

**CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO EM  
FRAGMENTOS DE MATA ATLÂNTICA E EM PLANTIOS  
ABANDONADOS DE EUCALIPTO, RESERVA BIOLÓGICA UNIÃO-  
RJ**

**CRISTIANA DO COUTO MIRANDA**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE**

**DARCY RIBEIRO - UENF**

**CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ**

**MARÇO – 2005**

**CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO EM  
FRAGMENTOS DE MATA ATLÂNTICA E EM PLANTIOS  
ABANDONADOS DE EUCALIPTO, RESERVA BIOLÓGICA UNIÃO-RJ**

**CRISTIANA DO COUTO MIRANDA**

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 Mestre em Produção Vegetal

**Orientador: Prof. Luciano Pasqualoto Canellas**

**CAMPOS DO GOYTACAZES - RJ**

**MARÇO – 2005**

## FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do CCTA / UENF 020/2005

Miranda, Cristina do Couto

Caracterização da matéria orgânica do solo em fragmentos de Mata Atlântica e em plantios abandonados de eucalipto, Reserva Biológica União – RJ. - 2005-05-15

82f. : il

Orientador: Luciano Pasqualoto Canellas

Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Campos dos Goytacazes, RJ. 2005.

Bibliografia: f. 73 – 82.

1. Substância húmica 2. Fertilidade do solo 3. Humificação 4. Solo florestal 5. Regeneração da floresta I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. II. Título.

CDD - 631.42

**CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO EM  
FRAGMENTOS DE MATA ATLÂNTICA E EM PLANTIOS  
ABANDONADOS DE EUCALIPTO, RESERVA BIOLÓGICA UNIÃO-RJ**

**CRISTIANA DO COUTO MIRANDA**

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 Mestre em Produção Vegetal.

Aprovada em 31 de março de 2005

Comissão Examinadora:

---

Prof. Marcelo Trindade Nascimento (Ph.D. Ecologia) – UENF/LCA

---

Professor Gabriel de Araújo Santos (Ph.D. Ciências do Solo) – UFRRJ/Depto.  
Solos

---

Profa Déborah Guerra Barroso (Dr<sup>a</sup>. Produção Vegetal) – UENF/LFIT

---

Prof. Luciano Pasqualoto Canellas (Ph.D. Ciências do Solo) – UENF/LSOL  
Orientador

A Deus, que é tudo; à Lídia C. Miranda (minha mãe), pelo exemplo de honestidade, força, coragem e amor pela família. À memória de meu pai, José da Silva Miranda, pelas lições de caridade, amor e honestidade, dedico.

## **AGRADECIMENTO**

Ao meu Pai do céu, que em todos os momentos me guiou e me fortaleceu, expressando, de forma simples e mesmo grandiosa, seu imenso amor.

À minha mãe, Lídia, aos meus irmãos (Sônia, José Antônio, Agnaldo e Luciana), às minhas sobrinhas, aos meus cunhados e cunhadas, em especial a Rosangela (Danda) que sempre me apoiou. Agradeço ainda aos meus queridos avós, primos e tios dessa imensa família, que juntos constituem um dos maiores presentes dados por Deus, além de serem uma grande, forte e amorosa torcida. Desta, sempre sobressaíam os gritos que diziam: - "tia", das minhas preciosidades Ingrid, Andressa, Alice, Aline, Amanda, Isabely e minha afilhada Luane.

Agradeço ao meu Pai, José, e minha tia Leonor, que mesmo não presentes fisicamente, estiveram em meus pensamentos.

Ao Marcos Fábio, meu namorado e amigo, que com toda paciência e carinho sempre me apoiou.

Ao meu orientador Luciano P. Canellas e co-orientador Marcelo T. Nascimento, pela confiança e dedicação nas orientações.

Aos colegas, técnicos e professores do Laboratório de Solos, em especial à Kátia, que sempre foi tão dedicada e amorosa, e ao Maribus e Jolimar, pela disponibilidade e paciência para a classificação dos solos deste estudo.

A toda equipe do Laboratório de Ciências Ambientais, em especial aos técnicos de campo, pelo grande apoio e pelos momentos de descontração.

Ao técnico Wallace e ao doutorando Rosemberg do CCT, pela grande ajuda nas análises de espectroscopia de IV.

Ao professor Carlos Resende por disponibilizar os equipamentos da central analítica do LCA e ao técnico Ary, pela paciência.

Aos meus velhos irmãos e amigos do Espírito Santo, em especial à minha irmã Tatiana, que, mesmo na distância, esteve presente participando de todos momentos.

Aos meus grandes amigos e irmãos da UFRRJ e de Campos, em especial aqueles amigos pela fé, que em todos momentos estiveram me apoiando.

A todos companheiros e irmãos do Ministério Universidades Renovadas do RJ, em especial aos da diocese de Campos, pela força de sempre prosseguirem decididamente.

Às irmãs e companheiras da antiga (Sabrina, Ana e Fernanda) e nova república (Iliani, Aline e Giselda), pelo carinho e amizade com que sempre vivemos, formando verdadeiras famílias.

Um agradecimento especial à equipe do IBAMA, que sempre mostrou disponível durante o trabalho na Reserva Biológica União.

Aos funcionários da UENF, que me ajudaram direta e indiretamente.

Ao CNPQ, pelo apoio financeiro.

“A justiça tem necessidade de uma alma.  
A alma da justiça é a caridade“.

(João Paulo II)

## SUMÁRIO

LISTA DE QUADROS .....	VII
LISTA DE FIGURAS.....	IX
RESUMO .....	XI
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	4
2.1. Aspectos gerais da funcionalidade de ecossistemas florestais tropicais.....	6
2.2. Matéria orgânica: aspectos gerais e humificação .....	7
2.3. Ácidos húmicos (AHs) .....	12
2.4. Caracterização química da matéria orgânica do solo (MOS).....	13
2.4.1. Fracionamento químico das substâncias húmicas (SHs) .....	14
2.4.2. Extração, isolamento e purificação dos AHs .....	15
2.5. Composição elementar dos AHs.....	16
2.6. Análise de grupamentos funcionais .....	18

2.7. Caracterização Espectroscópica .....	21
2.7.1. Espectroscopia de UV-Visível: Razão $E_4/E_6$ .....	21
2.7.2- Espectroscopia de fluorescência .....	22
2.7.3. Espectroscopia na região do infravermelho (IV).....	23
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	28
3.1. Caracterização da área.....	28
3.2. Sítios amostrais .....	32
3.3. Coleta das amostras de solo .....	33
3.4. Fracionamento da MOS.....	33
3.5. Extração, isolamento e purificação de ácidos húmicos .....	35
3.6. Caracterização dos AHs.....	35
3.7. Densidade e riqueza das plântulas .....	36
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	38
5. RESUMO E CONCLUSÕES.....	71
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	73

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1- Reagentes usados na extração das substâncias húmicas do solo .....	15
Quadro 2- Acidez total, carboxílica (COOH) e OH fenólica de ácidos húmicos de diferentes solos ( $\text{cmol}_c \text{kg}^{-1} \text{AH}$ ). .....	20
Quadro 3- Principais bandas de absorção na região de infravermelho de ácidos húmicos.....	27
Quadro 4- Propriedades químicas e granulometria de um Gleissolo sob mata alagada (A); Cambissolo sob mata de morrote (B) e Argissolo sob plantios abandonados de eucaliptos com 14, 16, e 18 anos (C, D e E), em duas profundidades. ....	41
Quadro 5- Conteúdo médio ( $\pm$ erro padrão) de carbono das diferentes frações da MOS de um Gleissolo sob mata alagada (A); Cambissolo sob mata de morrote (B) e Argissolo sob plantios abandonados de eucaliptos com 14, 16 e 18 anos (C, D e E), em duas profundidades ..	44
Quadro 6- Composição elementar ( $\pm$ erro padrão) e razão atômica (livres de cinzas e umidade) e percentagem de cinzas dos AHs extraídos de um Gleissolo sob mata alagada (A); Cambissolo sob mata de morrote (B) e Argissolo sob plantios abandonados de eucaliptos com 14, 16 e 18 anos (C, D e E), em duas profundidades. ....	51

- Quadro 7- Valores médios ( $\pm$  erro padrão) encontrados para acidez total, carboxílica e fenólica; razão  $E_4/E_6$  e área do espectro de fluorescência de emissão com excitação em 465 nm ( $A_{465}$ ) dos AHs extraídos de um Gleissolo sob mata alagada (A); Cambissolo sob mata de morrote (B) e Argissolo sob plantios abandonados de eucaliptos com 14, 16 e 18 anos (C, D e E), em duas profundidades .. 57
- Quadro 8- Possíveis atribuições das bandas de absorção ( $\text{cm}^{-1}$ ) encontradas nos espectros de IV de AHs extraídos de um Gleissolo sob mata alagada (A); Cambissolo sob mata de morrote (B) e Argissolo sob plantios abandonados de eucaliptos com 14,16 e 18 anos (C, D e E), na profundidade 0 - 0,10 m ..... 63
- Quadro 9- Possíveis atribuições das bandas de absorção ( $\text{cm}^{-1}$ ) encontradas nos espectros de IV de AHs extraídos de um Gleissolo sob mata alagada (A); Cambissolo sob mata de morrote (B) e Argissolo sob plantios abandonados de eucaliptos com 14, 16 e 18 anos (C, D e E), na profundidade 0,10 - 0,20 m ..... 64
- Quadro 10- Densidade ( $\pm$  erro padrão) e riqueza das plântulas sob fragmentos de mata alagada (A), mata de morrote (B) e plantios abandonados de eucaliptos com 14, 16 e 18 anos (C, D e E)..... 69

## LISTA DE FIGURAS

Figura1- Composição da matéria orgânica do solo.....	9
Figura 2- Mecanismos de formação das SHs: compostos amino sintetizados reduzindo açúcares (1), reagindo com quinonas (2 e 3) e com ligninas modificadas (4). . . . .	11
Figura 3- Diagrama H/C versus O/C para AHs extraídos diferentes solos .....	18
Figura 4- Principais tipos de estiramento molecular. ....	24
Figura 5- Espectro de Infravermelho de ácidos húmicos de diversas fontes (A- Mollisol, B- Leonardita, C- horizonte B do Spodosol, D- Turfa e E- humato de sódio de A). ....	26
Figura 6- Localização da Reserva Biológica União em Rio das Ostras – RJ.....	29
Figura 7- Cambissolo sob o fragmento de mata de morrote na ReBio União, RJ.	30
Figura 8- Gleissolo sob o fragmento de mata alagada na ReBio União, RJ .....	31
Figura 9- Argissolo sob os plantios abandonados de eucaliptos na Reserva Biológica União, RJ.....	32
Figura 10- Fracionamento da matéria orgânica do solo.....	34

Figura 11- Esquema de parcela dividida em 16 sub-parcelas para o levantamento da comunidade de plântulas, sendo $\Delta$ - sub-parcelas amostradas .....	37
Figura 12- Distribuição percentual do carbono das frações húmicas obtidas no fracionamento químico de um Gleissolo sob mata alagada (A); Cambissolo sob mata de morrote (B); e Argissolo sob plantios abandonados de eucalipto com 14, 16 e 18 anos (C, D e E), em duas profundidades.. .....	45
Figura 13- Representação esquemática da interação de ácidos húmicos (AHs), segundo o modelo tridimensional proposto por Schulten e Schnitzer (1997), com a gibsita. ....	49
Figura 14- Relação entre N e acidez fenólica dos AHs extraídos de um Gleissolo sob mata alagada; Cambissolo sob mata de morrote e Argissolo sob plantios abandonados de eucaliptos com 14, 16 e 18 anos , em duas profundidades.....	50
Figura 15- Diagrama H/C versus O/C para AHs extraídos de um Gleissolo sob mata alagada (A); Cambissolo sob mata de morrote (B) e Argissolo sob plantios abandonados de eucaliptos com 14, 16 e 18 anos (C, D e E), em duas profundidades (1=0 - 0,10 m e 2=0,10 - 0,20 m). ....	54
Figura 16- Espectros de infravermelho de AHs extraídos de um Gleissolo sob mata alagada (A); Cambissolo sob mata de morrote (B) e Argissolo sob plantios abandonados de eucaliptos com 14, 16 e 18 anos (C, D e E), na profundidade 0 - 0,10 m. ....	65
Figura 17- Espectros de infravermelho de AHs extraídos de um Gleissolo sob mata alagada (A); Cambissolo sob mata de morrote (B) e Argissolo sob plantios abandonados de eucaliptos com 14, 16 e 18 anos (C, D e E), na profundidade 0,10 - 0,20 m.....	66

## RESUMO

MIRANDA, Cristiana do Couto; MS.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; março, 2005; Caracterização da Matéria Orgânica do Solo em fragmentos de Mata Atlântica e em plantios abandonados de eucalipto, Reserva Biológica União-RJ; Orientador: Prof. Luciano Pasqualoto Canellas; Co-orientador: Prof. Marcelo Trindade Nascimento.

A Mata Atlântica no Estado do Rio de Janeiro está reduzida a 19% de sua cobertura original. Parte desses remanescentes florestais está localizada na Reserva Biológica União, que também possui plantios de eucalipto que foram abandonados com a implantação da reserva. A compreensão do funcionamento desses ecossistemas é uma ferramenta necessária para a execução de um manejo eficiente da recuperação e conservação da reserva. No entanto, estudos sobre solos de fragmentos florestais de Mata Atlântica são mais escassos. Nesse contexto, a matéria orgânica do solo (MOS) destaca-se através do seu papel fundamental nos ciclos biogeoquímicos e como condicionador das propriedades físicas, químicas e biológicas do solo, sustentando a imensa biodiversidade desse bioma. As substâncias húmicas (SHs) constituem a fração estável do carbono. A

natureza química dessas frações húmicas reflete os processos de gênese do solo e da história social de seu uso e pode ser usada como um marcador estável da qualidade da matéria orgânica. O objetivo deste estudo foi usar a qualidade da matéria orgânica como um indicador do ambiente edáfico em áreas de mata nativa e de plantios abandonados de eucalipto de diferentes idades, localizados na Reserva Biológica União, RJ. Para tanto, foram avaliadas a distribuição da matéria orgânica humificada do solo através do fracionamento químico, e a natureza química de ácidos húmicos através de métodos químicos e espectroscópicos. Além disso, estudou-se uma possível relação entre a qualidade da matéria orgânica humificada e a regeneração de espécies nativas. Foram realizadas amostras compostas de solo em duas profundidades (0 - 0,10 m e 0,10 - 0,20 m). Os solos da reserva apresentaram fertilidade natural muito baixa indicada pela baixa CTC ( $< 6 \text{ cmol}_c \text{ kg}^{-1}$ ), pH ácido ( $< 5,5$ ) e elevado conteúdo de Al (entorno de  $2 \text{ cmol}_c \text{ kg}^{-1}$ ), condições estas limitantes para o processo de humificação. As SHs representaram, portanto, menos de 50% do carbono prontamente oxidável, indicando que a serrapilheira tem o papel central na nutrição das plantas e microrganismos. A distribuição relativa das frações que compõem a matéria orgânica humificada não foi alterada pela cobertura vegetal e nem pela classe de solo. Os ácidos húmicos apresentaram natureza química semelhante à normalmente encontrada para os ácidos fúlvicos tais como baixo conteúdo de carbono, razões H/C e O/C elevadas e acidez elevada, caracterizando material humificado pouco condensado. Porém, foi possível observar, através dos métodos espectroscópicos, diferenças entre os ácidos húmicos. A análise de infravermelho permitiu identificar diferenças na estrutura dos ácidos húmicos, apesar da funcionalidade similar indicando a presença de efeito do tipo de solo e da cobertura de vegetação, na assinatura química dos ácidos húmicos. O material humificado isolado da Mata Atlântica apresentou maior intensidade de fluorescência sugerindo maior labilidade e capacidade de ceder elétrons para reações químicas do solo. As diferenças discretas na qualidade da MOS e a baixa fertilidade natural dos solos estudados indicam que outros fatores ambientais devem estar influenciando para a baixa regeneração de espécies nativas nas áreas de eucaliptos e necessitam ser avaliados.

## ABSTRACT

MIRANDA, Cristiana do Couto; MS.; State University of North Fluminense Darcy Ribeiro; march, 2005; Characterization of the soil Organic Matter in fragments of Atlantic Forest and plantations abandoned of eucalypto, União Biological Reserve-RJ; Adviser: Prof. Luciano Pasqualoto Canellas; Co-adviser: Prof. Marcelo Trindade Nascimento.

Forest Atlantic in the State of Rio de Janeiro is reduced 19% of its original covering. Part of these forest remainders is located in the União Biological Reserve, that also possess plantations of eucalypto that they had been abandoned with the implantation of the reserve. The understanding of the functioning of these ecosystems is a necessary tool for the execution of an efficient handling of the recovery and conservation of the reserve. However, studies about soil of fragments of Forest Atlantic are scarcer. In this context, the soil organic matter (SOM) is distinguished through its basic paper in the biogeochemical cycles and as conditioning of the physical, chemical and biological properties of the soil, having supported the immense biodiversity of this biome. The humic substances (HSs) constitute the stable fraction of carbon. The chemical

nature of these humics fractions reflects genesis processes the soil and social history of its use and can be used as a quality marker of the organic matter. The aim of this study was to use the quality of the organic matter as a marker of the soil environment in areas of native forest and plantations abandoned of eucalypto of different ages, located in the União Biological Reserve, RJ. This, it has been evaluated the distribution of the humified fractions of the soil organic matter and the chemical nature of humic acids by chemical and spectroscopic methods. Moreover, a possible relationship was studied between the quality of the humified organic matter and the regeneration of native species. Soil samples were collected at the two depths (0 - 0,10 m and 0,10 - 0,20 m). The soil of the reserve had presented very low natural fertility indicated CEC ( $< 6 \text{ cmol}_c \text{ kg}^{-1}$ ), acid pH ( $< 5,5$ ) and high content of Al (around  $2 \text{ cmol}_c \text{ kg}^{-1}$ ), conditions are limitents to humification process. Therefore, HSs had represented less than 50% of readily oxidized carbon, indicating that the litter has the central role in the plants and microorganisms nutrition. The relative distribution of the humic fractions wasn't modified by the vegetal covering and nor by the soil class. The humic acids had showed similar chemical nature to normally found for the fulvic acids such as low carbon content and ration H/C, ration O/C and acidity high, characterizing humified material with low chemical evolution. However, it was possible to observe, through the spectroscopic methods, differences between the humic acids. The IR analysis allowed to identify differences in the structure of the humic acids, despite the similar functionality indicating the presence of effect of the type of soil and the covering of vegetation, in the chemical signature of these substances. The isolated humified material of Forest Atlantic presented greater fluorescence intensity suggesting high lability and capacity electrons donation for soil chemical reactions. The discrete differences in the quality of SOM and low natural fertility of studied indicate that other environment factors must be influencing for low regeneration of native species in the areas of eucalyptos and need to be evaluated.

## 1. INTRODUÇÃO

A Mata Atlântica é uma floresta tropical pluvial originalmente contígua, que se estendia do Nordeste ao Sul do país, ao longo da costa atlântica, com área correspondente a aproximadamente 15% do Brasil (IBGE, 2001). Compreende um complexo exuberante de ecossistemas que apresenta uma grande diversidade na fauna e flora, muitas vezes endêmica, contendo uma riqueza de patrimônio genético e paisagístico único de valor mundial. No entanto, é um dos biomas mais ameaçados do mundo, e encontra-se reduzida em 7% de sua cobertura original (Fundação SOS Mata Atlântica, 2001) devido à pressão dos ciclos econômicos iniciados desde o descobrimento do Brasil. A posterior intensificação da pressão demográfica e imobiliária agravou o problema. O Rio de Janeiro é um dos Estados que mais sofreram com o processo de devastação, restando apenas 19,24% da cobertura original (Fundação SOS Mata Atlântica, 2001). Essa retirada da cobertura vegetal nativa gerou grandes problemas ambientais, tais como a degradação do solo com a perda da matéria orgânica do solo (MOS) devido à intensidade e ao modelo de exploração.

Nesse contexto, a preocupação com a conservação e restauração da Mata Atlântica vem crescendo nos últimos anos. Pesquisas têm demonstrado que

a implantação de espécies arbóreas de rápido crescimento em áreas devastadas, como eucaliptos, ajuda na regeneração da mata (Lima, 1996), promovendo material orgânico e sombreamento necessários para as espécies nativas (Silva Junior et al., 1995). Entretanto, há algumas controvérsias (Resende et al., 1997; Lisanewick e Michelsen, 1994; Ndaw, 2003), tornando necessários mais estudos sobre esse processo. Nos ambientes tropicais e subtropicais de ocorrência natural da Mata Atlântica, onde há predominância de solos altamente intemperizados, a MOS tem um papel fundamental (Odum, 1988). Isto pode ser atribuído às múltiplas funcionalidades da MOS na produtividade do solo, que congregam a capacidade elevada de reter cátions; o fornecimento de nutrientes (ex: N, P, S); a influência no pH do solo; a promoção da estabilidade da estrutura do solo; o favorecimento da infiltração e retenção de água, da aeração e da atividade da biomassa microbiana (Zech et al., 1997; Bayer e Mielniczuk, 1999).

A MOS pode ser compreendida como um sistema complexo de substâncias, composta por resíduos de plantas e animais, em diferentes estádios de decomposição, assim como a biomassa microbiana (Moreno, 1996). A MOS morta é composta pelas frações não humificadas (restos vegetais e animais pouco decompostos e compostos orgânicos com categoria química definidas tais como aminoácidos, açúcares, ácidos graxos, etc...) e humificadas (substâncias húmicas). As diferentes frações de carbono orgânico humificado do solo apresentam características químicas, físicas e morfológicas diferenciadas entre si, e a distribuição destas frações no solo pode indicar a qualidade da MOS (Lima, 2004). Os ácidos húmicos (AHs), constituintes das substâncias húmicas (SHs), são compostos humificados estáveis, i.e., de difícil degradação (Stevenson, 1994). Esses compostos interagem com o meio circundante interferindo nas propriedades químicas, físicas e biológicas do solo (Canellas, 1999). São, portanto, um marcador natural do processo de humificação e refletem tanto a condição de gênese como a de manejo do solo (Zech et al., 1977).

A caracterização dos AHs pode auxiliar na compreensão da dinâmica da MOS, funcionando como um indicador do ambiente solo. Assim, monitoramentos do uso e alternativas de recuperação dos solos, conservação e ampliações dos remanescentes de Mata Atlântica podem ser mais eficientes.

Os objetivos deste trabalho foram avaliar a distribuição das frações húmicas, as características químicas e espectroscópicas dos AHs extraídos dos

solos de fragmentos de mata nativa e de plantios abandonados de eucalipto de diferentes idades, localizados na Reserva Biológica União, RJ. Além disso, também se estudou uma possível relação entre qualidade da matéria orgânica humificada e a densidade e riqueza de plântulas nessas áreas analisadas.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

A destruição da Mata Atlântica foi mais acentuada nas três últimas décadas com o incremento da industrialização. Hoje, quase todas as florestas originais estão devastadas, e a contínua degradação dos remanescentes florestais existentes está colocando a Mata Atlântica como um conjunto de ecossistemas ameaçados de extinção (Fundação SOS Mata Atlântica, 2001).

As iniciativas de proteção da Mata Atlântica tiveram início no Brasil na década de 80 com uma intensa mobilização da sociedade civil para a preservação desse bioma. Unidades de conservação (UCs) foram criadas com intuito de preservar e conservar o bioma atlântico, porém, essas áreas correspondem a apenas 2% dos remanescentes (RadamBrasil, 1981).

O Estado do Rio de Janeiro contém uma importante região de Mata Atlântica, abriga enorme biodiversidade de grupos da flora e fauna e é um dos maiores centros de endemismo do país (Rocha et al., 2003). No entanto, sofreu um intenso processo de fragmentação, estando atualmente representada por apenas 19% de mata da sua cobertura original (Fundação SOS Mata Atlântica, 2001). A Mata Atlântica da região Norte Fluminense sofreu grande processo de

desmatamento, sendo substituída por pastagens, plantações de cana-de-açúcar e plantios de eucalipto, resultando numa vegetação remanescente altamente fragmentada (Rocha et al., 2003), que, muitas vezes, localiza-se em propriedades privadas. Apenas uma fração sofreu pouca perturbação antrópica. Nesta região existem duas UCs, que estão em áreas de Mata Atlântica de Baixada as Reservas Biológicas Poço das Antas e União. Esta última, antes conhecida como Fazenda União, pertencia à Rede Ferroviária Federal, vinculada ao Ministério de Transporte. Nesta época, foi realizado um plantio de eucalipto para produção de dormentes, com intuito de abastecer a linha férrea. Hoje esse plantio cobre 215 ha da reserva. Durante o trabalho de tese da pesquisadora da Associação Mico-Leão-Dourado-AMLD, Cecília Kierulff, a então fazenda União foi identificada como sendo uma área de grande importância para a conservação dessa espécie animal, além de possuir uma das mais preservadas áreas de Mata Atlântica de baixada contínua do Estado do Rio de Janeiro. Em 1996, com a privatização da Rede Ferroviária, o IBAMA, Instituições Científicas, ONGs e conservacionistas de várias nacionalidades solicitaram ao Governo Federal que a área fosse transformada em uma UC. Pelo decreto de 22/04/1998, a área foi então transformada na Reserva Biológica União.

Em 1994 foram iniciados estudos sobre a fenologia de plantas utilizadas pelo mico leão dourado, dentro do Projeto Translocação, coordenado pela Associação Mico-Leão-Dourado. Entretanto, os estudos se intensificaram a partir de 1999, após assinatura de convênio de cooperação técnica entre o Laboratório de Ciências Ambientais da UENF e o IBAMA, o qual já deu origem a estudos acerca do sub-bosque dos plantios de eucalipto abandonados, como o levantamento florístico (Rabelo, 2003), a análise de nutrientes do solo (Villela *et al.*, 2001a), a avaliação da biomassa do estrato rasteiro e do estoque de serrapilheira (Villela *et al.*, 2001b), e o levantamento florístico da mata nativa (Rodrigues, 2004), entre outros. Embora se destaque a importância das UCs neste cenário de destruição de áreas naturais, causado pela expansão da civilização humana, ainda são escassos os estudos na área da ecologia vegetal e solos nas matas da Reserva Biológica União.

