dentre outros. Dentre os efeitos de melhoria da estrutura, o adubo orgânico pode contribuir para o aumento da capacidade de armazenamento de água, uma vez que consegue reter quatro a seis vezes mais água do que o próprio peso (PEREIRA NETO, 2007).

As adubações orgânicas aumentam a atividade biológica dos solos devido à adição de substrato. Isso pode trazer benefícios as culturas, pois a presença de matéria orgânica pode favorecer o aumento da população de organismos saprofíticos (organismos desprovidos de clorofila, que se alimentam da matéria orgânica morta ou em decomposição) em detrimento de parasitas (PEREIRA NETO, 2007).

## **2.2 MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO**

Por atuar em várias propriedades físicas, químicas e biológicas do solo, a matéria orgânica do solo (MOS) é importante constituinte do ecossistema e fundamental para seu adequado funcionamento (DICK et al., 2009). Segundo Reeves (1997), a matéria orgânica é componente fundamental na qualidade dos sistemas agrícolas em razão de seu conteúdo e qualidade serem os fatores mais importantes que mantêm a fertilidade dos solos e a sustentabilidade dos agroecossistemas.

Existem várias definições diferentes para a matéria orgânica do solo. Segundo a Encyclopedia of Soil Science (2006), a definição para MOS consiste em: todos os derivados de materiais vegetais e animais incorporados ao solo ou dispostos sobre sua superfície, na forma viva ou nos vários estágios de decomposição, mas exclui-se a parte aérea das plantas. Segundo Dick et al. (2009), o conceito de matéria orgânica do solo é tema de discussão na comunidade científica e, por ainda não estar consensualmente definido, autores ou grupos de pesquisadores demonstraram entendimentos distintos dos que seja MOS.

A MOS pode ser agrupada em substâncias húmicas e não húmicas. As substâncias não húmicas são compostas por substâncias com características químicas definidas, tais como,

polissacarídeos, aminoácidos, açúcares, proteínas e ácidos orgânicos de baixa massa molar. As substâncias húmicas não apresentam características químicas e físicas bem definidas, e se dividem em ácido húmico, ácido fúlvico e humina, com base nas suas características de solubilidade (STEVENSON, 1994).

### **2.2.1 Importância da matéria orgânica para o solo**

Em solos de ambientes tropicais e subtropicais, a matéria orgânica tem grande importância como fonte de nutrientes para as culturas, na retenção de cátions, complexação de elementos tóxicos e de micronutrientes, estabilidade da estrutura, infiltração e retenção de água, aeração, e serve como fonte de carbono e energia aos microorganismos heterotróficos, constituindo-se, assim, num componente fundamental do potencial produtivo desses solos (BAYER & MIELNICZUK, 2008; STEVENSON, 1994).

Sob vegetação natural, o conteúdo de matéria orgânica do solo encontra-se estável. O uso agrícola altera esse conteúdo, sendo observada, normalmente, uma redução acentuada quando utilizados métodos de preparo com intenso revolvimento do solo e sistemas de cultura com baixa adição de resíduos vegetais. Nessa situação é estabelecido um processo de degradação das condições químicas, físicas e biológicas do solo, além da perda da produtividade das culturas (BAYER & MIELNICZUK, 2008; MIELNICZUK, 1999).

A manutenção ou recuperação dos teores de matéria orgânica e da qualidade do solo pode ser alcançada adotando-se sistemas de manejo que priorizem um maior aporte de carbono ao solo, no sentido de haver um melhor balanço no fluxo de carbono levando a uma mitigação das emissões de CO<sub>2</sub> (BAYER & MIELNICZUK, 2008; BAYER et al., 2000). Segundo Sánchez-Monedero et al. (2002), a aplicação de compostos mais humificados proporciona um efeito mais duradouro na matéria orgânica do solo.

### **2.2.2 Substâncias húmicas**

Os efeitos benéficos do húmus sobre as propriedades químicas, físicas e biológicas do solo e no desenvolvimento das plantas, com reflexos nas produtividades atuais e em longo

prazo das culturas, assim como a preservação do ambiente, são bem conhecidos e documentados (STEVENSON, 1994; SCHNITZER, 1991; PEREIRA NETO, 2007)

A matéria orgânica do solo pode ser dividida em dois grupos fundamentais, substâncias não-húmicas e húmicas. O primeiro é constituído pelos produtos da decomposição dos resíduos orgânicos e do metabolismo microbiano, como proteínas e aminoácidos, carboidratos simples e complexos, resinas, ligninas e outros. Essas macromoléculas constituem aproximadamente, 10 a 15% da reserva total do carbono orgânico nos solos minerais. As substâncias não-húmicas pertencem a grupos conhecidos da química orgânica, com suas propriedades químicas e físicas bem conhecidas. O segundo é representado pelas substâncias húmicas propriamente ditas, constituindo 85 a 90% da reserva total do carbono orgânico (KONONOVA, 1982; ANDREUX, 1996). Segundo Nardi et al. (2002), as substâncias húmicas são o principal componente da matéria orgânica dos solos, das águas e dos sedimentos. Além de influenciar as propriedades químicas, físicas e biológicas das plantas, determinando a produção biológica dos ecossistemas, elas exercem efeito direto sobre o crescimento e metabolismo das plantas, especialmente sobre o desenvolvimento radicular.

O condicionamento das propriedades do solo pela matéria orgânica, via de regra, proporciona melhores condições de cultivo. Esta influência global das substâncias húmicas (SHs) sobre a macro e micro-estrutura dos solos, que por sua vez promove a atividade biológica, é considerada como efeito indireto da matéria orgânica humificada sobre o crescimento vegetal. Evidências experimentais indicam que as SHs participam de reações importantes que ocorrem na inter-face solução e parte sólida do solo, influenciando a fertilidade por meio da liberação de nutrientes, da detoxificação de elementos químicos, na formação de estrutura, ou seja, da melhoria das condições químicas, físicas e biológicas do solo (CANELLAS et al., 1999).

No processo de humificação ocorre a transformação de reservas macromorfológicamente identificáveis em compostos húmicos amorfos. Com isso, as principais transformações que ocorrem durante a humificação, são a perda de polissacarídeos e compostos fenólicos, modificação das estruturas de lignina, e enriquecimento em estruturas aromáticas não lignínicas recalcitrantes. A humificação bem como a decomposição de resíduo, é mediada primeiramente por processo microbiológico, controlado principalmente por variáveis locais específicas, tais como, temperatura, regime de água no solo, pH e disponibilidade de nutrientes. Durante o processo de humificação ocorre um aumento nos grupos C-carboxílicos, C-aromáticos e C-alquil, principalmente fenólicos, e a diminuição de grupos O-alquil (ZECH et al., 1997). Segundo Kononova (1984), os produtos formados da degradação química e biológica de resíduos (animais e vegetais) e da atividade sintética da biota do solo, associam-se em estruturas químicas complexas, atingindo maior estabilidade do que os materiais que o originaram. Parte do material húmico poderá sofrer degradação ou mineralização, dando origem a moléculas simples, que podem ser utilizadas pela biota do solo (KONONOVA, 1984).

Segundo Stevenson (1994), as substâncias húmicas são constituídas de uma série de compostos de coloração escura, de elevado peso molecular, separadas com base em características de solubilidade. Classificam-se em: humina – fração insolúvel em meio aquoso, independente do valor de pH; ácidos húmicos (AH) – fração escura extraída em meio alcalino (NaOH e  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ ) e insolúvel em meio ácido diluído e, ácidos fúlvicos (AF) – fração colorida alcalino-solúvel que se mantém em solução após a remoção dos ácidos húmicos por acidificação.

O ácido fúlvico é solúvel em água e em condições ácidas ( $\text{pH} < 2,0$ ), possui maior presença de grupamentos carboxílicos e de oxigênio, e menor concentração de carbono em relação aos ácidos húmicos. A humina, por sua vez, é mais fortemente ligada a fração mineral

do que o ácido fúlvico e o ácido húmico (SCHNITZER; KODAMA; RIPMEESTER, 1991; MACCARTHY et al., 1990).

Segundo Stevenson (1994), os caminhos pelos quais as substâncias húmicas são formadas são inúmeros, devido à grande quantidade de possíveis estruturas precursoras e ao enorme número de possibilidades de interação entre elas. Essa variedade de materiais de origem e o conseqüente número de caminhos reacionais possíveis para a formação do húmus são a razão para as dificuldades em se estabelecer uma estrutura precisa para os ácidos húmicos, ácidos fúlvicos e humina.

O modelo estrutural das substâncias húmicas ainda é tema de discussão científica. Ainda não existe um modelo estrutural para as substâncias húmicas que explique totalmente a composição química, a estrutura, a forma e o tamanho, sendo que os modelos existentes geram controvérsias e discussões (CLAPP; HAYES, 1999; BURDON, 2001; HAYES E CLAPP, 2001; MACCARTHY, 2001; PICCOLO, 2001).

Há alguns anos, estruturas basicamente aromáticas eram as mais aceitas (KONONOVA, 1966; SCHNITZER; 1878; STEVENSON, 1994). Contudo, devido principalmente ao uso da técnica de espectroscopia de ressonância magnética nuclear, verificou-se que o grau de aromaticidade era muito menor do que o esperado, e Schulten & Schnitzer (1993) propuseram uma estrutura de ácido húmico, incorporando grandes porções alifáticas (Figura 2.1).

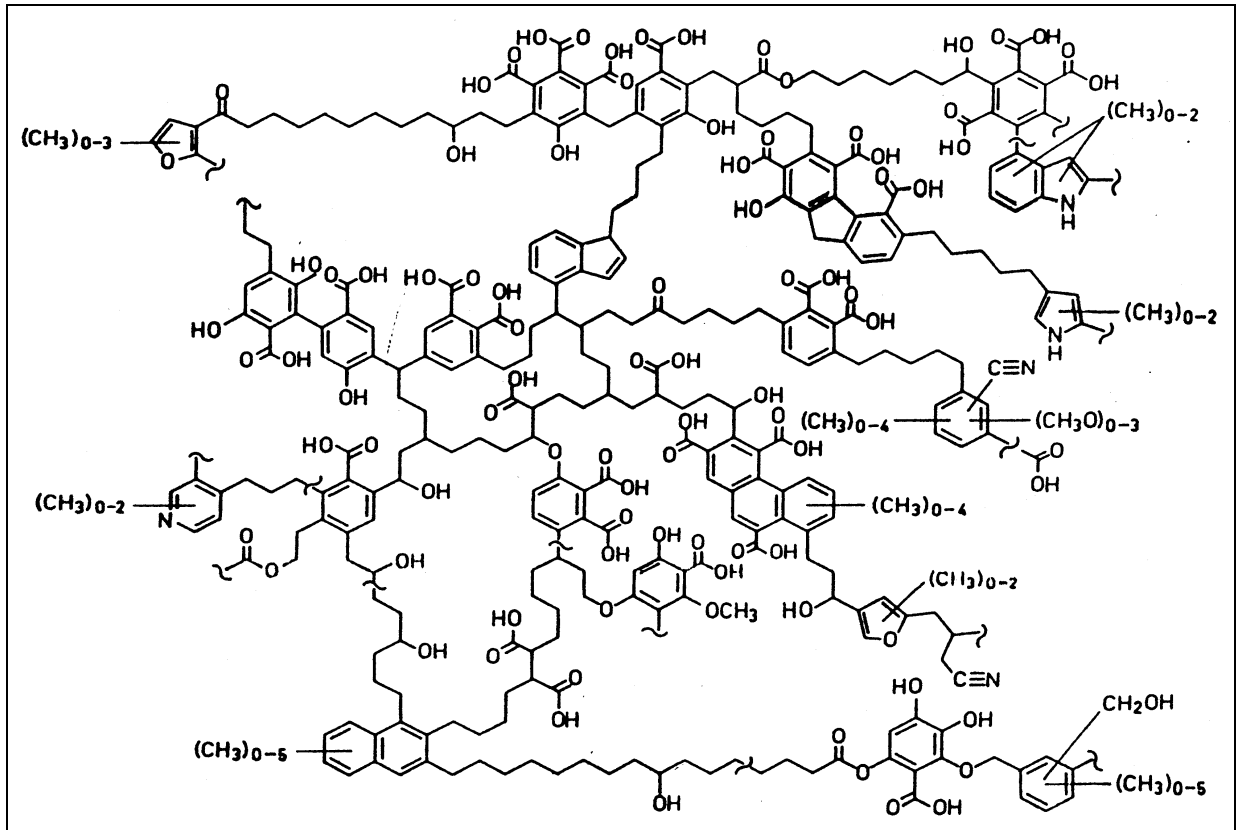


Figura 2.1 - Modelo macromolecular de ácido húmico mostrando os diversos grupos funcionais, estruturas aromáticas e alifáticas adaptado por Schulten & Schnitzer (1993).

O modelo para ácidos húmicos proposto por Schulten & Schnitzer (1993), apresenta longas cadeias alifáticas, grupos OH fenólicos livres e ligados, estruturas de quinona, oxigênio presente como grupos carboxílicos, fenólicos, hidroxílicos, ésteres e éteres, nitrogênio presente como estruturas heterocíclicas e como nitrilas. A composição elementar da estrutura do ácido húmico é  $C_{308}H_{328}O_{90}N_5$ . Pressupunha-se que as substâncias húmicas seriam macromoléculas orgânicas, com características similares às macromoléculas biológicas como, proteínas, polissacarídeos, ácidos nucleicos e lignina (SWIFT, 1989).

Nos modelos recentemente propostos (SCHULTEN & SCHNITZER, 1997), têm-se observado que a estrutura de ácidos húmicos contém espaços vazios de diferentes tamanhos, onde poderiam alojar-se outros compostos orgânicos, hidrofílicos ou hidrofóbico, como carboidratos e materiais proteínáceos, lipídios, agrotóxicos e outros poluentes (Figura 2.2). Elementos inorgânicos também poderiam estar presentes, como por exemplo, argilas e óxidos

e hidróxidos (SCHULTEN & SCHNITZER, 1997), o que foi corroborado pelo trabalho de Wandruska (1998), que definiu a estrutura das substâncias húmicas como uma estrutura pseudo-micelar de natureza polimérica.

A Figura 2.2 apresenta uma proposta de estrutura tridimensional, tomando-se por base a macromolécula da Figura 2.1, obtida a partir de modelamento molecular.

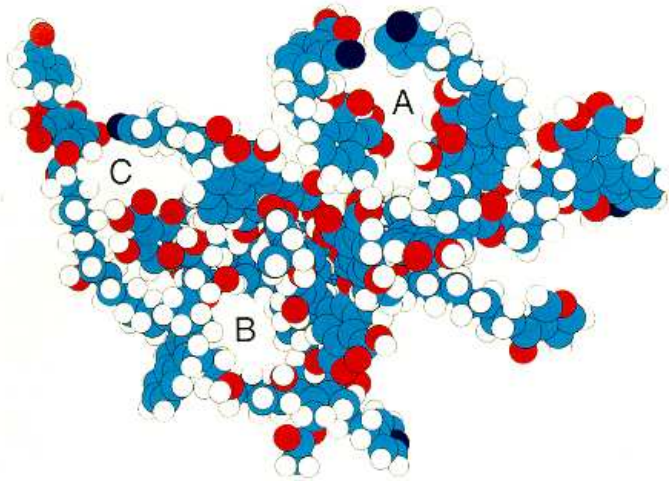


Figura 2.2 - Modelo conceitual proposto pela teoria macromolecular: ácido húmico proposto por Schulten e Schnitzer (1997), carbono = azul; oxigênio = vermelho; nitrogênio = preto e hidrogênio = branco. As letras A, B e C indicam os espaços “vazios” presentes na molécula das substâncias húmicas capazes de interagir com outros compostos.

A reatividade das substâncias húmicas é devida, principalmente, a quatro características estruturais (SPOSITO, 1989; REZENDE, 1999):

- 1) Hidrofilicidade: essa propriedade se reflete na tendência que as substâncias húmicas têm de formarem ligações de hidrogênio com moléculas de água do meio, solvatando grupos funcionais como COOH e OH;
- 2) Carga Macromolecular: caráter aniônico do arranjo molecular cujos efeitos refletem na reatividade dos grupos funcionais e na conformação molecular;
- 3) Polifuncionalidade: presença de vários grupos funcionais, com reatividades diferentes, os quais representam uma mistura heterogênea de polímeros que interagem entre si.
- 4) Labilidade estrutural: devido à capacidade de associações intermoleculares e de mudanças conformacionais, em resposta as mudanças de pH, condições redox, concentração iônica e ligações químicas.



As quatro propriedades relacionadas as substâncias húmicas citadas, assemelham-se a propriedades de outros biopolímeros, como proteínas e polissacarídeos. No entanto, para as substâncias húmicas essas propriedades refletem o comportamento de uma mistura heterogênea de moléculas interagindo entre si, e não de uma única macromolécula estruturalmente bem definida.

Outro modelo mais recente que tenta explicar as características observadas para as substâncias húmicas é denominado supramolecular. A proposta desse modelo é de que as substâncias húmicas em solução formem grandes agregados húmicos, os quais são estabilizados por ligações fracas como ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas (WERSHAW, 1986; BARAK & CHEN, 1992). Também há a proposta de que as substâncias húmicas são provenientes de produtos de degradação enzimática de plantas e complexos de lignina (Wershaw, 1986, 1993). Esse modelo foi embasado por Conte e Piccolo (1999) que deu origem à teoria supramolecular (PICCOLO, 2001, 2002), na qual as substâncias húmicas são formadas por moléculas pequenas e heterogêneas de várias origens, auto-organizadas em conformações supramoleculares, o que explicaria o grande tamanho molecular aparente das substâncias húmicas. No conceito supramolecular, os ácidos fúlvicos seriam formados por pequenas micelas estáveis que permanecem dispersas devido a repulsão das cargas negativas originadas da dissociação da grande quantidade de grupos ácidos presentes na estrutura, como por exemplo, os carboxílicos, a qualquer valor de pH. As micelas de ácidos húmicos, por outro lado, por apresentarem uma menor quantidade de grupos funcionais ácidos, podem aproximar-se o suficiente para formar agregados de elevada massa molar (PICCOLO et al., 1996). Os ácidos húmicos são constituídos por associações de estruturas predominantemente hidrofóbicas (cadeias polimetilênicas, ácidos graxos e esteróides), que são estabilizadas por forças dispersivas hidrofóbicas (VAN DER WAALS,  $\pi$ - $\pi$ , e ligações CH- $\pi$ ). O aumento da concentração hidrogeniônica ocasiona a diminuição de cargas formais negativas na estrutura, favorecendo o aumento gradual do tamanho dos ácidos húmicos até sua precipitação. Segundo

Piccolo, (2001), a influência do pH ocorre por meio da protonação da molécula e conseqüente aumento das ligações de hidrogênio intermoleculares. O modelo supramolecular foi reforçado pelos resultados obtidos por Simpson (2002ab). Os autores demonstraram que as substâncias húmicas extraídas de solos são formadas por uma mistura de substâncias agregadas de baixo peso molecular (em torno de 2000 Da) e propuseram um esquema (Figura 2.3) que ilustra como as principais estruturas identificadas nas substâncias húmicas poderiam formar um agregado na presença de cátions metálicos de ocorrência natural nos ecossistemas terrestres.

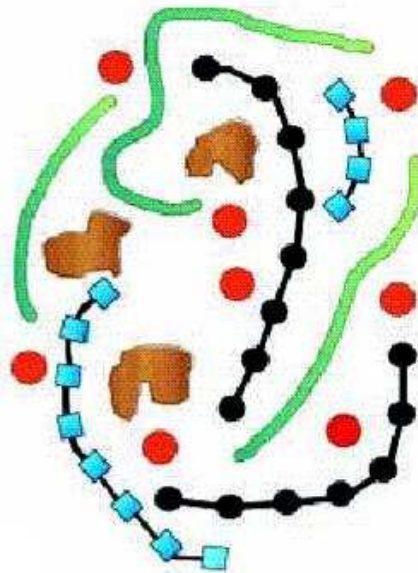


Figura 2.3 - Esquema das substâncias húmicas proposto por Simpson et al. (2002b). As unidades vermelhas representam os cátions metálicos, as unidades pretas os polissacarídeos, as unidades azuis os polipeptídios, as unidades verdes as cadeias alifáticas e as unidades marrons os fragmentos aromáticos provenientes da lignina.

Diallo et al. (2003), por meio de métodos computacionais e também utilizando dados experimentais, excluíram os modelos que sugerem que as substâncias húmicas sejam macromoléculas com alta massa molar ou a mistura de compostos orgânicos complexos e heterogêneos e observaram que as estruturas existentes possuem as características necessárias para formar supramoléculas. A supramolecular permitiu grande avanço no entendimento estrutural das substâncias húmicas, porém ainda apresenta várias limitações (CLAPP;

HAYES, 1999; BURDON, 2001; HAYES; CLAPP, 2001; MACCARTHY, 2001; PICCOLO, 2001).

A heterogeneidade química das substâncias húmicas dificulta a definição de um modelo para as mesmas que englobe composição, estrutura, tamanho e reatividade, sendo que há uma variabilidade desta heterogeneidade de acordo com a origem (ecossistemas aquáticos ou terrestres) ou da localização geográfica (SIMÕES, 2005). Segundo os autores Sutton & Sposito (2005), entende-se que o modelo que melhor descreve essas propriedades é aquele que propõe que as substâncias húmicas são agrupamentos de diversos componentes de relativamente baixa massa molecular formando associações dinâmicas estabilizadas por interações hidrofóbicas e ligações de hidrogênio.

### **2.2.3 Caracterização da matéria orgânica**

As técnicas analíticas evoluíram significativamente na capacidade de análise quantitativa e qualitativa nas últimas décadas. Dentre elas, destacam-se algumas técnicas espectrométricas e métodos espectroscópicos, que permitem detalhado conhecimento dos processos químicos relacionados com a transferência e transformação de elementos e de compostos no sistema solo-água-plantas-atmosfera (ABREU JUNIOR et al., 2009).

Nos últimos anos, o estudo da matéria orgânica em ambientes terrestres e aquáticos teve um considerável avanço em função da crescente preocupação da humanidade com a qualidade do ambiente. Isso porque a matéria orgânica tem papel decisivo no comportamento de poluentes no solo e na água. Essa situação incentivou o estudo da matéria orgânica do solo, e os principais avanços devem-se a contribuição de métodos espectroscópicos (CERETTA et al., 2008).

Os métodos químicos e espectroscópicos têm sido amplamente aplicados no estudo da matéria orgânica do solo, especialmente das substâncias húmicas, bem como na identificação e caracterização dos diferentes compostos húmicos, na avaliação das alterações desses

compostos e, no entendimento dos processos relacionados com a dinâmica da matéria orgânica após a aplicação do compostos orgânicos ao solo.

### **2.2.3.1 Métodos químicos**

O conhecimento dos teores de matéria orgânica é fundamental em diversas áreas da ciência do solo, visto que esta desempenha um papel de suma importância do ponto de vista químico, físico e biológico, o qual refletirá na qualidade dos solos e propiciará maior produtividade.

Diversos métodos têm sido utilizados para a determinação do teor de matéria orgânica do solo. Porém, informações consistentes quanto à definição e recomendação do método mais adequado para a obtenção de resultados confiáveis e satisfatórios são escassas (CONCEIÇÃO et al., 1999).

#### **2.2.3.1.1 Determinação da composição elementar (CHNS)**

A análise elementar é o método mais usado para a determinação da composição elementar das substâncias húmicas. Baseia-se na detecção de quatro componentes (nitrogênio, carbono, hidrogênio e enxofre) de uma mistura, eluída e separada por uma coluna cromatográfica e detectada por um detector, na seqüência N<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O e SO<sub>2</sub>. O teor de oxigênio pode ser obtido por diferença a 100%. Com os dados da análise elementar não é possível se chegar a fórmula molecular dos ácidos húmicos ou ácidos fúlvicos, mas é possível ter uma noção da composição geral da molécula.

A composição das substâncias húmicas é influenciada por diversos fatores, como pH, material de origem, vegetação e uso do solo. Assim, solos de reação neutra apresentam uma faixa estreita de valores para carbono, hidrogênio e nitrogênio, enquanto que solos de reação ácida apresentam uma faixa mais larga. Os ácidos fúlvicos são mais ricos em oxigênio e enxofre, enquanto que os ácidos húmicos são mais concentrados em carbono, hidrogênio e nitrogênio (SENESI; LOFFREDO, 1999).

### **2.2.3.2 Métodos espectroscópicos**

As análises espectroscópicas nas diferentes regiões do espectro eletromagnético tem ampla aplicação no estudo da MOS, especialmente das substâncias húmicas, tanto para identificação e caracterização dos diferentes compostos húmicos, como para a avaliação das alterações qualitativas desses compostos (ABREU JUNIOR, 2009; SENESI, 2009).

Técnicas como espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), fluorescência de luz uv-visível, fluorescência induzida por laser (FIL), ressonância magnética nuclear (RMN), ressonância paramagnética eletrônica (RPE) têm gerado resultados importantes na avaliação da qualidade do solo, sob condições temperadas e tropicais. Essas técnicas fornecem informações sobre grupos funcionais constituintes da matéria orgânica possibilitando a avaliação do grau de humificação. Esses estudos ainda são relativamente reduzidos em sistemas tropicais (MARTIN-NETO et al., 1991, 1994ab, 1998; BAYER et al., 1997; MILORI et al., 2002; GONZÁLEZ-PEREZ et al. 2004). Essas técnicas possuem a vantagem de se trabalhar com pequenas quantidades de amostras (STEVENSON, 1994).

Segundo Mangrich (2001), conhecer as estruturas químicas das substâncias húmicas é essencial para entender a sustentabilidade dos diferentes sistemas agrícolas, o ciclo global do carbono e a lixiviação de espécies químicas, que podem causar poluição das águas e o empobrecimento do solo.

#### **2.2.3.2.1 Espectroscopia na região do Infravermelho Médio com Transformada do Fourier (FTIR)**

Na espectroscopia são empregados níveis de energia situados entre a região do visível e a de microondas, o que permite distinguir as vibrações moleculares de diversos grupos funcionais e estruturas (SILVERSTEIN et al., 1994). A região de maior interesse para a espectroscopia é de  $4000$  a  $400\text{ cm}^{-1}$ . Essa técnica viabiliza a análise qualitativa de grupos

reativos, como por exemplo, COOH, OH-fenólico, OH-alcoólico, OH-enólico, C=O, -NH<sub>2</sub>, etc., e de componentes estruturais alifáticos e aromáticos (STEVENSON, 1994).

Num espectrofotômetro de infravermelho, a porcentagem de radiação transmitida pela amostra num intervalo de comprimento de onda de 2,5 a 25  $\mu\text{m}$  (infravermelho fundamental, número de onda de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ ) é registrada, resultando num espectro contínuo de bandas de absorção. Usualmente no espectro de infravermelho (IV) está relacionada a transmitância (ou absorbância) em função do número de onda, expresso em  $\text{cm}^{-1}$  (SILVERSTEIN et al., 1994).

O espectro de IV é característico da molécula como um todo, porém certos grupos funcionais dão origem a bandas que ocorrem mais ou menos na mesma frequência independentemente da estrutura do resto da molécula. Devido a presença dessas bandas características de grupos funcionais, que é possível obter informações sobre a estrutura das moléculas (Silverstein et al., 1994).

Diferentemente das radiações nas regiões do ultravioleta e do visível, que, ao incidirem sobre uma molécula, causam transições eletrônicas, a radiação infravermelha promove alterações nos modos rotacionais e vibracionais das moléculas (BARBOSA, 2007).

A espectroscopia IV se baseia no fato de que os diversos tipos de ligações químicas e de estruturas moleculares existentes em uma molécula, absorvem radiação eletromagnética na região do infravermelho, em comprimentos de ondas característicos e, como consequência, os átomos envolvidos entram em diferentes estados de vibração. Dois tipos fundamentais de vibrações moleculares podem ser distinguidos: a) estiramento, onde os átomos vibram no mesmo eixo, variando a distância entre eles; b) deformação, onde a posição dos átomos em vibração muda em relação ao eixo da ligação. Quando luz infravermelha ressonante à frequência de vibração de estiramento ou de deformação incide na amostra, a energia é absorvida e a amplitude de vibração é aumentada. Devido à energia de absorção na frequência de ressonância, o detector do espectrômetro de infravermelho grava um pico de absorção

naquele comprimento de onda (STEVENSON, 1994). Os principais tipos de vibrações de estiramento e de deformação de um grupo de átomos estão ilustrados na Figura 2.4.

