

FORMAS DE FÓSFORO DE UM CAMBISSOLO CULTIVADO COM
CANA-DE-AÇÚCAR, COM PRESERVAÇÃO DO PALHIÇO E ADIÇÃO
DE VINHAÇA POR LONGO TEMPO

JADER GALBA BUSATO

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
ABRIL - 2004

FORMAS DE FÓSFORO DE UM CAMBISSOLO CULTIVADO COM
CANA-DE-AÇÚCAR, COM PRESERVAÇÃO DO PALHIÇO E ADIÇÃO
DE VINHAÇA POR LONGO TEMPO

JADER GALBA BUSATO

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. Ary Carlos Xavier Velloso

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ

ABRIL - 2004

FORMAS DE FÓSFORO DE UM CAMBISSOLO CULTIVADO COM
CANA-DE-AÇÚCAR, COM PRESERVAÇÃO DO PALHIÇO E ADIÇÃO
DE VINHAÇA POR LONGO TEMPO

JADER GALBA BUSATO

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 14 de abril de 2004.

Comissão Examinadora:

Pesquisador José Guilherme Marinho Guerra (Ph.D) – Embrapa/CNPAB

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

Professor Luciano Pasqualoto Canellas (Ph.D) – UENF/LSOL – Co-orientador

Professor Ary Carlos Xavier Velloso (D. Sc.) – UENF/LSOL - Orientador

À minha mãe, Marlene B. B. Busato, pelo exemplo de superação, coragem e devoção à família, e à memória de meu pai, Maurício Busato, pelas lições de honestidade e caráter, dedico.

AGRADECIMENTOS

À minha família;

À June e família;

Aos companheiros Ismail Haddade, Jolimar Schiavo e Marihus Altoé.

Aos meus orientadores professores Ary C. X. Velloso e Luciano P. Canellas,
pela amizade e confiança;

Aos professores Arnaldo R. Façanha, Victor M. Rumjanek, Gabriel de A.
Santos e José G. M. Guerra;

Aos colegas e funcionários do laboratório de solos;

Em especial, agradeço ao grande amigo Marcelo Testa pelos inúmeros
momentos de alegria, que agora se tornaram uma lembrança majestosa do real
sentimento da amizade.

“...nunca se vence uma guerra lutando sozinho...”

(Raul Seixas)

SUMÁRIO

LISTA DE QUADROS.....	vi
LISTA DE FIGURAS.....	vii
RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	x
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	04
2.1. A cultura da cana-de-açúcar: importância e panorama atual.....	04
2.1.1. Formas de colheita da cana-de-açúcar	06
2.1.2. Utilização de vinhaça na lavoura canavieira.....	07
2.2. Fósforo no solo e na planta.....	09
2.3. Fracionamento de fósforo no solo.....	11
2.4. Fósforo orgânico.....	11
2.5. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN ³¹ P).....	13
2.5.1. Ortofosfato monoéster.....	15

2.5.2. Ortofosfato diéster.....	16
2.5.3. Fosfato inorgânico.....	17
2.6. Utilização da RMN ³¹ P na identificação de compostos.....	20
2.6.1. Cobertura vegetal.....	20
2.6.2. Comparação de métodos e extratores.....	21
2.6.3. Manejo dos solos.....	22
2.6.4. Relação diéster/monoéster.....	23
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	25
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
5. RESUMO E CONCLUSÕES.....	56
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Comparações das atribuições do componente orgânico de P utilizadas em espectros de RMN ^{31}P de acordo com diferentes autores.....	19
Quadro 2 - Características químicas e físicas de um Cambissolo Háplico Ta Eutrófico vértico, localizado em Campos dos Goytacazes (RJ), cultivado com cana-de-açúcar, com preservação do palhiço e adição de vinhaça por longo tempo	29
Quadro 3 - Fósforo nos diferentes compartimentos de um Cambissolo Háplico Ta Eutrófico vértico da região Norte Fluminense submetido ao cultivo de cana-de-açúcar por longo tempo. Os valores representam a média de três repetições $\pm$ desvio padrão.....	33
Quadro 4 - Conteúdo de P obtido pelo fracionamento seqüencial de Hedley et al., 1982, com adaptações, em amostras de solo de áreas cultivadas por longo tempo com cana-de-açúcar sob diferentes manejos (mg P Kg^{-1} solo). Os valores representam a média de três repetições $\pm$ desvio padrão.....	38
Quadro 5 - Distribuição relativa dos compostos de fósforo presentes nos ácidos húmicos extraídos de um Cambissolo Háplico Ta Eutrófico vértico submetido a diferentes manejos da cultura da cana-de-açúcar.....	46

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema simplificado do procedimento de extração seqüencial adaptado de Hedley et al. (1982).....	30
Figura 2 - Distribuição relativa de P orgânico e inorgânico de um Cambissolo Háplico Ta Eutrófico vértico da região Norte Fluminense cultivado com cana-de-açúcar, com preservação do palhiço e adição de vinhaça por longo tempo.....	36
Figura 3 - Distribuição relativa das formas de P lábil, pouco lábil e não lábil em relação ao P recuperado através de extração seqüencial em um Cambissolo Háplico Ta Eutrófico vértico da região Norte Fluminense cultivado com cana-de-açúcar, com preservação do palhiço e adição de vinhaça por longo tempo	43
Figura 4 - Espectros de ^{31}P RMN de ácidos húmicos extraídos de Cambissolo Háplico Ta Eutrófico vértico submetido aos manejos de cana crua e cana queimada.....	50
Figura 5 - Espectros de ^{31}P RMN de ácidos húmicos extraídos de Cambissolo Háplico Ta Eutrófico vértico submetido aos manejos com e sem aplicação de vinhaça na cultura da cana-de-açúcar.....	51

RESUMO

BUSATO, Jader Galba; Eng. Agrônomo, MS.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; Abril de 2004; Formas de fósforo de um Cambissolo cultivado com cana-de-açúcar, com preservação do palhico e adição de vinhaça por longo tempo. Orientador: Prof. Ary Carlos Xavier Velloso.

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar (*Saccharum spp*) com uma área aproximada de 5,2 milhões de ha e uma produção estimada em 364 milhões de Mg. Entretanto, apesar da destacada posição no cenário internacional, a atividade canavieira ainda utiliza práticas que ocasionam a poluição do ar, a degradação do solo e a destruição dos restos vegetais. A adoção de manejos menos agressivos ao ambiente e o aproveitamento de resíduos da indústria sulcroalcooleira (i.e., vinhaça) são alternativas que devem ser avaliadas com o objetivo do desenvolvimento de uma agricultura em bases sustentáveis. A utilização de manejos que favoreçam a matéria orgânica do solo, como a manutenção do palhico e a adição de vinhaça, podem aumentar o conteúdo de nutrientes disponíveis e diminuir a necessidade de aplicação de fertilizantes industriais. Apesar da importância dos componentes

