

**DINÂMICA DA MATÉRIA ORGÂNICA EXTRAÍVEL COM ÁGUA EM
SOLOS ALTAMENTE INTEMPERIZADOS**

SILÉZIO FERREIRA DA SILVA

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY
RIBEIRO UENF**

**CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
JULHO 2021**

**DINÂMICA DA MATÉRIA ORGÂNICA EXTRAÍVEL COM ÁGUA EM
SOLOS ALTAMENTE INTEMPERIZADOS**

SILÉZIO FERREIRA DA SILVA

“Tese apresentada ao Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,
como parte das exigências para obtenção do
título de Doutor em Produção Vegetal”

Orientador: Prof. Luciano Pasqualoto Canellas

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
JULHO 2021

FICHA CATALOGRÁFICA

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pelo autor.

S586

Silva, Silézio Ferreira da.

DINÂMICA DA MATÉRIA ORGÂNICA EXTRAÍVEL COM ÁGUA EM SOLOS ALTAMENTE
INTEMPERIZADOS / Silézio Ferreira da Silva. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2021.

84 f.

Inclui bibliografia.

Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense
Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2021.
Orientador: Luciano Pasqualoto Canellas.

1. Matéria Orgânica Dissolvida. 2. Solos Tropicais. 3. Espectroscopia DRIFT. 4.
Serrapilheira. 5. Fracionamento Isotópico. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense
Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 630

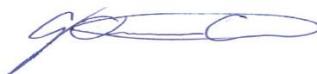
DINÂMICA DA MATÉRIA ORGÂNICA EXTRAÍVEL COM ÁGUA EM SOLOS ALTAMENTE INTEMPERIZADOS

SILÉZIO FERREIRA DA SILVA

“Tese apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Produção Vegetal”

Aprovada em 01 de julho de 2021

Comissão Examinadora:



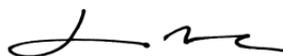
Prof. Gabriel Ramatis Pugliese Andrade (D.Sc., Solos e Nutrição de Plantas) - UENF



Prof. Jader Galba Busato (D.Sc., Produção Vegetal) - UNB



Riccardo Spaccini (D.Sc., Química Agrícola) - UNINA



Prof. Luciano Pasqualoto Canellas (Ph.D., Ciência do Solo) – UENF
Orientador

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| RESUMO GERAL | iv |
| GENERAL ABSTRACT | vi |
| 1. INTRODUÇÃO | 1 |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA | 8 |
| 2.1. Importância da preservação dos fragmentos de Mata Atlântica..... | 8 |
| 2.2. Matéria orgânica dissolvida como um indicador das alterações ambientais. | 10 |
| 2.3. Espectroscopia de Infravermelho e ressonância magnética nuclear no estudo da matéria orgânica do solo..... | 14 |
| 2.4. Isótopos estáveis no estudo da matéria orgânica..... | 20 |
| 3. TRABALHOS..... | 23 |
| 3.1 DINÂMICA DA MATÉRIA ORGÂNICA EXTRAÍVEL COM ÁGUA DE UM SOLO ALTAMENTE INTEMPERIZADO DE MATA ATLÂNTICA E CANA-DE-AÇÚCAR MONITORADA POR DRIFT | 23 |
| RESUMO..... | 23 |
| ABSTRACT | 25 |
| 1. INTRODUÇÃO..... | 26 |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS | 28 |
| 2.1. Descrição do local e amostragem de solo..... | 28 |
| 2.2. Incubação dos solos com serrapilheira e resíduos de colheita da cana-de-açúcar..... | 30 |
| 2.3. Matéria orgânica extraível com água (MOEA)..... | 30 |
| 2.4. Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier e Refletância Difusa (DRIFT)..... | 31 |

| | |
|---|----|
| 2.5. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN de ^1H)..... | 32 |
| 2.6. Análise estatística | 32 |
| 3. RESULTADOS | 33 |
| 3.1. Carbono Orgânico Dissolvido e Nitrogênio Total Dissolvido | 33 |
| 3.2. Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier e Refletância Difusa (DRIFT)..... | 35 |
| 3.3. Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H)..... | 40 |
| 4. DISCUSSÃO | 47 |
| 5. CONCLUSÕES..... | 50 |
| 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 50 |
| 3.2 MUDANÇAS NA COMPOSIÇÃO DE $\delta^{13}\text{C}$ DA MATÉRIA ORGÂNICA EXTRAÍVEL COM ÁGUA DE SOLOS TROPICAIS ALTAMENTE INTEMPERIZADOS COM ADIÇÃO DE DIFERENTES RESÍDUOS ORGÂNICOS..... | 56 |
| RESUMO..... | 56 |
| ABSTRACT | 57 |
| 1. INTRODUÇÃO..... | 58 |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS | 60 |
| 2.1. Análises do solo e da MOEA..... | 60 |
| 2.2. Análise estatística | 62 |
| 3. RESULTADOS | 63 |
| 4. DISCUSSÃO | 67 |
| 5. CONCLUSÕES..... | 71 |
| 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 71 |
| RESUMO E CONCLUSÕES | 76 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 78 |

RESUMO GERAL

SILVA, SILÉZIO. F. D.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Julho de 2021. DINÂMICA DA MATÉRIA ORGÂNICA EXTRAÍVEL COM ÁGUA EM SOLOS ALTAMENTE INTEMPERIZADOS. Orientador: Luciano Pasqualoto Canellas.

A matéria orgânica extraível com água (MOEA) exerce influência significativa em vários processos relevantes no solo. No entanto, são poucos os estudos referentes à dinâmica da MOEA em solos tropicais. Foi realizado um experimento de incubação com diferentes resíduos orgânicos em laboratório, na camada superficial de um Argissolo Amarelo, com os objetivos de: i) avaliar mudanças na composição e na distribuição da MOEA por meio de técnicas espectroscópicas; ii) monitorar a dinâmica da incorporação de resíduos orgânicos na MOEA por meio da análise da composição isotópica natural do carbono. Foram adicionados 10 mg de C à camada superficial (0-0,1 m) de um Argissolo Amarelo Coeso Típico coletado em um fragmento preservado de Mata Atlântica e em área adjacente, sob cultivo de cana-de-açúcar no Norte do Rio de Janeiro. As amostras dos solos foram incubadas por um ano com resíduos de colheita da cana-de-açúcar e da serrapilheira da Mata Atlântica e as coletas foram realizadas aos 0, 15, 30, 90, 180 e 360 dias após o início da incubação. A caracterização da MOEA foi realizada pela espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier e Refletância Difusa (DRIFT) e por Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H). Além disso, foram analisados o conteúdo de carbono orgânico dissolvido (COD) e nitrogênio

total dissolvido (NTD). As alterações na composição isotópica do carbono ($\delta^{13}\text{C}$) da matéria orgânica do solo (MOS) e da MOEA foram analisadas com espectroscopia de massas de alta resolução. O conteúdo de COD e NTD aumentou nos primeiros 15 dias de incubação seguido de uma rápida diminuição com a adição de ambos os resíduos ao solo. No entanto, no solo da Mata Atlântica, foi observado aumento do teor de NTD durante a incubação. A análise de DRIFT revelou mudanças no perfil químico da MOEA, especialmente com o aumento dos carboidratos (C-O) no início da incubação, seguido por queda acentuada. Essas mudanças na composição molecular da MOEA foram refletidas no índice de hidrofobicidade, que aumentou de acordo com o tempo de incubação. A espectroscopia de RMN de ^1H mostrou uma transferência imediata de carboidratos, moléculas alicíclicas semelhantes a proteínas e ricas em carboxila dos resíduos orgânicos para a MOEA. Os resultados indicaram que a espectroscopia de DRIFT pode, portanto, ser aplicada como um método rápido e útil para acompanhar a dinâmica da MOEA no ciclo do C em solos tropicais com a adição de diferentes resíduos. A contribuição de resíduos orgânicos para MOEA foi significativa durante todo o tempo de incubação. Os resíduos da colheita da cana-de-açúcar corresponderam a 20% do C total da MOEA do solo da Mata Atlântica e a adição de serrapilheira da Mata Atlântica correspondeu a somente 12% da MOEA do solo sob cultivo de cana-de-açúcar durante a incubação. Diferentemente dos resultados obtidos com a composição isotópica de MOD de solos de clima temperado com a adição de resíduos orgânicos, os resultados obtidos com solos tropicais altamente intemperizados indicaram que os resíduos orgânicos apresentaram contribuições importantes e significativas para o carbono orgânico da MOEA.

GENERAL ABSTRACT

SILVA, SILÉZIO. F. D.Sc. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. July, 2021. DYNAMICS OF WATER EXTRACTABLE ORGANIC MATTER IN HYGLY WEATHERED SOILS. Advisor: Luciano Pasqualoto Canellas.

Water extractable organic matter (WEOM) has a significant influence on several relevant processes in the soil. However, there are few studies referring to the dynamics of the WEOM in tropical soils. An incubation experiment was carried out with different organic residues in the laboratory, in the surface layer of a Ultisol with the objectives of: i) evaluating changes in the composition and distribution of the WEOM through spectroscopic techniques; ii) monitor the dynamics of incorporation of organic waste into the WEOM through the analysis of the natural isotopic composition of carbon. 10 mg C were added to the surface layer (0-0.1 m) of a Typical Cohesive Yellow Ultisol collected in a preserved fragment of the Atlantic Forest and in an adjacent area, under sugar cane cultivation in the North of Rio de Janeiro. Soil samples were incubated for one year with sugar cane and litter harvest residues from the Atlantic Forest and collections were carried out at 0, 15, 30, 90, 180 and 360 days after the start of incubation. The characterization of WEOM was performed by Infrared spectroscopy with Fourier Transform and Diffuse Reflectance (DRIFT) and by Hydrogen Nuclear Magnetic Resonance (^1H NMR). In addition, the content of dissolved organic carbon (DOC) and total dissolved nitrogen (TDN) were analysed. Changes in the isotopic composition of carbon ($\delta^{13}\text{C}$) of soil organic

matter (SOM) and WEOM were analysed with high-resolution mass spectroscopy. The content of DOC and TDN increased in the first 15 days of incubation followed by a rapid decrease with the addition of both residues to the soil. However, in the Atlantic Forest soil, an increase in TDN content was observed during the incubation. DRIFT analysis revealed changes in the chemical profile of WEOM, especially with the increase in carbohydrates (C-O) at the beginning of the incubation, followed by a sharp drop. These changes in the molecular composition of WEOM were reflected in the hydrophobicity index, which increased with the incubation time. ¹H NMR spectroscopy showed an immediate transfer of carbohydrates, protein-like alicyclic molecules rich in carboxyl from organic residues to WEOM. The results indicated that DRIFT spectroscopy can therefore be applied as a fast and useful method to follow the dynamics of WEOM in the C cycle of tropical soils with the addition of different residues. The contribution of organic residues to WEOM was significant throughout the incubation time. Sugar cane harvest residues accounted for 20% of the total C of the Atlantic Forest soil WEOM and the addition of Atlantic Forest litter corresponded to only 12% of the soil WEOM under sugar cane cultivation during the incubation. Differently from the results obtained with the DOM isotopic composition of the temperate soils with the addition of organic residues, the results obtained with highly weathered tropical soils indicated that the organic residues presented important and significant contributions to the organic carbon of the WEOM.

1. INTRODUÇÃO

A matéria orgânica do solo (MOS) é o maior reservatório de carbono da superfície terrestre. É formada por resíduos vegetais em diversos estádios de decomposição, além da biomassa microbiana, raízes de plantas e a fração mais estável, genericamente denominada húmus. O húmus é um importante condicionador de solo, pois promove melhorias nas propriedades químicas, físicas e biológicas do solo (Bayer e Mielniczuk, 2008).

A MOS influencia as principais características do solo, tais como a resistência à erosão, a capacidade de retenção de água e de troca catiônica, além de promover o estoque de nutrientes e a atividade biológica (Bayer e Mielniczuk, 2008). O estudo da influência das práticas de manejo sobre a dinâmica da MOS tem se concentrado basicamente em aspectos relacionados à sua preservação e ao sequestro de carbono. Pouca atenção tem sido dedicada à matéria orgânica dissolvida na solução do solo.

A matéria orgânica dissolvida (MOD) representa apenas uma pequena porção da matéria orgânica total do solo. No entanto, a MOD é constituída principalmente por carbono orgânico dissolvido (COD), que é a fração de carbono (C) mais ativa e móvel, assumindo um papel importante no ciclo global de C (Kalbitz et al., 2000).

A MOD é composta por uma mistura de polissacarídeos e compostos coloidais provenientes da fração humificada. A composição química da MOD é variável e apresenta compostos que vão de lábeis e hidrofílicos, provenientes de

plantas, até a predominância, com o tempo, de compostos estáveis de natureza hidrofóbica derivados principalmente de ligninas e fenóis, provenientes de microrganismos (Gmach et al., 2020).

O acompanhamento das modificações da MOD em solos altamente intemperizados pode trazer à luz novos elementos para o entendimento do processo de estabilização da matéria orgânica (sequestro de carbono). Vários estudos utilizaram técnicas cromatográficas e espectroscópicas para caracterizar a MOD no solo, mas a maioria deles foi conduzida em solos de clima temperado (Cunha et al., 2016; Roth et al., 2019).

O COD é a fração mais prontamente disponível e, por isso, é mais sensível às alterações no manejo do solo, podendo ser usado como um indicador de qualidade e de alterações do mesmo (Silveira, 2005). A quantidade do COD no solo é pequena em comparação com o conteúdo da matéria orgânica total, no entanto, desempenha um importante papel na atividade microbiana do solo, no transporte de nutrientes, metais e poluentes hidrofóbicos (Gigliotti et al., 2002), além de sequestrar e armazenar C nas camadas mais profundas do mesmo (Gmach et al., 2020). Entretanto, é a fração menos estudada.

A MOD é definida por meio de filtragem. O limite de tamanho que é usado para diferenciar a MOD da matéria orgânica particulada é um tanto arbitrário, mas há um certo consenso em torno de $0,45 \mu\text{m}$ (Zsolnay, 2003). A matéria orgânica extraível com água (MOEA) é amplamente reconhecida como um substituto *in situ* da MOD e indica a fração solúvel da matéria orgânica extraída do solo sob condições de laboratório. A MOEA é frequentemente utilizada no estudo da dinâmica da MOD e é definida operacionalmente como a fração da MOS extraída agitando uma amostra de solo com água ou solução salina que passa por um filtro de $0,45 \mu\text{m}$. Existem três diferentes *pools* de MOD no solo: MOD-I é a fração que está potencialmente disponível; MOD-II a fração que está disponível *in situ*, mas não móvel; e MOD-III que é considerada a fração que é móvel e disponível. Conceitualmente, a MOEA consiste em toda a MOD-III, a maior parte da MOD-II e uma porção menor da MOD-I (Zsolnay, 2003).

A maioria dos estudos relacionados à dinâmica da MOD tem se concentrado em compreender as implicações potenciais na contaminação da água em florestas temperadas e áreas úmidas, mas, os resultados referentes às áreas agrícolas e florestas tropicais permanecem escassos na literatura (Gmach et al.,

2020). A Tabela 1 apresenta os trabalhos sobre MOS em solos tropicais reunidos na revisão realizada por Gmach et al. (2020). Como pode-se observar, nenhum deles aborda a MOD proveniente de solos da Mata Atlântica.

Tabela 1: Lista de estudos que avaliaram o carbono orgânico dissolvido no solo no Brasil (adaptado de Gmach et al., 2020)

| Ano | Autores | Artigo | Local | Tipo de solo | Textura do solo | Situação | Principais variáveis avaliadas |
|------|-------------------|---|--------------------------|---------------------------------------|--------------------------|---|--|
| 2018 | Sousa Jr., et al. | Three-year soil carbon and nitrogen responses to sugar cane straw managemet | Piracicaba, Brasil | Latossolo | Argilo arenoso | Manejo da palha da cana | COD, estoque de C e N total no solo |
| 2017 | Costa et al. | Influence of hydrological pathway on dissolved organic carbon fluxes in tropical streams | Nordeste, Brasil | Argissolo amarelo distrófico | Arenosa / argiloso médio | Agrossilvicultura de cacau / floresta natural | Fluxos de COD |
| 2016 | De Conti et al. | Soil solution concentration and chemical species of copper and zinc in a soil with a history of pig slurry application and plant cultivation | Rio Grande do Sul Brazil | Argissolo Amarelo Distrófico Típico | Argilo arenosa | Solo agrícola | Concentrações solúveis de Cu e Zn e complexação com COD |
| 2015 | Zanchi et al. | Water balance, nutrient and carbon export from a heath forest catchment in central Amazonia, Brazil | Amazonia, Brasil | - | Arenosa | Solo de floresta | Balanco hídrico, COD e exportação de nutrientes |
| 2014 | Bayer et al. | Yield-scaled greenhouse gas emissions from flood irrigated rice under long-term conventional tillage and no-till systems in a Humid Subtropical climate | Sul do Brasil | Solo inundado | - | Solo agrícola inundado | CH ₄ , N ₂ O, COD, biomassa microbiana |
| 2012 | Marques et al. | Variations of dissolved organic carbon and soil physical properties under different land uses in central Amazonia | Amazonia, Brasil | Latossolo, Argissolo e Espodossolo | Argilosa | Floresta, pastagem e agrossilvicultura | COD e atributos físicos |
| 2009 | Rueckamp et al. | Carbon and nutrient leaching from termite mounds inhabited by primary and secondary termites | Tocantins, Brasil | Argissolo Vermelho-Amarelo Distrófico | Argilo arenosa | Cupinzeiros | C, N, P e lixiviados de diferentes cupinzeiros |
| 2008 | Zambrosi et al. | Liming and ionic speciation of an Oxisol under no-till system | Paraná, Brasil | Latossolo Vermelho Escuro | Argilosa | Solo agrícola | Propriedades químicas do solo e DOC |
| 2007 | Mariot et al. | Dissolved organic matter fluorescence as a water-flow tracer in the tropical wetland of Pantanal of Nhecolandia, Brazil | Pantanal, Brasil | Latossolo Vermelho-Amarelo | - | Arroz irrigado | MOD como um traçador de fluxos de água |

| Ano | Autores | Artigo | Local | Tipo de solo | Textura do solo | Situação | Principais variáveis avaliadas |
|------|-----------------|---|-------------------|--------------------------------|-----------------|--------------------------|---|
| 2007 | Zambrosi et al. | Nutrient concentration in soil water extracts and soybean nutrition in response to lime and gypsum application to an acid Oxisol under no-till system | Paraná, Brasil | Latossolo Vermelho Escuro | Argilosa | Solo agrícola | Aplicação de calcário, extratos de água do solo, nutrientes e COD |
| 2003 | Rosa et al. | Carbon forms of a Typic Eutroferric Red Latossol under no-tillage in a savanna biogeographic system | Goiás, Brasil | Latossolo Vermelho eutroférico | Argilosa | Sistemas de uso da terra | Caracterização física e química do solo |
| 2001 | Martinez et al. | Thermally induced changes in metal solubility of contaminated soils are linked to mineral recrystallization and organic matter transformations | Serrado, Brasil | Latossolo vermelho-escuro | Argilosa | Solo | Metais pesados e complexação de COD |
| 1999 | Benke et al. | Retention of dissolved organic carbon from vinasse by a tropical soil, kaolinite, and Fe-oxides | Pernambuco Brasil | Argissolo | - | Solo agrícola | Retenção de COD da vinhaça pelos minerais do solo |

Ao longo da costa leste do Brasil, ocorre a formação florestal denominada de Mata dos Tabuleiros. Tal alcunha se deve à topografia, por ser plana e não apresentar altitudes superiores a 200 m (Silva e Nascimento, 2001). As matas sobre tabuleiros sofreram uma intensa fragmentação, com o processo de desmatamento na costa brasileira durante a colonização. A partir de 1960, as práticas agrícolas acarretaram distúrbios principalmente na região norte Fluminense, que é a principal área de ocorrência dessa formação no estado do Rio de Janeiro (Silva e Nascimento, 2001). A Estação Ecológica Estadual de Guaxindiba é o maior fragmento remanescente da Mata Atlântica no norte do Estado do Rio de Janeiro, localizado no município de São Francisco do Itabapoana, Rio de Janeiro, Brasil.

Segundo Jacomine (2001), o termo “Tabuleiros Costeiros” é usado para indicar uma forma de superfície do tipo tabular, dissecada por vales profundos e encostas com forte declividade. Comumente, apresentam uma topografia plana e com menos frequência suavemente ondulada, podendo apresentar área com forte dissecação, com topografia ondulada ou até fortemente ondulada. Estão distribuídos nas regiões Norte, Nordeste e Sudeste do Brasil e apresentam solos com caráter coeso, os quais podem provocar limitações físicas quanto ao crescimento das raízes e dinâmica da água (Vieira et al., 2012). Na faixa litorânea, desde o Amapá até o Rio de Janeiro, predominam nas altitudes de 20 a 220 metros (Jacomine, 2001).

Atualmente, a maior parte da Mata Atlântica é composta por pequenos fragmentos de mata secundária que receberam proteção ambiental parcial ou total com as normas ambientais recentes, visando evitar mais perturbações. A Mata Atlântica desempenha um importante papel na provisão de serviços ecossistêmicos, tais como, controle da qualidade do ar e do clima, armazenamento de carbono e manutenção da biodiversidade (Souza et al., 2021). Estudar tais fragmentos é, portanto, extremamente importante. A qualidade química da MOEA pode ser um indicador importante nos estudos da qualidade do fragmento da Mata Atlântica e da sua recuperação/preservação. Além disso, serve como referência para o controle das práticas de manejo agrícola dos solos.

O presente trabalho foi baseado em duas hipóteses, (i) as modificações químicas ocorridas na MOEA em solos tropicais podem ser usadas como modelo do processo de humificação da MOS, (ii) diferente do que ocorre nos solos de clima

temperado a adição de serrapilheira e de restos culturais é uma fonte importante da MOEA ao longo do tempo.

O estudo da MOEA em solos altamente intemperizados constitui esse trabalho que foi dividido em dois capítulos. O primeiro capítulo teve como objetivo avaliar e caracterizar por meio de técnicas espectroscópicas as mudanças na composição e na distribuição da MOEA da camada superficial de um Argissolo Amarelo Coeso Típico, coberto por fragmento preservado de Mata Atlântica e sob cultivo de cana-de-açúcar incubado com diferentes resíduos orgânicos. Quantificar a transferência do carbono dos resíduos orgânicos para a composição da MOEA por meio da análise da variação da composição isotópica natural foi o objetivo do segundo capítulo. Os dois capítulos foram antecidos por uma revisão bibliográfica sobre a importância da preservação dos fragmentos de Mata Atlântica; a utilização da MOD como indicador das alterações ambientais e o uso da espectroscopia e dos isótopos estáveis no estudo da matéria orgânica do solo.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Importância da preservação dos fragmentos de Mata Atlântica

As florestas tropicais sustentam pelo menos dois terços da biodiversidade mundial. Entretanto, metade da sua cobertura original já desapareceu. Os impactos induzidos pelo homem aos fragmentos florestais impõem uma carga de longa duração sobre a biodiversidade florestal e nos estoques de biomassa, por isso a necessidade de preservar os fragmentos florestais, para mitigar a perda da biodiversidade (Lima et al., 2020).

De acordo com Filho et al. (2018), as ações antrópicas na Mata Atlântica reduziram a cobertura florestal a pouco mais de 15% da sua área original e resguarda 28% de cobertura florestal em diferentes estágios sucessionais. Os maiores remanescentes da Mata Atlântica recobrem os maciços serranos e fragmentos de tamanhos variados nas planícies.

Uma das principais estratégias para a conservação da biodiversidade desses fragmentos remanescentes é a criação de unidades de conservação. Aumentos na diversidade de espécies em florestas perturbadas podem ocorrer dependendo da frequência e intensidade dos distúrbios, por um balanço da contribuição de espécies sucessionais iniciais e tardias. Portanto, a transformação desses fragmentos em uma unidade de conservação e o enriquecimento florestal a partir de plantios de mudas de espécies, outrora abundantes, é fundamental para a preservação e recuperação dos fragmentos de Mata Atlântica (Filho et al., 2018).

De acordo com o levantamento realizado por Lima et al. (2020), a Mata Atlântica apresenta perdas na biomassa florestal, riqueza de espécies de árvores, características funcionais e valor de conservação. Em média, os fragmentos florestais têm 29% menos biomassa, 39% menos espécies e, com isso, os impactos induzidos pelo homem estão conduzindo à homogeneização biótica dos fragmentos de Mata Atlântica.

Com intuito de proteger um dos maiores remanescentes de floresta estacional semidecidual no Estado do Rio de Janeiro, chamada de mata sobre tabuleiros ou “Mata do Carvão”, devido à ação de carvoarias e pela extração de essências florestais nobres, foi criada em 2002 a Estação Ecológica Estadual de Guaxindiba no município de São Francisco de Itabapoana, Rio de Janeiro, Brasil. As matas sobre os tabuleiros possuem formações diferentes de outros fragmentos de Mata Atlântica, pois ocorrem em área de planície com suas espécies distribuídas ao longo de um gradiente climático. Silva e Nascimento (2001) realizaram um estudo fitossociológico na Mata do Carvão e verificaram que o fragmento consiste principalmente de florestas semidecíduas, com pequenas manchas de áreas alagadas. As famílias mais ricas em número de espécies na área são *Leguminosae*, *Myrtaceae* e *Euphorbiaceae*, e as espécies mais importantes são *Metrodorea nigra* (Rutaceae), *Paratecoma peroba* (Bignoniaceae) e *Pseudopiptadenia contorta* (Leguminosae).