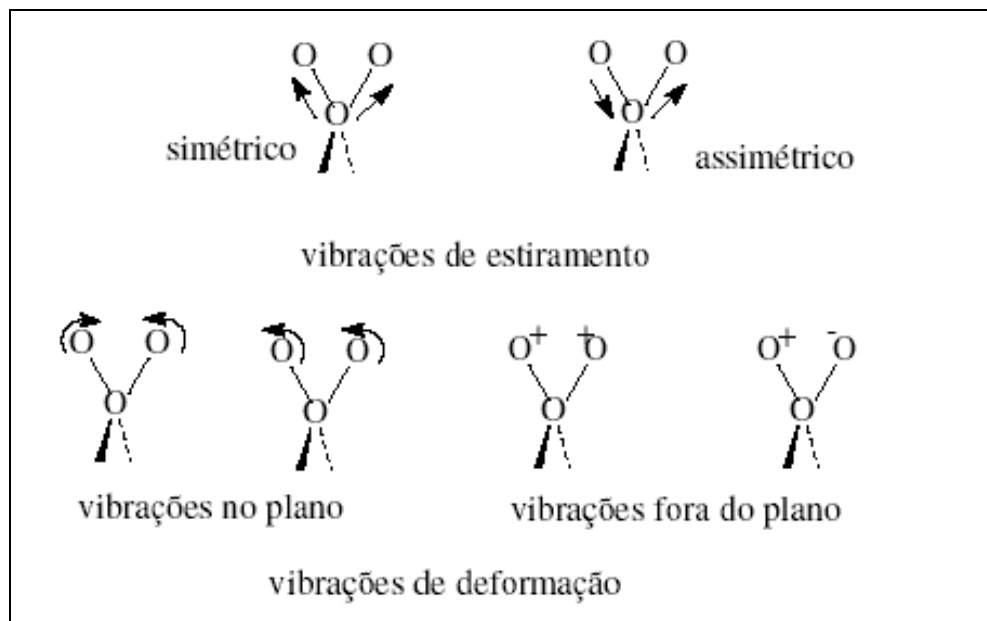


Figura 2.4 - Vibrações típicas de átomos. Os sinais + e - significam vibrações perpendiculares ao plano do papel (Stuart, 1996).

Vibrações de estiramento são mais energéticas e ocorrem portanto em frequências superiores às das vibrações de deformação. Estiramentos de ligações envolvendo próton (O-H, C-H e N-H) ocorrem em maiores frequências ( $3700$  a  $2650\text{ cm}^{-1}$ ) do que estiramentos de ligações do tipo C-C, C-O, e C-N ( $1300$  a  $800\text{ cm}^{-1}$ ) (STEVENSON, 1994).

As análises de FTIR têm sido tradicionalmente usadas para identificar grupos funcionais como: grupos carboxila, amina, hidroxila, carbonila e outros (SCHNITZER; KHAN, 1972; STEVENSON, 1994). Estas informações são úteis, pois permitem identificar possíveis processos de oxidação e alteração de grupos funcionais, associados aos efeitos de manejos, devido, por exemplo, ao aumento ou redução de aeração do solo, mudança no pH, complexação com micronutrientes provenientes de fertilizantes ou naturalmente ocorrendo no solo. Trata-se de um método relativamente acessível e de interpretação simples dos dados. Em muitas situações podem haver sobreposição de bandas, o que requer o uso de outros métodos analíticos concomitantemente.

A espectroscopia de infravermelho tem sido extensivamente usada para a pesquisa de substâncias húmicas e tem fornecido considerável entendimento sobre a natureza, reatividade e arranjo estrutural do grupos funcionais contendo oxigênio. Espectros no infravermelho de substâncias húmicas resultam da absorção da radiação infravermelha por uma mistura complexa de moléculas que são multifuncionais. O resultado do espectro infravermelho contém uma variedade de bandas que podem indicar diferentes grupos funcionais presentes nesta mistura complexa (STEVENSON, 1994).

A interpretação exata dos espectros nem sempre é possível devido a sua alta complexidade. Segundo Tan (1996), a restrição quanto a aplicação mais abrangente da espectroscopia IV em substâncias húmicas não se deve à inadequação deste método para o material a ser analisado, porém está relacionada com a complexidade do espectro e, também, com o baixo grau de pureza das amostras analisadas. Ceretta et al. (2008), concordam com esta afirmação e alertam que esses obstáculos são facilmente contornados através do estudo mais aprofundado dos espectros e respectivas interpretações, bem como através de um procedimento mais apurado na purificação das amostras.

Os principais grupos de absorção no infravermelho (região  $400 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ ) nas substâncias húmicas são observados na Tabela 2.2 a seguir.



Tabela 2.2 - Bandas de absorção dos principais grupos funcionais no espectro no infravermelho médio ( $\text{cm}^{-1}$ ) (NIEMEYER, 1992)

Região $\text{cm}^{-1}$	Origem
3380	Estiramento OH do grupo fenólico (contribuição de OH alifático), $\text{H}_2\text{O}$ e possivelmente NH
3030	Estiramento CH aromático
2930	Estiramento CH assimétrico
2840	Estiramento CH simétrico
2600	Estiramento OH de H ligado a -COOH
1720	Estiramento -C=O de -COOH
1610	Estiramento C=C aromático e/ou estiramento -COO <sup>-</sup> assimétrico
1520 - 1525	Estiramento C=C aromático, deformação N-H e estiramento C=N de amidas
1450	Deformação -CH de $\text{CH}_3$ e dobramento -CH e - $\text{CH}_2$
1350	Estiramento -COO simétrico e/ ou dobramento -CH de alifáticos
1270	Estiramento -C-O de fenólico
1225	Estiramento -C-O de deformação OH de -COOH
1170	Estiramento -C-OH de alifáticos OH
1050 e 1040	Estiramento -C-O de polissacarídeos ou derivados de polissacarídeos e Si-O de impurezas silicatadas
830	Vibração CH fora do plano. Impurezas argilosas.
775	Vibração CH fora do plano

O aporte de resíduos orgânicos animais e vegetais, compostados ou não, ao solo é prática comum que visa aumentar a quantidade tanto de MOS quanto de nutrientes disponíveis às plantas. Plaza et al. (2003), estudaram o efeito consecutivo da adição anual de resíduos de suínos nos teores de ácido fúlvico na MOS. Entre outras técnicas espectroscópicas, FTIR foi usado para caracterização da MOS. Mudanças nas bandas de

absorção em 2900, 1520, 1230 e 1040  $\text{cm}^{-1}$  mostraram que o resíduo de suíno apresentou grande alifaticidade, grande quantidade de grupos funcionais que continham N e S e, conseqüentemente, maior degradabilidade, quando comparados com resíduos de bovinos. Foi observado o aumento de material muito lábil no solo, mostrando que este tipo de resíduo deve necessariamente passar por estabilização prévia, por meio de compostagem antes da incorporação ao solo, afim de aumentar seu estado de humificação e, conseqüentemente, ser melhor incorporado ao solo.

#### **2.2.3.2.2 Fluorescência**

A emissão de luz por uma substância quando submetida a algum tipo de estímulo é denominada luminescência. De acordo com o tipo de estímulo é feita a distinção entre os processos de fotoluminescência ou radioluminescência. A fotoluminescência ocorre quando o material é excitado por radiação ultravioleta ou visível. Tanto materiais inorgânicos quanto orgânicos podem apresentar o efeito de luminescência. No caso de materiais orgânicos luminescentes, a estrutura de uma molécula individual é responsável pela luminescência. O processo de luminescência de um material está intimamente relacionado com os processos de absorção e dissipação de energia do mesmo. Para uma molécula orgânica, a energia absorvida na região do ultravioleta-visível produz mudanças na energia eletrônica, resultado da transição de elétrons de valência na molécula. Essas transições consistem de excitação de um elétron de um orbital molecular ocupado (um orbital não-ligante  $n$  ou ligante  $\pi$ ) para o próximo orbital de mais alta energia (um orbital antiligante  $\pi^*$  ou  $\sigma^*$ ). Essas moléculas apresentam ligações insaturadas e sistemas conjugados (ABREU JUNIOR et al., 2009). Segundo Senesi et al. (1991), 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, isto é, deslocalização eletrônica de elétrons, como é o caso das substâncias húmicas.

No estado fundamental os elétrons da molécula ocupam o nível de menor energia vibracional, mas ao serem excitados podem ser promovidos para qualquer nível vibracional de um estado excitado (níveis de energia acima do estado fundamental), os quais podem ser acessados quando a molécula recebe um valor de energia equivalente à diferença de energia entre esses estados e o estado fundamental) (Figura 2.5). Caso a energia absorvida pela molécula não seja suficiente para ionização ou dissociação da molécula, ela permanecerá no estado excitado por determinado tempo. Logo em seguida, ela emite energia na forma de calor, e/ ou, luz. Essa luz emitida pelo processo é que é denominada luminescência. Dependendo do tempo de vida do estado excitado, ou seja, do tempo de decaimento para o estado fundamental, o processo é denominado fluorescência ou fosforescência, sendo que o tempo de relaxação na fluorescência é curto (entre  $10^{-7}$  e  $10^{-9}$  segundos), enquanto que na fosforescência o tempo de relaxação é longo ( $> 10^{-6}$  segundos) (ABREU JUNIOR et al., 2009).

Segundo Skoog et al. (2002), a molécula pode continuar perdendo energia por processos não radioativos até que o elétron excitado retorne ao estado fundamental ou o elétron pode permitir a diferença de energia na forma de radiação. Essa emissão é chamada de fluorescência e terá sempre uma energia menor que a energia de excitação da molécula devido à relaxação vibracional e a outros processos não radioativos que possam ocorrer.

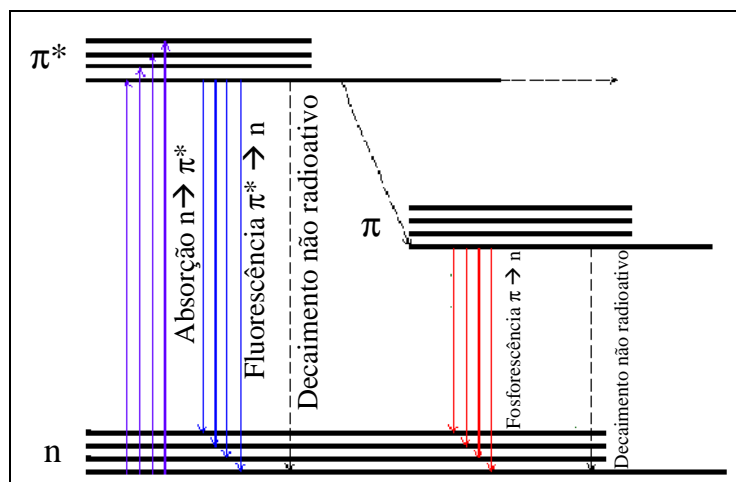


Figura 2.5 - Transição eletrônica fluorescência molecular.

O fenômeno de fluorescência é altamente provável em sistemas moleculares que contêm átomos como pares livres de elétrons, tais como: C=O, aromáticos, fenólicos, quinonas e, ou, sistemas alifáticos conjugados insaturados mais rígidos. Os grupos funcionais citados anteriormente estão presentes nas substâncias húmicas (SENESI et al., 1991). Estruturas fluorescentes nativas ou incorporadas às substâncias húmicas, constituem apenas uma pequena porção da macromolécula húmica, entretanto sua variedade e a dependência de suas propriedades, de parâmetros moleculares e ambientais moleculares, permitem a obtenção de informações sobre seu comportamento fluorescente e sobre a natureza química das substâncias húmicas (SENESI; LOFFREDO, 1999). O comportamento fluorescente médio da molécula é o resultado da soma de todos os espectros individuais dos diferentes fluoróforos da molécula.

Nos últimos anos, a espectroscopia de fluorescência tem se sido amplamente reconhecida como uma técnica relativamente simples, sensível e usual para estudar a química estrutural e funcional de diversas amostras, entre elas, amostras de ácidos húmicos, que possuem várias estruturas fluorescentes intrínsecas à sua molécula (MILORI et al., 2002).

A análise da fluorescência de um composto é uma técnica muito sensível devido à capacidade de se detectar o sinal proveniente de moléculas quando excitadas por um comprimento de onda específico. É também bastante seletiva, uma vez que os comprimentos de onda de excitação e emissão dependem do mesmo composto de interesse, fazendo com que o sinal de fluorescência coletado seja característico de cada molécula em estudo.

Várias pesquisas têm mostrado o potencial da espectroscopia de fluorescência para avaliação do grau de humificação de substâncias húmicas, apresentando vantagens sobre as espectroscopias de ressonância magnética nuclear (RMN) e ressonância paramagnética eletrônica (RPE), visto que é uma técnica simples, barata e mais sensível (MILORI et al., 2002).

Algumas metodologias foram publicadas para avaliar o grau de humificação de substâncias húmicas em solução (ZSOLNAY et al., 1999; KALBITZ et al., 1999; MILORI et al., 2002). Todas as técnicas baseiam-se no fato de as estruturas mais complexas (anéis condensado, e/ ou, substituídos) terem seus espectros de absorção e emissão deslocados para o vermelho. (ABREU JUNIOR et al., 2009).

Os espectros de fluorescência podem ser obtidos de três modos: emissão, excitação e excitação com varredura sincronizada.

- 1) Modo de emissão: os espectros são obtidos medindo a intensidade de radiação emitida como função do comprimento de onda, mantendo fixo o comprimento de onda de excitação.
- 2) Modo de excitação: os espectros são obtidos pela medida da intensidade de emissão, fixando o seu comprimento de onda de emissão e variando o comprimento de onda de excitação.
- 3) Modo de excitação com varredura sincronizada: os espectros são obtidos medindo a intensidade de fluorescência, quando a molécula é varrida por ambos os comprimento de onda, mas mantendo uma diferença de  $\Delta\lambda = \lambda_{em} - \lambda_{exc}$ , entre eles. Quando essa diferença é usada, esta técnica pode aumentar a intensidade de alguns picos, aumentando a sensibilidade do método.

Zsolnay et al. (1999), propuseram que o espectro de emissão com excitação no ultravioleta (240 nm) fosse dividido em quatro partes. A razão entre as áreas do quarto mais para o vermelho ( $A_4$ ) e o quarto mais para o azul ( $A_1$ ) foi definida como índice para avaliar o grau de humificação da MO dissolvida. ( $A_4/A_1$ ). Os autores utilizaram essa relação a despeito de que moléculas mais aromáticas fluorescem em comprimentos de onda maiores do que moléculas com estruturas mais alifáticas, as quais necessitam de maior energia para fluorescer. Dessa forma, a razão entre essas duas áreas é um indicativo de quão humificada (maior aromaticidade) está a MOS. Esse método favorece a observação de estruturas mais simples, pois o comprimento de onda de excitação (240 nm) é mais ressonante com este tipo

de estrutura. Em algumas situações, este fato pode vir a ser uma limitação para aplicação dessa metodologia. A partir de resultados obtidos, os autores verificaram que quanto maior a área na região de maiores comprimentos de onda, maior seria o índice de humificação. Os resultados são coerentes com menores valores razões H/C e, portanto com maior grau de humificação das substâncias húmicas analisadas. Um espectro de fluorescência de emissão de uma solução de AH, segundo a metodologia de Zsolnay et al. (1999), é apresentado na Figura 2.6.

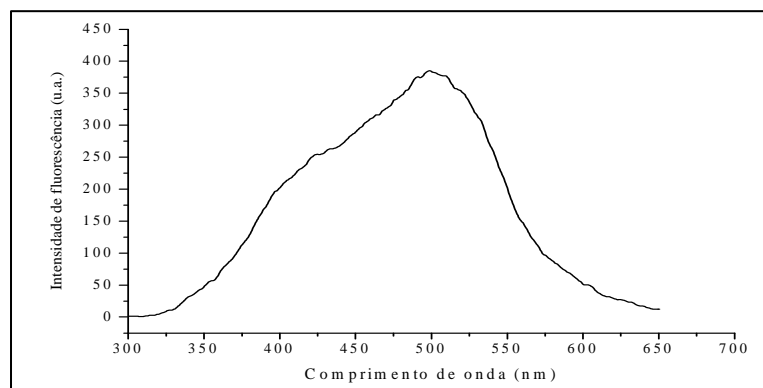


Figura 2.6 - Espectro de emissão de fluorescência de AH extraídos de solo tratado com lodo de esgoto, obtido segundo metodologia de Zsolnay et al. (1999). Comprimento de onda de excitação  $\lambda_{exc} = 240$  nm (NARIMOTO, 2006).

Milori et al. (2002), observaram boa correlação entre a intensidade de emissão de fluorescência com excitação no azul (465 nm) e a concentração de radicais livres do tipo semiquinona, determinada por RPE, para amostras de ácidos húmicos extraídos de solos. A alta correlação é devido ao fato de a excitação no comprimento de onda 465 nm ser ressonante, também, com estruturas provenientes da oxidação de grupos fenólicos e quinonas. Esta seria uma medida relativa à quantidade de compostos mais condensados e mais aromáticos. Dessa forma, a área sob a curva de emissão de fluorescência com excitação no azul é proporcional ao grau de humificação da MO. Denominou-se  $A_{465}$  o índice de humificação determinado segundo Milori et al. (2002), que neste caso é igual a integral da

região total do espectro de emissão (Figura 2.7) da amostra com comprimento de onda de excitação  $\lambda_{exc} = 465$  nm.

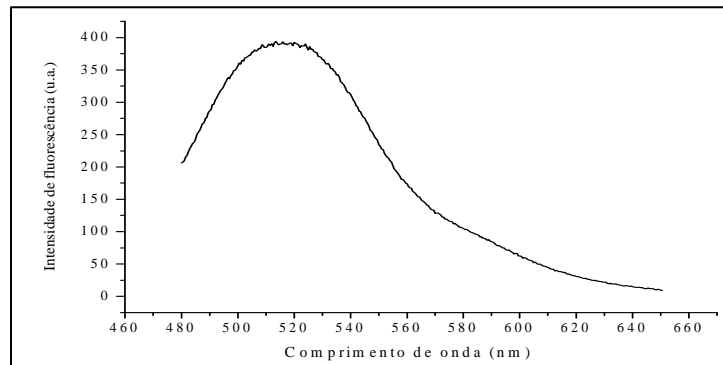


Figura 2.7 - Espectro de emissão de fluorescência de AH extraídos de solo tratado com lodo de esgoto, obtido segundo metodologia de Milori et al. (2002). Comprimento de onda de excitação  $\lambda_{exc} = 465$  nm (NARIMOTO, 2006).

Kalbitz et al. (2000), utilizaram a razão entre picos observados no espectro de varredura sincoronizada, intensidade do pico mais para o vermelho/ intensidade do pico mais para o azul) com intuito de avaliar o grau de humificação de ácidos fúlvicos. A condição ideal para obtenção deste tipo de espectro depende do tipo de amostra. Para ácidos húmicos, a diferença entre a emissão e excitação ( $\Delta\lambda$ ) deve ser de 55 nm, sendo que neste caso, os máximos mais bem definidos apresentam-se em 399 e 465 nm e, portanto, o grau de humificação pode ser avaliado pela razão entre estes máximos ( $I_{465}/I_{399}$ ). Os autores observaram que como nos espectros de emissão, mudanças para maiores comprimentos de onda nos espectros scans síncronos indicam aumento do número de núcleos aromáticos condensados e maior humificação das substâncias húmicas analisadas. A utilização desta modalidade de emissão síncrona para estudar amostras contendo uma grande variedade de compostos orgânicos, tais como as substâncias húmicas, aumentam-se as chances de ocorrência de sobreposição de picos, podendo gerar distorções no sinal de fluorescência. No entanto, a resolução de um espectro de fluorescência pode ser comprimida ou expandida conforme diminui-se ou aumenta-se o valor de  $\Delta\lambda$  (VO-DINH, 1978). A Figura 2.8 mostra

um espectro de fluorescência sincronizada obtido para uma solução de ácido húmico extraído de solo tratado com lodo de esgoto.

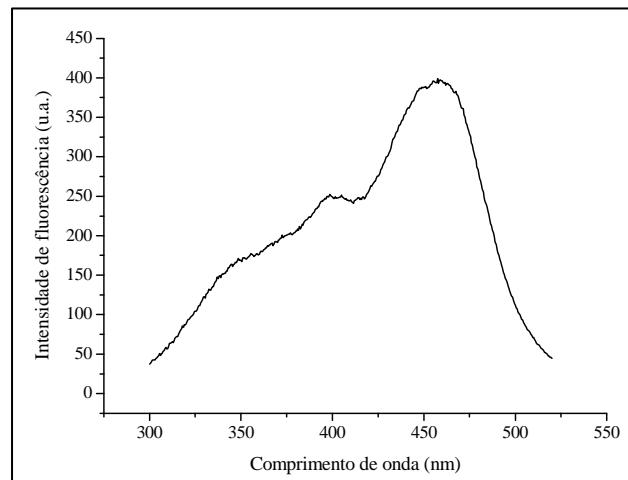


Figura 2.8 - Espectro de varredura sincronizada de AH extraídos de solo tratado com lodo de esgoto, obtido segundo metodologia de Kalbitz et al. (2000).  $\Delta\lambda = 55$  nm (NARIMOTO, 2006).

A adição de resíduos, como compostos orgânicos de origem agroindustrial e urbana, provocam alterações nos espectros de emissão e scan síncromo para maiores comprimentos de onda, o que indica maior grau de humificação das substâncias húmicas nativas ou incorporação de compostos mais aromáticos e condensados à estrutura das substâncias húmicas.

### 2.2.3.2.3 Fluorescência Induzida por Laser (FIL)

A FIL é uma das ferramentas disponíveis mais sensíveis para propostas analíticas. A técnica é, geralmente, não invasiva o que é bastante útil para aplicações ambientais. Os conceitos básicos apresentados para técnica de fluorescência em solução são válidos para espectroscopia de FIL. A diferença consiste apenas no fato de a excitação do material fluorescente ser feita por meio de um laser. Dentre as vantagens de se utilizar o laser estão: a intensidade de luz mais alta em um comprimento de onda de excitação específico, o que produz boa relação sinal-ruído quando comparada a fluorescência induzida por lâmpada; e maior seletividade na excitação, tendo, portanto, menos fatores de interferência no sinal de fluorescência (MILORI et al., 2003).



Normalmente, as análises espectroscópicas da MOS são realizadas a partir de suas frações químicas ou físicas. Entretanto, é consenso geral entre os cientistas que trabalham nesta área, que o ideal seria trabalhar em condições o mais próximo possível da matéria orgânica ao natural no solo. As metodologias de fluorescência em solução, anteriormente citadas, exigem a extração e fracionamento químico das substâncias húmicas do solo. A geração de resíduos químicos torna a análise de solos um processo lento e trabalhoso. Além de que os produtos deste tratamento (ácido húmico, ácido fúlvico e humina), podem sofrer modificações em relação a sua forma *in situ* (FELLER; BEARE, 1997).

Existe também, uma demanda para equipamentos versáteis de campo para análises rápidas do conteúdo de matéria orgânica do solo, com intuito de viabilizar métodos modernos de manejo como é o caso da agricultura de precisão. A FIL aplicada à solos é uma nova metodologia, que tem se mostrado eficiente na análise da matéria orgânica de solos intactos, fornecendo resultados de uma maneira ágil, limpa e em condições próximas das naturais (MILORI et al., 2003, 2006). Tal método aplicado a solos é recente (MILORI et al., 2006) e tem mostrado resultados bastante interessantes na avaliação do grau de humificação da MOS em solos sob diferentes manejos.

Métodos ópticos têm grande potencial de compactação e por isso, a Embrapa Instrumentação desenvolveu uma primeira versão do protótipo de campo deste sensor para avaliar a estabilidade da MO. O equipamento portátil apresentado na Figura 2.9, faz uso de espectroscopia de fluorescência induzida por laser, o qual é constituído por um laser de diodo emitindo em 405 nm, acoplado a um cabo óptico responsável por conduzir a luz laser e excitar a amostra de solo inteiro. A emissão da amostra é então decomposta através de uma grade de difração fixa e detectada por um conjunto de fotodiodos previamente calibrados. Desta forma, obtêm-se o espectro de emissão que será enviado para um computador. Este fará o controle, a aquisição e o tratamento dos dados por meio de um software de aquisição de dados. Mede-se então a área abaixo da curva dos espectros, que é proporcional ao grau de humificação do

solo. A proposta de cálculo deste índice de humificação é a razão entre o valor da área do espectro de emissão de FIL (ACF) e o valor de carbono orgânico total (COT) presente na amostra de solo intacto (Milori et al., 2001), ou seja:

$$H_{\text{FIL}} = \frac{\text{ACF}}{\text{COT}} \quad (2.4)$$



Figura 2.9 - Sistema de FIL portátil com excitação em 405 nm (*direita*): 1 – chave de energia laser; 2 – caixa de controle laser; 3 – saída para o cabo óptico; 4 – ponta emissora/coletora do cabo óptico.

É possível propor a FIL como parâmetro para estudar os processos de humificação em solos submetidos à adição de diferentes compostos orgânicos de origem agroindustrial e urbana. Segundo Santos (2006), sua utilização é de maior relevância para os Latossolos, solos em que os conteúdos de ferro inviabilizam os estudos dos parâmetros de humificação através da  $^{13}\text{C}$  RMN e RPE.

#### **2.2.3.2.4 Espectroscopia na região do Infravermelho Próximo (NIRS)**

O uso da espectroscopia de NIRS, para a análise de fibras e proteínas em forragens e grãos tem sido estudado há décadas, entretanto o interesse em aplicá-las para estudos quantitativos de características e propriedades dos solos é relativamente recente (MITTELMANN et al., 2005; MADARI et al., 2006b). NIRS utiliza radiação eletromagnética de 10000 a 2500 nm (10000 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ ).

Segundo Ben-Dor e Banin (1995), a matéria orgânica também é espectroscopicamente ativa em toda a região do infravermelho próximo. O espectro de NIRS (Figura 2.10) é constituído de bandas fracas de acoplamentos e combinações das bandas de vibração de C-H, N-H e O-H que ocorrem na região do infravermelho médio (GERZABEK et al., 2006), sendo, por esse motivo, não muito seletivo e pouco utilizado para a interpretação e elucidação de estruturas moleculares (WESTAD et al., 2008).

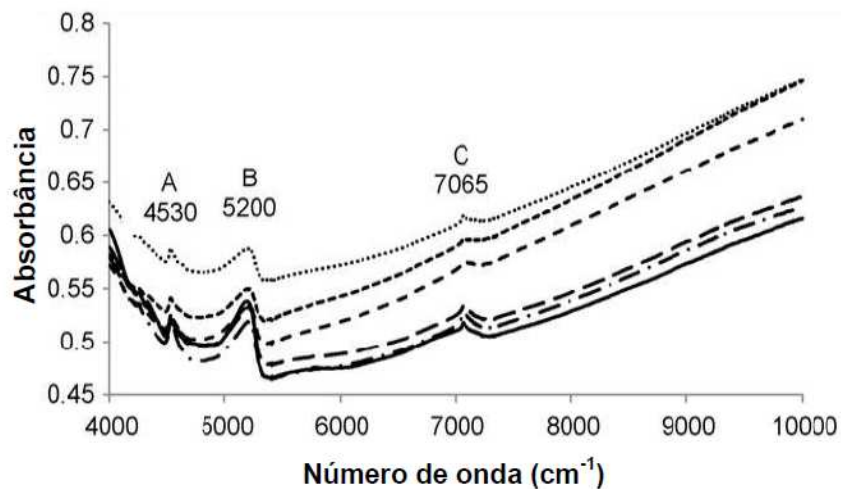


Figura 2.10 - Espectro de NIRS de solos afetados por diferentes ocorrências de fogo. Traduzida de: Vergnoux et al., 2009.

Aparentemente, o espectro no infravermelho médio é mais informativo que aquele obtido por NIRS. Entretanto, deve-se destacar que os componentes inorgânicos como a sílica, que são predominantes no solo e dificultam a identificação de bandas características de compostos orgânicos do solo, não absorvem na região do infravermelho próximo, mas sim no infravermelho médio (MADARI et al., 2005). Dentre as vantagens da NIRS está a alta razão sinal-ruído (tipicamente 25000:1) (WORKMAN, 1998). Algumas atribuições de bandas em NIRS são apresentadas na Tabela 2.3.

Tabela 2.3 - Bandas de absorção das vibrações de estiramento dos principais grupos funcionais no espectro no infravermelho próximo (cm<sup>-1</sup>). Adaptada de: Workman, (1998).