Para se propor alternativas mais eficientes de preservação, conservação e recuperação nas áreas de Mata Atlântica remanescentes, é necessário

conhecer o funcionamento desses ecossistemas e suas modificações frente às perturbações.

## **2.1. Aspectos gerais da funcionalidade de ecossistemas florestais tropicais**

Em um ecossistema natural, a regulação interna de seu funcionamento é, basicamente, um produto da diversidade biológica, que controla o fluxo de energia e nutrientes (Swift e Anderson, 1993). Nos ecossistemas tropicais, os solos são, geralmente, bastante intemperizados, apresentando baixa fertilidade natural. Portanto, o crescimento de espécies nativas e cultivadas depende da composição da serrapilheira para o "status" de nutrição do solo (Okeke e Omaiko, 1992). A matéria orgânica atua como a principal fonte de nutrientes para o crescimento vegetal através da decomposição e liberação de nutrientes pelos microrganismos e pela fauna do solo (Correia e Andrade, 1999). Essa parte orgânica do solo é um sistema dinâmico que se renova continuamente como resultado da neoformação e decomposição das substâncias que a integram. Esse processo é dependente tanto de fatores bióticos como a cobertura vegetal, atividade dos microrganismos e fauna do solo quanto de fatores abióticos tais como regime hídrico e térmico e propriedades química e física do solo (Kononova, 1982). Nesse contexto, a cobertura vegetal tem um papel fundamental, pois é a principal fornecedora de compostos orgânicos através da ciclagem de nutrientes. Além disso, atua como a principal fonte de energia para os microrganismos e animais do solo determinando a quantidade e a natureza dos restos vegetais, assim como a decomposição no solo (Kononova, 1982). Quanto maior a diversidade da comunidade vegetal, maior será a heterogeneidade da serrapilheira, que apresentará um maior número de nichos a serem colonizados, resultando em maior diversidade das comunidades da fauna do solo (Correia e Andrade, 1999) que atuam diretamente na formação da MOS. Entretanto, a permuta de florestas nativas por florestas plantadas diminui a diversidade vegetal, ocasionando mudanças nesse processo.

A baixa qualidade da serrapilheira encontrada em florestas plantadas como as de eucalipto, é devido à alta concentração de lignina, que é a substância mais resistente à decomposição e conseqüentemente, à liberação de nutrientes para a regeneração de outras espécies (Lisanewok e Michelsen, 1994; Ndaw, 2003; Froufe, 2003). Quanto melhor a qualidade nutricional e orgânica do

material, mais eficiente é a biomassa microbiana na mineralização dos nutrientes, principalmente do nitrogênio (N). Além disso, a grande eficiência na ciclagem interna de nutrientes que leva ao rápido crescimento de espécies exóticas, como eucaliptos, proporciona menor liberação de nutrientes para o solo (Lisanetwork e Michelsen, 1994). Isso afeta a diversidade da fauna do solo (Resende et al., 1997). Alguns estudos afirmam que a redução da diversidade de espécies atua negativamente na produtividade do ecossistema, alterando o desempenho deste (Naeem et al., 1994; Tilman et al., 1996; Niklaus et al., 2001; Ndaw, 2003), além da retenção de nutrientes (Tilman et al., 1996; Hooper, 1998), devido à diminuição da diversidade microbiológica, que, por sua vez, afeta na imobilização dos nutrientes no solo. Entretanto, pesquisas com espécies de gramíneas temperadas mostraram que a diversidade tem pouco efeito sobre a biota do solo e teor de nutrientes (Gastine et al., 2003), demonstrando a necessidade de mais estudos nessa área a fim de se compreender melhor a influência da densidade e diversidade de plantas na qualidade da MOS.

É evidente que a qualidade do substrato representa um fator primordial na velocidade e no tipo de húmus formado. As formas de húmus estão intimamente relacionadas com os diferentes ecossistemas, resumindo os dois processos básicos que caracterizam o seu funcionamento, que são a produtividade e a decomposição (Kindel e Garay, 2001).

A estreita interação entre matéria orgânica e cobertura vegetal mostra as diferentes relações entre ambientes. A decomposição da matéria orgânica pode ser considerada a chave do processo dessa comunicação devido ao fluxo de energia e de nutrientes no ecossistema, que é sensível à biodiversidade (Hector et al., 2000), pois reflete a interação entre os componentes bióticos e abióticos do sistema, expressando a qualidade do “ambiente solo” (Mielniczuk, 1999).

## **2.2. Matéria orgânica: aspectos gerais e humificação**

A MOS representa a maior reserva de carbono terrestre (Schnitzer, 1991; Zech et al., 1997). Sua constituição compreende um conjunto de compartimentos orgânicos dentro do sistema solo (Figura 1), que são representados pela fração viva (raízes de plantas, fauna e microrganismos do solo) e pela fração morta, que se subdivide em fração não humificada (restos vegetais e animais pouco decompostos e compostos orgânicos com categoria bioquímica bem definida,

como ceras, polissacarídeos e proteínas) e fração humificada (sem estrutura definida, resistente ao ataque microbiano, denominada substâncias húmicas) (Theng et al., 1989). Esse sistema complexo de substâncias é governado pela sua transformação contínua sob ação de fatores biológicos, químicos e físicos (Camargo et al., 1999) tais como a natureza dos restos orgânicos, que consistem principalmente da cobertura vegetal; a fauna e microbiota do solo, responsáveis pela decomposição da MOS; o clima, que é determinante sobre a vegetação; umidade; aeração; temperatura; presença de determinados nutrientes, para a propagação microbiana; característica mineralógica do solo; pH do solo; presença de substâncias inibidoras e atuação humana (Moreno, 1996).

A incorporação da MOS ao solo, após a morte dos organismos, promove a continuidade dos ciclos biogeoquímicos, principalmente do carbono, do nitrogênio, do fósforo e do enxofre, participando da regulação dos ciclos de matéria, energia e de seres vivos.

Nos solos tropicais altamente intemperizados, a MOS tem um importante papel na produtividade, pois domina a reserva de nutrientes (N, P, S, como cátions básicos, Ca, Mg, K e Na); melhora a capacidade de reter água, influencia no pH do solo, apresenta um papel cimentante na estrutura do solo; possui alta capacidade de troca catiônica (CTC) evitando a lixiviação de cátions metais (Zech et al., 1997) além de estimular vários processos fisiológicos e bioquímicos associados ao metabolismo celular (Schnitzer, 1991; Canellas et al., 2002a). Desta forma, perdas de MOS e de suas funções levam a perdas da qualidade do ambiente (Sanchez et al., 2003).

<b>MOS</b>	<b>Viva</b> raramente > 4% do C orgânico	<p>Microorganismos (60-80%)</p> <p>Macroorganismos (15-30%)</p> <p>Raízes (5-10%)</p>	<p>Fungos</p> <p>Bactérias</p> <p>Microfauna</p> <p>Mesofauna</p> <p>Macrofauna</p>	<p>*Protozoários</p> <p>*Nematóides</p> <p>* Ácaros</p> <p>*Minhocas</p> <p>*Térmitas</p>
	<b>Morta</b> ± 98% do C orgânico	<p>Matéria Macroorgânica</p> <p>Húmus (80-90%)</p>	<p>Resíduos vegetais de diferentes estádios de decomposição</p> <p>Sustâncias não húmicas (30%)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Lipídeos</li> <li>• Ácidos orgânicos de baixo peso molecular</li> <li>• Proteínas</li> <li>• Pigmentos</li> </ul> <p>Substâncias húmicas (70%)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ácidos húmicos</li> <li>• Ácidos fúvicos</li> <li>• Huminas</li> </ul>	

**Figura 1-** Composição da matéria orgânica do solo. Fonte: Machado (1999).

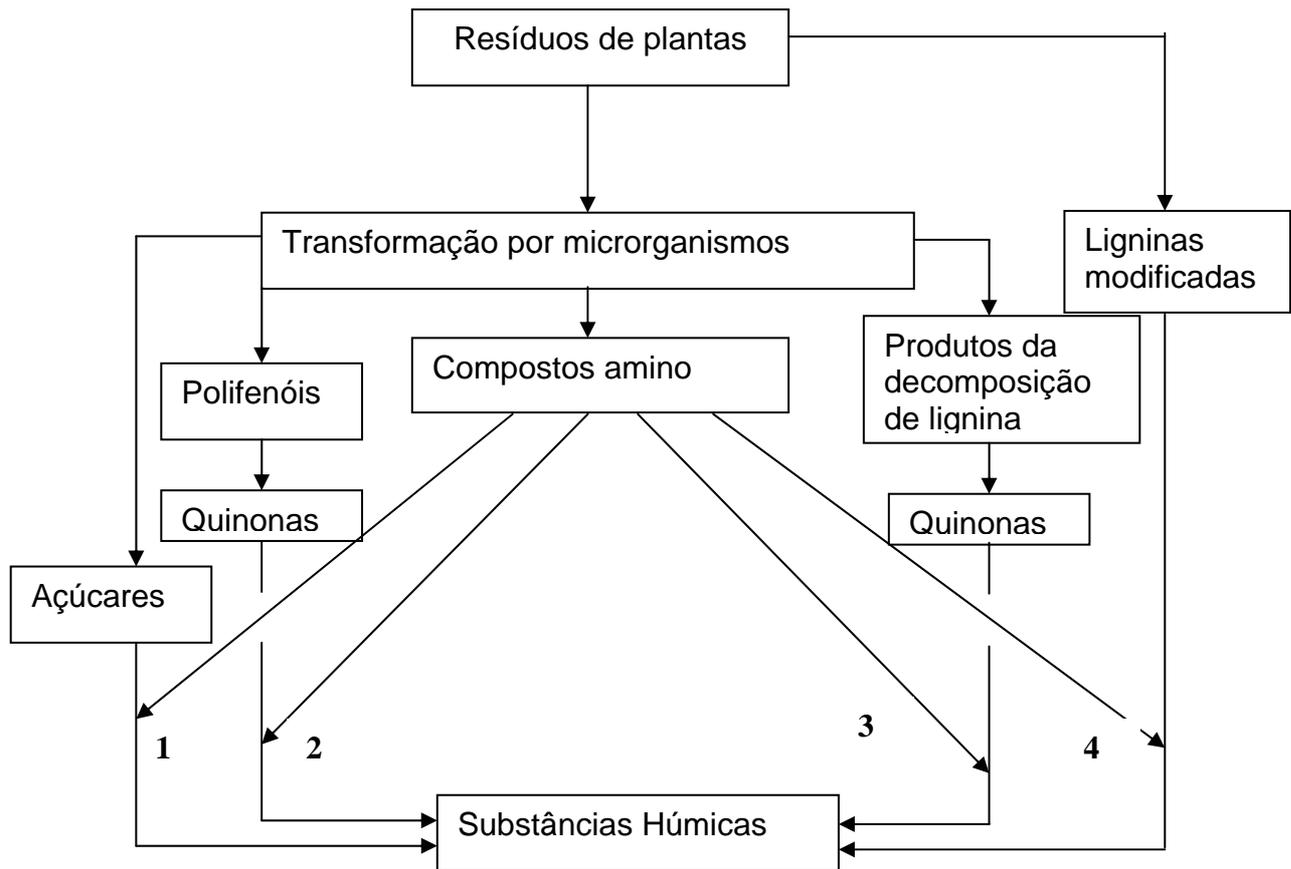
A estrutura e a qualidade da MOS e os padrões de distribuição dos nutrientes funcionam como diagnóstico da integridade do ecossistema a partir do momento que estão em relação direta com sua biodiversidade, podendo ser utilizados como indicadores do estado de sistemas perturbados (Kindel, 2001).

A evolução da MOS compreende as transformações ocorridas desde a incorporação da matéria orgânica fresca até a formação de frações humificadas mais estáveis. Essas transformações são separadas teórica/esquemáticamente em dois processos segundo Camargo et al. (1999), ou seja, a mineralização e a humificação. A mineralização é o processo correspondente à degradação dos compostos orgânicos pela atividade biológica, transformando cerca de 70 a 80%

da matéria orgânica em moléculas simples, como CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O, permanecendo no solo uma pequena fração de compostos solúveis e compostos lignificados parcialmente transformados. Já a humificação, genericamente engloba, as reações bioquímicas de formação de compostos orgânicos mais complexos, baseada na síntese e/ou ressíntese dos produtos da mineralização dos compostos orgânicos que chegam ao solo. Essas transformações incluem um conjunto de reações de oxidação, desidratação, hidrólise, descarboxilação e condensação, que são influenciadas pelas condições do solo tais como: tipo de argila, pH e teor de bases (Zech et al., 1997) e pela composição química dos resíduos orgânicos, que afetam a atividade dos microrganismos influenciando diretamente nesse processo (Kononova, 1982).

Stevenson (1994) reuniu três mecanismos básicos de formação das substâncias húmicas (SHs): (I) compostos nitrogenados oriundos da atividade microbiológica que podem reagir com ligninas modificadas; (II) polifenóis que podem ser oxidados até quinonas, e posteriormente, condensados através de reações com compostos aminados; e (III) açúcares reduzidos que podem reagir com compostos aminados evoluindo até macropolímeros de coloração escura e massa molecular elevada (Figura 2). As SHs resultantes do processo de humificação representam a fração mais estável da MOS, atribuída à heterogeneidade química e às interações com cátions e minerais argilosos (Theng et al., 1989; Canellas, 1999). De acordo com Moreno (1996), as SHs representam um conjunto heterogêneo de substâncias muito polimerizadas, de peso molecular relativamente alto, que reúnem compostos aromáticos e alifáticos em sua estrutura, apresentam coloração escura, propriedades coloidais e hidrofílicas marcadas e alta capacidade de intercâmbio iônico.

De forma operacional, as SHs podem ser classificadas em ácidos fúlvicos (AF), solúveis em meio ácido ou básico; ácidos húmicos (AH), solúveis em meio básico e insolúveis em meio fortemente ácido, e pela fração residual da extração alcalina denominada huminas (Figura 1).



**Figura 2-** Mecanismos de formação das SHs: compostos amino sintetizados reduzindo açúcares (1), reagindo com quinonas (2 e 3) e com ligninas modificadas (4). Fonte: Stevenson (1994).

As diferentes frações humificadas apresentam características químicas, físicas e morfológicas diferenciadas entre si, e a distribuição destas no solo pode indicar a qualidade da matéria orgânica. O uso da distribuição relativa das frações de matéria orgânica foi proposto por Kononova (1982) e Schnitzer (1991) como indicador da mudança de manejo do solo ou da qualidade do ambiente.

Em regiões distintas, como Cerrado e Floresta Amazônica, a mudança da cobertura vegetal natural para pastagem refletiu na diminuição de ácido fúlvico e humina e nos teores de N-total e C-orgânico, evidenciando o efeito do tipo da cobertura vegetal sobre teor e distribuição dos componentes orgânicos em solos tropicais (Longo e Espíndola, 2000). Entretanto, alguns estudos demonstraram que, em áreas agrícolas, as diferentes coberturas não refletem grandes mudanças qualitativas na distribuição das frações humificadas e nas características químicas de AHs do solo (Ceretta, 1995; Canellas et al., 2002b).

No entanto, solos de sistemas naturais, geralmente não possuem uniformidade como nas áreas agrícolas.

Assumindo qualquer das várias possibilidades para o processo de estabilização dos compostos orgânicos no solo, os AHs representam a fração intermediária entre a estabilização dos compostos, pela interação com a matéria mineral (huminas), e a ocorrência de ácidos orgânicos oxidados livres na solução do solo (ácidos fúlvicos livres ou associados). Os AHs são, portanto, um marcador natural do processo de humificação e refletem, como tal, tanto a condição de gênese como de manejo do solo (Moreno, 1996). Solos de ambientes temperados, naturalmente férteis, apresentam teores relativos maiores de AHs e valores da relação  $C_{AH}/C_{AF}$  maiores que 1,0, variando de 0,7 a 2,5, (Kononova, 1982). Já a fração orgânica dos solos tropicais é dominada pelas huminas, e tanto a intensa mineralização dos resíduos como restrições edáficas à atividade biológica tornam os valores da relação  $C_{AH}/C_{AF}$  menores do que 1,0 (Dabin, 1981; Canellas et al., 2000). De uma forma geral, o baixo conteúdo de bases trocáveis nos solos mais intemperizados diminui a intensidade dos processos de humificação (condensação e síntese). Em consequência, a relação  $C_{AH}/C_{AF}$  é menor.

### **2.3. Ácidos húmicos (AHs)**

Os AHs são definidos genericamente como macromoléculas orgânicas de massa molecular relativamente elevada e de coloração escura (Stevenson, 1994). Essa fração possui um papel chave como composto orgânico humificado marcador no solo, uma vez que, durante o processo de humificação, é esta a fração que sofre as maiores mudanças em sua estrutura. Nos ácidos fúlvicos e huminas ocorrem somente pequenas alterações na estrutura (Kögel-Knaber et al., 1987). Mais tarde, Zech et al. (1997) confirmaram estas observações baseadas no fato de que o comportamento espectroscópico dos ácidos fúlvicos é essencialmente de polissacarídeos e os das huminas é de biopolímeros transformados de natureza apolar, intimamente associados à fração mineral sem maiores alterações em função do manejo do solo.

Os AHs foram usados para avaliação do efeito da cobertura vegetal sobre a qualidade da MOS (Sighal e Sharma, 1983; Zhang et al., 1988; Martin et al., 1998; Canellas et al., 2002b; Lima, 2004) assim como o manejo sobre a qualidade

do solo (Bayer et al., 2000; Bayer et al., 2002). O efeito do relevo sobre a qualidade de MOS pode ser observado através da distribuição das frações humificadas (Canellas et al., 2000); das características dos AHs (Bravard e Righi, 1991) e do material de origem na composição do húmus do solo (Baranciková et al., 1997).

Os AHs apresentam quatro grandes sub-unidades estruturais formadas por (I) longas cadeias alquílicas, (II) polissacarídeos e compostos nitrogenados, (III) derivados aromáticos e (IV) grupamentos carboxílicos (Stevenson, 1994). A composição dessas sub-unidades estruturais difere substancialmente entre os diferentes tipos de solos e pode ser usada como um marcador das modificações do ambiente (Zech et al., 1997). O grau de evolução dos AHs indica a extensão do processo de humificação. Os parâmetros mais comuns que norteiam o conceito de evolução dos AHs (e das SHs em geral) são as transformações químicas avaliadas pela diminuição do grau de oxigenação, ou seja, diminuição no conteúdo de grupamentos  $\text{CO}_2\text{H}$ ,  $\text{CO}$ ,  $\text{OH}$  e  $\text{OCH}_3$  (Kögel-Knaber et al., 1987); a diminuição da absorvância nos AHs mais evoluídos (Kumada, 1987); a razão  $E_4/E_6$  (absorbância em 465 nm/absorbância em 665 nm) relacionada inversamente por Kononova (1982) com a massa molecular e com grau de complexidade estrutural; a diminuição do teor de radicais livres do tipo quinonas (Pérez et al., 2004), e, finalmente, o aumento do conteúdo de C na composição elementar (Stevenson, 1994).

Modificações quantitativas e qualitativas da MOS podem ser usadas como indicadores sensíveis da sustentabilidade de um sistema (Mielniczuk, 1999). O fracionamento da MOS e a extração, isolamento e purificação dos AHs são etapas fundamentais para a caracterização química das frações húmicas.

#### **2.4. Caracterização química da matéria orgânica do solo (MOS)**

Nas últimas décadas, as pesquisas sobre substâncias húmicas (SHs) tiveram um grande salto devido à utilização de novas técnicas analíticas e espectroscópicas. Além disso, o aperfeiçoamento das técnicas de fracionamento da MOS, isolamento e purificação do material humificado também colaborou nesse processo.

A separação das SHs da fração mineral, dos materiais não humificados e da fração viva do solo, assim como a obtenção de frações mais homogêneas, é

necessária para a caracterização química através da composição elementar, análise de grupos funcionais, análises espectroscópicas de ultravioleta-visível (UV-Visível), fluorescência e infravermelho (IV), que foram utilizadas neste estudo.

#### **2.4.1. Fracionamento químico das substâncias húmicas (SHs)**

Para que as frações húmicas (AHs, AFs e huminas) sejam isoladas no processo de fracionamento, são utilizados solventes que conseguem solubilizar esse material. Stevenson (1994) considera que o solvente ideal deveria permitir o isolamento do material sem alteração de suas características físico-químicas; extrair as SHs livres de contaminantes inorgânicos, como argila e cátions polivalentes e ainda poderia ser aplicado em todos os tipos de solos. Isso ainda não é possível, no entanto, diversos solventes são disponíveis para a extração desses materiais. De acordo com suas características químicas e físicas, os principais solventes utilizados na extração de SHs são as bases fortes, sais neutros e, ainda, os solventes orgânicos (Guerra e Santos, 1999).

Os diversos solventes apresentam suas respectivas vantagens e desvantagens tais como o NaOH, que extrai maior porcentagem de material do que qualquer outro extrator, mas pode provocar dissolução de ácido sílico, contaminando o material húmico; a dissolução de materiais ainda não degradados; as alterações químicas (hidrólise de polímeros, aminoácidos e açúcares ou reações de condensação entre compostos nitrogenados, fenóis ou aldeídos) levando à formação artificial de AHs; e a reação com o oxigênio da solução extratora, que pode promover alterações no material húmico extraído, sendo esta última evitada com a manipulação na atmosfera de nitrogênio (Guerra e Santos, 1999). Os solventes extraem diferentes percentagens do material humificado (quadro 1). No entanto, as soluções aquosas de bases como NaOH 0,1 ou 0,5 mol L<sup>-1</sup> são eficientes na extração do material húmico, e o tratamento prévio com H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 2mol L<sup>-1</sup> remove Ca<sup>2+</sup> e outros cátions polivalentes da solução, aumentando os rendimentos da extração. Isso ocorre devido ao mecanismo de repulsão eletrostática das cargas negativas dos grupamentos funcionais ácidos que estão dissociados em valores elevados de pH (Canellas et al., 1999). Além disso, a Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS) padroniza essa

extração com a utilização de NaOH 0,5 mol L<sup>-1</sup>, na razão solvente:solo 1:10 (v:v), de forma a possibilitar as comparações entre os diversos trabalhos.

**Quadro 1-** Reagentes usados na extração das substâncias húmicas do solo

<b>Tipo de Material</b>	<b>Extrator</b>	<b>Matéria orgânica extraída (%)</b>
	<b>Bases Fortes</b>	
	NaOH	80%
	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	30%
	<b>Sais neutros</b>	
	Na <sub>4</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> , NaF,	30%
<b>Substâncias húmicas</b>	Sais de ácidos orgânicos	30%
	<b>Quelatos orgânicos</b>	
	<i>Acetylacetone Cupferron 8-hydroxyquinoline</i>	30%
	Ácido fórmico (HCOOH)	55%
	Acetona-H <sub>2</sub> O-HCl	20%

Fonte: Stevenson (1994).

#### 2.4.2. Extração, isolamento e purificação dos AHs

Dentre as frações das SHs, o AH é o componente que sofre as maiores alterações no processo de humificação. Sua caracterização pode refletir um indicador do ambiente solo. No entanto, para identificação das propriedades físico-químicas são necessárias a separação e purificação dos AHs das demais frações, sejam minerais ou orgânicas.

A extração dos AHs pode ser realizada através das bases, sais neutros e solventes orgânicos. Soluções aquosas de NaOH 0,1 ou 0,5mol L<sup>-1</sup> são freqüentemente utilizadas na extração e purificação dos AHs. Sua solvatação, nesse extrato alcalino se deve ao mecanismo de repulsão eletrostática das cargas negativas dos grupamentos funcionais ácidos que estão dissociados em valores elevados de pH (Canellas, 1999).

Em geral, diversos extratores podem ser utilizados, como citado no item anterior. No entanto, a Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS) apresenta uma padronização de metodologias e extratores, a qual segue este presente estudo. Essa extração é feita com NaOH 0,5 mol L<sup>-1</sup> sob atmosfera de N<sub>2</sub>. Uma redução considerável das impurezas minerais é obtida pelo tratamento com HCl–HF e diálise contra água deionizada (membrana 14 Kda, Thomas Sci., Inc.), pois o HF tem capacidade de dissolver argilo-minerais formando complexos solúveis com silício.

## 2.5. Composição elementar dos AHs

As SHs são moléculas heterogêneas complexas, sem estrutura definida, mas que possuem componentes característicos em sua formação (Piccolo, 2002). Dessa forma, a composição elementar, ou seja, a distribuição relativa dos principais átomos presentes na rede estrutural das frações húmicas (C, H, O, N e S), expressa, de certa forma, os processos de sua formação e indica seu grau de evolução, além deste ser influenciado por fatores como pH, material de origem, vegetação e idade do solo (Stevenson, 1994). Essa análise revela que os AHs apresentam uma natureza química particular, distinta de qualquer substância animal ou vegetal (Kononova, 1982).

A composição elementar pode ser obtida por analisadores elementares disponíveis comercialmente. Utiliza-se pequena quantidade de AH, (em miligramas), e os gases liberados durante a combustão das amostras são analisados. O conteúdo relativo dos átomos é expresso em função da massa inicial; para isto é necessário determinar o teor de cinzas (elementos minerais persistentes no material após a purificação).