As principais classes de solos nos Tabuleiros são os Argissolos e Latossolos Amarelos, os quais diferenciam-se entre si pela presença do horizonte subsuperficial B textural (Bt) decorrente da iluviação de argilas no primeiro e a ausência do gradiente de textura no segundo, que é caracterizado pela presença do B latossólico (Bw), o horizonte Bw caracteriza-se pelo avançado estágio de intemperização, com transformação quase completa dos minerais facilmente alteráveis, seguida de intensa dessilicificação, lixiviação de bases e concentração residual de sesquióxidos e/ou argilominerais do tipo 1:1 e minerais resistentes ao intemperismo (Santos et al., 2018).

Loss et al. (2007) avaliaram as alterações nas propriedades edáficas de solos de Tabuleiros em áreas de floresta secundária, pastagens e sob cultivo de cana-de-açúcar. Os resultados indicaram baixos teores de carbono orgânico nas três áreas estudadas e variações nas propriedades edáficas analisadas em função do manejo adotado no cultivo excessivo da cana-de-açúcar, sendo esta a principal

causa da degradação dos solos de Tabuleiro. Além disso, os autores concluíram que a manutenção dos níveis da fertilidade natural desses solos de Tabuleiros depende do enriquecimento e da manutenção da matéria orgânica.

O desmatamento desencadeia uma abundância de modificações que podem penetrar até 1,5 km nos fragmentos remanescentes e causam redução na disponibilidade e conectividade de habitat (Lima et al., 2020). O impacto antrópico interfere também na liberação de nutrientes para o solo. Aragão (2000) avaliou o efeito de clareiras na decomposição foliar, em mata de tabuleiro no Norte Fluminense RJ, e observou a maior liberação de C na área fechada do que nas áreas de clareiras. A serrapilheira é o compartimento mais importante na transferência de matéria orgânica e nutrientes da vegetação para os solos. Tais resultados demonstram que a menor liberação de C, cálcio e fósforo nos fragmentos pequenos está sendo afetada por efeitos do desmatamento que leva à fragmentação e por consequência uma menor deposição de serrapilheira. A criação de políticas nacionais de mitigação da degradação florestal, pode ser a chave para a captação de recursos para a recuperação e preservação da biodiversidade dos fragmentos remanescentes da Mata Atlântica (Lima et al., 2020).

2.2. Matéria orgânica dissolvida como um indicador das alterações ambientais

A MOS (matéria orgânica do solo) é formada por uma mistura de compostos orgânicos cuja acumulação ocorre devido à preservação de resíduos orgânicos e produtos da síntese da biomassa microbiana. Em ecossistemas equilibrados, a matéria orgânica apresenta níveis relativamente estáveis, cuja taxa de deposição é proporcional à de decomposição. As intervenções humanas causam alterações nesse equilíbrio e interferem no balaço da MOS (Silveira e Freitas, 2007).

De acordo com Cerri et al. (1991), a substituição de uma cobertura vegetal por outra acarreta, na MOS, dois processos paralelos. Primeiramente, ocorre uma diminuição constante do material preexistente derivado da vegetação nativa. Em paralelo, ocorre a entrada sucessiva da MO oriunda da nova cobertura, que pode ser incorporada ou perdida junto com a MO antiga. A análise da MOS não é um

indicador muito sensível das alterações ambientais. Miranda (2005) utilizou a MOS como um indicador do ambiente edáfico em áreas de Mata Atlântica e de plantios abandonados de eucalipto de diferentes idades, localizados na Reserva Biológica da União, RJ. Foram observadas diferenças discretas na qualidade da MOS. A matéria orgânica dissolvida (MOD), geralmente reflete a composição molecular da matéria orgânica total do solo, pois a fase solúvel tende a estar em equilíbrio com a fase sólida da matéria orgânica. A MOD é mais sensível às alterações ambientais do que a MOS, e como tal, pode ser utilizada como indicadora das mudanças no uso e manejo da terra, como a conversão de floresta nativa em sistemas agrícolas (Gmach et al., 2020). A MOD é uma fração dinâmica da MOS, que inclui formas orgânicas dissolvidas de carbono, nitrogênio e fósforo. Sua importância se deve em grande parte à sua mobilidade, tanto dentro do solo quanto do solo para as águas subterrâneas ou superficiais. No solo, A MOD serve como substrato e fonte de carbono para microrganismos (Gauthier et al., 2010). A MOD é considerada uma mistura complexa de compostos orgânicos com composições e propriedades químicas diversificadas (Catalá et al., 2015).

A MOD do solo pode ser oriunda de diferentes fontes, tais como o C atmosférico dissolvido na chuva, resíduos de colheita, exsudatos de raízes e decomposição da MOS e durante a decomposição da matéria orgânica, a maior parte do C é perdida como CO₂ para a atmosfera por oxidação microbiana (Gmach et al., 2020). Dentre os processos que contribuem para a perda de MOD no solo estão o tipo de solo, a declividade e a lixiviação (Veum et al., 2009).

Atualmente, vários estudos têm investigado a dinâmica e a qualidade da matéria orgânica extraível com água (MOEA) em solos temperados. Bartos et al. (2020) avaliaram, por meio de técnicas espectroscópicas, a qualidade da MOEA de horizontes superficiais de solos agrícolas e florestais e verificaram que os horizontes superficiais aráveis apresentaram concentração média significativamente mais baixa de MOEA em comparação com os horizontes superficiais de floresta. A MOEA dos solos agrícolas apresentou estágio de transformação mais elevado devido à decomposição mais avançada da MOS e a menor entrada de matéria orgânica fresca em comparação aos solos florestais. Além disso, os resultados indicaram que a agricultura convencional afetou significativamente a concentração e a qualidade da MOEA de horizontes superficiais de solos temperados.

Em um experimento de incubação, Wu et al. (2021) analisaram por técnicas espectroscópicas o efeito da adição da serrapilheira nas concentrações da MOEA de solos florestais sob diferentes condições de umidade. Os autores verificaram que as concentrações da MOEA diminuíram continuamente em todos os tratamentos durante o período de incubação de 360 dias. A adição da serrapilheira aumentou as concentrações da MOEA nos solos durante o período inicial de incubação, mas esses aumentos desapareceram após 252 dias. Além disso, os espectros de fluorescência, demonstraram que a adição da serrapilheira, mostrou a presença dominante de componentes semelhantes a proteínas até os 14 dias de incubação, mas estes foram substituídos por componentes semelhantes a ácidos húmicos e fúlvicos após 95 dias de incubação.

O estudo da MOEA nos sistemas florestais e agrícolas é de suma importância para entendimento da dinâmica do reservatório de C orgânico do solo e suas implicações nos fluxos de carbono e nas mudanças climáticas. A maioria dos estudos referentes à MOD foi realizada em solos de clima temperados e poucos em solos tropicais e agrícolas (Gmach et al., 2020).

Marques et al. (2012) verificaram a relação entre o carbono orgânico dissolvido (COD) e os atributos físicos do solo em diferentes sistemas de uso da terra na Amazônia central. A solução do solo foi amostrada ao longo de um ciclo hidrológico utilizando extratores de solução do solo. Foram analisadas as concentrações de COD sob floresta primária, em três posições topográficas, e em áreas de pastagem, sucessão secundária e sistema agroflorestal até a profundidade de 2 m. Os autores verificaram que o COD apresentou variação temporal, espacial e em profundidade, sendo o resultado da interação dinâmica com sazonalidade e atributos do solo, demonstrando heterogeneidade em decorrência do tipo de manejo que é utilizado.

Em um experimento em casa-de-vegetação, Bayer et al. (2014) avaliaram o efeito do manejo da biomassa de azevém (incorporação vs. aplicação na superfície) nas emissões de CH₄ em um solo sob cultivo de arroz, na região Sul do Brasil. Os autores coletaram a solução do solo para avaliar as concentrações de COD. A incorporação da biomassa resultou em concentrações de COD significativamente maiores do que a adição na superfície do solo. O COD passou de 62 mg L⁻¹ para 170 mg L⁻¹, a incorporação da biomassa de azevém ao solo também resultou em emissão cumulativa de CH₄ 2,8 vezes maior do que a

aplicação de biomassa na superfície, devido à maior concentração de COD nas camadas subsuperficiais do solo.

Com o objetivo de quantificar os componentes do balanço hídrico anual e as exportações de COD em uma campina na Amazônia central, Zanchi et al. (2015) coletaram a solução do solo utilizando lisímetros de sucção e verificaram que o clima mais seco, com níveis freáticos decrescentes nos vales amazônicos com solos arenosos pode resultar em maiores concentrações de COD nas águas subterrâneas e, portanto, também no escoamento de base das bacias hidrográficas.

De Conti et al. (2016) avaliaram as concentrações de COD, cobre e zinco e a distribuição de suas espécies químicas na solução de um Argissolo Vermelho submetido à aplicação de dejetos suínos em nível de campo. Foi verificado que a fitotoxicidade causada por Cu e Zn pode não ocorrer mesmo após vários anos de aplicação de dejetos de suínos, pois o COD é o principal ligante de metais pesados na solução do solo.

Costa et al. (2016) descreveram as variações sazonais e estimaram o balanço anual do COD por meio da comparação de duas microbacias tropicais de floresta preservada e plantação de cacau. No geral, o COD foi maior na plantação de cacau em comparação com a floresta. Os fluxos anuais do COD indicaram que durante a estação seca, os fluxos de saída são semelhantes nas duas áreas. No período chuvoso, entretanto, a presença da plantação de cacau influenciou na perda de quase três vezes mais COD do que na floresta preservada.

Sousa Júnior et al. (2018), acompanharam, durante três anos, o manejo dos resíduos da cana-de-açúcar e observaram uma decomposição mais rápida da palha nos primeiros 45 dias, com uma pequena, mas importante porção de C derivado da palha entrando no solo como COD. Além disso, os autores não observaram mudanças significativas na dinâmica do COD ao longo do tempo na camada superior do solo (0–0,20 m), quando a palha da cana-de-açúcar foi removida da superfície do mesmo. Todavia, verificou-se que quando os resíduos da cultura foram preservados ou adicionados, o COD apresentou ciclagem mais rápida no solo, sofrendo rápida diminuição após eventos de chuva.

Gmach et al. (2021) quantificaram os efeitos da remoção da palha no cultivo de cana-de-açúcar nos estoques de carbono. O COD foi coletado por meio de um sistema de lisímetro. Foram avaliadas quatro profundidades de solo (0,01; 0,2; 0,5 e 1 m) e quatro taxas de remoção de palha, 0, 3, 6, 12 Mg/ ha, sendo a

taxa 12 Mg/ha sem remoção da palha, na superfície do solo. Os autores verificaram que a remoção da palha afeta negativamente a concentração de COD no solo. Esses efeitos são mais relevantes para as camadas superficiais do solo, onde a remoção da palha reduz a concentração de COD e o estoque total de C do solo, mesmo em curto prazo. O solo descoberto perde C da camada superficial para as mais profundas. A quantidade de palha afeta pouco a lixiviação de COD abaixo de 1 m de profundidade, sugerindo que o COD derivado da palha permanece predominantemente nesta camada superior de 1 m.

2.3. Espectroscopia de Infravermelho e ressonância magnética nuclear no estudo da matéria orgânica do solo

A espectroscopia de infravermelho (IV) tem sido amplamente utilizada na caracterização da matéria orgânica (Santana et al., 2013; Cunha et al., 2016; Nuzzo et al., 2020). A IV com transformada de Fourier e reflectância difusa (DRIFT) apresenta as vantagens de alta reprodutibilidade e determinação semiquantitativa. Além disso, tem o benefício adicional de que as amostras podem ser estudadas simplesmente misturando com um meio não absorvente como o brometo de potássio (KBr), sem a necessidade de montagem das pastilhas para a análise da amostra.

As posições das bandas de absorção em um espectro de IV ocorrem em número de onda e a unidade é o centímetro recíproco (cm^{-1}). A faixa de energia envolvida ocorre em nível de ligações entre os átomos, ou seja, as vibrações ocorridas ao longo do eixo de ligação e as deformações promovidas no ângulo das ligações. As ligações particularmente sensíveis a IV são aquelas que apresentam grande diferença de massa e de carga entre os átomos de uma ligação. É possível observar, portanto, estiramentos nos quais os átomos vibram no mesmo eixo, variando a distância entre eles e deformações nas quais a posição dos átomos em vibração muda em relação ao eixo da ligação. Essas vibrações das ligações entre os átomos de grupamentos funcionais que apresentam momento dipolo, são importantes na caracterização de grupamentos funcionais da matéria orgânica (Canellas e Santos, 2005). Na Tabela 2 são descritas as atribuições das principais bandas de absorção nos espectros IV de substâncias do tipo húmicas e na Figura

1 um espectro de IV de ácidos húmicos purificado e não purificado, extraídos do horizonte A de um Latossolo Vermelho-Amarelo e as principais funções químicas.

Tabela 2. Atribuições das principais bandas de absorção nos espectros de infravermelho de substâncias do tipo húmicas (Canellas e Santos 2005)

| Número de onda (cm ⁻¹) | Atribuições das bandas de absorção |
|------------------------------------|--|
| 3640 - 3610 | estiramentos de O-H livre |
| 3500 - 3070 | estiramentos de N-H |
| 2950 - 2850 | estiramentos C-H de CH ₂ e CH ₃ alifáticos |
| 1760 - 1700 | estiramentos C=O de carboxilas, aldeídos e cetonas |
| 1700 - 1630 | estiramentos C=O de amidas |
| 1600 - 1450 | C=C de compostos aromáticos |
| 1470 - 1370 | deformação de C-H de CH ₂ e CH ₃ |
| 1300 - 1050 | estiramentos C-O dos ésteres, éteres e fenóis |
| 990 - 430 | deformação angular de C-H de grupos aromáticos |

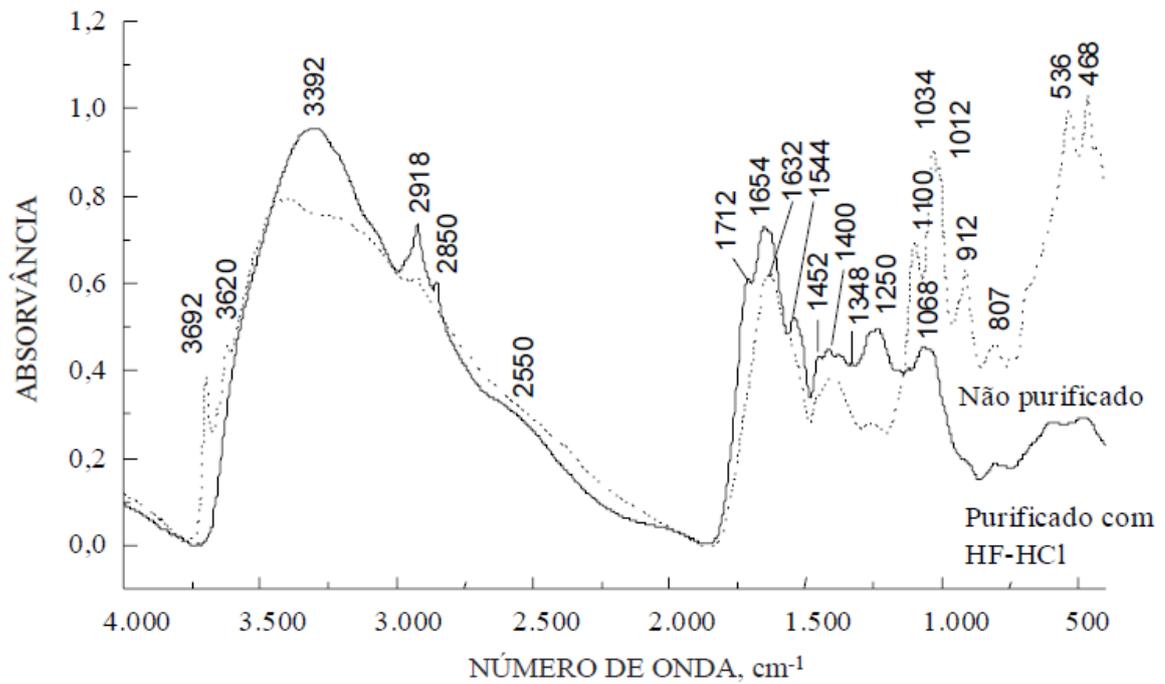


Figura 1. Espectros de absorvância no infravermelho de ácidos húmicos purificados e não purificados, extraídos do horizonte A de um Latossolo Vermelho-Amarelo e as principais funções químicas na IV (Benites et al., 1999).

É possível utilizar a técnica de DRIFT para investigar decomposição de resíduos orgânicos, Spaccini et al. (2001) avaliaram a decomposição de resíduos de palha de milho em três solos europeus em um experimento de incubação durante 1 ano que simulou as práticas de incorporação e deposição em cobertura. Os autores constataram que as taxas de decomposição derivadas dos resultados do DRIFT foram semelhantes às obtidas por técnicas isotópicas. Além disso, a espectroscopia DRIFT pode representar um método rápido e preciso para acompanhar a degradação da matéria orgânica diretamente na matriz do solo ou frações de tamanho de partícula em alguns solos.

A técnica de IV foi também utilizada na avaliação das alterações na composição química e características espectrais da MOD dos solos. Bu et al. (2014) analisaram as mudanças na composição química e nas características espectrais da MOD de solos temperados sob quatro tipos de vegetação em um experimento de incubação. A espectroscopia de IV mostrou que a razão da intensidade de absorção de C = C aromático para de C-O de carboidrato na MOD aumentou de duas a três vezes após a incubação em todos os solos avaliados. Foi observado,

portanto, o enriquecimento de compostos aromáticos em relação aos carboidratos na MOD residual.

A IV, além de avaliar semiquantitativamente a presença de carboidratos e compostos aromáticos, pode descrever o grau de decomposição da MOS por meio de índices de humificação. Para acompanhar a transformação e decomposição da MO nos solos, vários índices baseados na proporção relativa de grupos funcionais lábeis e recalcitrantes foram criados, entre eles, o índice de humificação. De acordo com Piccolo (2016), a humificação é um processo dinâmico, pelo qual os subprodutos heterogêneos da degradação abiótica e biótica dos tecidos animais e vegetais (lipídios, peptídeos, oligossacarídeos), são progressivamente protegidos da mineralização completa em superestruturas fracamente ligadas pela concentração crescente de componentes hidrofóbicos. Estes são termodinamicamente excluídos da água e, portanto, não são mais bioacessíveis para mineralização. Ao mesmo tempo, este reservatório de moléculas “húmicas” adsorvidas hidrofobicamente na argila do solo, pode ser novamente liberado na solução do solo quando exposto a alterações conformacionais devido a ácidos orgânicos exsudados pelas raízes das plantas ou à degradação microbiana. Esse equilíbrio mediado por plantas e micróbios entre as fases sólida e líquida é o processo governante da fertilidade química e física do solo.

Capriel et al. (1995), avaliaram por meio da IV, 92 solos agrícolas com diferentes texturas e conteúdo de C a fim de estabelecer relações entre as bandas de absorção nas regiões $3000-2800\text{ cm}^{-1}$ (alifática) e as propriedades químicas, microbiológicas e texturais dos solos. Os resultados indicaram que a textura do solo influencia a composição da MOS e a quantidade da biomassa microbiana. Além disso, a MOS dos solos arenosos contém mais C alquil e menos carboidratos e proteínas em comparação com os argilosos, ou seja, é mais hidrofóbica. Os autores concluíram que a razão entre o C alifático e C orgânico pode ser utilizada para caracterizar o grau de hidrofobicidade da MOS.

Freixo et al. (2002) utilizaram a IV para estudar a natureza química das frações leves-livres e leves intra-agregado da matéria orgânica em Latossolos do Rio Grande do Sul e Goiás, submetidos a plantio direto e preparo convencional, em distintos sistemas de rotação de culturas. O índice de hidrofobicidade foi avaliado utilizando as bandas de absorção nas regiões de 2928 e $1050-1080\text{ cm}^{-1}$, uma vez que expressam a relação entre os grupos apolares (CH_3) e polares ($-\text{OH}$,

C-O). Os autores identificaram diferenças na recalcitrância das frações leves. Constatou-se que o índice de hidrofobicidade foi significativamente maior para a matéria orgânica intra-agregado, por consequência de seu maior grau de humificação. Cunha et al. (2016) utilizaram o DRIFT para avaliar as mudanças na matéria orgânica, na camada superficial (0–20 cm) de um Argissolo Vermelho-Amarelo sob diferentes coquetéis vegetais. O índice de hidrofobicidade foi avaliado utilizando as bandas de absorção nas regiões de 2928 e 1050-1080 cm^{-1} . Os autores observaram baixo grau de humificação na MO estudada. Harris et al. (2020) determinaram com a IV o efeito da drenagem na decomposição de uma turfeira. O índice de hidrofobicidade foi obtido pela razão de absorbância de 2920 cm^{-1} (porções alifáticas) em relação aos polissacarídeos (1060 cm^{-1}). Não foram observadas diferenças significativas no índice de humificação na drenagem da turfeira.

Koishi et al. (2020) utilizaram o DRFIT para avaliar o efeito de corretivos orgânicos no acúmulo e distribuição do carbono orgânico do solo (COS) em diferentes frações granulométricas. Os autores analisaram o índice de humificação pela razão entre os grupos aromáticos (1640–1600 cm^{-1}) e alifáticos (2925 cm^{-1}) e observaram que a adição dos corretivos orgânicos promoveu aumento no teor do COS e menor índice de humificação devido ao aumento do COS na fração granulométrica.

A espectroscópica por ressonância magnética nuclear (RMN) é uma técnica espectroscópica quantitativa confiável em que a intensidade de uma linha de ressonância é diretamente proporcional ao número de núcleos ressonantes (spins) (Pavia et al., 2010). É não destrutiva e geralmente requer preparação mínima da amostra. No entanto, os custos instrumentais são maiores do que a IV. A RMN possibilita estudar diferentes núcleos, os mais disponíveis são o hidrogênio (^1H) e o ^{13}C . A técnica de IV revela os tipos de grupos funcionais presentes em uma molécula, enquanto a RMN possibilita obter informações referentes ao número de átomos magneticamente distintos do isótopo estudado. A RMN de ^1H possibilita determinar o número de cada um dos diferentes tipos de prótons não equivalentes (Pavia et al., 2010). Geralmente a combinação das técnicas de IV, RMN e espectrometria de massas é suficiente para determinar a estrutura de uma molécula desconhecida. A análise da RMN de ^1H consiste em submeter o núcleo atômico a um campo magnético artificial que será responsável pela transição de nível

energético e a intensidade do sinal será diretamente proporcional ao número de núcleos em ressonância independente da estrutura analisada (Yip, et al., 2011).

As técnicas de RMN são ferramentas importantes no estudo dos componentes estruturais em nível molecular. A RMN no estado líquido pode fornecer espectros de alta resolução que auxiliam na definição dos componentes estruturais básicos de misturas ambientais complexas, como a MOEA do solo (Simpson et al., 2011). Na Figura 2 são mostradas as principais regiões e atribuições da RMN de ^1H que podem ser estudadas pela técnica. Na região de 0 - 3 ppm estão os componentes alifáticos, moléculas alicíclicas ricas em carboxila, em 3,2 - 4,5 ppm estão os carboidratos e peptídeos e em 6,5 - 8,4 ppm os compostos aromáticos, principalmente lignina.

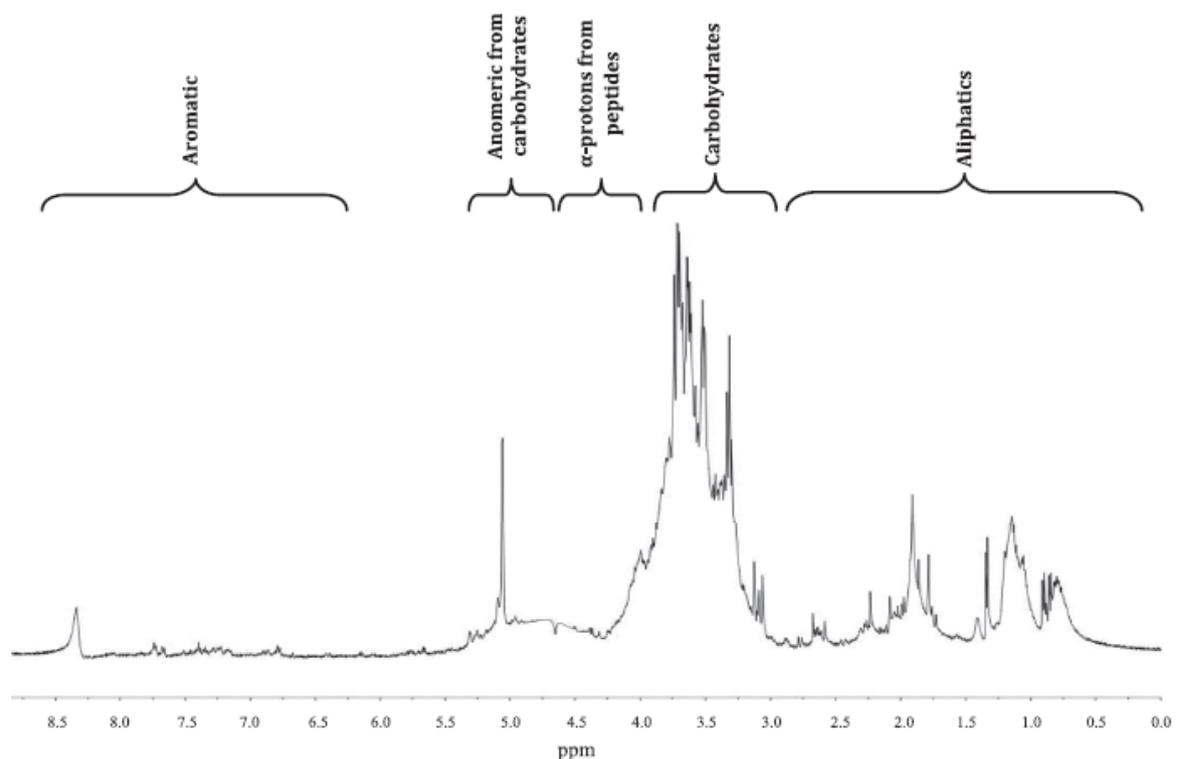


Figura 2. Espectro de ressonância magnética nuclear de ^1H (RMN de ^1H) da matéria orgânica extraível com água (MOEA) de solo da floresta temperada e as principais regiões e atribuições da RMN de ^1H (Grosso et al., 2014).