Estrutura	Ligação	1ª harmônica	2ª harmônica	3ª harmônica
ArCH (aromáticos)	C-H	8748-8424	8748-8424	11668-11235
CH=CH (metileno)	C-H	8064-8019	8064-8019	10752-10695
CH <sub>3</sub> (metil)	C-H	8223-8196	8223-8196	10964-10928
CH <sub>3</sub> (metil)	C-H combinação	7423-7315	7423-7315	9900-9756
R-OH (álcoois)	O-H	7092-6872	10638-10309	*
ArOH (fenóis)	O-H	7037-6802	10559-10204	*
HOH (água)	O-H	6944-6734	10416.-10101	*
Amido	O-H	6891	10341	*
Uréia	N-H	6849	10277	*
CONH <sub>2</sub> (amidas primárias)	N-H	6835-6738	10256-10111	*
CONHR (amidas secundárias)	N-H	6793	10193	*
Celulose	O-H	6711	10070	*
Uréia	N-H	6711	10070	*
ArNH <sub>2</sub> (aminas aromáticas)	N-H	6697	10050	*
NH (aminas em geral)	N-H	6666	10000	*
Proteínas	N-H	6618	9930	*
Uréia	N-H	6578	9871	*
RNH <sub>2</sub> (aminas primárias)	N-H combinação	*	9803	*
Amido	O-H combinação	*	9737	*
CONH (amidas primárias)	N-H combinação	*	9551	*
=CH <sub>2</sub> (metileno)	C-H combinação	*	9259	*

## CAPÍTULO 3

## MATERIAIS E MÉTODOS

---

### 3.1 EXPERIMENTO EM CASA DE VEGETAÇÃO

A metodologia consistiu no cultivo de *Ocimum Selloi* Benth em vasos, em casa de vegetação pertencente a Embrapa Pecuária Sudeste, Fazenda Canchin, localizada na região de São Carlos, estado de São Paulo, Brasil (Figura 3.1).

A *Ocimum Selloi* Benth foi escolhida por ser uma espécie medicinal nativa das regiões Sul e Sudeste do Brasil, de grande interesse terapêutico e condimentar.



Figura 3.1 - Casa de vegetação com umidade controlada, pertencente à Embrapa Pecuária Sudeste.

#### 3.1.1 Classificação do solo

O solo estudado consiste, segundo o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (EMBRAPA, 1999), em um Latossolo Vermelho-Amarelo Distrófico (LVAd) proveniente da Fazenda Canchin, São Carlos, SP. O LVAd utilizado no experimento é ácido (pH = 4,8 antes

do processo de calagem), de textura arenosa, com cerca de 70% de areia e 15-20% de argila em sua composição.

Para o preenchimento dos vasos, as amostras de solo foram peneiradas, para ficarem com granulometria uniforme. Cada vaso foi preenchido com 7,0 kg de solo para serem submetidos ao processo de correção da acidez, através da calagem.

### 3.1.2 Correção da acidez do solo e sistema de irrigação

Os solos contidos nos vasos foram submetidas ao processo de calagem para correção da acidez, cujo valor de pH estava em torno de 4,8. A aplicação do calcário ( $\text{CaCO}_3$ ) foi feita 60 dias antes da aplicação dos compostos orgânicos e do transplante das mudas aos vasos. A reação do calcário no solo é relativamente lenta e depende, basicamente, da disponibilidade de água. Dessa forma, recomenda-se que sua aplicação no solo seja feita com antecedência ao plantio.

Foi montado um sistema de irrigação automático dos vasos, o qual consiste em um novo sistema de gotejamento para plantas, recentemente patenteado pela Embrapa, o qual possibilitou a aplicação de vazões de água, mesmo reduzidas (Figura 3.2).



Figura 3.2 - Sistema de irrigação implementado.

### 3.1.3 Semeadura

Mudas de *Ocimum Selloi* Benth foram obtidas a partir da sementeira de sementes comerciais (Figura 3.3), em bandejas apropriadas (Figura 3.4). De acordo com Lorenzi & Matos (2002), a *Ocimum Selloi* Benth multiplica-se tanto por sementes quanto por estacas, desenvolvendo-se preferencialmente em terrenos bem drenados a meia-sombra, dessa forma as bandejas foram protegidas por uma estrutura recoberta com tela de sombreamento (sombrite 60%). O transplante das mudas aos vasos foi feito após apresentarem quatro folhas definitivas, cerca de dois meses após a sementeira, coincidindo com a incorporação dos compostos orgânicos ao substrato.



Figura 3.3 - Sementes de *Ocimum Selloi* Benth.



Figura 3.4 - Mudanças de *Ocimum Selloi* Benth.

### 3.1.4 Tratamentos

O experimento foi completamente randomizado em um planejamento fatorial de 4x3x3 (quatro tratamentos, em três diferentes doses e três réplicas). Os diferentes compostos agrícolas foram triturados em moinho de facas (Figura 3.5) e depois foram misturados uniformemente ao solo dos vasos nas três diferentes dosagens propostas.

Os quatro compostos orgânicos estabilizados aplicados ao solo dos vasos, diferem entre si pela natureza dos resíduos orgânicos submetidos ao processo de compostagem. Suas propriedades foram caracterizadas por meio de alguns indicadores de qualidade e maturidade como citado no item 2.1 (FIALHO et al., 2010).

Antes do transplante das mudas, os compostos foram incorporados ao solo, considerando para isso a análise prévia do solo e dos compostos.

Os tratamentos foram:

- (i) **L1** – composto de podas de árvore;
- (ii) **L2** - composto de podas de árvore + esterco bovino;
- (iii) **L3** – composto de podas de árvore + bagaço de laranja triturado;
- (iv) **L4** – composto de podas de árvore + torta de filtro.





Figura 3.5 - Compostos orgânicos agrícolas antes e após o processo de moagem. L1: composto de poda de árvores, L2: composto de poda de árvores + esterco bovino, L3: composto de poda de árvores + bagaço de laranja, L4: composto de poda de árvores + torta de filtro.

Os compostos foram aplicados em três diferentes doses: 5, 15 ou 30 ton ha<sup>-1</sup>, que correspondem respectivamente a 0,5%, 1,5% e 3,0% do volume do vaso (volume total do vaso de 7 litros). Nestes experimentos, não foi feita aplicação complementar de fertilizante mineral. Adicionalmente, com propósito de comparação, foram montados 3 vasos sem aplicação de composto (testemunha) e outros 3 vasos tratados com fertilizante comercial

(fertilizante mineral NPK). A incorporação dos compostos orgânicos ao solo e o transplante das mudas selecionadas aos vasos foi feito em 24 de março de 2009.

## **3.2 AMOSTRAGENS**

### **3.2.1 Parte aérea das plantas**

A parte aérea das plantas foi coletada após três meses de experimento. As amostras coletadas foram colocadas em sacos de papel, e imediatamente pesadas para obtenção da massa fresca das folhas e caules. Em seguida os sacos foram espaçadamente colocados em estufa de circulação forçada de ar a 60°C, pertencente à Embrapa Pecuária Sudeste (Figura 3.6). As amostras permaneceram na estufa até atingida massa constante (aproximadamente 72 horas), para obtenção da massa seca. Após a secagem as amostras de tecido vegetal (folhas) foram trituradas em cadinho de porcelana, para que suas partículas fossem reduzidas, permitindo maior homogeneização. Pois, segundo Fontes (2006), as amostras de tecido vegetal devem ser totalmente moídas, pois os teores dos nutrientes não são uniformemente distribuídos na folha.

As amostras das folhas secas e trituradas foram armazenadas em frasco de vidro e encaminhadas para análise de fertilidade. As análises foram todas feitas no Laboratório de Nutrição de Plantas do Departamento de Solos da Universidade Federal do Paraná (UFPR).

O teor de macro/micronutrientes foi determinado usando ICP-OES. Os resultados da análise de fertilidade, as massas frescas e massas secas das folhas, foram investigados usando Análise da Componente Principal (PCA) (WOLD et al., 1987).



Figura 3.6 - Amostragem do tecido vegetal da *Ocimum Selloi* Benth e secagem em estufa com circulação de ar forçada.

### 3.2.2 Solo

Logo após a colheita da parte aérea das plantas, o conteúdo de solo dos vasos foi separado das raízes da planta e amostrados (Figura 3.7). Visando maior representatividade, a amostragem foi feita ao acaso em todo o conteúdo do vaso. Cada um dos tratamentos foi conduzido em triplicata, portanto foi feita amostragem composta dos 3 vasos referentes a cada tratamento.



Figura 3.7 - Amostragem do solo dos 42 vasos.

## 3.3 DETERMINAÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL DAS PLANTAS

O estado nutricional das plantas pode ser determinado por meio de procedimento diretos tais como concetração aparente dos nutrientes (análise visual) e, ou, concentração real

dos nutrientes (análise da matéria seca ou da seiva). A análise da planta inteira ou de partes (comumente a folha) por meio de procedimentos químicos é conhecida como análise foliar (Fontes, 2006). Dessa forma, no presente estudo, a determinação do estado nutricional das plantas foi feito por análise visual e foliar, pois segundo Fontes (2006), o diagnóstico do estado nutricional, utilizando-se os resultados da análise foliar, precisa ser complementado com a análise visual da planta, após ter sido excluída a influência de fatores bióticos e abióticos sobre ela.

### **3.3.1 Diagnóstico do estado nutricional pelo método visual**

De maneira geral, com o inadequado suprimento do nutriente pelo solo, aparecerão os sintomas de deficiência ou de toxidez nas plantas. Foram feitas descrições apropriadas dos sintomas observados nas plantas. Dentre os sintomas observados, foram descritos: distribuição dos sintomas na área, estado fisiológico da planta, posicionamento na planta, localização nas folhas.

Este método pode ser usado diretamente no diagnóstico da deficiência de um nutriente, e também pode auxiliar no direcionamento de futuras análises químicas para alguns nutrientes específicos, após a eliminação de outras possibilidades. Além de ser útil na confirmação de resultados de análise foliar (FONTES, 2006). Neste trabalho, conforme indicado por Fontes (2006), o diagnóstico visual do estado nutricional das folhas foi utilizado a fim de se compilar com os resultados da análise de fertilidade do tecido vegetal.

### **3.3.2 Teor de macro e micronutrientes, Altura, MSF e MSC**

A digestão do material vegetal foi feita em mufla, utilizando cadinhos de platina. Essa digestão permite a análise de todos os elementos, exceto N. A determinação de N total foi feita pelo método de Kjeldahl (MALAVOLTA et al., 1989). Os elementos Ca, K, Mg, Mn, Fe, Cu e Zn foram determinados por absorção atômica após mineralização das amostras (MALAVOLTA et al., 1989; OLIVEIRA et al., 2000). O fósforo foi determinado por

colorimetria (MARTINS, 2007). As análises foram todas feitas no Laboratório de Nutrição de Plantas do Departamento de Solos da UFPR.

Após 30 e 90 dias do transplante das mudas aos vasos, foram realizadas as análises biométricas de altura: a altura da planta foi medida desde a superfície do solo, até a extremidade do caule (eixo principal).

As folhas e os caules amostrados foram acondicionados em sacos de papel, os quais foram espaçadamente colocados em estufa de circulação de ar forçada a 60°C para secagem. Após as amostras atingirem massa constante, foram pesadas para a obtenção da massa seca das folhas (MSF) e massa seca dos caules (MSC).

### **3.4 ANÁLISE DE ROTINA DO SOLO**

Foram determinados os valores de pH em CaCl<sub>2</sub>, nitrogênio, fósforo, potássio, sendo N, K e P denominados como macronutrientes do solo. Foram determinados também os teores dos micronutrientes ferro (Fe<sup>3+</sup>), manganês, (Mn<sup>2+</sup>), cobre (Cu<sup>2+</sup>) e zinco (Zn<sup>2+</sup>) e a capacidade de troca de cátions (CTC).

As medidas foram realizadas de acordo com as metodologias citadas no Manual de Métodos de Análise de Solo (Embrapa, 1997) e estão brevemente descritas a seguir.

A determinação do pH em CaCl<sub>2</sub> 0,01 mol L<sup>-1</sup> baseia-se na medição eletrônica do potencial por meio de eletrodo combinado imerso em suspensão solo:líquido na proporção de 1:2,5.

O método de determinação de C orgânico consistiu na oxidação da matéria orgânica via úmida com dicromato de potássio em meio sulfúrico e titulação do excesso de dicromato com Fe<sup>2+</sup> usando ferroína como indicador.

A determinação de N total foi feita pelo método de Kjeldahl, o qual consiste basicamente na conversão do N em sulfato de amônio através da oxidação com uma mistura de CuSO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (mineralização). Posteriormente em meio alcalino, o sulfato de amônio convertido da matéria orgânica libera amônia que, em câmara de difusão, é

complexada em solução de ácido bórico contendo indicador misto, sendo finalmente determinado por acidimetria (HCl ou H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>).

Os micronutrientes disponíveis, Mn, Fe, Cu e Zn, foram determinados pelo método DTPA, que se baseia na extração de 10 g de solo com 20 mL de solução extratora DTPA (ácido dietilenotriaminopentacético), agitação por 2 horas e filtragem imediata da suspensão. No filtrado são determinados os micronutrientes por espectrofotometria de absorção atômica.

O K foi determinado por absorção atômica após mineralização das amostras em HCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>. A determinação do P se baseia na formação de complexo fósforo-molibdico de cor azul obtido após redução do molibdato com ácido ascórbico, a determinação é feita por espectrofotometria de absorção molecular.

O princípio da metodologia para determinação da capacidade de troca de cátions (CTC), se baseou-se na troca compulsiva baseada na saturação de 1,0 g de solo com solução de BaCl<sub>2</sub> e posterior adição de solução padrão de MgSO<sub>4</sub>. A quantidade de Mg<sup>2+</sup> retida pelo solo representa a CTC.

As análises foram todas feitas no Laboratório de Nutrição de Plantas do Departamento de Solos da Universidade Federal do Paraná (UFPR).

### **3.5 PREPARO DAS AMOSTRAS DE SOLO PARA A EXTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS**

Para preparo das amostras de solo para o fracionamento químico das substâncias húmicas, as amostras compostas foram levadas ao laboratório e acondicionadas em bandejas plásticas. As amostras foram colocadas para secar à temperatura ambiente. Após a secagem, foi realizada uma limpeza manual para a retirada de raízes e restos de plantas, sendo depois passadas em peneira de 0,5 mm de abertura de malha para homogeneização do material, obtendo-se a fração de terra fina seca ao ar (TFSA).

### 3.6 EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS

No fracionamento químico da MOS para obtenção das substâncias húmicas, mais precisamente do ácido húmico, as amostras compostas de solo (TFSA) foram submetidas a um processo de extração e purificação por diferença de solubilidade, segundo a metodologia recomendada pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS) (Figura 3.8). A metodologia proposta pela IHSS faz uso de solução de NaOH diluído para dissolver ácido húmicos e de HCl para que o mesmo precipite.

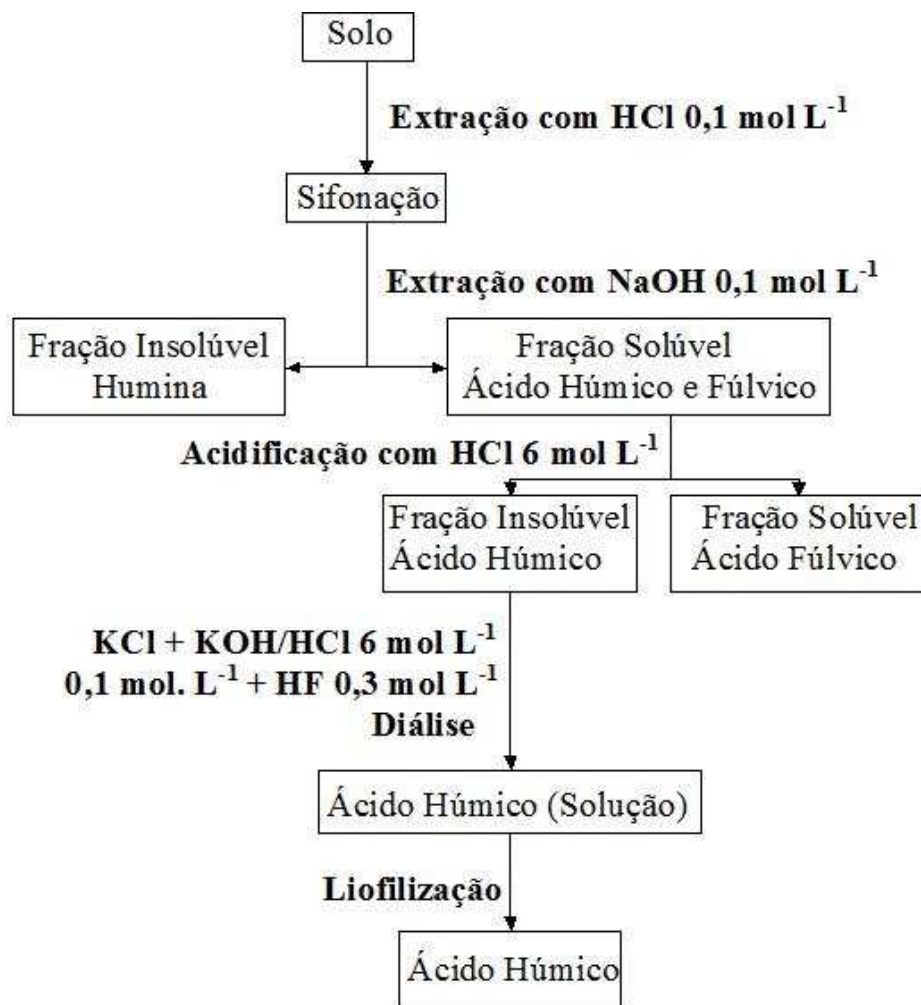


Figura 3.8 - Esquema simplificado de extração e purificação das substâncias húmicas do solo.

Partindo-se de 200 g de solo (TFSA), inicialmente foi realizada uma extração com HCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>, em proporção de 1g de solo: 10 mL de solução. Durante uma hora a solução permaneceu sob agitação manual. Em seguida foi deixada em repouso por 2 horas, para separar o sobrenadante do resíduo por decantação, sendo este sobrenadante o extrato 1 de

ácido fúlvico. Em seguida foi realizada uma extração com NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup>, na mesma proporção anteriormente citada. A solução permaneceu sob agitação manual durante quatro horas. A solução foi mantida em repouso durante 16 horas, para separar o sobrenadante do resíduo por decantação. O precipitado era referente a fração mineral, a qual foi descartada. O sobrenadante foi centrifugado, por 20 minutos a 10000 rpm, para a eliminação da argila. Em seguida, com um contagotas, o sobrenadante foi acidificado com HCl 6 mol L<sup>-1</sup> até pH 1-2 sob agitação constante e foi deixado em repouso por mais 12 horas, para decantação. O precipitado é referente a fração de ácido húmico e o sobrenadante é o extrato 2 do ácido fúlvico, que foi separado por sifonação. A partir desta etapa teve início a purificação dos ácidos húmicos, o precipitado foi redissolvido em solução de KOH 0,1 mol L<sup>-1</sup> e foi adicionado KCl para completar uma concentração de íons [K<sup>+</sup>] equivalente a 3 mol L<sup>-1</sup>. A solução foi centrifugada para a eliminação dos sólidos suspensos (impurezas). Após a centrifugação sob alta velocidade (15000 rpm – 20 min) para que os sólidos suspensos fossem removidos, o AH foi então reprecipitado, adicionando-se HCl 6,0 mol L<sup>-1</sup> com agitação simultânea até que fosse atingido pH 1-2, e após, a suspensão foi mantida em repouso por 16 horas. Centrifugou-se a solução (10000 rpm – 10 min) e o sobrenadante foi então descartado. O precipitado (AH) foi suspenso em solução HCl 0,1 mol L<sup>-1</sup> + HF 0,3 mol L<sup>-1</sup> num recipiente plástico e agitado durante 16 horas a temperatura ambiente. Em seguida a solução foi centrifugada (12000 rpm – 20 min) e o precipitado foi transferido para uma membrana de diálise (Spectra/Por 6000 – 8000 Da), preparada segundo a metodologia de Mc Phie (1971), utilizando água destilada, padrão MiliQ. Procedeu-se a diálise até que a água de diálise apresentasse teste negativo de Cl<sup>-</sup> com nitrato de prata. Para isso, tal procedimento foi mantido durante aproximadamente sete dias, fazendo-se a troca da água deionizada duas vezes por dia. Após a diálise, as amostras foram congeladas e liofilizadas. Após a liofilização os AH foram macerados e armazenados em dessecador.



## **3.7 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA**

### **3.7.1 MÉTODOS QUÍMICOS**

#### **3.7.1.1 Determinação de carbono elementar**

A análise de C elementar foi feita em duplicata para as amostras de solo intacto. O equipamento de análise elementar é um CHNSO, porém foi utilizado com as colunas de combustão e redução para C, H e N. As medidas foram feitas no equipamento CHNS da marca Perkin Elmer modelo 2400, pertencente à Embrapa Instrumentação Agropecuária.

### **3.7.2 MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS**

#### **3.7.2.1 Solos inteiros**

##### **3.7.2.1.1 Fluorescência Induzida por Laser (FIL)**

A avaliação do grau de humificação da matéria orgânica do solo foi realizada através da espectroscopia de fluorescência induzida por laser (FIL). Os espectros de emissão de FIL foram obtidos a partir de amostras de solo peneiradas em peneira com abertura de malha de 0,5 mm (TFSA). O equipamento foi desenvolvido pela Embrapa Instrumentação Agropecuária e possui um laser de diodo (Coherent - CUBE) emitindo em 405 nm com potência máxima de 50 mW, acoplado a um cabo óptico composto por seis fibras ópticas (Ocean Optics) que excitam a amostra e uma fibra óptica central que coleta o sinal de fluorescência do solo. A fluorescência e a reflectância da amostra são conduzidas até um miniespectrômetro de alta sensibilidade (USB4000 - Ocean Optics). Antes de atingir o miniespectrômetro, o sinal é filtrado para atenuar o sinal de reflectância. A emissão da amostra é então difratada através de uma grade de difração fixa e detectada por um arranjo de fotodiodos previamente calibrados. O espectro de emissão é então adquirido através de um software que controla todo o sistema e registra os dados. Para a realização das medidas de FIL, as amostras de solo submetidas aos diferentes tratamentos, foram colocadas em um porta-amostra, onde foram realizadas três medidas por amostra. Estes dados foram utilizados

para cálculo do índice de humificação ( $H_{FIL}$ ). O cálculo deste índice é a razão entre o valor da área sob o espectro de emissão de fluorescência (ACF), compreendida entre 475 e 800 nm, e o valor da concentração de carbono orgânico total presente na amostra (MILORI et al., 2006).

As medidas foram realizadas no Instrumento de FIL portátil pertencente à Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos-SP.

### **3.7.2.1.2 Espectroscopia na região do Infravermelho Próximo (NIRS)**

Para a obtenção dos espectros dos solos referentes aos diferentes tratamentos, as amostras foram secas ao ar, passadas em peneiras de 0,5 mm e analisadas em espectrômetros no infravermelho próximo (10000 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ ), com resolução de 16  $\text{cm}^{-1}$  e acumulação de 32 varreduras por espectro. Foram obtidos espectros de refletância transformados automaticamente para absorbância e Kubelka-Munk pelos *softwares* dos equipamentos. Todos os espectros foram centrados na média e submetidos ao cálculo da 1ª derivada com 5 pontos.

O equipamento utilizado foi o espectrômetro no infravermelho próximo com refletância difusa Perkin-Elmer, modelo Spectrum 100N, pertencente à Embrapa Instrumentação Agropecuária.

### **3.7.2.2 Ácidos Húmicos**

#### **3.7.2.2.1 Espectroscopia na região do Infravermelho Médio com Transformada de Fourier (FTIR)**

As medidas por FTIR foram feitas com base na metodologia sugerida por Stevenson, (1994). As pastilhas foram preparadas na proporção de 1 mg de amostra de ácido húmico para cada 100 mg de KBr. Os espectros foram obtidos a partir de 32 varreduras no intervalo de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$  com resolução espectral de 4  $\text{cm}^{-1}$ .

O equipamento utilizado foi o espectrômetro de FTIR da Perkin-Elmer modelo Spectrum 1000, pertencente à Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos-SP.

### 3.7.2.2.2 Fluorescência

Os espectros de fluorescência foram obtidos a partir de soluções de  $10 \text{ mg kg}^{-1}$  de ácido húmico. As soluções foram preparadas através da diluição de soluções de 2 mg de amostra em 10 mL de  $\text{NaHCO}_3$   $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ , ajustadas para pH 8. Os espectros de fluorescência foram adquiridos nos modos de emissão e excitação, segundo as metodologias propostas por ZSOLNAY et al. (1999); MILORI et al. (2002); KALBITZ et al. (1999).

Os espectros de emissão segundo Zolnay et al. (1999), foram obtidos com excitação em 240 nm, intervalo de varredura entre 300-700 nm e filtro em 290 nm. A determinação do índice de humificação foi realizada dividindo a área da emissão entre 570-641 nm ( $A_4$ ) pela área da emissão entre 356-432 nm ( $A_1$ ). Já os espectros de emissão segundo a metodologia proposta por Milori et al. (2002), foram obtidos com excitação em 465 nm, intervalo de varredura entre 480-700 nm e com filtro aberto. A determinação do índice de humificação foi baseada na área do espectro de emissão ( $A_{465}$ ). Os espectros de varredura sincronizada, segundo a metodologia proposta por Kalbitz et al. (1999), foram obtidos entre 300-520 nm simultaneamente com excitação e emissão, com filtro aberto e diferença de comprimento de onda  $\Delta\lambda = 55 \text{ nm}$ . A determinação do índice de humificação foi realizada a partir da razão entre as intensidades de fluorescência em 400 e 360 nm, ou 470 e 360 nm.

O equipamento utilizado para obtenção dos espectros foi o espectrômetro de luminescência Perkin Elmer LS-50B pertencente à Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos-SP.

## **CAPÍTULO 4                      RESULTADOS E DISCUSSÕES**

---

### **4.1 DETERMINAÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL DAS PLANTAS**

#### **4.1.1 Diagnóstico do estado nutricional pelo método visual**

Após três meses do transplante das mudas aos vasos, algumas plantas referentes aos tratamentos L2, L3 e L4 começaram a apresentar amarelecimento das folhas. Nas plantas referentes ao tratamento L1, após um mês do transplantes aos vasos, já apresentavam coloração diferenciada dos demais tratamentos, em tons de verde-claro. As plantas referentes a aplicação de adubo mineral (NPK), apresentaram coloração verde escura intensa ao longo do experimento. As plantas testemunhas, ou seja, as plantas dos vasos em que não foi feita adubação orgânica nem mineral, apresentaram coloração amarelo-clara desde 1 mês após o transplante das mudas aos vasos.

Em geral, os sintomas de deficiência observados apareceram primeiramente nas folhas mais velhas, ou seja, a deficiência está relacionada a um nutriente móvel na planta. Pois segundo Fontes (2006), a localização dos sintomas nas folhas novas ou velhas depende da mobilidade do nutriente na planta. Os elementos considerados móveis no floema têm um gradiente de aumento de suas concentrações das folhas velhas para as folhas novas. Os nutriente móveis são: N, P, K e Mg.

Ao se fazer o diagnóstico foi possível observar que os sintomas surgiram simetricamente nas folhas, o que indica possivelmente deficiência nutricional. Pois segundo Fontes (2006), plantas com desordem nutricional apresentam os sintomas de forma simétrica nas folhas. Os sintomas de definciência de mineirais, mais comumente verificados nas folhas, em todo limbo foliar, ou entre as nervuras, são: clorose, deformações e necrose. O termo clorose significa amarelecimento. A clorose uniforme é o sintoma mais evidente da deficiência de N, causando redução do teor de clorofila nas folhas e queda das folhas mais

velhas (FONTES, 2006), sintoma observado nas plantas em geral, porém em tempos diferentes de acordo com os tratamentos.

Para o tratamento L1, em todas as dosagens aplicadas, ocorreu uma clorose generalizada, ou seja, em toda folha. As plantas referentes aos tratamentos L1 (doses: 0,5, 1,5 e 3,0%) também apresentaram sintomas como folhas menores e restrições no crescimento, o que, segundo Fontes (2006), são sintomas típicos de deficiência de N (Figura 4.1).



Figura 4.1 - Plantas (*Ocimum Selloi* Benth) com 1 mês após transplantes aos vasos, referentes aos tratamento L1 (apresenta amarelecimento das folhas) e L2 (aparentemente saudável), em dosagem máxima (30 ton ha<sup>-1</sup>). L1: adubação com composto de poda de árvores e L2: adubação com composto de poda de árvores + esterco bovino.

