

SEÇÃO VI - MANEJO E CONSERVAÇÃO DO SOLO E DA ÁGUA

ESTOQUE E QUALIDADE DA MATÉRIA ORGÂNICA DE UM SOLO CULTIVADO COM CANA-DE-AÇÚCAR POR LONGO TEMPO⁽¹⁾

Luciano Pasqualotto Canellas⁽²⁾, Marihus Altoé Baldotto⁽²⁾, Jader Galba Busato⁽²⁾, Cláudio Roberto Marciano⁽²⁾, Sonia Cabral Menezes⁽³⁾, Naira Machado da Silva⁽³⁾, Victor Marcos Rumjanek⁽⁴⁾, Ary Carlos Xavier Velloso⁽²⁾, Marcelo Luiz Simões⁽⁵⁾ & Ladislau Martin-Neto⁽⁵⁾

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o estoque e a qualidade da matéria orgânica (MOS) por meio de análises de ressonância magnética nuclear (RMN) de ¹³C no estado sólido de amostras intactas de solo e de ressonância paramagnética eletrônica (RPE) e fluorescência dos ácidos húmicos (AH) isolados de um Cambissolo cultivado com cana-de-açúcar por longo tempo. Numa situação, a cana-de-açúcar foi cultivada por 55 anos sem a queima por ocasião da colheita. A outra situação envolveu uma área cultivada com queima da palhada, na qual em uma parte foi realizada a adição de vinhaça (120 m³ ano⁻¹) durante 35 anos e a outra não recebeu esse tratamento. O aumento no estoque de AH em 157 e 57 % nas camadas de 0–0,20 e 0,20–0,40 m, respectivamente, na área cultivada durante 55 anos com preservação do palhicho, correspondeu ao aumento observado no grau de aromaticidade e diminuição da acidez da MOS, obtido por RMN ¹³C. Nas áreas com manejos que envolviam a preservação da MOS foram obtidos AH com maior concentração de radicais livres do tipo semiquinona, determinada por RPE, e maior intensidade de emissão de fluorescência. Mudanças significativas no processo de humificação da MOS e, portanto, na sua qualidade foram decorrentes da preservação do palhicho por ocasião da colheita. Por sua vez, a adição de vinhaça

⁽¹⁾ Recebido para publicação em março de 2004 e aprovado em janeiro de 2007.

⁽²⁾ Professor da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Av. Alberto Lamego 2000, CEP 28013-602 Campos dos Goytacazes (RJ). E-mails: canellas@uenf.br; (bolsista do CNPq); marihus@uenf.br; marciano@uenf.br; velloso@uenf.br

⁽³⁾ Pesquisador da Petrobrás – Cenpes – Divisão de Química. Ilha do Fundão, Quadra 7 CEP 21949-900 Rio de Janeiro (RJ). E-mails: sonia@cenpes.petrobras.com.br; naira@cenpes.petrobras.com.br

⁽⁴⁾ Professor do Departamento de Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ. Km 47 da antiga RJ-SP CEP 23851-970 Seropédica (RJ). E-mail: rumjanek@uenf.br

⁽⁵⁾ Pesquisador da Embrapa Instrumentação Agropecuária, Rua XV de Novembro 1452, Caixa Postal 741, CEP 13560-970 São Carlos (SP). E-mail: martin@cnpdia.embrapa.br; marcelo@cnpdia.embrapa.br

durante 35 anos ao canavial no qual foi realizada a queima do palhiço não alterou significativamente a qualidade da MOS, sugerindo rápida evolução do material orgânico solúvel adicionado ao solo.

Termos de indexação: ácidos húmicos, ácidos fúlvicos, huminas, estoque de C, solo tropical.

SUMMARY: STOCKS AND QUALITY OF ORGANIC MATTER IN AN INCEPTISOL UNDER LONG-TERM SUGARCANE CULTIVATION

The aim of this study was to evaluate the stocks, and quality of the soil organic matter (SOM) through the use of solid state ^{13}C nuclear magnetic resonance (^{13}C NMR), electronic paramagnetic resonance (EPR) and fluorescence spectroscopy of a fine clay fluventic Eutrichrept after long-term sugarcane cultivation. In one area, sugarcane has been grown for 55 years no field burning before harvest. In another area managed under the traditional system the crop field has been burned before harvest for 35 years; vinasse has been applied on one part (at a rate of $120\text{ m}^3\text{ ha}^{-1}\text{ yr}^{-1}$), but not on another. The increases of 157 and 57 % in C stocks of humic acids in the area cultivated without field burning for 55 years were related with the increase in the aromaticity degree as well as lower acidity of the SOM, as shown by ^{13}C NMR spectroscopy. The semiquinone-type free radical concentration, as observed by EPR, and intensity of fluorescence emission were higher in the humic acid extracted from soils under management system without field burning before harvest. Significant changes in the humification process were observed in the areas with crop trash preservation. However, in areas where sugar-cane fields were burnt at harvest, vinasse application for 35 years resulted in only minor changes in the organic matter quality and C stocks. These data indicate a rapid evolution of the soluble organic matter added to the soil through vinasse application.

Index terms: humic acids, fulvic acids, humins, carbon storage, tropical soil.

INTRODUÇÃO

As atividades agrícolas alteram as propriedades que definem a qualidade do solo. Mudanças no ambiente, decorrentes de práticas de manejo inadequadas, podem levar ao rápido declínio do estoque de matéria orgânica do solo (MOS) em áreas tropicais e subtropicais (Bayer & Mielniczuk, 1999; Freixo et al., 2002). A manutenção da MOS é, portanto, fundamental para a sustentabilidade dos sistemas de produção agrícola (Mielniczuk et al., 2003). Apesar disso, os estudos que abordam o efeito da longa duração de práticas conservacionistas de manejo sobre o estoque e, principalmente, sobre a qualidade da MOS são relativamente escassos nas áreas tropicais.

Segundo Cerri et al. (2003), os poucos artigos que relatam os efeitos da preservação dos restos de colheita dos canaviais mostram que o sistema de colheita mecanizado (sem queima) favorece o acúmulo de MOS (seqüestro de C) mediante o retorno ao solo de resíduos da cultura que antes eram queimados, além de reduzir a emissão de gases (CO_2 , CH_4), em comparação com o sistema de produção com a queima do palhiço. Seja pelos problemas ambientais relacionados à queima,

seja pela redução da necessidade de mão-de-obra em áreas mecanizadas, a expectativa é de que ocorra aumento significativo na área de colheita de cana crua.