O conteúdo de O é obtido, geralmente, de forma indireta, pela diferença do somatório da composição de C,H,N, de acordo com a seguinte fórmula:

$$O (\%) = 100 - C\% + N\% + H\%$$

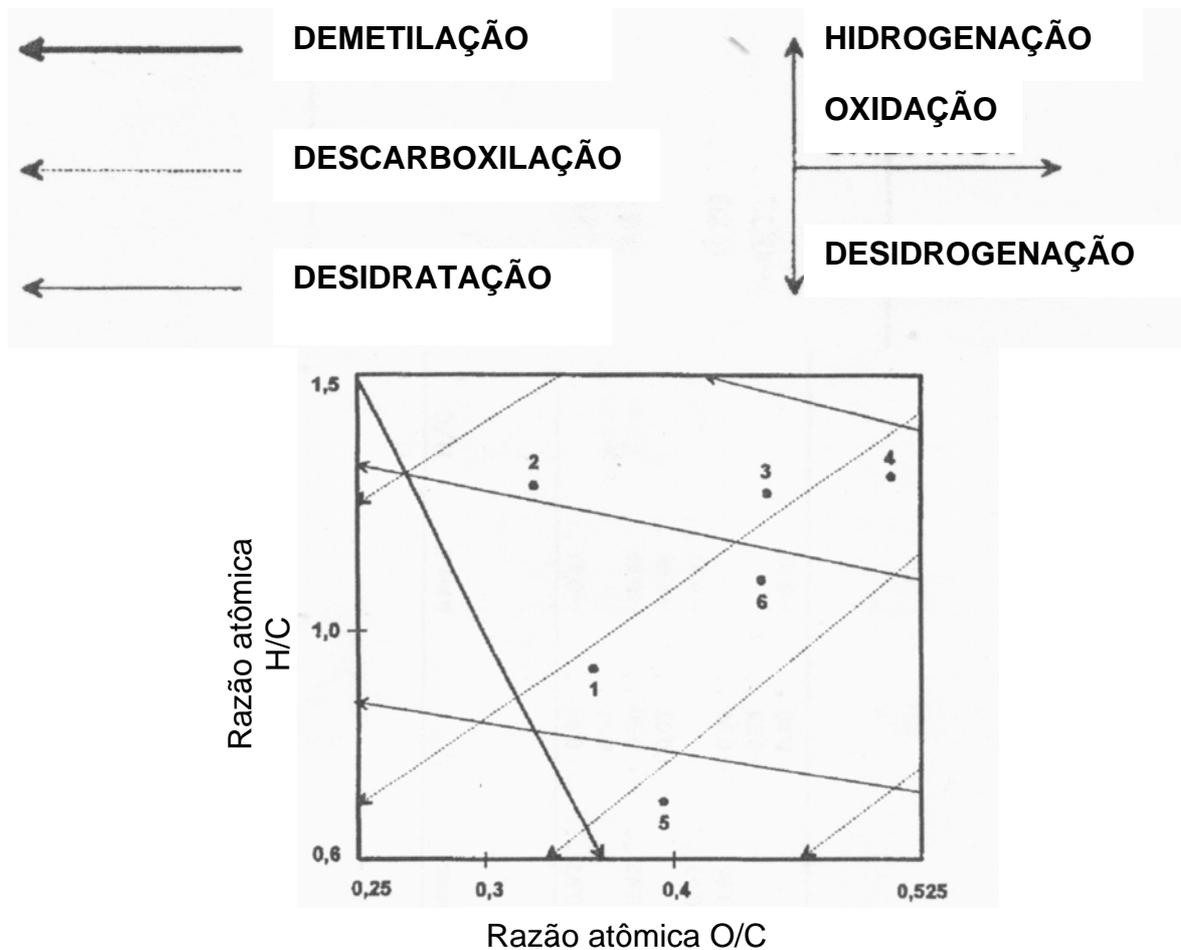
Esta fórmula desconsidera os teores de enxofre presentes nos AHs, que são normalmente baixos.

Com o avanço do processo de humificação ocorre aumento do conteúdo de C e diminuição de H e O na estrutura húmica devido às reações de polimerização e condensação (Canellas et al., 1999). Segundo estes autores, a diminuição do conteúdo de O decorre principalmente, do processo de

descarboxilação, considerando que os AHs possuem menor conteúdo de grupamentos COOH do que os AFs.

A partir da análise elementar é possível calcular as razões atômicas (O/C, H/C e C/N) que podem ser utilizadas na caracterização de AHs (Rice e MacCarthy, 1991; Lu et al., 2000). A magnitude da razão atômica H/C reflete, indiretamente, o grau de insaturações, i.e., o grau de condensação das SHs (Kononova, 1982; Stevenson, 1994). É possível inferir que uma provável natureza mais alifática das estruturas húmicas corresponda a valores mais elevados da relação H/C, e valores mais baixos da relação O/C indiquem material humificado menos oxidado, com maior grau de condensação. Já a razão C/N pode ser considerada um indicador de fontes das SHs no meio natural (Lu et al., 2000), como de resíduos mais ou menos lignificados.

O gráfico formado pelas razões atômicas H/C versus O/C, conhecido como diagrama de Van Krevelen, é freqüentemente usado como indicador da intensidade das principais reações do processo de humificação (desidratação, demetilação, descarboxilação, hidrogenação e oxidação) (Garcés, 1987; Rice e MacCarthy, 1991). Exemplo desse diagrama pode ser observado na Figura 3.



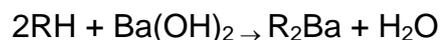
**Figura 3-** Diagrama H/C versus O/C para AHs extraídos de diferentes solos (1=Chernossolo Rendzico, 2= Planossolo Háplico Distrófico, 3= Cambissolo Háplico Eutrófico, 4= Luvisolo, 5= Chernossolo Argilúvico e 6= Cambissolo Hístico). Fonte: Baranciková et al. (1997).

## 2.6. Análise de grupamentos funcionais

As cargas negativas dependentes do pH do solo participam da maioria das reações no solo, onde as substâncias húmicas possuem um papel importante apresentando uma capacidade de troca catiônica (CTC) que varia de 400 a 1400  $\text{cmol}_c \text{Kg}^{-1}$  (Canellas et al., 1999). As reações de troca catiônica são fundamentais para o suprimento de nutrientes às plantas, na ciclagem de nutrientes e na fertilidade do solo devido ao fornecimento de íons como  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ , entre outros, às plantas (Stevenson, 1994).

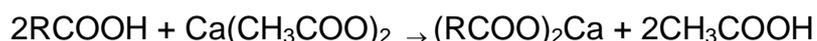
As cargas negativas susceptíveis às reações de substituição eletrofilicas das SHs são fornecidas principalmente pelos grupos funcionais carboxílicos (COOH) e OH-fenólicos (MacCarthy et al., 1990). Assim, a reatividade química dos AHs pode ser medida obtendo-se a acidez total das moléculas, definida como a soma dos grupamentos COOH e OH-fenólicos. No entanto, alguns problemas ainda são apresentados na determinação desses grupamentos em função da natureza complexa dos AHs, de sua insolubilização em água e, na maioria dos solventes orgânicos, da sua interação com reagentes usados formando derivados, e de sua natureza não estequiométrica (Stevenson, 1994).

Nesse contexto, diversos métodos de análise de cada um desses grupos, foram desenvolvidos. Os métodos adotados neste estudo foram os descritos por Schnitzer e Gupta (1965), pois são simples e não requerem equipamentos especiais, podendo ser usados em análises de rotina. Assim, a acidez total é determinada com a adição de Ba (OH)<sub>2</sub> 0,5 mol L<sup>-1</sup>, baseando-se na liberação de H<sup>+</sup> dos grupos ácidos que ionizam com o pH da solução reativa, conforme a seguinte reação:



Onde R é a macromolécula e H é o próton do grupamento ácido (COOH ou OH fenólico).

Para determinação da acidez carboxílica (COOH) é, geralmente, utilizado o Ca(OAc)<sub>2</sub>, onde somente os grupos COOH ionizam, segundo a reação abaixo:



O ácido acético liberado é titulado com solução de NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup>.

A acidez fenólica é obtida pela diferença entre a acidez total e a acidez carboxílica.

Essas cargas negativas dependentes do pH do solo permitem que os AHs participem das reações da solução do solo, influenciando na dinâmica deste (Canellas, et al. 1999). Além disso, a CTC dos AHs (Quadro 2) é significativamente maior que a CTC dos minerais de argila 1:1, que predominam em solos altamente intemperizados, como a caulinita (CTC de 3-5 cmol<sub>c</sub> Kg<sup>-1</sup>), demonstrando o importante papel dessa fração nas reações do solo.

**Quadro 2-** Acidez total, carboxílica (COOH) e OH fenólica de ácidos húmicos de diferentes solos ( $\text{cmol}_c \text{kg}^{-1} \text{AH}$ )

Solo	Tipo de vegetação	Acidez Total	Acidez COOH	Acidez OH fenólica
Inceptisol	Banana (Venezuela)	770	315	455
Alfisol	Sorgo (Venezuela)	665	250	415
Entisol	Savana (Venezuela)	1177	209	968
Vertisol	Savana inundada (Venezuela)	547	212	334
Oxisol	Floresta alta (Venezuela)	724	214	483
Spodosol	Floresta de caatinga amazónica (Venezuela)	715	290	425
Vertic Cambisol	Gramínea (Itália)	757	382	375
Orthic Podzol	Floresta de conífera (França)	931	428	503
Argiudoll	Cultivo convencional (Argentina)	1070	380	690
Argiudoll	Cultivo não convencional (Argentina)	1020	370	650
Brown Reddish sand	Citrus (Israel)	772	360	412
Argissolo Amarelo	Cana-de-açúcar (Brasil)	1340	1227	113
Argissolo Amarelo	Eucalipto (Brasil)	1331	1321	111

Fonte: Chen et al. (1978); Rossel et al. (1989); Rivero et al. (1998); Canellas et al. (2002b); Senesi et al. (2003).

## 2.7. Caracterização Espectroscópica

As técnicas espectroscópicas são dispositivos que colaboraram para o grande avanço no estudo da MOS, no século XX. Essas técnicas conferem medidas em diversas regiões do espectro eletromagnético, permitindo análises não destrutivas e que requerem pouca quantidade de amostras (Stevenson, 1994). Além disso, são, na maioria, experimentos simples que não necessitam de manipulação especial.

Para macromoléculas heterogêneas e com estruturas complexas como as SHs, não é possível obter uma estrutura molecular discreta. No entanto, essas análises espectroscópicas permitem a distinção das SHs de diversos ambientes, caracterizando-as quanto às suas funcionalidades e reatividades.

Dentre as técnicas espectroscópicas mais utilizadas (Kononova, 1982; Stevenson, 1994; Canellas, 1999; Senesi et al., 2003; Pérez et al., 2004), neste trabalho destacaremos a absorção no ultravioleta-visível (UV-Visível) e a espectroscopia de fluorescência, baseadas na transição molecular; e a espectroscopia de infravermelho, baseada na vibração molecular.

### 2.7.1. Espectroscopia de UV-Visível: Razão $E_4/E_6$

A introdução dessa técnica espectroscópica no estudo das SHs aconteceu por volta de 1930, o que permitiu um grande avanço nesta área. Essa técnica baseia-se nas transições eletrônicas resultantes da absorção de luz. Essas transições liberam energia na forma de calor ou radiação eletromagnética (Skoog et al., 2002).

A absorção de energia no UV-Visível corresponde à faixa de 200 a 800 nm. A absorção por compostos orgânicos deve-se à presença de cromóforos (grupos de átomos com ligações insaturadas) que contêm elétrons de valência com energia de excitação relativamente baixa (Skoog et al., 2002). Os auxocromos são grupamentos (OR, NR<sub>2</sub>, NO<sub>2</sub>, ou CO<sub>2</sub>R) que alteram a capacidade de absorção do cromóforo.

Os espectros de UV-Visível correspondem a um gráfico de frequência ou comprimento de onda de absorção em função da intensidade de absorção, medida em absorbância. Para as SHs que apresentam grande quantidade e

variedade de grupos funcionais (Stevenson, 1994), os espectros de UV-Visível não são bem definidos, pois apresentam sobreposição de bandas. No entanto, podem fornecer informações importantes. A principal informação obtida é a razão da absorbância em 465 nm/absorbância em 665 nm (razão  $E_4/E_6$ ), baseada na taxa de queda da absorção da luz com o comprimento de onda, que é proporcional à diminuição da extensão da conjugação nos diferentes sistemas orgânicos. Esta razão é determinada em função, principalmente, do tamanho da partícula (peso molecular) e pH, além de se correlacionar com a concentração de radicais livres, o conteúdo de O, C, COOH e a acidez total (Chen et al., 1977).

A razão  $E_4/E_6$  vem sendo usada em estudos comparativos da formação de AHs em diversos solos, avaliando o efeito da gênese (Ghosh e Schnitzer, 1979) e da pluviosidade (Martin-Neto et al., 1998); além do efeito das diferentes coberturas vegetais (Canellas et al., 2002b).

### **2.7.2- Espectroscopia de fluorescência**

Nos últimos anos, o uso da espectroscopia de fluorescência na caracterização de substâncias húmicas (SHs) de solos vem sendo intensificado, uma vez que representa um método de análise relativamente simples, muito sensível e não destrutivo. Essa técnica baseia-se no fenômeno da fluorescência, que corresponde à energia reemitida pelo elétron a partir do primeiro estado singlete excitado ( $S_1$ ), após absorção de um quantum de luz e a passagem desses elétrons a níveis superiores de energia (Skoog et al, 2002). A fluorescência de um composto depende de sua estrutura molecular e está quase sempre associada ao sistema eletrônico  $\pi$ . Sua intensidade é alterada por substituintes, ou seja, grupos doadores e retiradores de elétrons que aumentam e diminuem a eficácia da fluorescência (Sierra e Giovanela, 1995). No caso de substâncias complexas como as SHs, que representam anéis aromáticos e cadeias alifáticas com diversos grupos de substituição, a presença ou ausência e a proporção relativa desses substituintes podem ser usadas para distinguir as SHs (Sierra e Giovanela, 1995).

Diferentes espectros de fluorescência podem ser obtidos em função do tipo de informação desejada, tais como o espectro de emissão, obtido pela irradiação da amostra com um comprimento de onda excitado fixo, onde se mede

a intensidade de luz reemitida na faixa espectral determinada; o espectro de excitação, que varia o comprimento de onda de excitação enquanto o comprimento de onda de emissão é mantido constante, e o espectro sincronizado, que é determinado pela varredura simultânea de uma faixa espectral de comprimentos de onda de excitação e emissão apresentando um intervalo constante entre eles (Sierra e Giovanela, 1995).

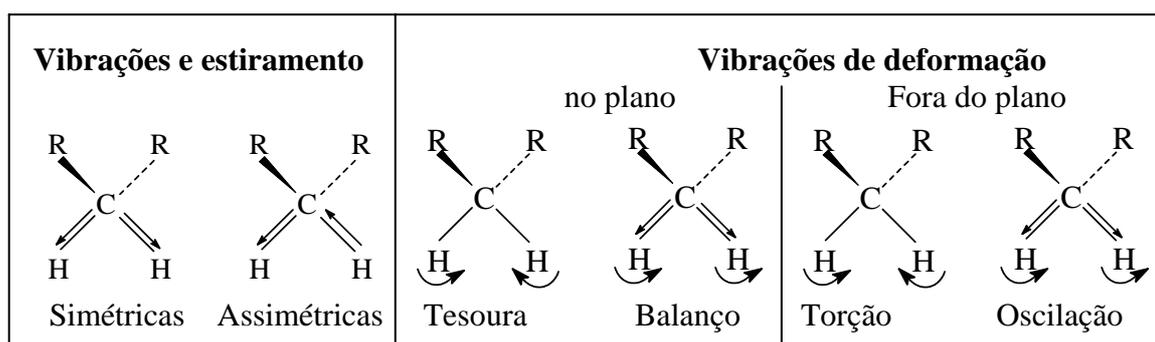
A propriedade de fluorescência das SHs é dependente de diversos fatores, tais como sua origem, massa molar, concentração, pH, força iônica, temperatura, potencial redox do meio, grau de conjugação, efeitos de substituintes (Skoog et al., 2002; Chen et al., 2003), além da interação com íons metálicos, que reduzem a intensidade de fluorescência (Ghosh e Schnitzer, 1981). Segundo Senesi et al. (1991), essas propriedades podem ser usadas como critério adequado na diferenciação e classificação em vários tipos de SHs quanto a sua gênese.

A espectroscopia de fluorescência tem sido usada como uma ferramenta útil na avaliação do grau de humificação das SHs. Millori et al. (2002) relacionaram a intensidade do espectro de emissão de AHs, baseada no uso da luz azul (465nm) como fonte de excitação, com o grau de humificação de AHs de solos sob diferentes coberturas vegetais e sistemas de cultivo. Os valores da área total sob o espectro de fluorescência ( $A_{465}$ ) foram altamente correlacionados com teores de radicais livres estáveis obtidos pela ressonância paramagnética de elétrons. Para áreas agrícolas, Bayer et al. (2002) e Pérez et al. (2004) observaram maior grau de humificação em solos do cultivo convencional em comparação ao não convencional, atribuído à maior intensidade de fluorescência relacionada à maior quantidade de radicais livres e maior percentagem de carbono aromático. Isso sugere que SHs com maior grau de evolução sofrem mudanças na intensidade de fluorescência para regiões de maior comprimento de onda associada a possíveis presença de compostos aromáticos com maior grau de substituição, ou de sistemas insaturados com maior extensão de conjugação.

### **2.7.3. Espectroscopia na região do infravermelho (IV)**

A espectroscopia de IV foi descoberta no século XVIII. Entretanto, seu uso generalizado para a identificação de compostos orgânicos começou no fim dos anos 50 com o surgimento do espectrofotômetro dispersivo (Skoog et al., 2002).

região do visível e de microondas, sendo que a região de interesse para estudos das SHs está situada entre 4000 e 400  $\text{cm}^{-1}$ . A espectroscopia de IV baseia-se na absorção dessa radiação pelas diversas ligações químicas e estruturas moleculares existentes numa molécula, repercutindo em movimentos de vibração e rotação de grupos moleculares (Silverstein e Webster, 2000). As duas vibrações fundamentais nesse processo são os estiramentos ( $\nu$ ) e as deformações ( $\delta$ ) das ligações entre átomos (Stevenson, 1994). Os estiramentos são quando os átomos vibram no mesmo eixo variando a distância entre eles, tendo como principais tipos de vibrações simétricas e assimétricas. Já a deformação é quando as posições dos átomos em vibração mudam em relação ao eixo da ligação. Seus principais tipos de vibração são tesoura, balanço, torção e oscilação, como demonstrado para os átomos de C e H na figura 4.



**Figura 4-** Principais tipos de estiramento molecular. Fonte: adaptado de Stevenson (1994).

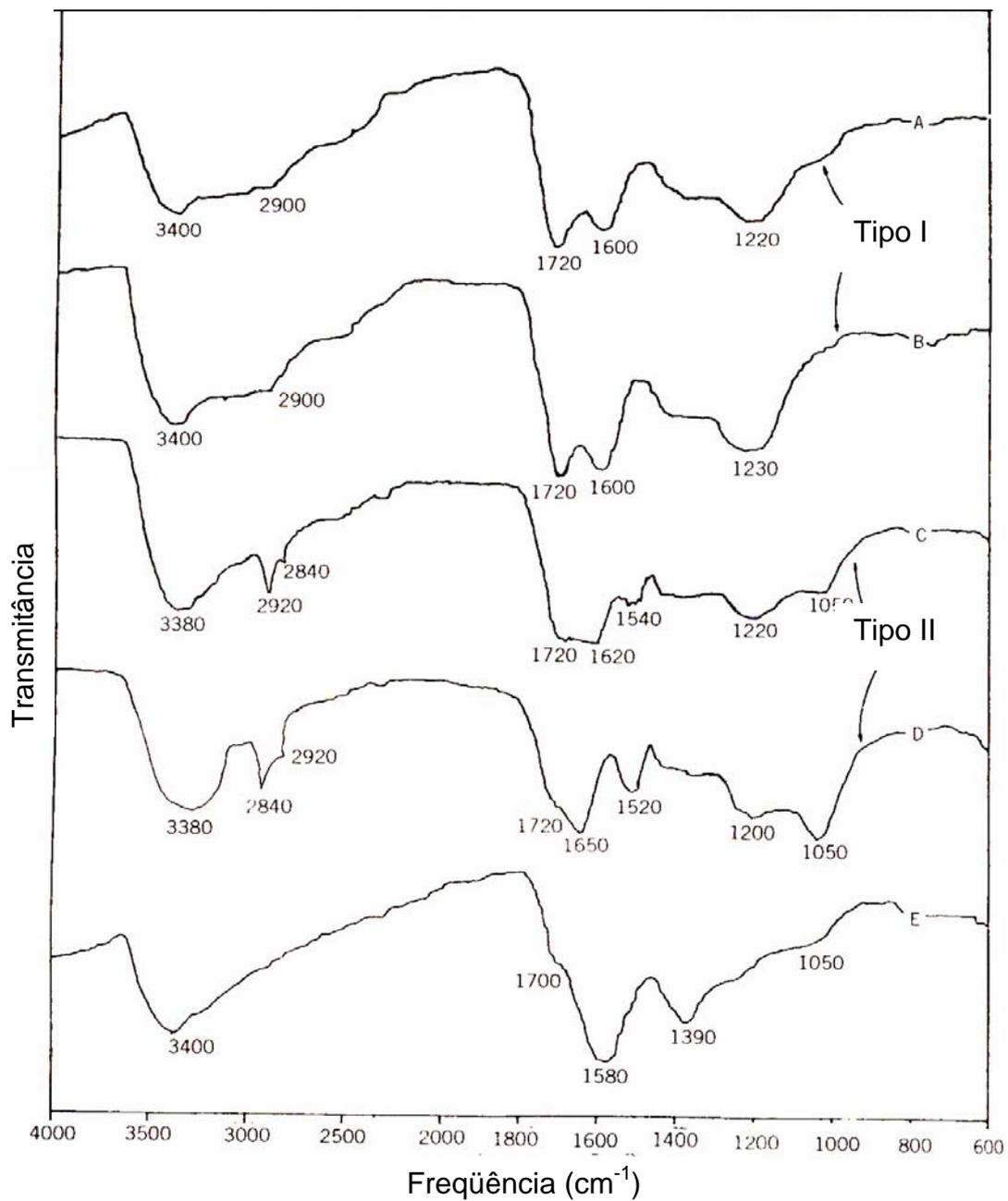
A representação do espectro consiste em um gráfico de absorbância (A) ou transmitância (T) em função do número de ondas expresso em  $\text{cm}^{-1}$  (inverso do comprimento de onda). Espectros típicos de AHs podem ser observados na Figura 5, e as principais atribuições observadas na região do IV são demonstradas no Quadro 3.

Apesar da técnica de espectroscopia de IV superar a Ressonância Magnética Nuclear (RMN) no estudo de grupos oxigenados das SHs, aquela possibilita informações de caráter mais qualitativo do que quantitativo quando comparada à RMN, pois as extensões, vibrações e movimentos de rotação que comparada à RMN, pois as extensões, vibrações e movimentos de rotação que

absorvem a energia de IV têm uma ampla classe de absorvidade molar, o que limita o uso de picos como medida quantitativa de vários grupos cromóforos (Bloom e Leenheer, 1989). Estes autores ainda acrescentam que outra limitação é a sobreposição de bandas, devido à atividade de múltiplos grupos no IV, o que normalmente ocorre nas SHs. No entanto, segundo Stevenson (1994), essa técnica é de grande importância para o estudo das SHs, possibilitando a obtenção de informações como:

- A natureza, reatividade e arranjo estrutural dos grupos funcionais oxigenados (COOH, OH- fenólico, OH- alcoólico, OH- enólico, C=O, NH<sub>2</sub>, entre outros) e de compostos estruturais aromáticos e alifáticos.
- A presença de estruturas de proteínas e carboidratos.
- A presença ou ausência de impurezas inorgânicas (metais, argila).
- Análises quantitativas, quando sob condições controladas.
- Interações organo-metais e matéria orgânica-pesticida.

Essas características permitem distinguir AHs provenientes de diferentes solos (Couto e Resende, 1985; Moreno, 1996; Baranciková et al., 1997; Benites et al., 1999; Ceretta et al., 1999) e de diferentes coberturas vegetais e manejos de culturas (Rivero et al., 1998; Canellas et al., 2002b; Senesi et al., 2003), bem como estudar o processo de humificação (Bravard e Righti, 1991; Haberhauer et al., 1998), atribuído ao aumento na intensidade das bandas de absorção de grupos aromáticos e diminuição na intensidade de grupos alifáticos dos compostos húmicos. Além disso, pode-se avaliar os AHs de origem não pedogênica, como os de resíduos urbanos (Dick et al., 1998; Canellas et al., 2000; Canellas et al., 2001; Pajaczkowska et al., 2003).



**Figura 5-** Espectro de infravermelho de ácidos húmicos de diversas fontes (A- Mollisol, B- Leonardita, C- horizonte B do Spodosol, D- Turfa e E- humato de sódio de A). Fonte: Stevenson (1994).