Possivelmente o amarelecimento das folhas ocorreu devido à deficiência de nitrogênio. Comparando o desempenho dos tratamentos, pôde-se observar que as plantas com melhores características visuais, tais como a pigmentação das folhagens e altura foram as plantas referentes ao tratamento com fertilizante mineral. As plantas cujo solo do vaso foi tratado com os compostos L1 e L4, foram respectivamente a primeira e a segunda que começaram a amarelar, tornando-se visualmente semelhantes às plantas dos vasos referência (sem adubação orgânica ou mineral). As plantas referentes aos tratamentos L3 e L2, independente das doses aplicadas, foram as que mais se aproximaram, em características visuais, das plantas cujo solo foi tratado com fertilizante mineral sendo respectivamente o

terceiro e quarto tratamento a apresentar amarelecimento nas folhas (aproximadamente 90 dias após o transplante das mudas aos vasos). Os resultados estão de acordo com as investigações químicas de Fialho et al. (2010) com os compostos orgânicos aplicados. Os resultados dos autores citados mostraram que o composto L1 não mudou sua composição no processo de compostagem em comparação ao material de partida. Isso devido ao fato da poda de árvore ser um material muito fibroso e que contém alto conteúdo de lignina, o que dificulta sua decomposição.

#### **4.1.2 Teor de macro e micronutrientes, altura, MSF e MSC**

Os níveis de macro/micronutrientes nas folhas das plantas, os valores de altura, massa seca das folhas (MSF), massa seca do caule (MSC) foram analisados para avaliar o desempenho dos tratamentos testados (L1, L2, L3 e L4).

##### **4.1.2.1 Teor de macro e micronutrientes**

A Tabela 4.1 apresenta os teores de macro e micronutrientes presentes no tecido vegetal amostrado de cada um dos 42 vasos do experimento. Devido a dispersão dos resultados, optou-se por não trabalhar com as médias dos valores para cada tratamento e sim considerar cada réplica do tratamento independentemente.

Tabela 4.1 - Teor de macro e micronutrientes do tecido vegetal das plantas de cada vaso do experimento

Tratamentos	N	P	K (g/kg)	Ca	Mg	Fe	Mn	Cu (mg/kg)	Zn
TEST	9,00	2,50	5,50	14,10	7,50	426,00	14,00	8,00	21,00
TEST	5,50	2,80	24,80	12,00	4,50	88,00	7,00	8,00	25,00
TEST	11,10	1,90	9,60	13,70	5,90	175,00	12,00	11,00	44,00
MINERAL	12,40	2,50	23,80	7,40	2,70	249,00	50,00	7,00	35,00
MINERAL	16,50	2,00	24,50	4,40	2,50	112,00	43,00	7,00	24,00
MINERAL	7,00	2,40	22,00	6,20	2,20	154,00	34,00	7,00	52,00
L1-5	8,30	2,60	10,80	13,80	5,60	174,00	8,00	8,00	25,00
L1-5	7,00	1,60	6,70	17,60	6,50	120,00	10,00	9,00	28,00
L1-5	8,90	1,90	7,00	19,00	8,50	195,00	15,00	10,00	40,00
L1-15	5,60	3,00	18,50	15,70	5,00	218,00	6,00	7,00	26,00
L1-15	5,20	2,50	20,40	16,90	5,80	102,00	4,00	7,00	39,00
L1-15	8,80	2,00	9,50	14,70	6,00	118,00	9,00	10,00	24,00
L1-30	6,30	5,70	28,90	13,00	4,10	184,00	8,00	6,00	33,00
L1-30	7,50	4,60	21,80	8,90	2,80	104,00	5,00	7,00	41,00
L1-30	11,00	4,70	28,50	15,90	4,70	403,00	8,00	15,00	48,00
L2-5	7,70	2,30	7,80	14,40	5,40	131,00	6,00	5,00	23,00
L2-5	8,70	2,20	7,10	12,60	5,00	149,00	4,00	4,00	22,00
L2-5	8,00	2,10	7,10	19,20	8,40	168,00	9,00	10,00	33,00
L2-15	7,70	3,90	8,80	9,80	3,00	172,00	3,00	5,00	26,00
L2-15	5,40	3,80	16,60	11,00	4,30	103,00	6,00	8,00	47,00
L2-15	6,70	2,60	14,00	8,80	3,50	66,00	5,00	7,00	36,00
L2-30	8,60	3,00	15,80	10,50	3,30	147,00	6,00	5,00	23,00
L2-30	9,90	2,20	6,50	9,80	4,60	104,00	8,00	7,00	20,00
L2-30	11,20	2,70	9,20	9,40	3,60	277,00	5,00	8,00	21,00
L3-5	7,20	3,30	17,50	13,00	3,90	116,00	4,00	8,00	37,00
L3-5	7,50	4,10	17,90	13,60	4,90	108,00	6,00	8,00	30,00
L3-5	8,00	2,20	16,60	12,30	4,10	97,00	2,00	8,00	30,00
L3-15	8,00	1,80	15,80	7,80	3,10	83,00	6,00	8,00	27,00
L3-15	6,40	4,40	24,50	12,20	4,00	157,00	7,00	9,00	34,00
L3-15	7,70	3,00	19,60	8,40	2,30	92,00	2,00	9,00	25,00
L3-30	6,30	3,00	25,50	8,50	2,40	229,00	3,00	7,00	25,00
L3-30	6,90	3,70	28,00	9,00	2,30	107,00	3,00	9,00	30,00
L3-30	7,60	7,50	29,90	11,80	2,80	158,00	10,00	10,00	37,00
L4-5	7,50	2,80	5,10	19,00	6,10	106,00	14,00	6,00	17,00
L4-5	5,70	4,40	17,30	17,80	6,00	125,00	48,00	8,00	27,00
L4-5	6,80	3,20	7,90	13,20	5,90	174,00	9,00	9,00	20,00
L4-15	6,60	4,60	12,70	12,90	4,80	139,00	11,00	8,00	24,00
L4-15	7,80	5,00	11,00	14,40	5,90	78,00	18,00	9,00	31,00
L4-15	8,20	3,50	6,70	21,00	7,70	135,00	12,00	10,00	31,00
L4-30	6,20	7,30	22,50	14,10	4,10	155,00	1,00	9,00	26,00
L4-30	9,80	2,60	5,60	12,70	6,20	107,00	11,00	8,00	21,00
L4-30	8,00	3,60	11,60	12,10	4,50	152,00	7,00	8,00	25,00

<sup>(1)</sup>Test: testemunha (sem adubação orgânica/mineral), Mineral: adubação mineral (NPK), L1: adubação com composto de poda de árvores, L2: adubação com composto de poda de árvores + esterco bovino, L3: adubação com composto de poda de árvores + bagaço de laranja, L4: adubação com composto de poda de árvores + torta de filtro. As oses 5, 15 e 30 ton ha<sup>-1</sup> são representadas respectivamente pelos números 5, 15 e 30.

Na Figura 4.2, estão apresentados os resultados obtidos após tratamento dos valores referentes ao teor de macro e micronutrientes do tecido vegetal das plantas cultivadas, utilizando-se Análise de Componentes Principais (PCA).

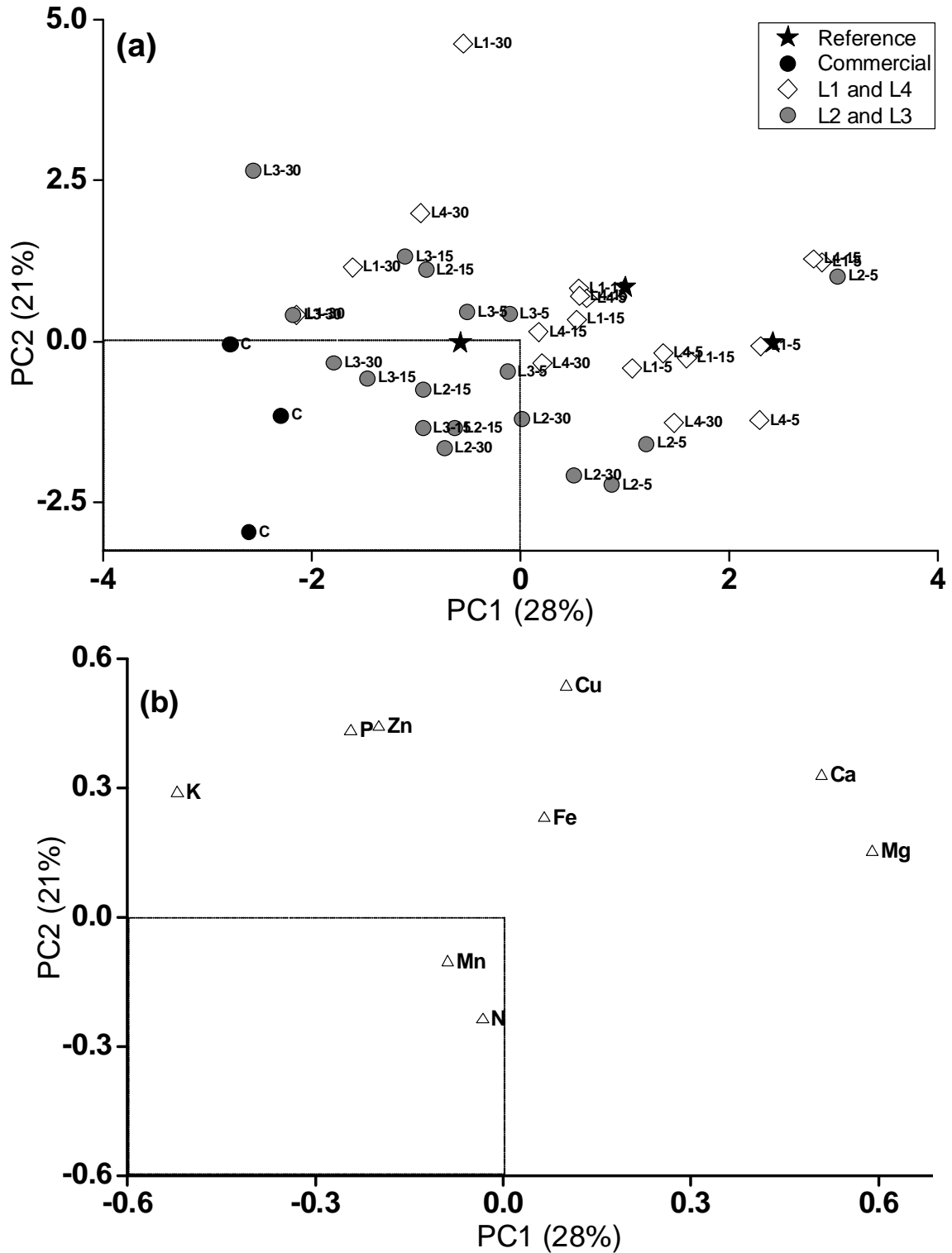


Figura 4.2 - Análise da Componente Principal: gráficos de *scores* (a) e *loadings* (b) para os dados da matriz, com 42 amostras e 9 variáveis.



No gráfico de scores da Figura 4.2a pode-se observar uma tendência de separação em dois grupos principais. As variáveis responsáveis por essa separação possivelmente foram o Mn e N (Figura 4.2b). Foi possível observar no nesse mesmo gráfico, que os tratamentos denominados L2 e L3 foram os mais próximos do tratamento comercial (fertilizante mineral) e os tratamentos L1 e L4 ficaram mais próximos das amostras de referência (testemunha). Neste caso, os níveis de doses entre 15 e 30 ton ha<sup>-1</sup> dos compostos apresentaram uma tendência a influenciar a diferenciação das amostras (FAVORETTO et al., 2010)

Esses resultados evidenciados pela PCA são condizentes com o diagnóstico nutricional das plantas pelo método visual, ambos mostraram a tendência de que os tratamentos L2 e L3 são similares entre si e ao tratamento com fertilizante mineral, podendo trazer maiores benefícios quando aplicados ao solo em questão comparados aos demais tratamentos (L1 e L4), independente da quantidade aplicada.

Esses resultados são similares com as análises químicas e espectroscópicas feitas por Fialho et al. (2010). Os autores afirmam que a relação CTC/C dos compostos, ou seja, a capacidade de troca catiônica que o composto vai ter quando incorporado ao solo, apresenta-se na seguinte ordem: L2  $\simeq$  L3 > L4 > L1 (FIALHO et al., 2010).

#### **4.1.2.2 Altura, Massa Seca das Folhas (MSF) e Massa Seca do Caule (MSC)**

De acordo com Lorenzi & Matos (2002), a *Ocimum Selloi* Benth apresenta como características gerais: subarbusto perene, aromático, ereto, ramificado, de 40-80 cm de altura. Tais características também foram observadas no presente estudo.

Segundo Fontes (2006), a deficiência de nitrogênio ocasiona o crescimento lento da planta, os caules são mais finos e as folhas são de coloração verde-pálida. Como pode ser observado na Figura 4.3, além da coloração verde-pálida das folhas, as demais consequências da deficiência de nitrogênio foram notadamente evidenciados nas plantas referentes ao tratamento L1, independentemente da dosagem aplicada.



Figura 4.3 - Plantas submetidas aos tratamentos L2 nas dosagens 5, 15 e 30 ton ha<sup>-1</sup>. TEST: solo referência sem adubação orgânica ou mineral, L1: adubação com composto de poda de árvores e L2: adubação com composto de poda de árvores + esterco bovino. \*A etiqueta vermelha corresponde a 1,0 x 1,0 cm.

Para o tratamento L2 (composto de poda de árvores + esterco bovino), foi observado, na média, um aumento na altura das plantas com o incremento das doses de adubação orgânica, atingindo um valor máximo de 49,6 cm com a aplicação da dosagem referente 3% do volume de solo (30 ton ha<sup>-1</sup>) (Figuras 4.4 e 4.5).

O comportamento observado para o tratamento L2 é similar ao constatado por Costa et al. (2008), que observou aumento na altura da *Ocimum Selloi* Benth, com o aumento das doses de adubo, atingindo um valor máximo de 67,3 cm com a aplicação de 8 kg m<sup>-2</sup> de esterco bovino, medindo-se o comprimento do solo até a extremidade da inflorescência.



Figura 4.4 - Plantas submetidas aos tratamentos L2 (adubação com composto de poda de árvore + esterco bovino) nas dosagens 5, 15 e 30 ton ha<sup>-1</sup>. \*A etiqueta vermelha corresponde a 1,0 x 1,0 cm.

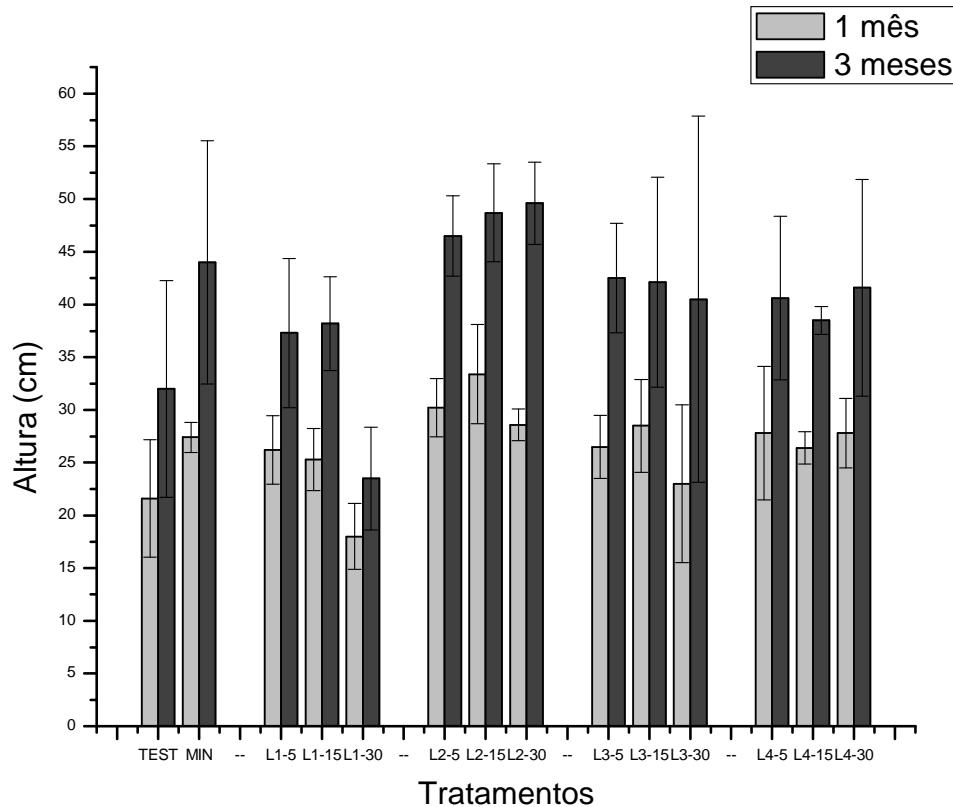


Figura 4.5 - Crescimento da *Ocimum Selloi Benth.*, submetida aos diferentes tratamentos, em altura.

Para os tratamentos L3 e L4 não é possível observar uma tendência no crescimento das plantas de acordo com a adubação. As plantas referentes ao tratamento L3 e L4 atingiram em média, 41,0 cm. Aparentemente as diferentes doses não exerceram influência. Estudos anteriores com *Ocimum basilicum* (BLANK et al., 2005) e *Chamomilla recutita* (CÔRREA JÚNIOR, 1998), também não detectaram efeito das adubações orgânica e mineral sobre a altura das plantas medicinais.

As plantas que receberam o tratamento L1, apresentaram alturas próximas ou menor que altura da planta cujo solo não recebeu nenhum tipo de adubação, atingindo um valor máximo de 38, 2 cm com a aplicação da dosagem referente 1,5% do volume de solo (15 ton ha<sup>-1</sup>) (Figura 4.3). A planta cujo solo não recebeu nenhum tipo de adubação atingiu em média 32,0 cm. Segundo Fialho et al. (2010) o composto L1 é o que apresentaria menor capacidade

de troca catiônica quando incorporado ao solo, corroborando com os resultados de altura obtidos, visto que a deficiência de nitrogênio é um fator limitante ao crescimento da planta.

Os resultados de MSF e MSC, apresentados nas Figuras 4.6 e 4.7, mostram novamente o tratamento L2 em sua maior dosagem com destaque, apresentando, na média, maiores valores para os dois parâmetros. O efeito das doses de matéria orgânica no aumento de produção de biomassa já foi registrado para *Hyptis suaveolens* (MAIA, 2006) atribuindo-se à crescente disponibilidade e à absorção de nutrientes. Entretanto, este comportamento não é contante, pois em *Justicia pectoralis* as doses de adubações orgânica e minerais não influenciaram a produção de biomassa da planta (BEZERRA et al, 2006). Esse resultado é coerente com os resultados de MSF e MSC para as plantas submetidas aos tratamentos L3 e L4.

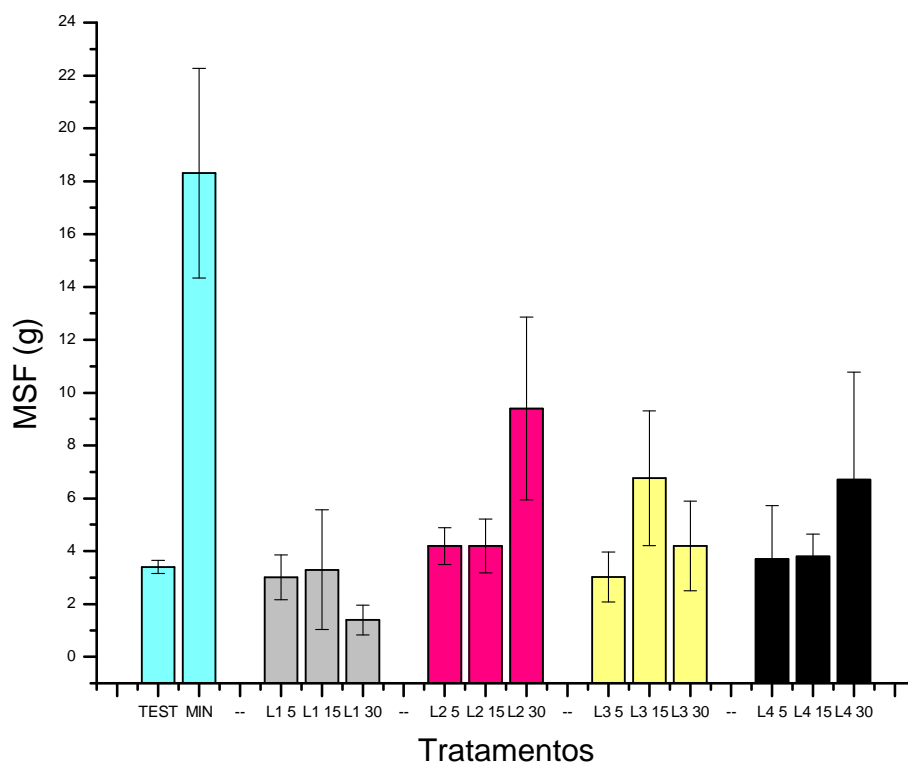


Figura 4.6 - Massa seca das folhas de *Ocimum Selloi* Benth, submetida aos diferentes tratamentos.

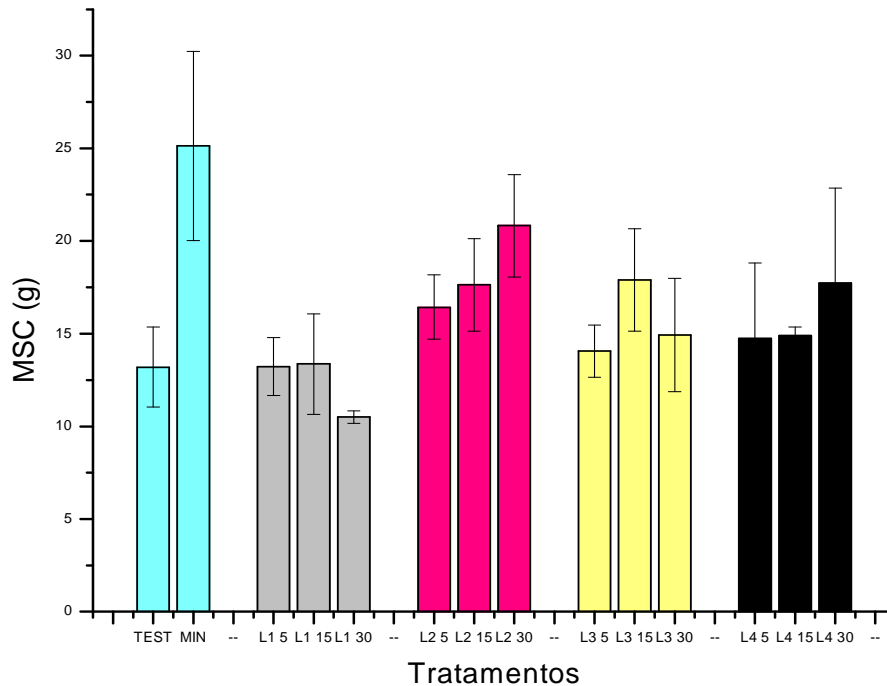


Figura 4.7 - Massa seca dos caules de *Ocimum Selloi* Benth, submetida aos diferentes tratamentos.

## 4.2 TEOR DE MACRO E MICRONUTRIENTES DO SOLO, CAPACIDADE DE TROCA DE CÁTIOS E SATURAÇÃO DE BASES

A fim de explorar os dados da análise química de fertilidade dos solos referentes aos diferentes tratamentos, identificando as variáveis que mais diferenciaram as amostras e verificando correlações entre agrupamentos de amostras e agrupamentos de variáveis, foi utilizada a análise de componentes principais (PCA).

A Tabela 4.2 apresenta os teores de macro e micronutrientes, a CTC e a saturação de bases (SB) dos solos submetidos aos diferentes tratamentos. Devido a dispersão dos resultados, optou-se por não trabalhar com as médias dos valores para cada tratamento e sim considerar cada réplica do tratamento independentemente.

Tabela 4.2 - Teor de macro e micronutrientes, capacidade de troca de cátions e saturação de bases do solo sob os diferentes tratamentos

Tratamentos	Ca	Mg	K (cmolC/dm <sup>3</sup> )	SB	CTC (T)	P (mg/dm <sup>3</sup> )	N (g/kg)	Fe	Mn (mg/kg)	Cu	Zn
TEST	1,8	1,6	0,03	3,43	5,43	3,4	0,42	26,00	1,00	2,00	1,00
TEST	1,3	1	0,05	2,35	4,15	9,3	0,11	22,00	2,00	3,00	4,00
TEST	1,4	1,2	0,02	2,62	4,62	4,4	0,21	24,00	1,00	6,00	8,00
MINERAL	1,7	1,4	0,27	3,37	5,87	51,1	0,32	38,00	11,00	5,00	9,00
MINERAL	2	1,1	0,36	3,46	5,36	51,1	0,21	25,00	7,00	3,00	9,00
MINERAL	1,4	1	0,05	2,45	5,15	45,3	0,40	38,00	11,00	6,00	8,00
L1 5	2	1,7	0,03	3,73	5,63	7,8	0,73	24,00	2,00	2,00	5,00
L1 5	1,7	1,5	0,02	3,22	5,12	14,8	0,10	32,00	2,00	2,00	5,00
L1 5	1,8	1,6	0,02	3,42	5,42	10,6	0,10	30,00	1,00	2,00	3,00
L1 15	2,5	1,8	0,04	3,34	6,14	37,4	0,92	32,00	6,00	2,00	7,00
L1 15	2	1,4	0,06	3,46	5,06	11,4	1,30	24,00	2,00	3,00	7,00
L1 15	2	1,7	0,03	3,73	5,63	12,9	0,40	32,00	6,00	2,00	2,00
L1 30	1,9	1,5	0,1	3,5	5,4	3,1	0,20	34,00	3,00	5,00	7,00
L1 30	1,8	1,5	0,06	3,36	5,26	8,3	1,21	36,00	3,00	2,00	3,00
L1 30	1,7	1,2	0,09	2,99	4,79	5,1	0,11	22,00	2,00	2,00	2,00
L2 5	1,8	1,5	0,03	3,33	5,33	7,2	0,30	38,00	3,00	3,00	5,00
L2 5	1,9	1,7	0,03	3,63	5,83	4,2	0,76	26,00	1,00	3,00	4,00
L2 5	1,8	1,6	0,02	3,42	5,42	11,6	0,11	26,00	2,00	2,00	6,00
L2 15	1,9	1,6	0,03	3,53	5,43	13,9	0,80	36,00	4,00	3,00	5,00
L2 15	1,7	1,5	0,03	3,23	5,13	30,5	0,42	22,00	2,00	2,00	3,00
L2 15	1,8	1,4	0,02	3,22	5,22	14,1	0,52	29,00	1,00	3,00	8,00
L2 30	2,1	1,6	0,09	3,79	5,79	11,8	0,22	46,00	4,00	7,00	9,00
L2 30	2,2	1,7	0,05	3,95	6,15	18,4	0,65	30,00	6,00	3,00	6,00
L2 30	2,3	1,8	0,06	4,16	6,06	15,1	0,20	32,00	5,00	5,00	5,00
L3 5	1,6	1,4	0,04	3,04	5,04	3,7	1,36	26,00	2,00	9,00	8,00
L3 5	1,9	1,5	0,03	3,43	5,33	15,8	0,51	31,00	2,00	5,00	6,00
L3 5	1,6	1,3	0,02	2,02	4,72	6,3	0,42	25,00	2,00	2,00	7,00
L3 15	2,4	2	0,05	4,45	6,35	12,1	0,42	21,00	1,00	1,00	2,00
L3 15	2,2	1,8	0,04	4,04	5,94	10,1	0,51	33,00	6,00	3,00	4,00
L3 15	2,1	1,7	0,05	3,85	5,85	12,5	0,11	30,00	5,00	2,00	7,00
L3 30	2,1	1,5	0,26	3,86	5,46	19,8	0,64	24,00	2,00	2,00	6,00
L3 30	1,7	1,2	0,2	3,1	4,9	10,3	0,11	18,00	1,00	3,00	9,00
L3 30	1,8	1,2	0,16	3,16	4,96	9,3	0,21	22,00	3,00	4,00	6,00
L4 5	1,8	1,3	0,03	3,13	4,73	13,9	0,21	24,00	2,00	3,00	7,00
L4 5	2,2	1,9	0,02	4,12	5,92	20,7	0,63	29,00	4,00	2,00	3,00
L4 15	2,4	1,6	0,02	4,02	5,82	26,6	0,21	24,00	3,00	3,00	4,00
L4 15	1,8	1,4	0,02	3,22	5,12	30,9	0,21	30,00	5,00	1,00	2,00
L4 15	1,7	1,4	0,02	3,12	4,92	33,5	0,10	30,00	4,00	2,00	2,00
L4 30	2,1	1,3	0,04	3,44	5,04	62,4	0,21	31,00	9,00	5,00	8,00
L4 30	3,1	2,1	0,03	5,23	7,03	48,8	0,10	30,00	7,00	1,00	5,00
L4 30	2,1	1,5	0,04	3,64	5,54	76,8	0,11	44,00	11,00	4,00	6,00

<sup>(1)</sup>Test: testemunha (sem adubação orgânica/mineral), Mineral: adubação mineral (NPK), L1: adubação com composto de poda de árvores, L2: adubação com composto de poda de árvores + esterco bovino, L3: adubação com composto de poda de árvores + bagaço de laranja, L4: adubação com composto de poda de árvores + torta de filtro. As doses 5, 15 e 30 ton ha<sup>-1</sup> são representadas respectivamente pelos números 5, 15 e 30.