Canellas et al. (2003) verificaram, num Cambissolo cultivado por longo tempo com cana-de-açúcar, que a preservação do palhiço durante a colheita por 55 anos e a adição de vinhaça por 35 anos em áreas com queima para despalha do canavial proporcionaram melhorias nas propriedades químicas do solo, como aumento da CTC, redução do ponto de efeito salino nulo (PESN), aumento nos teores de micronutrientes e acúmulo de MOS. Também foram observadas alterações no processo de humificação, que incluíram acúmulo de ácidos húmicos nas áreas de preservação do palhiço.

O uso da espectroscopia de RMN ^{13}C no estado sólido permite observar *in situ* a qualidade da MOS, isto é, sem necessidade de extração dos compostos orgânicos ou de frações humificadas (Preston, 1996; Conte et al., 2004). A qualidade da MOS, nesse caso, pode ser avaliada por meio da proporção dos principais grupos funcionais presentes. A quantidade de C alquílico, C-O-alquílico, C aromático, C aromático substituído por heteroátomos e C carboxílico pode ser obtida pela integração das áreas correspondentes aos sinais desses

grupos funcionais nos espectros de RMN ^{13}C (Wilson, 1987). A distribuição relativa dessas funções químicas pode ser utilizada como indicador da qualidade da MOS (Kogel-Knabner, 2002). Diversos autores têm usado as características químicas da fração AH para avaliar indiretamente alterações na qualidade da MOS de acordo com as diferentes formas de manejo e tipos de solo (Bayer et al., 2002; Canellas et al., 2004; Rosa et al., 2005).

A concentração de radicais livres do tipo semiquinona (CRLS) em AH obtida por RPE pode ser usada para avaliar aspectos estruturais e de sua reatividade, e essa característica tem sido associada à presença de estruturas aromáticas, permitindo avaliar o grau de humificação da MOS (Riffaldi & Schnitzer, 1972; Schnitzer & Levesque, 1979; Martin-Neto et al., 1994; Martin-Neto et al., 1998, 2001; Novotny & Martin-Neto, 2002; Dick et al., 2005). Apesar de outros grupamentos também originarem radicais livres, como metoxibenzenos (Senesi, 1990), e de a análise de RPE ser fortemente influenciada pela presença de cátions metálicos interferindo na quantificação da CRLS (Novotny & Martin-Neto, 2002), a presença de radicais livres nos AH está associada à ecologia e à natureza dos processos envolvidos na sua formação. De acordo com Zech et al. (1997), o processo de humificação dos resíduos orgânicos geralmente é acompanhado pelo aumento na concentração de C em funções carboxílicas e aromáticas, com concomitante diminuição no C associado aos polissacarídeos. Dessa forma, com a humificação da MOS, ocorre concentração de estruturas aromáticas que podem ser estabilizadas em radicais livres do tipo semiquinona. Com o incremento da humificação ocorre, também, incremento da intensidade de emissão de fluorescência com excitação fixa no comprimento de onda relativo ao azul (Milori et al., 2002), uma vez que, com o incremento da concentração de duplas ligações (insaturações) e de heteroátomos com elétrons livres, ocorre aumento da intensidade de fluorescência.

O objetivo deste estudo foi avaliar o estoque de C e a qualidade da matéria orgânica de um Cambissolo cultivado por longo tempo sob diferentes manejos da cana-de-açúcar por meio da técnica de RMN ^{13}C no estado sólido, utilizando a seqüência de pulso com polarização cruzada e com rotação no ângulo mágico (CP/MAS). Além disso, foram determinadas a CRLS, por RPE, e a intensidade de emissão de fluorescência dos AH.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas amostras de um Cambissolo Háplico Ta eutrófico vértico coletadas em duas áreas de produção de cana-de-açúcar, localizadas em Campos dos Goytacazes, anteriormente utilizadas por Canellas et al. (2003). Na primeira área, desde 1946 não é

realizada a queima do canavial por ocasião da colheita. O palhço é disposto em leiras nas entrelinhas da cana-de-açúcar. Na segunda área, é realizada a queima do canavial, mas desde 1966 são adicionados, anualmente, cerca de $120\text{ m}^3\text{ ha}^{-1}$ de vinhaça durante o período de seca (inverno), por meio de irrigação por aspersão. Também foram coletadas amostras de solo em áreas adjacentes às duas descritas anteriormente sob cultivo de cana-de-açúcar com a queima por ocasião da colheita e sem adição de vinhaça. A coleta de amostras do solo foi feita em fevereiro de 2001, em duas profundidades (0–0,20 e 0,20–0,40 m); foram obtidas três amostras compostas, formadas por dez amostras simples por área de parcela da lavoura de cerca de 492 m^2 . Os sistemas de manejo da lavoura de cana-de-açúcar foram identificados como: (a) cana crua; (b) cana queimada; (c) cana com vinhaça; e (d) cana sem vinhaça.

Antes das análises, as amostras de solo foram secas ao ar, destorroadas e passadas em peneiras com abertura de 2 mm, para obtenção da terra fina seca ao ar (TFSA).

Para obtenção do estoque de C, tanto na MOS total como nas suas frações humificadas, determinou-se a densidade do solo pelo método da parafina (Blake & Hartge, 1986), em triplicata. O estoque de C (EC), em Mg ha^{-1} , foi obtido a partir da concentração de C e das frações ácidos fúlvicos livres (C_{AFL}), ácidos fúlvicos (C_{AF}), ácidos húmicos (C_{AH}) e huminas (C_{H}) no solo ($[\text{C}]$, em g kg^{-1}), tendo sido determinado previamente por Canellas et al. (2003) por meio da equação: $\text{EC} = [\text{C}] \times L \times d \times 10$, em que L é a espessura da camada de solo, em metros, e d , a densidade do solo, em Mg m^{-3} .