**Quadro 3** - Principais bandas de absorção na região de infravermelho de ácidos húmicos

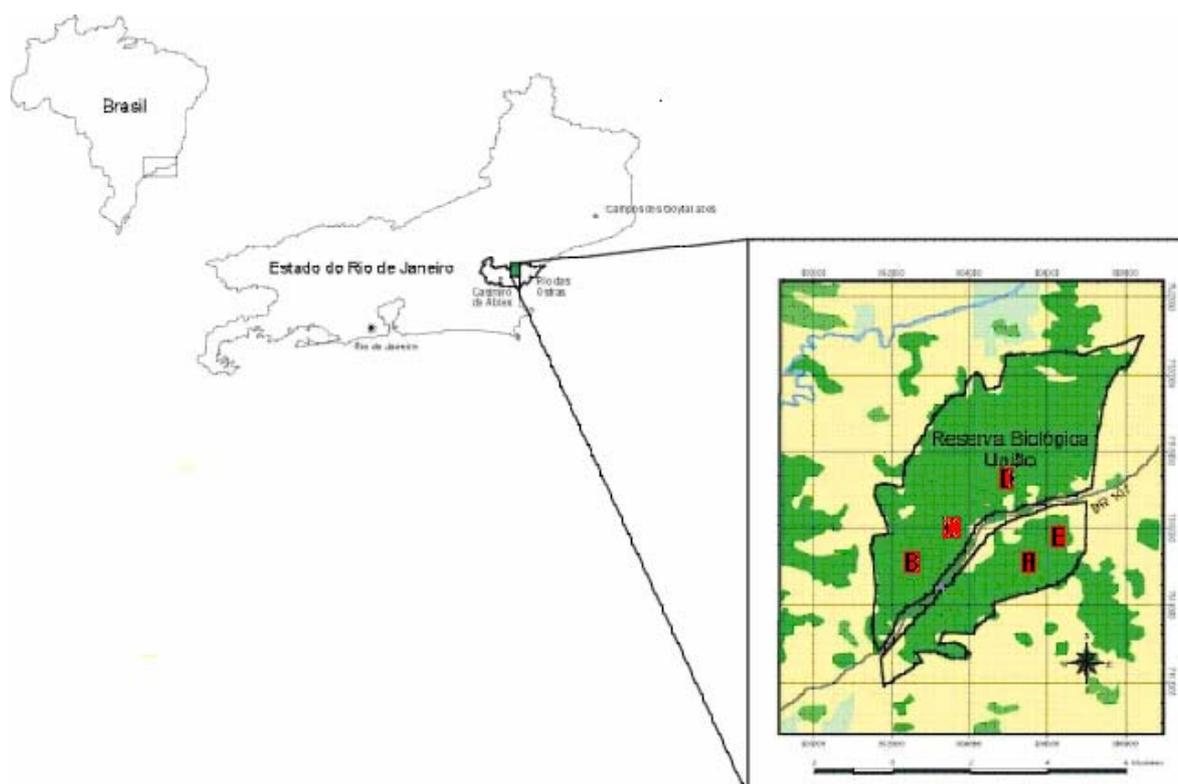
<b>N° de ondas (cm<sup>-1</sup>)</b>	<b>Principais atribuições</b>
3400 – 3300	ν OH, NH, NH <sub>2</sub>
3077 – 3030	ν C-H de anel aromático ou olefinas
2950 – 2900	ν CH alifático
2750 – 2400	ν de grupos COOH não ionizados
1725 – 1720	ν C=O de COOH e cetonas (traços)
1660 – 1630	ν C=O de amida (banda I), quinona e/ou C=O conjugado
1625 – 1470	ν CH de anel aromático
1590 – 1517	δ N-H e ν C=N
1460 – 1450	ν CH de anel alifático e de grupos metila
1400 – 1390	δ OH e ν CO de OH fenólico, δ CH de CH <sub>2</sub> e CH <sub>3</sub> , ν assimétrico de COOH
1280 – 1200	ν CO e δ O-H em grupos COOH
1170 – 1000	ν CO de polissacarídeos
1050 – 900	ν C-O de polissacarídeos; Si-O (impurezas inorgânicas)

Fonte: Stevenson (1994); Canellas (1999); Ceretta et al. (1999); Silverstein e Webster (2000). ν= estiramento; δ= deformação.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Caracterização da área

A maior parte da Reserva Biológica (REBIO) União, fundada em 1998, se localiza em Rio das Ostras, Estado do Rio de Janeiro - Brasil, situada a 22° 27' 30" S; 42° 02' 15" W (Figura 6). Essa reserva possui cerca de 2400 ha de Mata Atlântica Costeira, classificada como Floresta Ombrófila Densa das Terras Baixas (Velloso et al., 1991), e 215 ha de plantação de eucaliptos (*Corymbia citriodora*). Predomina na região o clima tropical úmido. A pluviosidade média anual é de 2281 mm e a temperatura média de 24,7 °C, com a estação seca ocorrendo no período de junho a setembro.



**Figura 6-** Localização da Reserva Biológica União em Rio das Ostras – RJ, Brasil.

A REBIO União pertence à Unidade Geomorfológica Colinas e Maciços Costeiros (RadamBrasil, 1983). É de perfil arredondado, comum às “meias laranjas” e baixadas aluvionares, encharcáveis na época chuvosa. Os solos das áreas estudadas na reserva foram classificados, em loco, como: Argissolo Vermelho-Amarelo Distrófico latossólico, Gleissolo Háplico Tb Distrófico argissólico, e Cambissolo Háplico Tb Distrófico argissólico, de acordo com o Sistema Brasileiro de Classificação de Ciências do Solo (Embrapa, 1999).

#### *Solos da área de estudo*

Cambissolo Háplico Tb Distrófico argissólico – Compreende o solo da mata de morrote (Figura 7). A erosão ocorrente, que apesar de não evoluir graças à vegetação, atua constantemente sobre os horizontes A e B, resultando na exposição de materiais total ou parcialmente intemperizados.



**Figura 7-** Cambissolo sob o fragmento de mata de morrote na ReBio União, RJ.

Gleissolo Háplico Tb Distrófico argissólico – Esse solo está coberto pela mata nativa, encharcável na época chuvosa (mata alagada), apresentando influência do lençol freático (Figura 8). A sua gênese está condicionada à sazonalidade do alagamento, considerando sua persistência ao longo do ano. Ocorre horizonte glei, mas abaixo de B textural, sinalizando a similaridade com Argissolo, todavia, diferencia-se pelo status redox do sistema devido à baixa taxa de difusão do oxigênio na solução do solo. A partir desta taxa, a disponibilidade do acceptor final  $O_2$  se finda, e espécies como nitrato e nitrito são rapidamente esgotadas. Inicia-se, então, a redução dos compostos férricos, responsáveis pela expressão da cor nos solos aerados. O íon ferroso, no estado reduzido, promove uma tonalidade acinzentada que evolui para esverdeada ou azulada, caracterizando o horizonte glei.

Esses solos (Cambissolos e Gleissolos) são do mesmo material original que o Argissolo, entretanto, estão sob influência de processo de remoção constante de porções do horizonte A, e da ação do lençol freático com condições redutoras, respectivamente (Embrapa, 1999).



**Figura 8-** Gleissolo sob o fragmento de mata alagada na ReBio União, RJ.

Argissolo Vermelho-Amarelo Distrófico latossólico – Compreende os solos dos plantios de eucalipto (Figura 9). Sua característica fundamental é a presença de eluviação de argila do horizonte A para o B, formando o horizonte diagnóstico conhecido como “B textural”. Não possuem reservas de minerais primários intemperizáveis, pois se encontram em estágio avançado de intemperismo. Neste processo, ao longo de eras, perderam sua fertilidade, pois seus nutrientes foram solubilizados e removidos. O horizonte A é geralmente arenoso e pouco estruturado.

Os solos com argiluviação se caracterizam pela migração de minerais de argila silicatada do horizonte A para o B, estabelecendo um gradiente textural, que, em profundidade, redundam em maior teor de argila. Este acúmulo pode resultar em orientação e evolução para uma massa compacta. Como são profundos, já que são bastante intemperizados, possuem lençol freático profundo.



**Figura 9-** Argissolo sob os plantios abandonados de eucaliptos na Reserva Biológica União, RJ.

### **3.2. Sítios amostrais**

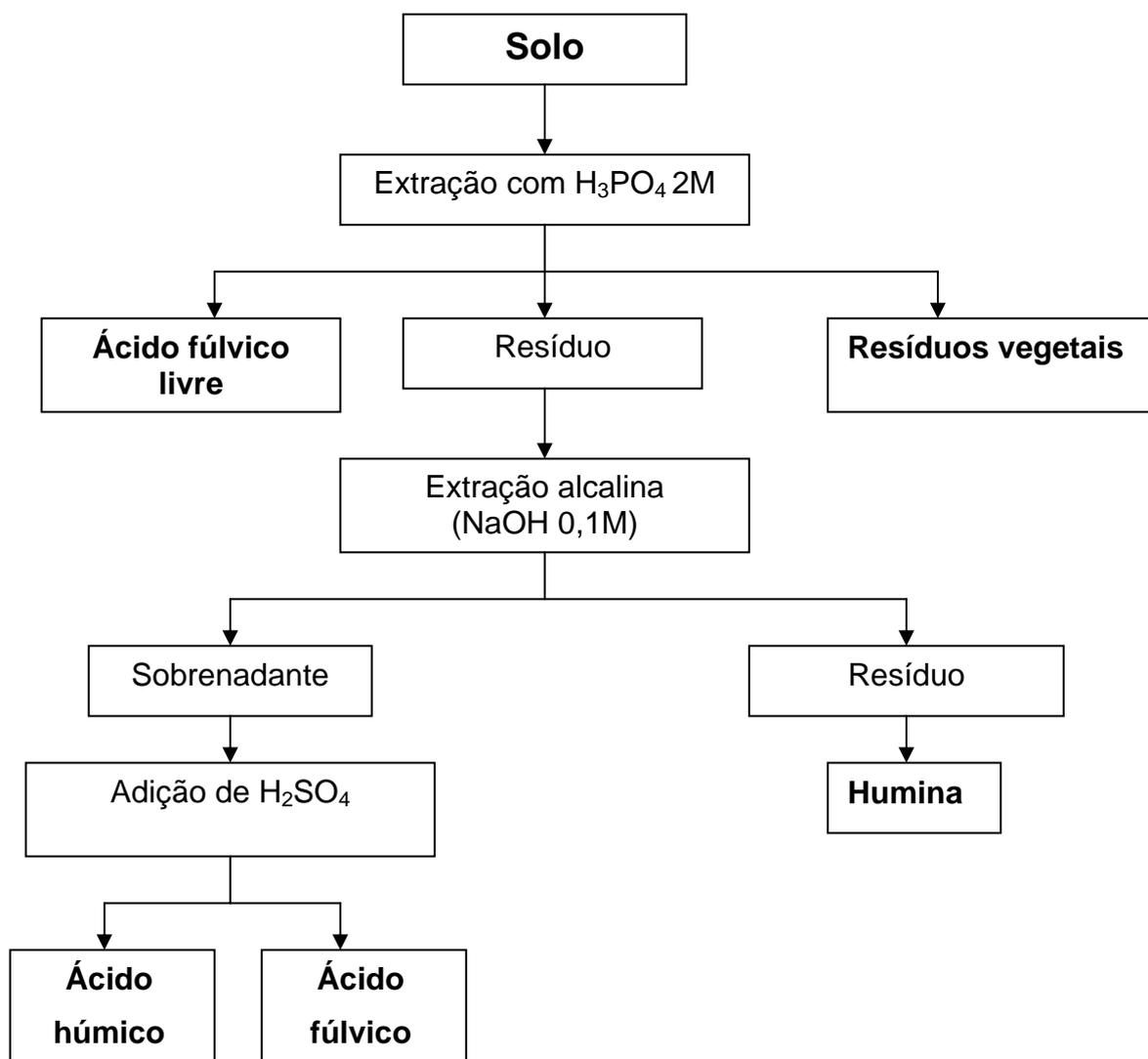
As áreas amostradas foram dois fragmentos de Mata Atlântica de Baixada, denominadas, nesse estudo, mata alagada (A), com solos encharcáveis na época chuvosa e mata de morrote (B), presente no perfil arredondado do relevo, e três áreas de plantios de eucalipto (*Corymbia citriodora*), em diferentes idades, que foram abandonados desde 1996 (cerca de 9 anos). Esses plantios diferem quanto ao histórico de uso do solo e práticas silviculturais. As diferentes áreas de eucalipto foram denominadas de acordo com as idades de plantio: com 14 anos e 7,60 ha, localizados no topo de um morrote, onde anteriormente era pastagem (C); com 16 anos e 5,73 ha, localizando-se próximo à sede do IBAMA e à mata, em um vale entre dois morrotes (D); e com 18 anos e 15,74 ha, localizada no trecho da reserva, na outra margem da pista rodoviária (E), sendo que esta área sofreu corte raso para o plantio de eucalipto.

### 3.3. Coleta das amostras de solo

A amostragem do solo foi realizada em duas profundidades (0 - 0,10 m e 0,10 - 0,20 m). Em cada área, foram feitas três amostras compostas formadas por dez amostras simples. Antes das análises, as amostras de solo foram secas ao ar, destorroadas e passadas em peneiras, com abertura de 2 mm para obtenção da terra fina seca ao ar (TFSA). Essas amostras de solo, também foram avaliadas por meio das análises químicas e granulométricas segundo Embrapa 1997.

### 3.4. Fracionamento da MOS

O fracionamento da matéria orgânica foi realizado a partir da simplificação do método de Belchikova-Kononova, descrito com detalhes em Guerra e Santos (1999). As amostras de solo foram peneiradas, (2 mm) sofrendo pré-tratamento com ácido ortofosfórico  $2 \text{ mol L}^{-1}$ , que separou por densidade a fração leve e solubilizou a fração ácidos fúlvicos livres (AFL). Em seqüência, sobre a amostra de solo, foi colocada a mistura extratora de NaOH  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  na proporção 1:10 (v/v), que solubilizou os ácidos fúlvicos (AFs) e os ácidos húmicos (AHs). O resíduo sólido insolúvel resultante do processo de fracionamento foi denominado de huminas (H). Os AHs foram separados dos AFs por centrifugação após precipitação em meio ácido obtido com adição de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado até valor de pH 1 (Figura 10). O teor de carbono em cada fração foi determinado por meio do procedimento Walkley-Black modificado, utilizando calor externo (Embrapa, 1997), com três repetições por tratamento.



**Figura 10-** Esquema do fracionamento da Matéria Orgânica do Solo.

As diferenças das frações foram determinadas por meio do delineamento inteiramente casualizado, com os tratamentos mata alagada (A), mata de morrote (B) e os plantios abandonados de eucalipto com 14, 16 e 18 anos (C, D e E). A análise de variância foi realizada pelo teste F e, quando significativa, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5%, por meio do programa computacional Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas (SAEG), desenvolvido pela Universidade Federal de Viçosa.

### 3.5. Extração, isolamento e purificação de ácidos húmicos

A extração dos AHs foi realizada conforme as normas da IHSS, de acordo com Ceretta (1995), com pré-tratamento das amostras com uma solução de HCl 0,1 mol L<sup>-1</sup> e extração com NaOH 0,5 mol L<sup>-1</sup> sob atmosfera de N<sub>2</sub> na razão solvente: solo 10:1 (v/v). Os AHs foram separados por precipitação em meio ácido (pH = 1,0 - 1,5) com HCl 6 mol L<sup>-1</sup>. A dissolução dos AHs em meio alcalino e precipitação em meio ácido foram realizadas três vezes. Em seguida, os AHs foram tratados com HCl 0,1 mol L<sup>-1</sup> – HF 0,3 mol L<sup>-1</sup>, durante 12 horas, com agitação constante e, após desprezar o sobrenadante, foram lavados com água até teste negativo com AgNO<sub>3</sub>. Foram, ainda, dialisados contra água deionizada (membrana 14 Kda, Thomas Sci., Inc.) e secos por liofilização. Devido à persistência de altos teores de cinza, as amostras de AHs foram repurificadas.

### 3.6. Caracterização dos AHs

#### *Análise da composição elementar*

A determinação do conteúdo de C, H e N foi realizada, através de analisador automático (CHN analyzer Perkin Elmer 1420), em amostras de AHs. O conteúdo de O foi obtido de forma indireta pela diferença do somatório da composição de C, H e N, descontando o teor de cinzas obtido a partir da incineração das amostras dos AHs em mufla a 700 °C, durante 8h.

#### *Acidez total, carboxílica e fenólica*

A acidez total foi determinada pelo método do Ba (OH)<sub>2</sub> com titulação do excesso com HCl; a acidez carboxílica pelo tratamento com Ca(OAc)<sub>2</sub> e determinação do ácido acético liberado com NaOH; e a acidez fenólica por diferença (acidez total – carboxílica), de acordo com método de Schnitzer e Gupta (1965).

O cálculo da acidez total foi obtido pela seguinte equação:

Acidez total = (volume de HCl titulado no branco – volume de HCl titulado na amostra) x N do HCl x 10<sup>5</sup> / massa da amostra em mg. Enquanto o cálculo dos grupos COOH foi obtido pela seguinte equação:

Grupos COOH = (volume de NaOH titulado na amostra – volume de NaOH titulado no branco) x N do NaOH x 10<sup>5</sup> / massa da amostra em mg.

#### *Relação E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub> e espectroscopia de fluorescência*

A relação da absorvância em 465 e 665 nm da espectroscopia de UV-Visível (relação E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub>) foi realizada em um espectrofotômetro Shimadzu, de acordo com a metodologia de Chen et al. (1977), e a área total sob o espectro de emissão de fluorescência com excitação em 465 nm, varrendo a faixa de 450 a 650 nm, de acordo com Milori et al. (2002). Foram utilizadas soluções de AHs diluídos (50 mg C L<sup>-1</sup> de NaHCO<sub>3</sub> 0,05 mol L<sup>-1</sup>).

#### *Espectroscopia no infravermelho com Transformada de Fourier (IVTF)*

A espectroscopia de IVTF dos AHs foi realizada na faixa de 400 cm<sup>-1</sup> a 4000 cm<sup>-1</sup>, utilizando-se pastilhas com 1 mg de AH em 100 mg de KBr, num aparelho Shimadzu 83000. Foi utilizado o modo de subtração do espectro obtido com a pastilha de KBr, sem utilização da amostra para deduzir a contaminação com H<sub>2</sub>O (região entre 3300-3400 cm<sup>-1</sup>) e presença de CO<sub>2</sub> (2340 ± 10 cm<sup>-1</sup>) nas amostras. Para se comparar um espectro com outro foi utilizada uma função de correção da linha base, usando-se os comprimentos 4000 cm<sup>-1</sup>, 2000 cm<sup>-1</sup> e 860 cm<sup>-1</sup> como regime de absorvância (A) zero.

### **3.7. Densidade e riqueza das plântulas**

A avaliação da regeneração das espécies nativas foi realizada pela determinação da densidade e riqueza de plântulas (indivíduos vivos < 50 cm e ≥ 10 cm de altura, exceto lianas e espécies não arbóreas) das áreas amostradas. Para isso foram realizadas medições de diâmetro à altura da base (DAB) e da altura das plântulas. Nos plantios de eucalipto, onde parte das espécies foi avaliada por Rabelo (2003), foram utilizadas as mesmas parcelas já estabelecidas, em que os indivíduos foram amostrados dentro de 16 sub-parcelas (2,5 x 5 m), totalizando 250 m<sup>2</sup>, sendo quatro sub-parcelas para cada parcela retangular de 10 x 20 m, que foram alocadas aleatoriamente em cada área amostrada (Figura 11). Para os fragmentos de mata, foram estabelecidas

parcelas menores devido à maior densidade de plântulas. Na mata alagada foram alocadas aleatoriamente cinco sub-parcelas (1 x 2,5 m) para cada uma das parcelas (10 x 100 m), o que totalizou 25 sub-parcelas por área. As plântulas foram plaqueadas para posteriores avaliações. Para a mata de morrote, foi utilizado o banco de dados fornecido por Rodrigues (2004), que considerou como plântulas indivíduos até 100 cm de altura.

Em função da dificuldade de identificação das espécies de plântulas, a riqueza foi determinada com base na separação de morfo-espécies e expressa em morfo-espécies por área avaliada. Enquanto os dados de densidade foram avaliados segundo a análise de variância realizada pelo teste F e, quando significativa, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5%, por meio do programa computacional SAEG. Esses dados foram expressos em indivíduos/ ha.

		$\Delta$	
$\Delta$			
$\Delta$		$\Delta$	

**Figura 11-** Esquema de parcela dividida em 16 sub-parcelas para o levantamento da comunidade de plântulas, sendo  $\Delta$  - sub-parcelas amostradas.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### *Análises química e física dos solos*

Na maior parte dos solos das regiões tropicais, há predomínio de minerais de argila do tipo 1:1 e óxidos, hidróxidos e oxihidróxidos de Fe e Al que apresentam baixa capacidade de troca catiônica (CTC). Dessa forma, a reação dos grupamentos funcionais da matéria orgânica com cátions metálicos na solução do solo é a base química da fertilidade desses solos. A CTC, portanto, é dependente do pH da solução, e a capacidade de reter bases depende basicamente da dissociação dos grupamentos funcionais oxigenados da MOS (Canellas et al., 1999). Assim, a variação das propriedades químicas e físicas em função dos diferentes tipos de solos e da qualidade da cobertura vegetal pode permitir um entendimento melhor do funcionamento dos ecossistemas de florestas tropicais.

Nos trópicos, com o aumento da precipitação pluviométrica, atinge-se um ponto onde a velocidade de remoção das bases excede a velocidade de liberação de formas não trocáveis. Assim, os solos das regiões úmidas dos trópicos

apresentam-se, geralmente, bastante ácidos e com baixos teores de  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{K}^+$  e  $\text{Na}^+$  trocáveis (bases trocáveis). Essa acidez está associada à presença de alumínio e hidrogênio trocáveis.

Com efeito, foram encontrados valores baixos de pH, evidenciando a acidez elevada nas áreas cobertas tanto com fragmentos de Mata Atlântica quanto com plantios abandonados de eucalipto (Quadro 4). Em estudo anterior na reserva e nas mesmas áreas de eucalipto, Vilella et al. (2001a) também observaram a pobreza de bases trocáveis. Em condições de extrema acidez (valores de pH muito baixos e altos teores de Al trocável) pode ocorrer limitação na decomposição da matéria orgânica e seu acúmulo (Tomé Jr., 1997). A maior parte dos resíduos vegetais, quando chega ao solo, é rapidamente transformada, podendo ainda sofrer seqüestro pela fração mineral ou transformação bioquímica através do processo genericamente conhecido como humificação. Tanto a mineralização como a humificação são dependentes da atividade biológica. De acordo com Cerri e Volkoff (1988), os principais fatores que controlam a formação do húmus são temperatura, presença ou ausência de bases e drenagem, sendo estes os fatores que mais influenciam na atividade biológica. Segundo estes autores, a presença de bases tem um efeito mais importante sobre os demais fatores.

A CTC efetiva encontrada variou de 3,1 a 4,8  $\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$  na profundidade de 0 – 0,10 m, e de 2,7 a 3,1 na de 0,10 - 0,20 m (Quadro 4). Esses valores são extremadamente baixos, similares aos encontrados para caulinitas e óxidos purificados de solos, que variam de 1 a 5  $\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$ . Além da baixa capacidade de troca, o complexo sortivo dos solos estudados foi dominado por  $\text{Al}^{+++}$ , com a saturação deste elemento variando de 68 a 87 % nos fragmentos de mata e na área de plantio abandonado de eucalipto com 16 anos (área D). Nas outras áreas de eucalipto, foi notado o reflexo da calagem anterior ao plantio, e a saturação por  $\text{Al}^{+++}$  foi menor (6 a 70%) com aumento no conteúdo de  $\text{Ca}^{++}$ , mas o complexo sortivo permaneceu ainda saturado com H+Al (Quadro 4). A conseqüência da baixa CTC e da elevada acidez é a baixa percentagem de saturação de bases (V%) encontrada nas áreas, que variou de 4 a 37%, indicando a precária fertilidade química do solo nas áreas amostradas (Quadro 4).

A cobertura vegetal não influenciou nos teores de bases trocáveis do solo, (Quadro 4) mostrando que nesses ecossistemas a maior parte dos nutrientes está

fixada na biomassa e na serrapilheira, sugerindo um fluxo pequeno para a parte mineral do solo, o que restringe a atividade microbiana à serrapilheira. A evolução da matéria orgânica é então limitada, contribuindo para formação e aparecimento de horizonte de acúmulo de matéria orgânica acima da superfície do solo.

De um modo geral, a análise química dos solos revelou a fertilidade muito precária nessas áreas. A baixa fertilidade em solos de florestas tropical também foi observada por Buschbacher et al. (1988) e Vilella et al. (2001b), o que não implica, porém, restrição ao crescimento e ao estabelecimento da Mata Atlântica. Essa situação evidencia o auto-sustento desta vegetação e a limitação do uso da análise de rotina para avaliação da fertilidade do solo.

Com a provável restrição da atividade microbiana pelas condições observadas de ausência de bases e elevada acidez, além da diminuição do processo de transformação dos resíduos orgânicos (mineralização), é esperado que o processo de humificação seja limitado, uma vez que a atividade microbiana tem reflexos diretos na dinâmica da MOS.

A distribuição das frações humificadas da MOS é apresentada a seguir.

**Quadro 4-** Propriedades químicas e granulometria de um Gleissolo sob mata alagada (A); Cambissolo sob mata de morrote (B); e Argissolo sob plantios abandonados de eucaliptos com 14, 16, e 18 anos (C, D e E), em duas profundidades na Reserva Biológica União, RJ.

Área	pH	H+Al	Al	P	K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Na <sup>+</sup>	MO	C	Ntotal	CTC pH7	CTC efetiva	S.B	m	V	Areia	Silte	Argila
		cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	mgdm <sup>-3</sup>	mgdm <sup>-3</sup>	cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	gdm <sup>-3</sup>	gKg <sup>-1</sup>	gKg <sup>-1</sup>	cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	%	%	gkg <sup>-1</sup>	gkg <sup>-1</sup>	gkg <sup>-1</sup>			
0 – 0,10 m																			
A	4,3	10,9	2,6	5	36	0,5	0,4	0,04	45,7	26,5	3,0	11,9	3,6	1,0	72	9	700	90	210
B	4,4	10,2	2,1	3	60	0,5	0,3	0,03	44,5	25,8	2,0	11,2	3,1	1,0	68	9	720	70	210
C	5,4	7,7	0,3	8	31	2,4	1,9	0,10	40,9	23,7	1,7	12,2	4,8	4,5	6	37	540	100	360
D	4,5	12,1	2,5	3	48	0,5	0,5	0,09	44,5	25,8	2,1	13,3	3,7	1,2	67	9	500	110	390
E	5,0	9,7	0,9	2	50	2,3	0,8	0,04	38,6	22,4	2,2	13,0	4,2	3,3	22	25	560	70	370
0,10 – 0,20 m																			
A	4,4	8,7	2,5	3	19	0,1	0,2	0,02	26,9	15,6	1,7	9,1	2,9	0,4	87	4	690	90	220
B	4,3	8,8	2,6	2	33	0,2	0,1	0,02	28,6	16,6	1,6	9,2	3,0	0,4	87	4	590	120	290
C	5,2	7,6	1,0	1	12	1,0	1,0	0,09	31,4	18,2	1,8	9,7	3,1	2,1	32	22	460	110	430
D	4,6	8,1	2,4	1	24	0,1	0,3	0,06	26,9	15,6	1,7	8,6	2,9	0,5	82	6	410	160	430
E	4,6	7,7	1,9	2	26	0,5	0,2	0,03	24,3	14,1	1,4	8,5	2,7	0,8	70	9	510	100	390

\* Extrator Carolina do Norte

## *Distribuição do carbono orgânico na MOS*

O conteúdo de MOS é resultante do balanço entre os processos de adição (e.g. resíduos vegetais) e de perda (e.g. decomposição pelos microrganismos). As SHs representaram menos de 50% do carbono prontamente oxidável, considerado como  $C_{total}$  nesse estudo, e seu conteúdo diminuiu em profundidade (Quadro 5). A maior parte da matéria orgânica dos solos analisados é constituída, portanto, pela fração não humificada, chamada de matéria orgânica leve. As fortes restrições de fertilidade observadas nos solos (Quadro 4) favoreceram o acúmulo de matéria orgânica pouco transformada em todas as áreas estudadas.