orgânicos no fornecimento de P ao solo, pouco se conhece sobre a sua dinâmica em ambientes tropicais. Os objetivos deste trabalho foram: Avaliar a alteração das formas de P em um Cambissolo Háplico Ta Eutrófico vértico submetido a diferentes manejos da cana-de-açúcar por longo tempo; Identificar, através da RMN ^{31}P , as espécies orgânicas de P presentes nos ácidos húmicos extraídos desses solos. Para a realização do trabalho, amostras de solos, nas profundidades de 0-0,20 m e 0,20-0,40m, foram retiradas em duas áreas de produção de cana no Município de Campos dos Goytacazes, norte do estado do Rio de Janeiro. Em uma das áreas, a cana foi cultivada, durante 55 anos, sem a queima da palha por ocasião da colheita. Na outra área, durante 35 anos, houve adição anual de cerca de $120 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ de vinhaça por meio de aspersão e a cana foi colhida queimada. Outras duas áreas, respectivamente adjacentes a essas, onde se realizou a queima durante 55 anos e não se adicionou vinhaça por 35 anos, também com a queima do canavial, foram utilizadas para efeito de comparação. Os resultados obtidos indicam que o manejo do solo alterou a participação das frações de P, fazendo com que formas mais lábeis fossem acumuladas nas áreas onde a matéria orgânica foi favorecida. A preservação da palha proporcionou acréscimos de 277% e 252% no conteúdo total de P, nas duas profundidades avaliadas. A aplicação de vinhaça aumentou em 48% o conteúdo total de P na amostra de 0-0,20 m de profundidade. Nesses manejos, além de aumentar o conteúdo de P na fração lábil, houve redução na participação de formas não lábeis. A espectroscopia de RMN ^{31}P demonstrou que a preservação da palha e a adição de vinhaça alteraram a participação e a distribuição das formas orgânicas de P presentes nos ácidos húmicos. Formas mineralizadas facilmente foram acumuladas nos ácidos húmicos desses manejos. Nas áreas de cana queimada e cana sem aplicação de vinhaça, houve grande participação de espécies orgânicas mais estáveis.

ABSTRACT

BUSATO, Jader Galba; Agronomy Engineer, MS.; State University of North Fluminense Darcy Ribeiro; April, 2004; Phosphorus from a Inceptisol cropped by trash harvest preservation and vinasse addition by long time. Supervisor: Prof. Ary Carlos Xavier Velloso.

Brazil has the largest sugarcane production in the world with approximately 5.2 millions ha and with a crop production of about 364 million Mg. Despite this prominence position in international scenarios, the sugar cane plantation still uses crop management that promotes air pollution, land degradation and burning of plant residues. The adoption of less aggressive crop management to the environment and the use of sugar and alcohol industrial residues are alternatives that must be evaluated with the objective to develop the agriculture on sustainable bases. The use of management that enhances soil organic matter as the preservation of crop trash and vinasse addition can increase the available nutrient content and reduce the use of industrial fertilizers. Despite the importance of organic compounds to provide soil

P, little is known about its dynamics in tropical environment. The objectives of this present work were: To evaluate the changes on the P pools from a Fluventic Eutrachrepts fine clay which had been under sugarcane plantation for long time; To identify organic P species present in humic acids by NMR ^{31}P analysis from these soils. To carry out this work, soil samples were taken at depths of 0-0,20 m and 0,20-0,40 m, in two areas cropped with sugarcane in Campos dos Goytacazes, at the northeastern region of Rio de Janeiro State. In one of these areas, the sugarcane had been cropped for 55 years without burning the crop trash at harvesting. The other sugarcane plantation, which had been cultivated for 35 years burning the crop trash, had received through aspersion irrigation annual stillage inputs at the rate of $120 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1} \text{ yr}^{-1}$. Two other areas where the sugarcane had been burned for 55 years and vinasse had not been used for 35 years, were utilized for comparison. The results suggest that the use of soil changed the P forms, making it possible for the more labile forms to be accumulated in the areas where the organic matter was favoured. The preservation of the crop trash promoted the increase of 277% and 252% in the total P content in both depths. The vinasse addition enhanced 48% in total P content at the superficial soil layer. In these crop management, besides the increase of labile P, there was a reduction of no-labile P forms. The NMR ^{31}P spectroscopy showed that the crop trash preservation and the vinasse addition changed the P compounds and their distribution on humic acids. P-forms easily mineralized were accumulated in this humic acids. In the areas with burn and no-vinasse addition, it was observed a high participation of more stable organic P compounds.

1. INTRODUÇÃO

O cultivo da cana-de-açúcar (*Saccharum spp*) no Brasil ocupa uma área aproximada de 5,2 milhões de ha (IBGE, 2003) e possui importância estratégica como alternativa energética além de ser responsável pela geração de milhares de empregos.

Apesar da destacada posição desse segmento, o setor produtivo ainda utiliza técnicas de manejo da lavoura que levam à degradação dos solos e do ambiente. A crescente preocupação da sociedade com a sobrevivência do homem no planeta tem concretizado conceitos como produção sustentável, na qual, procura-se adequar a atividade agrícola a uma ação que seja ambientalmente correta, socialmente justa e economicamente viável (Hansen, 1996). Manejos que utilizam fontes alternativas de insumos, o revolvimento mínimo do solo, a cobertura vegetal permanente, entre outros, vêm sendo difundidos com o objetivo de minimizar os impactos negativos ocasionados pela agricultura baseada em grandes aplicações de insumos. A investigação científica dos efeitos das práticas de manejo sobre a fertilidade do solo é fundamental para o melhor aproveitamento dos recursos naturais bem como para reduzir esses impactos negativos causados pela atividade agrícola.

De todas as práticas que interferem no desenvolvimento da cana-de-açúcar, a queima do canavial por ocasião da colheita, historicamente realizada pelos produtores, talvez seja a que mais gera debates nos setores agrônomo, ambiental e político. Essa atividade é difundida em todas as regiões produtoras do Brasil e tem como objetivos facilitar a colheita, o carregamento e evitar a ocorrência de acidentes de trabalho com os cortadores (Delgado, 1985; Oliveira et al., 1999; Timm, 2002).

Muitas pesquisas têm demonstrado que a manutenção da palha na lavoura e a aplicação de outras fontes de matéria orgânica (i.e., vinhaça) podem beneficiar a ciclagem de nutrientes e permitir maior aporte de nutrientes para as plantas, em função do retorno gradual destes ao solo (Manhães, 1996; Trivellin et al., 1997; Orlando Filho et al., 1998; Canellas et al., 2003).

Uma importante participação da matéria orgânica do solo (MOS) diz respeito ao fornecimento de nutrientes aos vegetais, principalmente, quando se relaciona esse componente como fornecedor de fósforo (P), nutriente mais limitante no desenvolvimento da agricultura em solos altamente intemperizados de ambientes tropicais (Tiessen e Moir, 1993). Nesses solos, o componente orgânico representa parte considerável do conteúdo disponível de P (Guerra et al., 1996; Turner et al., 2003), contribuindo para a nutrição das plantas através da sua mineralização (Siqueira e Moreira, 2001).

A quantificação e a identificação das formas orgânicas de P no solo podem auxiliar na compreensão da dinâmica desse nutriente e colaborar para o desenvolvimento de uma agricultura menos dependente de insumos industriais. Apesar de não permitirem a identificação de compostos orgânicos de P, a utilização dos modelos de extração seqüencial desse elemento no solo em função de sua disponibilidade aos vegetais pode favorecer o entendimento do seu ciclo, permitindo a identificação de manejos de solos e culturas que beneficiem o acúmulo de formas mais disponíveis às plantas. Procedimentos de extração seqüencial também podem oferecer um índice da importância relativa da ciclagem desse elemento através de processos biológicos e geoquímicos (Cross e Schlesinger, 1995).

O desenvolvimento da espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN ^{31}P) possibilitou a identificação das espécies de P do solo de forma mais simplificada que os procedimentos de cromatografia (Cade-Menun e Preston, 1996;

Novais e Smith, 1999). A utilização dessa técnica permitiu, nos últimos anos, a investigação da natureza química e das transformações dos compostos minerais e orgânicos de P presentes em vários ambientes (Makarov, 1998; Makarov et al., 2002), possibilitando o estudo dos efeitos de fatores antropogênicos e naturais sobre o ciclo desse elemento.