A matéria orgânica das amostras de solo foi analisada por espectroscopia de RMN ^{13}C , com polarização cruzada e rotação no ângulo mágico (CP/MAS). Os espectros foram obtidos no equipamento Varian INOVA-300 (7,1 Tesla) equipado com sonda para amostras sólidas nas seguintes condições experimentais: seqüência de pulsos utilizada: CP/MAS; frequência de observação: 75,4 MHz; janela espectral: de 50 kHz; tempo de aquisição 0,05 s; pulso de 5 ms (90 °); intervalo entre pulsos: de 4 s; tempo de contato de 1.000 ms; núcleo desacoplado na aquisição: ^1H ; modo desacoplador: "gated"; e número de transientes: 10.000. As áreas dos sinais de RMN foram integradas utilizando-se o software do espectrômetro Varian (VNMR) e hexametilbenzeno (HMB) ($\delta_{\text{metilas}} = 17,3\text{ ppm}$) como referência secundária. Os sinais nos espectros foram divididos, de acordo com Wilson (1987), em cinco regiões principais de absorção: C sp^2 alquílico (0–50 ppm), C mono ou dioxigenado ou C de peptídeos (50–110 ppm), C aromáticos e olefinas (110–150 ppm), C aromático substituído por heteroátomo (150–165 ppm) e C em grupamentos carboxílicos, cetonas, amidas ou éteres (165–200 ppm).

O experimento de RPE foi realizado utilizando amostras de AH isoladas e purificadas, de acordo com

o procedimento proposto pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS). Os espectros de RPE foram adquiridos em um espectrômetro marca Bruker EMX, operando em banda X (~9 GHz), à temperatura ambiente. Para análise quantitativa, tubos de quartzo foram preenchidos com amostras de AH, anotando-se as respectivas massas para posterior normalização dos dados. Para obtenção das áreas dos sinais foi utilizada a aproximação $I \times (\Delta H_{PP})^2$ (Poole, 1967), em que I é a intensidade do sinal e ΔH_{PP} é a largura de linha do sinal, tomada pico a pico. Na determinação da CRLS utilizou-se o método do padrão secundário com um cristal de rubi (Singer, 1959; Martin-Neto et al., 1994) e o padrão "strong pitch" da Bruker com conhecida concentração de *spins*. Os parâmetros experimentais foram: potência das microondas: 0,1 mW, determinada por experimento de saturação de potência; frequência de modulação: 100 kHz; amplitude de modulação: 0,1 mT; constante de tempo: 2,56 ms; e tempo de conversão: 10,24 ms. As análises foram realizadas em duplicata, para obtenção do desvio médio com, no mínimo, oito varreduras por determinação.

A intensidade de fluorescência foi obtida em solução aquosa de AH na concentração de 50 mg L⁻¹, equilibrada a 25 °C e pH 8. Empregou-se um espectrofotômetro Hitachi F-4500, e as condições experimentais foram as mesmas indicadas por Milori et al. (2002).

Os tratamentos foram esquematizados em diferentes cultivos com cana-de-açúcar e seus efeitos desdobrados em comparações entre as médias de cada grupo de manejo. O experimento foi realizado seguindo delineamento inteiramente casualizado, e as diferenças entre as médias dos tratamentos, provenientes de três repetições, foram testadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após 55 anos de cultivo da cana-de-açúcar com a queima do palhicho por ocasião da colheita, foi verificado decréscimo de cerca de 40 % no estoque de C em relação à área sem a queima na camada superficial do solo e de 35 % na camada subsuperficial (Quadro 1). A redução do estoque armazenado de C foi significativa ($p < 0,001$) e dentro das faixas normalmente encontradas em experimentos para avaliação de perdas de matéria orgânica com o cultivo do solo (Bayer & Mielniczuk, 1999; Mielniczuk et al., 2003). Observou-se, também, redução no estoque de N com a queima do palhicho: de 35 % na camada superficial e de 20 % na camada subsuperficial do solo. Isso é plausível, pois há relação estreita entre o estoque de C e o de N, já que a maior parte do N do solo encontra-se nos compostos orgânicos (Camargo et al., 1999). A queima para a despalha do canavial, além de reduzir o aporte de resíduos vegetais, favorece a oxidação da MOS e expõe a superfície do solo aos processos erosivos. O resultado é a diminuição do estoque de MOS armazenado ao longo do tempo.

A quantidade de C armazenada nas frações humificadas da matéria orgânica ($C_{AH} + C_{AF} + C_H$) correspondeu a 67–68 % na área de cana crua e a 80–83 % na área de cana queimada (Quadro 1). Na área de cana crua houve aumento significativo no estoque nas frações C_{AH} e C_H , em ambas as profundidades estudadas (Quadro 1). Já na área com a queima do palhicho foi observado aumento relativo na concentração de C armazenado na fração C_H , considerada mais recalcitrante à ação biológica. Na área de lavoura com a queima do canavial, porém com adição de

Quadro 1. Estoque de carbono (EC) e nitrogênio (EN) no solo e de carbono nas frações humificadas da matéria orgânica de um Cambissolo Háplico Ta eutrófico vértico de Campos dos Goytacazes – RJ cultivado com cana-de-açúcar, com preservação do palhicho e adição de vinhaça por longo tempo

| Manejo da lavoura | Densidade do solo | EC | EN | Fração da matéria orgânica | | | | |
|-------------------|--------------------|---------|--------|----------------------------|-----------------|------------------------------------|-----------------|----------------|
| | | | | C _{AFL} | C _{AF} | C _{AFL} + C _{AF} | C _{AH} | C _H |
| | Mg m ⁻³ | | | Mg ha ⁻¹ | | | | |
| | | | | 0–0,20 m | | | | |
| Cana crua | 1,33 C | 59,36 A | 6,25 A | 0,59 B | 2,71 A | 3,30 A | 2,56 A | 33,81 A |
| Cana queimada | 1,38 BC | 36,12 C | 4,14 B | 0,58 B | 2,35 AB | 2,15 AB | 0,99 C | 25,09 B |
| Com vinhaça | 1,42 B | 52,00 B | 5,11 B | 0,65 A | 1,99 C | 2,14 AB | 1,11 B | 19,89 B |
| Sem vinhaça | 1,54 A | 48,21 C | 5,53 B | 0,49 C | 1,60 BC | 2,09 B | 0,86 C | 15,66 C |
| | | | | 0,20–0,40 m | | | | |
| Cana crua | 1,35 B | 56,40 A | 5,67 A | 0,65 AB | 3,83 A | 4,48 AB | 2,38 A | 31,57 A |
| Cana queimada | 1,58 A | 37,27 B | 4,42 B | 0,76 AB | 2,05 B | 2,81 BC | 0,47 B | 27,80 B |
| Com vinhaça | 1,40 B | 33,77 B | 4,47 B | 0,36 B | 1,20 C | 1,56 C | 0,59 B | 15,35 B |
| Sem vinhaça | 1,49 AB | 32,52 B | 4,18 B | 0,45 B | 1,13 C | 1,58 B | 0,39 B | 12,53 B |