Grosso et al. (2014) investigaram as relações entre as atividades enzimáticas e a composição química da MOEA em diferentes solos de floresta temperada utilizando a RMN de ^1H . Os autores observaram grande riqueza de compostos orgânicos solúveis em solos com alto teor de carbono orgânico e elevadas ressonâncias relativas a carboidratos. Além disso, foi observado que o carbono orgânico do solo é o principal fator que, direta e indiretamente, influencia os microrganismos do solo e é responsável por alterações na atividade enzimática.

Roth et al. (2019) utilizaram a RMN ^1H para avaliar as alterações moleculares da MOD da superfície de pastagens em solos de clima temperados e verificaram que moléculas derivadas de plantas foram consumidas preferencialmente por microrganismos e transformadas em moléculas maiores sintetizadas pelos microrganismos. Com isso, foi verificado que não houve produção de moléculas recalcitrantes na MOD. No entanto, essas moléculas persistem na MOD no solo como resultado do consumo, transformação e formação simultânea.

2.4. Isótopos estáveis no estudo da matéria orgânica

O carbono está presente na natureza sob três formas isotópicas ^{12}C e ^{13}C que apresentam formas estáveis, e ^{14}C , que é radioativo. O ^{12}C é o mais leve e apresenta a maior proporção em relação ao total de C na natureza (98,89%), enquanto o ^{13}C representa somente 1,11%. Tais proporções tendem a permanecer estáveis nos resíduos orgânicos (Alves et al., 2008).

A espectrometria de massa de alta resolução possibilita avaliar as discriminações entre os isótopos de ^{13}C e ^{12}C . Quando um isótopo altera o seu estado físico-químico, em relação ao outro, ocorre uma variação na casa dos milhares na proporção de $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ dos resíduos orgânicos. Essa relação entre os isótopos pode ser medida em relação a um padrão internacional, para o carbono é utilizado uma rocha calcária denominada Pee Dee Belemnite (PDB), e o resultado é expresso por valores de delta δ por mil (‰) em termos de diferença de $\delta^{13}\text{C}$ em relação ao padrão. A análise isotópica do C nos espectrômetros de massas de alta resolução é realizada pela combustão da amostra e análise do CO_2 liberado (Alves et al., 2008).

A técnica de abundância natural do ^{13}C possibilita avaliar alterações como a entrada ou mudanças de C no solo. A aplicação da técnica às frações da MOS permite identificar a origem do C presente no solo. Isso é possível, devido à diferença entre as plantas com ciclo fotossintético C_3 e C_4 , que apresentam discriminação diferenciada em relação ao $\delta^{13}\text{C}$. Nos estudos que avaliam a dinâmica da MOS, o uso das técnicas de abundância natural de ^{13}C é aplicado quando o padrão fotossintético da vegetação original é alterado, com isso pressupõe que a MOS reflete o material vegetal da qual foi originada (Urquiaga et al., 2008). A razão $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ na matéria orgânica do solo é quase igual à razão $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ dos materiais vegetais dos quais é derivada, alterando a vegetação do tipo C_3 no tipo C_4 é equivalente a uma verdadeira rotulagem *in situ* da matéria orgânica. Sendo assim possível identificar a origem do C do solo e compreender a dinâmica de diferentes fontes de matéria orgânica (Balesdent et al., 1987).

As relações molares $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ do dióxido de carbono (CO_2) atmosférico e das plantas são inferiores ao padrão PDB, com isso, seus valores de $\delta^{13}\text{C}$ são negativos. As variações da assinatura isotópica do carbono ($\delta^{13}\text{C}$) são amplamente influenciadas pelo modo de fotossíntese das plantas (O'Leary, 1981). A variação isotópica da relação $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ é pequena nas plantas, mesmo que durante o ciclo da fotossíntese o fracionamento isotópico seja pouco expressivo, ele permite classificar as plantas terrestres de acordo com o ciclo de carboxilação C_3 e C_4 (Freitas et al., 2002). As plantas do ciclo C_3 (ou de Calvin), fixam o CO_2 atmosférico, por meio da enzima RUBISCO (Ribulose bifosfato carboxilase/oxigenase), enquanto as plantas C_4 contam com o processo enzimático adicional de fixação de CO_2 da enzima PEP carboxilase (fosfoenolpiruvato carboxilase). A PEP carboxilase apresenta alta afinidade pelo CO_2 , enquanto na Rubisco esta afinidade pelo CO_2 é menor, por tal razão, as plantas do ciclo C_3 acumulam menos ^{13}C do que as plantas C_4 (Urquiaga et al., 2008). De acordo com Alves et al. (2008), durante a fotossíntese, onde o CO_2 é utilizado pelas plantas, observa-se uma significativa discriminação isotópica entre as plantas C_3 e C_4 . As plantas que possuem metabolismo fotossintético do tipo C_3 discriminam mais intensamente o ^{13}C e apresentam valores de abundância isotópica entre -20 e -34 ‰, com média de -27 de $\delta^{13}\text{C}$. As plantas com metabolismo do tipo C_4 discriminam menos e apresentam valores entre -9 a -17 ‰ com média de -13 ‰ e devido à diferença média de $^{14}\delta$, é

que as plantas com ciclos fotossintéticos podem ser identificadas, de acordo com a análise da variação da abundância isotópica de ^{13}C .

Geralmente os estudos que avaliam as modificações e a dinâmica da MOS por meio da origem do carbono, utilizam a substituição de vegetação de florestas (C3) por pastagens, ou plantas (C4) (Fernandes et al., 2007; Zengeni e Kakembo, 2017; Han et al., 2020). Outra forma de estudo consiste na substituição de solos de mesma classificação, mas que apresente valores de $\delta^{13}\text{C}$ contrastantes. Sousa Júnior et al. (2018) utilizaram a técnica de isótopo estável, para avaliar o enriquecimento de $\delta^{13}\text{C}$ no COD do solo ao longo de 3 cortes da cana-de-açúcar, proveniente da palhada da mesma. Os autores realizaram a substituição nas entre linhas do cultivo de cana-de-açúcar por solo de aérea adjacente que apresentava a mesma classificação, no entanto, não apresentava cultivo há mais de 25 anos e com isso os valores de $\delta^{13}\text{C}$ eram bem contrastantes sob cultivo da cana-de-açúcar, possibilitando assim o estudo.

Cleveland et al. (2004) utilizaram a técnica de isótopos para avaliar a dinâmica da MOD durante um experimento de incubação em laboratório usando folhas frescas e serrapilheira de vários tipos de ecossistemas de clima temperado. Os autores não observaram alterações na assinatura $\delta^{13}\text{C}$ da MOD durante a decomposição, sugerindo que o fracionamento isotópico durante a absorção da MOD não é um processo significativo. De Troyer et al. (2011) utilizaram a técnica para avaliar a origem e a dinâmica da MOD em um solo agrícola de clima temperado com a adição de palha de milho marcada com ^{13}C em um experimento de incubação. Foi observado um efeito significativo na liberação da MOD autóctone, concluindo que a maioria da MOD é derivada da MOS.

Para avaliar a importância dos resíduos orgânicos para a composição da MOEA, se faz necessário analisar a composição isotópica natural. Como a serrapilheira da Mata Atlântica apresenta valores típicos de C3 $\delta^{13}\text{C}$, e os resíduos da cana-de-açúcar valores de C4 $\delta^{13}\text{C}$, tais discriminações isotópicas contrastantes permitem o uso de $\delta^{13}\text{C}$ para monitorar a contribuição da alteração de resíduos orgânicos para a MOEA. Estudar o comportamento da MOD é fundamental para compreender a sua dinâmica, pois os fluxos da MOD são um vetor importante para o movimento de carbono e nutrientes dentro e entre os ecossistemas.

3. TRABALHOS

3.1 DINÂMICA DA MATÉRIA ORGÂNICA EXTRAÍVEL COM ÁGUA DE UM SOLO ALTAMENTE INTEMPERIZADO DE MATA ATLÂNTICA E CANA-DE-AÇÚCAR MONITORADA POR DRIFT

RESUMO

A matéria orgânica extraível com água (MOEA) desempenha diversas funções importantes no solo. No entanto, as características em nível molecular da MOEA e sua dinâmica em solos tropicais agrícolas e florestais altamente intemperizados são pouco estudadas. O objetivo deste estudo foi avaliar a técnica de Infravermelho com Transformada de Fourier por Refletância Difusa (DRIFT) como uma ferramenta confiável para elucidar as características moleculares da MOEA da camada superficial de um Argissolo Amarelo Coeso Típico, coberto por fragmento preservado de Mata Atlântica e sob cultivo de cana-de-açúcar, incubados com diferentes resíduos orgânicos. As amostras foram incubadas por um ano com resíduos de colheita da cana-de-açúcar e da serrapilheira da Mata Atlântica, com equivalente a 10 mg de C g⁻¹ solo. A caracterização da MOEA foi realizada por DRIFT e por Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ¹H). Os teores de carbono orgânico dissolvido (COD) e nitrogênio total dissolvido (NTD),

apresentaram um aumento nos primeiros 15 dias, seguido de uma rápida diminuição em ambos os solos. Após este período, o solo sob cultivo de cana-de-açúcar que recebeu a adição de serrapilheira de mata, apresentou os mesmos teores e dinâmica que o controle (sem a adição de serrapilheira). No solo da mata não foi observado nenhuma mudança significativa no COD, enquanto o teor de NTD aumentou durante o tempo de incubação, mostrando a influência do legado da cobertura do solo na dinâmica da MOEA. A análise de DRIFT revelou mudanças no perfil químico da MOEA, especialmente com o aumento dos carboidratos no início da incubação, seguido por uma queda acentuada. Essas mudanças na composição molecular da MOEA refletiram no índice de hidrofobicidade, que aumentou de acordo com o tempo de incubação. Porém, as bandas de absorção intensas atribuídas às ligações C-H aromáticas em 900 a 400 cm^{-1} nos espectros de DRIFT, não mostraram uma correspondência com as áreas de intensidade muito baixas na região dos aromáticos nos espectros de RMN ^1H em 6,5-8,4 ppm. Além disso, a área relativa aos carboidratos (3,2 – 4,5 ppm) aumentou com o tempo de incubação nas amostras que receberam a adição da serrapilheira. A espectroscopia de RMN de ^1H mostrou uma transferência imediata de carboidratos, moléculas alicíclicas semelhantes a proteínas e ricas em carboxila dos resíduos orgânicos para a MOEA, que foram consumidos pela atividade microbiana durante a incubação. Observou-se também, um aumento de estruturas alifáticas (0,6 a 1,6 ppm) na MOEA nos solos tratados com resíduos orgânicos. Este trabalho comprovou que a técnica de DRIFT pode servir como uma forma rápida, barata e eficiente de monitorar a hidrofobicidade da MOEA. Os resultados sugerem que as coberturas de solo desenvolvidas no ambiente natural, afetam mais a dinâmica da MOEA do que os resíduos orgânicos adicionados.

ABSTRACT

Water extractable organic matter (WEOM) performs several important functions in the soil. However, the characteristics at the molecular level of the WEOM and its dynamics in highly weathered tropical agricultural and forest soils are poorly studied. The aim of this study was to evaluate the Fourier Transform Infrared by Diffuse Reflectance (DRIFT) technique as a reliable tool to elucidate the molecular characteristics of the WEOM of the surface layer of a Ultisol, covered by a preserved fragment of Atlantic Forest and under sugar cane cultivation, incubated with different organic residues. The samples were incubated for one year with sugar cane and litter harvest residues from the Atlantic Forest, with equivalent to 10 mg of C g⁻¹ soil. The characterization of WEOM was carried out by DRIFT and by Hydrogen Nuclear Magnetic Resonance (¹H NMR). Dissolved organic carbon (DOC) and total dissolved nitrogen (TDN) contents showed an increase in the first 15 days, followed by a rapid decrease in both soils. After this period, the soil under sugar cane cultivation that received the addition of litter from the forest, presented the same contents and dynamics as the control (without the addition of litter). In the forest soil, no significant change in DOC was observed, while the TDN content increased during the incubation time, showing the influence of the land cover legacy on the WEOM dynamics. DRIFT analysis revealed changes in the chemical profile of WEOM, especially with the increase in carbohydrates at the beginning of the incubation, followed by a sharp drop. These changes in the molecular composition of WEOM reflected in the hydrophobicity index, which increased with the incubation time. However, the intense absorption bands attributed to aromatic CH bonds at 900 to 400 cm⁻¹ in the DRIFT spectra did not show a correspondence with the very low intensity areas in the aromatics region in the ¹H NMR spectra at 6.5- 8.4 ppm. In addition, the area relative to carbohydrates (3.2 – 4.5 ppm) increased with the incubation time in the samples that received the addition of litter. ¹H NMR spectroscopy showed an immediate transfer of carbohydrates, protein-like alicyclic molecules rich in carboxyl from organic residues to WEOM, which were consumed by microbial activity during incubation. It was also observed an increase in aliphatic structures (0.6 to 1.6 ppm) in the WEOM in soils treated with organic residues. This work proved that the DRIFT technique can serve as a fast, cheap and efficient way

to monitor the hydrophobicity of the WEOM. The results suggest that the soil covers developed in the natural environment affect the WEOM dynamics more than the added organic residues.

1.INTRODUÇÃO

A matéria orgânica dissolvida (MOD) desempenha um papel importante no sistema do solo, uma vez que sua forte atividade química influencia a formação de partículas coloidais, o ciclo e a disponibilidade de nutrientes, o tamponamento do pH e a distribuição de íons entre as fases aquosa e sólida (Nebbioso e Piccolo, 2013). Portanto, a MOD é um componente crucial para o equilíbrio do carbono líquido no ecossistema (Kindler et al., 2011). Além da grande reatividade e abundância relativamente baixa em comparação com a matéria orgânica total do solo, a MOD é sensível ao uso e às práticas de manejo do solo (Chantigny, 2003), assim pode ser usada como indicador para avaliar mudanças em grande escala na qualidade do mesmo (Jones et al., 2014). A matéria orgânica extraível com água (MOEA) é definida operacionalmente, e inclui a MOD, liberada pela extração de amostras de solo com solução aquosa sob condições de agitação e que passa por um filtro de poro de 0,45 µm (Zsolnay, 1996).

O conteúdo da MOEA depende principalmente das atividades microbianas e do equilíbrio com a fase sólida da matéria orgânica e minerais do solo (Kaiser e Kalbitz, 2012). A quantificação e a caracterização da MOEA são muito importantes, especialmente para os solos altamente intemperizados, tipicamente caracterizados pela baixa capacidade de troca catiônica, reservas de nutrientes e conteúdo de matéria orgânica.

O acúmulo de carbono orgânico no solo, pode ser considerado como resultado da combinação da proteção físico-química exercida pelas partículas minerais e dos agregados, acoplados à segregação progressiva da solução aquosa do solo de insumos de matéria orgânica (MO) impulsionados pelos compostos

hidrofóbicos estáveis e pouco solúveis (Kleber et al., 2007; Chilom et al., 2013; Mitchell et al., 2018).

A reatividade ambiental dos componentes da matéria orgânica solúvel está relacionada à relação hidrofóbico / hidrofílico que afeta o comportamento de partição entre os compartimentos líquido e sólido e a dinâmica de decomposição-acumulação (Schwarzembach et al., 2003a; Zhou et al., 2010; Song et al., 2013). Em um tipo de solo definido, a dinâmica variável de estabilização da matéria orgânica do solo estaria, portanto, associada tanto à qualidade dos insumos da MO, quanto à preservação de compostos hidrofóbicos da solução do solo. Nesse contexto, a avaliação do caráter hidrofóbico / hidrofílico por meio de técnicas espectroscópicas pode atuar como uma forma confiável e adequada de avaliação da dinâmica das frações da MOD (Nasonova et al., 2020).

Embora vários estudos já tenham utilizado técnicas espectroscópicas para caracterizar a MOEA do solo (Kaiser et al., 2001; Kaiser e Kalbitz, 2012; Bu et al., 2014; Roth et al., 2019), poucos trabalhos relataram até agora a caracterização espectroscópica de MOD / MOEA de solos tropicais (Ye et al., 2020). Em uma recente revisão sobre a MOD em sistemas agrícolas de solos tropicais, (Gmach et al., 2020) também constataram que poucos resultados estão disponíveis sobre a dinâmica da MOEA em relação às suas características moleculares.

A espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier e Refletância Difusa (DRIFT) é uma técnica rápida, confiável e relativamente acessível, em comparação com outras técnicas, como a ressonância magnética nuclear, para detectar mudanças químicas em materiais orgânicos naturais induzidas pelas condições ambientais e processos de decomposição (Pimentel et al., 2019). A DRIFT pode ser aplicada para relacionar as características moleculares da fração orgânica com sua atividade biológica e comportamento ambiental (Aguilar et al., 2013; Tadini et al., 2015a). Além disso, pode ser utilizada para avaliar a hidrofobicidade da matéria orgânica em matrizes complexas (Capriel et al., 1995; Dal Ferro et al., 2012). Recentemente, Nuzzo et al. (2020) destacaram algumas vantagens do uso da técnica de DRIFT em comparação com outras técnicas espectroscópicas tipicamente usadas para identificar as características moleculares da matéria orgânica do solo, incluindo produção analítica rápida, baixa quantidade de amostra e alta reprodutibilidade. A detecção de frações orgânicas

dissolvidas e materiais hidrossolúveis, provou que um índice de hidrofobicidade confiável da MOEA pode ser avaliado com base em espectros de DRIFT.

No presente trabalho, técnicas de espectroscopia foram aplicadas para avaliar a composição molecular e a dinâmica da MOEA de um Argissolo tropical incubado com resíduos provenientes de floresta nativa e de cana-de-açúcar. Enquanto os sistemas florestais fornecem grande quantidade de MOEA no ciclo global de C, a cana-de-açúcar é um dos cultivos mais difusos em áreas tropicais e pode afetar a quantidade e as características dos materiais orgânicos dissolvidos na água de bacias rurais (Tadini et al., 2015a, b). O objetivo do trabalho foi avaliar a técnica DRIFT como uma ferramenta confiável para elucidar as características moleculares e variações das frações da MOD derivadas de resíduos orgânicos em solos tropicais. A fim de validar as características moleculares descritas por DRIFT, os resultados foram comparados com os dados obtidos com a técnica de RMN de ^1H .

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Descrição do local e amostragem de solo

As amostras de solo foram coletadas na camada 0-10 cm, de dois Argissolos, em um fragmento da Mata Atlântica “Mata do Carvão” e em área adjacente com plantio de cana-de-açúcar, observando a mesma posição de relevo. As amostras foram secas ao ar e peneiradas em malha de 2 mm. A floresta “Mata do Carvão” é o maior fragmento remanescente no norte do Estado do Rio de Janeiro, localizado a 21 ° 24 'S e 41 ° 04' W, no município de São Francisco do Itabapoana, Rio de Janeiro, Brasil. Essa reserva foi estabelecida em 2002 como uma unidade de conservação denominada Estação Ecológica Estadual de Guaxindiba. O fragmento consiste principalmente de florestas semidecíduas, com pequenas manchas de áreas alagadas. As famílias mais ricas em número de espécies na área são Leguminosae, Myrtaceae e Euphorbiaceae, e as espécies mais importantes são *Metrodorea nigra* (Rutaceae), *Paratecoma peroba* (Bignoniaceae) e

Pseudopiptadenia contorta (Leguminosae) (Silva e Nascimento, 2001). A precipitação média anual na região é de 1.023 mm com marcada sazonalidade e período de seca de maio a setembro (Figura 1). A temperatura média anual é de 23 °C. Algumas das propriedades físicas e químicas dos solos utilizados estão relatadas na Tabela 1. O solo foi classificado como um Argissolo Amarelo Coeso Típico de acordo com o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. O solo do canavial foi coletado na orla da Mata do Carvão observando a mesma posição de relevo.

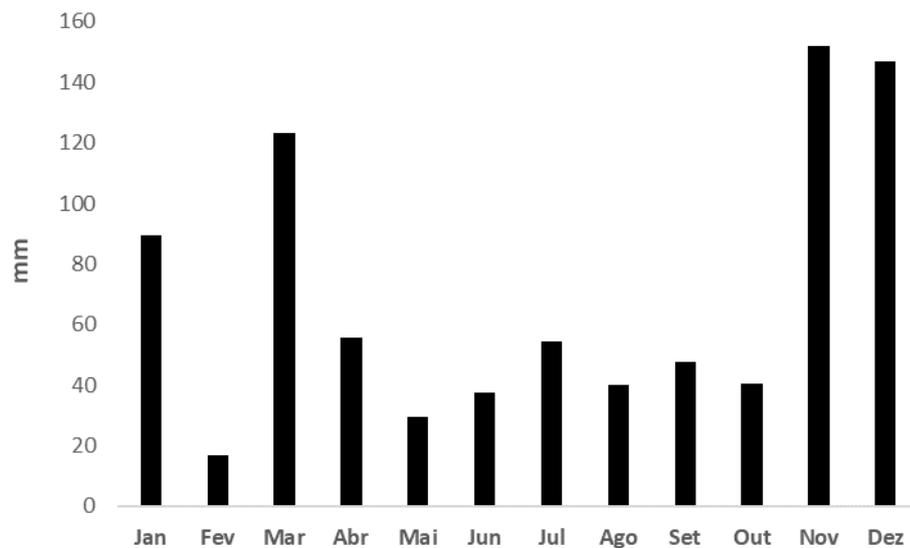


Figura 1. Precipitação média mensal (mm) nos últimos cinco anos na Estação Ecológica de Guaxindiba. São Francisco do Itabapoana, Rio de Janeiro, Brasil.

Tabela 1. Características dos solos utilizados no experimento de incubação

| Propriedades do solo | Mata | Cana-de-açúcar |
|--|------|----------------|
| pH (H ₂ O) | 5,7 | 5,8 |
| CTC (cmol _c dm ³) | 16,3 | 5,1 |
| C orgânico total (%) | 5,3 | 1,6 |
| N Total (%) | 0,7 | 0,2 |
| C/N | 7,5 | 14,2 |
| Argila (%) | 19,6 | 17,6 |
| Silte (%) | 7,6 | 9,5 |
| Areia (%) | 72,8 | 72,9 |

Todos os dados são expressos em base seca (105 ° C).

2.2. Incubação dos solos com serrapilheira e resíduos de colheita da cana-de-açúcar

Os resíduos de colheita da cana-de-açúcar e da serrapilheira da mata, foram secos em estufa com circulação forçada a 40 °C até peso constante. Em seguida, foram triturados em moinho de facas tipo Willey utilizando a peneira de 2 cm. As amostras de solo foram ajustadas para 50% da capacidade de retenção de água, calculada a partir de solos secos ao ar. Os solos foram reumedecidos e equilibrados incubando-os por duas semanas com umidade constante. Para incubação do solo foram utilizadas caixas de plástico (30 x 25 x 15 cm), sendo cada uma preenchida com 5 kg de solo.

Foram estabelecidos dois tratamentos diferentes, com três repetições, para o solo sob cultivo de cana-de-açúcar (Can) e solo da mata (M): incorporação de resíduos de colheita da cana-de-açúcar (RC) (CanRC e MRC); incorporação de serrapilheira da mata (SM) (CanSM e MSM). As adições de resíduos foram com o equivalente a 10 mg C g⁻¹ de solo. A incubação foi realizada à temperatura ambiente e duas vezes ao mês foi adicionada água a uma taxa equivalente à precipitação de chuva do local de coleta por 1 ano, simulando ciclos de umedecimento e secagem. A umidade do solo foi controlada por peso duas vezes por mês. As amostras dos solos incubados foram coletadas (100g) para análise da MOEA, por espectroscopias de DRIFT e RMN ¹H, nos seguintes tempos: no início da incubação 0, 15, 30, 90, 180 e 360 dias após a instalação. As amostras foram armazenadas a -20 °C e descongeladas lentamente a 4°C, 3 dias antes da extração da MOEA.

2.3. Matéria orgânica extraível com água (MOEA)

A MOEA foi extraída de amostras de 100g de solo empregando-se 0,5 L de água destilada. Os extratos foram agitados por 1 hora em temperatura ambiente e em seguida centrifugados a 5.000 g por 30 min. O sobrenadante foi coletado e filtrado através de um filtro de policarbonato de poro de 0,45 µm (Zsolnay, 1996). A centrifugação foi utilizada para acelerar a etapa de filtração. A fração de matéria orgânica dissolvida do solo obtida dessa maneira é então considerada a matéria orgânica extraível com água (MOEA). Uma alíquota foi usada para análise de

carbono orgânico e nitrogênio total e outra foi liofilizada para análises espectroscópicas adicionais. O carbono orgânico dissolvido (COD) e o nitrogênio total dissolvido (NTD) foram medidos usando um analisador de Carbono Orgânico Total Shimadzu (TOC)-L CSH / CSN equipado com um amostrador automático ASI-L (Shimadzu, Tóquio, Japão).