Os resultados do fracionamento da matéria orgânica humificada do solo estão apresentados no Quadro 5. A maior parte do carbono humificado foi composto pela fração H, que representou entre 21 e 29% e 17 e 27% do  $C_{total}$  nas profundidades de 0 - 0,10 e 0,10 - 0,20 m, respectivamente (Figura 12). Em outros Argissolos do Rio de Janeiro, submetidos ao cultivo agrícola e ou ao pousio, a fração humina constitui normalmente acima de 70% do  $C_{total}$  (Canellas et al., 2000; Canellas et al., 2002; Canellas et al., 2004). A fração H apresenta natureza química essencialmente alifática proveniente da preservação seletiva de biopolímeros oriundos de plantas (e.g. ceras, suberinas, cutinas) e microrganismos (ácidos graxos de cadeia carbônica mais curta) que interagem intimamente com a fração mineral dos solos (Raice, 2001). Outros fatores contribuem com a intensificação da formação dessa fração em solos tropicais, tais como a natureza oxidica da fração mineral e as reações de desidratação favorecidas pela alternância de períodos secos e úmidos (Canellas et al., 2003). De acordo com os critérios de interpretação do fracionamento da MOS, adaptados da proposta do pesquisador Bernard Dabin por Canellas et al. (2003), valores menores que 45% de  $C_H$  representam estágio fraco de humificação da MOS. Assim, apesar do  $C_H$  ter constituído a maior parte do carbono humificado, sua percentagem é baixa em relação ao  $C_{total}$ , refletindo características de húmus pouco evoluído, típico de ambientes com fortes restrições a atividade microbiana. O conteúdo de C na fração H variou de 6,8 a 8,1 g C kg<sup>-1</sup> na profundidade de 0 – 0,10 m, não sendo observadas diferenças significativas em função da cobertura vegetal. Em subsuperfície, na área de Mata Atlântica que sofre hidromorfismo periódico, foi observado o menor conteúdo de  $C_H$  (3,5 g C kg<sup>-1</sup>). De acordo com

Dabin (1981), a evolução do húmus pode ser modificada pelo hidromorfismo. Nesses ambientes, a via de herança é o processo de humificação predominante, onde ocorre uma evolução direta dos compostos insolúveis lignificados da matéria orgânica pouco transformada (Camargo et al., 1999), pois as outras vias de humificação, tais como a de insolubilização (humificação dos compostos fenólicos solúveis) e neo-síntese microbiana (humificação das moléculas simples através da síntese microbiana), necessitam de elevada pressão de O<sub>2</sub> para manter a atividade da microbiota do solo. Desta forma, a presença de solos alagados (área A) nas épocas chuvosas, que torna ambientes pobres em oxigênio, dificulta a atividade biológica e, por consequência, o processo de mineralização e humificação da MOS.

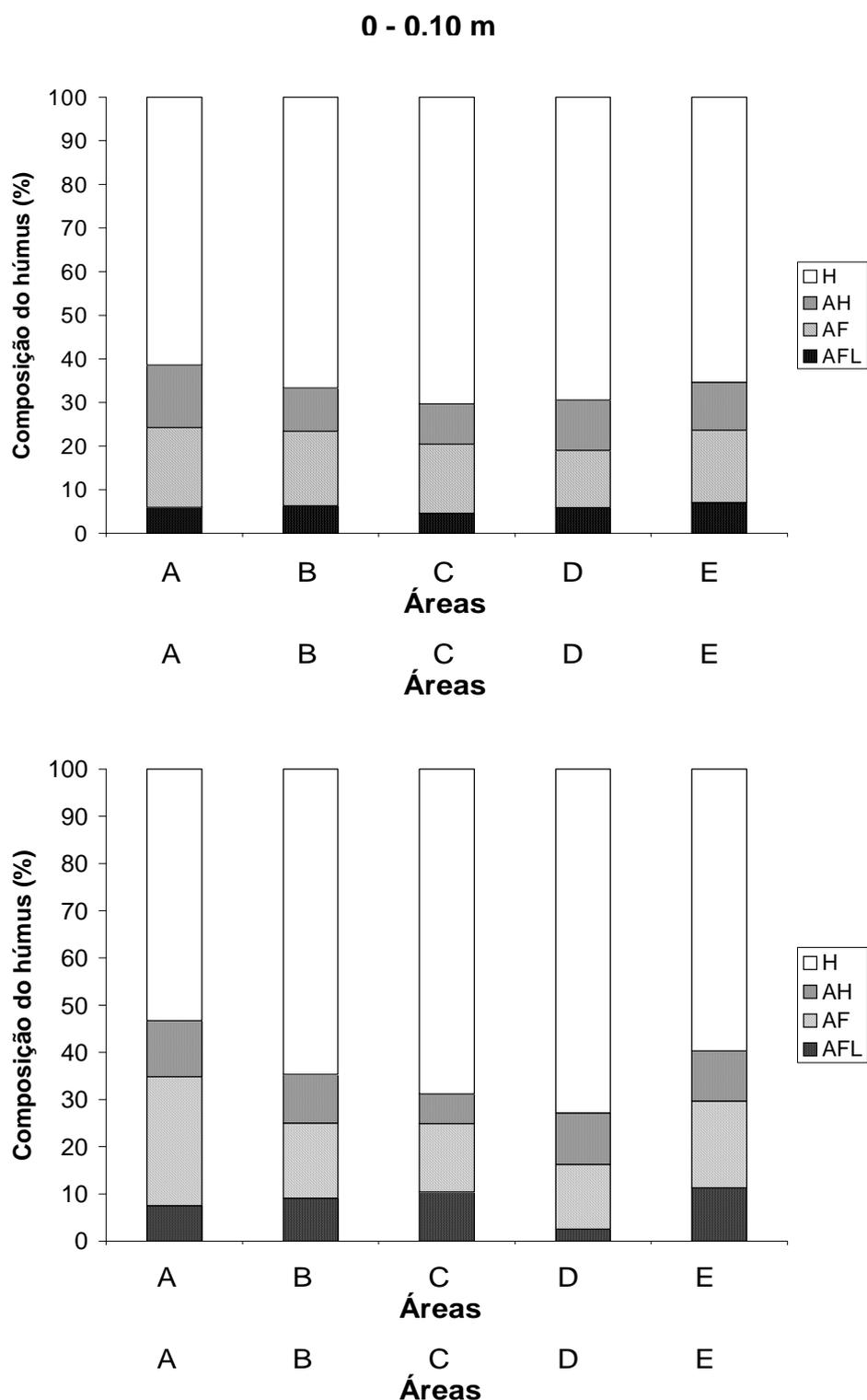
Poucas diferenças foram observadas no conteúdo de C nas frações humificadas alcalino solúveis. O conteúdo de C<sub>AH</sub> variou de 1,1 a 1,6 e de 0,5 a 0,8 g C kg<sup>-1</sup> nas profundidades de 0 - 0,10 m e 0,10 - 0,20 m, respectivamente, enquanto que o conteúdo de C<sub>AFL</sub> oscilou entre 0,5 a 0,8 e 0,2 a 0,8 g C kg<sup>-1</sup> de C<sub>AF</sub> de 1,5 a 2,0 e 0,9 a 1,8 g C kg<sup>-1</sup> na camada superficial e subsuperficial, respectivamente. Provavelmente, as restrições impostas pela baixa fertilidade do solo justificam a pouca evolução da matéria orgânica humificada solúvel, contribuindo para obtenção de valores próximos independente da cobertura vegetal. Não obstante, foi observado baixo conteúdo de C<sub>AFL</sub> na área de eucalipto abandonado com 16 anos de plantio na camada de 10 - 20 m (área D).

O conteúdo de C<sub>AHs</sub> dos solos estudados foi menor do que o das frações fúlvicas (C<sub>AF</sub>+C<sub>AFL</sub>), conferindo valores menores que 1 para a razão C<sub>AH</sub>/C<sub>AF</sub>. Esta razão foi usada por Kononova (1982) como um indicador da qualidade do húmus, pois expressa o grau de evolução do processo de humificação da matéria orgânica. Em solos tropicais, normalmente, essa razão é inferior a 1 devido à menor intensidade do processo de humificação, i.e., condensação e síntese, atribuídas à intensa mineralização dos resíduos, restrições edáficas e ao baixo conteúdo de bases trocáveis à atividade biológica nos solos mais intemperizados (Canellas et al., 2002b).

**Quadro 5-** Conteúdo médio ( $\pm$  erro padrão) de carbono das diferentes frações da MOS de um Gleissolo sob mata alagada (A); Cambissolo sob mata de morrote (B); e Argissolo sob plantios abandonados de eucaliptos com 14, 16 e 18 anos (C, D e E), em duas profundidades

Áreas	C total	C <sub>SH</sub>	C <sub>AFL</sub>	C <sub>AF</sub>	C <sub>AH</sub>	C <sub>H</sub>	C <sub>AH/AF</sub>
0 – 0,10 m							
A	31,5 $\pm$ 0,2	11,0	0,6 $\pm$ 0,1	2,0 $\pm$ 0,3	1,6 $\pm$ 0,2	6,8 $\pm$ 0,5	0,6
B	28,3 $\pm$ 0,4	11,1	0,7 $\pm$ 0,2	1,9 $\pm$ 0,1	1,1 $\pm$ 0,1	7,4 $\pm$ 0,80	0,4
C	27,9 $\pm$ 0,6	11,5	0,5 $\pm$ 0,1	1,8 $\pm$ 0,3	1,1 $\pm$ 0,1	8,1 $\pm$ 0,2	0,5
D	27,6 $\pm$ 2,3	10,8	0,6 $\pm$ 0,1	1,5 $\pm$ 0,7	1,2 $\pm$ 0,1	7,5 $\pm$ 1,1	0,6
E	28,1 $\pm$ 0,9	11,5	0,8 $\pm$ 0,1	1,9 $\pm$ 0,3	1,3 $\pm$ 0,2	7,5 $\pm$ 0,8	0,5
<b>CV(%)</b>	5,6	12,7	21,8	24,1	18,5	14,0	29,0
F	2,9 <sup>ns</sup>	0,2 <sup>ns</sup>	1,5 <sup>ns</sup>	0,5 <sup>ns</sup>	2,4 <sup>ns</sup>	0,6 <sup>ns</sup>	1,4 <sup>ns</sup>
0,10 - 0,20 m							
A	20,7 $\pm$ 3,2	6,6	0,5 $\pm$ 0,1AB	1,8 $\pm$ 0,8	0,8 $\pm$ 0,1	3,5 $\pm$ 0,7B	0,4
B	16,6 $\pm$ 0,2	7,3	0,6 $\pm$ 0,1AB	1,1 $\pm$ 0,3	0,7 $\pm$ 0,1	4,8 $\pm$ 0,2AB	0,4
C	22,5 $\pm$ 0,7	8,6	0,8 $\pm$ 0,3 <sup>A</sup>	1,2 $\pm$ 0,3	0,5 $\pm$ 0,1	5,7 $\pm$ 0,3A	0,3
D	20,2 $\pm$ 0,5	6,3	0,2 $\pm$ 0,1B	0,9 $\pm$ 0,2	0,7 $\pm$ 0,2	4,6 $\pm$ 0,3AB	0,6
E	20,8 $\pm$ 1,0	6,4	0,7 $\pm$ 0,1 <sup>A</sup>	1,2 $\pm$ 0,4	0,7 $\pm$ 0,2	3,8 $\pm$ 0,6AB	0,4
<b>CV(%)</b>	11,3	14,4	36,4	45,8	27,1	14,9	34,9
F	2,4 <sup>ns</sup>	9,2 <sup>ns</sup>	4,9	1,2 <sup>ns</sup>	0,8 <sup>ns</sup>	10,8	0,4 <sup>ns</sup>

Médias nas colunas seguidas por letras diferentes, em cada profundidade, são diferentes pelo teste de Tukey (P<0,05). <sup>ns</sup>Não significativo. Ctotal= carbono prontamente oxidável da MOS, e C<sub>SH</sub>, C<sub>AFL</sub>, C<sub>AF</sub>, C<sub>AH</sub> e C<sub>H</sub> representam os teores de carbono contido nas substâncias húmicas e, em suas frações, ácidos fúlvicos livres, ácidos fúlvicos, ácidos húmicos e huminas, respectivamente.



**Figura 12-** Distribuição percentual do carbono das frações húmicas obtidas no fracionamento químico de um Gleissolo sob mata alagada (A); Cambissolo sob mata de morrote (B); e Argissolo sob plantios abandonados de eucalipto com 14, 16 e 18 anos (C, D e E), em duas profundidades:  $100\% = C_{AFL} + C_{AF} + C_{AH} + C_H$ .  $C_{AFL}$ ,  $C_{AF}$ ,  $C_{AH}$ ,  $C_H$  representam os teores de carbono contido nas frações ácidos fúlvicos livres, ácidos fúlvicos, ácidos húmicos e huminas, respectivamente.

Canellas et al. (2003) observaram uma correlação significativa entre o conteúdo de C, nas frações humificadas da MOS, e a CTC efetiva do solo. Os valores extremamente baixos da CTC efetiva (Quadro 4) podem estar, portanto diretamente relacionados com o baixo teor de SHs desses solos (Figura 12) já que o baixo conteúdo de bases trocáveis diminui o processo de humificação e, por consequência, a relação  $C_{AH}/C_{AF}$ .

O conteúdo de SHs é normalmente maior nas camadas superficiais do solo uma vez que o processo de humificação é mediado pela atividade microbiana (Orlov, 1998). Nesse estudo também foi observado acúmulo (pequeno) de SHs alcalino solúveis mais condensadas (AH) e insolúveis (H) em superfície em relação à subsuperfície. As frações humificadas altamente solúveis, tais como AFL e AF, apresentam, em função do seu elevado conteúdo de grupamentos funcionais polares, alta capacidade de solvatação, sendo arrastadas pela água de percolação do solo. Desta forma, os conteúdos de  $C_{AFL}$  e  $C_{AF}$  foram similares independente da profundidade do solo.

Em outros estudos foram observadas diferenças na distribuição das frações húmicas. Longo e Espícula (2000) observaram diminuição de  $C_{AF}$  e  $C_H$  com a introdução de pastagens em áreas de Cerrado e Floresta Amazônica. Leite et al. (2003) observaram diminuição em todas frações húmicas em decorrência da mudança de Mata Atlântica para agricultura de milho, mesmo em diferentes condições de adubação. A diminuição do conteúdo das SHs, em solos não florestados em comparação a solos florestados, foi verificada também por McDonnell et al. (2001). O menor conteúdo de material húmico também foi observado em Latossolos sob plantios de eucalipto em comparação com a Mata nativa, no Estado de Minas Gerais (Lima, 2004). Segundo este autor, o intenso revolvimento dos solos sob plantio de eucalipto, que resultou na quebra de agregados, expôs o carbono à ação microbiana.

Com efeito, a limitação do processo de humificação atribuído à baixa fertilidade do solo, que determinou uma pequena percentagem das SHs, pode ter contribuído para as pequenas diferenças observadas entre as frações húmicas das áreas deste estudo. De forma geral, a influência de determinados fatores ambientais nas regiões tropicais, tais como a elevada pluviosidade e temperatura; o baixo conteúdo de bases trocáveis; o predomínio, na fração argila dos solos, de minerais como óxidos de ferro e alumínio, e argilosilicatados como a caulinita;

além da diversidade da cobertura vegetal e microbiota do solo (Bayer e Mieniczuk, 1999), pode determinar um menor acúmulo da MOS e limitar o processo de humificação do solo em relação às áreas temperadas, refletindo em distintas características das estruturas químicas das SHs.

A constituição química das frações H e AF são basicamente de ligninas pouco modificadas e polissacarídeos, sofrendo poucas modificações no processo de humificação do solo, enquanto os AHs representam a fração que sofre as maiores mudanças, além de ser esta a fração intermediária no processo de humificação (Zech et al. 1997). Neste contexto, os AHs possuem um papel chave como compostos orgânicos humificados marcadores, podendo ser usados como indicadores do ambiente solo.

### *Caracterização química dos AHs*

A complexidade e heterogeneidade dos AHs não permitem, até agora, definir uma estrutura química discreta dessa fração (Picollo, 2002). No entanto, a caracterização de sua natureza química pode ser realizada através da análise dos constituintes básicos (composição elementar) e dos grupamentos funcionais. A reatividade dos AHs depende da expressão de sua polifuncionalidade, que pode servir como indicador do grau de evolução desse material húmico.

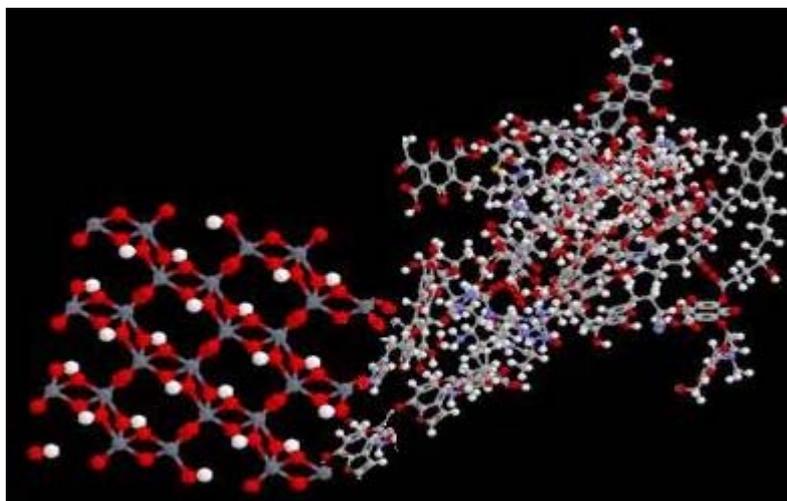
Os resultados da composição elementar dos AHs estão apresentados no Quadro 6. O conteúdo de C observado para os AHs isolados nas diferentes áreas foi baixo, variando de 344 a 464 g C kg<sup>-1</sup>, diminuindo com a profundidade do solo. Os valores normalmente encontrados para o conteúdo de C em AHs estão contidos na faixa de 538 a 587 g C kg<sup>-1</sup> (Stevenson, 1994).

Durante o processo de humificação, normalmente, é verificado o aumento do conteúdo de C, uma vez que as reações de condensação (união de moléculas com eliminação da água de solvatação) e de oxidação concorrem para esse fenômeno. Em solos intemperizados com predominância de “óxidos”, as cargas positivas da superfície disputam os sítios de carga negativa da matéria orgânica no processo de humificação, interrompendo, pelo menos em parte, a evolução química desses compostos húmicos. Dessa forma, continuamente tem sido reportado, na literatura científica, AHs com baixo conteúdo de C em solos altamente intemperizados (Rivero et al., 1998; Canellas et al., 2002b; Canellas e

Façanha, 2004). Além disso, a presença de óxidos de ferro, alumínio e de manganês em solução pode catalisar a clivagem de compostos orgânicos com anéis aromáticos (Shindo e Huang, 1984) diminuindo a disponibilidade de núcleos aromáticos para ocorrência da policondensação de anéis fenólicos, uma das principais vias de humificação da matéria orgânica (Stevenson, 1994). A formação de compostos humificados polimerizados com elevado grau de evolução é consequência de sua estabilização química, que ocorre também através da formação de complexos com íons metálicos (Garcés, 1987). Segundo Stevenson (1994), os principais cátions polivalentes que atuam na complexação argilo-húmica são  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Fe}^{+++}$  e  $\text{Al}^{+++}$ . Diversos fatores influenciam a ligação SHs-metal, entre os quais incluem-se pH, força iônica, valência do cátion e conteúdo de grupamentos funcionais. A influência do pH na estabilidade dos complexos foi avaliada por Schnitzer (1965). Os grupamentos funcionais oxigenados da matéria orgânica humificada precisam se ionizar para desenvolver cargas negativas capazes de formar o complexo com cátions metálicos. Os principais grupamentos ácidos presentes nos AHs são os fenólicos e os carboxílicos, que se ionizam a valores de pH entre 9 e 10, e 3 e 5, respectivamente, constituindo-se, portanto, em ácidos muito fracos e fracos. Os valores de pH da solução de solos tropicais com elevado grau de intemperização, tais como os observados neste estudo (Quadro 4), não são suficientemente elevados para ionizar os polieletrólitos de ácidos fracos da matéria orgânica humificada. Dessa forma, a superfície orgânica deve permanecer, na sua maior parte, saturada com  $\text{H}^+$ , impedindo a interação com metais livres da solução e a sua policondensação catalisada pelos metais polivalentes.

A Figura 13 mostra a representação esquemática da interação da fração humificada da matéria orgânica com a fração mineral do solo. Na superfície dos “óxidos” de Fe e Al, predominam cargas dependes de pH, e a interação com os grupamentos funcionais da matéria orgânica se dá, principalmente, em função da coordenação direta com o cátion metálico. O processo utilizado para purificação dos AHs é baseado na ação do ácido fluorídrico sobre os minerais secundários silicatados, que, promovendo a hidrólise ácida do silicato, remove o silício das amostras de AHs com a formação do fluoreto de silício, como ilustrado pela reação:  $\text{SiO}_2 + 4\text{HF} \rightarrow \text{SiF}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$ . Este tratamento é bastante eficaz para a retirada de minerais silicatados do tipo 2:1 e 1:1, porém é inócua se a matriz

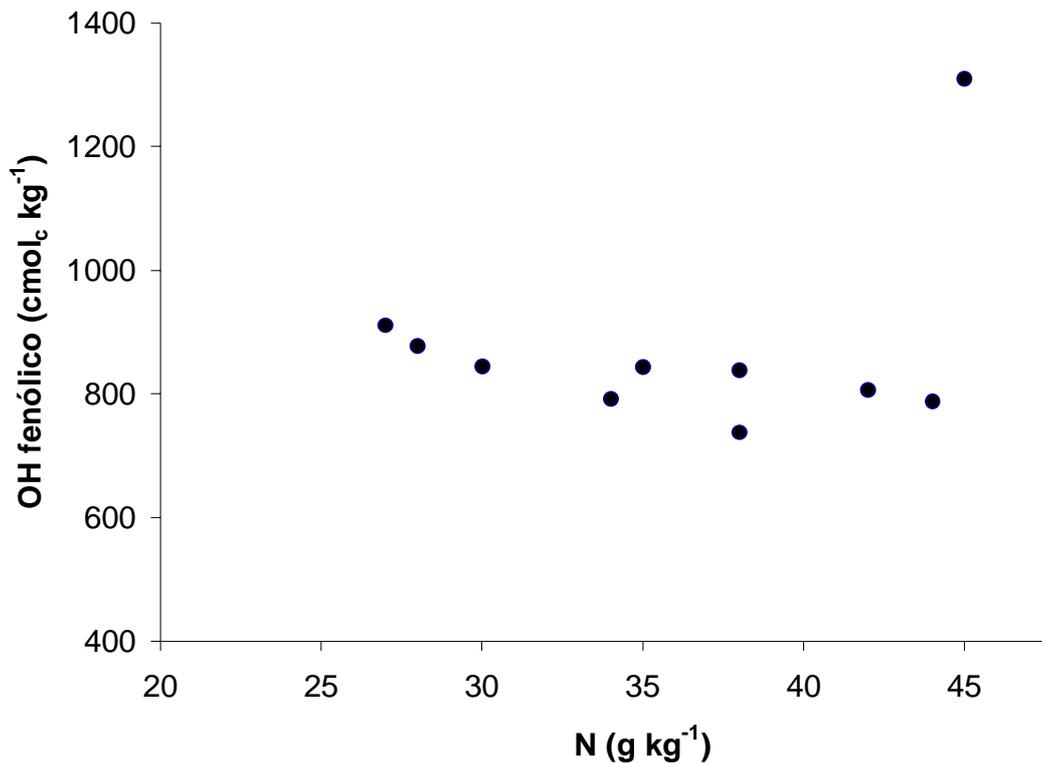
mineral for dominada por “óxidos”. Dessa forma, os elevados teores de cinzas, observados após a repetida purificação das amostras de AHs com HF (Quadro 5), devem ter contribuído para a formação de substância húmica alcalino solúvel com baixo conteúdo de C e elevado grau de oxidação.



**Figura 13-** Representação esquemática da interação de ácidos húmicos (AHs), segundo o modelo tridimensional proposto por Schulten e Schnitzer (1997), com a gibsita. C=cinza claro, O=vermelho, H=branco e Al=azul para os AHs e cinza escuro para gibsita.

Os valores obtidos para H e N variaram entre 52 - 72 g H kg<sup>-1</sup> e 27 - 45 g N kg<sup>-1</sup>, só considerados elevados para AHs. A faixa normalmente encontrada para o conteúdo de H é de 32 a 62 g H kg<sup>-1</sup> e para N de 8 a 43 g N kg<sup>-1</sup> (Stevenson, 1994). O AH isolado da área de mata alagada apresentou maior conteúdo de N em relação às demais áreas. O aumento de N em SHs é um indicador bastante utilizado para avaliar o grau de humificação, uma vez que a condensação de moléculas parcialmente humificadas é mediada, em parte, pela ação de grupamentos amino (Kononova, 1982). Se por um lado a natureza oxídica da fração mineral interrompe o processo de humificação e formação de macromoléculas húmicas, por outro a natureza ácida dos AHs com predomínio de grupamentos fenólicos precipita N em solução, imobilizando e tornando-o indisponível aos microrganismos e às reações de condensação. A interação de polifenóis com N é bastante conhecida (reação de Folin-Dennis) e é o que

caracteriza a presença de taninos gálicos e elágicos (conhecidos genericamente como polifenóis da matéria orgânica). A incorporação de N via precipitação com grupamentos OH-fenólicos pode ser justificada pela elevada presença destes compostos em todos os AHs estudados (Figura 14).