Médias seguidas de letras iguais na coluna, em cada profundidade, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

C_{AFL}: ácidos fúlvicos livres; C_{AF}: ácidos fúlvicos; C_{AH}: ácidos húmicos; C_H: huminas.

vinhaça durante 35 anos, foi possível verificar, em relação à área sem adição de vinhaça, acréscimo de somente 7 % no estoque de C na camada superficial e de 4 % na camada subsuperficial. O aumento na MOS armazenada nas áreas com adição de vinhaça não foi estatisticamente significativo, assim como nas frações C_{AH} e C_H . Esses aumentos foram de 29 % no conteúdo de C_{AH} e de 27 % no de C_H na camada superficial e de 51 % para AH e 23 % para H na camada subsuperficial. A maior compactação do solo verificada nos sistemas menos conservacionistas de matéria orgânica (queima e não-adição de vinhaça), em relação aos mais conservacionistas (não-queima e adição de vinhaça) (Quadro 1), atua no sentido de atenuar as diferenças no estoque volumétrico de C total ou de suas frações, comparativamente às diferenças observadas quando se interpretam os teores gravimétricos de C (Canellas et al., 2003).

Os espectros de RMN ^{13}C CP/MAS das amostras intactas dos solos estudados são apresentados na figura 1, e o resultado da integração das áreas correspondentes aos principais tipos de C, no quadro 2. O principal efeito da preservação do palhicho sobre a qualidade da MOS foi o aumento significativo na quantidade de C atribuído a compostos aromáticos e, ou, olefinas (deslocamento químico entre 110 e 150 ppm). Esse aumento foi da ordem de quatro vezes em ambas as profundidades estudadas, em comparação com as áreas com queima do canavial. Foi possível observar aumento considerável no grau de aromaticidade das amostras de solo retiradas do canavial onde não se realizou a queima do palhicho. Além disso, foi constatado conteúdo menor de C atribuído a grupos carboxílicos (deslocamento químico entre 165 e 200 ppm, que inclui absorção de grupos cetonas, ésteres e amidas). O aumento da aromaticidade e a diminuição da acidez são as principais transformações químicas decorrentes do aumento do processo de humificação e estabilização da MOS (Stevenson, 1994; Zech et al., 1997; Camargo & Santos, 1999; Millori et al., 2002; Rosa et al., 2005).

Na área com cana queimada foi verificado aumento relativo na absorção de C alifático (C alquil, com deslocamento químico entre 0 e 50 ppm) e aumento no conteúdo de C mono ou dioxigenado. O elevado conteúdo de C alifático em material decomposto tem sido atribuído à preservação seletiva desses materiais com maior recalcitrância à atividade biológica (Theng et al., 1992). A presença de C de carboidratos pode refletir tanto a produção de resíduos pela atividade microbiana como resultado da degradação de outras formas de C, como os contidos em biopolímeros aromáticos, como as ligninas. O resultado dessa dinâmica da decomposição na área com queima do canavial é o aumento na quantidade de matéria orgânica oxidada (acrécimo na ordem de 33 % no conteúdo de C carboxílicos) e recalcitrante (aumento de C alifático na ordem de 24 % na camada de 0–0,20 m e de 136 % de 0,20–0,40 m).

As mudanças na qualidade da matéria orgânica na área de canavial com colheita de cana queimada, mas com e sem a aplicação da vinhaça, foram menos acentuadas do que as observadas entre a área de cana crua e a da cana queimada. Na camada superficial foi observado aumento relativo do conteúdo de C alifático na área com adição de vinhaça, e na camada subsuperficial, aumento no conteúdo de C em carboidratos. As outras regiões do espectro de RMN ^{13}C permaneceram pouco alteradas. Esses dados refletem de certa forma os dados quantitativos obtidos com a análise do estoque armazenado de matéria orgânica. Houve poucas mudanças significativas no

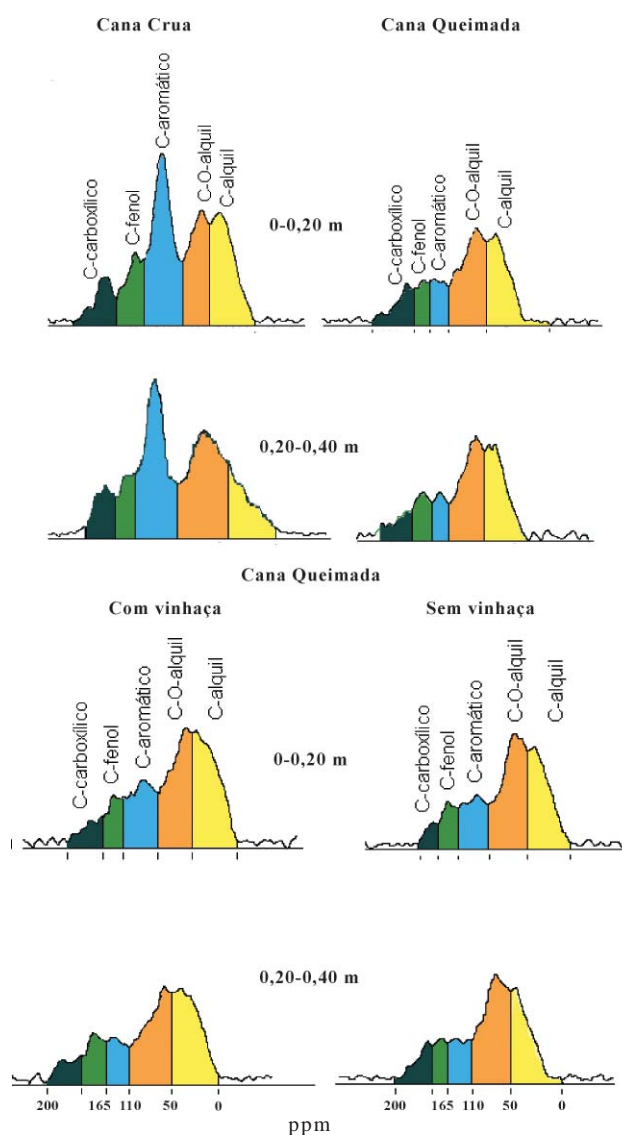


Figura 1. Espectros de RMN ^{13}C CP-MAS de amostras intactas de um Cambissolo Háplico Ta vértico do norte do Estado do Rio de Janeiro cultivado por 55 anos sem (Cana Crua) e com a despalha com fogo do canavial para a colheita (Cana Queimada) e por 35 anos com cana queimada com e sem adição anual de $120 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ de vinhaça por meio de irrigação por aspersão.