2.4. Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier e Refletância Difusa (DRIFT)

Os espectros de Infravermelho com Transformada de Fourier e Refletância Difusa (DRIFT) da MOEA foram registrados com um espectrômetro Prestige 21 FT-IR (Shimadzu, Tóquio, Japão), equipado com um acessório de refletância difusa, acumulando até 100 varreduras com resolução de 4 cm^{-1} . Antes da análise de DRIFT, as amostras liofilizadas foram diluídas com brometo de potássio em pó (KBr) (5/150, peso / peso) em um almofariz de ágata. Foram obtidos três espectros de cada amostra da MOEA. A região entre 2950 e 2850 cm^{-1} que revela o conteúdo dos grupos alifáticos sem interferência de outros grupos funcionais (Capriel et al., 1995; Capriel, 1997). A região entre 1100 cm^{-1} a 1000 cm^{-1} é típica de ligações C-O e de carboidratos. A área de absorvância da região de 2950 - 2850 cm^{-1} e 1100 - 1000 cm^{-1} dos espectros de DRIFT das amostras foi, portanto, integrada usando software Shimadzu. A hidrofobicidade da MOEA foi obtida pela razão das áreas de 2950 - 2850 cm^{-1} e 1100 - 1000 cm^{-1} . Com os dados obtidos, foram calculados os valores médios da triplicata da área integrada ao longo da região de 2950 - 2850 cm^{-1} e 1100 - 1000 cm^{-1} (o desvio padrão relativo foi inferior a 7%) e usados para determinar o índice de hidrofobicidade.

2.5. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN de ^1H).

A espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H) no estado líquido foi realizada a 25 ± 1 °C usando um ímã Avance de 400 MHz (Bruker Biospin, Rheinstetten, Alemanha), equipado com uma sonda Bruker Broadband Inverse (Bruker Biospin) de 5 mm trabalhando na frequência de 400 MHz por ^1H . As amostras foram preparadas dissolvendo 10 mg da MOEA em 1 mL de água deuterada (99,8% $\text{D}_2\text{O} / \text{H}_2\text{O}$, Armar Chemicals). Os espectros de RMN de ^1H foram adquiridos aplicando uma pré-saturação de ressonância do sinal de água (2 s de pré-saturação a 54 – 65 dB para atenuação do nível de potência) e definindo 16 k pontos de dados, quatro varreduras simuladas, uma largura espectral de 16 ppm (6410,3 Hz) e 128 varreduras. Os espectros foram processados usando o software Bruker Topspin Software (v 2.1, BrukerBiospin, Rheinstetten, Alemanha). Os FIDs foram transformados pela aplicação de um alargamento de linha de 1 Hz. Quatro regiões foram integradas a partir dos espectros unidimensionais de RMN de ^1H , que incluíram: (1) materiais derivados de H alifático (Alquil) 0,6 – 1,6 ppm; (2) derivados de cutina e moléculas alicíclicas ricas em carboxila (Cutina/MARC), 1,6 – 3,2 ppm; (3) carboidratos e peptídeos (carb), 3,2 – 4,5 ppm; e (4) aromáticos e fenólicos (arom) 6,5 – 8,4 ppm.

2.6. Análise estatística

As diferenças no COD, NTD e índice de hidrofobicidade espectroscópicos entre os diferentes tempos de incubação, (0, 15, 30, 90, 180 e 360 dias), foram analisadas usando o modelo de regressão.

3. RESULTADOS

3.1. Carbono Orgânico Dissolvido e Nitrogênio Total Dissolvido

As concentrações de COD e NTD extraídos em função do tempo de incubação são mostradas na Figura 2. As concentrações de COD foram dependentes do uso e da cobertura anterior do solo e do tipo de matéria orgânica do solo. O comportamento do COD nas amostras do solo da mata, foi ajustado por uma função polinomial do terceiro grau (Figura 2A). Todos os tratamentos de M demonstraram um padrão semelhante de liberação de COD. Foi observado um rápido e acentuado decréscimo da concentração de COD da fase inicial até os 15 dias de incubação, para todos os tratamentos, seguido por uma estabilização aos 30 dias. Além disso, os valores finais de COD extraível, foram 34 % e 27 % maiores em MRC e MSM, respectivamente, em relação ao controle (M) (Fig. 2A).

O comportamento do COD nas amostras do solo sob cultivo de cana-de-açúcar, foi ajustado por uma polinomial do terceiro grau. E, foi caracterizado por diferenças marcantes durante a incubação nos valores de COD nos tratamentos CanRC e CanRM, enquanto uma pequena variação foi observada no tratamento controle (Can) (Figura. 2B). O COD mostrou uma diminuição maior e menos intensa no início da incubação nos tratamentos CanSM e CanRC, e após 90 e 180 dias ocorreu um leve aumento para CanRC e CanSM, respectivamente, alcançando assim um estado estacionário aos 360 dias e com valores mais baixos, quando comparados com a fase inicial de incubação. No início da incubação, apesar da adição de resíduos com o mesmo conteúdo de carbono sólido (10 mg C g^{-1} de solo), o CanRC apresentou valores de COD maior (162 mg L^{-1}) do que CanSM (110 mg C L^{-1}), o que representou quantidade 2,3 e 1,5 vezes maior que o solo controle (sem a adição de resíduos), respectivamente. Ao final da incubação, a amostra controle apresentou o mesmo teor de COD que o tratamento CanSM (74 mg L^{-1}), enquanto um maior valor (95 mg C L^{-1}) foi observado no solo com a adição resíduos da cultura da cana-de-açúcar (CanRC).

Os maiores valores de COD encontrados na fase inicial de incubação nas amostras de solo da mata em relação às amostras do solo sob cultivo de cana-de-açúcar, podem estar claramente associados à abundância de carbono orgânico biodisponível nos solos da mata.

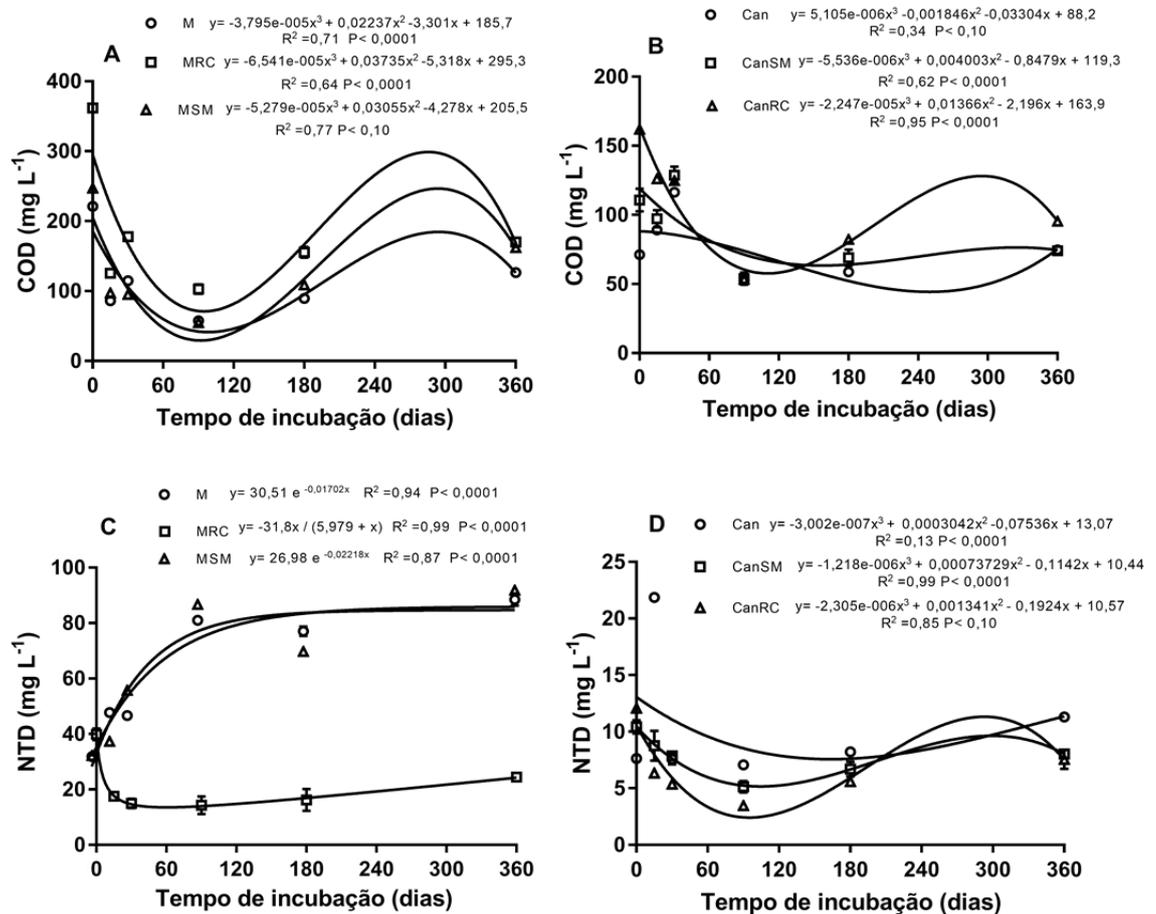


Figura 2. Concentrações de Carbono Orgânico Dissolvido (COD) e Nitrogênio Total Dissolvido (NTD) da matéria orgânica extraível com água de Argissolos da mata (M) e sob cultivo de cana-de-açúcar (Can) com adição de serrapilheira da mata (SM) ou resíduos de colheita da cana-de-açúcar (RC) em diferentes tempos de incubação.

Em oposição ao COD, foi observado um aumento significativo da concentração de NTD com o tempo de incubação nas amostras M e MSM, enquanto uma liberação de NTD inferior e com pouca variação foi observada no tratamento MRC. Embora as amostras do solo da mata tenham apresentado na fase inicial formas de N solúveis com elevados valores, cuja concentração variou de 30 a 40 mg L⁻¹ de N, os valores de NTD em M e MSM aumentaram nos primeiros dias de incubação e estabilizaram com valores mais elevados após 90 dias. No final da incubação, as amostras M e MSM, apresentaram concentrações de NTD 2,6

vezes maiores em comparação com os valores iniciais (Fig. 2C). A adição de resíduos da colheita de cana-de-açúcar ao solo da mata (MRC) produziu uma dinâmica de NTD oposta, onde foi observado um decréscimo no início da incubação e uma estabilização subsequente em nível inferior ao do controle (M) após 30 dias de incubação (Fig. 2C).

A dinâmica do NTD nos tratamentos do solo sob cultivo de cana-de-açúcar foi semelhante à do COD, sendo ajustado em um modelo quase correspondente de uma função polinomial do terceiro grau, constituído por uma variação comparável com o tempo de incubação (Fig. 2D). A concentração inicial de NTD nas amostras Can foi menor do que nas amostras M. Foram observadas ainda concentrações de NTD entre 8 e 12 mg N L⁻¹ no início da incubação e os valores foram estabilizados aos 180 dias com 7 mg N L⁻¹. No final da incubação, a amostra controle apresentou maiores valores de NTD (11 mg N L⁻¹) em comparação com os valores das amostras que receberam a adição de resíduos (8 e 7,5 mg N L⁻¹).

3.2. Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier e Refletância Difusa (DRIFT)

Os espectros de DRIFT da MOEA das amostras de M e Can com a adição de diferentes resíduos orgânicos em função do tempo de incubação, são mostrados nas Figuras 3 e 4. O padrão IV com números de onda mais elevados revelou estiramento de ligações O-H e N-H, divididas em bandas nítidas e bem definidas em 3690-3620 cm⁻¹, atribuídas a compostos livres; associadas à ampla absorção em 3300-3500 cm⁻¹, derivadas das mesmas vibrações formando ligações de H. Por outro lado, sinais específicos podem estar associados ao ombro em 2964-2930 cm⁻¹, que correspondem ao estiramento CH simétrico e assimétrico dos grupos CH₂ de compostos alifáticos (Aguiar et al., 2013; Monda et al., 2017; Nasonova et al., 2020).

A banda larga estendida entre 1700-1550 cm⁻¹ e centrada em 1635-1640 cm⁻¹ pode combinar várias absorbâncias incluindo vibrações de C = C de anel de porções aromáticas, estiramento de carbonila da banda de amida I ou ânions

carboxilatos e deformação angular de N-H de banda amida II (Spaccini e Piccolo, 2008; Monda et al., 2017; Pimentel et al., 2019).

O sinal pronunciado e distinto em 1400 cm^{-1} corresponde à deformação assimétrica de abundantes grupos de CH_2 que confirma a incorporação na MOEA de moléculas hidrofóbicas dissolvidas. Por outro lado, os numerosos picos encontrados na região de $1115\text{-}1010\text{ cm}^{-1}$ indicam a presença de estiramento de C-O pertencente a compostos hidrofílicos, como carboidratos e polissacarídeos (Aguiar et al., 2013; Monda et al., 2017; Pimentel et al., 2019; Nuzzo et al., 2020).

Os picos identificados em $915, 687, 587, 469$ e 433 cm^{-1} podem indicar deformação angular de C-H de grupos aromáticos, bem como a inclusão de sais dissolvidos e minerais finos que podem se sobrepor parcialmente às assinaturas orgânicas em números de ondas mais baixas (Spaccini e Piccolo, 2008; Nasonova et al., 2020; Nuzzo et al., 2020).

As principais mudanças na composição química da MOEA e destacadas pelos espectros de DFRIT nas amostras que receberam a adição de resíduos, foram relacionadas à preservação seletiva de C estável e à diminuição das frações biodisponíveis representadas principalmente por sinais de C-O derivados de carboidratos (Pimentel et al., 2019).

O ombro que aparece em $1690 / 1700\text{ cm}^{-1}$ na amostra MSM após 15 dias de incubação, pode estar relacionado ao aumento de ligações C = O de amida I (Figuras 3 e 4). O aumento progressivo, seguido por uma redução na intensidade ao final da incubação é compatível com a variação observada no NTD de acordo com o tempo de incubação nas amostras M e MSM (Fig. 2C). Além disso, o aumento da banda de absorção centrada em 1635 cm^{-1} , após 30 dias de incubação, também pode estar associado à maior contribuição de peptídeos.

A deformação angular de CH_2 em 1400 cm^{-1} apresentou um aumento linear ao longo do tempo de incubação, enquanto os sinais correspondentes em $2930\text{-}2965\text{ cm}^{-1}$ foram constantemente ocultados pela intensidade alargada de estiramento das ligações de OH. As funções C-O relacionadas ao sinal dos carboidratos mostraram uma diminuição progressiva, conforme visualizado pelas bandas de absorção mais baixas em 1100 a 1015 cm^{-1} nas amostras de solos de M e C (Fig. 3 e 4). O alargamento das bandas de absorção de 900 para 600 cm^{-1} ao longo do tempo, pode estar associado ao aumento da contribuição dos

componentes inorgânicos dissolvidos após a decomposição das frações orgânicas (Nasonova et al., 2020).

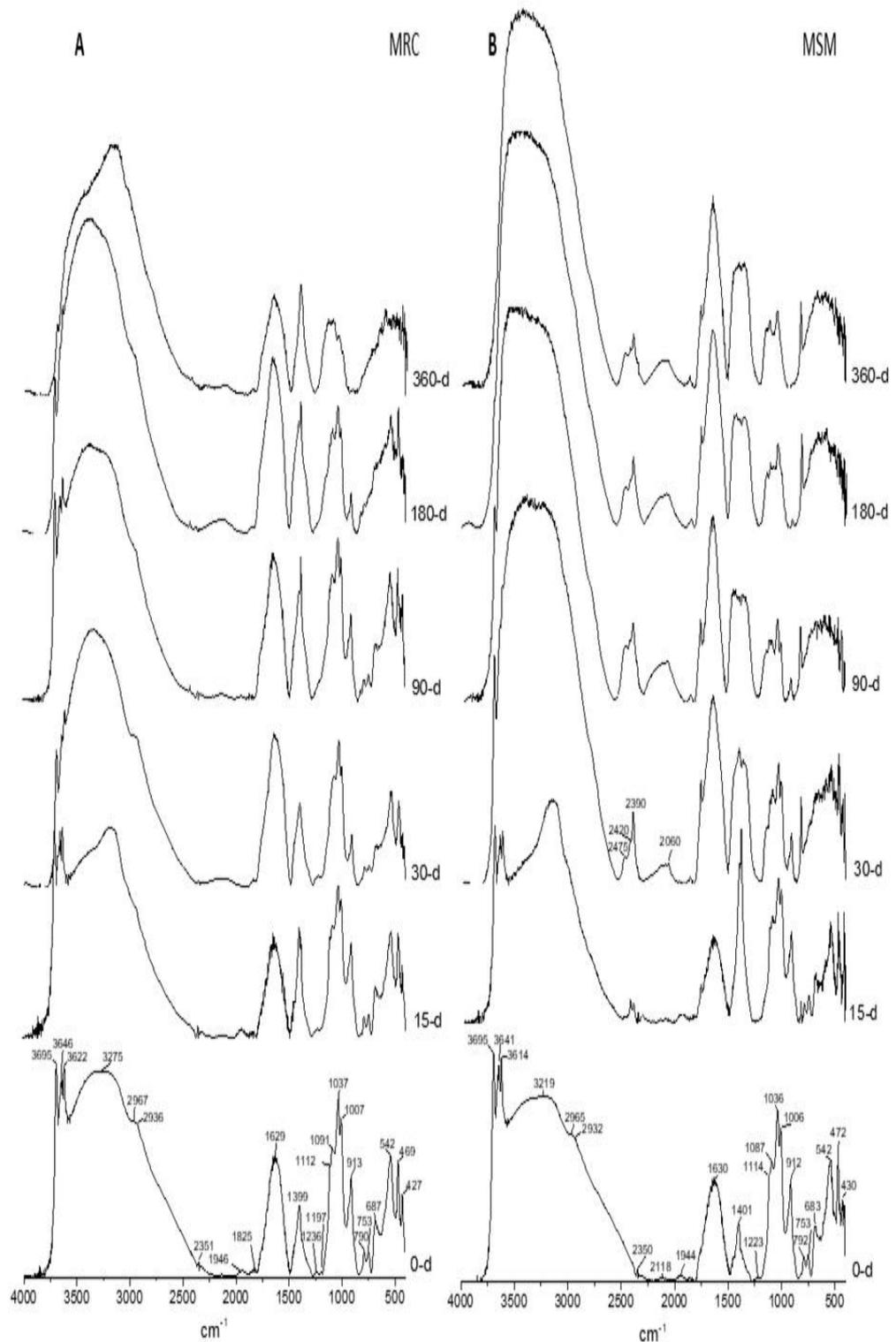


Figura 3. Espectros de DRIFT da matéria orgânica extraível com água (MOEA) de Argissolo da mata, com a adição de resíduos de colheita da cana-de-açúcar (MRC) ou de serrapilheira da mata (MSM) em diferentes tempos de incubação.

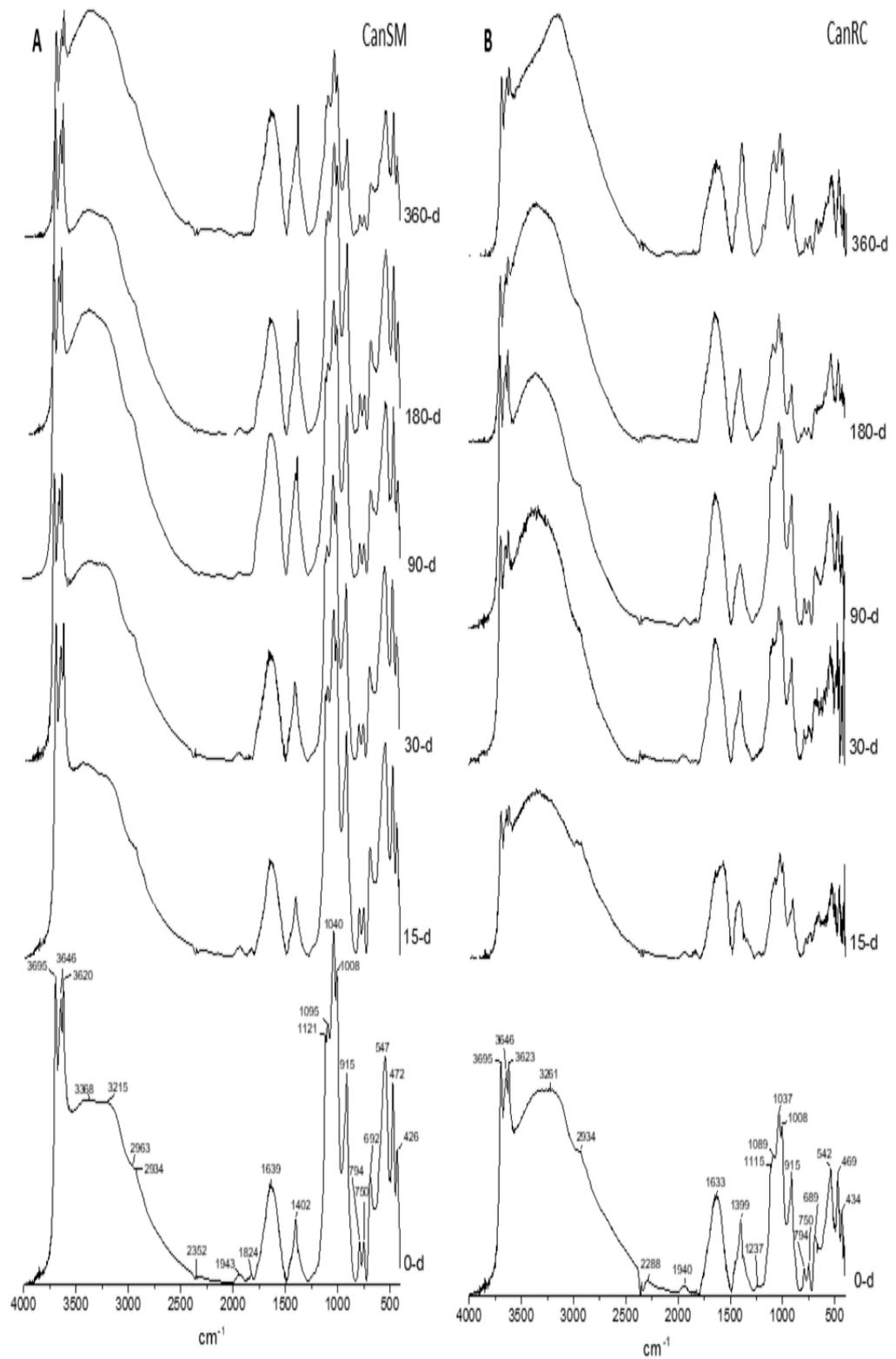


Figura 4. Espectros de DRIFT da matéria orgânica extraível com água (MOEA) de Argissolo sob cultivo de cana-de-açúcar com a adição de serrapilheira da mata (CanSM) ou resíduos da colheita de cana-de-açúcar (CanRC) em diferentes tempos de incubação.

3.3. Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H)

Os espectros de RMN de ^1H no estado líquido da MOEA das amostras M e Can com diferentes resíduos, são mostrados nas Figuras 5 e 6.

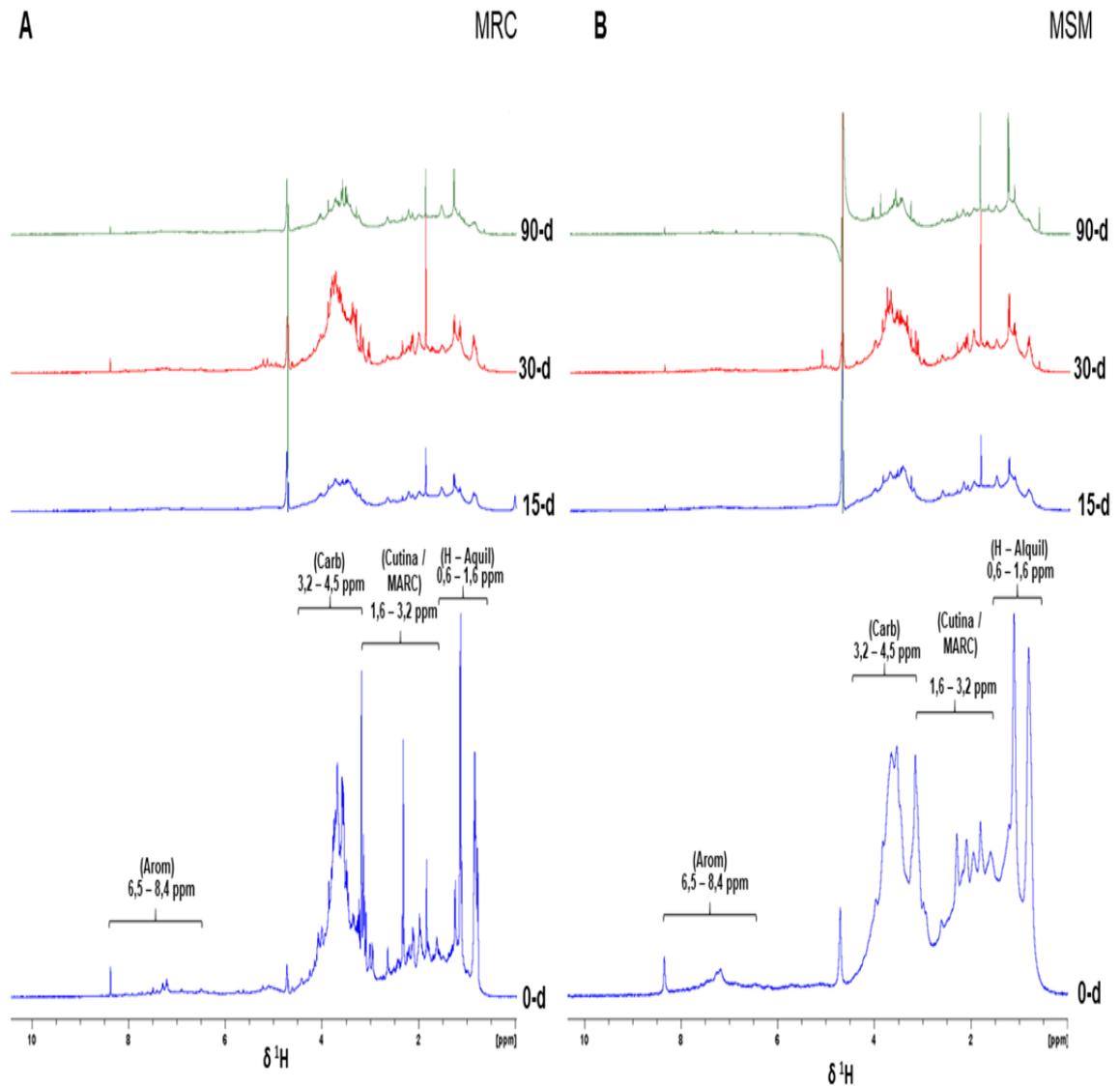


Figura 5. Características espectroscópicas de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ^1H) no estado líquido, da matéria orgânica extraível com água (MOEA) do Argissolo de mata: com a adição de resíduos de colheita da cana-de-açúcar (MRC) ou de serrapilheira da mata (MSM) em diferentes tempos de incubação. H-álquil: materiais derivados de compostos alifáticos; derivados de Cutina/MARC: moléculas alicíclicas ricas em carboxila; Carb: carboidratos e peptídeos; Arom: aromáticos e fenólicos.