**Figura 14-** Relação entre N e acidez fenólica dos AHs extraídos de um Gleissolo sob mata alagada Cambissolo sob mata de morroete e Argissolo sob plantios abandonados de eucaliptos com 14, 16 e 18 anos, em duas profundidades.

O conteúdo de H nos AHs foi semelhante independente da cobertura vegetal e da profundidade do solo.

O valores de O nos AHs variaram de 432 a 562 g Okg<sup>-1</sup>, faixa normalmente observada para material humificado menos condensado, como os AFs, o que implica AHs bastante oxidados e menor intensidade do processo de humificação. Além disso, o alto conteúdo de cinzas obtido para esses AHs (Quadro 6), mesmo depois do tratamento com HF, que destrói minerais de argila

com silicatos mas não ataca óxidos de Fe e Al, pode indicar que estes minerais interagiram com o material húmico e bloquearam seus sítios de reação, que, por sua vez, impediram a condensação dos AHs, ou seja, sua evolução química (aumento do conteúdo de C e diminuição de O).

**Quadro 6-** Composição elementar ( $\pm$  erro padrão) e razão atômica (livres de cinzas e umidade) e percentagem de cinzas dos AHs extraídos de um Gleissolo sob mata alagada (A); Cambissolo sob mata de morrote (B); e Argissolo sob plantios abandonados de eucaliptos com 14, 16 e 18 anos (C, D e E), em duas profundidades

Áreas	C H N O				C/N	H/C	O/C	Cinzas -----%-----
	-----g kg <sup>-1</sup> -----							
0 - 0,10 m								
A	464 $\pm$ 51	59 $\pm$ 3	45 $\pm$ 5	432 $\pm$ 53	12,0	1,5	0,7	19,6 $\pm$ 6,4
B	399 $\pm$ 52	61 $\pm$ 3	38 $\pm$ 5	502 $\pm$ 53	12,2	1,8	0,9	55,4 $\pm$ 0,1
C	438 $\pm$ 45	52 $\pm$ 3	28 $\pm$ 9	482 $\pm$ 46	18,4	1,4	0,8	37,5 $\pm$ 0,6
D	411 $\pm$ 38	58 $\pm$ 4	34 $\pm$ 9	497 $\pm$ 40	14,2	1,7	0,9	43,8 $\pm$ 0,5
E	387 $\pm$ 46	64 $\pm$ 3	44 $\pm$ 8	505 $\pm$ 47	10,3	2,0	1,0	56,5 $\pm$ 0,9
0,10 – 0,20 m								
A	461 $\pm$ 46	59 $\pm$ 3	42 $\pm$ 6	437 $\pm$ 47	12,7	1,5	0,7	23,2 $\pm$ 2,0
B	379 $\pm$ 47	72 $\pm$ 4	38 $\pm$ 7	511 $\pm$ 47	11,7	2,3	1,0	63,6 $\pm$ 0,3
C	398 $\pm$ 47	58 $\pm$ 3	27 $\pm$ 7	516 $\pm$ 53	17,2	1,8	1,0	50,7 $\pm$ 1,8
D	359 $\pm$ 51	64 $\pm$ 3	35 $\pm$ 7	542 $\pm$ 50	12,0	2,1	1,1	57,3 $\pm$ 0,5
E	344 $\pm$ 46	64 $\pm$ 3	30 $\pm$ 6	562 $\pm$ 49	13,3	2,2	1,2	61,6 $\pm$ 0,2

A partir da composição elementar dos AHs são obtidas as razões atômicas C/N, H/C e O/C, que podem ser usadas para analisar o comportamento químico dos AHs (Lu et al., 2000). Com exceção dos AHs isolados na área C, os valores encontrados para razão C/N foram baixos (Quadro 6) oscilando entre 10 e 14 e indicando material humificado disponível ao ataque biológico. Vilella et al. (2004) verificaram que o conteúdo de N, na serrapilheira proveniente da área C, fora a metade do observado para as outras áreas de eucalipto e para uma mata

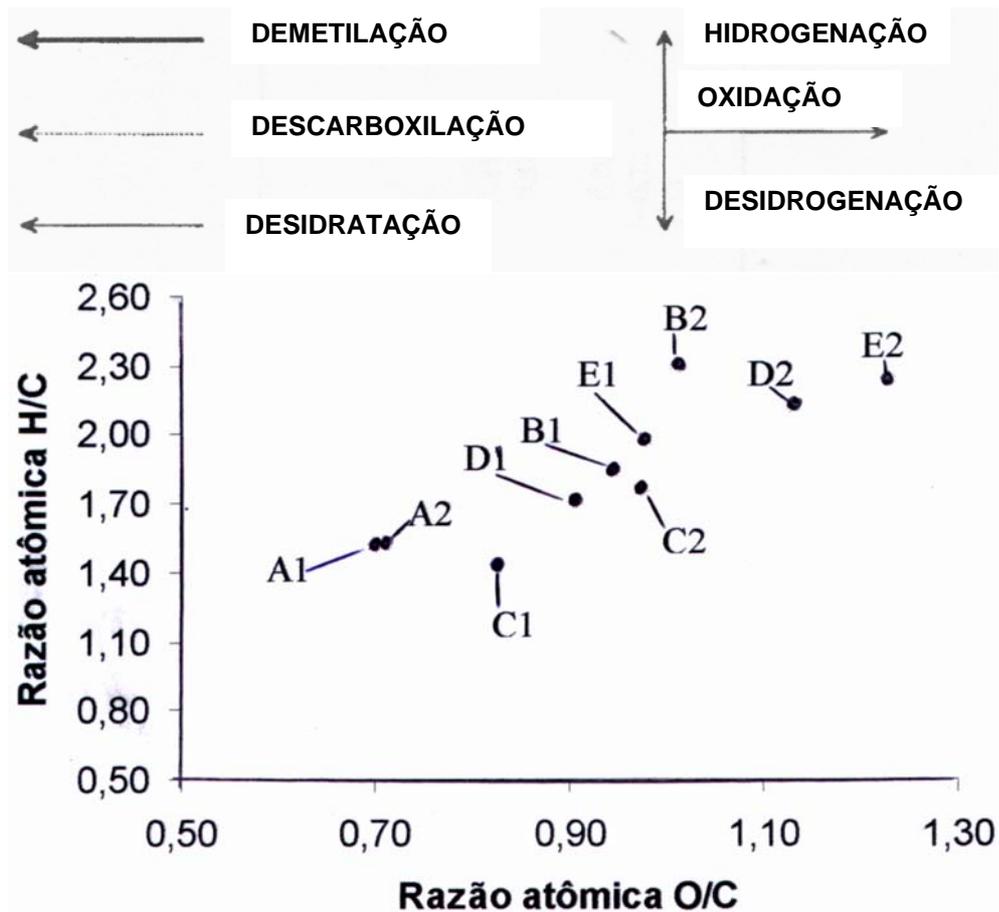
adjacente na mesma Reserva Biológica. O valor de N na amostra de solo (apresentado no Quadro 4), na camada superficial da área C, também foi menor em relação às demais áreas, porém, o comportamento não foi o mesmo em subsuperfície. É possível, então, estabelecer uma concepção teórica ou modelo para humificação da matéria orgânica desta área, que é dependente da atividade biológica e dos produtos dessa atividade na serrapilheira mais do que na fração mineral do solo. O fluxo de nutrientes, provenientes da ciclagem da matéria orgânica presente na serrapilheira, onde as raízes que são superficialmente dispostas para aproveitar os nutrientes, é bastante compartimentado com pouca interferência da capacidade de troca de cátions do solo. Desta forma, áreas que apresentaram serrapilheira com baixo conteúdo de nutrientes produziram SHs com menor conteúdo de N.

A razão H/C tem sido usada por muitos pesquisadores como um indicador indireto do grau de aromaticidade ou de insaturação das SHs (Rice e MacCarthy, 1991). Valores relativamente menores de H/C indicam um grau maior de aromaticidade, já valores maiores indicam menor grau de substituição e, portanto, maior presença de cadeias alifáticas. Os valores dessa razão variaram de 1,4 a 2,0 nos AHs isolados na profundidade 0 - 0,10 m, e de 1,5 - 2,2 na camada de 0,10 - 0,20 m do solo (Quadro 6). Normalmente em AHs de clima temperado, a razão H/C é menor que a unidade, indicando a presença de compostos orgânicos bastante substituídos e com grau mais elevado de conjugação. Neste estudo, a natureza alifática do material húmico foi bastante evidente (os valores da razão H/C sempre foram acima da unidade), indicando também a presença de material com característica apolar nos AHs, típicos de SHs pouco evoluídas estruturalmente. Com a profundidade, a razão H/C tendeu a aumentar, sugerindo diminuição do grau de humificação dos AHs, ou seja, quanto mais distante da atividade biológica sobre a superfície, que permite a maior síntese do material húmico e com menor pH e conteúdo de bases, é provável que tenha ocorrido diminuição das reações de substituição e preservação seletiva de compostos orgânicos alifáticos associados nos AHs.

De acordo com Lu et al. (2000), valores mais altos de O/C indicam AHs mais oxidados e com menor grau de condensação. Desta forma, as razões O/C obtidas nos AHs deste estudo mostraram-se elevadas (0,7 – 1,2) independente da cobertura vegetal e profundidade do solo, aproximando-se dos valores

observados para AFs, que, juntamente com a elevada acidez total, carboxílica e fenólica, evidenciam características fulváticas aos AHs.

O gráfico constituído a partir das relações H/C e O/C, conhecido como diagrama de Van Krevelen, pode ser usado para visualização dos processos químicos que atuam na formação das SHs (Baranciková et al., 1997). A partir deste, foi possível identificar teoricamente as principais reações de formação das SHs (Figura 15). Sob esta perspectiva é possível diferenciar três grupos de AHs. O primeiro é formado pelos AHs mais oxidados, extraídos das áreas D e E, na maior profundidade. O segundo é formado pelos AHs isolados das duas profundidades dos solos nas áreas B e C, e da superfície do solo nas áreas D e E, que, em relação ao primeiro grupo, passaram por reações mais intensas de demetilação, descarboxilação e desidratação. O AH extraído da superfície da área C apresentou maior grau nas reações de desidrogenação do que os demais AHs do segundo grupo. Já o terceiro grupo é composto pelos AHs da mata alagada (área A), nas duas profundidades do solo, são menos oxidados e possuem a maior condensação em relação aos outros AHs das outras áreas, atribuída às maiores quantidades de reação de desidratação (união de moléculas com perda de água).



**Figura 15-** Diagrama H/C versus O/C para AHs extraídos de um Gleissolo sob mata alagada (A); Cambissolo sob mata de morroto (B); e Argissolo sob plantios abandonados de eucaliptos com 14, 16 e 18 anos (C, D e E), em duas profundidades (1=0 - 0,10 m e 2=0,10 - 0,20 m).

As reações químicas que se processam no sistema solo são, em sua grande extensão, determinadas pelas cargas elétricas na superfície dos colóides minerais e orgânicos. Nos solos tropicais úmidos com grau elevado de intemperismo e predominância de minerais de argila 1:1 e “óxidos” com pequena densidade de cargas elétricas negativas, cerca de 80% dessas cargas são devido aos colóides orgânicos. Essas cargas são dependentes do pH do solo, que estabelece a quantidade de íons determinantes de potencial adsorvidos na superfície ( $H^+$  e  $OH^-$ ). Os principais grupamentos funcionais ionizáveis na matéria orgânica humificada são os carboxílicos e os fenólicos, considerados ácidos de Lewis fracos e muito fracos. A quantificação desses grupamentos é um marco importante para o estudo da reatividade dos AHs no sistema solo e também um

indicador químico direto de seu grau de evolução, uma vez que, com o avanço do processo de humificação, as reações de desidratação, condensação e oxidação diminuem a quantidade de grupamentos funcionais oxigenados capazes de ceder elétrons para formar uma ligação. A acidez total dos AHs mede a capacidade potencial de retenção de  $H^+$  ou cátions e portanto, a capacidade de formação de complexos.

Os resultados da acidez total, carboxílica e fenólica, encontrados para os diferentes AHs, são apresentados no Quadro 7. Os valores encontrados para acidez total foram elevados, entre 875 e 1580  $cmol_c kg^{-1}$ , típicos de matéria húmica pouco evoluída quimicamente, como os AFs. A faixa de acidez total, normalmente observada para AHs, varia de 560 a 890  $cmol_c kg^{-1}$  (Stevenson, 1994; Barancíková et al., 1997; Senesi et al., 2003). Os resultados foram similares aos valores tipicamente observados para AFs. A acidez total dos AHs diminuiu em profundidade, o que indica menor reatividade dos AHs com a profundidade do solo. Esta característica, juntamente com o baixo conteúdo de carbono e elevado de O (elevada razão O/C), indica presença de material muito oxidado e pouco condensado, ou seja, com baixo grau de evolução, o que confere a esses AHs um comportamento similar aos AFs. Isto está de acordo com o baixo conteúdo de AHs encontrado nesses solos (Quadro 5), atribuído às precárias condições de fertilidade do solo, principalmente à acidez elevada e ao baixo conteúdo de bases trocáveis, que podem estar impedindo a maior condensação dos AHs.

Os valores encontrados para acidez total são próximos aos obtidos, para AHs isolados de Argissolos da Região Norte do Estado do Rio de Janeiro, por Canellas et al. (2002a) e Canellas et al. (2002b), que observaram valores de acidez total entre 1030 e 1627  $cmol_c kg^{-1}$  em AHs, sugerindo baixo grau de evolução dos AHs nesses solos tropicais mais intemperizados. A presença de material humificado com acidez elevada tem um aspecto importante nos ecossistemas tropicais. A ciclagem de nutrientes ocorre basicamente na camada de serrapilheira, de onde a flora e microrganismos retiram os íons necessários para o seu crescimento. A presença de grande quantidade de moles de  $H^+$ , capazes de realizar reações de troca, funciona como uma rede protetora contra a perda de íons por lixiviação e, principalmente, para atenuar através da complexação os efeitos deletérios provocados pela presença da quantidade elevada de  $Al^{3+}$  trocável (Quadro 4).

A maior parte da acidez total foi devido à contribuição da acidez fenólica, que foi evidenciada pelas elevadas razões entre acidez fenólica e carboxílica (OH/COOH), variando entre 3,3 e 6,9. De acordo com Rossel et al. (1989), ocorrem diminuição no conteúdo de grupos OH fenólicos e um aumento no conteúdo de COOH com a humificação do solo, indicando a presença de material húmico pouco evoluído. A predominância de grupamentos fenólicos na acidez total indica a presença de um material menos ácido, já que OH fenólico é um ácido muito fraco com capacidade de se dissociar em valores de pH entre 9 e 10. Se por um lado a sua presença em maioria diminui a probabilidade de formação de complexos estáveis com íons metálicos, por outro a matéria orgânica com esta característica apresenta pouca capacidade para atacar minerais através de reações de hidrólise ácida e, conseqüentemente, baixa capacidade de liberar íons de forma não trocável para a solução do solo. Esse fenômeno torna a matéria orgânica menos agressiva à fração mineral do solo.

Considerando-se a cobertura vegetal, os AHs isolados na área de mata alagada apresentaram a maior acidez total ( $1580 \text{ cmol}_c\text{kg}^{-1}$ ), atribuída, pelo menos em parte, às condições hidromórficas dessa área, que, nos períodos de abaixamento do lençol freático, favorecem a presença de compostos fenólicos solúveis nos AHs, conforme observado em solos Glei por Manzatto (1990), contribuindo para produção de mais radicais ácidos. Nas outras áreas, os valores de acidez foram muito próximos, indicando que a reatividade da matéria orgânica depende mais das condições de humificação do que da qualidade da serrapilheira ou do material precursor dos AHs.

**Quadro 7-** Valores médios ( $\pm$  erro padrão) encontrados para acidez total, carboxílica e fenólica; razão  $E_4/E_6$  e área do espectro de fluorescência de emissão com excitação em 465 nm ( $A_{465}$ ) dos AHs extraídos de um Gleissolo sob mata alagada (A); Cambissolo sob mata de morrote (B); e Argissolo sob plantios abandonados de eucaliptos com 14, 16 e 18 anos (C, D e E), em duas profundidades

AH	Acidez total	Acidez COOH	Acidez OH- fenólica	Razão OH/COOH	$E_4/E_6$	$A_{465}$
	-----cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> -----					u. a. f.
0 - 0,10 m						
A	1580 $\pm$ 80	270 $\pm$ 20	1310	4,8	5,8	11240
B	1000 $\pm$ 10	161 $\pm$ 7	839	5,2	5,0	10170
C	1105 $\pm$ 75	227 $\pm$ 1	878	3,8	4,3	4800
D	970 $\pm$ 110	177 $\pm$ 13	792	4,5	6,0	1200
E	1025 $\pm$ 65	237 $\pm$ 1	788	3,3	6,2	4.600
0,10-0,20 m						
A	1040 $\pm$ 60	233 $\pm$ 23	807	3,5	3,2	1240
B	875 $\pm$ 15	136 $\pm$ 6	738	3,5	6,1	1176
C	1075 $\pm$ 65	164 $\pm$ 17	911	5,5	5,3	888
D	965 $\pm$ 55	122 $\pm$ 19	843	6,9	6,0	1165
E	1010 $\pm$ 50	165 $\pm$ 11	845	5,1	4,1	605

### *Análises espectroscópicas*

A razão  $E_4/E_6$ , obtida através da espectroscopia na região ultravioleta-visível (UV-visível), é amplamente utilizada para avaliar o grau de humificação das SHs, apesar de algumas controvérsias. Kononova (1982) postulou uma relação inversa entre o grau de condensação da matéria orgânica humificada (i.e. presença de anéis aromáticos) e o valor da razão  $E_4/E_6$ . No entanto, estudos posteriores indicaram que essa razão está mais intimamente relacionada ao tamanho/massa da partícula do que à presença de anéis aromáticos, devido à dissipação da luz na solução diluída de macromoléculas (Chen et al., 1977).

Os menores valores dessa razão foram observados para a área de eucalipto com 14 anos (4,3) na camada 0 - 0,10 m, para a mata alagada (3,2) e

área de eucalipto com 18 anos (4,1), na camada de 0,10 - 0,20 m do solo (Quadro 7). Esses valores não apresentaram uma relação com o aumento da profundidade, pois a razão  $E_4/E_6$  aumentou nos AHs isolados nas áreas B e C e diminuiu nas áreas A e E, permanecendo constante na área D. A razão  $E_4/E_6$  não apresentou nenhuma correlação significativa com os conteúdos de O, C, COOH e acidez total, diferentemente ao que foi estipulado por Chen et al. (1977), indicando, assim, que essa razão está mais relacionada ao tamanho das partículas dos AHs do que com sua reatividade. Klinca e Lowe (1979), analisando AHs de diferentes ecossistemas florestais, observaram que a propriedade ótica  $E_4/E_6$ , sozinha, não distinguiu as diferentes coberturas vegetais estudadas. No entanto, essa propriedade teve correlação positiva com as condições edáficas tais como pH, relação C/N do solo e conteúdo de K, o que não foi obtido no presente trabalho.

Bravard e Righi (1991) encontraram valores elevados da razão  $E_4/E_6$  (8,2 – 9,2) para Latossolos do Amazonas, enquanto Canellas et al. (2002b) observaram valores que variaram entre 2,6 e 3,4 para Argissolos sob plantios de eucaliptos e cana-de-açúcar, no Rio de Janeiro. Essa faixa ampla de valores para a razão  $E_4/E_6$  foi obtida em ambientes completamente diferentes. Originalmente, a razão  $E_4/E_6$  foi usada para distinção de SHs provenientes de diferentes tipos de solo, com condições ecológicas de formação bastante diferenciadas, sendo empregada com bastante sucesso (Kononova, 1982). No entanto, para a distinção de AHs originados de condições edáficas bastante semelhantes, o uso da razão  $E_4/E_6$  pode não ser efetivo, como o observado neste estudo.

A fluorescência de um composto depende de sua estrutura molecular e está quase sempre associada ao sistema eletrônico  $\pi$ . Sua intensidade é alterada por substituintes, ou seja, grupos doadores de elétrons que aumentam a eficácia da fluorescência ou retiradores de elétrons que a reduzem (Sierra e Giovanela, 1995). Bayer et al. (2002); Millori et al. (2002) e Pérez et al. (2004) mostraram que a intensidade de emissão de fluorescência de AHs com excitação na luz azul (430 nm) pode estar diretamente relacionada com a condensação, revelando-se um indicador do grau de humificação.

As análises da espectroscopia de fluorescência demonstraram maior absorção dos AHs dos solos de mata alagada (A) e mata de morrote (B) em relação às áreas de eucalipto (Quadro 7). Isso foi observado para as duas

profundidades analisadas, sendo que a intensidade de fluorescência diminuiu consideravelmente na camada 0,10 - 0,20 m do solo. De acordo com Pérez et al. (2004), a elevada intensidade de fluorescência está diretamente relacionada com o aumento do grau de aromaticidade e da concentração de radicais livres do tipo semiquinonas, que, por sua vez, indicam maior grau de humificação. Isso pode ser atribuído aos grupos fenólicos formados durante o processo de degradação da matéria orgânica (Zech et al., 1997), que são oxidados durante o processo de humificação produzindo estrutura do tipo quinona, que é precursora de radicais livres do tipo semiquinonas.

A mata alagada apresentou maior conteúdo de C; menores reações de oxidação segundo o diagrama de Van Krevelen; e maior acidez total na camada de 0 - 0,10 m, que normalmente é obtida com o processo de humificação do solo. No entanto, os demais parâmetros empregados neste estudo para caracterizar os AHs não apresentaram diferenças marcantes nos AHs isolados das matas e das áreas de eucalipto. É possível indicar então que, para ambientes similares, a técnica de fluorescência apresenta sensibilidade suficiente para discriminar os efeitos da serrapilheira nas características eletrônicas do material humificado. De acordo com Sierra e Giovanela (1995), Skoog (2002) e Chen et al. (2003), as propriedades de fluorescência das SHs são dependentes de diversos fatores, como sua origem, massa molar, concentração, pH, força iônica, temperatura, potencial redox do meio, grau de conjugação e efeitos de substituintes. Além disso, a interação com íons metais reduz a intensidade de fluorescência (Ghosh e Schnizer, 1981). Nesse contexto, é importante considerar que as áreas de eucalipto apresentam um maior percentual de argila que as áreas de mata (Quadro 4) que, juntamente com os hidróxidos de ferro, podem formar complexos afetando as interações hidrofóbicas. Tais interações são responsáveis pelo arranjo das SHs (Picollo, 2002). Assim, interações mais fracas permitem maior solubilidade dos AHs.

Nesse contexto, foi observado menor conteúdo de cinzas nos AHs isolados nas áreas de mata (Quadro 5) proporcionando maior disponibilidade desse material em solução, o que afeta o metabolismo e o crescimento das plantas, considerando que AHs exercem efeito direto de estimulação de plantas (Canellas et al. 2002b). O efeito dos AHs está relacionado ao favorecimento da nutrição celular através da indução da síntese de enzimas  $H^+$ -ATPases de

membrana plasmática. Essa enzima gera o gradiente eletroquímico necessário para a energização do transporte de água e nutrientes para a célula, favorecendo o crescimento radicular (Canellas et al., 2002b).

A espectroscopia de infravermelho (IV) permite distinguir as vibrações moleculares de diversos grupos funcionais (Silverstein e Webster, 2000), o que viabiliza a análise qualitativa dos grupos reativos de compostos húmicos. Além disso, a região compreendida entre  $1400\text{ cm}^{-1}$  e  $900\text{ cm}^{-1}$  é conhecida como região de *impressão digital* de uma substância orgânica, i.e., compostos orgânicos iguais apresentam mesma absorção e, conseqüentemente, compostos orgânicos distintos apresentam absorções distintas nessa região. Essa propriedade da espectroscopia de IV é muito útil para diferenciação de compostos.

Nas Figuras 16 e 17 estão apresentados os espectros, na região do IV, dos AHs extraídos dos solos de áreas de mata nativa e de plantios de eucalipto abandonados. As possíveis atribuições das bandas de absorção (Quadro 8 e 9) foram realizadas com base nos trabalhos de Kononova (1982), Bloom e Leenheer (1989), Stevenson (1994), Rivero et al. (1998), Ceretta et al. (1999), Canellas (1999), Silverstein e Webster (2000), Canellas et al. (2002b), Senesi et al. (2003) e Dick et al. (2003).

Em todos os espectros aparecem bandas de absorção bem definidas na região de  $3694\text{ cm}^{-1}$  (área A) e  $3698\text{ cm}^{-1}$  (áreas D e E), na menor profundidade do solo, e em  $3694\text{ cm}^{-1}$  (área B) e  $3698\text{ cm}^{-1}$  (áreas C e E), na camada 0,10 - 0,20 m do solo, que podem ser atribuídas a vibração de estiramento da ligação de grupos OH e NH livres. Na região de  $3378$  a  $3400\text{ cm}^{-1}$ , foram observadas bandas de absorção alargadas nos AHs, exceto para as áreas B e D, na profundidade 0 - 0,10 m. Essa região é característica da absorção da vibração de estiramento de grupos OH em pontes de H inter e intramoleculares. O tamanho do alargamento da absorção tem correspondência com a força da interação H, uma vez que, quanto mais forte a ponte de H, mais energia é necessária para estirar as ligações proporcionando o alargamento da absorção. As bandas de absorção na região de  $3133$  a  $3155\text{ cm}^{-1}$  podem ser atribuídas à presença de C-H aromáticos e ciclos alcanos. Essa absorção está nos AHs da mata alagada (A) e diminui com a profundidade do solo. Em todos os espectros, foram observadas absorções na faixa de  $2918$  a  $2930\text{ cm}^{-1}$ , atribuídas normalmente à presença de grupos metilas

(estiramento C-H de grupos  $\text{CH}_3$ ), o que confirma a presença de estruturas alifáticas observadas pela elevada relação H/C (Quadro 6).