Os objetivos deste trabalho foram: Avaliar, através do fracionamento seqüencial, a distribuição das formas de P em um Cambissolo Háplico Ta Eutrófico vértico localizado no Município de Campos dos Goytacazes, norte do Estado do Rio de Janeiro e cultivado com cana-de-açúcar com preservação do palhço e adição de vinhaça por longo tempo; Identificar, através da RMN ^{31}P , as espécies de P presentes nos ácidos húmicos desses solos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. A cultura da cana-de-açúcar: importância e panorama atual

O Brasil, com uma produção de cerca de 364 milhões de Mg, é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, tendo sido estimada em 5,2 milhões de ha a área plantada com essa cultura no ano de 2002 (IBGE, 2003).

O cultivo da cana-de-açúcar em território Fluminense é quase tão antigo quanto a própria história do Estado do Rio de Janeiro. Introduzidos na região Norte Fluminense no século XVII, os canaviais encontraram condições de clima e solo favoráveis ao seu desenvolvimento. Em 1650 foi construído o primeiro engenho para a fabricação de açúcar, no local hoje conhecido como fazenda do Visconde, dando origem a um ciclo econômico e social que elevaria o Estado do Rio de Janeiro a uma posição de destaque entre os produtores, sendo superado na época somente por Pernambuco (ASFLUCAN, 2003).

De modo geral, entretanto, o cultivo da cana-de-açúcar na região envolve formas de manejo que pouco ou nada contribuem para a proteção e a manutenção de características agrícolas desejáveis no solo. O reduzido nível de investimento em

procedimentos que permitissem aumento na produtividade (i.e., irrigação das lavouras, manejo da fertilidade e adubação do solo, entre outros) fez com que, gradativamente, a atividade entrasse em declínio na região. O revolvimento do solo por ocasião do plantio com o uso de arados, grades e subsoladores, além da queima da palha contribuem para a degradação da matéria orgânica, importante componente nos solos tropicais. Aliado a isso, as relações de trabalho ainda hoje são influenciadas pelo regime escravista, envolvendo novas formas de submissão como o trabalho temporário sem registro em carteira, condições precárias de alojamento, alimentação e transporte, fazendo com que haja uma grande diferença econômica e social entre os atores envolvidos (Tavares, 2004). Grande parte dos trabalhadores rurais vive em situação de miséria e sem a perspectiva de melhores condições de vida.

No Município de Campos dos Goytacazes/RJ, em 1991, a cultura da cana-de-açúcar foi colhida em 132.727 ha, sendo esta área reduzida para 102.000 ha em 2002. O número de usinas de produção de álcool em atividade na região diminuiu de 18, na safra 1988/89; para 7, no período de 2002/03 (ASFLUCAN, 2003). A falta de uma política consistente para o setor, após a decadência do programa de utilização do álcool combustível, contribuiu para a falência das usinas. O baixo rendimento agrícola, em torno de 45 Mg ha⁻¹, quando comparada a média de produtividade nacional, cerca de 71 Mg ha⁻¹ (IBGE, 2003), também justifica a necessidade de mudanças no setor produtivo.

Apesar de criticada por muitos setores da sociedade, a monocultura da cana-de-açúcar tem um papel importante no aspecto da melhoria da qualidade do ambiente, permitindo a retirada, da atmosfera, de 15 Mg de CO₂ em cada ha cultivado através do processo de fotossíntese (Silva, 1996). Também, a utilização do álcool como combustível e do bagaço como co-gerador de energia permitiriam uma redução de 20% da emissão de CO e CO₂ no país (Silva, 1996). Além disso, um manejo que preserva a matéria orgânica do solo, como a colheita sem queima do canavial, permite melhorias no ambiente edáfico (Canellas et al., 2003) e reduz a emissão de poluentes atmosféricos (Sparovek et al., 1997), o que pode levar à diminuição de doenças alérgicas e respiratórias na população vizinha aos canaviais.

No Município de Campos dos Goytacazes – RJ, 10,5 % dos óbitos ocorridos no ano de 1998 ocorreram em função de doenças no sistema respiratório (IBGE, 2003).

2.1.1. Formas de colheita da cana-de-açúcar

A prática da queima dos canaviais por ocasião da colheita é adotada nas diversas regiões canavieiras do Brasil e tem o objetivo de facilitar as operações de corte e carregamento da produção e diminuir a incidência de acidentes de trabalho com os cortadores (Oliveira et al., 1999; Timm, 2002). A escassez de mão-de-obra, a mecanização das lavouras e o surgimento de grandes unidades produtoras de açúcar também contribuíram para que os canaviais fossem previamente queimados, uma vez que a queimada permite redução de volume, facilitando a colheita (Delgado, 1985). Porém, essa atividade provoca poluição do ar em função da dispersão de cinzas e emissão de carbono para a atmosfera; expõe o solo à ação das gotas de chuvas e dos ventos, favorecendo a atuação de processos erosivos; predispõe o solo ao desenvolvimento de ervas daninhas e destrói insetos considerados inimigos naturais de pragas que atacam a cultura (Delgado, 1985; Sparovek et al., 1997). A queima da palha no campo também resulta na perda de material que consiste em uma boa fonte de matéria-prima biodegradável e que poderia ser utilizada para geração de energia tipo biogás ou mesmo para ser queimada em caldeira, com vista à produção de vapor (Delgado, 1985; Ripoli e Villanova, 1992).

Em função dos muitos impactos negativos ocasionados ao ambiente, a legislação tem sido cada vez menos tolerante em relação à queima dos canaviais. Em algumas regiões do país, como no Estado de São Paulo, as queimadas são proibidas na faixa de 1 Km dos centros urbanos (Sparovek et al., 1997; Alvarez et al., 1999), fazendo com que as empresas sulcroalcooleiras revejam seus conceitos de produção e adotem práticas agrícolas que condicionem maior sustentabilidade ao ambiente.

Na prática de colheita do canavial sem a queima, a palha é deixada à superfície do solo como folhas inteiras, quer a colheita seja realizada manualmente, ou triturada, quando há utilização de mecanização agrícola (Timm, 2002). A manutenção da camada vegetal nesse sistema favorece a infiltração de água no

solo, diminuindo, conseqüentemente, o escoamento superficial e a erosão, especialmente, nas áreas de maior declividade (Urquiaga et al., 1991).

A manutenção da palha da cana-de-açúcar na lavoura e a aplicação de fontes de outros materiais orgânicos favorecem a ciclagem de nutrientes, permitindo maior aporte de nutrientes para as plantas em função do retorno gradual destes ao solo. Essas práticas podem contribuir para a diminuição do uso de fertilizantes industriais (Orlando Filho et al., 1998). Além disso, a preservação da palha pode beneficiar a atividade microbiana, reduzir ou até mesmo eliminar o uso de herbicidas, aumentar a retenção de água, elevar a capacidade de troca de cátions e permitir maior agregação das partículas do solo (Ripoli e Villanova, 1992; Saproveck, 1997). A presença dessa cobertura vegetal também proporciona uma redução na temperatura média do solo na ordem de 7 °C, evitando picos de temperatura na superfície durante o período inicial da cana soca (Timm, 2002).

O acúmulo da palha no campo ocasiona uma liberação lenta de CO₂, aumentando a eficiência fotossintética das plantas de cana-de-açúcar, favorecendo o seu crescimento (Oliveira et al., 1999). Além disso, os mesmos autores verificaram uma intensa liberação de P através da mineralização dos resíduos vegetais na ordem de 67% do conteúdo total de P em um período de onze meses.