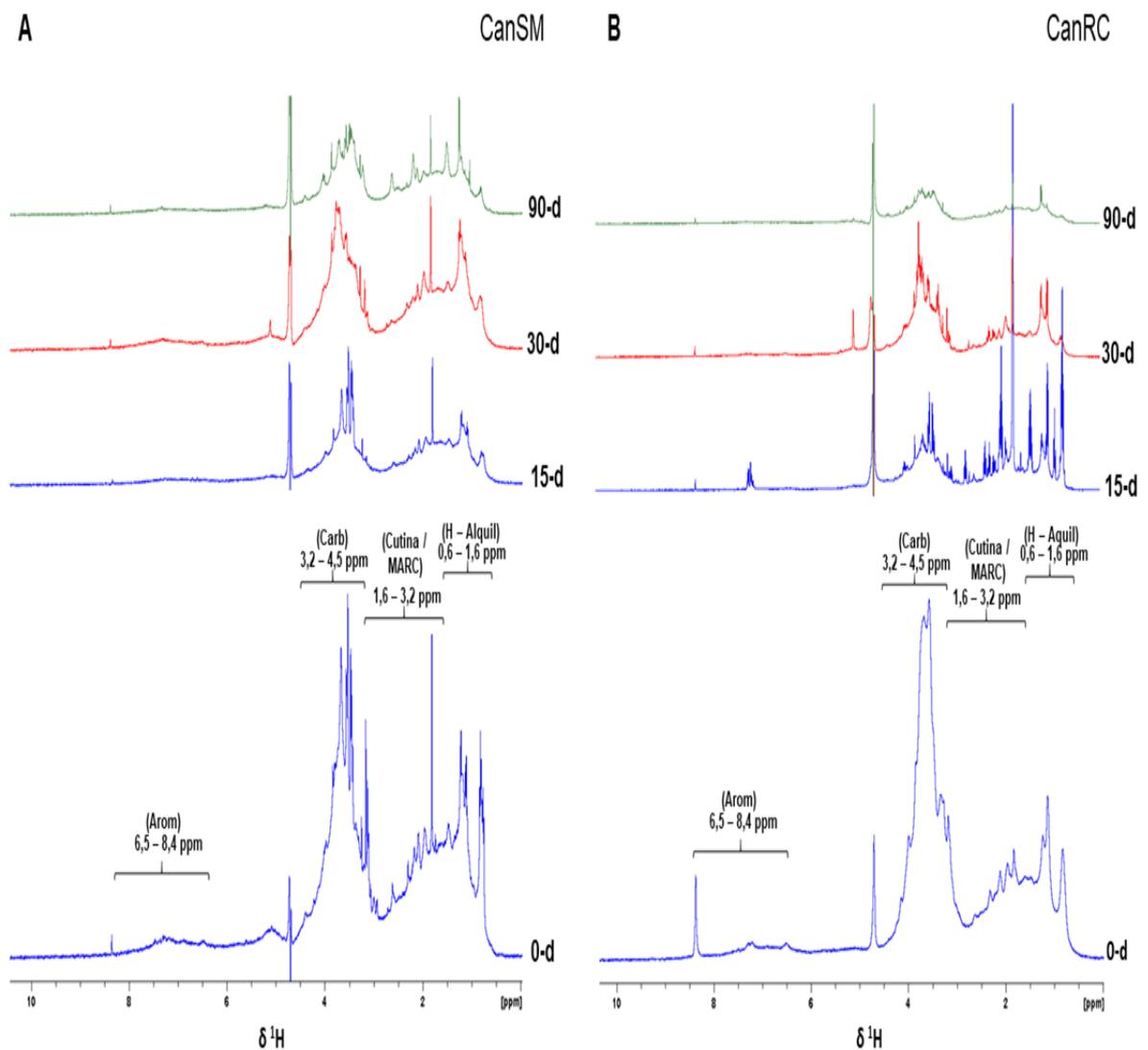


Figura 6. Características espectroscópicas de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de ^1H) no estado líquido da matéria orgânica extraível com água (MOEA) de Argissolo sob cultivo de cana-de-açúcar: com a adição de serrapilheira da mata (CanSM) ou com resíduos de colheita da cana-de-açúcar (CanRC) em diferentes tempos de incubação. H-alquil: materiais derivados de compostos alifáticos; derivados de Cutina/MARC: moléculas alicíclicas ricas em carboxila; Carb: carboidratos e peptídeos; Arom: aromáticos e fenólicos.

Os espectros iniciais de RMN da MOEA de ambos os tratamentos de solo M e Can foram caracterizados por ressonâncias nítidas na região alifática (H-alquil) com deslocamento químico em 0,8-0,9 e 1,2-1,3 ppm de grupos metil e polimetileno dissolvidos, respectivamente (Tadini et al., 2015b; Perminova et al., 2018).

Foram observados prótons alifáticos adicionais na região de 1,3-2,9 ppm em ambas as amostras M e Can, que podem ser derivados de compostos ligeiramente desprotegidos próximos a funções de retirada de elétrons, como grupos de hidroxila, carboxila, bem como das moléculas dos derivados de Cutina/MARC (Sun et al., 2017; Fox et al., 2018).

Os ombros largos na região de 2,9 a 4,2 ppm estão relacionados à presença de componentes N-alquil e grupos O-alquil e indicam a inclusão de compostos biolábeis dissolvidos, como de peptídeo e carboidratos. Essas ressonâncias também podem ser acopladas aos sinais de prótons anoméricos de anéis de piranosídeo na faixa de deslocamento químico entre 4,8 e 5,2 ppm. Os sinais menos abundantes em 4,1–4,5 ppm nos extratos iniciais dos solos correspondem ao próton dos peptídeos e aminoácidos. Finalmente, sinais de prótons aromáticos (6,2–7,8 ppm) e amida (7,8–8,4 ppm) foram encontrados apenas nas amostras M (Figuras 5 e 6).

A evolução da MOEA nas amostras controle sem adição de resíduos orgânicos (Tabela 2) revelou a influência dos ciclos de umedecimento e secagem na distribuição das espécies de H durante a incubação. Em solos tropicais, a intensa alteração físico-química produzida nos agregados e partículas do solo durante as estações seca e chuvosa enfraquece a interação com moléculas recalcitrantes seletivamente preservadas que se tornam assim disponíveis para a solução do solo ao aumentar os fluxos de água, como o evento de chuva (Tadini et al., 2015a, b). Nas amostras da MOEA do tratamento M, as espécies aromáticas (arom) aumentaram de 1,7% para 5% no final da incubação.

A região hidrofóbica (H-alquil) aumentou com o tempo de incubação de 20% para 31% da área total do espectro. Esta tendência também foi observada nas amostras Can onde os compostos aromáticos atingiram 1,4% do espectro de RMN representando um aumento relativo de 75% em relação ao início da incubação. No final do período de amostragem, as espécies H-alquil das amostras Can foi de 24% da área total, o que representou um aumento relativo em torno de 212% (Tabela 2).

Outras características comuns em ambas as amostras de controle (M e Can) foram a diminuição de Cutina/MARC ao longo da incubação (Tabela 2), o que pode ter afetado o aumento relativo encontrado para a região Carb nos espectros de RMN das amostras Can.

A adição dos resíduos orgânicos alterou ligeiramente as características encontradas nas amostras de M e Can dependendo das entradas da MO. Após 30 dias de incubação, a área relativa dos derivados de N (Carb) mostrou uma diminuição acentuada nas amostras de MRC e CanRC (Tabela 2). No intervalo de amostragem correspondente, uma manutenção constante e um leve aumento desses componentes biodisponíveis foram encontrados nas amostras CanSM e MSM, respectivamente, confirmando assim o comportamento encontrado nas amostras MSM na liberação de NTD e nos espectros de DRIFT.

Tabela 2. Distribuição das frações de hidrogênio na matéria orgânica extraível com água (MOEA) extraída dos Argissolos de mata (M) e sob cultivo de cana-de-açúcar (Can), com adição de serrapilheira de mata (SM) e resíduos da colheita de cana-de-açúcar (RC) em diferentes tempos de incubação, de acordo com espectroscopia de RMN de ^1H no estado líquido

| Tempo de incubação (dias) | Aromáticos | Carboidratos | Moléculas alílicas ricas em carboxila (MARC) | Aquil |
|---|-------------------------|-------------------------|--|-----------------------------|
| | (Arom) 6,5 – 8,4 ppm | (Carb) 3,2 – 4,5 ppm | (Cutina/MARC) 1,6 – 3,2 ppm | (H-alquil) 0,6 – 1,6 ppm |
| Solo de mata (M) | | | | |
| 0 | 1,7 | 30,1 | 48,3 | 19,9 |
| 15 | 1,8 | 36,7 | 34,3 | 27,2 |
| 30 | 3,5 | 46,0 | 28,0 | 22,5 |
| 90 | 5,0 | 28,4 | 35,6 | 31,0 |
| Solo sob cultivo de cana-de-açúcar (Can) | | | | |
| 0 | 0,8 | 23,0 | 68,5 | 7,7 |
| 15 | 4,0 | 41,4 | 26,1 | 28,5 |
| 30 | 2,2 | 49,5 | 23,9 | 24,4 |
| 90 | 1,4 | 44,0 | 30,7 | 23,9 |
| Solo de mata com adição de resíduos de cana-de-açúcar (MRC) | | | | |
| 0 | 3,1 | 51,4 | 23,1 | 22,4 |
| 15 | 2,0 | 42,9 | 27,9 | 27,2 |
| 30 | 1,1 | 53,3 | 25,1 | 20,5 |
| 90 | 4,4 | 38,8 | 30,5 | 26,3 |
| Solo de mata com adição de serrapilheira de mata (MSM) | | | | |
| 0 | 2,9 | 31,1 | 30,8 | 35,2 |
| 15 | 2,1 | 36,7 | 31,4 | 29,8 |
| 30 | 1,4 | 45,6 | 28,8 | 24,2 |
| 90 | 2,2 | 43,1 | 31,1 | 23,6 |
| Solo sob cultivo de cana-de-açúcar com serrapilheira de mata (CanSM) | | | | |
| 0 | 4,3 | 40,6 | 27,3 | 27,8 |
| 15 | 2,2 | 39,8 | 29,5 | 28,5 |
| 30 | 2,0 | 42,6 | 26,8 | 28,6 |
| 90 | 1,0 | 42,0 | 32,9 | 24,1 |
| Solo sob cultivo de cana-de-açúcar com resíduos de cana-de-açúcar (CanRC) | | | | |
| 0 | 2,7 | 55,9 | 20,6 | 20,8 |
| 15 | 1,7 | 30,2 | 45,5 | 22,6 |
| 30 | 3,6 | 50,1 | 24,9 | 21,4 |
| 90 | 1,0 | 45,5 | 34,8 | 18,7 |

Ambas as frações da MOEA das amostras M com adição de resíduos apresentaram uma inclusão progressiva de frações aromáticas durante o período de incubação. Todas as amostras que receberam a adição de resíduos, foram caracterizadas com preservação de compostos apolares de alquil, após 15 dias de incubação (Tabela 2). A este respeito, deve-se considerar que uma fração de compostos alifáticos recalcitrantes pode ser incorporada nas chamadas regiões de MARC (Perminova et al., 2018), que também foi caracterizada por rendimentos relativos estáveis ou aumento em todas as amostras que receberam a adição de resíduos (Tabela 2). Esta fração está geralmente associada a componentes orgânicos alifáticos dissolvidos menos decomponíveis em pools de COD de diferentes fontes (Hertkorn, et al., 2006; Cao et al., 2018).

A tendência geral das alterações da MOEA é elucidada pelo cálculo da razão de intensidade nos espectros de DRIFT entre os estiramentos de CH_2 no intervalo de $2950\text{-}2850\text{ cm}^{-1}$ e as ligações C-O das frações de carboidratos na faixa de $1000\text{-}1100\text{ cm}^{-1}$ (Fig. 7). O valor da razão de DRIFT com o tempo de incubação revelou um aumento linear para todas as amostras de Can, enquanto os dados das amostras M (controle) e com a adição da serrapilheira (MSM) mostraram um aumento progressivo seguido por uma estabilização (Fig. 7).

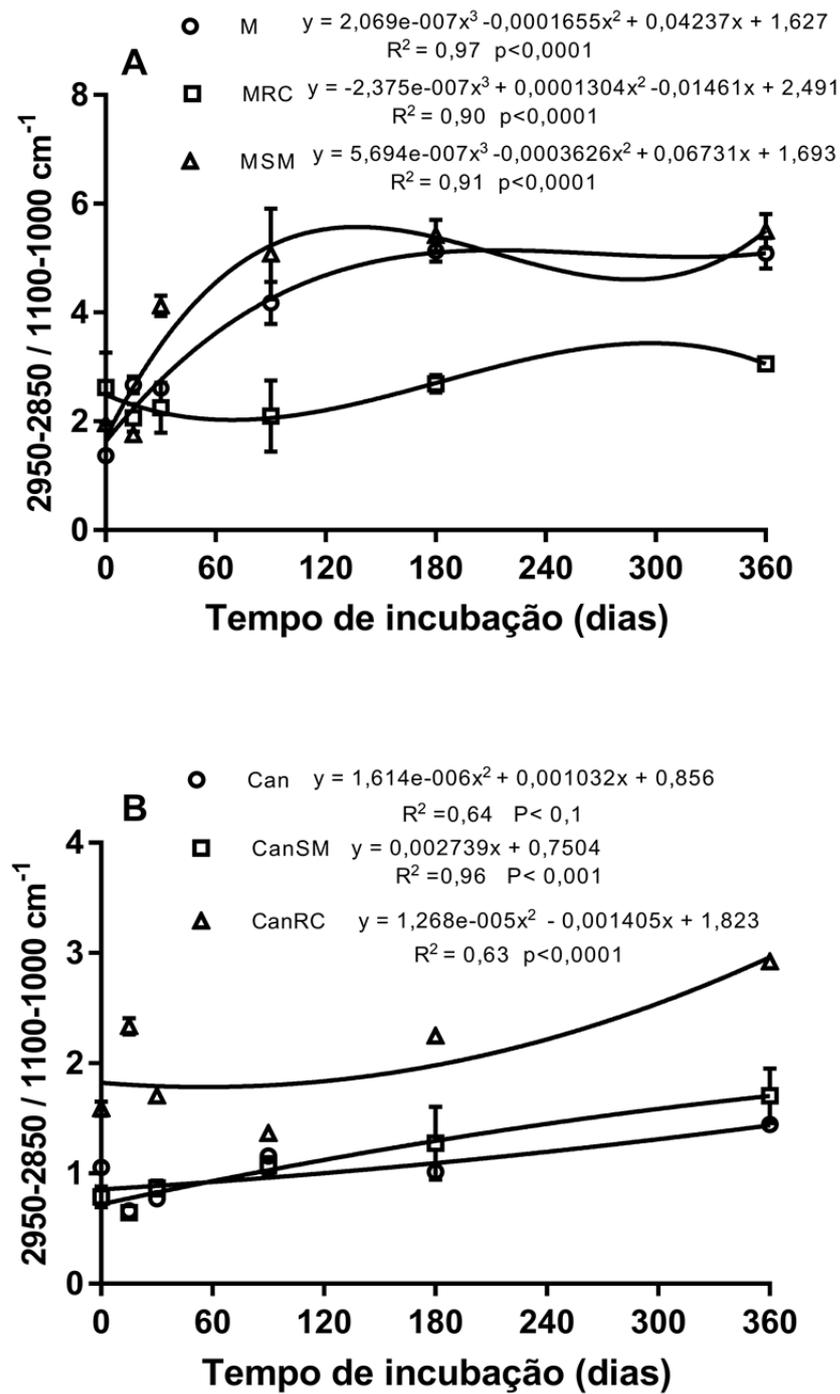


Figura 7. Índice de hidrofobicidade obtido a partir da razão de 2950-2850 cm⁻¹ / 1100-1000 cm⁻¹ de espectros de DRIFT de Argissolo com diferentes resíduos. A: Solo da mata (M) com adição de resíduos de colheita de cana-de-açúcar (MRC) ou de serrapilheira da mata (MSM). B: Solo sob cultivo de cana-de-açúcar (Can) com a adição de serrapilheira de mata (CanSM) ou resíduos de cultura da cana-de-açúcar (CanRC).

4. DISCUSSÃO

As análises do COD e do NTD indicaram que a dinâmica geral da MOEA foi impulsionada principalmente pelas condições herdadas dos solos incubados e parcialmente afetada pela qualidade dos insumos da MO, com uma evolução de rendimento semelhante e correspondência progressiva do conteúdo final de C e N dissolvidos encontrados nos diferentes tratamentos em cada tipo de solo. A evolução quantitativa do COD e NTD durante o período de incubação destacou o papel da comunidade microbiana (Paul, 2016). Na verdade, o comportamento das frações de carbono dissolvidas pode estar associado a uma liberação inicial favorável e subsequente degradação dos componentes biodisponíveis.

A adição dos resíduos de cana-de-açúcar pode ter impulsionado as biomassas microbianas a utilizarem insumos mais facilmente acessíveis a base de celulose, nos tratamentos MRC e CanRC, promovendo assim um rápido aumento do carbono orgânico dissolvido, seguido por uma diminuição subsequente no primeiro período de incubação em ambos os solos (Fig. 2). Além disso, a dinâmica dos componentes do N dissolvido foi diferenciada principalmente pelo tipo de solo e, em segundo lugar, pelos insumos orgânicos.

Como observado anteriormente, a maior quantidade de componentes orgânicos biodegradáveis dos solos florestais e a biomassa microbiana herdada, podem explicar o padrão diferente de NTD nas amostras do solo da mata, o aumento da concentração de nitrogênio dissolvido ocorre na maioria das espécies de serrapilheira (Berg e McClaugherty, 2020). Sugere-se que concentrações elevadas de nitrogênio tenham uma influência de retardo na taxa dos processos de decomposição, devido ao desenvolvimento de moléculas novas e estáveis menos biodecomponíveis ou complexos recalcitrantes contendo N que impedem a decomposição posterior (Berg e McClaugherty, 2020). Por outro lado, os valores atípicos de NTD nas amostras de MRC podem ser devido ao menor teor de N disponível nos resíduos de cana-de-açúcar em relação ao solo da mata e a serrapilheira (Tabela 1), o que pode ter promovido uma imobilização de N e uma menor liberação de componentes de N dissolvidos. Com o declínio progressivo dos derivados de N e C biodisponíveis e a preservação de estruturas menos biodisponíveis, o equilíbrio entre o crescimento microbiano e a morte é alcançado

no final da incubação para cada tratamento do solo.

As técnicas de DRIFT (Figuras 3 e 4) e de RMN de ^1H (Figuras 5 e 6, Tabela 2), indicaram alterações moleculares compartilhadas nas composições da MOEA. A principal discordância entre as duas técnicas de espectroscopia foi relacionada às características aromáticas dos extratos da MOEA. Na verdade, a espectroscopia de DRIFT mostrou uma área bem resolvida entre 900 e 400 cm^{-1} , muitas vezes atribuída à presença de deformações de C-H nos anéis aromáticos em amostras de MOS. No entanto, apesar da presença clara desta região no DRIFT, os sinais de ressonância devido aos prótons aromáticos ($6,5$ - $8,0$ ppm) foram insignificantes. Uma possível explicação técnica para tal resposta é representada pela contribuição de impurezas inorgânicas nas regiões de DRIFT ou pelos tempos de relaxamento de RMN relativamente mais longos das frações aromáticas, cuja detecção pode ser drasticamente prejudicada pelos parâmetros de aquisição de RMN.

As principais alterações detectadas por ambas as metodologias na composição das frações da MOEA (Figuras 3-6) foram relacionadas à diminuição progressiva dos compostos biodisponíveis e à preservação das moléculas alquílicas hidrofóbicas. A redução nas intensidades das ligações C-O de grupos hidrofílicos nos espectros de DRIFT das amostras da MOEA podem ser devido a uma decomposição seletiva dos carboidratos mais facilmente degradáveis (Pimentel et al., 2019) combinada com a ocorrência de uma possível complexação de grupos funcionais polares hidrofílicos com as superfícies minerais (Nuzzo et al., 2020).

A análise de sinais de DRIFT relacionados às moléculas alquil hidrofóbicas e compostos hidrofílicos tem sido amplamente utilizada para detectar as mudanças moleculares associadas à transformação de materiais orgânicos naturais (Spaccini e Piccolo, 2008; Tadini et al., 2015b; Nuzzo et al., 2020).

Poucos estudos estão disponíveis atualmente sobre a dinâmica do COD em solos tropicais cultivados (Gmach et al., 2020). Em um estudo anterior focado no efeito dos resíduos da cana-de-açúcar, os autores não observaram mudanças significativas na dinâmica do COD ao longo do tempo na camada superior do solo (0 - $0,20$ m), quando a palha da cana-de-açúcar foi removida da superfície do solo (Sousa Júnior et al., 2018). Porém, verificou-se que quando os resíduos da cultura foram preservados ou adicionados, o COD apresentou uma ciclagem mais rápida no solo, sofrendo diminuição após eventos de chuva.

Alterações baseadas em resíduos coletados da superfície do solo e a liberação resultante da MOD facilmente biodegradável por resíduos de plantas, induzem claramente o crescimento microbiano (De Troyer et al., 2011, Guenet et al., 2012). Além disso, Sousa Júnior et al. (2018) observaram uma transferência rápida e espontânea de carbono dos resíduos da colheita para o COD usando rastreamento isotópico ^{13}C . Os autores observaram que a aplicação de maior quantidade de resíduos culturais (20 Mg ha^{-1}) na superfície do solo transferiu cerca de 50% do ^{13}C para a fração do COD. A investigação da variação sazonal do COD na área de cultivo da cana-de-açúcar apontou a preservação seletiva de moléculas hidrofóbicas em substâncias húmicas aquáticas (Tadini et al., 2015a, b). Além disso, foi apontado que a eficiência com que os microrganismos do solo utilizam a matéria orgânica depende da temperatura e da qualidade do substrato, e essa eficiência diminui com o aumento da temperatura para os substratos mais recalcitrantes, que são a maioria das condições pedoclimáticas brasileiras (Frey et al., 2013).

A interação da MOEA com as superfícies minerais é geralmente descrita por uma adsorção de espessamento sequencial em que os solutos orgânicos hidrofóbicos desempenham um papel importante na estabilização da fase orgânica multicamadas (Kleber et al., 2007; Gao et al., 2020).

A repartição de compostos apolares da MOD é ainda maior com as superfícies de baixa carga de óxidos de Fe, Al e argila caulinita, que são os componentes minerais típicos dos Argissolos (Specht et al., 2000; Schwarzembach et al., 2003; Mitchell et al., 2019; Zhao et al., 2020). Essas descobertas são compatíveis com o perfil químico obtido com as espectroscopias de DRIFT e de RMN de ^1H , que revelaram uma transferência imediata de espécies C e H da serrapilheira e resíduos de cana-de-açúcar no início da incubação (Figuras 3, 4, 5 e 6).

As dinâmicas do COD e NTD foram caracterizadas por transformações rápidas e acentuadas aos 15 e 30 dias de incubação. Após três meses, apenas pequenas mudanças foram observadas, sugerindo assim a obtenção de uma estabilização química, correlacionada com um aumento na hidrofobicidade da MOEA.

5. CONCLUSÕES

A dinâmica da MOEA foi caracterizada por uma rápida transformação na fase inicial de incubação com uma influência diferencial do tipo de resíduo orgânico aplicado ao solo da mata e sob cultivo de cana-de-açúcar. No entanto, a composição nativa da MO derivada do uso do solo e seu legado microbiológico direcionaram a dinâmica da MOEA.

As análises espectroscópicas de DRIFT e de RMN apontaram mudanças moleculares semelhantes na composição dos extratos da MOEA. A técnica de DRIFT produziu resultados semelhantes aos obtidos por espectroscopia de RMN de ^1H , com exceção das espécies aromáticas. Uma vez que esses componentes hidrofóbicos não foram utilizados para avaliar a hidrofobicidade por meio dos espectros de DRIFT, os resultados indicaram o uso potencial da análise de DRIFT no acompanhamento das mudanças químicas da MOEA relacionadas ao uso do solo e de insumos orgânicos.

A caracterização molecular sugeriu que a estabilização da composição da MOEA está relacionada ao aumento progressivo do caráter hidrofóbico das frações da MOD. Esta descoberta pode ter implicações significativas para as questões ambientais e abordagens agrícolas nas interações MOS-planta.