conteúdo de C armazenado nas diferentes frações, demonstrando que as mudanças no estoque total armazenado foram devidas principalmente ao aumento da densidade do solo e não a alterações no processo de humificação da MOS. Por sua vez, na área de cana crua, houve aumento significativo no conteúdo armazenado nas frações alcalino-solúveis mais condensadas (Quadro 1), o qual refletiu no acréscimo considerável do grau de aromaticidade da MOS avaliado por RMN ^{13}C CP/MAS (Quadro 2), indicando mudanças significativas na humificação da MOS com a preservação do palhiço sobre a cobertura do solo.

Possíveis alterações na natureza química dos AH foram avaliadas neste estudo pelas espectroscopias de RPE e de fluorescência. A CRLS dos AH foi aproximadamente sete vezes superior na amostra superficial da área com manejo envolvendo a preservação do palhiço da cana-de-açúcar, em comparação com os isolados da área continuamente cultivada utilizando a queima para a colheita (Quadro 3). Para a camada subsuperficial da área com preservação do palhiço em relação à área queimada, observou-se aumento de aproximadamente 110 %, indicando diferenças na qualidade da matéria orgânica humificada também em profundidade. Na área com aplicações de vinhaça sobre a superfície do solo, a CRLS nos AH aumentou em torno de 264 e 119 % em relação às amostras obtidas do solo sem adubação nas camadas superficial e subsuperficial, respectivamente. Os resultados indicam que as áreas manejadas com incrementos de matéria orgânica ao longo do tempo apresentaram maior CRLS, indicando a presença de matéria orgânica mais humificada na área de preservação da palhada e de adubação orgânica com vinhaça. A análise de emissão de fluorescência dos AH com excitação no azul (465 nm) também indicou

aumento no grau de humificação dos AH nas áreas de preservação do palhiço e de adição de vinhaça (Quadro 3), corroborando os resultados obtidos com RPE dos AH.

Os dados obtidos pela RPE e fluorescência dos AH estão em acordo com os resultados observados por meio da espectroscopia de RMN ^{13}C , utilizando amostras de solo intacto. O aumento significativo da concentração de AH mais humificados na área de cana crua resultou em matéria orgânica com maior grau de aromaticidade. Na área com adição de vinhaça, apesar do aumento do grau de humificação dos AH, não foi observado acúmulo suficiente dessa fração para refletir mudanças no grau de aromaticidade das amostras de solo intactas.

Foi possível identificar correlação significativa entre as características obtidas por meio de RMN ^{13}C das amostras intactas de solo e as obtidas de AH por espectroscopia de RPE e de fluorescência (Quadro 4). O incremento do conteúdo de C sp e, consequentemente, do grau de aromaticidade da MOS foi acompanhado pelo aumento do conteúdo de C_{AH} ($r^2 = 0,93^p < 0,05$) e da CRLS ($r^2 = 0,78^p < 0,01$) e intensidade de fluorescência dos AH ($r^2 = 0,84^p < 0,01$). Houve, portanto, além do aumento do estoque de C_{AH} na área de cana crua (Quadro 1), modificações importantes na sua natureza química que implicaram aumento de aromaticidade da MOS nas áreas de preservação do palhiço. Para o estoque de C_{AF} a correlação foi positiva e significativamente correlacionada com a aromaticidade da MOS ($r^2 = 0,70^p < 0,05$), porém o valor do coeficiente de correlação foi cerca de 25 % menor do que o obtido com C_{AH} (Quadro 4). Também foi verificada correlação altamente significativa, porém inversa, entre o estoque de C_{AF} e o conteúdo de C alifático na MOS ($r^2 = -0,94^p < 0,01$). Schnitzer & Khan

Quadro 2. Distribuição relativa das principais regiões de integração do espectro de RMN ^{13}C CP/MAS de amostras intactas de um Cambissolo Háplico Ta eutrófico vértico de Campos dos Goytacazes – RJ cultivado com cana-de-açúcar, com preservação do palhiço e adição de vinhaça por longo tempo

| Manejo da lavoura | % relativo molar por tipo de carbono | | | | | Grau de aromaticidade |
|-------------------|--------------------------------------|----------------|--------------|-------------|-------------|-----------------------|
| | C alquílico | C carboidratos | C aromáticos | C fenólicos | COOH | |
| | 0–50 ppm | 50–110 ppm | 110–150 ppm | 150–165 ppm | 165–200 ppm | % |
| | 0–0,20 m | | | | | |
| Cana crua | 25 | 19 | 34 | 13 | 9 | 52 |
| Cana queimada | 31 | 36 | 10 | 11 | 12 | 24 |
| Com vinhaça | 33 | 31 | 20 | 9 | 7 | 31 |
| Sem vinhaça | 29 | 38 | 19 | 10 | 4 | 30 |
| | 0,20–0,40 m | | | | | |
| Cana crua | 14 | 34 | 33 | 10 | 9 | 47 |
| Cana queimada | 33 | 37 | 9 | 9 | 12 | 20 |
| Com vinhaça | 37 | 31 | 14 | 10 | 10 | 26 |
| Sem vinhaça | 39 | 29 | 13 | 11 | 8 | 26 |

(1978) verificaram que a fração C_{AF} apresenta conteúdo elevado de grupos COOH. Esperava-se, portanto, correlação positiva entre o estoque de C_{AF} e o conteúdo de C carboxílico determinado por RMN ^{13}C na MOS, porém ela não foi significativa. Foi obtida, ainda, correlação altamente significativa entre o estoque de C_{AH} e o estoque de N na MOS ($r^2 = 0,84^p < 0,01$).