As Figuras 4.8 a e b apresentam respectivamente o gráfico de scores e de loadings obtidos na análise multivariada dos dados.

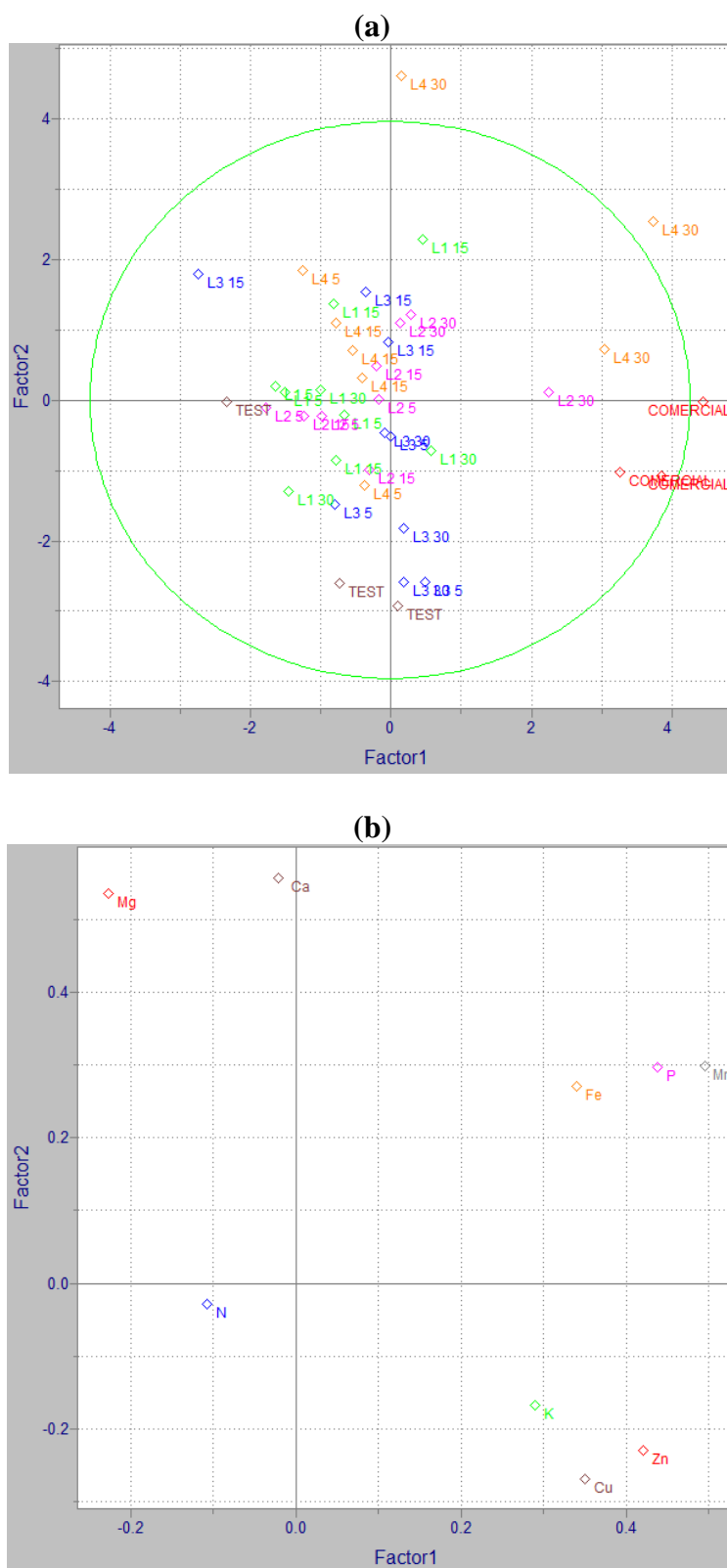


Figura 4.8 - Análise da Componente Principal: gráficos de *scores* (a) e *loadings* (b) para os dados da matriz, com 42 amostras e 9 variáveis.

A análise das componentes principais mostrou uma tendência de similaridade entre todas as amostras. As amostras ao tratamento L4 em sua maior dosagem (30 ton ha<sup>-1</sup>) se destacam das demais devido ao alto teor de fósforo, se aproximando mais das amostras referentes ao tratamento comercial.

Fazendo uma análise da componente principal a partir dos resultados de CTC e de SB, as amostras apresentaram melhor tendência a separação (Figura 4.9). Pode-se observar que as amostras referentes aos tratamentos L2 e L3 são mais próximas entre si e ao tratamento comercial (adubação mineral) e, se destacam pela maior capacidade de troca de cátions no solo. Enquanto que as amostras referentes aos tratamentos L1 e L4 apresentam maior similaridade entre si e com as amostras de solo referência (sem adubação orgânica ou mineral), as quais possuem menor capacidade de troca catiônica (representada pela letra T no gráfico de *loadings*) (Figuras 4.9 a e b).



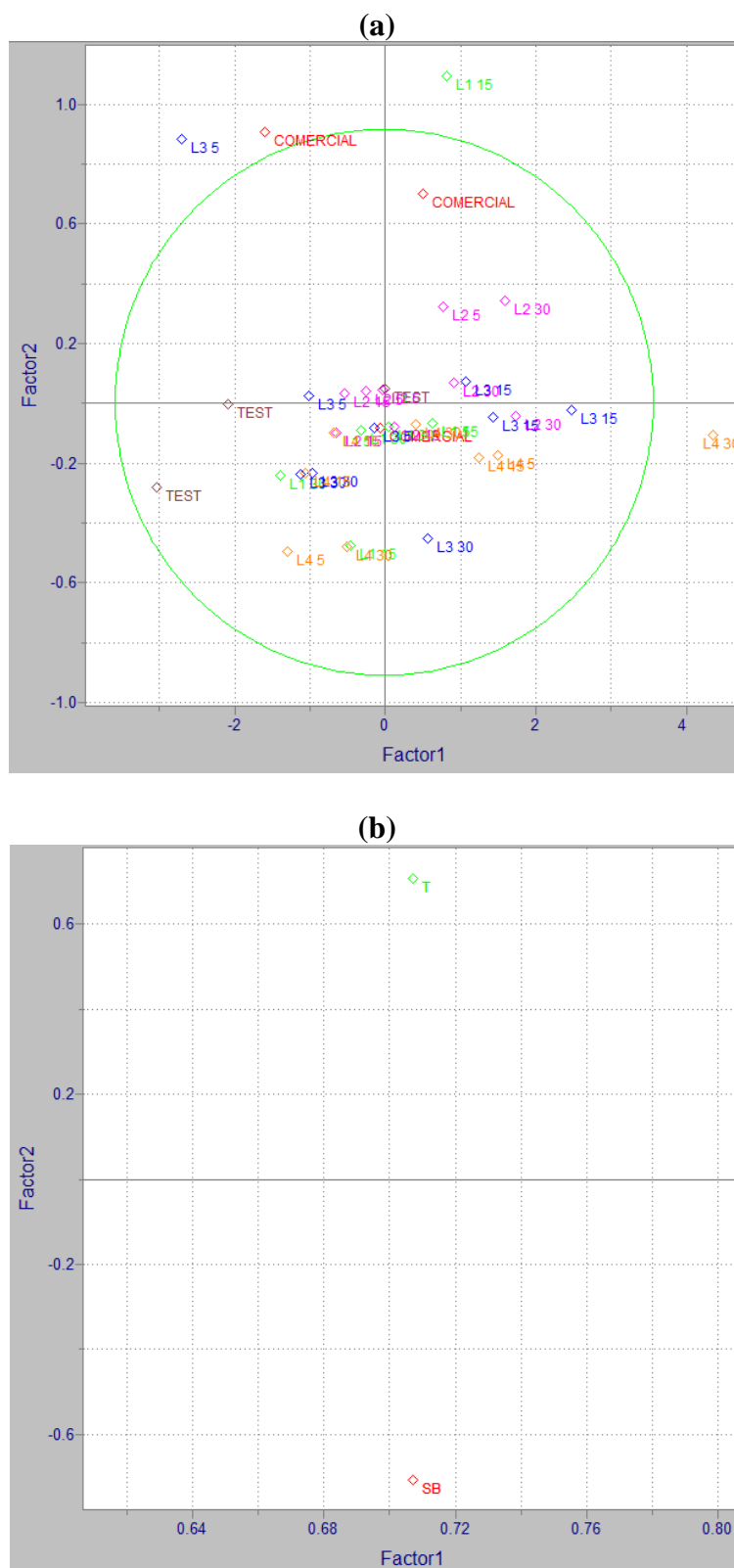


Figura 4.9 - Análise da Componente Principal: gráficos de *scores* (a) e *loadings* (b) para os dados da matriz, com 42 amostras e 2 variáveis.

## 4.3 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA

### 4.3.1 Solo

As amostras compostas de solo dos vasos referentes aos tratamentos testemunha (sem adubação orgânica/mineral), com adubação mineral, com aplicação dos compostos L1, L2, L3 e L4 nas diferentes dosagens, foram analisadas quanto ao teor de carbono (método químico) e foram feitas as análises espectroscópicas de FIL e NIRS.

#### 4.3.1.1 Teor de carbono

Os valores obtidos para carbono elementar dos solos em seus diferentes tratamentos estão apresentados na Tabela 4.3. A Figura 4.10 ilustra o comportamento de tais valores em função dos tratamentos.

Tabela 4.3 - Teor de carbono (%) das amostras de solo submetidas aos diferentes tratamentos determinados pelo método de análise elementar.

Tratamentos <sup>(1)</sup>	Teor de C (%)
<b>TEST</b>	0,85
<b>MINERAL</b>	0,82±0,03
<b>L1-5</b>	0,76±0,03
<b>L1-15</b>	0,90±0,01
<b>L1-30</b>	0,74±0,01
<b>L2-5</b>	0,89±0,03
<b>L2-15</b>	0,87±0,03
<b>L2-30</b>	1,05±0,03
<b>L3-5</b>	0,75±0,03
<b>L3-15</b>	0,89±0,06
<b>L3-30</b>	0,67±0,06
<b>L4-5</b>	0,82±0,06
<b>L4-15</b>	0,73±0,02
<b>L4-30</b>	0,82±0,09

<sup>(1)</sup>Test: testemunha (sem adubação orgânica/mineral), Mineral: adubação mineral (NPK), L1: adubação com composto de poda de árvores, L2: adubação com composto de poda de árvores + esterco bovino, L3: adubação com composto de poda de árvores + bagaço de laranja, L4: adubação com composto de poda de árvores + torta de filtro. As doses 5, 15 e 30 ton ha<sup>-1</sup> são representadas respectivamente pelos números 5, 15 e 30.

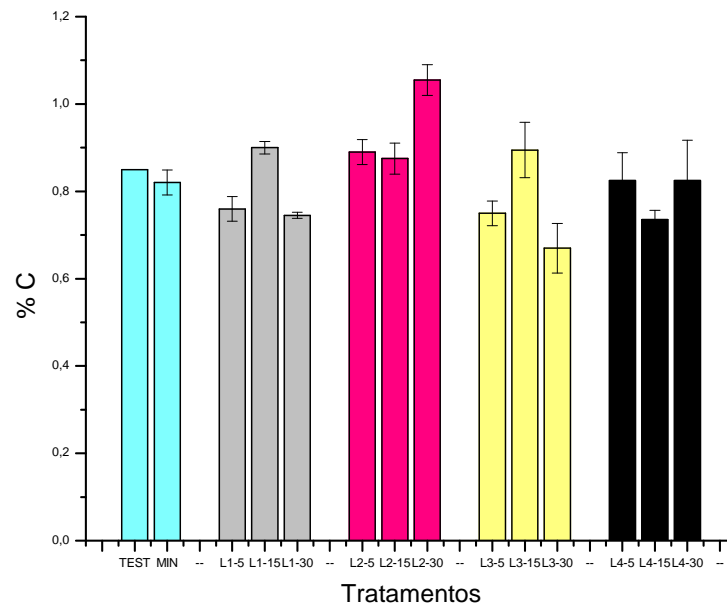


Figura 4.10 - Gráficos de valores de teor de carbono de amostras de solo submetido aos diferentes tipos de tratamentos. TEST: testemunha (sem adubação orgânica/mineral), MIN: adubação mineral (NPK), L1: adubação com composto de poda de árvores, L2: adubação com composto de poda de árvores + esterco bovino, L3: adubação com composto de poda de árvores + bagaço de laranja, L4: adubação com composto de poda de árvores + torta de filtro. As doses 5, 15 e 30 ton ha<sup>-1</sup> (0,5; 1,5 e 3,0 % v/v) são representadas respectivamente pelos números 5, 15 e 30.

Os teores de carbono determinados pela análise elementar para as amostras de solo sob os diferentes tratamentos, não apresentaram uma tendência muito clara para todos os tratamentos.

O tratamento L2 se destaca entre os demais apresentando um incremento no teor de C comparado ao tratamento referência (testemunha).

Para os tratamentos L1 e L3, nas dosagens 5 e 30 ton ha<sup>-1</sup>, e para o tratamento L4 na dosagem 15 ton ha<sup>-1</sup>, pode-se observar considerável diminuição nos teores de carbono quando comparados ao solo sem adubação. A condição dos tratamentos anteriormente citados é confirmada por Guggenberger et al. (1995), que observam que solos arenosos geralmente apresentam menor conteúdo de matéria orgânica que solos ricos em silte ou argila, uma vez que a matéria orgânica associada à areia não está protegida em complexos organo-minerais. Na presença de silte ou argila ocorre a formação desses complexos, os quais contribuem para

maior estabilização do material orgânico, tornando-o menos susceptível a variações de umidade e temperatura. Portanto, a diminuição do teor de C para esses tratamentos pode ser atribuída à degradação do carbono da fração lábil, causada pelo aumento da atividade microbiana relacionada à ação do composto no solo.

A utilização de compostos orgânicos, representa incorporação de matéria orgânica relativamente fresca ao solo, o que provoca alteração na taxa de degradação desta causando uma diminuição no teor de carbono. Essa situação pode ser vista como preocupante, pois representa, entre outros fatores, a perda de matéria orgânica do solo, o que pode causar limitações na fertilidade e estrutura do solo. A perda de carbono possivelmente acarretará o incremento de CO<sub>2</sub> na atmosfera, causando aumento da concentração de gases do efeito estufa, fato que contribui negativamente para o cenário de aquecimento global. A diminuição observada nos tratamentos L1 e L3, ambos nas dosagens 5 e 30 ton ha<sup>-1</sup>, e para o tratamento L4 na dosagem 15 ton ha<sup>-1</sup>, pode ter sido ocasionada pelo consumo da matéria orgânica aportada e estável devido ao aumento da atividade microbiana no solo conforme também foi observado por Fontaine et al. (2007).

#### **4.3.1.2 Fluorescência Induzida por Laser (FIL)**

A fim de se obter informações sobre o grau de humificação (H<sub>FIL</sub>) das amostras de solo intacto, foram conduzidos os experimentos de FIL. Na Figura 4.11, apresenta-se o comportamento do grau de humificação em função dos diferentes tratamentos do solo.

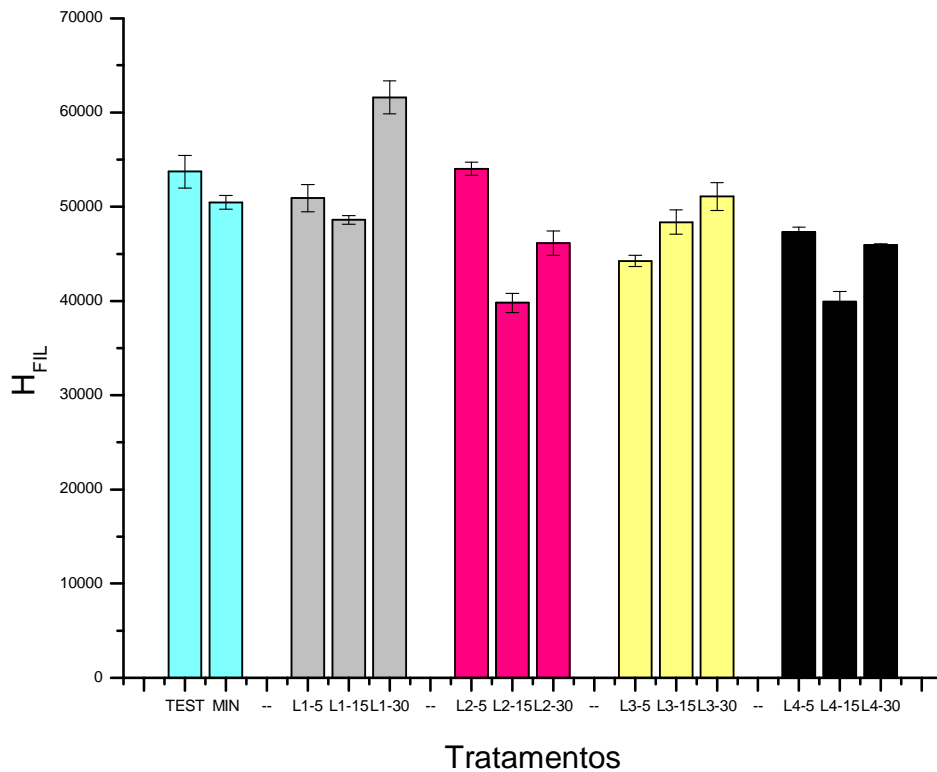


Figura 4.11 - Valores de  $H_{FIL}$  referentes às amostras de solo submetido aos diferentes tipos de tratamentos. TEST: testemunha (sem adubação orgânica/mineral), MIN: adubação mineral (NPK), L1: adubação com composto de poda de árvores, L2: adubação com composto de poda de árvores + esterco bovino, L3: adubação com composto de poda de árvores + bagaço de laranja, L4: adubação com composto de poda de árvores + torta de filtro. As doses 5, 15 e 30  $\text{ton ha}^{-1}$  são representadas pelos números 5, 15 e 30.

Para o tratamentos L1 em sua maior dosagem ( $30 \text{ ton ha}^{-1}$ ) foi observado um incremento no grau de humificação com relação ao solo testemunha. Contudo, para os demais tratamentos foi observado menor grau de humificação que o solo referência, o qual não recebeu adubação orgânica, nem mineral. Para os tratamentos L1 e L3 nas três dosagens aplicadas, pode-se observar a que houve um aumento do grau de humificação com o aporte de matéria orgânica ao solo, sendo que o gradiente de aumento é mais acentuado para o tratamento L1. Segundo Fialho et al. (2010) o composto L1, cujo material de origem foi apenas poda de árvore, não foi completamente degradado, apresentando-se pouco humificado após os 7 meses de compostagem. Possivelmente, devido a complexidade do material, sua adição ao solo resultou em maior atividade microbiana afim de degradá-lo.

Segundo Santos et al. (2005), estudos com aplicação de lodo de esgoto a diferentes latossolos constataram uma diminuição gradual no grau de humificação em função da adição de lodo de esgoto. Esta diminuição do grau de humificação pode ser atribuída à incorporação de compostos menos humificados procedentes do lodo de esgoto (GONZÁLEZ-PÉREZ et al., 2004) fato que provavelmente também explica a diminuição do grau de humificação com a adição dos compostos L2 e L4 ao solo em questão.

#### 4.3.1.3 Espectroscopia na região do Infravermelho Próximo (NIRS)

Os experimentos de NIRS foram realizados, para obter informações sobre possíveis diferenças na composição de grupos funcionais da matéria orgânica do solo intacto para os diferentes tratamentos.

A Figura 4.12 apresenta alguns espectros de NIRS representativos das amostras analisadas. Observou-se o mesmo perfil espectral para todos os tratamentos analisados.

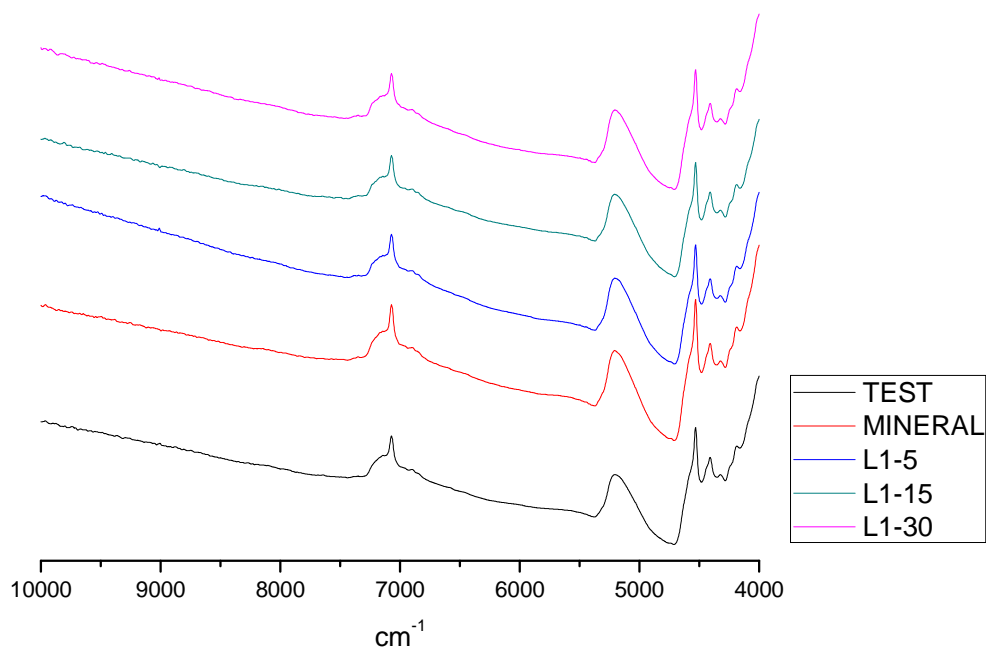


Figura 4.12 – Espectros de absorvância em infravermelho próximo dos solos sem adubação (TEST), com adubação mineral (MINERAL), com aplicação do composto L1 nas dosagens, 5, 15 e 30 ton ha<sup>-1</sup> (L1-5, L1-15 e L1-30 respectivamente).

O sinal em  $7144\text{ cm}^{-1}$  pode ser atribuído a vibrações OH de Al(OH) o que indica a presença de caulinita e/ou montmorilonita. Já o sinal mais bem definido em  $7068\text{ cm}^{-1}$  e outro pouco visível em  $6902\text{ cm}^{-1}$  podem ser resultantes da 1ª harmônica da absorção de OH referentes à alcoóis e fenóis. É possível atribuir também a absorção em  $7068\text{ cm}^{-1}$  às vibrações OH de moléculas de água adsorvidas pela montmorilonita e à combinação de estiramentos CH.

Em  $5186\text{ cm}^{-1}$  tem-se um sinal mais intenso, sempre presente nas amostras de solo, resultante da 1ª harmônica do estiramento CH de grupos metilas, metilenos e etilenos, da absorção por fosfatos orgânicos e de vários outros grupos funcionais presentes em celulose, lignina, amido, pectina e substâncias húmicas, além de água adsorvida por argilominerais como caulinita e montmorilonita.

Dois bandas com absorção máxima marcam a região final dos espectros bem definida. Situadas em  $4530\text{ cm}^{-1}$  e  $4408\text{ cm}^{-1}$ , indicam a presença de caulinita e gibbsita além de combinações entre vibrações de estiramentos de CH, NH e OH. Nesta região do espectro são observadas outras duas bandas, menos intensas e pouco definidas, em  $4320\text{ cm}^{-1}$  e  $4194\text{ cm}^{-1}$ , as quais indicam à presença de água adsorvida à gibbsita. Essas atribuições foram feitas a partir de informações obtidas em Ferraresi, (2010).

Segundo Ferrarezi (2010), é difícil realizar a interpretação dos espectros em NIRS, visto que são constituídos essencialmente de bandas de combinação e harmônicas. Dessa forma foi realizada uma análise de componentes principais (PCA) com os dados espectrais obtidos por NIRS, após 1ª derivada com 5 pontos e centrados na média, utilizando-se 13 PCs.

Na Figura 4.13 é apresentado o gráfico de *scores*, através do qual é possível visualizar a distribuição das amostras, com base em suas propriedades mensuradas e outras características inerentes, e correlacionar os agrupamentos com cada variável medida.

Primeiramente foi feita uma PCA com base em toda extensão do espectro de NIRS (Figuras 4.13 a e b). A partir de dados gerados, pelo *software Pirouette*, verificou-se, que com

a seleção de 3 fatores, 60,51% dos dados são abordados (explicados por essas três componentes principais).

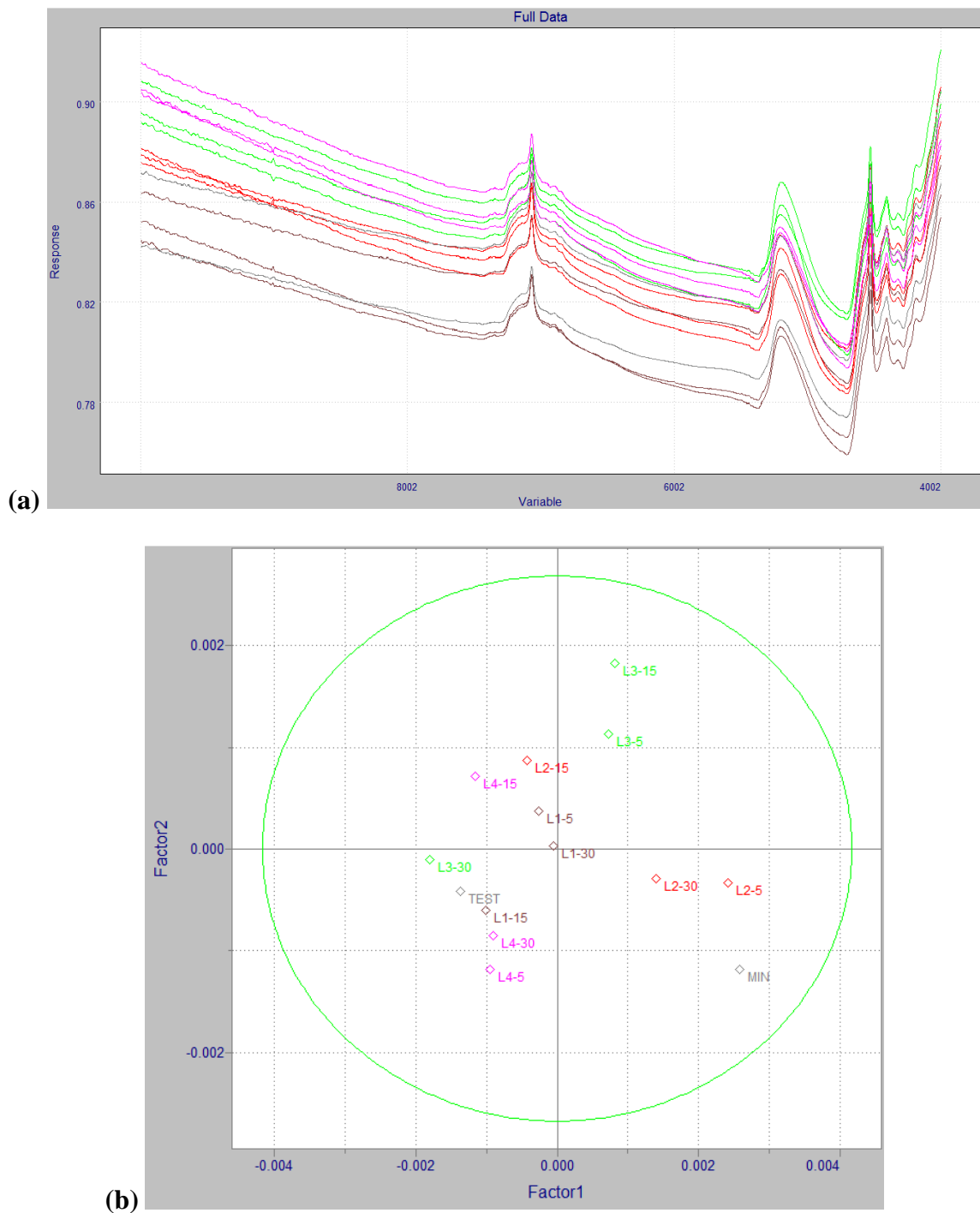


Figura 4.13 - Espectros de NIRS centrados na média (a) e gráfico de *scores* (b) para os dados da matriz, com 42 amostras.