Gama (2002), estudando manejo de cultura canavieira com e sem a queima da palha no nordeste do Estado do Paraná, concluiu que o procedimento sem a destruição do material vegetal apresenta algumas vantagens tais como preservação da fertilidade do solo, redução da capacidade de adsorção de P e aumento da quantidade de P orgânico total. Além disso, Alvarez et al. (2000) verificaram aumento no crescimento radicular de plantas de cana-de-açúcar sem queima. Dessa forma, o manejo que não promove a queima pode reduzir gastos com aplicação de fertilizantes fosfatados, principalmente, em função do aumento do conteúdo de P disponível no solo (Canellas et al., 2003).

2.1.2. Utilização de vinhaça na lavoura canavieira

Visando diminuir a dependência externa de insumos energéticos, em 1975, foi criado no Brasil o Programa Nacional do Alcool, cujo objetivo era aumentar a

produção de etanol, o que se concretizou rapidamente em resposta à política de incentivo econômico por parte do governo (Medina e Brinholi, 1998).

Junto com o aumento da produção de cana-de-açúcar, houve também o acréscimo do volume de resíduos industriais. A necessidade de uma destinação adequada para esses rejeitos tornou-se indispensável para que os compartimentos ambientais, principalmente os cursos de água, não viessem ser contaminados.

O principal resíduo industrial das destilarias é a vinhaça (Medina e Brinholi, 1998). Com a destilação do vinho (produto resultante da fermentação) além da do álcool, há a produção de vinhaça na razão de 12 a 13 litros por litro de álcool produzido (Ferreira, 1980; Medina e Brinholi, 1998). Sua composição básica é de 93% de água e 7% de sólidos (orgânicos e minerais), possui alto teor de potássio (K) e nitrogênio total além de cálcio (Ca), magnésio (Mg) e fósforo (P) em menores concentrações (Ferreira, 1980).

Com o objetivo de aumentar a produtividade das lavouras e aproveitar a vinhaça, muitas usinas canavieiras aplicam esse subproduto nos plantios, sendo observado que essa prática ocasiona uma redução da concentração de açúcar na planta, provavelmente, em função do crescimento vegetativo mais vigoroso, o que resulta em atraso na maturação das plantas (Medina e Brinholi, 1998). A adição de vinhaça no solo, além do pH, eleva também a soma de bases trocáveis causadas principalmente pelo aumento no teor de Ca^{++} , Mg^{++} e K^{+} trocáveis (Rezende, 1979; Canellas et al., 2003). Ainda em 1954, Camargo, citado por Ferreira (1980), observou que a aplicação de vinhaça no solo causa notável aumento da população microbiana, componente responsável por diversas transformações nos diferentes ambientes naturais.

A cultura da cana-de-açúcar possui uma grande demanda por insumos agrícolas e somente com fertilizantes fosfatados utiliza, anualmente, o equivalente a 146 Kg ha^{-1} de P na forma de P_2O_5 para suprir as plantas, a um custo aproximado de US\$ 14,60 ha/ano (EMBRAPA, 2003). Dessa forma, a utilização de fontes alternativas e a adoção de métodos de manejo que propiciem melhor aproveitamento do P presente nos restos culturais podem favorecer a agricultura canavieira e beneficiar toda a cadeia de produção de álcool, açúcar e seus derivados.

2.2. Fósforo no solo e na planta

Dentre os macronutrientes, o P é o exigido em menores quantidades pelas plantas (Furtini Neto et al., 2001). Todavia, trata-se do nutriente aplicado em maiores quantidades nas adubações do Brasil, tornando maiores os custos de produção e exaurindo as jazidas de rochas fosfáticas do planeta (Abelson, 1999).

A grande aplicação de fertilizantes fosfatados nos cultivos convencionais é gerada pela predominância de solos com baixa disponibilidade de P em função do elevado grau de intemperismo, e pela tendência da formação de compostos de baixa solubilidade no solo (Furtini Neto et al., 2001), em um processo genericamente conhecido como fixação de P (Velloso et al., 1982).

Através dos processos de intemperismo, o P contido no material de origem, totalmente na forma mineral, é liberado para a solução do solo (Rheinheimer e Anghinoni, 2001) de onde é removido por processos abióticos e bióticos (Motta, 1999). Os processos de retenção abiótica no solo, em formas lábeis ou não, ocorrem tanto pela sua precipitação em solução com formas iônicas de ferro, alumínio e cálcio, como, principalmente, pela sua adsorção nos óxidos de ferro e alumínio presentes no solo (Novais e Smith, 1999). Os processos bióticos, por sua vez, dizem respeito à incorporação do P aos tecidos dos organismos vivos. De forma contrária, o retorno dos resíduos animais e vegetais, bem como a lise celular de microrganismos do solo são uma fonte de compostos fosfatados. Além disso, vários microrganismos presentes no solo possuem a capacidade de extrair e solubilizar formas inorgânicas insolúveis de P através de diversos mecanismos (Siqueira e Moreira, 2001). Portanto, o P do solo encontra-se distribuído em formas orgânicas e inorgânicas, sendo que o conteúdo total de P e a distribuição dessas formas podem variar em função do manejo do solo (Manhães, 1996; Rheinheimer e Anghinoni, 2001; Tokura et al., 2002), do material de origem e do grau de evolução genética do solo (Machado et al., 1993; Manhães, 1996). A participação do componente orgânico pode variar de 3 a 90% do conteúdo total de P ou de 1 a 3% da matéria orgânica do solo (Siqueira e Moreira, 2001), podendo corresponder à maior parte do conteúdo de P disponível no solo (Guerra et al., 1996).

A utilização de metodologias que permitam a extração das diversas formas de P no solo em função de sua disponibilidade aos vegetais pode favorecer a compreensão da dinâmica de P e identificar manejos de solos e culturas que beneficiem o acúmulo de formas mais prontamente disponíveis para as plantas (Hedley et al., 1982; Machado et al., 1993). Entretanto, apesar de disponibilizar informações importantes, os procedimentos de extração de P não permitem a identificação dos compostos orgânicos que contêm P responsáveis por uma participação significativa no conteúdo total desse nutriente em solos altamente intemperizados (Taranto et al., 2000). Entre os vários procedimentos possíveis para a identificação de compostos fosfatados, a ressonância magnética nuclear (RMN ^{31}P) é a que mais facilmente permite a caracterização do P no solo (Novais e Smith, 1999). Os resultados dos estudos de RMN ^{31}P geralmente complementam e dão suporte às conclusões baseadas no fracionamento seqüencial (Taranto et al., 2000).

O P possui uma baixa mobilidade no solo, contrariamente ao que ocorre nas plantas, onde é facilmente redistribuído pelo floema (Faquin, 2001). Esse elemento é encontrado geralmente nas partes verdes das plantas jovens e nas sementes, auxiliando a formação de açúcares, beneficiando o sistema radicular no início do crescimento vegetal; torna precoce a fecundação e a maturação dos frutos e favorece o desenvolvimento de bactérias benéficas no solo (Osaki, 1991). No cultivo da cana-de-açúcar em especial, a deficiência de P ocasiona diâmetro e comprimento reduzidos de colmo e baixo perfilhamento.