A espectroscopia de DRIFT pode, portanto, ser aplicada como um método rápido e útil para acompanhar a dinâmica da MOEA no ciclo do C de solos tropicais com a adição de diferentes resíduos, bem como para apoiar o manejo seletivo do solo com alterações orgânicas na remediação do solo ou em práticas agronômicas sustentáveis.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguiar, N.O., Novotny, E.H., Oliveira, A.L., Rumjanek, V.M., Olivares, F.L., Canellas, L.P. (2013) Prediction of humic acids bioactivity using spectroscopy and multivariate analysis. *Journal of Geochemical Exploration*, 129, 95-102.

- Berg, B., McClaugherty, C. (2020) Plant Litter Decomposition, Humus Formation, Carbon Sequestration 4th edition: © *Springer Nature Switzerland*.
- Bu, X., Han, F., Ruan, H., Zhu, L. (2014) Changes in chemical composition and spectral characteristics of dissolved organic matter from soils induced by biodegradation. *Soil Science*, 179 (4), 197-204 doi: 10.1097/SS.0000000000000057.
- Cao, X., Aiken, G.R., Butler, K.D., Mao, J., Schmidt-Rohr, K. (2018) Comparison of the Chemical Composition of Dissolved Organic Matter in Three Lakes in Minnesota. *Environmental Science and Technology*, 52, 1747-1755 doi:10.1021/acs.est.7b04076.
- Capriel, P., Beck, T., Borchert, H., Gronholz, J., Zachmann, G., (1995) Hydrophobicity of the organic matter in arable soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 27, 1453–1458.
- Capriel, P., (1997) Hydrophobicity of the organic matter in arable soils: influence of management. *European Journal of Soil Science*, 48, 457–462.
- Chantigny, M.H., (2003) Dissolved and water-extractable organic matter in soils: a review on the influence of land use and management practices. *Geoderma*, 113: 357-380.
- Chilom, G., Bruns, A.S., Rice, J.A., (2009) Aggregation of humic acid in solution: contribution of different fractions. *Organic Geochemistry*, 40, 455-460 doi: 10.1016/j.orggeochem.2009.01.010.
- Dal Ferro, N., Berti, A., Francioso, O., Ferrari, E., Matthews, G.P., Morari, F. (2012) Investigating the effects of wettability and pore size distribution on aggregate stability: The role of soil organic matter and the humic fraction. *European Journal of Soil Science*, 63, 152-164.
- De Troyer, I., Amery, F., Van Moorlehem, C., Smolders, E., Merckx, R. (2011) Tracing the source and fate of dissolved organic matter in soil after incorporation of a ¹³C labelled residue: a batch incubation study. *Soil Biology and Biochemistry* 43: 513–519.
- Fox, C.A., Abdulla, H.A., Burdige, D.J., Lewicki, J.P., Komada, T. (2018) Composition of dissolved organic matter in pore waters of anoxic marine sediments analyzed by ¹H nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Frontiers in Marine Science*, 5.172.

- Frey, S.D., Lee, J., Melillo, J.M., Six J. (2013) The temperature response of soil microbial efficiency and its feedback to climate. *Nature Climate Change*, 3, 395-398 doi: 10.1038/nclimate1796.
- Gao, J., Mikutta, R., Jansen, B., Guggenberger, G., Vogel, C., Kalbitz, K. (2020) The multilayer model of soil mineral–organic interfaces—a review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 183 (1), 27-41. Doi:10.1002/jpln.201900530.
- Gmach, M.R., Cherubin, M.R., Kaiser, K., Cerri, C.E.P. (2020) Processes that influence dissolved organic matter in the soil: a review. *Scientia Agricola*, 77: 3.
- Guenet, B., Juarez S., Bardoux G., Abbadie L., Chenu, C. (2012) Evidence that stable C is as vulnerable to priming effect as is more labile C in soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 52, 43-48 doi:10.1016/j.soilbio.2012.04.001.
- Hertkorn, N., Benner, R., Frommberger, M., Schmitt-Kopplin, P., Witt, M., Kaiser, K., Kettrup, A., Hedges, J. I. (2006) Characterization of a Major Refractory Component of Marine Dissolved Organic Matter. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 70, 2990–3010 10.1016/j.gca.2006.03.021.
- Jones, D.L., Simfukwe, P., Hill, P.W., Mills, R.T.E., Emmett, B.E. (2014) Evaluation of dissolved organic carbon as a soil quality indicator in national monitoring schemes. *PLoS ONE* 9(3): e90882. doi:10.1371/journal.pone.0090882.
- Kaiser, K., Guggenberger, G., Haumaier, L., Zech, W. (2001) Seasonal variations in the chemical composition of dissolved organic matter in organic forest floor layer leachates of old-growth Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) and European beech (*Fagus sylvatica* L.) stands in northeastern Bavaria, Germany. *Biogeochemistry* 55, 103–143. doi: 10.1023/A:1010694032121.
- Kaiser, K., Kalbitz, K. (2012) Cycling downwards: dissolved organic matter in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 52: 29-32.
- Kindler, R., Siemens, J., Kaiser, K., Walmsley, D.C., Bernhofer, C., Buchmann, N., Cellier, P., Eugster, W., Gleixner, G., Grunwald, T., Heim, A., Ibrom, A., Jones, S.K., Jones, M., Klumpp, K., Kutsch, W., Larsen, K.S., Lehuger, S., Loubet, B., Mckenzie, R., Moors, E., Osborne, B., Pilegaard, K., Reibmann, C., Saunders, M., Schmidt, M.W.I., Schrumpp, M., Seyfferth, J., Skiba, U., Soussana, J.F., Sutton, M.A., Tefs, C., Vowinckel, B., Zeeman, M.J., Kaupenjohann, M. (2011) Dissolved carbon leaching from soil is a crucial component of the net ecosystem carbon balance. *Global Change Biology*, 17: 1167–1185.

- Kleber, M., Sollins P., Sutton R. (2007) A conceptual model of organo-mineral interactions in soils: self-assembly of organic molecular fragments into zonal structures on mineral surfaces. *Biogeochemistry* 85: 9-24. doi: 10.1007/s10533-007-9103-5.
- Mitchell, P., Simpson, A., Soong, R., Simpson, M., (2018) Nuclear magnetic resonance analysis of changes in dissolved organic matter composition with successive layering on clay mineral surfaces. *Soil Systems*, 2, 8 doi.org/10.3390/soils2010008.
- Mitchell, S. L., Hudson-Smith, N.V, Cahill, M.S., Reynolds, B.N., Frand, S.D., Green, C.M., Wang, C., Hang, M.N., Hernandez, R.T., Hamers, R.J., Feng, Z.V., Haynes, C.L., Carlson, E.E. (2019) Chronic Exposure to Complex Metal Oxide Nanoparticles Elicits Rapid Resistance in *Shewanella oneidensis* MR-1. *Chemical Science*. Issue, 42. doi:10.1039/c9sc01942a
- Monda, H., Cozzolino, V., Vinci, G., Spaccini, R., Piccolo, A. (2017) Molecular characteristics of water-extractable organic matter from different composted biomasses and their effects on seed germination and early growth of maize. *Science of The Total Environment*, 590-591, 40–49.
- Nasonova, A., Levy, G.J., Borisover, M. (2020) Bulk and water-extractable organic matter from compost: evaluation of the selective dissolution in water using infrared absorbance ratios. *Environmental Science and Pollution Research*, 27, 42644-42655 doi.org/10.1007/s11356-020-10153-z.
- Nebbioso, A., Piccolo, A. (2013) Molecular characterization of dissolved organic matter (DOM): a critical review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 405:109–124.
- Nuzzo, A., Buurman, P., Cozzolino, V., Spaccini, R. , Piccolo, A. (2020) Infrared spectra of soil organic matter under a primary vegetation sequence. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*. 7:6.
- Paul, E.A. (2016) The nature and dynamics of soil organic matter: Plant inputs, microbial transformations, and organic matter stabilization. *Soil Biology & Biochemistry*, 98, 109-126 dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.04.001.
- Perminova, I.V., Shirshin, E.A., Konstantinov, A.I., Zhrebker, A., Lebedev, V.A., Dubinenkov, I.V., Kulikova, N.A., Nikolaev, E.N., Bulygina, E., Holmes, R.M. (2018) The Structural Arrangement and Relative Abundance of Aliphatic Units May Effect Long-Wave Absorbance of Natural Organic Matter as Revealed by

- ¹H NMR Spectroscopy. *Environmental Science and Technology*, 52, 12526-12537 doi: 10.1021/acs.est.8b01029.
- Pimentel, L.G., Barreto, M.S.C., Silva Oliveira, D.M., Cherubin, M.R., Demattê, J.A.M., Cerri, C.E.P., Cerri, C.C. (2019) Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform (DRIFT) spectroscopy to assess decomposition dynamics of sugarcane straw. *BioEnergy Research*, 12(4), 909-919 doi.org/10.1007/s12155-019-10024-7
- Roth, V.N., Lange, M., Simon, C., Hertkorn, N., Bucher, S., Goodall, T., Griffiths, R.I., Mellado-Vazquez, P.G., Mommer, L., Oram, N.J., Weigelt, A., Dittmar, T., Gleixner, G. (2019) Persistence of dissolved organic matter explained by molecular changes during its passage through soil. *Nature Geoscience*, 12, 755–761.
- Schwarzenbach, R.P., Gschwend, P.M., Imboden D.M. (2003a) Sorption III: Sorption Processes Involving Inorganic Surfaces In: R-P. Schwarzenbach, P.M., Gschwend, D.M. Imboden (Eds.) *Environmental Organic Chemistry*, (2nd ed): (p 387-458) John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.
- Schwarzenbach, R.P., Gschwend, P.M., Imboden, D.M. (2003b) Sorption I: General Introduction and Sorption Processes Involving Organic Matter. In: R-P. Schwarzenbach, P.M. Gschwend, D.M. Imboden (Eds.) *Environmental Organic Chemistry* (2nd ed): (p 275-330) John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.
- Silva, G.C., Nascimento, M.T. (2001) Fitossociologia de um remanescente de mata sobre tabuleiros no norte do estado do Rio de Janeiro (Mata do Carvão). *Revista Brasileira de Botânica*, 24:51–62.
- Song, X.Y., Spaccini, R., Piccolo, A., Pan, G.X. (2013) Stabilization by hydrophobic protection as a molecular mechanism for organic carbon sequestration in maize amended rice paddy soils. *Science of the Total Environment*, 458(460), 319–30 doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.04.052.
- Sousa Junior, J.G.A., Cherubin, M.R., Oliveira, B.G., Cerri, C.E.P., Cerri, C.C., Feigl, B.J. (2018) Three-year soil carbon and nitrogen responses to sugarcane straw management. *BioEnergy Research*, 11: 249-261.
- Spaccini, R., Piccolo A. (2008) Spectroscopic Characterization of Compost at Different Maturity Stages. *Clean*, 36 (2), 152 – 157.

- Specht, C.H., Kumke, M.U., Frimmel, F.H. (2000) Characterization of NOM Adsorption To Clay Minerals By Size Exclusion Chromatography. *Water Research*, 34, 4063-4069 doi: 10.1016/S0043-1354(00)00148.
- Sun, J., Drosos, M., Mazzei, P., Savy, D., Todisco, D., Vinci, G., Pan, G., Piccolo, A. (2017) The molecular properties of biochar carbon released in dilute acidic solution and its effects on maize seed germination. *The Science of the Total Environment*, 576, 858-867.
- Tadini, A.M., Pantano, G., de Toffoli, A.L., Fontaine, B., Spaccini, R., Piccolo, A., Moreira, A.B., Bisinoti, M.C. (2015a) Off-line TMAH-GC/MS and NMR characterization of humic substances extracted from river sediments of northwestern São Paulo under different soil uses. *The Science of the Total Environment*, 506-507, 234-24. dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.11.012.
- Tadini, A.M., Constantino, I.C., Nuzzo, A., Spaccini, R., Piccolo, A., Moreira, A.B., Bisinoti, M.C. (2015b) Characterization of typical aquatic humic substances in areas of sugarcane cultivation in Brazil using tetramethylammonium hydroxide thermochemolysis. *Science of the Total Environment*, 518-519, 201-208. dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.02.103.
- Ye, Q., Wang, Y.H., Zhang, Z.T., Huang, W.L., Li, L.P., Li, J., Liu, J., Zheng, Y., Mo, J.M., Zhang, W., Wang, J.J. (2020) Dissolved organic matter characteristics in soils of tropical legume and non-legume tree plantations. *Soil Biology & Biochemistry*, 148: 107880.
- Zhao, Q., Callister, S.J., Thompson, A.M., Kukkadapu, R.K., Tfaily, M.M., Bramer, L.M., Qafoku, N.P., Hofmockel, K.S. (2020) Strong mineralogic control of soil organic matter composition in response to nutrient addition across diverse grassland sites. *Science of the Total Environment*, 736, art. no. 137839 doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137839.
- Zhou, P., Pan, G.X., Spaccini, R., Piccolo, A. (2010) Molecular changes in particulate organic matter (POM) in a typical Chinese paddy soil under different long-term fertilizer treatments. *European Journal of Soil Science*, 61, 231–242 doi: 10.1111/j.1365-2389.2009.01223.x.
- Zsolnay, A. (1996) Dissolved humus in soil waters. In: Piccolo, A. (Ed.), *Humic Substances in Terrestrial Ecosystems*. Elsevier, Amsterdam, p. 171– 223.

3.2 MUDANÇAS NA COMPOSIÇÃO DE $\delta^{13}\text{C}$ DA MATÉRIA ORGÂNICA EXTRAÍVEL COM ÁGUA DE SOLOS TROPICAIS ALTAMENTE INTEMPERIZADOS COM ADIÇÃO DE DIFERENTES RESÍDUOS ORGÂNICOS

RESUMO

Nos solos altamente intemperizados das regiões tropicais, a maior parte da matéria orgânica do solo (MOS) é formada por frações insolúveis imobilizadas nas superfícies dos minerais. A alta produtividade primária e biodiversidade da Mata Atlântica e cem anos de cultivo contínuo da cana-de-açúcar sem adubos corretivos mostram a importância da decomposição rápida da serrapilheira e da matéria orgânica dissolvida (MOD) para o fornecimento de nutrientes disponíveis para as plantas. Os resultados sobre a dinâmica da MOD são escassos na literatura, principalmente em condições tropicais. O objetivo do trabalho foi avaliar a variação de $\delta^{13}\text{C}$ (‰) no solo e na matéria orgânica extraível com água (MOEA), em função da adição de diferentes resíduos orgânicos em um Argissolo Amarelo Coeso Típico, coberto por floresta tropical nativa e sob cultivo de cana-de-açúcar, incubados com diferentes resíduos orgânicos. Foi realizado um experimento de incubação em condições de laboratório utilizando a camada superficial (0-10 cm) de Argissolo coletado em fragmento de Mata Atlântica e em local adjacente com monocultura contínua de cana-de-açúcar. A serrapilheira da mata foi adicionada ao solo sob cultivo de cana-de-açúcar e resíduos da colheita de cana-de-açúcar no solo da

mata na mesma proporção (10 mg C g⁻¹ solo). A abundância natural de ¹³C (δ¹³C) da MOS e da MOEA, foi acompanhada durante um ano. Foi observado que 18% e 33% da MOS do solo da mata e sob cultivo de cana-de-açúcar, foram derivados de palha e serrapilheira, respectivamente após 365 dias. Em contraste com experimentos de incubação usando solos temperados, a contribuição dos resíduos orgânicos para MOEA foi significativa durante todo o tempo de incubação e mais dependente do microbioma nativo das amostras de solo do que a qualidade dos resíduos orgânicos medidos pela razão C / N. Os resíduos da colheita da cana-de-açúcar com relação C / N alta atingiram 20% do carbono orgânico total da MOEA do solo da mata. Por outro lado, a serrapilheira da mata com relação C / N baixa foi menos incorporada à MOEA do solo sob cultivo de cana-de-açúcar durante a incubação (12%). Ao final de 365 dias de incubação, a adição de resíduos orgânicos promoveu uma contribuição significativa para o carbono orgânico da MOEA, constituindo uma fração altamente móvel e reativa da matéria orgânica do solo.

ABSTRACT

The vast majority of soil organic matter in highly weathered soils from tropical regions is formed by insoluble fractions immobilized within mineral surface. However, the high forest diversity and hundred years of continuous sugar cane cultivation without fertilizers amendments show the importance of fast litter decomposition and dissolved organic matter (DOM) for provision of plant-available nutrients. The results about the dynamics of DOM remain scarce in the literature, especially in tropical conditions. The objective of the work was to evaluate the variation of δ ¹³C (‰) in the soil and in the water extractable organic matter (WEOM), derived from different organic residues of a Typical Cohesive Yellow Argisol, covered by native tropical forest and under sugar cane cultivation. sugar, incubated with different organic residues we carried out in laboratory conditions a long-time incubation experiment with top layer (0-10 cm) from Ultisol collected in the conserved fragment of Atlantic Forest and in an adjacent site with continuous sugar cane monoculture. The forest

litter was amended to sugar cane soil and sugar cane straw in the forest soil at the same rate (10 mg C g⁻¹ soil) and the natural abundance of C isotopic composition ($\delta^{13}\text{C}$) of soil organic matter and water extractable organic matter (WEOM) were followed during one year. It was observed that 18% and 33% of the SOM of the forest soil and under sugar cane cultivation were derived from straw and litter, respectively after 365 days. In contrast with previous incubation experiment using temperate soils the contribution of organic residues to WEOM was significant during all incubation time and more dependent of indigenous microbiome of soil samples than the quality of organic residues measured by C/N ratio. The sugar cane straw with high C/N ratio reached 20% of total organic carbon of WEOM from forest soil. In another hand, the forest litter with low C/N ratio was less incorporated to WEOM from sugar cane soil during incubation (12%). At the end of 365 days of incubation organic amendment had important and significant contribution to organic carbon of WEOM constituting a fraction highly mobile and reactive fraction of soil organic matter.

1. INTRODUÇÃO

O crescimento e a biodiversidade das matas em regiões tropicais altamente intemperizadas contrastam com os solos de baixa fertilidade natural e conteúdo de carbono (C) (Gianm, 2017). A importância da matéria orgânica do solo (MOS) para a produtividade agrícola é reconhecida há muito tempo. A plantação colonial de cana-de-açúcar foi o principal motor econômico do Brasil no passado. Hoje, esse motor é operado por agronegócios que produzem *commodities* no Cerrado e nos solos florestais, promovendo a degradação da terra, perda de biodiversidade e restrições sociais (Fearnside, 2001). Compreender a natureza química e a dinâmica da MOS é fundamental para a restauração de ecossistemas degradados e destruídos e aumentar a segurança alimentar, o abastecimento de água e a biodiversidade.

A maior parte da MOS em solos tropicais altamente intemperizados é fortemente adsorvida aos colóides minerais do solo e não é extraída em meio

aquoso ácido ou alcalino (Mendonça e Rowell, 1996). Apenas uma pequena fração é formada por matéria orgânica dissolvida (MOD). A MOD geralmente corresponde a menos de 2% da MOS, mas é considerado muito sensível, devido à sua alta solubilidade e taxa de rotatividade (Chantigny et al., 2014). Praticamente todos os resíduos vegetais que chegam à superfície do solo são consumidos em dois ou três meses devido à rápida decomposição (Krull et al., 2002; Fujii et al., 2020). Apesar da extrema importância da MOD para a função de produção do solo e dos serviços ambientais (Kindler et al., 2011), os resultados sobre sua dinâmica permanecem escassos em condições tropicais (Gmach et al., 2020).

De acordo com Nebbioso e Piccolo (2013), a MOD é uma mistura complexa de milhares de compostos orgânicos. Uma parte dela é constituída pela matéria orgânica extraível com água (MOEA) definida operacionalmente como a fração da MOD liberada pela extração de amostras de solo com solução aquosa sob agitação e que passam através de filtro com poro de 0,45 μm (Zsolnay, 1996). A natureza química da MOEA pode ser analisada por métodos espectroscópicos (Roth et al., 2019; Ye et al., 2020), mas a ciclagem da matéria orgânica do solo pode ser melhor acompanhada pela mudança na composição de isótopos estáveis de carbono ^{13}C (Bonde et al., 1992; Balesdent e Mariotti, 1996). A análise da abundância natural de isótopo de carbono 13 ($\delta^{13}\text{C}$) é um método direto que avalia a via fotossintética das plantas superiores terrestres (Farquhar et al., 1989), permitindo discriminar a origem de C de espécies de plantas C4-C3 e, conseqüentemente sua incorporação nas frações da MOS (Bernoux et al., 1998).

Cleveland et al. (2004) não observaram alterações na assinatura $\delta^{13}\text{C}$ da MOD durante sua decomposição, sugerindo que o fracionamento isotópico não é um processo significativo. Os microrganismos do solo decompõem preferencialmente moléculas orgânicas mais lábeis no grupo da MOD, que também tendem a ser isotopicamente mais pesadas do que as frações da MOD mais recalcitrantes (Cleveland et al., 2004). De Troyer et al. (2011) verificaram em um experimento de incubação com palha de milho marcada com ^{13}C um efeito significativo na liberação da MOD autóctone, concluindo que a maioria da MOD foi proveniente da MOS. De acordo com Gmach et al. (2020), apesar do interesse crescente e linear da literatura científica sobre a MOD existem poucos estudos em solos tropicais. Foi encontrado apenas um estudo considerando a composição isotópica da MOD em solos tropicais nas principais bases de dados (Web of

Science, Scopus, Scielo e google scholar). Sousa Júnior et al. (2018) acompanharam durante três anos o manejo dos resíduos da cana-de-açúcar e observaram uma decomposição mais rápida da palha nos primeiros 45 dias, com uma pequena, mas importante porção de C derivado da palha entrando no solo como carbono orgânico dissolvido (COD). Além disso, a contribuição do C derivado da palha (C-C4) para o C total do solo aumenta com o tempo e ocorre preferencialmente na fração da matéria orgânica associada aos minerais de argila do solo.

O objetivo desse trabalho foi analisar a distribuição de $\delta^{13}\text{C}$ (‰) na MOEA obtida da camada superficial de um Argissolo Amarelo Distrocoeso típico, coletado em um fragmento conservado de Mata Atlântica e em uma área adjacente com monocultura de cana-de-açúcar por mais de 30 anos, no norte do estado do Rio de Janeiro, Brasil, em um experimento de incubação, no qual resíduos de colheita da cana-de-açúcar e da serrapilheira foram adicionados aos solos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Análises do solo e da MOEA

A descrição do local, amostragem de solo, incubação e a obtenção da MOEA foram previamente descritas no capítulo 1. As características dos solos e dos resíduos utilizados no experimento são descritas na Tabela 1. As amostras dos solos de mata (M) e sob cultivo de cana-de-açúcar (Can), com e sem a adição dos resíduos de cana-de-açúcar (RC) e serrapilheira (SM), foram coletadas nos tempos 0, 15, 30, 90, 180 e 360 dias, secas em estufa com circulação forçada a 60° C e peneiradas em malha de 0,125 mm. As amostras da MOEA coletadas nos mesmos tempos foram liofilizadas. Em seguida as amostras foram devidamente pesadas em triplicata em cápsulas de estanho contendo 10 mg e 4 mg de amostras de solo e MOEA, respectivamente, e submetidas a análise da composição elementar e isotópica do Carbono e do Nitrogênio em um Espectrômetro de Massa Isotópica

Thermo Finnigan Delta V Advantage acoplado ao Analisador Elementar Flash 2000 (Organic elemental analyzer - Thermo Scientific). A abundância natural isotópica foi calculada a partir do padrão *Pee Dee Belemnita* (PDB). O $\delta^{13}\text{C}$ das amostras foi determinado pela equação:

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}} (\text{‰}) = [(R_{\text{amostra}} - R_{\text{padrão}}) / R_{\text{padrão}}] * 1000$$

Onde: R_{amostra} é a razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ da amostra e $R_{\text{padrão}}$ é a razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ do padrão PDB. Os valores foram calculados em unidade delta por mil (‰).

Para calcular a contribuição relativa do carbono do solo e da MOEA derivada da serrapilheira de mata (SM) ou dos resíduos da cana-de-açúcar (RC), utilizou-se a equação:

$$X(\%) = [(\delta_{\text{amostra}} - \delta_{\text{inicial}}) / (\delta_{\text{resíduo}} - \delta_{\text{inicial}})] * 100$$

Onde, X é a proporção do C derivado dos resíduos, δ_{amostra} é o $\delta^{13}\text{C}$ do carbono orgânico total das amostras, δ_{inicial} é o $\delta^{13}\text{C}$ do carbono orgânico inicial do solo antes da incubação e o $\delta_{\text{resíduo}}$ é o $\delta^{13}\text{C}$ dos resíduos de planta com ciclo fisiológico C3 (serrapilheira de mata) ou C4 (resíduos da colheita de cana-de-açúcar).

As características dos solos utilizados no experimento estão descritas na Tabela 1. A composição isotópica do carbono $\delta^{13}\text{C}$ (‰) e a relação de carbono e nitrogênio (C/N) do solo e dos resíduos utilizados no experimento de incubação são descritas na Tabela 2.

Tabela 1. Características dos solos utilizados no experimento de incubação

| Propriedades do solo | Mata | Cana-de-açúcar |
|--|-------------|-----------------------|
| pH (H ₂ O) | 5,7 | 5,8 |
| CTC (cmol _c dm ³) | 16,3 | 5,1 |
| C orgânico total (%) | 5,3 | 1,6 |
| N Total (%) | 0,7 | 0,2 |
| C/N | 7,5 | 14,2 |
| Argila (%) | 19,6 | 17,6 |
| Silte (%) | 7,6 | 9,5 |
| Areia (%) | 72,8 | 72,9 |

Todos os dados são expressos em base seca (105 ° C).