Em busca de uma melhor separação das amostras, a Figura 4.14b, apresenta a PCA feita excluindo-se as regiões mais ruidosas do espectro (Figura 4.14a). Dessa forma a partir de



dados gerados, pelo *software Pirouette*, verificou-se, que com a seleção de 3 fatores, 65,45% dos dados são abordados.

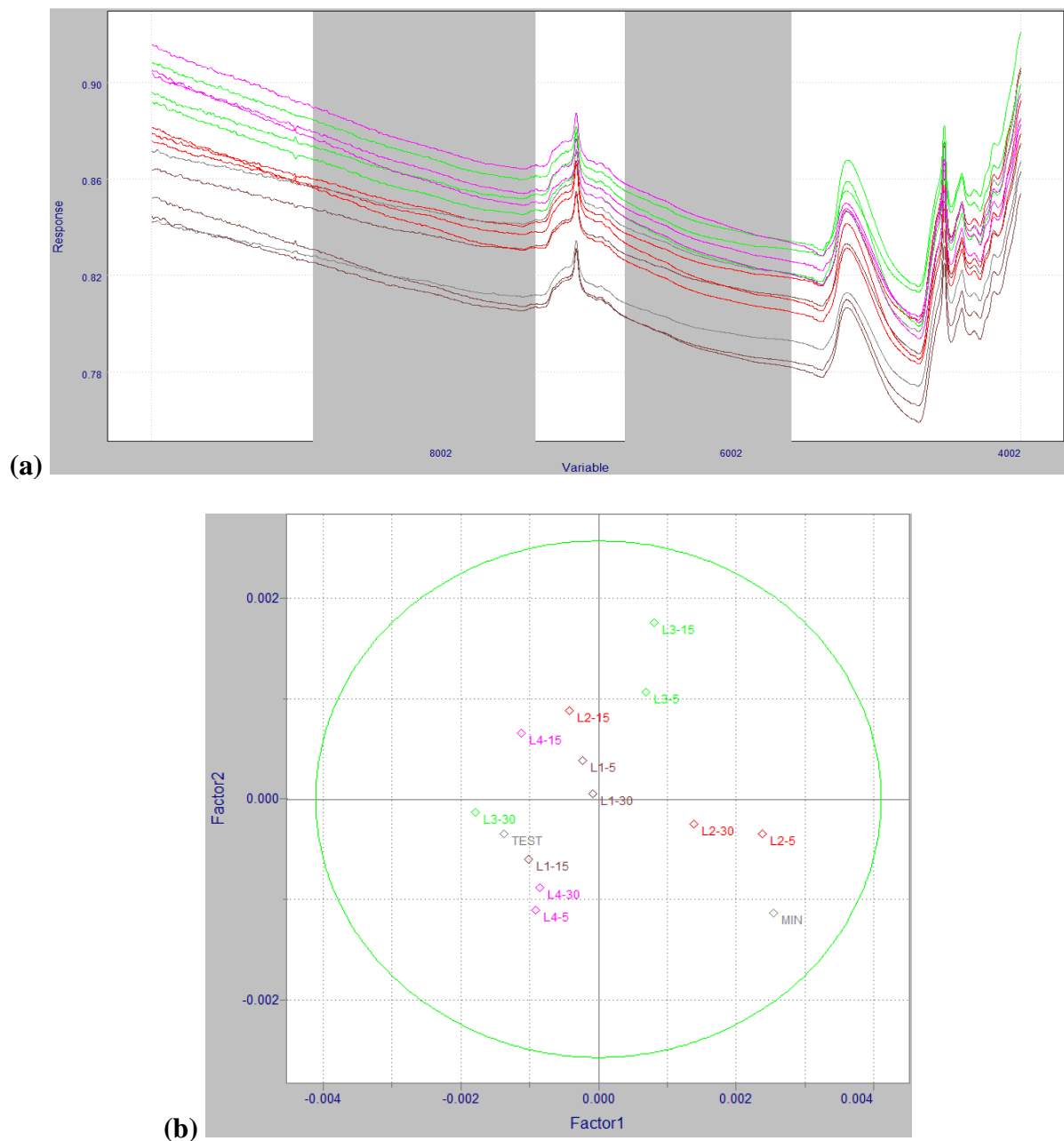


Figura 4.14 - Espectros de NIRS centrados na média (a) e gráfico de *scores* (b) para os dados da matriz, com 42 amostras. Apenas as áreas selecionados em branco no espectros foram consideradas na PCA (exclusão das demais áreas mais ruidosas).

A Figura 4.15a apresenta a PCA feita com base apenas nas regiões de maior peso estatístico, excluindo-se a região central (próxima de zero) no gráfico de loadings (Figura 4.15c). Neste caso, a partir de dados gerados, pelo *software Pirouette*, pode-se verificar, que com a seleção de 3 fatores, 90,14% dos dados são abordados.

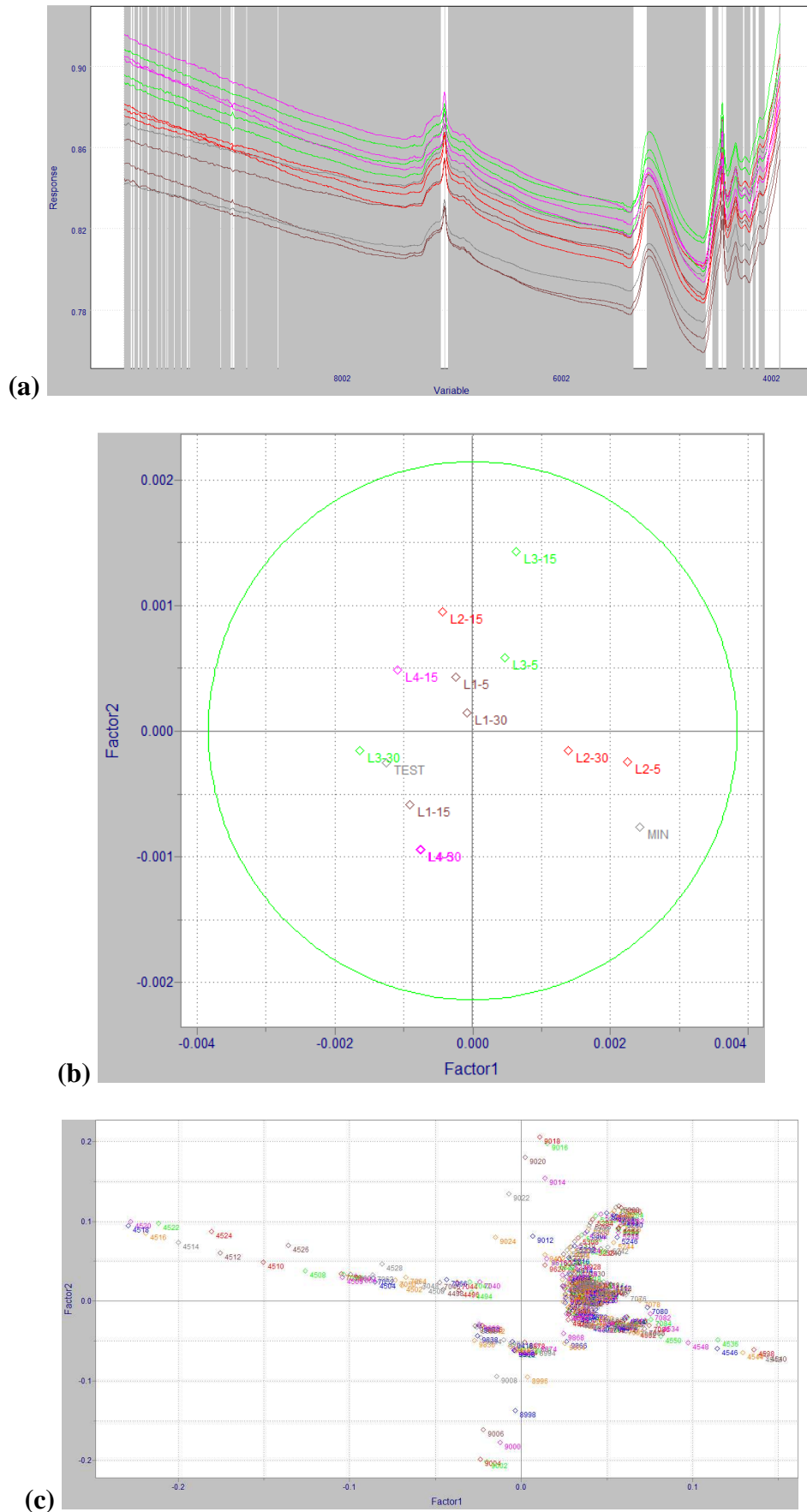


Figura 4.15 - Espectros de NIRS centrados na média (a), gráficos de *scores* (b) e *loadings* (c) para os dados da matriz, com 42 amostras. Apenas as áreas selecionados em branco no espectros foram consideradas na PCA (áreas de maior peso estatístico).

Para as três PCAs realizadas, pode-se observar a tendência de separação dos tratamentos em dois grupos de acordo com o material de origem dos compostos, sendo que os tratamentos L2  $\approx$  L3  $\approx$  MINERAL, enquanto que L1  $\approx$  L4  $\approx$  TESTEMUNHA. Pode-se salientar que o tratamento L2 se destaca dos demais, sendo o que apresenta comportamento mais próximo ao tratamento referente à adubação mineral. Esses resultados são semelhantes as análises nutricionais do tecido vegetal e do solo, além de serem coerentes aos resultados obtidos nas análises químicas e espectroscópicas para os quatro compostos obtidos por Fialho et al. (2010), principalmente com relação à CTC/C dos materiais compostados.

### **4.3.2 Ácidos húmicos**

As amostras de ácidos húmicos extraídos de solos submetidos ou não à adubação orgânica ou mineral foram analisadas espectroscopicamente através dos seguintes métodos: Infravermelho com Transformada de Fourier e Fluorescência.

#### **4.3.2.1 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO MÉDIO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)**

Os experimentos de FTIR foram realizados para obter informações sobre a composição de grupos funcionais, dos ácidos húmicos extraídos dos solos submetidos aos diferentes tratamentos.

Os espectros na região do infravermelho médio para os ácidos húmicos extraídos dos solos submetidos ou não à adubação orgânica ou mineral estão apresentados nas Figuras 4.16, 4.17, 4.18 e 4.19.

A interpretação dos espectros de FTIR foram realizadas de acordo com Niemeyer, (1992); Nakanishi, (1962); Piccolo; Stevenson, (1982); Bloom; Leenheer, (1989); Silverstein; Bassler; Morril, (1994); Canellas et al. (2001); Polak et al. (2005).

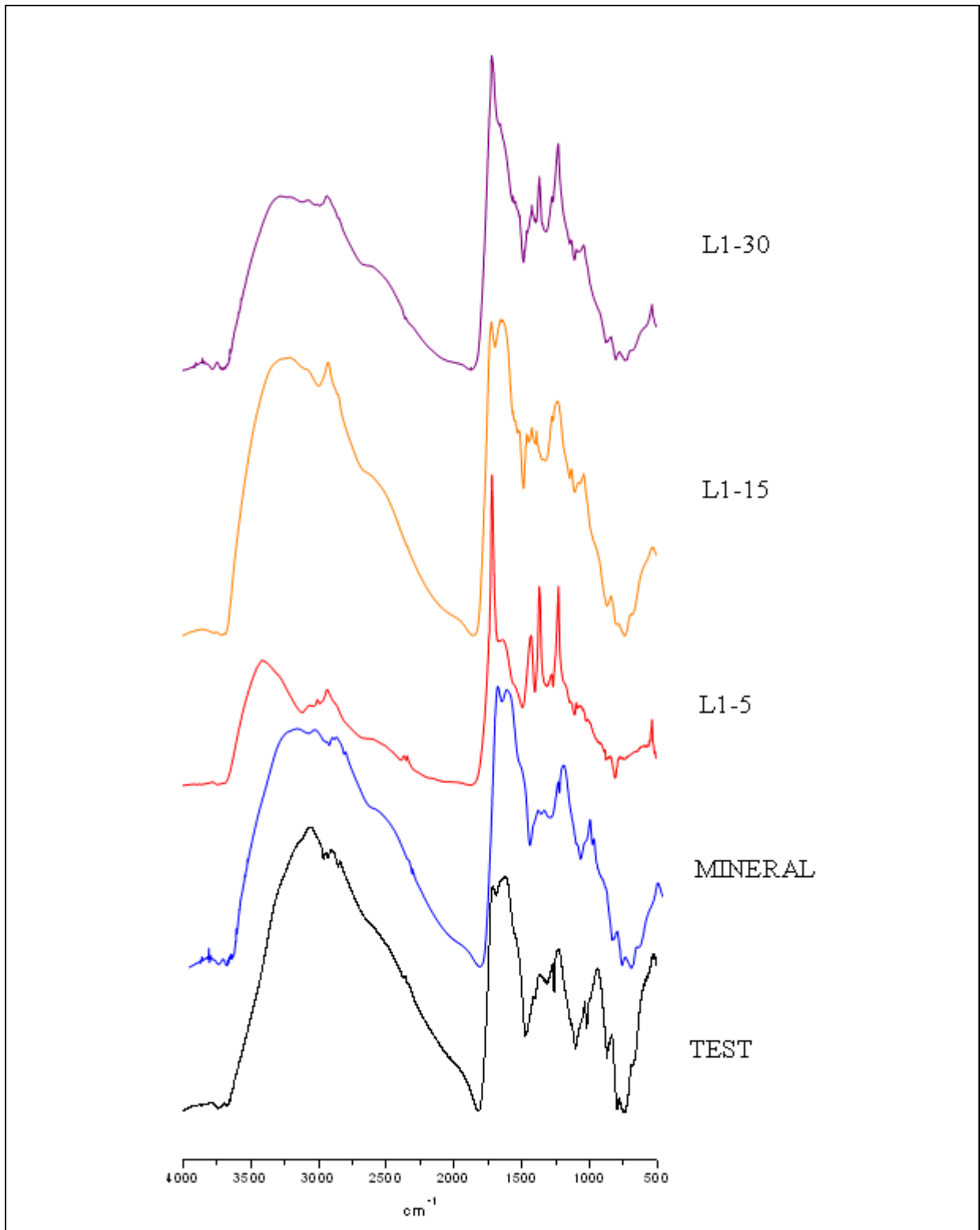


Figura 4.16 - Espectros de FTIR de ácidos húmicos extraídos dos solos sem adubação (TEST), com adubação mineral (MINERAL), com aplicação do composto L1 nas dosagens, 5, 15 e 30 ton ha<sup>-1</sup> (L1-5, L1-15 e L1-30 respectivamente).

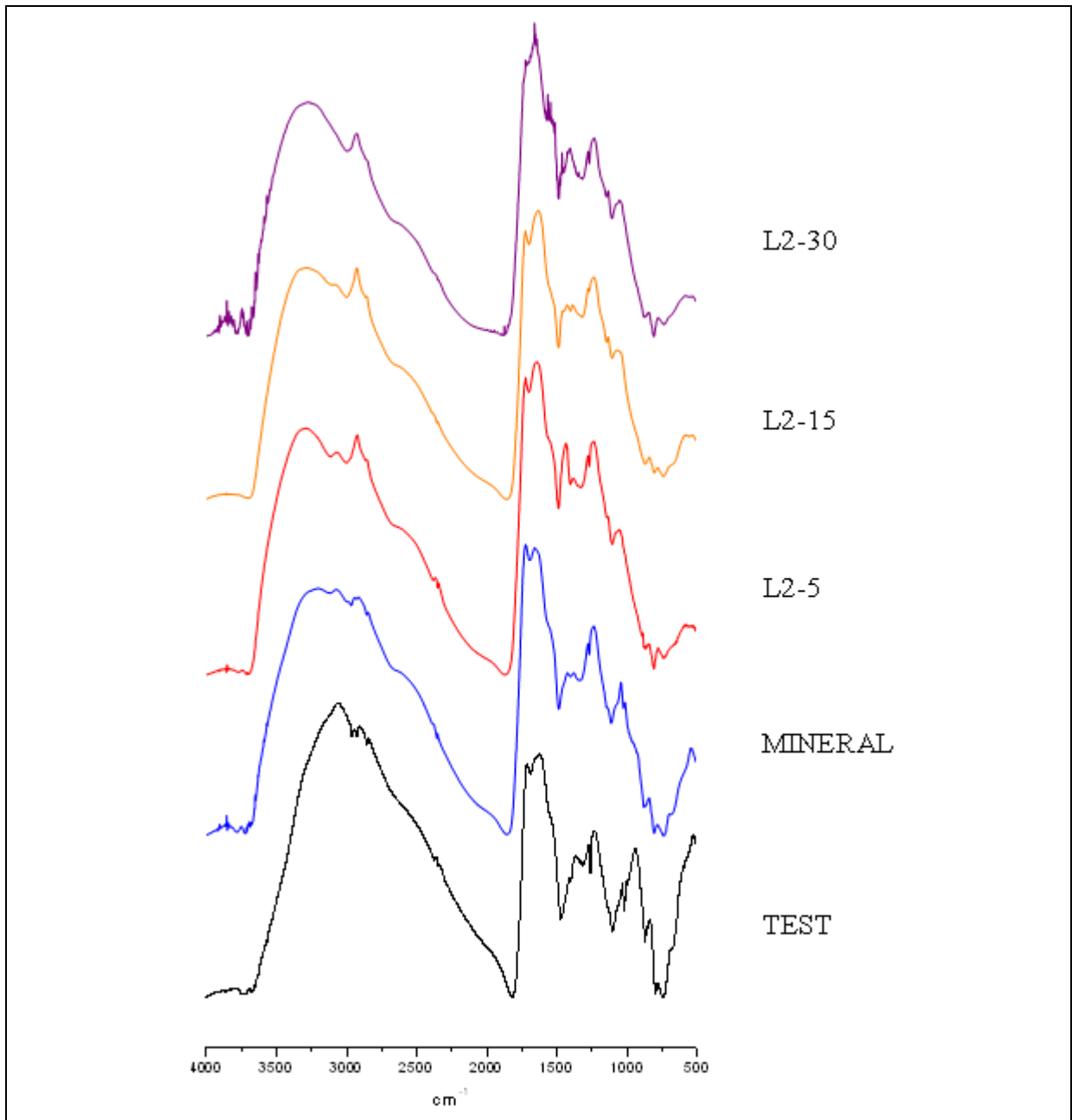


Figura 4.17 - Espectros de FTIR de ácidos húmicos extraídos dos solos sem adubação (TEST), com adubação mineral (MINERAL), com aplicação do composto L2 nas dosagens, 5, 15 e 30 ton ha<sup>-1</sup> (L2-5, L2-15 e L2-30 respectivamente).

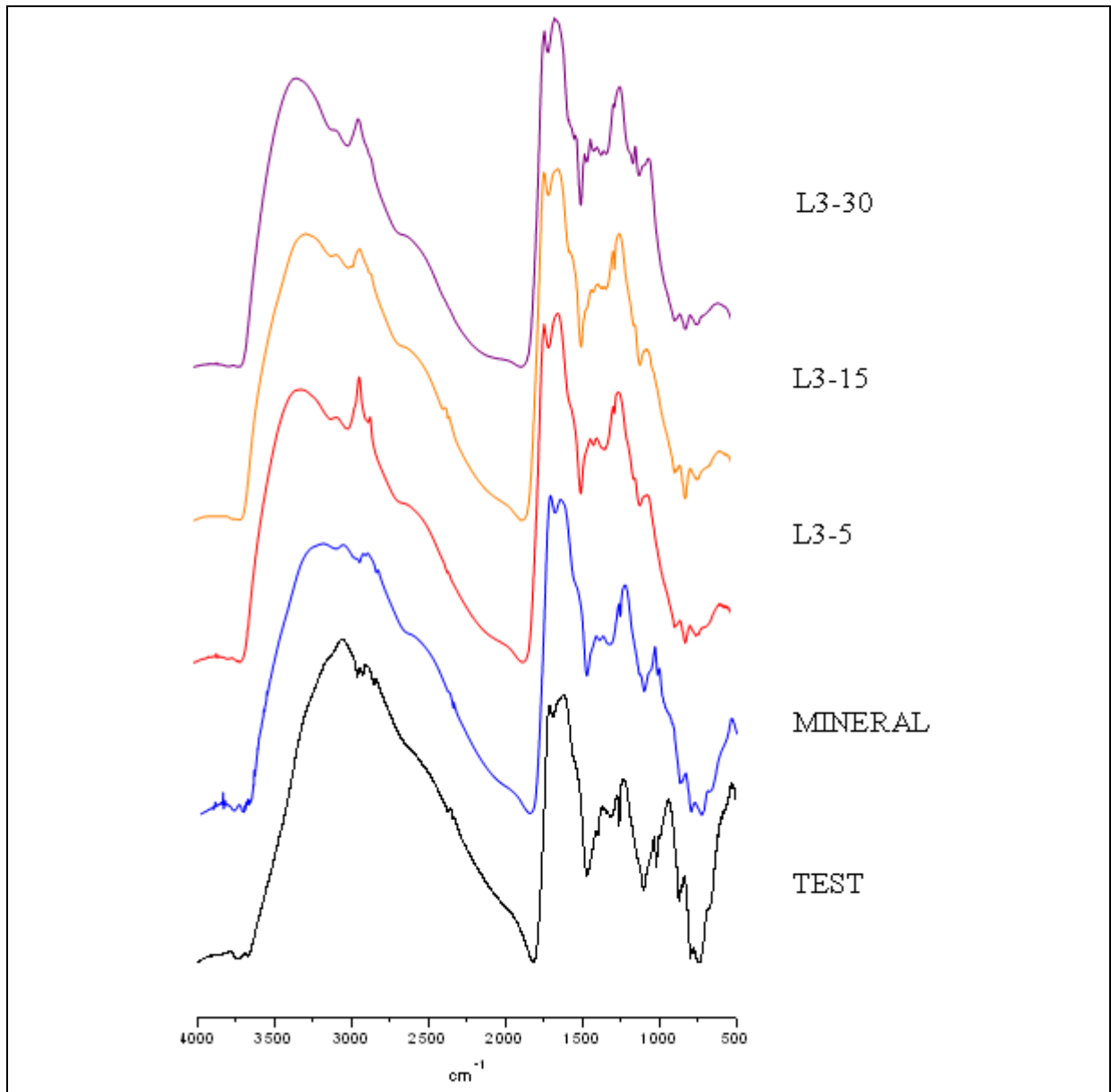


Figura 4.18 - Espectros de FTIR de ácidos húmicos extraídos dos solos sem adubação (TEST), com adubação mineral (MINERAL), com aplicação do composto L3 nas dosagens, 5, 15 e 30 ton ha<sup>-1</sup> (L3-5, L3-15 e L3-30 respectivamente).

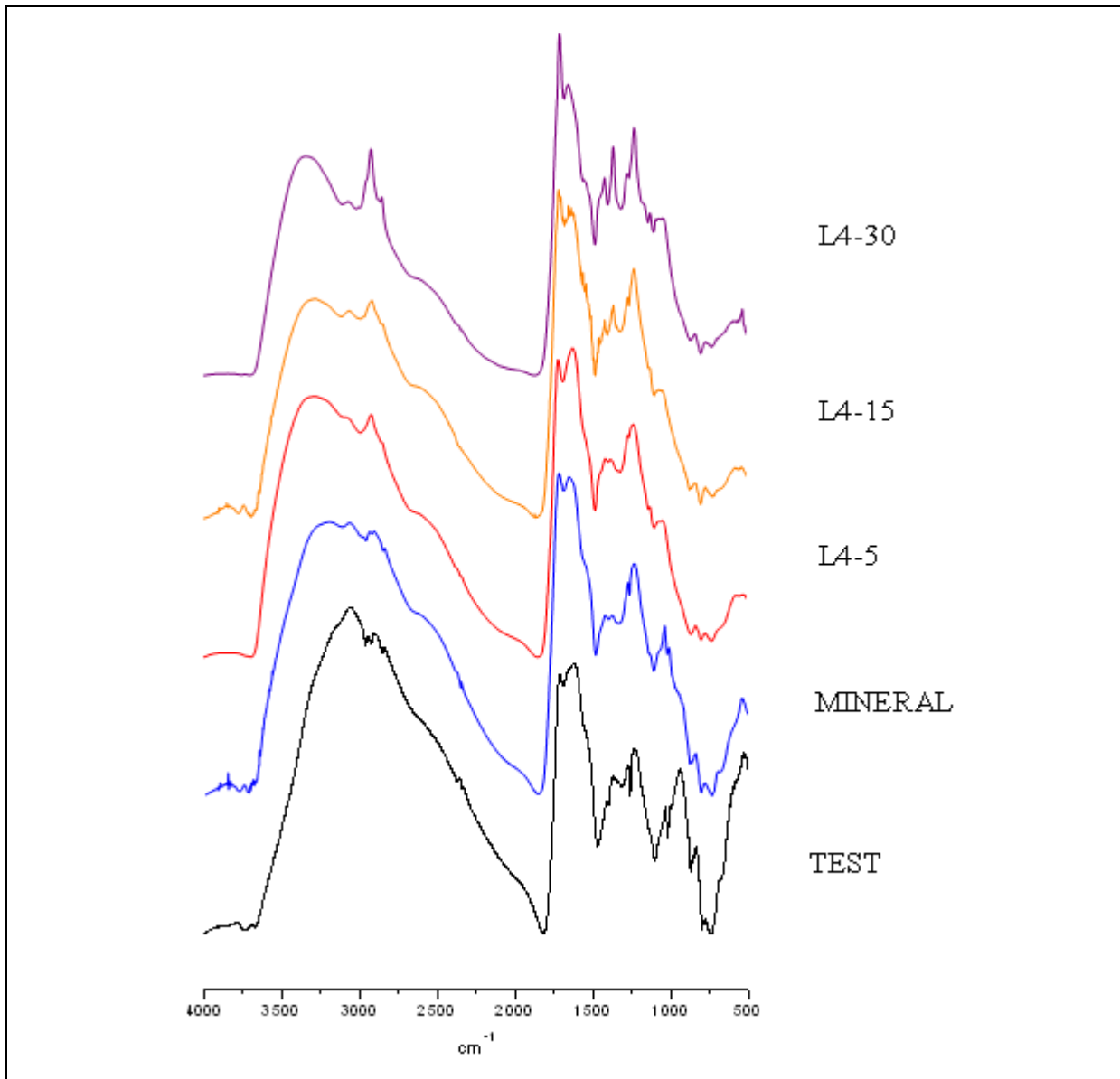


Figura 4.19 - Espectros de FTIR de ácidos húmicos extraídos dos solos sem adubação (TEST), com adubação mineral (MINERAL), com aplicação do composto L4 nas dosagens, 5, 15 e 30 ton ha<sup>-1</sup> (L4-5, L4-15 e L4-30 respectivamente).

Foi observado em todos os espectros de FTIR uma banda intensa e larga na região entre 3600 a 3070 cm<sup>-1</sup>, atribuída às vibrações de estiramento O-H e, possivelmente, estiramento N-H.

Bandas de absorção na região de 2915 a 2845 cm<sup>-1</sup> são características de vibrações assimétricas de grupos metileno e metil, indicando a presença de cadeias alifáticas em ácidos húmicos, e comprova o menor grau de humificação do ácido húmico extraído do solo tratado com o composto L4. De uma maneira geral pode-se notar que para os ácidos húmicos

extraídos de todos os tratamentos referentes a adubação orgânica, houve um ligeiro incremento na intensidade dessa banda com o maior aporte de material orgânico ao solo, e também um aumento quando comparadas aos ácidos húmicos extraídos dos solos sem a aplicação de composto (testemunha e com adubação mineral). Isto indica um maior grau de alifaticidade do ácidos húmicos extraídos dos solos submetidos à adição dos resíduos orgânicos.