Mecanismos de adsorção e precipitação diminuem a disponibilidade de P para as plantas fazendo com que haja a necessidade da utilização de grandes quantidades de fertilizantes fosfatados para obtenção de produtividades elevadas. Entretanto, Black, ainda em 1968, observou que apenas uma pequena fração do P aplicado no solo, variando de 15 a 25 %, é aproveitada por um ciclo das culturas, podendo o restante ser perdido por erosão ou permanecendo no solo sob formas menos disponíveis. Novais e Smyth (1999) afirmam haver uma relação inversa entre a dose de P aplicada e o volume do solo que a recebe, ou seja, quanto maior for o volume de solo em contato com o P aplicado menor será a quantidade disponível às plantas, dada a formação de P não-lábil em maior proporção.

Várias técnicas de avaliação do P têm sido desenvolvidas (i.e. quantificação do P disponível no solo através de diferentes extratores, extração seqüencial, procedimentos de adsorção, RMN ^{31}P , entre outras) com o objetivo de adquirir um maior entendimento da sua dinâmica e utilização pelos vegetais, tanto em ambientes naturais como em solos cultivados (Hedley et al., 1982; Cade-Menun e Preston, 1996).

2.3. Fracionamento de fósforo no solo

Métodos de fracionamento de fósforo no solo como o proposto por Hedley et al. (1982) permitem a obtenção das frações orgânicas e inorgânicas baseando-se na solubilidade de suas formas em diferentes extratores. Apesar de não identificar as estruturas químicas dos componentes de P extraídos, as informações obtidas através dos métodos de fracionamento podem dizer a respeito de manejos do solo e culturas, identificando aqueles que permitem acúmulo de P sob formas aproveitáveis pelos vegetais. Em ecossistemas naturais, a distribuição de P reflete a história, a estrutura presente e a funcionalidade desses ambientes, sendo a quantidade e natureza química afetadas diretamente pela combinação de fatores de formação de solo como material de origem, clima, topografia, biota e tempo (Solomon et al., 2002).

O procedimento de fracionamento apresentado por Hedley et al. (1982) permite a obtenção de formas inorgânicas, orgânicas, P microbiano e P residual. As frações orgânicas de P são determinadas utilizando-se extratores como NaOH $0,1\text{mol L}^{-1}$, correspondendo às formas com disponibilidade mais restrita, e NaHCO_3 $0,5\text{mol L}^{-1}$ pH 8,5, referentes às formas prontamente disponíveis. A sonificação do extrato de NaOH $0,1\text{mol L}^{-1}$ possibilita a obtenção do P retido internamente nos agregados.

2.4. Fósforo orgânico

O P orgânico (Po) tem importância fundamental nos solos, principalmente naqueles altamente intemperizados e sem a aplicação de fertilizantes fosfatados, por serem fonte desse nutriente para os vegetais através de sua mineralização (Beck e

Sanchez, 1994). A importância desse compartimento nesses solos deve-se, em parte, à contínua ciclagem de grandes quantidades de matéria orgânica (Adams, 1990).

O conteúdo de Po nos solos pode variar de traços em regiões áridas até centenas de mg kg^{-1} em solos de florestas tropicais (Turrión et al., 2001), sendo convertido a partir da matéria orgânica do solo em formas inorgânicas por meio da ação de microrganismos. O conteúdo total de Po em amostras de solos é estimado através da diferença entre o P total e o componente P inorgânico (Hedley et al., 1982).

A velocidade de mineralização do P orgânico pode ser influenciada por um grande número de fatores, incluindo o clima predominante e as diversas condições do solo (Tate e Newman, 1982). De acordo com Fernandes et al. (2000), uma fonte importante desse nutriente para as plantas, por meio da mineralização do P orgânico, diz respeito à atuação da enzima fosfatase, que catalisa a hidrólise de ésteres de fosfatos, liberando fosfato solúvel.

Guerra et al. (1996), trabalhando com 17 amostras superficiais de diferentes solos, obtiveram valores de Po total variando de 7 até 272 mg Kg^{-1} , 26% deste correspondendo ao conteúdo de Po lábil. Houve correlação positiva entre Po total, o conteúdo de Carbono total e P total em solos caracterizados como Podzólicos (Argissolos). O conteúdo de Po total dos Latossolos apresentou correlação direta com os teores de Fe_2O_3 e argila. Nessa classe de solo, em especial, o Po lábil apresentou-se intimamente relacionado com o P disponível, evidenciando o potencial de contribuição da fração orgânica em solos com elevado grau de intemperismo. Em pastagem de clima temperado, Turner et al. (2003), utilizando extrato de NaOH-EDTA, obtiveram valores de Po variando de 276 a $1083 \text{ mg P Kg}^{-1}$ de solo com participações de 46 a 88% do P total. Foi observada correlação positiva entre Po total, conteúdo de Carbono total e biomassa microbiana.

A participação de componentes orgânicos de P no solo é importante para a nutrição dos vegetais. Entretanto, sua composição química complexa e sua vulnerabilidade frente às alterações do ambiente tornam seu estudo motivo de muitas contradições no meio científico.

2.5. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN ^{31}P)

O detalhamento da dinâmica de P em ecossistemas naturais e cultivados requer conhecimento estrutural dos compostos que contêm esse nutriente. Entretanto, há uma série de limitações, principalmente analíticas, que dificultam os trabalhos sobre a composição de P no solo. A extração, separação e detecção dos componentes mais recalcitrantes de P são algumas das dificuldades encontradas nas análises (Turner et al. 2003).

Apesar de fornecerem informações importantes sobre a concentração de diferentes formas de P, os procedimentos de fracionamento seqüencial não permitem a identificação dos compostos de P no solo. Dessa forma, técnicas modernas de espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^{31}P são utilizadas para avaliação desses compostos, permitindo caracterizar a composição estrutural do P (Newman e Tate, 1980; Preston, 1996). Nos últimos 20 anos, as avaliações de RMN ^{31}P contribuíram para a identificação direta desses compostos (Makarov et al., 2002), possibilitando melhor entendimento sobre sua dinâmica no sistema solo-planta.

A base teórica da ressonância magnética nuclear foi proposta por W. Pauli em 1924, sugerindo que certos núcleos atômicos deveriam ter as propriedades de spin e momento magnético e que, conseqüentemente, a exposição a um campo magnético levaria a um desdobramento de seus níveis energéticos, sendo essa teoria cientificamente comprovada na década seguinte (Skoog et al., 2002). Conceitos sobre a RMN foram bem estabelecidos para a aplicação em química orgânica em 1965, mas somente nos últimos anos o desenvolvimento da tecnologia de RMN possibilitou aplicações em sistemas complexos tais como na matéria orgânica dos solos. Isso inclui o desenvolvimento de supercondutores magnéticos com altos campos (acima de 800 MHz para ^1H ou 18,8 Tesla), a transformada de Fourier e a possibilidade de análise em amostras sólidas pela técnica de CP/MAS (Cross-Polarization Magic-Angle Spinning), permitindo espectros bem resolvidos de amostras sólidas (Preston, 1996).

Análises de RMN são baseadas na medida de absorção de radiação eletromagnética na região de radiofrequência de cerca de 4 a 900 MHz, envolvendo

os núcleos dos átomos no processo de absorção (Skoog et al., 2002). Esse é um fenômeno observado em núcleos que possuem momento magnético μ e momento angular J paralelos, correlacionando-se através da razão giromagnética γ , que é uma constante para cada isótopo. Núcleos de isótopos que possuem número ímpar de prótons e/ou nêutrons e número ímpar de número de massa com spin I semi-inteiro, podem ser observados através dessa técnica (Silverstein, 1994). Mais de 200 isótopos possuem momento magnético e, em princípio, podem ser observados através da RMN. O spin do isótopo ^{31}P possui valor $\frac{1}{2}$ e abundância natural de 100% (Skoog et al., 2002).