Millori et al. (2002) obtiveram correlação significativa entre o grau de humificação de AH, avaliada por EPR, e a intensidade de fluorescência com excitação em 465 nm, uma vez que a emissão de fluorescência nessa região está associada à ressonância de elétrons em ligações conjugadas que são tipicamente aumentadas com o avanço da humificação. A humificação pode ser caracterizada como um processo complexo baseado na síntese e, ou, ressíntese de

compostos orgânicos que são incorporados ao solo. É possível, teoricamente, simplificar os vários caminhos da humificação em dois mecanismos: a preservação seletiva de biopolímeros e a policondensação de moléculas mais simples, ambos com incorporação de produtos de origem microbiana (Camargo et al., 1999). Essas transformações incluem um conjunto de reações de oxidação, desidratação, hidrólise, descarboxilação e condensação, que levam, via de regra, ao aumento de N nas substâncias húmicas (Kuwatsuka et al., 1978) e de C aromático e alquílico e diminuição de C proveniente de polissacarídeos na MOS (Zech et al., 1997). A dimensão dessas transformações é influenciada pelas condições do solo, como temperatura, umidade, reação e conteúdo de bases trocáveis no solo (Volkoff & Cerri, 1980, 1981, 1988,

Quadro 3. Concentração de radicais livres do tipo semiquinona (CRLS em *spins* por grama de carbono) e intensidade de fluorescência (em unidades arbitrárias, u.a.) em ácido húmico (AH) extraídos de um Cambissolo cultivado com cana-de-açúcar sob diferentes sistemas de manejo

| Amostra | Spins (g C_{AH}) $^{-1} \times 10^{17}$ ⁽¹⁾ | | Intensidade de fluorescência (ua) ⁽¹⁾ | |
|---------------|---|-------------|--|-------------|
| | 0-0,20 m | 0,20-0,40 m | 0-0,20 m | 0,20-0,40 m |
| Cana crua | 2,49 | 1,08 | 17.804 | 11.244 |
| Cana queimada | 0,34 | 0,52 | 8.954 | 5.925 |
| Com vinhaça | 1,30 | 0,83 | 10.754 | 8.684 |
| Sem vinhaça | 0,36 | 0,38 | 9.505 | 6.024 |

⁽¹⁾ Dados obtidos por análise em duplicata, com variação máxima inferior a 5 % em torno da média para CRLS e de 9,3 % para fluorescência.

Quadro 4. Matriz de correlações para as variáveis⁽¹⁾ obtidas em amostras de um Cambissolo cultivado por longo tempo com cana-de-açúcar

| | CRLS | Fluo | ALQ | CHO | AROM | OH | COOH | GA (%) | C | N | C_{AF} | C_{AH} | C_H | C_{AH}/C_{AF} |
|-------|------|--------|-------|---------|---------|--------|-------|--------|--------|--------|----------|----------|--------|-----------------|
| CRLS | 1,00 | 0,83** | -0,39 | -0,84** | 0,78** | -0,16 | -0,03 | 0,82** | 0,75* | 0,75* | 0,43 | 0,79** | 0,59 | 0,88** |
| Fluo | | 1,00 | -0,55 | -0,71* | 0,84** | 0,64* | -0,17 | 0,89** | 0,83** | 0,85** | -0,52 | 0,88** | 0,60 | 0,98** |
| ALQ | | | 1,00 | 0,03 | -0,79** | -0,16 | 0,06 | -0,77* | -0,77* | -0,71* | -0,94** | -0,86** | -0,74* | -0,54 |
| CHO | | | | 1,00 | -0,55 | -0,75* | 0,01 | -0,63* | -0,38 | -0,45 | -0,07 | -0,52 | -0,27 | -0,72* |
| AROM | | | | | 1,00 | 0,44 | -0,32 | 0,99** | 0,91** | 0,92** | 0,70* | 0,93* | 0,57 | 0,88** |
| OH | | | | | | 1,00 | 0,44 | 0,57 | 0,25 | 0,36 | 0,16 | 0,51 | 0,31 | 0,65* |
| COOH | | | | | | | 1,00 | -0,32 | -0,39 | -0,47 | 0,21 | -0,05 | 0,44 | -0,30 |
| A (%) | | | | | | | | 1,00 | 0,87** | 0,89** | 0,70* | 0,96** | 0,62* | 0,91** |
| C | | | | | | | | | 1,00 | 0,95** | 0,70* | 0,88** | 0,60* | 0,82** |
| N | | | | | | | | | | 1,00 | 0,56 | 0,84** | 0,52 | 0,87** |
| AF | | | | | | | | | | | 1,00 | 0,84** | 0,87** | 0,46 |
| AH | | | | | | | | | | | | 1,00 | 0,79* | 0,86** |
| H | | | | | | | | | | | | | 1,00 | 0,47 |
| AH/AF | | | | | | | | | | | | | | 1,00 |

⁽¹⁾ Variáveis obtidas da fração ácidos húmicos: CRLS = concentração de radicais livres do tipo semiquinona; Fluo = intensidade de emissão de fluorescência com excitação fixa em 465 nm. Variáveis obtidas da MOS: ALQ = C alifático; CHO = C polissacarídeos; AROM = C aromático; OH = C fenólico; COOH = C carboxílico; GA(%) = grau de aromaticidade; C e N = estoque de C e N; C_{AF} = estoque de C na fração ácidos fúlvicos; C_{AH} = estoque de C na fração ácidos húmicos; C_H = estoque de C na fração humina. ** e * = correlação significativa a 1 e 5 %, respectivamente.

Cerri & Volkoff, 1988), pela qualidade e quantidade de resíduos orgânicos que são incorporados ao solo (Stevenson, 1994; Camargo & Santos, 1999) e pelo manejo do solo (Bayer et al., 2002). Com isso, as alterações nesse conjunto de fatores influenciados pela manutenção da palhada no canavial por ocasião da colheita se refletiram em alterações na natureza química dos AH e na qualidade da MOS. Foi possível utilizar as características químicas dos AH como indicador da qualidade da MOS. Além disso, a razão entre o estoque de C_{AH} e o de C_{AF} (C_{AH}/C_{AF}) foi positiva e significativamente relacionada com o conteúdo de CRLS ($r^2 = 0,88^{p < 0,01}$) e a intensidade de fluorescência com excitação fixa em 465 nm ($r^2 = 0,98^{p < 0,01}$) dos AH e com o conteúdo de C sp nas amostras de solo ($r^2 = 0,88^{p < 0,01}$) e, portanto, com o grau de aromaticidade da MOS ($r^2 = 0,91^{p < 0,01}$).