Tabela 2. Composição isotópica do carbono $\delta^{13}\text{C}$ (‰) e a relação de carbono e nitrogênio (C/N) da camada superficial (0-10 cm) de Argissolo da Mata e sob cultivo de cana-de-açúcar; e da serrapilheira e resíduos da colheita de cana-de-açúcar antes da incubação

| Amostras | $\delta^{13}\text{C}$ (‰) | C/N |
|----------------------------|---|------------|
| Solo da mata | -27.79 | 7,5 |
| Solo cana-de-açúcar | -18.15 | 14,2 |
| Serrapilheira da mata | -28.0 | 24,2 |
| Resíduos da cana-de-açúcar | -14,4 | 64,4 |

2.2. Análise estatística

As diferenças na relação C/N entre os diferentes tempos de incubação 0, 15, 30, 90, 180 e 360 dias, foram analisadas por modelo de regressão. Os valores da abundância natural de ^{13}C na MOEA e no solo foram submetidos à análise de variância (ANOVA) no programa Action Stat e as médias foram comparadas pelo teste de Fischer (LSD $p < 0,005$).

3. RESULTADOS

A evolução da relação C / N durante o período de incubação é mostrada na Figura 1. A relação C / N foi baixa nas amostras de solo da mata no início da incubação (8,9) e apresentou baixa variação durante o tempo de incubação. Como esperado, a relação C / N aumentou com a adição dos resíduos da colheita da cana-de-açúcar. No final do período de incubação, retornou a valores semelhantes ao controle sem adição de resíduos. A adição da serrapilheira da mata não alterou a razão C / N durante a incubação que oscilou entre 8,5 e 10,5 (Fig. 1A).

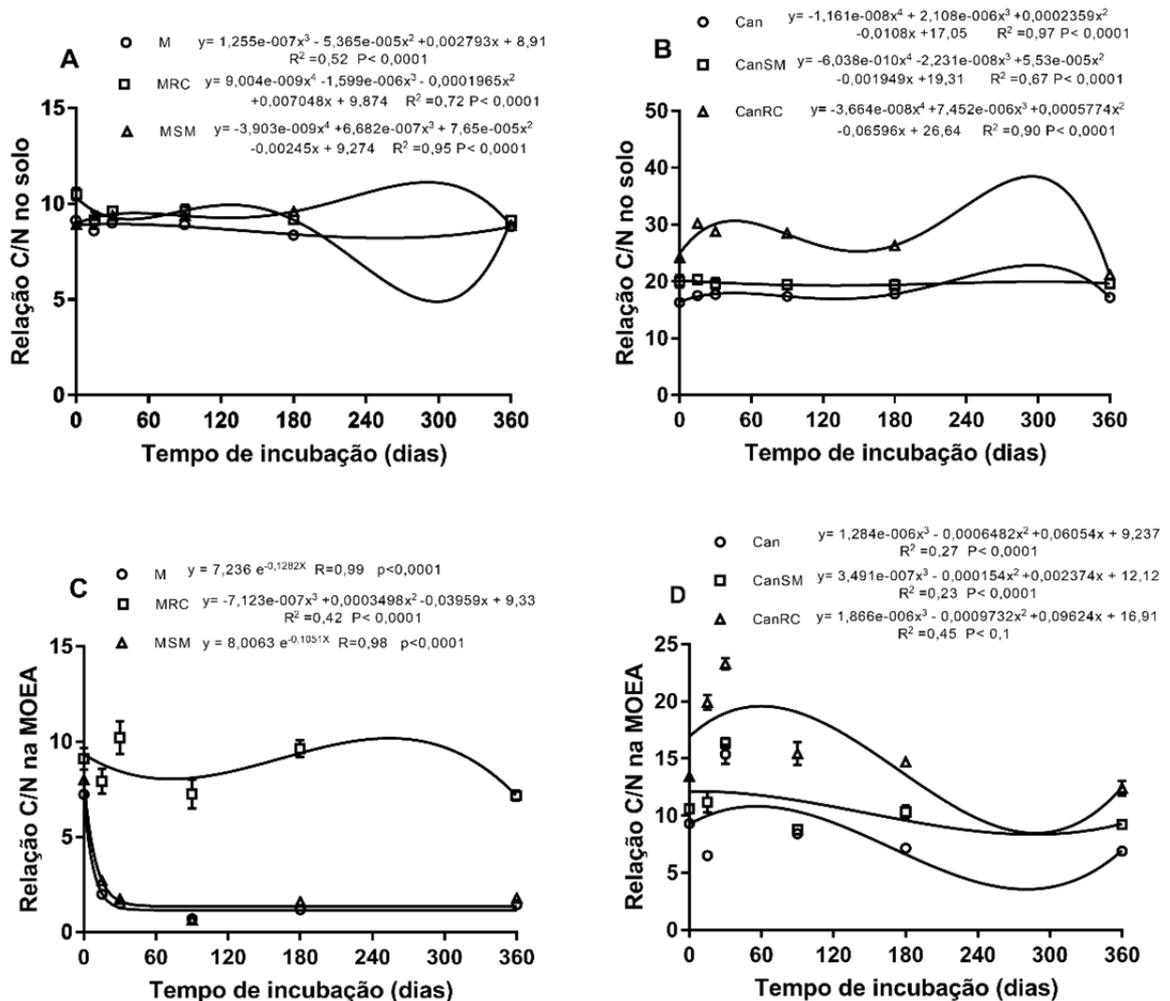


Figura 1. Relação C/N da matéria orgânica do solo (A e B) e da matéria orgânica extraível com água (MOEA) (C e D) de Argissolo de Mata Atlântica (M) e de solo sob cultivo de cana-de-açúcar (Can), com e sem a adição de serrapilheira da mata (SM) e resíduos da colheita de cana-de-açúcar (RC) em diferentes tempos de incubação.

A relação C / N das amostras de solo sob cultivo de cana-de-açúcar que receberam a adição de diferentes resíduos apresentou uma variação maior. A adição da serrapilheira não alterou significativamente os valores da relação C / N durante o tempo de incubação, variando em uma faixa estreita com valores entre 18 e 21. Quando os resíduos da colheita da cana-de-açúcar foram adicionados, os valores da relação C/N variaram de 16 para 24 durante os primeiros seis meses de incubação (Fig. 1B). Ao final, os valores da relação C / N ficaram em torno de 20 para todas as amostras de solo.

O comportamento da relação C / N da MOEA durante a incubação foi muito diferente das amostras de solo e foi dependente da cobertura do solo e do tipo de resíduo orgânico adicionado (Fig. 1 C e D). A relação C / N inicial da MOEA do solo da mata foi menor que nas amostras de solo (em torno de 7 e 8) e apresentou uma queda acentuada nos primeiros dias de incubação com valores próximos a um e permaneceu praticamente constante durante o tempo de incubação. O comportamento da relação C/N da MOEA das amostras controle (M) e as que receberam a adição de serrapilheira (MSM) foi ajustado em um modelo exponencial em relação ao tempo de incubação (Fig. 1C). Porém, quando foram adicionados resíduos da colheita de cana-de-açúcar a relação C/N da MOEA foi melhor ajustada por uma função polinomial do terceiro grau (Fig. 1C). Este modelo ajustou o comportamento da relação C / N da MOEA de amostras de solo sob cultivo de cana-de-açúcar (Fig. 1D). Os valores iniciais foram próximos à relação C / N observada para MOEA do solo da mata (9), mas aumentaram no período inicial de incubação para 15 e 23 de acordo com o tipo de resíduo orgânico adicionado. Ao final da incubação a relação C/N da MOEA variou de acordo com o tratamento seguindo a seguinte ordem: controle (7) < serrapilheira (9) < resíduos da colheita da cana-de-açúcar (12) todos em uma faixa muito baixa indicando a pronta disponibilidade da MOEA.

Os valores de $\delta^{13}\text{C}$ (‰) das amostras de solo e da MOEA são mostrados nas Tabelas 3 e 4, respectivamente. A composição isotópica natural do $\delta^{13}\text{C}$ (‰) da MOS do solo da mata foi compatível com a predominância da vegetação C3 (-27 ‰) e não se alterou durante o tempo de incubação (Tabela 3).

Tabela 3. Composição isotópica natural do carbono ($\delta^{13}\text{C}$ ‰) e a contribuição (%) dos diferentes resíduos orgânicos para a matéria orgânica do solo na camada superficial (0-10 cm) do Argissolo coberto por fragmento de Mata Atlântica e sob cultivo de cana-de-açúcar em diferentes tempos de incubação

| Tempo de incubação (dias) | Matéria Orgânica do Solo | | |
|---------------------------|---------------------------|---------------------------|-----------|
| | Mata | Mata + resíduos de cana | |
| | $\delta^{13}\text{C}$ (‰) | $\delta^{13}\text{C}$ (‰) | % C4 |
| 0 | -27,00 bA | -24,84 aA | 20,0 |
| 15 | -27,05 bA | -25,51 aC | 17,1 |
| 30 | -27,10 bA | -25,18 aB | 19,6 |
| 90 | -26,98 bA | -26,09 aD | 12,2 |
| 180 | -27,00 bA | -25,39 aBC | 17,9 |
| 360 | -26,98 bA | -25,42 aC | 17,7 |
| | Cana | Cana + serrapilheira | |
| | $\delta^{13}\text{C}$ (‰) | $\delta^{13}\text{C}$ (‰) | % C3 |
| | 0 | -16,83 aA | -21,06 bA |
| 15 | -17,10 aB | -21,82 bD | 36,8 |
| 30 | -17,00 aAB | -21,51 bBC | 33,4 |
| 90 | -17,01 aAB | -21,27 bAB | 30,9 |
| 180 | -16,80 aA | -21,52 bBC | 33,2 |
| 360 | -17,14 aB | -21,76 bCD | 35,8 |

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha ou maiúsculas na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste LSD ($p < 0,05$).

A adição de resíduos da cultura da cana-de-açúcar alterou significativamente o $\delta^{13}\text{C}$ (‰) aumentando imediatamente 2,95 ‰ em relação ao controle no início da incubação. Essa transferência correspondeu a 20% do carbono orgânico total. Ao longo da incubação ocorreram flutuações nos valores de $\delta^{13}\text{C}$ (‰) e, ao final, 17% da MOS da mata eram provenientes do resíduo da cana-de-açúcar. Além disso, o solo da cana-de-açúcar incubado com serrapilheira da mata também teve a sua composição isotópica da MOS alterada, mas a contribuição da serrapilheira foi maior do que os resíduos da cana-de-açúcar para a MOS do solo da mata. No início da incubação ($t = 0$) cerca de 29% da serrapilheira (C3), foi incorporada à MOS do solo da cana-de-açúcar (C4). A transferência da serrapilheira para a MOS aumentou com o tempo de incubação atingindo 35,8% da MOS (Tabela 3).

As amostras de solo da mata que não receberam adição de resíduos apresentaram aumento de 2,95 ‰ $\delta^{13}\text{C}$ na MOEA em relação ao valor inicial, antes da incubação (Tabela 4).

Tabela 4. Composição isotópica natural do carbono ($\delta^{13}\text{C}$ ‰) e a contribuição (%) de diferentes resíduos orgânicos da matéria orgânica extraível com água (MOEA) da camada superficial (0-10 cm) de Argissolo coberto por fragmento de Mata Atlântica e sob cultivo de cana-de-açúcar em diferentes tempos de incubação

| Tempo de incubação (dias) | Matéria orgânica extraível com água | | |
|---------------------------|-------------------------------------|---------------------------|----------------------|
| | Mata | Mata + resíduos de cana | |
| | $\delta^{13}\text{C}$ (‰) | $\delta^{13}\text{C}$ (‰) | % C4 |
| 0 | -24,05 aC | -25,08 bF | 15,3 |
| 15 | -23,76 aB | -23,66 aB | 26,6 |
| 30 | -23,26 aA | -23,54 bA | 27,5 |
| 90 | -23,81 aB | -23,76 aC | 25,8 |
| 180 | -24,85 bD | -24,05 aD | 23,4 |
| 360 | -24,04 aC | -24,47 bE | 20,1 |
| | Cana | | Cana + serrapilheira |
| | $\delta^{13}\text{C}$ (‰) | $\delta^{13}\text{C}$ (‰) | % C3 |
| | 0 | -16,20 aB | -18,33 bA |
| 15 | -16,72 aD | -19,07 bC | 10,4 |
| 30 | -15,80 aA | -18,70 bB | 6,7 |
| 90 | -17,00 aE | -19,77 bF | 17,1 |
| 180 | -16,36 aC | -19,47 bE | 14,3 |
| 360 | -16,72 aD | -19,20 bD | 11,7 |

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha ou maiúsculas na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste LSD ($p < 0,05$).

O maior aumento foi observado aos 30 dias, que apresentou um valor de 3,74 ‰ $\delta^{13}\text{C}$ em relação ao valor inicial. A adição dos resíduos da colheita da cana-de-açúcar ao solo da mata promoveu, na fase inicial de incubação, um aumento de 1,92 ‰ de $\delta^{13}\text{C}$ na MOEA em relação ao valor inicial. Esse aumento proporcionado pela adição dos resíduos foi responsável por 15,3% do carbono orgânico total da MOEA. A maior contribuição dos resíduos da cana-de-açúcar na MOEA foi

observada aos 30 dias de incubação correspondendo a 27,5% do carbono total. Após esse período, houve diminuição da contribuição durante a incubação, que apresentou valor final de 20,11% (Tabela 4).

A adição de serrapilheira ao solo sob cultivo de cana-de-açúcar promoveu na fase inicial de incubação uma diminuição de 0,33 ‰ de $\delta^{13}\text{C}$ na MOEA em relação ao valor inicial. Esta diminuição de $\delta^{13}\text{C}$ promovida pela adição da serrapilheira foi responsável por 3,25% do carbono orgânico total da MOEA. Aos 15 dias houve um aumento na contribuição para 10,4%, seguido por uma redução aos 30 dias com uma contribuição de 6,7% da serrapilheira C3. A maior contribuição da serrapilheira na MOEA foi observada aos 90 dias de incubação com um valor de 17,1%. Após esse período, houve diminuição da contribuição durante a incubação, que apresentou valor final de 11,7%. Foi possível observar uma contribuição significativa dos resíduos da cana-de-açúcar e da serrapilheira da mata para a MOEA (Tabela 4).

4. DISCUSSÃO

A prática mais comum no norte do estado do Rio de Janeiro foi a substituição da Mata Atlântica nativa pela plantação de cana-de-açúcar com forte influência nas características do solo (Tabela 1). Essa substituição acarretou em decréscimo na capacidade de troca de cátions (CTC), C e N Total com o cultivo. O melhor entendimento das ligações entre MOD e MOS e os processos biogeoquímicos podem auxiliar na avaliação da restauração de remanescentes de floresta nativa (Lima et al., 2020) e no manejo sustentável da cana-de-açúcar (Sousa Júnior et al., 2018). A abundância natural de $\delta^{13}\text{C}$ possibilita avaliar a contribuição direta da serrapilheira para a MOD. Apesar da MOD dos solos geralmente corresponder a menos de 2% da MOS (Chantigny et al., 2014), este pool de MO lábil conduz os ciclos biogeoquímicos na zona tropical devido à sua alta disponibilidade para plantas e microrganismos (Gmach et al., 2020).

Nossa hipótese é que a MOEA, é um pool altamente reativo, é fortemente influenciada pela deposição da serrapilheira, diferente de solos temperados onde o COD da dissolução da MOS foi geralmente assumido como tendo a mesma

assinatura isotópica (Nadelhoffer e Fry, 1998), onde a maior parte do COD é produto da mobilização da fonte de carbono antigo por efeito de *Priming* (Di Lonardo et al., 2017). Além disso, um conceito emergente de estabilização da MOS sugere um caminho alternativo para estabilização do C no solo, onde a MOD da serapilheira é rapidamente incorporada à biomassa microbiana, contribuindo diretamente para a formação de matéria orgânica associada a minerais (Nebbioso e Piccolo, 2013; Cotrufo et al., 2015).

Foi observado maior contribuição da serrapilheira e dos resíduos de cana-de-açúcar para a assinatura de $\delta^{13}\text{C}$ nos reservatórios de matéria orgânica durante todo o tempo de incubação (Tabelas 3 e 4). No solo da mata que recebeu os resíduos de cana-de-açúcar, a contribuição de resíduos orgânicos C4 para a MOS variou de 20% no início a 18% no final da incubação com menor contribuição (12%) aos 90 dias (Tabela 3). Isso é significativamente maior do que o observado em solos temperados, em que resultados semelhantes foram obtidos apenas com um tempo de manejo mais longo (Balestenddt et al., 1990). A adição de serrapilheira (C3), ao solo sob cultivo de cana-de-açúcar, promoveu uma contribuição do novo C adicionado à MOS que variou em uma faixa maior, ou seja, de 29% a 0 dias a 35,8% um ano depois (Tabela 3). Essas diferenças podem ser atribuídas a diferenças na qualidade da serapilheira, uma vez que a serapilheira C3 apresentou alta qualidade avaliada pela relação C / N inferior em comparação com solo de palha de cana-de-açúcar (Tabela 2).

A contribuição direta da serrapilheira para a MOS é frequentemente associada ao teor de argila do solo. García-Oliva et al. (1994) observaram que a distribuição isotópica da matéria orgânica associada à areia está mais próxima dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ da serrapilheira e da raiz, sugerindo que a fração associada à areia é composta de material menos processado. O teor de argila de ambas as amostras de solo foi muito baixo (Tabela 1), favorecendo o ciclo da MOS. O ciclo mais rápido da MOS foi relatado anteriormente em condições tropicais. No Brasil, a técnica $\delta^{13}\text{C}$ tem sido usada para medir a persistência da MOS de origem florestal onde a terra foi convertida em pastagem C4 (Cerri et al., 1991) ou em cultivo de cana-de-açúcar (Vitorello et al., 1989). Uma abordagem semelhante foi usada onde a floresta foi substituída por um pasto de grama contendo uma mistura de espécies C3 e C4 e a contribuição do solo derivado de *Brachiaria humidicola*, o C recém-adicionado representou 68% do C total na camada superficial do solo com o tempo de

renovação estimado em cerca de 30 anos (Cadisch et al., 1996). No entanto, é possível encontrar resultados contrastantes como os relatados por Dortzbach et al. (2015), onde o cultivo de pastagens durante 25 anos não foi suficiente para alterar a assinatura de ^{13}C devido à presença de carbono antigo de mata no sul do Brasil. Os autores especulam que esta maior permanência de C do solo da mata pode ser devido à menor taxa de perda de C remanescente da mata relacionada à redução da taxa de decomposição da MOS, provavelmente devido ao desempenho ineficiente dos microrganismos no processo de decomposição. A mesma suposição foi argumentada por Costa et al. (2009), que observaram em Argissolo Amarelo Distrófico abrupto após 28 anos de cultivo contínuo de pastagens que cerca de 62% do carbono orgânico do solo ainda era derivado da floresta original. Segundo os autores, o constante aporte de matéria orgânica da pastagem fez com que ela fosse degradada preferencialmente por microrganismos que persistiam na MOS com maior humificação remanescente da floresta. Schwendenmann e Pendall (2006) estudaram a conversão da floresta em pastagem nos trópicos úmidos em um Latossolo Vermelho Distrófico e estimaram um tempo médio de residência de 69 anos para a MOS na superfície do solo (0–5 cm). Mais próximo às nossas condições de clima e solo, foi o estudo relatado por Pinheiro et al. (2010), considerando o impacto da preservação da palha da cana-de-açúcar no carbono orgânico de Argissolo Distrófico do mesmo sedimento geológico terciário denominado "Barreiras", mas mais ao norte no estado do Espírito Santo, Brasil. Os autores analisaram dados da abundância de ^{13}C , e verificaram que onde o resíduo da colheita da cana-de-açúcar era conservado, mais C do solo era derivado da cana-de-açúcar do que da vegetação nativa original (Mata Atlântica). Os dados mostraram que na camada superficial do solo (0–10 cm) a maior parte (em média 56%) do C do solo foi derivado da cana-de-açúcar ao longo dos 14 anos de experimento. Além disso, as taxas de rotatividade atípicas de MOS foram observadas por García-Oliva et al. (1994) sobre a conversão de floresta decidual em pastagem. A taxa de perda estimada de MOS da floresta foi de $2,9 \text{ t ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ no primeiro tempo de conversão e, assumindo a decadência exponencial, a meia-vida dessa MOS da floresta foi estimada em 6,8 anos no início e "aumenta" para 20 anos na pastagem de 11 anos, pois apenas a MOS mais recalcitrante permanece. No campo, o processo de decomposição mais rápido na estação chuvosa é atribuído ao aumento da atividade de micro decompositores e macrofauna

causados pela disponibilidade de água e nutrientes (Villela et al., 2012). Portanto, a MOD desempenha um papel fundamental na fonte de energia para os microrganismos e no fornecimento de nutrientes disponíveis para as plantas (Gmach et al., 2020). A contribuição direta da deposição de serrapilheira para a abundância de ^{13}C da MOEA apresentou comportamento diferente do encontrado para a MOS (Tabelas 3 e 4). A contribuição de resíduos de C4 para a MOEA do solo da mata variou de 15% no início a 20% no final da incubação. Quando a serrapilheira C3 foi adicionada ao solo sob cultivo de cana-de-açúcar, a contribuição direta para a MOEA variou em uma faixa menor de 3% a 11,7% após um ano com pico em 90 dias (17%). Essas diferenças podem ser atribuídas devido à maior diversidade microbiana provavelmente encontrada no solo da floresta, uma vez que o efeito da monocultura na diversidade do solo é bem conhecido (Lambais et al., 2005; Rodrigues et al., 2012).

Os valores da contribuição dos resíduos orgânicos para o conteúdo de carbono da MOEA foram maiores do que em outros experimentos de incubação. Na verdade, De Troyer et al. (2011) verificaram um forte efeito de *Priming* quando os resíduos orgânicos foram adicionados ao solo e apenas 5 e 1% do resíduo marcado de ^{13}C foi encontrado no carbono orgânico dissolvido (COD) após 57 e 240 dias de incubação, respectivamente, mostrando que o COD foi principalmente derivado do Luvisol orgânico da matéria em clima temperado. Anteriormente, McCarty e Bremner (1992) já haviam observado que a adição de resíduos de milho e soja inicialmente aumentavam a MOEA em solos superficiais, mas esta MOEA foi decomposta em poucos dias e apenas muito pouco foi lixiviado para o subsolo. Resultados semelhantes também foram obtidos por Cleveland et al. (2004) em um experimento de incubação de longa duração com diferentes espécies de plantas, onde mais de 70% da MOD inicial foi decomposta nos primeiros 10 dias do experimento. Como esses autores não observaram mudanças na assinatura de $\delta^{13}\text{C}$ da MOD, sugeriu-se que o fracionamento isotópico durante a decomposição não é um processo significativo. Diferentemente desses resultados obtidos com a composição isotópica da MOD de solos temperados com a adição de resíduos orgânicos, os resultados obtidos com solos tropicais altamente intemperizados, indicam que os resíduos orgânicos tiveram contribuição importante e significativa para o carbono orgânico da MOEA impulsionando a atividade biológica.

5. CONCLUSÕES

A adição de resíduos em ambos os solos, da mata e sob cultivo de cana-de-açúcar promoveu enriquecimentos significativos de ^{13}C na MOEA e na MOS.