A análise de RMN ^{31}P é menos laboriosa que as técnicas de cromatografia utilizadas para o isolamento e identificação de compostos orgânicos de P (Cadenun e Preston, 1996).

Diferentes tipos de componentes de P podem ser observados, quantitativa e qualitativamente, com base no ambiente eletrônico em torno dos vários núcleos de P como: formas monoéster e diéster, fosfonato, pirofosfato, polifosfato e ortofosfato inorgânico. O número de ligações ésteres e a presença ou ausência de ligações C-P diretas (i.e. fosfonatos) são fatores importantes que afetam a frequência de ressonância de P em material orgânico do solo. A detecção quantitativa e a diferenciação de P podem ser bem estabelecidas pela técnica de RMN ^{31}P (Bedrock et al., 1994).

Os tipos de espectros a serem obtidos dependem do instrumento utilizado, do núcleo envolvido, do estado físico da amostra, do ambiente do núcleo do analito e do propósito da análise. A maioria dos espectros pode, no entanto, ser classificada como de linhas largas de alta resolução (Skoog et al., 2002). Os deslocamentos químicos são causados por pequenos campos magnéticos gerados pelos elétrons que circulam ao redor do núcleo, e quanto maior a intensidade do campo elétrico maior a definição e sensibilidade dos espectros obtidos (Skoog et al., 2002).

A identificação dos sinais obtidos através da RMN ^{31}P é realizada por meio da adição de padrões conhecidos e pela comparação com outros trabalhos publicados como referência (Makarov et al., 2002). A quantificação dos componentes apresentados é realizada através da integração da área referente a cada composto.

Já a interpretação dos espectros é realizada através de intervalos que correspondem aos diversos compostos existentes nas amostras.

De forma geral, sinais entre 19,0 a 20,0 ppm nos espectros de RMN ^{31}P são atribuídos à presença de fosfonatos, e em torno de 6,0 ppm o sinal corresponde a ortofosfato inorgânico. Ortofosfatos monoésteres apresentam intervalo de 3,0 a 6,0 ppm e compostos diésteres estão próximos a 0 ppm. Sinais de polifosfatos são observados em intervalos de -18 a -20 ppm. Diversos trabalhos têm apresentado, também, sinais de compostos de P não identificados (Makavov et al., 1997; Turrión et al., 2001; Turner et al., 2003).

No estudo dos componentes orgânicos de P, a avaliação de ácidos húmicos e fúlvicos é realizada em amostras sólidas ou em solução. Espectros obtidos de amostras em solução apresentam maior resolução e, conseqüentemente, menores problemas na identificação. Contudo, soluções alcalinas podem influenciar em processos de hidrólise, alterando a concentração dos vários compostos de P (Marakov et al., 2002). O menor tempo de aquisição para a obtenção dos espectros em amostras sólidas torna-se fator determinante para maior utilização desse tipo de análise (Ceretta et al., 1999). Esse tipo de amostra possibilita o estudo sem que haja a necessidade de extração e conseqüente degradação potencial do material analisado (Turner et al., 2003).

A estabilização de P em compostos orgânicos no solo é explicada pela incorporação de unidades de fosfato de origem microbiana, animal e vegetal até matéria orgânica humificada através de processos pouco compreendidos denominados genericamente de humificação (Stevenson, 1994). Os principais grupos de P orgânico presentes em extrato alcalino são os ortofosfatos de monoésteres ($\text{R} - \text{O} - \text{PO}_3$), ortofosfatos de diésteres ($\text{R} - \text{O} - \text{PO}_2 - \text{R}$) e fosfonatos ($\text{R} - \text{PO}_4$), além dos fosfatos inorgânicos e pirofosfatos (Novais e Smyth, 1999).

2.5.1. Ortofosfato monoéster

O fosfato de inositol é o principal componente dos ortofosfatos de monoéster (ésteres de hexaidroxibenzeno), desde mono até hexafosfato de inositol, presentes em diferentes estereoisômeros, dependendo do arranjo estrutural dos grupos H^+ e OH^- (Novais e Smith, 1999). Possui forte interação com os minerais do solo e alta

densidade de cargas, o que confere alta estabilidade contra ataques enzimático e microbiano. Turrión et al. (2001) encontram relação direta entre formas de Fe e a quantidade de argila dos solos, apresentando possível caminho para estabilização dos componentes monoésteres do solo. Assim como o ortofosfato diéster, os compostos monoésteres podem ser importantes para a manutenção de ecossistemas através de sua mineralização, controlando o suprimento de P disponível para as plantas, especialmente nos solos mais desenvolvidos (Tate e Newman, 1982). Solomon et al. (2002) descreveram os sinais de P monoéster variando de 4,9 até 5,3 ppm com participação de fosfato de inositol, fosfato açúcar e mononucleotídeos. Já Cade-Menun e Preston descreveram os compostos em ligação monoéster com ressonância variando de 3 até 6 ppm. No entanto, a atribuição a esses compostos ainda não é inequívoca, havendo muitas contradições na literatura científica.

2.5.2. Ortofosfato diéster

Componentes diésteres são uma importante fonte de P para as plantas, possuindo participação destacada nas transformações desse nutriente nos ecossistemas (Makarov et al., 2002). Os ácidos nucleicos e os fosfolipídios participam como ortofosfatos diésteres, sendo que os ácidos nucleicos (DNA e RNA) correspondem a até 3% do fósforo orgânico total do solo (Novais e Smith, 1999). Esses componentes possuem baixa densidade de cargas e seus grupos fosfatos são protegidos contra interação iônica. Isso permite o ataque microbiano, explicando sua baixa proporção na maioria dos solos. A persistência e o acúmulo de formas diésteres têm sido observados em solos onde a atividade microbiana é restrita devido à acidez, baixas temperaturas ou ao solo com deficiência de drenagem (Makarov et al., 1995). Ortofosfato diéster pode se tornar estável no solo através da adsorção nas argilas ou por associações com compostos húmicos (Turner et al., 2003). O conteúdo de P diéster numa climossequência foi positivamente correlacionado com o conteúdo de C da biomassa e com o ATP (Adenosina trifosfato) no solo (Tate e Newman, 1982).

Quatro sinais na região diéster (-1,5; 0; 0,8 e 1,6 ppm), com algumas variações no deslocamento químico, foram observados por espectroscopia de RMN ^{31}P em trabalho realizado por Makarov et al. (2002). O sinal que possui ressonância em -1,5 ppm referiu-se à presença de compostos não identificados de natureza não lipídica. A presença de P-DNA ocasionou sinal em 0 ppm, até então, identificado como característico de componentes fosfolipídicos. A ressonância de fosfolipídios de origem microbiana e vegetal foi observada em torno de 1,5 a 1,7 ppm e 0,6 a 0,7 ppm. Turrión et al. (2001) descreveram sinais com variação em 1,5 ppm como resultante da participação de ácido teicóico (cadeia de glicerol ou moléculas de açúcar ligadas a fosfato), e de 1 a -0,3 ppm devido à presença de fosfolipídios e DNA. Turner et al. (2003) identificaram sinais de P diéster entre 0 e 2 ppm (Fosfolipídios) e entre -1 e 0 ppm atribuídos a DNA.