Também foi observada uma banda de absorção em torno de 1646 a 1635  $\text{cm}^{-1}$ , que pode ser atribuída à presença do íon carboxilato (deformação axial assimétrica) conforme observado por Canellas et al. (2001). Para os tratamentos em que houveram aplicação dos diferentes compostos orgânicos, em todas as dosagens, pode-se observar bandas de absorção em aproximadamente 1652, 1600 e 1511  $\text{cm}^{-1}$  que são originadas por estiramentos de anéis aromáticos de monômeros de lignina (FIALHO et al., 2010). Essas mesmas bandas foram observadas por Fialho et al. (2010) nos espectros dos ácidos húmicos extraídos dos compostos orgânicos L1, L2, L3 e L4 ao longo do período de compostagem.

Na seqüência dos espectros puderam-se observar três bandas de média intensidade entre 1467 e 1383  $\text{cm}^{-1}$ , os quais são atribuídos a fragmentos de lignina (LUMSDON; FRASIER, 2005), a deformação de grupamentos do tipo -OH e estiramentos de grupos C-O de grupos fenólicos, e possivelmente a deformação de ligações C-H de grupos  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}_3$  e deformações assimétricas de grupos  $\text{-COO}^-$  (ROVIRA, et al., 2002).

As absorções em torno de 1720  $\text{cm}^{-1}$  correspondem a vibrações de C=O de cetonas, quinonas e grupos COOH (STEVENSON, 1994). A conversão de COOH para  $\text{COO}^-$  acarreta a perda de absorção em 1720  $\text{cm}^{-1}$  (C=O de COOH) e 1230  $\text{cm}^{-1}$  (estiramento C-O e deformação OH de COOH). Isso ocorre de duas maneiras: quando se neutraliza o composto e/ou se complexa com metal (PICCOLO; STEVENSON, 1982). Provavelmente, no ácido húmico a complexação com metal é a mais provável, visto que estes são provenientes de latossolos, solos que apresentam alta concentração de  $\text{Fe}^{3+}$ . Também foi observado em todos



os espectros um sinal de absorção na região 950 a 1150  $\text{cm}^{-1}$ , que pode ser atribuído à presença de carboidratos. Pode-se observar que com a aplicação dos diferentes compostos orgânicos ao solo, há uma diminuição desse sinal de absorção, que pode estar relacionado ao aumento da atividade microbiana no solo após o aporte dos compostos, havendo assim maior degradação de carboidratos. Para o espectro referente ao tratamento sem adubação (testemunha), esta região, de 950 a 1150  $\text{cm}^{-1}$ , apresentou bandas típicas de resíduos de minerais, o que é coerente ao fato de o teor de cinzas do ácido húmico extraído ser maior que 5%.

Os espectros de FTIR para todos os tratamentos são bastante similares e pouco esclarecedores quanto a diferenciação entre os tratamentos. Uma informação relevante foi que o tratamento L4 apresentou maior incorporação de estruturas alifáticas à estrutura do ácido húmico extraído do solo referência (testemunha).

#### **4.3.2.2 Fluorescência**

Devido às vantagens como alta sensibilidade e simplicidade da técnica, a fluorescência tem sido amplamente reconhecida e utilizada para o estudo estrutural e funcional de amostras como os ácidos húmicos. A sensibilidade desta espectroscopia se deve ao fato de que somente grupos funcionais que fluorescem podem ser observados.

Segundo Senesi et al. (1991), os estudos sobre substâncias húmicas está apoiado pela presença estável de várias estruturas fluorescentes intrínsecas a molécula húmica e a seus precursores, particularmente anéis aromáticos, fenóis e grupos quinona.

Utilizando as metodologias sugeridas por Zsolnay et al. (1999); Kalbitz, (1999); Milori et al. (2002) os experimentos de fluorescência em solução foram realizados para se obter informações sobre a humificação das substâncias húmicas.

### 4.3.2.2.1 Espectros de emissão

Os espectros de emissão das amostras de ácido húmico extraídos dos solos em seus diferentes tratamentos, foram obtidos utilizando-se as metodologias propostas por Milori et al. (2002) e Zsolnay et al. (1999), as quais propõem a excitação das amostras em 465 e 240 nm, respectivamente.

Os espectros de emissão, obtidos segundo a metodologia sugerida por Milori et al. (2002) foram medidos com excitação 465 nm e intervalo de varredura entre 480 e 700 nm. Os espectros obtidos apresentaram-se como uma única banda com um máximo de emissão centrado em torno de 522 nm para todos os tratamentos. Observou-se um mesmo perfil para todos os tratamentos analisados, conforme exemplificado na Figura 4.20.

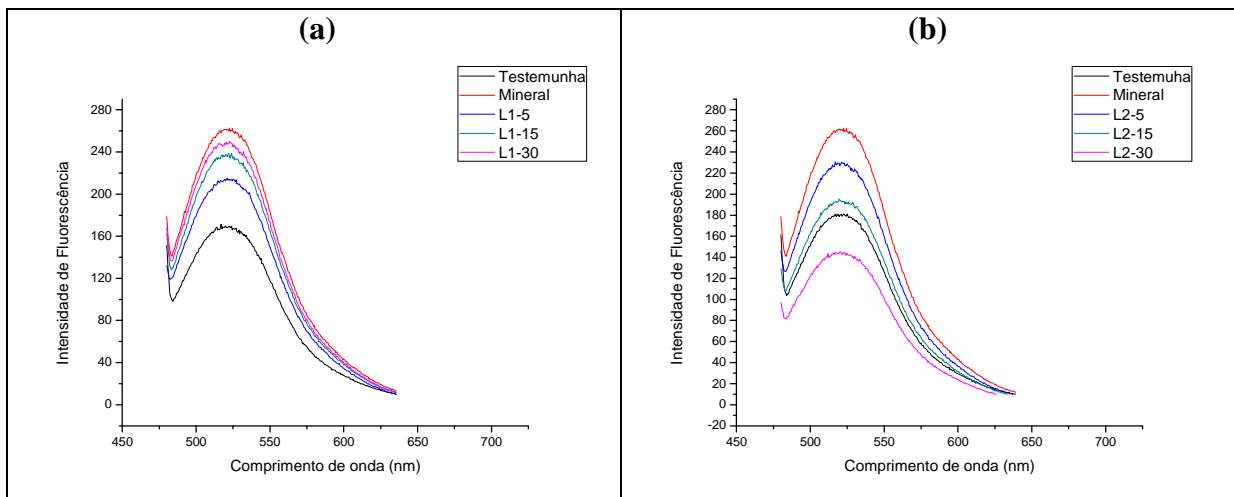


Figura 4.20 - Espectros de emissão de fluorescência ( $\lambda_{exc} = 465 \text{ nm}$ ) de ácidos húmicos extraídos do (a) solo submetido ao tratamento L1 nas dosagens 5, 15 e 30  $\text{ton ha}^{-1}$ , solo sem adubação (testemunha) e solo com adubação mineral (b) solo submetido ao tratamento L2 nas dosagens 5, 15 e 30  $\text{ton ha}^{-1}$ , solo sem adubação (testemunha) e solo com adubação mineral .

Segundo Milori et al. (2002), a área total sobre o espectro de fluorescência resultante da luz de excitação azul, feita nas mesmas condições experimentais (concentração de 20  $\text{mg L}^{-1}$ ,  $\text{pH} = 8,0$ ) é proporcional ao grau de humificação e será denominada de índice de humificação  $A_{465}$ .

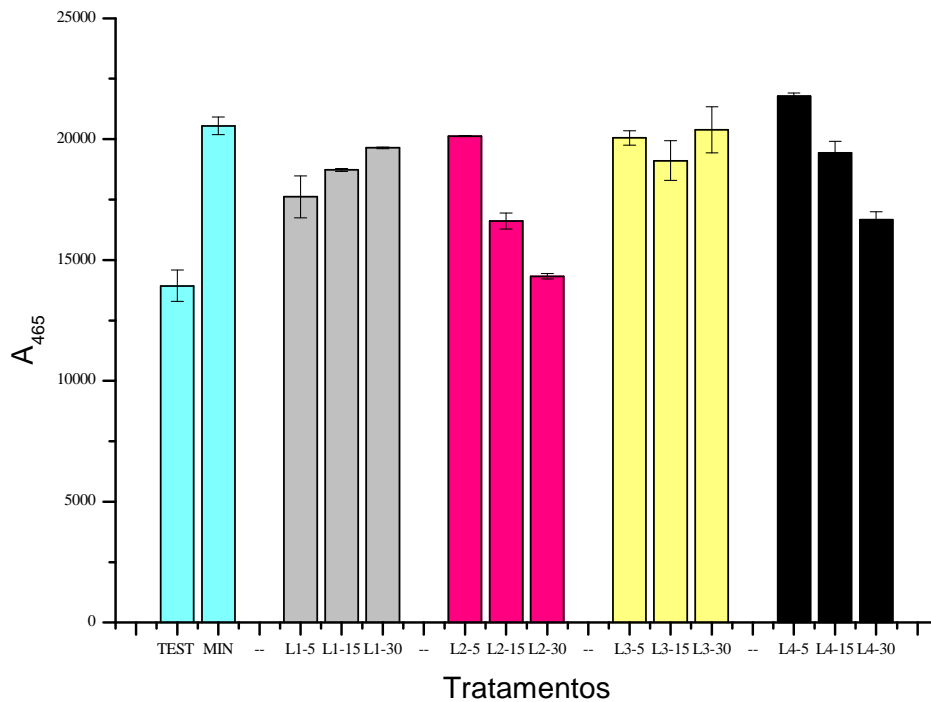


Figura 4.21 - Índice de humificação,  $A_{465}$ , obtido segundo a metodologia sugerida por Milori et al. (2002) de ácidos húmicos extraídos do (a) solo submetido ao tratamento L1 nas dosagens 5, 15 e 30 ton ha<sup>-1</sup>, solo sem adubação (testemunha) e solo com adubação mineral (b) solo submetido ao tratamento L2 nas dosagens 5, 15 e 30 ton ha<sup>-1</sup>, solo sem adubação (testemunha) e solo com adubação mineral.

A partir dos resultados obtidos para o índice de humificação ( $A_{465}$ ) proposto por Milori et al. (2002) (Figura 4.21), pode-se observar um incremento no grau de humificação com o aporte de matéria orgânica ao solo para os tratamentos em geral quando comparados ao tratamenro sem adubação (testemunha). Para os tratamentos L2 e L4 constata-se a diminuição do grau de humificação com o aumento da dosagem de composto aplicada. Possivelmente ocorreu um efeito de diluição da matéria orgânica mais estável devido à incorporação de material orgânico relativamente fresco e estável ao solo. Por isso a diminuição no grau de humificação com o aumento de material orgânico aportado ao solo. Já para os tratamentos L1 e L3 a mesma idéia não pode ser inferida. Observa-se que ambos apresentam um incremento no grau de humificação com relação à testemunha (assim como nos tratamentos L2 e L4),

porém para o tratamento L1 ocorre o comportamento contrário a L2 e L4, há um incremento no grau de humificação com o aporte de matéria orgânica ao solo. Segundo Fialho et al. (2010), o material de origem do composto L1 é a poda de árvore, material muito fibroso, com alto teor de lignina, que mesmo após sete meses de compostagem, através de análises químicas e espectroscópicas, não apresentou características de composto humificado como os demais (L2, L3 e L4). Logo, sendo L1 um material orgânico fresco mais instável, possivelmente ocasiona um aumento da atividade microbiana em função de sua degradação. Dessa forma, a matéria orgânica relativamente fresca e instável é consumida, ativando a degradação da matéria orgânica mais estável do solo. Por isso a diminuição do grau de humificação com o aporte desse material orgânico instável ao solo. Para o composto L3, com relação à dosagem, não observa-se uma tendência, pois as amostras apresentam graus de humificação bem próximos entre si nas três doses aplicadas.

Por se tratar de um solo arenoso (cerca de 70% de areia) e pelo fato do experimento ser conduzido em vasos, sob condições de umidade controladas, esperava-se que a matéria orgânica do solo não sofresse alterações consideráveis. No entanto, trabalhar com este tipo de solo, acarretou em alterações relevantes que puderam ser observadas através da técnica de fluorescência em solução, quanto a influência dos diferentes compostos orgânicos no grau de humificação dos ácidos húmicos extraídos desses solos submetidos aos diferentes tratamentos. Pois segundo Canellas et al. (2001), solos com maior teor de argila, podem favorecer a estabilidade da matéria orgânica humificada pela formação de complexos organominerais, tornando a matéria orgânica relativamente mais protegida da degradação microbiana.

Segundo Zsolnay et al. (1999), se as moléculas fluorescentes tornam-se mais condensadas, seus espectros de emissão, com excitação em 240 nm e com intervalo de varredura entre 300 e 700 nm, tenderão a exibir um deslocamento para comprimentos de onda maiores. Os autores obtiveram tais conclusões excitando diferentes amostras com radiação ultravioleta em 240 nm. A partir desses, observou no espectro de emissão da matéria orgânica

dissolvida, um deslocamento para comprimentos de ondas maiores, demonstrando progresso no processo de humificação. A área sobre o maior quarto da emissão (570-641 nm) dividido pela área do menor quarto (356-432 nm), denominado  $A_4/A_1$ , pode ser usada como índice de humificação.

Utilizando a metodologia proposta por Zsolnay et al. (1999), obtiveram-se os espectros de emissão com  $\lambda_{ex} = 240$  nm, conforme observa-se na Figura 4.22. Todos os tratamentos apresentaram o espectro com o mesmo perfil.

A Figura 4.23, apresenta os resultados obtidos a partir do índice de humificação  $A_4/A_1$  proposto por Zsolnay et al. (1999). Assim como o resultado obtido segundo a metodologia sugerida por Milori et al. (2002), observa-se um incremento no grau de humificação dos ácidos húmicos extraídos do solos referentes a todos os tratamentos comparados ao ácido húmico extraído do solo sem adubação orgânica ou mineral. Para o tratamento L1, há um incremento no grau de humificação com o aumento do aporte de matéria orgânica ao solo. Para o tratamento L2, o aumento das dosagens de composto aplicado, provoca diminuição no grau de humificação. Os comportamentos observados para os tratamentos L1, L2 e L3, apesar de menos evidentes, corroboram com as observações feitas através do índice  $A_{465}$ , obtido através da metodologia sugerida pro Milori et al. (2002). Entretanto, para o tratamento L4, não foi possível observar uma tendência por esta metodologia, visto que os valores de  $A_4/A_1$  para todas as dosagens de ambos compostos, são muito similares.

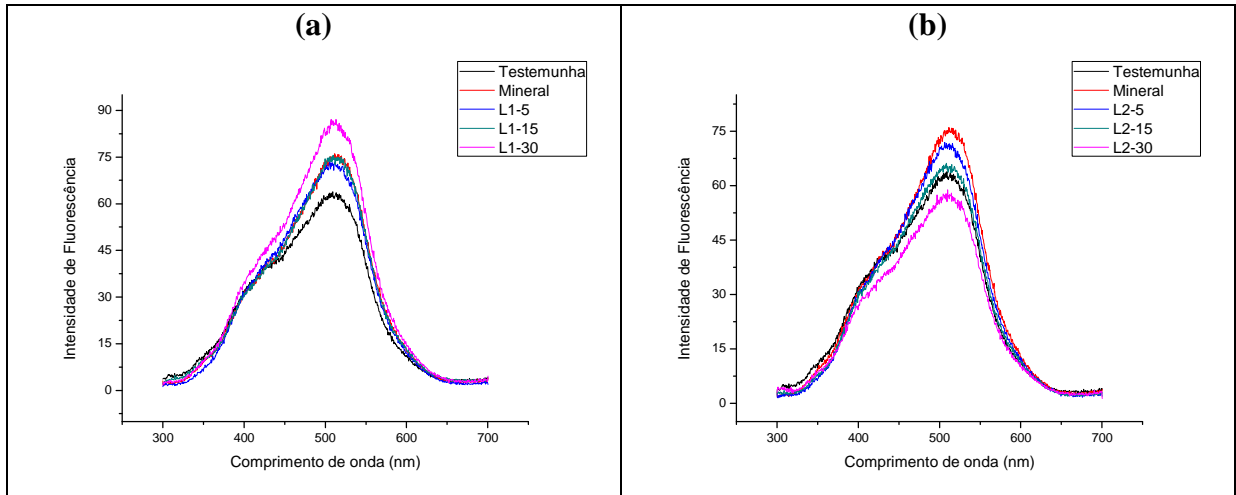


Figura 4.22 - Espectros de emissão de fluorescência ( $\lambda_{exc} = 240 \text{ nm}$ ) de ácidos húmicos extraídos do (a) solo submetido ao tratamento L1 nas dosagens 5, 15 e 30  $\text{ton ha}^{-1}$ , solo sem adubação (testemunha) e solo com adubação mineral (b) solo submetido ao tratamento L2 nas dosagens 5, 15 e 30  $\text{ton ha}^{-1}$ , solo sem adubação (testemunha) e solo com adubação mineral .

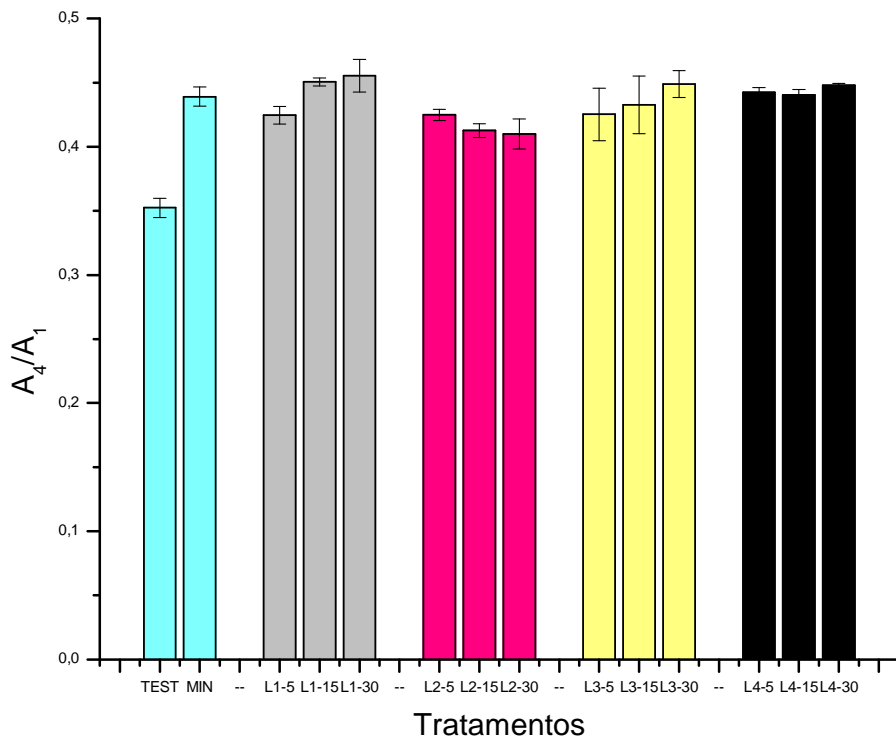


Figura 4.23 - Índice de humificação,  $A_4/A_1$ , obtido segundo a metodologia sugerida por Zsolnay et al. (1999) de ácidos húmicos extraídos do (a) solo submetido ao tratamento L1 nas dosagens 5, 15 e 30  $\text{ton ha}^{-1}$ , solo sem adubação (testemunha) e solo com adubação mineral (b) solo submetido ao tratamento L2 nas dosagens 5, 15 e 30  $\text{ton ha}^{-1}$ , solo sem adubação (testemunha) e solo com adubação mineral.

#### 4.3.2.2.2 Espectros de varredura sincronizada

O espectro de varredura sincronizada, medida com diferença constante entre excitação e emissão ( $\Delta\lambda = 55$  nm), permitiu avaliar o grau de humificação através da metodologia proposta por Kalbitz et al. (2000). De acordo com essa proposta, os espectros por fluorescência de varredura sincronizada das substâncias húmicas apresentam duas bandas, um em torno de 360 e outra em 465 nm, e um ombro em torno de 470 nm. Esses perfis mudam dependendo do grau de humificação, e isto pode ser medido pela razão dos picos de fluorescência. O deslocamento no máximo de intensidade de fluorescência de menores para maiores comprimentos de onda está associado com um aumento no número de núcleos aromáticos altamente substituídos e/ou com um sistema conjugado insaturado capaz de exibir alto grau de ressonância. Então, a razão da intensidade de fluorescência em 400 e 360 nm, ou 470 e 360 nm pode ser usada para medir o grau de policondensação ou humificação das substâncias húmicas. No presente estudo foi possível a identificação de dois picos médios, um em 460 e outro em 399 nm, e com isso usar como índice de humificação a razão  $I_{460}/I_{399}$ , assim como feito por Santos (2006).

Os espectros sincronizados obtidos para os ácidos húmicos extraídos dos solos sob seus diferentes tratamentos estão apresentados na Figura 4.24. Assim como para as demais metodologias aplicadas, o perfil dos espectros é similar para todas as amostras analisadas. Com base nos espectros obtidos pela varredura sincronizada, foram calculados os índices de humificação,  $I_{460}/I_{399}$ . De forma semelhante ao observado pela metodologia sugerida por Milori et al. (2002), o índice de humificação  $I_{470}/I_{377}$ , mostrou que as amostras de ácido húmico de todos os tratamentos apresentaram o mesmo comportamento (Figura 4.25).

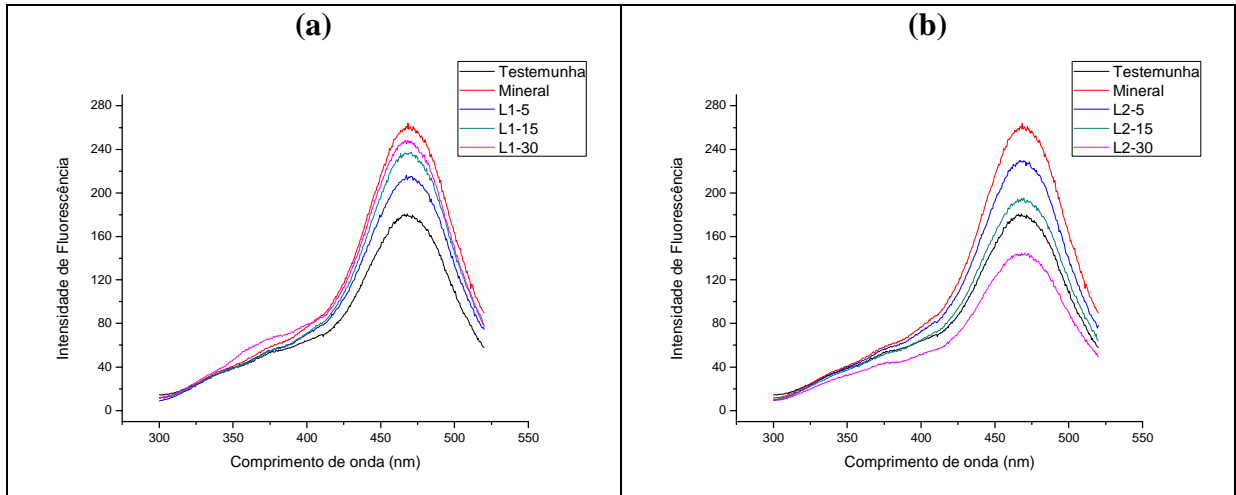


Figura 4.24 - Espectros de varredura sincronizada, obtidos segundo metodologia sugerida por Kalbitz et al. (1999) de ácidos húmicos extraídos do (a) solo submetido ao tratamento L1 nas dosagens 5, 15 e 30 ton ha<sup>-1</sup>, solo sem adubação (testemunha) e solo com adubação mineral (b) solo submetido ao tratamento L2 nas dosagens 5, 15 e 30 ton ha<sup>-1</sup>, solo sem adubação (testemunha) e solo com adubação mineral.

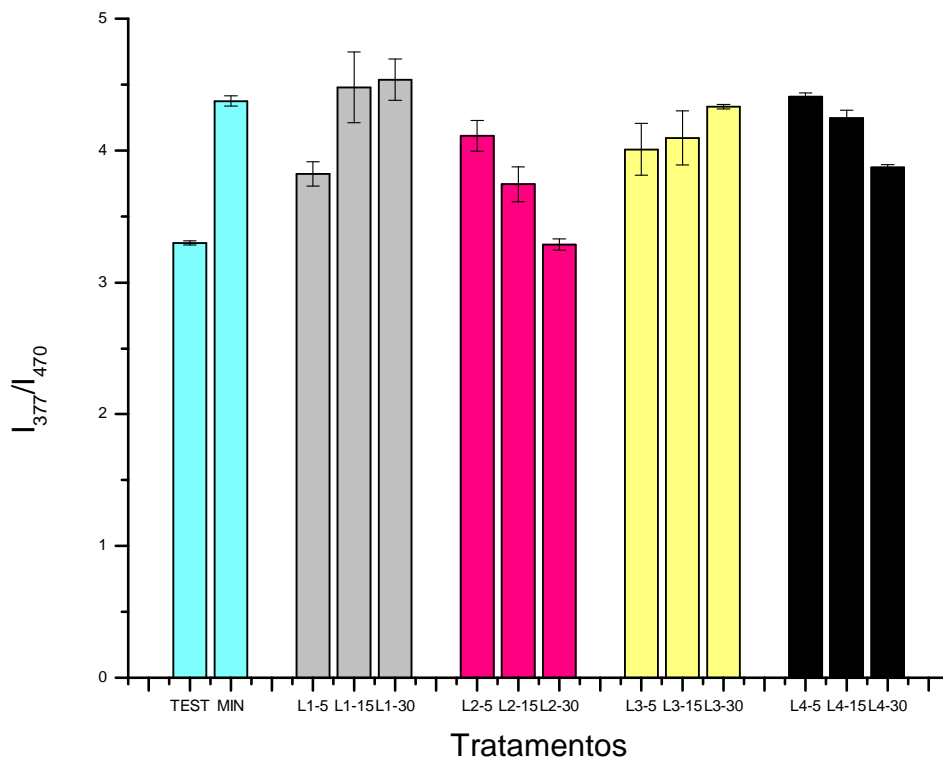


Figura 4.25 - Índice de humificação,  $I_{377}/I_{470}$ , obtido segundo a metodologia sugerida por Zsolnay et al. (1999) de ácidos húmicos extraídos do (a) solo submetido ao tratamento L1 nas dosagens 5, 15 e 30 ton ha<sup>-1</sup>, solo sem adubação (testemunha) e solo com adubação mineral (b) solo submetido ao tratamento L2 nas dosagens 5, 15 e 30 ton ha<sup>-1</sup>, solo sem adubação (testemunha) e solo com adubação mineral.



Os índices de humificação para os ácidos húmicos apresentaram boa correlação ( $r = 0,9737$ ) entre as metodologias sugeridas por Milori et al. (2002) e Kalbitz et al. (2000), utilizadas para fluorescência (Figura 4.26).

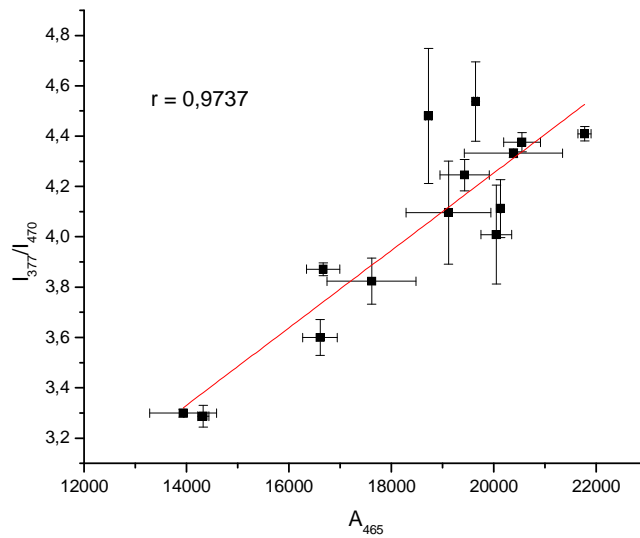


Figura 4.26 - Correlação entre as metodologias utilizadas: Milori e Kalbitz.

Os graus de humificação para os ácidos húmicos extraídos dos solos submetidos aos diferentes tratamentos, obtidos pela metodologia sugerida por Zsolnay et al. (1999) seguem, de maneira geral, a mesma tendência observada para os resultados obtidos pelas metodologias sugeridas por Kalbitz et al. (2000) e Milori et al. (2002).