Na região de  $1700\text{ cm}^{-1}$ , característica da absorção de carbonilas de cetonas, foram observadas bandas de absorção em  $1706\text{ cm}^{-1}$  para AHs da superfície da área A e da maior profundidade da área C; em  $1709\text{ cm}^{-1}$  para AHs da área E (0,10 - 0,20 m) e, em  $1711\text{ cm}^{-1}$  para área C (0,10 - 0,20 m), que correspondem a C=O de cetonas e grupos COOH. Esses sinais de absorção são mais evidentes nos AHs da área de eucalipto C.

As bandas de absorção atribuídas à presença de grupamentos fenólicos normalmente são observadas na região entre  $1290\text{-}1350\text{ cm}^{-1}$ . Foram observadas bandas de absorção nos AHs isolados da camada superficial em  $1393\text{ cm}^{-1}$  na área A e B; em  $1383\text{ cm}^{-1}$  na área D e em  $1391\text{ cm}^{-1}$  nas áreas C e E. Com a profundidade, apenas a área A ( $1400\text{ cm}^{-1}$ ) se diferenciou das demais áreas. Essas absorções são mais fortes que as atribuídas aos grupamentos COOH ( $1239\text{-}1254\text{ cm}^{-1}$ ), que apresentaram absorção na mesma região para os AHs das matas, apenas na profundidade 0 - 0,10 m ( $1393\text{ cm}^{-1}$ ). Isso confirma a elevada acidez fenólica observada nas análises dos grupamentos funcionais dos AHs (Quadro 7).

As absorções nas regiões de  $1028\text{ cm}^{-1}$  (área A);  $1033\text{ cm}^{-1}$  (áreas B e E);  $1036\text{ cm}^{-1}$  (área D) e  $1041\text{ cm}^{-1}$  (área C) são referentes à presença de polissacarídeos nos AHs da camada 0 - 0,10 m do solo e são menos intensas na área C, que possui menor teor de N na composição elementar. As bandas de absorção foram mais fortes nos AHs extraídos da camada superficial, onde há maior adição de resíduos e maior atividade biológica. Segundo Garcès (1987), absorção próxima a  $1100\text{ cm}^{-1}$  é atribuída à presença de grupos  $\text{COO}^-$  ligados a cátions metálicos. A presença de um conteúdo elevado de cinza (Quadro 6) sugere a presença de material inorgânico persistente, mesmo após a purificação dos AHs, como já observado por Canellas (1999) analisando a capacidade de adsorção de íons metálicos das SHs.

Para a região de absorção correspondente à de formação de CH aromático ( $811\text{-}935\text{ cm}^{-1}$ ), as absorções foram distintas entre os diferentes tipos de AHs. O mesmo foi observado para as absorções na região de  $515\text{ a }539\text{ cm}^{-1}$ .

A região de  $1420\text{ a }910\text{ cm}^{-1}$ , conhecida como impressão digital, corresponde à faixa de absorção dos grupamentos funcionais pouco afetados

pelo restante da molécula, sendo, portanto, uma região característica de cada espectro de AH. Os AHs extraídos dos solos apresentaram diferenças na região e na intensidade das bandas de absorção. Os espectros de IV mostraram a presença de estruturas aromáticas e alifáticas, amidas, COOH, OH fenólico, além de carboidratos nesses AHs. Esses dados demonstraram AHs com funcionalidade similar, mas com absorções específicas na região de impressão digital, indicando que há um efeito do tipo de solo e da vegetação de cobertura na assinatura química dos AHs mas não na sua reatividade geral.

**Quadro 8-** Possíveis atribuições das bandas de absorção ( $\text{cm}^{-1}$ ) encontradas nos espectros de IV de AHs extraídos de um Gleissolo sob mata alagada (A); Cambissolo sob mata de morrote (B); e Argissolo sob plantios abandonados de eucaliptos com 14,16 e 18 anos (C, D e E), na profundidade 0 - 0,10 m.

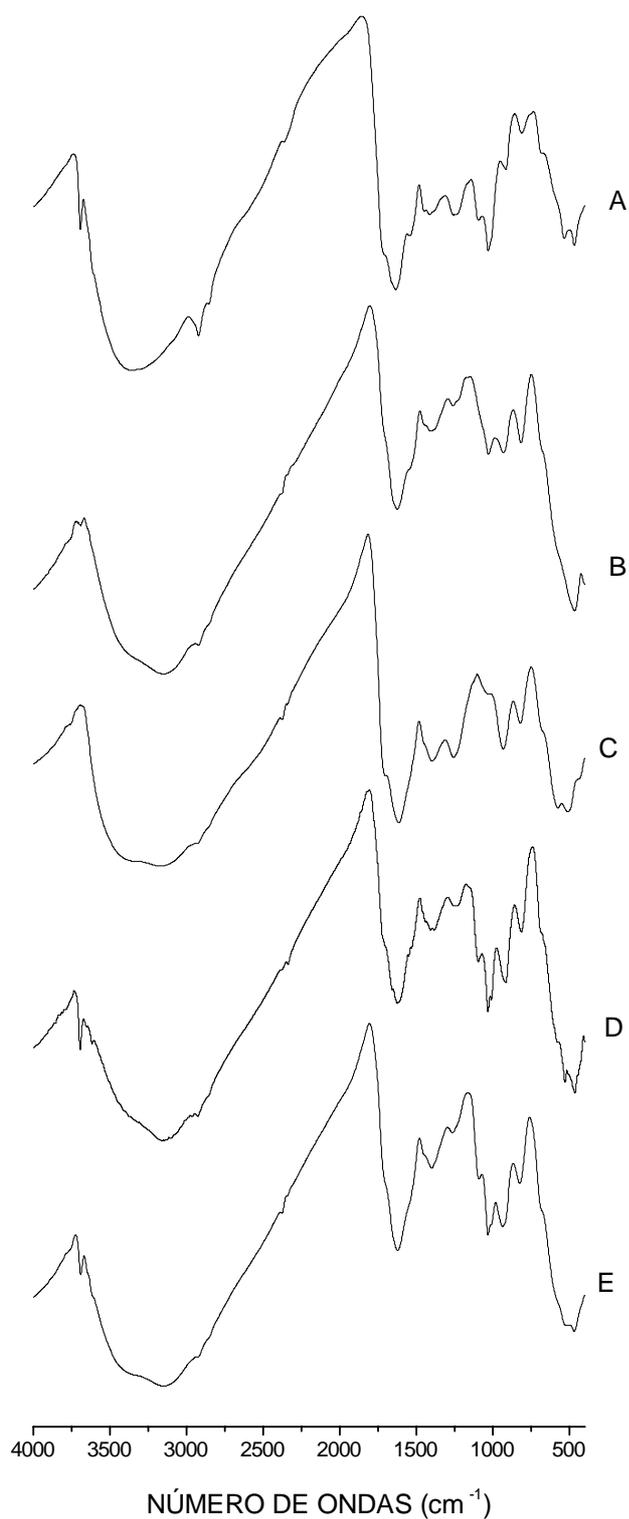
A	B	C	D	E	Possíveis atribuições
----- $\text{cm}^{-1}$ -----					
3696(m)	-	-	3698(m)	3698(m)	$\delta$ OH e NH livres
3378(al)	-	3400(f)	-	3393(al)	$\nu$ OH e NH em ligação inter e intramolecular
-	3143(al)	3155(al)	3150(al)	3133(al)	$\delta$ CH aromático e $\text{CH}_2$ e CH de ciclo alcanos
2923(F)	2928(f)	2923(f)	2920(f)	2923(f)	$\nu$ $\text{CH}_3/\text{CH}_2$ alifático
2844(f)	2839(f)	2840(f)	2839(f)	-	$\nu$ $\text{CH}_3/\text{CH}_2$ alifático
1706(f)	-	1711(f)	-	-	$\nu$ C=O de $\text{CO}_2\text{H}$ e cetonas
1621(F)	1621(F)	1613(F)	1623(F)	1623(F)	$\nu$ C=O amida I, quinonas
1542(f)	1538(f)	-	-	-	$\delta$ NH e amidall
1393(F)	1393(F)	1391(F)	1383(F)	1391(F)	$\delta$ OH e $\nu$ C-O de OH fenólico, $\delta$ C-H de $\text{CH}_2$ e $\text{CH}_3$ e $\nu$ $\text{COO}^-$
1246(F)	1246(m)	1254(m)	1239(m)	1244(m)	$\nu$ C-O e $\delta$ OH de $\text{COOH}$ , $\nu$ C-O de aril-éteres, ésteres
1097(f)	-	-	1092(f)	1095(f)	$\nu$ C-O de polissacarídeos
1028(F)	1033(m)	1041(f)	1036(F)	1033((F)	$\nu$ C-O de polissacarídeos
923(m)	926((m)	935(F)	916(F)	935(F)	$\delta$ CH aromático
813m)	813(F)	818(F)	811(F)	813(F)	$\delta$ CH aromático
676(f)	-	671(f)	-	-	$\delta$ CH aromático
529(f)	-	515(f)	537(f)	522(f)	$\nu$ C=C aromático

$\nu$ =estiramento;  $\delta$ =deformação; al=alargada; f=fraco; m=médio; F=forte

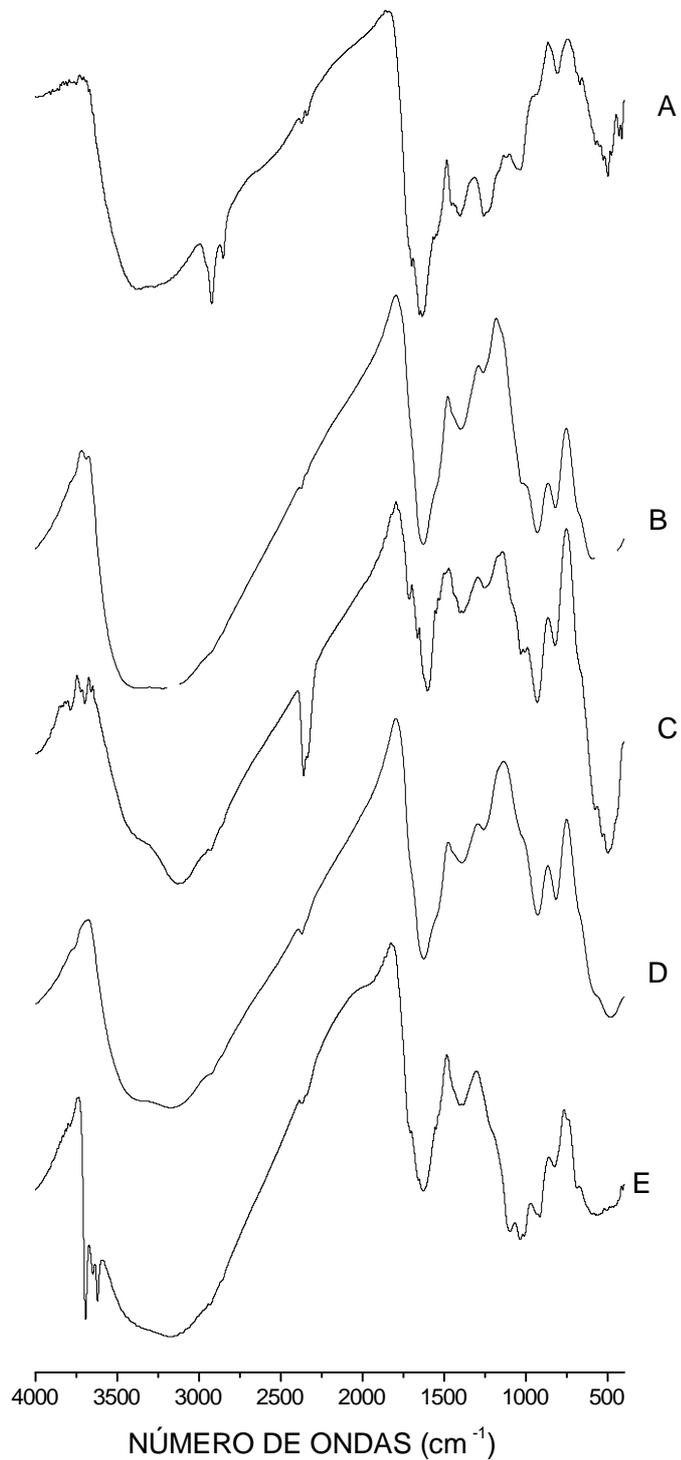
**Quadro 9-** Possíveis atribuições das bandas de absorção ( $\text{cm}^{-1}$ ) encontradas nos espectros de IV de AHs extraídos de um Gleissolo sob mata alagada (A); Cambissolo sob mata de morrote (B); e Argissolo sob plantios abandonados de eucaliptos com 14, 16 e 18 anos (C, D e E), na profundidade 0,10 - 0,20 m.

A	B	C	D	E	Possíveis atribuições
----- $\text{cm}^{-1}$ -----					
-	3694(f)	3698(m)	-	3698(F)	$\delta$ OH e NH livres
-	-	-	-	3620(F)	$\delta$ OH
3395(al)	3400(al)	3390(al)	3400(al)	3390(al)	$\nu$ OH e NH em ligação inter e intramolecular
-	3145(al)	3114(F)	3143(al)	3153(al)	$\delta$ CH aromático e $\text{CH}_2$ e CH de ciclo alcanos
2920(F)	2923(f)	2918(f)	2930(f)	2918(f)	$\nu$ $\text{CH}_3/\text{CH}_2$ alifático
2842(f)	-	-	-	-	$\nu$ $\text{CH}_3/\text{CH}_2$ alifático
-	-	1706(f)	-	1709(f)	$\nu$ C=O de $\text{CO}_2\text{H}$ e cetonas
1628(m)	1621(F)	-	1621(F)	1623(F)	$\nu$ C=O amida I, quinonas
1564(f)	-	1596(F)	-	-	$\delta$ NH e amidall
1400(m)	1393(F)	1393(m)	1393(m)	1393(m)	$\delta$ OH e $\nu$ C-O de OH fenólico, $\delta$ C-H de $\text{CH}_2$ e $\text{CH}_3$ e $\nu$ $\text{COO}^-$
1239(m)	1246(m)	1246(m)	1246(m)	-	$\nu$ C-O e $\delta$ OH de $\text{COOH}$ , $\nu$ C-O de aril-éteres, ésteres
1033(f)	1033(f)	1033(f)	1041(f)	1033(m)	$\nu$ C-O de polissacarídeos
923(f)	928(F)	933(F)	933(F)	926(m)	$\delta$ CH aromático
813(m)	811(m)	820(m)	813(m)	811(m)	$\delta$ CH aromático
674(f)	-	-	-	674(f)	$\delta$ CH aromático
522(f)	524(al)	539(f)	539(f)	529(al)	$\nu$ C=C aromático

$\nu$ =estiramento;  $\delta$ =deformação; al=alargada; f=fraco; m=médio; F=forte.



**Figura 16-** Espectros de infravermelho de AHs extraídos de um Gleissolo sob mata alagada (A); Cambissolo sob mata de morrote (B); e Argissolo sob plantios abandonados de eucaliptos com 14, 16 e 18 anos (C, D e E), na profundidade 0 - 0,10 m.



**Figura 17-** Espectros de infravermelho de AHs extraídos de um Gleissolo sob mata alagada (A); Cambissolo sob mata de morrote (B); e Argissolo sob plantios abandonados de eucaliptos com 14, 16 e 18 anos (C, D e E), na profundidade 0,10 - 0,20 m.

### *Regeneração de espécies nativas e MOS*

A vegetação de determinada área é composta pelas espécies ali presentes, em que a regeneração destes indivíduos compõe sua dinâmica e seu futuro paisagístico e funcional. As medidas mais comumente utilizadas nas avaliações de áreas em processo de restauração estão relacionadas com a composição do estrato arbóreo e do sub-bosque, sendo este último avaliado pela densidade e número de espécies estabelecidas através da regeneração natural, além da densidade e número de espécies de outras formas de vida, como as gramíneas, lianas, entre outras (Fang e Peng, 1997). A regeneração das espécies em uma determinada área pode refletir as condições futuras desse ambiente.

Os valores de densidade e riqueza de plântulas das áreas amostradas estão apresentados no Quadro 10. As áreas de mata demonstraram uma densidade de indivíduos bem superior à que áreas de eucaliptos. Em relação aos fragmentos de mata, a mata de morrote (B) apresentou maior densidade que a mata alagada (A). No entanto, o critério de inclusão para a amostragem de regeneração, utilizado por Rodrigues (2004) na área B, considera como plântulas indivíduos até 1 m de altura. Isto faz com que essa comparação seja realizada com as devidas ressalvas, como uma forma de auxiliar na interpretação dos resultados.

Dentre os plantios de eucalipto, a área C apresentou menor densidade de indivíduos e riqueza de morfo-espécies (840 ind. ha<sup>-1</sup>). A dominância de gramíneas, nessa área, como observado por Vilella et al. (2001b), pode ter dificultado o estabelecimento das plântulas. De acordo com as observações de Carneiro (2002), as gramíneas podem constituir uma barreira física para o recrutamento de novas espécies na área.

Em geral, a densidade de indivíduos e a riqueza de morfo-espécies foram muito baixas para os plantios de eucalipto em relação às matas. Assim, é importante considerar alguns fatores que afetam no processo de regeneração de espécies, tais como disponibilidade de luz (Souza, 2000), o grau de isolamento em relação às fontes de propágulos, i.e., da floresta nativa (Loumeto e Huttel, 1997); a atratividade à fauna dispersora (Parrota et al., 1997; Geldenhuys, 1997); a drenagem, a disponibilidade de nutrientes do solo, a temperatura (alterada pelo índice de radiação) e a idade do plantio (Geldenhuys, 1997), entre outros. Nesse

contexto, é necessário considerar a atuação dos diferentes fatores e suas interações na formação do ecossistema.

Em relação às variáveis do solo, essas, apesar das diferentes classes de solos, demonstraram situações de baixa fertilidade semelhantes para todas as áreas amostradas, sendo que os solos das áreas C e E obtiveram menor acidez e maior saturação de Al (m), na menor profundidade. No entanto, não há uma relação direta entre o pH e "m" com a densidade de plântulas, apresentando coeficiente de determinação sempre inferiores a 0,45.

A distribuição das frações humificadas da MOS apresentou poucas diferenças entre as áreas, o que desvincula o efeito direto desse fator na regeneração das espécies nativas. Para as diferenças observadas nas análises químicas do material humificado, como os AHs menos oxidados e com maior acidez total na mata alagada, e o menor teor de N na área C, também não são constatadas relações ( $r^2$  sempre menores que 0,1). Entretanto, uma baixa concentração de N foi obtida na serrapilheira dessa mesma área segundo os estudos de Villela et al. (2001b), de forma que isso pode ter refletido no baixo teor de N do material. De acordo com as avaliações de Geldenhuys (1997), sobre plantios de pinus e eucalipto no Sul da África, a menor disponibilidade de nutrientes pode dificultar a regeneração de espécies nativas.

A maior intensidade de fluorescência observada nos AHs das áreas de mata, que pode estar relacionada às ligações hidrofóbicas mais fracas dessa fração húmica e, conseqüentemente, à sua maior solubilidade, resultou em uma relação significativa com a densidade das plântulas ( $r^2=0.72$ ). Dessa forma, a baixa densidade de plântulas, nas áreas de eucalipto, pode estar sendo influenciada pela menor disponibilidade do material húmico em solução.

Segundo Lisanewok e Michelsen (1994), Ndaw (2003) e Froufe (2003), alta concentração de lignina (substâncias mais resistentes à decomposição) em folhas de eucalipto pode dificultar a liberação de nutrientes para a regeneração da vegetação. No entanto, diversos estudos têm constatado a regeneração natural de espécies nativas sob plantios de eucalipto de diferentes espécies (Silva Júnior et al., 1995; Parrota, 1999; Lisanewok e Michelsen, 1994).

Loumeto e Huttel (1997) consideraram as florestas plantadas de *Eucalyptus*, *Pinus* e *Acacia* como catalisadoras da regeneração e, conseqüentemente, da recuperação da biodiversidade da floresta natural do

Congo. Esse processo de regeneração também foi bem sucedido sob plantios de *Eucalyptus robusta*, *Casuarina equisetifolia* e *Leucaena leucocephala* (Parrota, 1999).

Carneiro (2002) observou intenso processo de sucessão secundária no sub-bosque de plantios de *Eucalyptus grandis* em Itatinga, SP. Essa mesma espécie favoreceu o estabelecimento de comunidades jovens características de estágio avançado de sucessão, na Mata Atlântica, Sul do Brasil (Silva Junior et al., 1995). Estes mesmos autores destacam o potencial dos plantios de *Eucalyptus* na recuperação de áreas degradadas.

**Quadro 10-** Densidade ( $\pm$  erro padrão) e riqueza das plântulas sob fragmentos de mata alagada (A) mata de morrote (B) e plantios abandonados de eucalipto com 14, 16 e 18 anos (C, D e E ), respectivamente

Área amostrada	Densidade (ind ha <sup>-1</sup> )	Riqueza (morfo- espécies)
<b>A</b> (62,5 m <sup>2</sup> )	33440 $\pm$ 4605 b	116
<b>B</b> (80 m <sup>2</sup> )	57000 $\pm$ 6074 a	-
<b>C</b> (250 m <sup>2</sup> )	840 $\pm$ 444 c	8
<b>D</b> (250 m <sup>2</sup> )	2360 $\pm$ 519 c	14
<b>E</b> (250 m <sup>2</sup> )	1440 $\pm$ 483 c	13
<b>CV</b> (%)	41	-
<b>F</b>	54	-

Médias nas colunas seguidas por letras diferentes são diferentes pelo teste de Tukey (P<0,05).

Esses resultados expressam que outros fatores, além das características do solo, são preponderantes no processo de regeneração das áreas amostradas. Assim, é importante considerar que a funcionalidade de um ecossistema é formada pela correlação de um conjunto de fatores (Swift e Anderson, 1993) e que a modificação de algum deles pode implicar grandes alterações no ambiente.

Nesse contexto, destaca-se a maior intensidade de luz e a menor umidade observada nas áreas de plantios em comparação à área de mata nativa,

em especial, no plantio C, que também apresentou uma pequena elevação na temperatura (Ribeiro, 2004). Isto pode ser atribuído à uma menor cobertura do dossel, de forma que um maior sombreamento propiciado pelo dossel pode agir no micro-clima do sub-bosque (Loumeto e Huttel, 1997). Um outro fator a ser melhor investigado é a alelopatia, que influencia diretamente na germinação e sobrevivência das espécies. Análises realizadas com o extrato de *Corymbia citriodora* demonstraram inibição na germinação de sementes e no crescimento do epicótilo de alface, grama e outros vegetais (Nishimura et al., 1984).

Além disso, outros fatores necessitam ser avaliados, tais como alterações na ciclagem de nutrientes (Didham, 1998); acúmulo de serrapilheira, que pode dificultar a germinação (Bruna, 1999) e a sobrevivência das plântulas; visita de animais dispersores (zoocoria), que pode estar sendo repelida pelas condições mais perturbadas das áreas de plantios, além do odor exalado pela espécie *C. citriodora*, que pode afetar e dispersar alguns membros da fauna. Além disso, a proximidade das matas nativas possibilita uma maior “chuva” de sementes no local (Silva Junior et al., 1995).

Nesse contexto, a variável solo e as características da matéria orgânica não são determinantes na riqueza e regeneração das espécies sob plantios de eucalipto. Assim, o sucesso da recomposição da mata nativa parece depender da compreensão sobre o funcionamento do ecossistema e de sua aplicabilidade de forma eficiente, em uma intervenção antrópica.

## 5. RESUMO E CONCLUSÕES

O objetivo deste trabalho foi avaliar a distribuição da matéria orgânica humificada do solo através do fracionamento químico e também a natureza química de AHs através de métodos químicos e espectroscópicos. Além disso, estudou-se uma possível relação entre a qualidade da matéria orgânica humificada e a regeneração de espécies nativas. Foram realizadas amostras compostas de solo em duas profundidades (0 - 0,10 m e 0,10 - 0,20 m). Os solos da reserva apresentaram fertilidade natural muito baixa, indicada, pela baixa CTC ( $< 6 \text{ cmol}_c \text{ kg}^{-1}$ ), pH ácido ( $< 5,5$ ) e elevado conteúdo de Al (entorno de  $2 \text{ cmol}_c \text{ kg}^{-1}$ ), condições estas limitantes para o processo de humificação. As SHs representaram, portanto, menos de 50% do carbono prontamente oxidável, indicando que a serrapilheira tem o papel central na nutrição das plantas e microrganismos. A distribuição relativa das frações que compõem a matéria orgânica humificada não foi alterada pela cobertura vegetal e nem pela classe de solo. Os AHs apresentaram natureza química semelhante à normalmente encontrada para os AFs, tais como baixo conteúdo de carbono, razões H/C e O/C elevadas e acidez elevada, caracterizando material humificado pouco

condensado. Porém, foi possível observar, através dos métodos espectroscópicos, diferenças entre os AHs . A análise de infravermelho permitiu identificar diferenças na estrutura dessa fração húmica, apesar da funcionalidade similar indicando a presença de efeito do tipo de solo e da cobertura de vegetação na assinatura química dos ácidos húmicos. O material humificado isolado da Mata Atlântica apresentou maior intensidade de fluorescência, possivelmente, devido à presença de ligações hidrofóbicas mais fracas, sugerindo maior labilidade e capacidade de ceder elétrons para reações químicas do solo que permitem maior solubilidade dessa fração húmica. Esses dados expressaram uma relação positiva com a densidade de espécies nativas, o que pode ser reflexo do favorecimento dos AHs no crescimento das plântulas, nas áreas de matas.