2.5.3. Fosfato inorgânico

A análise de RMN ^{31}P também possibilita a identificação de componentes inorgânicos no extrato alcalino de solos. Sinais correspondendo a 6,5 ppm identificam a presença de P ortofosfato, enquanto que sinais em -4,4 ppm foram caracterizados como pirofosfato. Em -20 ppm, observou-se a presença de polifosfato (Turrión et al., 2001). Resultados obtidos por Turner et al. (2003), trabalhando com amostras de solos sob pastagem, identificaram ortofosfato, pirofosfato e polifosfato com sinais em 6,24, -4,05 e -20,18 ppm, respectivamente. Além destes, outros componentes foram observados através da RMN ^{31}P , como visto por Gil-Sotres et al. (1990), que identificaram sinais de fosfonato correspondendo a 17% da área do espectro de solos localizados em altitudes elevadas. A presença de fosfonato, em solos ácidos submetidos a clima frio e chuvoso, ocorre do acúmulo de componentes C-P, provavelmente, em decorrência de baixa atividade microbiana (Gil-Sotres et al., 1990; Tate e Newman, 1982). Entretanto, a presença de fosfonato também foi observada em solos de savana bem drenados e submetidos a temperaturas elevadas (Guggenberger et al., 1996).

Os espectros de ressonância apresentam também sinais de compostos ainda não identificados de P, conforme previamente verificado em vários trabalhos como os de Gil-Sotres et al. (1990); Guggenberger et al. (1996); Amelung et al.

(2001); Solomon et al. (2002). A presença desses compostos é observada em deslocamentos químicos próximos a $-1,5$ ppm e $6,6$ ppm (Makarov et al., 2004). A alta proporção de compostos não identificados está associada à presença de substâncias húmicas com pouca degradação, sendo esses compostos produtos intermediários da decomposição de restos vegetais (Gil-Sotres et al., 1990).

O Quadro 1 apresenta, de forma resumida, atribuições de diferentes compostos de P analisados pelo método de RMN ^{31}P , de acordo com diferentes autores.

Quadro 1 – Comparações das atribuições do componente orgânico de P utilizadas em espectros de RMN ^{31}P , de acordo com diferentes autores

	Cade-Menun e Preston (1996)	Solomon et al (2002)	Outros autores	Estrutura
Atribuição	Deslocamento químico (ppm)			
Fosfonato	15 a 20	19	19 a 20 (a)	$\text{R} - \text{PO}_4$
Ortofosfato inorgânico	6 a 8	6,2	6 (a)	PO_4
P monoéster	3 a 6	4,9 – 5,3	3 a 6 (a)	$(\text{R} - \text{O} - \text{PO}_3)$
P diéster	1 a (-1)	0 – 1,5	0 (a)	$(\text{R} - \text{O} - \text{PO}_2 - \text{O R}')$
Não identificado A		0,3 a 1	6,6 a 6,8 (b)	
Não identificado B		(-0,5) a (-2,2)	-1,2 a -1,7 (b)	
Pirofosfato	(-3) a (-6)	(-4,7)	-4 a -5 (a)	P_2O_7
Polifosfato	(-20)	(-20)	-20 (a)	

(a) Hawkes et al., 1984.

(b) Makarov et al., 2004.

2.6. Utilização da RMN ^{31}P na identificação de compostos

Os componentes do P têm sido caracterizados através da RMN ^{31}P em diferentes profundidades e tamanho de partículas (Amelung et al., 2001; Makarov et al., 2004), associados às formas de P obtidas por diferentes extratores (Solomon et al., 2002; Taranto et al., 2000; Cade-Menun e Preston, 1996), em função da cobertura vegetal, manejo e uso do solo (Guggenberger et al., 1996; Gil-Sotres et al., 1990; Turrión et al., 2001), e em diversas outras situações onde a identificação estrutural desses compostos pode favorecer o entendimento sobre a participação desse nutriente nas reações do solo. O método tem sido aplicado mais freqüentemente em solos com alto status de fósforo (200 -700 μg de P alcalino-solúvel g^{-1}) devido à relativa insensibilidade da RMN ^{31}P em concentrações inferiores (Adams e Byrne, 1989).

Avaliações de RMN ^{31}P geralmente complementam e dão sustentação às conclusões baseadas na extração seqüencial, permitindo afirmar, por exemplo, que as formas diésteres de P são mais lábeis e mais facilmente mineralizadas que as monoésteres (Taranto et al., 2000).

Apesar das importantes informações obtidas através da RMN ^{31}P , sua utilização, mesmo em grandes institutos de pesquisa, ainda está longe de se tornar rotineira. O alto custo para a aquisição de equipamentos e a falta de profissionais treinados e dedicados ao assunto têm limitado a utilização dessa técnica. No Brasil, em especial, poucos são os trabalhos envolvendo os conhecimentos da RMN. Isso tem dificultado o debate sobre resultados obtidos e a formação de novos pesquisadores interessados no tema.

2.6.1. Cobertura vegetal

Solomons et al. (2002) observaram, em solos de zona tropical sub-úmida, mudança na distribuição dos compostos contendo P em função da cobertura vegetal. Foi observado nesse estudo que, com o desmatamento, ocorreram incremento das frações orgânicas mais resistentes originadas do material vegetal e perda das frações mais lábeis (i.e., diésteres) oriundas do metabolismo microbiano. Essa observação também foi realizada por Adams e Byrne (1989) estudando solo com

cobertura florestal, com idades variando de 1 até 200 anos. A conclusão desse trabalho foi o aumento gradativo da participação de componentes diésteres com a idade das florestas. O sinal de P inorgânico, entretanto, mostrou comportamento contrário, ou seja, decresceu com o aumento da idade da floresta.

Canellas et al. (2002) relataram que solos submetidos à diferentes coberturas (floresta secundária, gramíneas e leguminosas), em clima tropical, apresentaram P monoéster como sendo a forma predominante de Po, representando de 66 a 95% do P extraído com NaOH. O sinal de ressonância dos componentes monoésteres ocorreu entre 3 e 5 ppm e os compostos diésteres apresentaram picos entre 1 a -1 ppm, sendo estes responsáveis por até 34% do P total extraído. O crescimento da atividade de microrganismos, devido à adição de resíduos com baixa relação Lignina/Nitrogênio no solo com cobertura de leguminosas, proporcionou, segundo os autores, aumento da participação dos componentes diésteres.

2.6.2. Comparação de métodos e extratores

Tate e Newman (1982) utilizaram o estudo de RMN ^{31}P para obter o conteúdo de P total, efetuando comparações dos valores obtidos através do procedimento convencional realizado por digestão sulfúrica. Para a maioria dos solos observados, nesse estudo, houve boa concordância entre os dois métodos. Em três dos solos utilizados, houve uma participação maior do P quando a análise foi realizada através da RMN, possivelmente, em função de uma mineralização incompleta durante a digestão com ácido perclórico.

Um inconveniente para a comparação de resultados de análises de RMN de ^{31}P é referente ao tipo de extrator utilizado para a obtenção do P do solo e obtenção dos espectros, uma vez que pode haver extração de íons paramagnéticos como o Fe e Mn, causando distorção dos espectros. Cade-Menum e Preston (1996), trabalhando com diferentes extratores de P (NaOH 0,25 M; resina chelex e água; resina chelex e NaOH 0,25 M; NaOH 0,5 M e EDTA 0,1 M) em amostras de 5 solos florestais, observaram diferenças significativas entre os espectros obtidos de acordo com o extrato utilizado. Os espectros que utilizaram NaOH e EDTA apresentaram picos mais largos, maior quantidade de P extraído e maior diversidade das formas

obtidas, sendo o único a apresentar sinal referente à presença de pirofosfatos. Análises de metais indicaram que esse extrator manteve Mn em solução, parecendo ser este o motivo do alargamento dos picos. O sinal mais nítido e com melhor resolução foi obtido utilizando-se resina chelex e NaOH, que extraiu de 23 a 35% do P total. A utilização de NaOH - EDTA possibilitou a extração de 71 a 90% do P do solo, havendo considerável diferença na diversidade dos compostos extraídos. O extrator NaOH e EDTA forneceu maior quantidade de compostos enquanto que NaOH extraiu menos. Isto se deve, em parte, à quantidade de P extraído por cada reagente e à natureza do reagente. A relação diéster/monoéster sugere que NaOH causou hidrólise do ortofosfato monoéster, o que não ocorreu com NaOH e EDTA. A grande quantidade de polifosfato extraído com NaOH e EDTA pode ser atribuída à grande quantidade de P total extraído por esse método, uma vez que esse componente não é notado nos outros extratores utilizados. Dessa forma, pode-se concluir que os extratores afetam os resultados das análises de RMN ^{31}P , dificultando a comparação de estudos que utilizaram procedimentos diferentes de extração.