Diferentemente dos resultados obtidos com a composição isotópica de MOD de solos temperados com a adição de resíduos orgânicos, os resultados obtidos com solos tropicais altamente intemperizados indicam que os resíduos orgânicos representam contribuições importantes e significativas para o carbono orgânico da MOEA. Entender seu comportamento é fundamental para a restauração de fragmentos de Mata Atlântica e o manejo orgânico do solo em condições tropicais.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Balesdent, J., Mariotti, A., Boisgontier, D. (1990) Effect of tillage on soil organic carbon mineralization estimated from ^{13}C abundance in maize fields. *Journal of Soil Science*, 41,587-596.
- Balesdent, J., Mariotti, A. (1996) Measurements of soil organic matter turnover using ^{13}C natural abundance. In: Boutton, T.W. _Ed., *Mass Spectroscopy of Soils*. Marcel Dekker, New York, p. 83–111.
- Bernoux, M., Cerri, C.C., Neill, C., Moraes, J.F. (1998) The use of stable carbon isotopes for estimating soil organic matter turnover rates. *Geoderma*, 82(1-3):43–58. [https://doi.org/10.1016/S0016-7061\(97\)00096-7](https://doi.org/10.1016/S0016-7061(97)00096-7)
- Bonde, T.A., Christensen, B.T., Cerri, C. (1992) Dynamics of soil organic matter as reflected by natural ^{13}C abundance in particle size fractions of forested and cultivated oxisols. *Soil Biology and Biochemistry*, 24(3):275-277. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(92\)90230-U](https://doi.org/10.1016/0038-0717(92)90230-U)

- Cadisch, G., Imhof, H., Urquiaga, S., Boddey, R.M., Giller, K.E. (1996) Carbon turnover ($\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen mineralization potential of particulate light soil organic matter after rainforest clearing. *Soil Biology and Biochemistry*. 28(12):1555-1567.
- Cerri, C.C., Volkoff, B., Andreaux, F. (1991) Nature and behavior of organic matter in soils under natural forest, and after deforestation burning and cultivation, near Manaus. *Forest Ecology and Management*. 38:247-257.
- Chantigny, M.H., Harrison-kirk, T., Curtin, D., Beare, M., (2014) Temperature and duration of extraction affect the biochemical composition of soil waterextractable organic matter. *Soil Biology & Biochemistry* 75, 161-166.
- Cleveland, C.C., Neff, J.C., Townsend, A.R., Hood, E. (2004) Composition, dynamics, and fate of leached dissolved organic matter in terrestrial ecosystems: results from a decomposition experiment. *Ecosystems*, 7(3):275–285. <https://doi.org/10.1007/s10021-003-0236-7>
- Costa, O.V., Cantarutti, R.B., Fontes, L.E.F., Costa, L.M., Nacif, P.G.S., Faria, J.C. (2009) Estoque de carbono do solo sob pastagem em área de tabuleiro costeiro no sul da Bahia. *Revista Brasileira de Ciências do Solo*, 33:1137-1145.
- Cotrufo, M. F., Soong, J. L., Horton, A. J., Campbell, E. E., Haddix, M. L., Wall, D. H., & Parton, W. J. (2015) Formation of soil organic matter via biochemical and physical pathways of litter mass loss. *Nature Geoscience*, 8(10), 776–779. doi:10.1038/ngeo2520
- De Troyer, I., Amery, F., Van Moorlehem, C., Smolders, E., Merckx, R. (2011) Tracing the source and fate of dissolved organic matter in soil after incorporation of a ^{13}C labelled residue: a batch incubation study. *Soil Biology & Biochemistry*, 43: 513–519. 10.1016/j.soilbio.2010.11.016
- Di Lonardo, D.P., De Boer W, Gunnewiek, P.J.A.K., Hannula, S.E., Van der Wal, A. (2017) Priming of soil organic matter: chemical structure of added compounds is more important than the energy content. *Soil Biology & Biochemistry*. 108:41– 54. doi: 10.1016/j.soilbio.2017.01.017
- Dortzbach, D., Pereira, M.G., Blainski, E., Paz González, A. (2015) Estoque de C e Abundância Natural de ^{13}C em Razão da Conversão de Áreas de Floresta e

- Pastagem em Bioma Mata Atlântica. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 39:1643-1660. DOI: 10.1590/01000683rbc20140531
- Farquhar, G.D., Ehleringer, J.R., Hubick, K.T. (1989) Carbon Isotope Discrimination and Photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 40(1), 503–537. doi:10.1146/annurev.pp.40.060189.002443
- Fearnside, P.M. (2001) Soybean cultivation as a threat to the environment in Brazil. *Environmental Conservation*, 28 (1): 23–38.
- Fujii, K., Sukartiningih., Hayakawa, C., Inagaki, Y., Kosaki, T. (2020) Effects of land use change on turnover and storage of soil organic matter in a tropical forest. *Plant Soil*, 446, 425–439. <https://doi.org/10.1007/s11104-019-04367-5>
- García-Oliva, F., Casar, I., Morales, P., Maass, J.M. (1994) Forest-to-pasture conversion influences on soil organic carbon dynamics in a tropical deciduous forest. *Oecologia* 99:392-396.
- Giam, X. (2017) Global biodiversity loss from tropical deforestation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(23), 5775–5777. <https://doi.org/10.1073/pnas.1706264114>
- Gmach, M.R., Cherubin, M.R., Kaiser, K., Cerri, C.E.P. (2020) Processes that influence dissolved organic matter in the soil: a review. *Scientia Agricola* 77:3. e20180164. 10.1590/1678-992x-2018-0164
- Kindler, R., Siemens, J., Kaiser, K., Walmsley, D.C., Bernhofer, C., Buchmann, N., Cellier, P., Eugster, W., Gleixner, G., Grunwald, T., Heim, A., Ibrom, A. (2011) Dissolved carbon leaching from soil is a crucial component of the net ecosystem carbon balance. *Global Change Biology*, 17:1167–1185. 10.1111/j.1365-2486.2010.02282.x
- Krull, E.S., Bestland, E.A, Gates, W.P. (2002) Soil organic matter decomposition and turnover in a tropical ultisol: evidence from $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ and geochemistry. *Radiocarbon*, 44(1):93–112.
- Lambais, M.R., Cury, J.C., Maluche-Baretta, C.R., Büll, R.C. (2005) Diversidade microbiana nos solos: definindo novos paradigmas. *In Tópicos em ciência do solo*, v. 4. Viçosa, MG: SBCS.

- Lima, R.A.F., Oliveira, A.A., Pitta, G.R. (2020) The erosion of biodiversity and biomass in the Atlantic Forest biodiversity hotspot. *Nature Communications*, 11: 6347,. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20217-w>
- McCarty, G.W., Bremner, J.M. (1992) Availability of organic carbon for denitrification of nitrate in subsoils. *Biology and Fertility of Soils*, 14:219–222.
- Mendonça, E.S., Rowel, D.L. (1996) Mineral and organic fractions of two Oxisols and their influence on the effective cation-exchange capacity. *Soil Science Society of America Journal*, 60:1888-1892.
- Nadelhoffer, K.J., Fry, B. (1988) Controls on natural nitrogen⁻¹⁵ and carbon⁻¹³ abundances in forest soil organic matter. *Soil Science Society of America Journal*. 52: 1633–1640.
- Nebbioso, A., Piccolo, A. (2013) Molecular characterization of dissolved organic matter (DOM): a critical review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 405: 109–124. [10.1007/s00216-012-6363-2](https://doi.org/10.1007/s00216-012-6363-2)
- Pinheiro, E.F.M., Lima, E., Ceddia, M.B., Urquiaga, S., Alves, B.J.R, Boddey, R.M. (2010) Impact of pre-harvest burning versus trash conservation on soil carbon and nitrogen stocks on a sugarcane plantation in the Brazilian Atlantic forest region. *Plant Soil*. 2010;333:71-80.
- Rodrigues, J.L., Pellizari, V.H., Mueller, R., Baek, K., Jesus Eda, C., Paula, F.S., Mirza, B., Hamaoui, G.S. Jr., Tsai, S.M., Feigl, B., Tiedje, J.M., Bohannan, B.J., Nüsslein, K. (2012) Conversion of the Amazon rainforest to agriculture results in biotic homogenization of soil bacterial communities. *PNAS*, 2012, 110(3):988-993
- Roth, V.N., Lange, M., Simon, C., Hertkorn, N., Bucher, S., Goodall, T., Griffiths, R.I., Mellado-Vazquez, P.G., Mommer, L., Oram, N.J., Weigelt, A., Dittmar, T., Gleixner, G. (2019) Persistence of dissolved organic matter explained by molecular changes during its passage through soil. *Nature Geoscience* 12, 755–761.
- Schwendenmann, L., Pendall, E. (2006) Effects of forest conversion into grassland on soil aggregate structure and carbon storage in Panama: evidence from soil carbon fractionation and stable isotopes. *Plant Soil*. 288:217–232 DOI [10.1007/s11104-006-9109-0](https://doi.org/10.1007/s11104-006-9109-0)

- Sousa Junior, J.G.A., Cherubin, M.R., Oliveira, B.G., Cerri, C.E.P., Cerri, C.C., Feigl, B.J. (2018) Three-year soil carbon and nitrogen responses to sugarcane straw management. *BioEnergy Research*, 11: 249-261. 10.1007/s12155-017-9892-x
- Villela, D.M., Mattos, E.A., Pinto, A.S., Vieira, A.S., Martinelli, L.A. (2012) Carbon and nitrogen stock and fluxes in coastal Atlantic Forest of southeast Brazil: potential impacts of climate change on biogeochemical functioning. *Brazilian Journal of Biology*, 72(3): 633-642.
- Vitorello, V.A., Cerri, C.C., Andraux, F., Feller, C., Victoria, R.L. (1989) Organic matter and natural carbon-13 distribution in forested and cultivated oxisols. *Soil Science Society of America Journal*. 53:773-778.
- Ye, Q., Wang, Y.H., Zhang, Z.T., Huang, W.L., Li, L.P., Li, J., Liu, J., Zheng, Y., Mo, J.M., Zhang, W., Wang, J.J. (2020) Dissolved organic matter characteristics in soils of tropical legume and non-legume tree plantations. *Soil Biology & Biochemistry*. 148: 107880.
- Zsolnay, A. (1996) Dissolved humus in soil waters. In: Piccolo, A. (Ed.), *Humic Substances in Terrestrial Ecosystems*, Elsevier, Amsterdam, p. 171– 223.

RESUMO E CONCLUSÕES

Esse estudo foi dividido em 2 trabalhos. No primeiro o objetivo foi avaliar e caracterizar por meio de técnicas espectroscópicas as mudanças na composição e na distribuição da matéria orgânica extraível com água (MOEA). Foi realizado um experimento de incubação em laboratório durante um ano, na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro em Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil, com a camada superficial (0-10 cm) de um Argissolo Amarelo Coeso Típico coletado em um fragmento de Mata Atlântica localizado no município de São Francisco do Itabapoana, Rio de Janeiro, Brasil e em local adjacente com monocultura contínua de cana-de-açúcar. As amostras dos solos foram incubadas por um ano com resíduos de colheita da cana-de-açúcar e da serrapilheira da Mata Atlântica, equivalente a 10 mg C g⁻¹ solo. As amostras foram coletadas nos tempos 0, 15, 30, 90, 180 e 360 dias após a incubação. A caracterização da MOEA foi realizada por Infravermelho com Transformada de Fourier e Refletância Difusa (DRIFT) e por Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ¹H). Além disso, foram analisados os teores de carbono orgânico dissolvido (COD) e nitrogênio total dissolvido (NTD). Os resultados permitiram concluir que a técnica de DRIFT pode servir para monitorar a hidrofobicidade da MOEA de forma rápida, barata e eficiente.

O segundo trabalho descreve a variação da composição isotópica natural do carbono e quantifica a transferência do carbono dos resíduos orgânicos para a MOEA. Para isso, foi utilizada a inversão da alocação dos resíduos, isto é, o solo de mata com composição isotópica típica de plantas C3 recebeu resíduo de cana-de-

açúcar (C4) e o solo coletado na lavoura de cana-de-açúcar recebeu a incorporação da serrapilheira da mata. As amostras dos solos e da MOEA foram submetidas a análise da composição elementar e isotópica do carbono em um Espectrômetro de Massa Isotópica para avaliar as alterações na composição de $\delta^{13}\text{C}$ e a relação de carbono e nitrogênio (C/N) da matéria orgânica do solo (MOS) e da MOEA. Os resultados obtidos com solos tropicais altamente intemperizados indicam que os resíduos orgânicos apresentaram contribuições importantes e significativas para o carbono orgânico da MOEA de solos tropicais altamente intemperizados. Estudar e compreender o comportamento da MOEA é essencial para determinar as melhores práticas para restauração de fragmentos de Mata Atlântica e o manejo orgânico do solo em condições tropicais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves, B.J.R., Oliveira, O.C., Boddey, R.M., Urquiaga, S. Métodos Isotópicos. In: Santos, G.A., Silva, L.S., Canellas, L.P., Camargo, F.A.O., (2008) eds. *Fundamentos da matéria orgânica do solo: Ecossistemas tropicais e subtropicais*, 2.ed. Porto Alegre, Metropole. p.229-241.
- Aragão, L.E.O.C. (2000) *Efeito de clareiras ocasionadas pelo corte seletivo na decomposição foliar e no solo de uma mata de tabuleiro no Norte Fluminense, RJ*. Dissertação de Mestrado. Centro de Biociências e Biotecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense. Laboratório de Ciências Ambientais. Campos dos Goytacazes. Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, 95p.
- Balesdent, J., Mariotti, A., Guillet, B. (1987) Natural ^{13}C abundance as a tracer for studies of soil organic matter dynamics. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v. 19, n. 1, p. 25-30.
- Bartos, A., Szymański, W., Klimek, M. (2020) Impact of conventional agriculture on the concentration and quality of water-extractable organic matter (WEOM) in the surface horizons of Retisols—A case study from the Carpathian Foothills in Poland. *Soil and Tillage Research*, Volume 204, October, 104750. <https://doi.org/10.1016/j.still.2020.104750>
- Bayer, C., Mielniczuk, J. Dinâmica e função da matéria orgânica. In: Santos, G. A., Silva, L. S., Canellas, L. P., Camargo, F. A. O. (2008) (Ed.). *Fundamentos da*

- matéria orgânica do solo: Ecossistemas tropicais e subtropicais*, 2. ed. Porto Alegre: Metrópole p. 7-18.
- Bayer, C., Costa, F.S., Pedroso, G.M., Zschornack, T., Camargo, E.S., Lima, M.A., Frigheto, R.T.S., Gomes, J., Marcolin, E., Macedo, V.R.M. (2014) Yield-scaled greenhouse gas emissions from flood irrigated rice under long-term conventional tillage and no-till systems in a Humid Subtropical climate. *Field Crops Research*, 162:60–69. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2014.03.015>
- Benites, V.M., Mendonça, E.S., Schaefer, C.E.R., Martin Neto, L. (1999) Caracterização dos ácidos húmicos extraídos de um latossolo vermelho-amarelo e de um podzol por análise termodiferencial e pela espectroscopia de absorção no infravermelho. *Revista Brasileira de Ciências do Solo*, 23:543-551.
- Bu, X., Han, F., Ruan, H., Zhu, L. (2014) Changes in chemical composition and spectral characteristics of dissolved organic matter from soils induced by biodegradation. *Soil Science*, 179 (4), 197-204 doi: 10.1097/SS.0000000000000057.
- Canellas, L.P., Santos, G.A. (2005) *Humosfera: Tratado preliminar sobre a química das Substâncias Húmicas*. Campos dos Goytacazes/RJ: UENF, p. 309.
- Capriel, P., Beck, T. Borchert, H., Gronholz, J., Zachmann, G. (1995) Hydrophobicity of the organic matter in arable soils. *Soil Biology and Biochemistry*, Volume 27. 1453-1458.
- Catalá, T.S., Reche, I., Fuentes-Lema, A., Romera-Castillo, C., Nieto-Cid, M., Ortega-Retuerta, E., Calvo, E., Álvarez, M., Marrasé, C., Stedmon, C.A., Álvarez-Salgado, X.A. (2015) Turnover time of fluorescent dissolved organic matter in the dark global ocean. *Nature Communications*, 6: 5986.
- Cerri, C. C., Feller, C., Chauvel, A. (1991) Evolução das principais propriedades de um Latossolo Vermelho-Escuro após desmatamento e cultivo por doze e cinquenta anos com cana-de-açúcar. *Cahiers-Orstom, Serie Pedologie*, Bondy, v. 26, n. 1, p. 37-50.
- Cleveland, C.C., Neff, J.C., Townsend, A.R., Hood, E. (2004) Composition, dynamics, and fate of leached dissolved organic matter in terrestrial ecosystems: results from a decomposition experiment. *Ecosystems*, 7(3):275–285. <https://doi.org/10.1007/s10021-003-0236-7>

- Costa, E.N.D., Souza, J.C., Pereira, M.A., Souza, M.F.L., Souza, W.F.L., Silva, D.M.L. (2016) Influence of hydrological pathways on dissolved organic carbon fluxes in tropical streams. *Ecology and Evolution*, 7(1), 228–239. doi:10.1002/ece3.2543
- Cunha, T.J.F., Giongo, V., Salviano, A.M., Marques, F.A., Canellas, L.P. (2016) Humified fraction of organic matter due to plant mixture cultivation. *Revista Caatinga*, v. 29, n. 3, p. 578-586.
- De Conti, L., Ceretta, C.A., Ferreira, P. A. A., Lourenzi, C.R., Giroto, E., Lorensini, F., Tiecher, T.L., Marchezan, C., Anchieta, M.G., Brunetto, G. (2016) Soil solution concentrations and chemical species of copper and zinc in a soil with a history of pig slurry application and plant cultivation. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 216, 374–386. doi:10.1016/j.agee.2015.09.040
- De Troyer, I., Amery, F., Van Moorlehem, C., Smolders, E., Merckx, R. (2011) Tracing the source and fate of dissolved organic matter in soil after incorporation of a ¹³C labelled residue: a batch incubation study. *Soil Biology and Biochemistry*, 43: 513–519.
- Fernandes, F.A., Cerri, C.C., Fernandes, A.H.B.M. (2007) ¹³C e a Dinâmica do carbono orgânico do solo em Pastagem cultivada no Pantanal Sul-mato-grossense. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2007. 19p (*Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento*, 74).
- Filho, T.B.S., Rambaldi, D.M. (2018) A contribuição do Estado do Rio de Janeiro para a conservação de plantas no Brasil. In: Martinelli, G., Martins, E., Moraes, M., Loyola, R., Amaro, R. (Orgs.) *Livro Vermelho da Flora Endêmica do Estado do Rio de Janeiro*. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson, Rio de Janeiro. 456 p.
- Freitas, H.A., Pessenda, L.C.R., Aravena, R., Gouveia, S.E.M., Ribeiro, A.S., Boulet, R., (2002) Florestas x Savanas no passado da Amazônia. *Ciência Hoje*, 32, p. 40-46.
- Freixo, A.A., Canellas, L.P., Machado, P.L.O.A. (2002) Propriedades espectrais da matéria orgânica leve-livre e leve intra-agregado de dois latossolos sob plantio direto e preparo convencional. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 26:445-453.
- Gauthier, A., Amiotte-Suchet, P., Nelson, P.N. Lévêque, J., Zeller, B., Hénault, C. (2010) Dynamics of the water extractable organic carbon pool during

- mineralisation in soils from a Douglas fir plantation and an oak-beech forest—an incubation experiment. *Plant Soil*, 330, 465–479.
- Gigliotti, G., Kaiser, K., Guggenberger, G., Haumaier, L. (2002) Differences in the chemical composition of dissolved organic matter from waste materials of different sources. *Biology and Fertility of Soils*, 36, 321–329.
- Gmach, M.R., Cherubin, M.R., Kaiser, K., Cerri, C.E.P. (2020) Processes that influence dissolved organic matter in the soil: a review. *Scientia Agricola*, 77: 3, e20180164.
- Gmach, M.R., Kaiser, K., Cherubin, M.R., Cerri, C.E.P., Lisboa, I.P.L., Vasconcelos, A.N.S., Siqueira-Neto, M. (2021) Soil dissolved organic carbon responses to sugarcane straw removal. *Soil Use and Management*, 37, 126– 137.
- Grosso F., Temussi, F., De Nicola, F. (2014) Water-extractable organic matter and enzyme activity in three forest soils of the Mediterranean area. *European Journal of Soil Biology*, 64:15e22.
- Han, G., Tang, Y., Liu, M., Zwieten, L. V., Yang, X., Yu, C., Wang, H., Song, Z. (2020) Carbon-nitrogen isotope coupling of soil organic matter in a karst region under land use change, Southwest China, *Agriculture, Ecosystems & Environment*, Volume 301. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2020.107027>
- Harris, L.I., Moore, T.R., Roulet, N.T., Pinsonneault, A.J. (2020) Limited effect of drainage on peat properties, porewater chemistry, and peat decomposition proxies in a boreal peatland. *Biogeochemistry*, 151, 43–62.
- Jacomine, P.K.T. (2001) Evolução do conhecimento sobre solos coesos no Brasil. *In: Workshop coesão em solos dos tabuleiros costeiros*, Aracaju, Anais. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 19-46.
- Kalbitz, K., Solinger, S., Park, J.H., Michalzik, B., Matzner, E. (2000) Controls on the dynamics of dissolved organic matter in soils: a review. *Soil Science*, Philadelphia, v. 165, p. 277-304.
- Koishi, A., Bragazza, L., Maltas, A., Guillaume, T., Sinaj, S. (2020) Long-Term Effects of Organic Amendments on Soil Organic Matter Quantity and Quality in Conventional Cropping Systems in Switzerland. *Agronomy*, 10, 1977. <https://doi.org/10.3390/agronomy10121977>

- Lima, R.A.F, Oliveira, A.A, Pitta, G.R. (2020) The erosion of biodiversity and biomass in the Atlantic Forest biodiversity hotspot. *Nature Communications*, 11: 6347. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20217-w>
- Loss, A., Pereira, M.G., Brito, R.J., Arinelli, G.P. (2007) Atributos químicos e físicos de solos de tabuleiros sob diferentes coberturas vegetais na região norte fluminense. *Magistra*, Cruz das Almas-BA, v. 19, n. 2, p.150-162.
- Marques, J.D.O., Luizão, F.J., Teixeira, W.G., Ferreira, S.J.F. (2012) Variações do Carbono Orgânico Dissolvido e de Atributos Físicos do Solo Sob Diferentes Sistemas de Uso da Terra na Amazônia Central. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 36:611-622.
- Miranda, C.C. (2005) *Caracterização da matéria orgânica do solo em fragmentos de Mata Atlântica e em plantios abandonados de eucalipto, Reserva Biológica União-RJ*. Tese (Mestrado em Produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF, 82p.
- Nuzzo, A., Buurman, P., Cozzolino, V., Spaccini, R., Piccolo, A. (2020) Infrared spectra of soil organic matter under a primary vegetation sequence. *Chem. Biol. Technol. Agric.*, 7:6.
- O’Leary, M.H. (1981) Carbon isotope fractionation in plants. *Phytochemistry*, 20:553-567.
- Pavia, D.L., Lampman, G.M., Kriz, G.S., Vyvyan, J.R. (2010) *Introdução à Espectroscopia*. 4. ed. São Paulo: Cengage Learning, 708p.
- Piccolo, A. (2016) In memoriam Prof. F. J. Stevenson and the Question of humic substances in soil. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 3, 23.
- Roth, V.N., Lange, M., Simon, C., Hertkorn, N., Bucher, S., Goodall, T., Griffiths, R.I., Mellado-Vazquez, P.G., Mommer, L., Oram, N.J., Weigelt, A., Dittmar, T., Gleixner, G. (2019) Persistence of dissolved organic matter explained by molecular changes during its passage through soil. *Nature Geoscience* 12, 755–761.
- Santana, G.S., Dick, D.P., Tomazi, M., Bayer, C., Jacques, A.V.A. (2013) Chemical composition and stocks of soil organic matter in a south brazilian oxisol under pasture. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 24, n. 5, p. 821–829.
- Santos, H.G., Jacomine, P.K.T., Anjos, L.H.C., Oliveira, V.A., Lumberras, J.F., Coelho, M.R., Almeida, J.A., Araujo Filho, J.C., Oliveira, J.B., Cunha, T.J.F.

- (2018) *Sistema Brasileiro de Classificação de Solos*, 5. ed. rev. e ampl. Brasília, DF. Embrapa, 356p.
- Silva, G.C., Nascimento, M.T. (2001) Fitossociologia de um remanescente de mata sobre tabuleiros no norte do estado do Rio de Janeiro (Mata do Carvão). *Revista brasileira Botânica*, São Paulo, V.24, n.1, p.51-62.
- Silveira, A.P.D., Freitas, S.S. (2007) *Microbiota do solo e qualidade ambiental*. Campinas: Instituto Agronômico. 312 p.
- Silveira, M.L.A. (2005) Carbono orgânico dissolvido e biodisponibilidade de N e P como indicadores de qualidade do solo. *Scientia Agricola*, 62 (5), 502-508.
- Simpson, A.J., McNally, D.J., Simpson, M.J. (2011) NMR spectroscopy in environmental research: from molecular interactions to global processes. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 58 (3) 97 e 175.
- Sousa Junior, J.G.A., Cherubin, M.R., Oliveira, B.G., Cerri, C.E.P., Cerri, C.C., Feigl, B.J. (2018) Three-year soil carbon and nitrogen responses to sugarcane straw management. *BioEnergy Research*, 11: 249-261.
- Souza, C.R., Maia, V.A., Aguiar-Campos, N., Santos, A.B.M., Rodrigues, A.F., Farrapo, C.L., Gianasi, F.M., Paula, G.G.P., Fagundes, N.C.A., Silva, W.B., Santos, R.M. (2021) Long-term ecological trends of small secondary forests of the atlantic forest hotspot: A 30-year study case, *Forest Ecology and Management*, V.489. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2021.119043>
- Spaccini, R., Piccolo, A., Haberhauer, G., Stemmer, M., Gerzabek, M.H.. (2001) Decomposition of maize straw in three European soils as revealed by DRIFT spectra of soil particle fractions. *Geoderma*, 99, Issues 3-4, 245-260.
- Urquiaga, S., Alves, B.J.R., Boddey, R.M., Jantalia, C.P. (2008) Aplicação de técnicas de ^{13}C em estudos da dinâmica da matéria orgânica de solos agrícolas. In: Santos, G.A.; Silva, L.S.; Canellas, L.P. & Camargo, F.A.O., eds. *Fundamentos da matéria orgânica do solo: Ecossistemas tropicais e subtropicais*, 2.ed. Porto Alegre, Metropole. p.571-580.
- Veum, K.S., Goyne, K.W., Motavalli, P.P., Udawatta, R.P. (2009) Runoff and dissolved organic carbon loss from a paired-watershed study of three adjacent agricultural Watersheds. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 130: 115–122.
- Vieira, J.M., Romero, R.E., Ferreira, T.O., Assis Júnior, R.N. (2012) Contribuição de material amorfo na gênese de horizontes coesos em Argissolos dos Tabuleiros

- Costeiros do Ceará. *Revista Ciência Agronômica*, v.43, p.623-632. DOI: 10.1590/S1806-66902012000400002.
- Wu, H., Xu, X., Fu, P., Chenge, W., Fu, C. (2021) Responses of soil WEOM quantity and quality to freeze–thaw and litter manipulation with contrasting soil water content: A laboratory experimente. *CATENA*, Volume 198. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2020.105058>
- Yip, Y.C., Wong, S.K., Choi, S.M. (2011) Assessment of the chemical and enantiomeric purity of organic reference materials. *Trends in Analytical Chemistry*, 30(4): 628–640.
- Zanchi, F.B., Waterloo, M.J., Tapia, A.P., Alvarado-Barrientos, M.S., Bolson, M.A., Luizão, F.J., Manzi, A.O., Dolman, A.J. (2015) Water balance, nutrient and carbon export from a heath forest catchment in central Amazonia, Brazil. *Hydrological Processes*, 29(17), 3633–3648.
- Zengeni, R., Kakembo, V. (2017) ¹³C and ¹⁵N isotope ratios in Leptosols of thicket ecosystems in South Africa. *Geoderma Regional*, 11:113–122.
- Zsolnay, Á. (2003) Dissolved organic matter: artefacts, definitions, and functions. *Geoderma*, 113:187–209.