A relação C_{AH}/C_{AF} tem sido utilizada para avaliar, indiretamente a qualidade da MOS por alguns autores (Kononova, 1982; Orlov, 1998; MacCallister & Chian, 2000; Canellas et al., 2004). De acordo com Orlov (1998), a fertilidade do solo condiciona sua produtividade biológica e uma atividade ecológica maior e mais diversificada favorece o processo de humificação e a estabilização dos compostos orgânicos na fração C_{AH} . Já o acúmulo de C_{AF} parece estar mais relacionado ao impedimento dessas reações, seja por restrições dos fatores ecológicos (i.e., baixa umidade, acidez excessiva, toxidez por Al^{3+}) ou devido a interações com a fração argila em solos com alto teor de argila do tipo 1:1 e óxidos, hidróxidos e oxihidróxidos de Fe e Al (Mendonça & Rowell, 1996). Canellas et al. (2003) observaram na área de cana crua aumento significativo na soma de bases e na capacidade de troca catiônica em relação à área com cana queimada e, como esperado, aumento significativo na relação C_{AH}/C_{AF} . Neste trabalho, a relação C_{AH}/C_{AF} também pôde ser correlacionada com a qualidade da MOS avaliada por meio da RMN ^{13}C .

CONCLUSÕES

1. As variações no estoque armazenado de C no solo e nas frações humificadas mais condensadas da matéria orgânica na área cultivada com cana-de-açúcar por longo tempo com preservação do palhicho corresponderam ao aumento no grau de aromaticidade e diminuição do grau de acidez da matéria orgânica, sugerindo mudanças significativas no processo de humificação e na qualidade da matéria orgânica do solo.

2. A adição de vinhaça durante 35 anos no canavial onde foi realizada a queima do palhicho modificou pouco o EC nas frações humificadas, mas alterou o processo de humificação e a qualidade da MOS.

3. Foram observadas correlações significativas entre o aumento do estoque da fração AH e da relação

AH/AF e a qualidade da MOS avaliada por RMN ^{13}C CP/MAS e dos AH por RPE e fluorescência, indicando, para este estudo, a possibilidade do uso do fracionamento químico da matéria orgânica e as características químicas dos ácidos húmicos como indicadores da qualidade da MOS.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi realizado com recursos financeiros da FAPERJ (E-26/171.280/2001) e do IFS (C 3391-1).

LITERATURA CITADA

- BAYER, C. & MIELNICZUK, J. Dinâmicas e função da matéria orgânica. In: SANTOS, G.A. & CAMARGO, F.A.O., eds. Fundamentos da matéria orgânica do solo: Ecossistemas tropicais e subtropicais. Porto Alegre, Gênese, 1999. p.9-26.
- BAYER, C.; MARTIN NETO, L.; MIELNICZUK, J.; SAAB, S.C.; MILORI, D.M.B.P. & BAGNATO, V. Tillage and cropping system effects on soil humic acid characteristics as determined by electron spin resonance and fluorescence spectroscopies. *Geoderma*, 105:81-92, 2002.
- BAYER, C.; MIELNICZUK, J.; MARTIN-NETO, L. & HERNÁN, P.R. Stocks and humification degree of organic matter fractions as affected by no-tillage on a subtropical soil. *Plant Soil*, 238:133-140, 2002.
- BLAKE, G.R. & HARTGE, K.H. Particle density. In: KLUTE, A., ed. *Methods of soil analysis, Part 1: Physical and mineralogical methods*. 2.ed.. Madison, American Society of Agronomy, & Soil Science Society of America, 1986. p.377-382 (Agronomy Series Number 9)
- CAMARGO, F.A.O. & SANTOS, G.A. Macromoléculas e substâncias húmicas. In: SANTOS, G.A. & CAMARGO, F.A.O., eds. Fundamentos da matéria orgânica do solo: Ecossistemas tropicais e subtropicais. Porto Alegre, Gênese, 1999. p.27-40.
- CAMARGO, F.O.A.; GIANELLO, C.; TEDESCO, M.J. & VIDOR, C. Nitrogênio orgânico do solo. In: SANTOS, G.A. & CAMARGO, F.A.O., eds. Fundamentos da matéria orgânica do solo: Ecossistemas tropicais e subtropicais. Porto Alegre, Gênese, 1999. p.117-138.
- CANELLAS, L.P.; ESPÍNDOLA, J.A.; GUERRA, J.G.M.; CAMARGO, P.; ZANDONADI, D.B.; BRAZFILHO, R. & RUMJANEK, V.M. Organic matter quality of a soil cultivated with perennial herbaceous legumes. *Sci. Agric.*, 61:43-53, 2004.
- CANELLAS, L.P.; VELLOSO, A.C.X.; MARCIANO, C.R.; RAMALHO, J.F.G.P.; RUMJANEK, V.M.; REZENDE, C.E. & SANTOS, G.A. Propriedades químicas de um cambissolo cultivado com cana-de-açúcar, com preservação do palhicho e adição de vinhaça por longo tempo. *R. Bras. Ci. Solo*, 27:935-944, 2003.