## CAPÍTULO 5

## CONCLUSÕES

---

A utilização da ferramenta quimiométrica de Análise de Componentes Principais (PCA) foi de grande importância na elucidação dos resultados das análises de fertilidade (teor de macro e micronutrientes do tecido vegetal e do solo, CTC e SB do solo) e também dos dados obtidos por NIRS. As análises evidenciaram uma tendência de separação dos tratamentos em dois grupos: L2 ≈ Mineral e L4 ≈ L1 ≈ Testemunha. Sendo que o tratamento L3 comportou-se semelhantemente ao tratamento L2 em algumas situações, enquanto em outras comportou-se como o tratamento L4, sendo necessários mais estudos para compreender esse comportamento. Os resultados evidenciados por meio das PCA's são condizentes com o diagnóstico nutricional das plantas pelo método visual, além de serem similares com as análises químicas e espectroscópicas feitas por Fialho et al. (2010). Pode-se salientar que o tratamento L2 é o que apresenta características mais similares ao tratamento com fertilizante mineral, podendo trazer maiores benefícios quando aplicado ao solo em questão, comparado aos demais tratamentos (L1, L3 e L4).

Os resultados espectroscópicos para os solos mostram que a utilização de diferentes técnicas espectroscópicas como, FTIR, Fluorescência, FIL e NIRS, fornecem resultados significativos a respeito das variações na matéria orgânica dos solos, após a aplicação dos compostos orgânicos.

A técnica de FIL se mostrou coerente com os resultados obtidos por Fluorescência em solução para os ácidos húmicos extraídos dos solos submetidos ou não à adição dos compostos orgânicos. É também, coerente com os resultados qualitativos a cerca das alterações estruturais, como incremento de grupos mais alifáticos à estrutura das substâncias húmicas, observados por FTIR.

As metodologias de fluorescência empregadas, Milori e Kalbitz, apresentaram boa correlação entre si, enquanto que Zsolnay apresentou a mesma tendência de comportamento, porém menos elucidada que nas demais metodologias.

O solo arenoso, a condução do experimento em vasos, em casa de vegetação, sob condições de umidade controladas, propiciaram alterações relevantes na dinâmica da matéria orgânica, apesar do curto tempo de duração do experimento (90 dias). Possivelmente pelo fato de solos arenosos serem mais susceptíveis à degradação microbiana da matéria orgânica. Dessa forma, pôde-se inferir sobre dinâmica da matéria orgânica dos solos analisados por técnicas químicas e espectroscópicas utilizadas, visto que essas permitiram a observação de variações na decomposição e humificação, decorrentes da adição do composto orgânico ao solo. Bem como, permitiram determinar a natureza química e as variações de grupamentos funcionais da matéria orgânica devido à adição de composto orgânico aos solos analisados.

De modo geral constata-se a viabilidade do uso de compostos orgânicos como alternativa ao uso de fertilizantes minerais, contudo o manejo e as implicações na nutrição de plantas e a plena produtividade das culturas ainda representa desafio importante para as pesquisas.

Sugestões para trabalhos futuros: analisar os AH extraídos pelas técnicas RMN de  $^{13}\text{C}$  e EPR em estudos direcionados à entender o comportamento ambíguo do composto L3; experimentos de longa duração em condições de campo utilizando os mesmos compostos aplicados à outras culturas com objetivo de fornecer mais bases científicas para a agricultura orgânica.

## CAPITULO 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

- ABREU JUNIOR, C. H., MARTIN-NETO, L.; MILORI, D. M. B. P.; SIMÕES, M. L.; SILVA, W. T. L. MétodoS Analíticos usados em química do solo. In: SENESI, N.; XING, B.; HUANG, P.M. (Org.). **Química e mineralogia do solo: aplicações**. Viçosa: SBCS, 2009. v. 2, p. 531- 658.
- ANDREUX, F. Húmus in word soils. In: PICCOLO, A. (Ed.) **Humic substances in terrestrial ecosystems**. Amsterdam: Elsevier, 1994. p. 45-100.
- BARAK, P.; CHEN, Y. Equivalent radii of humic macromolecules from acid-base titration. **Soil Science**, v. 154, p. 92-101, 1997.
- BARBOSA, L. C. A. **Espectroscopia no infravermelho: na caracterização de compostos orgânicos**. Viçosa: Editora da Universidade Federal de Viçosa, 2007. 189 p.
- BAYER, C.; MARTIN-NETO, L.; MIELNICZUK, J.; CERETTA, C. A. Fracionamento da matéria orgânica e sua avaliação qualitativa por EPR num solo submetido dez anos a diferentes sistemas de cultura em plantio direto. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE INSTRUMENTAÇÃO AGROPECUÁRIA, 1., 1996, São Carlos. **Anais...** São Carlos: Embrapa Instrumentação Agropecuária, 1997. p. 115-121.
- BAYER, C.; MIELNICZUK, J.; AMADO, T. J. C.; MARTIN-NETO, L.; FERNANDES, S. V. Organic matter storage in a sandy clay loam acrisol affected by tillage and cropping systems in southern Brazil. **Soil and Tillage Research**, v. 54, p. 101-109, 2000.
- 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, 2002.
- 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.; MIELNICZUK, J. Dinâmica e Função da Matéria Orgânicos. In: SANTOS, G.A.; SILVA, L. S.; CANELLAS, L.P.; CAMARGO, F. A. O. **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre: Matrópole, 2008. p. 7.
- BEN-DOR, E.; BANIN, A. Near-Infrared analysis as a rapid method to simultaneously evaluate several soil properties. **Soil Science Society of America Journal**, v. 59, p. 364-372, 1995.
- BERNAL, M. P.; SÁNCHEZ-MONEDERO, M. A.; PAREDES, C.; ROIG, A. Carbon mineralization from organic wastes at different composting stages during their incubation with soil. **Agriculture Ecosystems & Environment**, v. 69, p. 175-189, 1998a.
- BEZERRA, A. M. E.; NASCIMENTO JÚNIOR, F. T.; LEAL, F. R.; CARNEIRO, J. G. M. Rendimento de biomassa, óleo essencial, teores de fósforo e potasio de chambá em desposta à adubação orgânica e mineral. **Revista Ciência Agrônômica**. v. 37, n. 124-129, 2006.

BLANK, A. F.; SILVA, P.A.; ARRIGONI-BLANK, M.F.; SILVAMANN, R.; BARRETO, M.C.V. Influência da adubação orgânica e mineral no cultivo de manjerição ev. Genovese. **Revista Ciência Agronômica**, v. 36, n. 2, p. 175-180, 2005.

BLOOM, P. R.; LEENHEER, J. A. Vibrational, electronic, and high-energy spectroscopic methods for characterizing humic substances. In: HAYES, M. H. B.; MacCARTHY, P.; MALCOLM, R. L.; SWIFT, R. S. (Ed.). **Humic substances II: in search of structure**. New York: John Wiley, 1989. p. 410-446.

BRINTON, W.F. **Compost quality, standards & guidelines: an international view**. New York: NYSAR, 2000. Disponível em: (<http://compost.css.cornell.edu>). Acesso em: 10 out. 2008.

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

CANELLAS, L.P.; SANTOS, G.A.; AMARAL-SOBRINHO, N.M.B. Reações da matéria orgânica. In: SANTOS, G.A.; CAMARGO, F.A.O. (Ed.) **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre: Gênese, 1999. p. 69-90.

CANELLAS, L. P.; SANTOS, G. A.; MORAES, A. A.; RUMJANEK, V. M.; OLIVARES, F. L. Avaliação de características de ácidos húmicos de resíduos de origem urbana: I. Métodos espectroscópicos (UV-Vis, IV, RMN <sup>13</sup>C-CP/MAS) e Microscopia eletrônica de varredura. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 24, p. 741-750, 2000.

CANELLAS, L. P.; SANTOS, G. A.; RUMJANEK, V. M.; MORAES, A. A.; GURIDI, F. Distribuição da matéria orgânica e características de ácidos húmicos em solos com adição de resíduos de origem urbana. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 12, p. 1529-1538, 2001.

CERETTA, C. A.; BAYER, C.; DICK, D. P.; MARTIN-NETO, L.; COLNAGO, L. A. Métodos espectroscópicos. In: **Fundamentos da Matéria Orgânica do Solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre: Metropole, 2008. p. 201-205

CHEFETZ, B.; HATCHER, P. G.; HADAR, Y.; CHEN, Y. Chemical and biological characterization of organic matter during composting of municipal solid waste. **Journal of Environmental Quality**, v. 25, p. 776-785, 1996.

CLAPP, C. E.; HAYES, M. H. B. Sizes and shapes of humic substances. **Soil Science**, v. 164, n. 12, p. 777-789, 1999.

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, 1999. 4 p. (Comunicado Técnico).

CONTE, P.; PICCOLO, A. Conformation arrangement of dissolved humic substances: influence of solution composition on association of humic molecules. **Environmental Science & Technology**, v. 33, p. 1682-1690, 1999.

- CORRÊA JÚNIOR, C. Influência das adubações orgânica e química na produção de camomila (*Chamomilla recutita* L. Rauschert) e do seu óleo essencial. In: MING, L. C.; SCHEFFER, M.C.; CORRÊA JÚNIOR, C.; BARROS, I. B. I.; MATTOS, J. K. A. **Plantas medicinais, aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agrônômica**. Botucatu: UNESP, 1998. v. 1, p. 130-164.
- COSTA, L. C. B.; PINTO, J. E. B. P.; CASTRO, E. M.; BERTOLUCCI, S. K. V.; CORRÊA, R. M.; REIS, E. S.; ALVES, P. B.; NICULAU, E. S. Tipos e doses de adubação orgânica no crescimento, no rendimento e na composição química do óleo essencial de elixir paregórico. **Ciência Rural**, v. 38, n. 8, p. 2173-2180, 2008.
- DIALLO, M. S.; SIMPSON, A.; GASSMAN, P.; FAULON, J. L.; JOHNSON, J. H.; GODDARD, W. A.; HATCHER, P. G. 3-D Structural modeling of humic acids through experimental characterization, computer assisted structure elucidation and atomistic simulations. **Environmental Science & Technology**, v. 37, p. 1783-1793, 2003.
- DICK, D. P.; NOVOTNY, E. H.; DIECKOW, J.; BAYER, C. Química da material orgânica do solo. In: SENESI, N.; XING, B.; HUANG, P.M. (Org.). **Química e mineralogia do solo: aplicações**. Viçosa: SBCS, 2009. v. 2, p. 2.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solo**. 2 ed. rev. Rio de Janeiro: EMBRAPA/SOLOS, 1997. 212 p.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. Rio de Janeiro, 1999. 412 p.
- ENCYCLOPEDIA of soil science. New York: Rattan Lal, 2006. v. 1.
- FAVORETTO, L. B.; da SILVA, W. T. L.; PEREIRA, F. M. V.; MARTIN-NETO, L. Application of organic composts of agricultural and urban residues for cultivation of *Ocimum selloi* Benth. In: XV Meeting of the International Humic Substances Society, 2010. Puerto de la Cruz, Tenerife, Canary Islands. **Anais...** Tenerife: González-Pérez, J. A.; González-Vila, F. J.; Almendros, G., 2010. v. 2. p. 523-526.
- FELLER, C.; BEARE, M. H. Physical control of soil organic matter dynamics in the tropics. **Geoderma**, v. 79, p. 69-116, 1997.
- FERRARESI, T. M. **Espectroscopias de infravermelho próximo e médio na quantificação de atributos do solo, com ênfase na matéria orgânica e na biomassa microbiana**. 2010. 121 f. Dissertação (Mestrado em Ciências – Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.
- FIALHO, L. L. **Caracterização da matéria orgânica em processo de compostagem por métodos convencionais e espectroscópicos**. 2007. 170 f. Tese (Doutorado em Ciências, Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007.

- FIALHO, L. L.; SILVA, W. T. L.; MILORI, D. M. B. P.; SIMÕES, M. L.; MARTIN-NETO, L. Characterization of organic matter from composting of different residues by physicochemical and spectroscopic methods. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 1927-1934, 2010.
- FONTES, P. C. R. **Diagnóstico do estado nutricional das plantas**. Viçosa: Ed. UFV, 2006. 122 p.
- GERZABEK, M. H.; ANTIL, R. S.; KOGEL-KNABNER, I.; KNICKER, H.; KIRCHMANN, H. HABERHAUER, G. How are soil use and management reflected by soil organic matter characteristics: a spectroscopic approach. **European Journal of Soil Science**, v. 57, p. 485–494, 2006.
- GLORIA, N. A. **Uso agronômico de resíduos**. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 22., 1992, Campinas. **Anais...** Campinas: Fundação Cargil, 1992. p. 195-212.
- GOEDERT, W. J.; OLIVEIRA, S. A. Fertilidade do solo e sustentabilidade da atividade agrícola. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ V., V. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. **Sociedade brasileira de ciência do solo, fertilidade do solo**. Viçosa: Novais R. F., 2007. p. 994.
- 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, <sup>13</sup>C NMR, FTIR and fluorescence spectroscopy. **Geoderma**, v. 118, p. 181-190, 2004.
- GUGGENBERGER, G.; ZECH, W.; HAUMAIER, L.; CHRISTENSEN, B.T. Landuse effects on the composition of organic matter in particle-size separates of soil: II. CPMAS and solution <sup>13</sup>C NMR analysis. **European Journal of Soil Science**, v. 46, p. 147-158, 1995.
- HAYES, M. H. B.; CLAPP, C. E. Humic substances: considerations of compositions, aspects of structures, and environmental influences. **Soil Science**, v. 166, p. 723-737, 2001.
- 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.
- KALBITZ, K.; GEYER, W.; GEYER, S. A comparative characterization of dissolved organic matter by means of original aqueous samples and isolated humic substances. **Chemosphere**, v. 40, p. 1305-1312, 2000.
- KIEHL, E. J. **Manual de compostagem: maturação e qualidade do composto**. Piracicaba: E. J. Kiehl, 2004. 173 p.
- KIEHL, E. J. **Fertilizantes orgânicos**. Piracicaba: Agronômica Ceres, 1985. 492 p.
- KIEHL, E. J. **Manual de Compostagem: maturação e qualidade do composto**. Piracicaba: [ s. n.], 1998. 172 p.

KONONOVA, M. M. **Matéria orgânica del suelo**: su naturaleza, propiedades e métodos de investigacion. Barcelona: Oikos-Tau, 1982. 365 p.

KONONOVA, M. M. **Soil organic matter**. Oxford: Pergamon Press, 1966. 272 p.

LIANG, C.; DAS, K. C.; McCLENDON, R. W. The influence of temperature and moisture contents regimes on the aerobic microbial activity of a biosolids composting blend. **Bioresource Technology**, v. 86, p. 131-137, 2003.

LÓPEZ, M. J.; ELORRIETA, M. A.; VARGAS-GARCIA, M. C.; SUAREZ-ESTRELLA, F.; MORENO, J. The effect of aeration on the biotransformation of lignocellulosic wastes by white-rot fungi. **Bioresource Technology**, v. 81, p. 123-129, 2002.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil**: nativas e exóticas. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. p. 254.

LUMSDON, D. G.; FRASER, A. R. Infrared spectroscopic evidence supporting heterogeneous site binding models for humic substances. **Environment Science Technology**, v. 39, p. 6624-6631, 2005.

MACCARTHY, P.; MALCOLM, R. L.; CLAPP, C. E.; BLOOM, P. R. An introduction to soil humic substances. In: MACCARTHY, P.; CLAPP, C. E.; MALCOLM, R. L.; BLOOM, P. R. (Ed.). **Humic substances in soil and crop sciences**: selected readings. Madison: American Society of Agronomy, 1990. p. 1-12.

MACCARTHY, P. The principles of humic substances. **Soil Science**, v. 166, n. 11, p. 738-751, 2001.

MADARI, B. E.; REEVES III, J. B.; COELHO, M.R.; MACHADO, P.L.O.A.; DE-POLLI, H.; COELHO, R.M.; BENITES, V.M.; SOUZA, L.F.; MCCARTY, G.W. Mid- and Near-infrared Spectroscopic Determination of Carbon in a Diverse Set of Soils from the Brazilian National Soil Collection. **Spectroscopy Letters**, v. 38, p. 721-740. 2005.

MADARI, B. E.; REEVES, J. B.; MACHADO, P. O. A.; GUIMARÃES, C. M.; TORRES, E.; McCARTY, G.W. Mid- and near-infrared spectroscopic assessment of soil compositional parameters and structural indices in two Ferrasols. **Geoderma**, v. 136, p. 1-15, 2006a.

MADARI, B. E.; REEVES III, J. B.; COELHO, M. R.; MACHADO, P. L. O. A.; DE-POLLI, H.; COELHO, R. M.; BENITES, V. M.; SOUZA, L. F.; McCARTY, G. W. **Espectroscopia infravermelha para a determinação de carbono do solo**: perspectiva de um método economicamente viável e ambientalmente seguro. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2006b. 6 p. (Comunicado Técnico, 126).

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1989. 201 p.

MANGRICH, A. S. Estruturas químicas de substâncias húmicas: estratégias de pesquisa. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS, 4., 2001, Viçosa. **Anais...** Viçosa: Sociedade Brasileira de Substâncias húmicas/ Universidade Federal de Viçosa, 2001. p. 15-17.



- 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 temperature grassland climosequence. **Geoderma**, v. 81, p. 305-311, 1998.
- MARTIN-NETO, L.; MILORI, D. M. B. P.; DA SILVA, W. T. L.; SIMOES, M. L. . EPR, FTIR, Raman, UV-visible light absorption and fluorescence spectroscopies in studies of humic substances. In: SENESI, N.; XING, B.; HUANG, P.M. (Org.). **Biophysico-chemical processes involving natural organic matter in environmental systems**. Hoboken, New Jersey: Wiley IUPAC Series, 2009. p. 651-728.
- MARTINS, E. R. Estudos em *Ocimum selloi* Benth: isoenzimas, morfologia e óleo essencial. In: MING, L. C.; SCHEFFER, M. C.; CORRÊA JÚNIOR, C.; BARROS, I. B. I.; MATTOS, J. K. A. **Plantas medicinais e aromáticas condimentares: avanços na pesquisa agrônômica**. Botucatu: UNESP, 1998. p. 97-126.
- MC PHIE, 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.
- MIELNICZUK, J. Matéria orgânica e a sustentabilidade de sistemas agrícolas. In: SANTOS, G. A.; CAMARGO, F. A. O. (Ed.). **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre: Gênese, 1999. p. 1-8.
- MILORI, D. M. B. P.; MARTIN-NETO, L.; VAZ, C. M. P.; BAGNATO, V. S. **Sensor de Teor e qualidade de matéria orgânica de solo**. BR n. PI 0106477-0, 18 dez. 2001.
- MILORI, D. M. B. P.; MARTIN-NETO, L.; BAYER, C.; MIELNICZUK, J.; BAGNATO, V. S. Humification degree of soil humic acids determined by fluorescence spectroscopy. **Soil Science**, v. 167, n. 11, p. 739-749, 2002.
- MILORI, D. M. B. P.; MARTIN-NETO, L.; BAYER, C. Nova metodologia utilizando fluorescência induzida por laser para análise de solos inteiros. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 29., 2003, Ribeirão Preto. **Anais...** Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2003. 1 CD-ROM.
- MILORI, D. M. B. P.; GALETI, H. V. A.; MARTIN-NETO, L.; DIEKOW, J.; GONZÁLEZ-PÉREZ, M.; BAYER, C.; SALTON, J. Organic matter study of whole soil sample using laser-induced fluorescence spectroscopy. **Soil Science Society American Journal**, v. 70, p. 57-63, 2006.

- MITTELMANN, A.; SOBRINHO, F.S.; OLIVEIRA, J.S.; FERNANDES, S.B.V.; LAJÚS, C.A.; MIRANDA, M.; ZANATTA, J.C.; MOLETTA, J.L. Avaliação de híbridos comerciais de milho para utilização como silagem na Região Sul do Brasil. **Ciência Rural**, v. 35 n. 3, p. 684-690, 2005.
- MORAES, L. A. S.; FACANALI, R.; MARQUES, M. O. M.; MING, L. C.; MEIRELES, M. A. A. Phytochemical characterization of essential oil from *Ocimum selloi*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 2002, v. 74, p. 183-186.
- NAKANISHI, K. **Infrared absorption spectroscopy**. Tokyo: Nankondo, 1962. 233 p.
- NARDI, S.; PIZZEGHELLO, D.; MUSCOLO, A; VIANELLO, A. Physiological effects of humic substances on higher plants. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 34, p. 1527-1536, 2002.
- NARIMOTO, K. M. **Técnica espectroscópicas aplicadas à análise na matéria orgânica do solo em pomares de citros sob adição de lodo de esgoto**. 2006. 112 f. Dissertação (Mestrado em Ciências – Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.
- NIEMEYER, J.; CHEN, Y.; BOLLAG, J.M. Characterization of humic acids, composts and peat by diffuse reflectance Fourier-transform infrared spectroscopy. **Soil Science Society of America Journal**, v. 56, p. 130-135, 1992.
- OLIVEIRA, F. C. **Disposição de lodo de esgoto e composto de lixo urbano num latossolo vermelho amarelo cultivado com cana-de-açúcar**. 2000. 247 f. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2000.
- OLIVEIRA, P.V.; KRUG, F.J.; NÓBREGA, J.A. **Espectrometria de absorção atômica**. Piracicaba: [s.n.], 2000. 41 p. Apostila – Curso em Análise Química.
- PAULA, J. P.; FARAGO, P. V.; CHECCHIA, L. E. M.; HIROSE, K. M.; RIBAS, J. L. C. Atividade Repelente do Óleo Essencial de *Ocimum Selloi* Benth (variedade eugenol) contra o *Anopheles braziliensis* Chagas. **Acta Farmacéutica Bonaerense**, v. 23, n. 3, p. 378-379, 2004.
- PEREIRA NETO, J. T. **Manual de compostagem: processo de baixo custo**. Viçosa: Ed. UFV, 2007. 81 p.
- PICCOLO, A.; STEVENSON, F. J. Infrared spectra of  $\text{Cu}^{+2}$ ,  $\text{Pb}^{+2}$  and  $\text{Ca}^{+2}$  complexes of soil humic substances. **Geoderma**, v. 27, p. 195-208, 1982.
- PICCOLO, A.; ZACCHEO, P.; GENEVINI, P. G. Chemical characterization of humic substances extracted from organic-waste-amended soils. **Bioresource Technology**, v. 40, p. 272-282, 1992.
- PICCOLO, A.; NARDI, S.; CONCHERI, G. Micelle-Like conformation of humic substances as revealed by size exclusion chromatography. **Chemosphere**, v. 33, p. 595, 1996.
- PICCOLO, A. The supramolecular structure of humic substances. **Soil Science**, v. 166, p. 810-832, 2001.

- PICCOLO, A. The supramolecular structure of humic substances: A novel understanding of humus chemistry and implications in soil science. **Advances in Agronomy**, v. 75, p. 57-134, 2002.
- PLAZA, C.; SENESI, N.; POLO, A.; BRUNETTI, G.; GARCIA-GIL, G.; D'ORAZIO, V. Soil fulvic acid properties as a means to assess the use of pig slurry amendment. **Soil and Tillage Research**, 74: 179-190, 2003.
- 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.
- 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.
- REZENDE, M. O. O. **A importância ambiental das substâncias húmicas**. São Carlos, 1999. 147 f. (Tese – Livre Docência) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1999.
- RODRIGUES, M. S.; SILVA, F., C.; BARREIRA, L., P.; KOVACS, A. Compostagem: reciclagem de resíduos sólidos orgânicos. In: SPADOTTO, C.A.; RIBEIRO, W.C. **Gestão de resíduos na agricultura e agroindústria**. Botucatu, FEPAF/Unesp, 2006. p. 64.
- ROVIRA, P. A. S.; BRUNETTI, G.; PÓLO, A.; SENESI, N. Comparative chemical and spectroscopic characterization of humic acids from sewage sludges and sludge-amended soils. **Soil Science**, v. 167, n. 4, p. 235-245, 2002.
- SÁNCHEZ-MONEDERO, M. A.; CEGARRA, J.; GARCÍA, D.; ROIG, A. Chemical and structural evolution of humic acids during organic waste composting. **Biodegradation**, v. 13, p. 361-371, 2002.
- SANTOS, L. M.; NARIMOTO, K. M.; GALETI, H. V. A.; PARABOCZ, V.; SILVA, W. T. L.; MILORI, D. M. B. P.; MELO, W. J.; MARTIN-NETO, L. Caracterização de amostras de solos submetidos à adição de lodo de esgoto utilizando fluorescência induzida por laser (FIL). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 30., 2005, Recife. **Anais...** Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2005. 1 CD-ROM.
- SANTOS, L. M. **Dinâmica da matéria orgânica e destino de metais pesados em dois solos submetidos à aplicação de lodo de esgoto**. 2006. 143 f. Dissertação (Mestrado em Ciências – Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.
- SCHNITZER, M.; KHAN, S. U. **Humic substances in the environment**. New York: Marcel Dekker, 1972. p. 192-197.
- SCHNITZER, M.; KHAN, S. U. **Humic substances chemistry and reactions: soil organic matter**. New York: Elsevier, 1978. p. 319.
- SCHNITZER, M.; PRESTON, C. M. Analysis of humic acids by solution and solid-state carbon-13 nuclear magnetic resonance. **Soil Science Society of America Journal**, v. 50, p. 326-331, 1986.

SCHNITZER, M.; KODAMA, H.; RIPMEESTER, J. A. Determination of the aromaticity of humic substances by X-ray diffraction analysis. **Soil Science Society American Journal**, v. 55, p. 745-750, 1991.

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.

SENESI, N.; MIANO, T. M.; PROVENZANO, M. R.; BRUNETTI, G. Characterization, differentiation, and classification of humic substances by spectroscopy. **Soil Science**, v. 152, n. 4, p. 259-271, 1991.

SENESI, N.; LOFFREDO, E. The Chemistry of Soil Organic Matter. In: SPARKS, D. L. (Ed.) **Soil physical chemistry**. Boca Raton: CRC, 1999. cap. 6, p. 242-370.

SILVA, C. A. Uso de Resíduos Orgânicos na Agricultura. In: SANTOS, G.A.; SILVA, L. S.; CANELLAS, L.P.; CAMARGO, F. A. O. **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre: Metrópole, 2008. p. 597-613.

SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G.; MORRIL, T. C. **Identificação espectroscópica de compostos orgânicos**. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1994. 387 p.

SIMÕES, M. L. **Estudos de interações hidrofóbicas em substâncias húmicas e componentes do solo utilizando análises espectroscópicas**. 2005. 147 f. Tese (Doutorado em Ciências e Engenharia de Materiais) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.

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.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Análise instrumental**. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002. 836 p.

SOUZA, D. M. G.; LOBATO, E. **Calagem avaliada em plantio direto num latossolo de Cerrado**. Planaltina, Embrapa-CPAC; São Paulo, Nobel, 1985. p. 99-127.

SPOSITO, G. **The chemistry of soils**. New York: Oxford University, 1989. 277 p.

STEVENSON, F. J. **Humus chemistry: genesis, composition, reactions**. 1. New York: John Wiley, 1982. 443 p.

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

STUART, B. **Modern infrared spectroscopy**: Analytical chemistry by open learning. New York: John Wiley, 1996. 179 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. (Ed.) **Humic substances II**: in search of structure. New York: John Wiley, 1989. p. 449-466.

TAN, K. H. **Soil sampling preparation, and analysis**. New York: Marcel Dekker, Inc., 1996. p. 278-298.

VERGNOUX, A.; DUPUY, N.; GUILIANO, M.; VENNETIER, M.; THÉRAULAZ, F. ; DOUMENQ, P. Fire Impact on forest soils evaluated using near-infrared spectroscopy and multivariate calibration. **Talanta**, v. 80, p. 39-47, 2009.

WANDRUSZKA, von R. The micellar model of humic acid: evidence from pyrene fluorescence measurements. **Soil Science**, v. 163, p. 921-930, 1998.

WERSHAW, R. L. A new model for humic materials and their interactions with hydrophobic organic chemical 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 & Technology**, v. 27, p. 814-816, 1993.

WESTAD, F.; SCHMIDT, A.; KERMIT, M. Incorporating band-assignment in near infrared spectroscopy regression models. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, v. 16, p. 265-273, 2008.

WESTERMAN, P. W. ; BICUDO, J. R. Management considerations for organic wasrw use in agriculture. **Bioresource Technology**, v. 96, p. 215-221, 2005.

WOLD, S.; ESBENSEN, K.; GELADI, P. **Principal component analysis**. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems. 1987. v. 2, 37 p.

WORKMAN, J. R. Optical Spectrometers. In: WORKMAN J. R., J.; SPRINSTEEN, A. (Ed.) **Applied spectroscopy**: a compact reference for practitioners. San Diego: Academic Press, p. 4-91, 1998.

ZECH, W.; SENESI, N.; GUGGENBERGER, G.; KAISER, K.; LEHMANN, 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, 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, n. 1, p. 45-50, 1999.