As diferenças discretas na qualidade da MOS e a baixa fertilidade natural dos solos estudados indicam que outros fatores ambientais devem estar influenciando para a baixa regeneração de espécies nativas nas áreas de eucalipto que, por isso, necessitam ser avaliados. Nesse contexto, é importante considerar que o sucesso da recomposição da mata nativa depende da compreensão do funcionamento do ecossistema e de sua aplicabilidade de forma eficiente, em uma intervenção antrópica.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baranciková, G., Senesi, N., Brunetti, G. (1997) Chemical and spectroscopic acids isolated from different Slovak soil types. *Geoderma*, 78:251-266.
- Bayer, C., Martin-Neto, L., Mielniczuck, J., Ceretta, C.A. (2000) Effect of no-tillage cropping systems on soil organic matter in a sandy loam Acrisol from southern Brazil monitored by electron spin resonance and nuclear magnetic resonance. *Soil Tillage Research*, 53:95-104.
- Bayer, C., Martin-Neto, L., Mielniczuck, J., Saab, S., Milori, D.M.P., Bagnato W. (2002) Tillage and cropping system effects on soil humic acid characteristics as determined by electron spin resonance and fluorescence spectroscopies. *Geoderma*, 105:81-92.
- Bayer, C., Mielniczuck, J. (1999) Dinâmica e Função da Matéria Orgânica. In: Santos, G.A., Camargo, F.A.O. (eds.) *Fundamentos da Matéria Orgânica do solo*, Porto Alegre: Genesis, p. 9-26.
- 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. *R. Bras. Ci. Solo*, 23:543-551.

- Bloom, P.R., Leenheer, J.A. (1989) Vibrational, Electronic, and High – energy Spectroscopic Methods for Characterizing Humic Substances. *In*: Hayes, M.H.B.; MacCarthy, P., Malcolm, R.L., Swift, R.S. *Humic Substances II In Search of Structure*. New York: J. Wiley, p. 409-443.
- Bravard, S., Righi, D. (1991) Characterization of fulvic and humic acids from an oxisol-spodosol toposequence of Amazonia, Brazil. *Geoderma*, 48:151-162.
- Bruna, E.M. (1999) Seed germination in rainforest fragments. *Nature*, 402:139.
- Buschbacher, R., Uhl, C., Serrão, E.A.S. (1988) Abandoned pastures in eastern Amazônia. II Nutrients stocks in the soil and vegetation. *Journal of Ecology*, 76:682-699.
- Camargo, F.A.O., Santos, G.A., Guerra, J.G.M. (1999) Macromoléculas e Substâncias Húmicas. *In*: Santos, G.A., Camargo F.A.O. (eds.) *Fundamentos da Matéria Orgânica do Solo*. Porto Alegre: Genesis, p. 27-39.
- Canellas, L.P. (1999) *Avaliação de Características Físico-Químicas de Ácidos Húmicos*. Tese (Doutorado em Agronomia) - Seropédica – RJ, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ, 164p.
- Canellas, L.P., Santos, G.A., Amaral Sobrinho, N.M.B. (1999) Reações da Matéria Orgânica. *In* Macromoléculas e Substâncias Húmicas. *In*: Santos, G.A., Camargo, F.A.O. (eds.) *Fundamentos da Matéria Orgânica do Solo*. Porto Alegre: Genesis, p. 69-86.
- Canellas, L.P., Berner, P.G., Silva, S.G., Barros Silva, M., Santos, G.A. (2000) Frações da matéria orgânica em seis solos de uma toposseqüência no Estado do Rio de Janeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 35:133-143.
- Canellas, L.P., Santos, G.A., Rumjanek, V.M., Moraes, A.A., Guridi, F. (2001) Distribuição de matéria orgânica e características de ácidos húmicos em solos com adição de resíduos de origem urbana. *R. Bras. Ci. Solo*, 36:1529-1538.
- Canellas, L.P., Olivares, F.L., Okorokova-Façanha, A.L., Façanha, A.R. (2002a) Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence, and plasma membrane H<sup>+</sup> - ATPase activity in maize roots. *Plant Physiology*, 130:1951-1957.
- Canellas, L.P., Velloso, A.C.X., Rumjanek, V.M., Guridi, F., Olivares, F.L., Santos, G.A., Braz-filho, R. (2002b) Distribution of the humified fractions and characteristics of the humic acids of an ultisol under cultivation of Eucalyptus and sugar cane. *Terra*, 20:371-381.
- Canellas, L.P., Velloso, A.C.X., Marciano, C.R., Ramalho, J.F.G.P., Rumjanek, V.M., Rezende, C.E., Santos, G.A. (2003) Propriedades químicas de um Cambissolo cultivado com cana-de-açúcar, com preservação do palhiço e adição de vinhaça por longo tempo. *R. Bras. Ci. Solo*, 27:935-944.

- Canellas, L.P., Espindola, A.J.A., Resende, C.E., Camargo, P.B., Zandonadi, D.B., Rumjanek, V.M., Guerra, J.G.M., Teixeira, M.G., Braz-Filho, R. (2004) Organic matter quality in a soil cultivated with perennial herbaceous legumes. *Scientia Agricola*, 61:53-61.
- Canellas, L.P., Façanha, R.F. (2004) Chemical nature of soil humified fractions and their bioactivity. *Pesq. Agropec. bras.* 39:233-240.
- Carneiro, P.H.M. (2002) *Caracterização florística, estrutural e da dinâmica de espécies nativas em um povoamento comercial de Eucalyptus grandis em Itatinga, SP*. Tese (Mestrado em Ciências Florestais) – Piracicaba – SP, Universidade de São Paulo - USP, 131p.
- Ceretta, C.A. (1995) *Fracionamento de N orgânico, substâncias húmicas e caracterização de ácidos húmicos de solo em sistemas de cultura e de plantio direto*. Tese (Doutorado em agronomia) - Porto Alegre - Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, 127p.
- Ceretta, C.A., Bayer, C., Dick, D.P., Martin-neto, L., Colnago, L.A. (1999) Métodos espectroscópicos. *In: Santos, G.A., Camargo, F.A.O. (eds.) Fundamentos da Matéria Orgânica do Solo*. Porto Alegre: Gênese, p. 293-330.
- Cerri, C.C., Volkoff, B. (1988) Matéria Orgânica de três solos dos campos inundáveis da Ilha de Marajó / PA. *R. bras. Ci. Solo*, 12:93-100.
- Chen, Y., Senesi, N., Schnitzer, M. (1977) Information provided on humic substances by E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub> Ration. *Soil Science Society of America Journal*, 41:352-358.
- Chen, Y., Senesi, N., Schnitzer, M. (1978) Chemical and physical characteristics of humic and fuvic acids extracted from soils of the mediterranean region. *Geoderma*, 20:87-104.
- Chen, J., LeBoeuf, E.J., Dai, S., Gu, B. (2003) Fluorescence spectroscopic studies of natural organic matter fractions. *Chemosphere*, 50:639-647.
- Correia, M.E.F., Andrade, A.G. (1999) Formação da serrapilheira e ciclagem de nutrientes. *In: Santos, G.A., Camargo F.A.O. (eds.) Fundamentos da Matéria Orgânica do Solo*. Porto Alegre: Gênese, p. 197-225.
- Couto, E.G., Resende, M. (1985) Caracterização da Matéria Orgânica de alguns Solos Orgânicos e Gleizados do Sudeste da Bahia. *R. bras. Ci. Solo*, 9:185-191.
- Dabin, B. (1981) Les matières organiques dans les sols tropicaux normalement drainés. *Cah. O.R.S.T.O.M., Sér. Pédol.* 18 (3-4):197–215.
- Dick, D.P., Gomes, J., Rosinha, P.B. (1998) Caracterização de substâncias húmicas extraídas de solos e de lodo orgânico. *R. Bras. Ci. Solo*, 27:603-608.

- Dick, D.P., Santos, J.H.Z., Ferranti, E.M. (2003) Chemical characterization and infrared spectroscopy of soil organic matter from two southern Brazilian Soils. *R. Bras. Ci. Solo*, 27:29-39.
- Didham, R.K. (1998) Altered leaf-litter decomposition rates in tropical forest fragments. *Oecologia*, 116:397-406.
- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (1997) Serviço nacional de levantamento e conservação de solos. *Manual de métodos de análise de solo*. 2. ed. Rio de Janeiro, 212p.
- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (1999) *Sistema Brasileiro de Classificação de Solos*. Rio de Janeiro, R.J., 412p.
- Fang, W., Peng, S.L. (1997) Development of species diversity in the restoration process of establishing a tropical man-made forest ecosystem in China. *Forest Ecology and Management*, 99:185-196.
- Froufe, L.C.M. (2003) *Decomposição de folhas de plantios de eucalipto e pupunha e em um fragmento da mata atlântica, no Norte Fluminense*. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF, 142p.
- Fundação SOS Mata Atlântica/INPE (2001) *Atlas dos remanescentes florestais da Mata Atlântica e ecossistemas associados no período de 1995 – 2000*. São Paulo. Relatório final.
- Garcès, G.P. (1987) *Características actuales del humus en los principales tipos de suelos de Cuba*. Tese (Doutorado em química) – Nitra, Universidad de Agricultura de Nitra, 200p.
- Gastine, A., Lorenzen-Scherer, M., Leadley, P.W. (2003) No consistent effects of plant diversity on root biomass, soil biota and soil abiotic conditions in temperate grassland communities. *Applied Soil Ecology*, 24:101-111.
- Geldenhuys, C.J. (1997) Native forest regeneration in pine and eucalyptus plantations in Northern Province, South Africa. *Forest Ecology and Management*, 99:101-115.
- Ghosh, K., Schnitzer, M. (1979) UV and Visible absorption spectroscopic investigations in relation to macromolecular characteristics of humic substances. *Journal of Soil Science*, 30:735-745.
- Ghosh, K., Schnitzer, M. (1981) Fluorescence Excitation Spectra and Viscosity Behavior of a Fuvic Acid and its Copper and Iron Complexes. *Soil Soc. Am.* 45:25-29.
- Guerra, J.G.M., Santos, G.A. (1999) Métodos Químicos e Físicos. In: Santos, G.A., Camargo F.A.O. (eds.) *Fundamentos da Matéria Orgânica do Solo*. Porto Alegre, Genesis, p. 267-291.

- Haberhauer, G., Rafferty, B., Strebl, F., Gerzabek, M.H (1998) Comparison of the composition of forest soil litter derived from three different sites at various decompositional stages using FTIR spectroscopy. *Geoderma*, 83:331-342.
- Hector, A., Beale, A.J., Minns, A., Otway, S.J., Lawton, J.H. (2000) Consequences of the reduction of plant diversity for litter decomposition: effects through litter quality and microenvironment. *Oikos*, 90:357-371.
- Hooper, D.U. (1998) The role of complementarity and competition in ecosystem responses to variation in plant diversity. *Ecologia*, 79:704-719.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2001) *Censo de vegetação do Brasil*. <http://www.sidra.ibge.gov.br> em 22/02/2005.
- Kindel, A. (2001) *A fragmentação real: Heterogeneidade de remanescentes florestais e valor indicador das formas de húmus*. Tese (Doutorado em Geografia) – Rio de Janeiro – RJ, Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, 188p.
- Kindel A., Garay, I. (2001) Caracterização de Ecossistemas da Mata Atlântica de Tabuleiros por meio das formas de Húmus. *R. Bras. Ci. Solo*, 25:551-563.
- Klinca, K., Lowe, L.E. (1979) Organic constituents of forest humus layers in the coastal western hemlock biogeoclimatic zone of British Columbia in relation to forest ecosystems. *British Columbia Forest Service*, 76:1-19.
- Kögel-Knaber, I., Hempfling, P.G., Hatcher, P.G., Schulten, H.R. (1987) Decomposition in forest humus layers studied by CPMAS <sup>13</sup>C NMR, pyrolysis field ionization mass spectrometry and CuO oxidation. *Sc. Total Environ.* 62:111-120.
- Kononova, M.M. (1982) *Matéria Orgânica del suelo; su naturaleza, propiedades y métodos de investigación*. Barcelona: Oikos - Tau, 365p.
- Kumada, K. (1987) *Chemistry of soil organic matter*. Tokyo: Japan Scientific Societies Press, 241p.
- Leite, L.F.C., Mendonça, E.S., Neves, J.C., Machado, P.L.O., Galvão, J.C.C. (2003) Estoques totais de carbono orgânico e seu compartimento em Argissolo sob floresta e sob milho cultivado com adubação mineral e orgânica. *R. Bras. Ci. Solo*, 27:821-832.
- Lima, W.P. (1996) *Impacto Ambiental do Eucalipto*. 2. ed. São Paulo: Universidade de São Paulo, 301p.
- Lima, A.M.N. (2004) *Estoque de carbono e frações da Matéria Orgânica do Solo sob povoamento de eucalipto no Vale do Rio Doce – MG*. Tese (Doutorado em Solos e Produção de plantas) – Viçosa – MG, Universidade Federal de Viçosa - UFV, 109p.

- Lisanework, N., Michelsen, A. (1994) Litterfall and nutrient release by decomposition in three plantations compared with a natural forest in the Ethiopian highland. *Forest Ecology and Management*, 65:149-164.
- Longo, R.M., Espíndola, C.R. (2000) C-Orgânico, N-total e Substâncias Húmicas sob Influência da Introdução de Pastagens (*Brachiaria sp*) em áreas de Cerrado e Floresta Amazônica. *R. Bras. Ci. Solo*, 24:723-729.
- Loumeto, J.J., Huttel, C. (1997) Understory vegetation in fast-growing tree plantations on Savanna soils in Congo. *Forest Ecology and Management*, 99:65-81.
- Lu, X.Q., Hanna, J.V., Johnson, W.D. (2000) Source indicators of humic substances: an elemental composition solid state  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR and Py-GC/MS study. *Applied Geochem*, 15:1019-1023.
- MacCarthy, P., Malcolm, R.L., Clapp, E.C., Bloom, P.R. (1990) An introduction to Soil Humic Substances. In: MacCarthy, P., Malcolm, R.L., Clapp, E.C., Bloom, P.R. (eds.) *Humic Substances in Soil and Crop Sciences: Selected Readings*. Madison: Soil Science Society of America, p: 1-12.
- Machado, P.L.O.A. (1999) *Húmus da terra? Afinal, o que é e para que serve?* Embrapa Solos, RJ; <http://www.cnps.embrapa.br> em 22/02/2005.
- Manzatto, H.R.H (1990) *Dinâmica da matéria orgânica em solos Glei pouco húmicos cultivado com arroz inundado no Vale do São João, RJ*. Tese (Mestrado em Agronomia) – Itaguaí – RJ, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ, 143p.
- Martin, D., Srivastava, P.C., Ghosh, D., Zech, W. (1998) Characteristics of humic substances in cultivated and natural forest soils of Sikkim. *Geoderma*, 84:345-362.
- Martin-Neto, L., Rosell, R., Sposito, G. (1998) Correlation of spectroscopic indicators of humification with mean annual rainfall along a temperature grassland climosequence. *Geoderma*, 81:305-311.
- McDonnell, R., Holden, N.M., Ward, S.M., Collins, J.F., Farrel, E.P., Hayes, M.H.B. (2001) Characteristics of humic substances in heathland and forested peat soils of the wicklow mountains. *Biology and Environment*, 101:187-197.
- Mielniczuk, J. (1999) Matéria Orgânica e a Sustentabilidade de Sistemas Agrícolas. In: Santos, G.A., Camargo, F.A.O. (eds.) *Fundamentos da Matéria Orgânica do Solo: ecossistemas tropicais e subtropicais*. Porto Alegre: Gênese, p.1-8.
- Millori, D.M.B.P., Martin-Neto, L., Bayer, C., Mielniczuk, J., Bagnato, V.S. (2002) Humification degree of soil humic acids determined by fluorescence spectroscopy. *Soil Science*, 167:739-749.

- Moreno, J.L. (1996) *La Materia Orgánica en los Agrosistemas*. Madrid: Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 174p.
- Naeem, S., Thompson, L.J., Lawler, S.P., Lawton, J.H., Woodfin, R.M. (1994) Declining biodiversity can alter the performance of ecosystems. *Nature*, 368:734-737.
- Ndaw, S.M. (2003) *Diversidade, Biomassa e atividade microbiana como indicadores da qualidade de solo e da serrapilheira em sítios sob diferentes coberturas vegetais na região Norte Fluminense*. Tese (Mestrado em Produção Vegetal) – Campos do Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense - UENF, 98p.
- Niklaus, P.A., Kandeler, E., Leadley, P.W., Schmid, B., Tscherko, D., Korner, C. (2001) A link between plant diversity, elevated CO<sub>2</sub> and soil nitrate. *Oecologia*, 127:540-548.
- Nishimura, H., Nakamura, T., Mizutani, J. (1984) Allelopathic effects of *p*-Menthane-3,8 - Diols in *Eucalyptus citriodora*. *Phytochemistry*, 23:2777-2779.
- Odum, E.P. (1988) *Ecologia*. Rio de Janeiro: Guanabara, 434p.
- Okeke, A.I., Omaiko, C.P.E. (1992) Leaf decomposition and carbon dioxide evolution of some agroforestry fallow species in southern Nigeria. *Forest Ecology and Management*, 50:103-116.
- Orlov, P. (1998) Organic substances of Russian Soils. *Eurasian Soil Science*, 31:1049-1057.
- Pajaczkowska, J., Sulkowska, A., Sulkowski, W.W., Jedrzejczyk, M. (2003) Spectroscopic study of the humification process during sewage sludge treatment. *Journal of Molecular Structure*, 653:141-149.
- Parrota, J.A. (1999) Productivity, nutrient cycling, and succession in single - and mixed-species plantations of *Casuarina equisetifolia*, *Eucalyptus robusta*, and *Leucocephala* in Puerto Rico. *Forest Ecology and Management*, 124:45-77.
- Parrota, J.A., Turnbull, J.W., Jones, N. (1997) Catalyzing native forest regeneration on degraded tropical lands. *Forest Ecology and Management*, 99:1-7.
- Pérez, M.G., Martín-Neto, L., Saab, S.C., Novotny, E.H., Milori, D.M.B.P., Bagnato, V.S., Colnago, L.A., Melo, W.J., Knicker, H. (2004) Characterization of humic acids from a Brazilian Oxisol under different tillage by EPR, <sup>13</sup>C NMR, FTIR and fluorescence spectroscopy. *Geoderma*, 118:181-190.
- Piccolo, A. (2002) The Supramolecular Structure of Humic Substances: A Novel Understanding of Humus Chemistry and Implications in Soil Science. *Advances in Agronomy*, 75:57-134.

- Rabelo, G.R. (2003) *Florística e Estrutura da Regeneração de Espécies Nativas de Mata Atlântica em Plantios de Corymbia citriodora (Hook) L. A Jonhoson & K.D. Hill de Diferentes Idades e após 6 anos de abandono na REBIO União, RJ*. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF, 33p.
- RadamBrasil (1983) *Levantamento de recursos naturais*. Ministério das Minas e Energia, Rio de Janeiro, v.32, folha S/F 23/24, Rio de Janeiro/Vitória.
- Raice, J.A. (2001) Humin. *Soil Science*, 166:848-857.
- Resende, J.L.P., Garcia, Q.S., Scotti, M.R.M.M.L. (1997) Decomposição de folhas de *Dalbergia nigra* e *Eucalyptus grandis* incubadas em terra de mata e de eucaliptal. *Anais do III Simpósio Nacional de Recuperação de Áreas Degradadas*, Ouro Preto, p. 136-146.
- Ribeiro, A.C.C. (2004) Estrutura e composição florística de lianas em plantios de eucalipto da espécie *Corymbia citriodora* (Hook) L. A. Jonhoson & K. D Hill, de diferentes idades, na Reserva Biológica União, RJ. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF, 35 p.
- Rice, J.A., MacCarthy, P. (1991) Statistical evaluation of the elemental composition of humic substances. *Org. Geochem.* 17:635-648.
- Rivero, C., Senesi, N., Paolini, J., D'Orazio, V. (1998) Characteristics of humic acids of some Venezuelan soils. *Geoderma*, 81:227-239.
- Rocha, C.F.D., Bergallo, H.G., Alves, M.A.S., Sluys, M.V. (2003) *A Biodiversidade nos grandes Remanescentes Florestais do Estado do Rio de Janeiro e nas Restingas da Mata Atlântica*. Rio de Janeiro: RiMa, 160p.
- Rodrigues, P.J.F.P. (2004) *O efeito da Borda na Mata Atlântica Fragmentada*. Tese (Doutorado em Ciências Ambientais) - Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, 153p.
- Rossel, R.A., Andriulo, A.E., Schnitzer, M. Crespo, M.B., Migliarina, A.M. (1989) Humic acids properties of an argiudoll soil under two tillage systems. *Science of the Total Environment*, 81/82:391-400.
- Sanchez, P., Palm, C.A., Buol, S.W. (2003) Fertility capability soil classification: a tool to help assess soil quality in the tropics. *Geoderma*, 114:157-185.
- Schniter, M. (1965) Reactions between fulvic acid, a soil humic compound and inorganic soil constituents. *Soil Science Soc. Amer. Proc.* 33:75-81.
- Schnitzer, M. (1991) Soil organic matter – The next 75 years. *Soil Science*, 1:23-27.
- Schnitzer, M., Gupta U.C. (1965) Determination of acidity in soil organic matter. *Soil Science Society Proceedings*, 27:274-277.

- Schulten, H.R., Schnitzer, M. (1997) Chemical model structures for soil organic matter and soils. *Soil Science*, 162:115-130.
- Senesi, N., D'Orazio, V., Rica, G. (2003) Humic acids in the first generation of Eurosoils. *Geoderma*, 1-20.
- Senesi, N., Miano, T.M., Provenzano, M.R., Brunetti, G. (1991) Characterization, differentiation, and classification of humic substances by fluorescence spectroscopy. *Soil Science*, 152:259-271.
- Shindo, H., Huang, P.M. (1984) Catalytic effects of manganese (IV), iron (III), aluminum and silicon oxides on the formation of phenolic polymers. *Soil Science Soc. Am. J.*, 48:927-934.
- Skoog, D.A., Holler, F.J., Nieman, T.A. (2002) *Princípios de Análise Instrumental*. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 836p.
- Sierra, M.M.S., Giovanela, M. (1995) A utilização da espectroscopia de fluorescência no estudo da matéria orgânica dissolvida nas águas naturais: evolução e perspectivas. *Química Nova*, 19:294-300.
- Signal, R.M., Sharma, S.D. (1983) Comparative studies of infrared spectra of soil humic acids from Doon Valley Forest. *J. Ind. Soc. Soil Sci.* 31:182-186.
- Silva Júnior, M.C., Scarano, F.R., De Souza Cardeal, F. (1995) Regeneration of an Atlantic forest formation in the understorey of a *Eucalyptus grandis* plantation in south-eastern Brazil. *Journal of Tropical Ecology*, 11:147-152.
- Silverstein, R.M., Webster, F. (2000) *Identificação Espectroscópica de Compostos Orgânicos*. 6. ed. Rio de Janeiro: LTC, 460p.
- Souza, F.M. (2000) *Estrutura e dinâmica do estrato arbóreo e da vegetação natural em áreas restauradas*. Tese (Mestrado em Ciências Florestais) – Piracicaba - SP, Universidade de São Paulo – USP, 69p.
- Stevenson, F.J. (1994) *Humus chemistry: genesis, composition, reactions*. 2. ed. New York: Willey, 496p.
- Swift, M.J., Anderson, J.M. (1993) Biodiversity and ecosystem function in agricultural systems. In: Schulze, E.D., Mooney, H.A. (eds.) *Biodiversity and ecosystem function*. Berlim, p. 15-41.
- Tilman, D., Wedin, D., Knops, J. (1996) Productivity and sustainability influenced by biodiversity in grassland ecosystems. *Nature*, 379:718-720.
- Thengh, B.K.G., Tate, K.R., Sollins, P., Moris, N., Nadkarni, N., Tate III, R.L. (1989) Constituents of Organic Matter in Temperate and Tropical Soils. In: Coleman, D.C., Oades, J.M., Uehara, G. (eds.) *Dynamics Soil Organic Matter in Tropical Ecosystems*. Hawaii: University of Hawaii Press, p.5-32.

- Tomé Jr., J.B. (1997) *Manual para interpretação de análise de solo*. Guaíba, RS: Editora Agropecuária LTDA, 247p.
- Velloso, H.P., Rangel filho, A.L.R., Lima, J.C.A. (1991) *Classificação da vegetação brasileira, adaptada a um sistema universal*. (IBGE) Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Rio de Janeiro, 123p.
- Villela, D.M., Nascimento, M.T., Mazurec, A.P., Gonsalvez, G.M., Resende, C.E. (2001a) Soil chemical properties under *Eucalyptus citriodora* plantations of different ages after a 9-year period of abandonment in União Biological Reserve, Rio de Janeiro State, Brazil. CD-ROM dos *Anais da 3<sup>rd</sup> International Conference on Land Degradation and Meeting of the IUSS Subcommittee C – Soil and Water Conservation*. Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
- Villela, D.M., Nascimento, M.T., Mazurec, A.P., Nascimento, L.M., Haddad, L.N. (2001b) Biomassa do Estrato Rasteiro e Estoque de Serrapilheira sob Plantações de *Eucalyptus citriodora* na Reserva Biológica União, RJ. CD-ROM dos *Anais do Congresso de Ecologia*. Porto Alegre, RS, Brasil.
- Villela, D., Nascimento, M.T., Rezende, C.E., Nascimento, A.C.P., Mazurec, P. A.; Tesch, E (2004) Concentração e estoque de nutrientes na serrapilheira e no estrato rasteiro sob plantações de eucalipto (*Corymbia citriodora* (Hook) L.A. Jonhson & K.D. Hill), na Reserva Biológica União, RJ, após 6 anos de abandono. CD-ROM dos *Anais do 55<sup>o</sup> Congresso nacional 26<sup>o</sup> Encontro regional de botânicos de MG, BA e ES*, Viçosa, MG, Brasil.
- Zech, W., Senesi, N., Guggenberger, G., Kaiser, K., Lehmann, J., Miano, T.M., Miltner, A., Schroth, G. (1997) Factors controlling humification and mineralization of soil organic matter in the tropics. *Geoderma*, 79:117-161.
- Zhang, H. Thompson, H.L.; Sandor, J.A. (1988) Compositional differences in organic matter among cultivated and uncultivated argiudolls and hapludalfs derived from loess. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 52: 216-222.