- CERRI, C.C. & VOLKOFF, B. Matéria orgânica de três solos dos campos inundáveis da ilha do Marajó-PA. R. Bras. Ci. Solo, 12:93-100, 1988.
- CERRI, C.C.; BERNOUX, M.; FEIGL, B.J.; PICCOLO, M.C. & CERRI, C.E.P. Balanço de gases nos sistemas de produção. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 29., 2003. Anais. Ribeirão Preto, Universidade Estadual de São Paulo, 2003. CD-ROOM
- CONTE, P.; SPACCINI, R. & PICCOLO, A. State of the art of CPMAS C-13-NMR spectroscopy applied to natural organic matter. Prog. Nuclear Magnetic Res. Spectros., 44:215-223, 2004.
- DICK, D.P.; BURBA, P. & HERZOG, H. Influence of extractant and soil type on molecular characteristics of humic substances from two Brazilian soils. J. Braz. Chem. Soc., 10:140-145, 1999.
- DICK, D.P.; GONÇALVES, C.N.; DALMOLIN, R.S.D.; KNICKER, H.; KLAMT, E.; KÖGEL-KNABNER, I.; SIMÕES, M.L. & MARTIN-NETO, L. Characteristics of soil organic matter of different Brazilian Ferralsols under native vegetation as a function of soil depth. Geoderma, 124:319-333, 2005.
- FREIXO, A.A.; MACHADO, P.L.O.A.; GUIMARÃES, C.M.; SILVA, C.A. & FADIGAS, F.S. Estoque de carbono e nitrogênio e distribuição de frações orgânicas de Latossolo do Cerrado sob diferentes sistemas de cultivo. R. Bras. Ci. Solo, 26:425-434, 2002.
- KOGEL-KNABNER, I. The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter. Soil Biol. Biochem., 34:139-162, 2002.
- KONONOVA, M.M. Matéria orgánica del suelo: su naturaleza, propiedades y métodos de investigación. Barcelona, Oikos-Taou, 1982. 365p.
- KUWATSUKA, S.; TSUTSUKI K. & KUMADA, K. Chemical studies on soil humic acid I. Elementary composition of humic substances. Soil Sci. Plant Nutr., 24:337-347, 1978.
- MARTIN-NETO, L.; ANDRIULO, A.E. & TRAGHETTA, D.G. Effects of cultivation on ESR spectra of organic matter from size fractions of a Mollisol. Soil Sci., 157:365-372, 1994.
- MARTIN-NETO, L.; ROSELL, R. & SPOSITO, G. Correlation of spectroscopic indicators of humification with mean annual rainfall along a temperate grassland climosequence. Geoderma, 81:305-311, 1998.
- MARTIN-NETO, L.; TRAGHETTA, D.G.; VAZ, C.M.P. & CRESTANA, S. On the interaction mechanisms of atrazine and hydroxyatrazine with humic substances. J. Environ. Qual., 30:520-525, 2001.
- McCALLISTER, D.L. & CHIEN, W.L. Organic carbon quantity and forms as influenced by tillage and cropping sequence. Comm. Soil Sci. Plant Anal., 31:465-479, 2000.
- MENDONÇA, E.S. & ROWELL, D.L. Mineral and organic fractions of two Oxisols and their influence on the effective cation-exchange capacity. Soil Sci. Soc. Am. J., 60:1888-1892, 1996.
- MIELNICZUK, J.; BAYER, C.; VEZZANI, F.M.; LOVATO, T.; FERNANDES, F.F. & DEBARBA, L. Manejo de solo e culturas e sua relação com os estoques de carbono e nitrogênio do solo. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V., V.H. & SCHAEFER, C.E.G.R., eds. Tópicos em ciência do solo. Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2003. v.3. p.209-248.
- MILLORI, D.M.B.P.; MARTIN NETO, L.; BAYER, C.; MIELNICZUCK, J. & BAGNATO, V.S. Humification degree of soil humic acids determined by fluorescence spectroscopy. Soil Sci., 167:739-749, 2002.
- NOVOTNY, E.H. & MARTIN-NETO, L. Effects of humidity and metal ions on the free radicals analysis of peat humus. Geoderma, 106:305-317, 2002.
- ORLOV, P. Organic substances of russian soils. Eur. Soil Sci., 31:1049-1057, 1998.
- POOLE Jr., C.P. Electron spin resonance: a comprehensive treatise on experimental techniques. New York, Wiley-Interscience, 1967. 921p.
- PRESTON, C.M. Applications of NMR to soil organic matter analysis: history and prospects. Soil Sci., 161:144-166, 1996.
- RIFFALDI, R. & SCHNITZER, M. Electron spin resonance spectrometry of humic substances. Soil Sci. Soc. Am. J., 36:301-305, 1972.
- ROSA, A.H.; SIMÕES, M.L.; OLIVEIRA, L.C.; ROCHA, J.C.; MARTIN NETO, L. & MILORI, D.P. Multimethod study of the degree of humification of humic substances extracted from different tropical soil profiles in Brazil's Amazonian region. Geoderma, 127:1-10, 2005.
- SCHNITZER, M. & KHAN, S.U. Soil organic matter. Amsterdam, Elsevier, 1978. 319p.
- SCHNITZER, M. & LEVESQUE, M. Electron spin resonance as a guide to the degree of humification of peats. Soil Sci., 127:140-145, 1979.
- SENESI, N. Application of electron spin resonance ESR spectroscopy in soil chemistry. Adv. Soil Sci., 14:77-130, 1990.
- SINGER, L.S. Synthetic ruby as a secondary standard for the measurement of intensities in electron paramagnetic resonance. J. Appl. Phys., 30:1463-1464, 1959.
- SKJEMSTAD, J.O.; CLARKE, P.; GOLCHIN, A. & OADES, J.M. Characterization of soil organic matter by solid-state ¹³C NMR spectroscopy. In: CADISCH, G. & GILLER, K.E., eds. Driven by nature: plant litter quality and decomposition. Wallingford, CAB International, 1997. p.253-271.
- STEVENSON, F.J. Humus chemistry: genesis, composition, reactions. New York, J. Willey, 1994. 456p.
- THENG, B.G.K.; TATE, K.R. & BECKER-HEIDMANN, P. Towards establishing the age, location and identity of the inert soil organic matter of spodosol. Zeitschrift Pflanz. Bodenk., 155:181-184, 1992.
- VOLKOFF, B. & CERRI, C.C. Comparação de húmus de um solontchak, um rendizina e um solo litólico da região semi-árida do Rio Grande do Norte. R. Bras. Ci. Solo, 4:49-56, 1980.

- VOLKOFF, B. & CERRI, C.C. Húmus em solos da floresta amazônica na região do rio Madeira. R. Bras. Ci. Solo, 5:15-21, 1981.
- VOLKOFF, B. & CERRI, C.C. L'humus des sols du Brésil: nature et relation avec l'environnement. Cah. ORSTOM, Série. Pedol., 24:83-95, 1988.
- WILSON, M.A. NMR techniques and applications in geochemistry and soil chemistry. Oxford, Pergamon Press, 1987. 353p.
- 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, 79:117-161, 1997.