2.6.3. Manejo dos solos

Turrión et al. (2001) estudando solos de floresta natural e fertilizados, de clima temperado, verificaram que P monoéster foi a espécie predominante de P orgânico nesses sistemas, representando entre 19 e 54% do P extraído em NaOH. Esses autores concluíram que as maiores concentrações dessa classe de Po foram observadas em solos com alto conteúdo de óxido de ferro. O P diéster representou entre 3 e 17% do P extraído com NaOH refletindo uma baixa atividade microbiana nesses solos. Tate e Newman (1982) também encontraram maior participação dos componentes monoésteres (41 – 70 %) em estudo envolvendo 10 tipos de solos de uma climossequência. Turner et al. (2003) observaram maior participação dos componentes monoésteres em solos sob pastagem em clima temperado, apresentando participação entre 29 a 60% do total de P extraído. Adams (1990), estudando solos florestais que sofreram queimadas, observou que a participação do componente P diéster foi maior quanto maior o período sem a ação do fogo. O

manejo realizado por longo período sem a queima (80 anos) apresentou participação do componente diéster na ordem de 83%. O solo recém afetado pelo fogo, analisado 5 meses após a queimada, apresentou praticamente todo seu P devido ao componente inorgânico, enquanto que a participação desse componente em amostra de longo período sem queima representou somente 18% do conteúdo total de P. Pode-se observar que, com o passar dos anos (até 80 anos), aumentou a proporção do componente P diéster e diminuiu a do P monoéster, evidenciando maior participação da decomposição microbiana, vegetal e animal nos solos com longo período sem queimada.

Outras situações também têm sido alvo de estudo através da RMN ^{31}P , como a investigação da composição do P orgânico em frações fisicamente separadas de solos da Rússia (Amelung et al., 2001). Nesse trabalho, foi observado que 55% do P extraído era composto por formas monoésteres, estando presente em maiores proporções na fração areia do solo. As formas diésteres de P, incluindo ácido teicóico e ácido nucléico, corresponderam de 19 a 31% do P extraído e estiveram relacionadas principalmente à fração argila. O aumento da participação de formas diésteres na fração argila pode sugerir que elas possam estar protegidas contra a degradação nas partículas mais finas dos solos. O clima também influenciou na distribuição das formas de P, sendo que o aumento das formas diésteres na fração argila foi relacionado ao crescimento da relação precipitação anual/evaporação potencial, contrariamente ao que ocorreu com as formas monoésteres. Os resultados de RMN ^{31}P revelaram composição similar entre as formas de Po em superfície (0-10 cm) e em subsuperfície (50-60cm).

2.6.4. Relação diéster/monoéster

Um importante ponto de discussão, na maioria dos estudos de RMN ^{31}P , é a relação entre ortofosfato diéster e monoéster como resultado de vários efeitos naturais e artificiais, podendo informar quanto à presença de formas mais ou menos disponíveis dos componentes orgânicos de P. Entretanto, a concentração real dos componentes diésteres do solo pode ser consideravelmente subestimada e as formas monoésteres superestimadas quando analisadas em extrato alcalino. Isso

ocorre devido à quase completa hidrólise do RNA e à parcial hidrólise dos fosfolipídios em monoéster (Makarov et al., 2002), confirmando os resultados obtidos por Adams e Byrne (1989) e Cade-Menum e Preston (1996). A utilização dessa relação, visando estimar a proporção de P lábil no solo, deve considerar as transformações ocasionadas pelos extratores (Makarov et al., 2002), uma vez que sua natureza química pode interferir nos resultados, levando a conclusões equivocadas.

A razão ortofosfato diéster/monoéster pode exibir diferentes correlações com diferentes características dos solos, sugerindo que diversos fatores controlam a abundância desses componentes nos solos (Turner et al., 2003).

Análises em amostras apresentando maiores razões diéster/monoéster permitem sugerir que as formas de Po no solo possuem maior labilidade. Solomons et al (2002) estudando solos de regiões da África (Wushmush e Munesa) submetidos à diferentes formas de utilização (floresta nativa, plantio de chá e outras formas de cultivo) encontraram maiores relações diéster/monoéster nos ambientes com vegetação de floresta natural. Nesses solos, a relação diéster/monoéster variou de 0,58 (Munesa) a 1,00 (Wushwush). Os menores valores dessa relação foram encontrados onde o cultivo exigia constante movimentação de solo e menor aporte de material orgânico. Nesses casos, a relação variou de 0,13 (Munesa) a 0,16 (Wushwush) ilustrando a maior quantidade de compostos orgânicos mais estáveis e menos disponíveis aos vegetais no solo.

Em muitos estudos, a espectroscopia de RMN ^{31}P tem sido aplicada para a determinação do conteúdo e distribuição das espécies de P em extrato alcalino dos solos (Makarov, 1998). Entretanto, poucos trabalhos referem-se aos tipos e à quantidade das espécies de P associadas às substâncias húmicas (i.e., ácidos húmicos e ácidos fúlvicos).

A utilização conjunta de diferentes procedimentos metodológicos pode providenciar informações importantes sobre os efeitos da preservação da palha e da adição da vinhaça no conteúdo, na distribuição e na participação de formas orgânicas desse elemento no solo. A compreensão das alterações em função de manejos diferenciados pode colaborar para o desenvolvimento de uma agricultura menos dependente de insumos e menos agressiva ao meio.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Localização da área

A Baixada dos Goytacazes compõe uma das três macropaisagens da região Norte Fluminense. É uma bacia sedimentar deltáica do rio Paraíba do Sul que se estende na direção geral SW – NE desde a cidade de Macaé, ao sul, até as proximidades de Manguinhos, ao norte. É definido geograficamente pelas coordenadas 21° 25' e 22° 15' de latitude sul e 40° 55' e 41° 50' de longitude W. As cotas mais elevadas com referência ao nível do mar são de 12 metros (Ravelli Neto, 1989).

Caracterização da área de estudo

O clima da área de estudo pode ser classificado como tipo Aw do sistema Köppen: quente e úmido, com estação chuvosa no verão e estação seca acentuada. A temperatura é bem distribuída o ano todo, sendo a média anual em torno de 23,2 °C. A precipitação anual média é de 1086,9 mm (Berner, 1995).

Amostragem e manejos dos solos

Em duas áreas cultivadas com cana-de-açúcar durante longo tempo, foram coletadas, em 2001, amostras de um Cambissolo Háplico Ta Eutrófico vértico localizado no Município de Campos dos Goytacazes, norte do Estado do Rio de Janeiro. Na primeira área, localizada na propriedade do senhor Fernando Neto (Estrada para o Farol de São Thomé), desde 1946 até 2001 não se realizou a prática da queima da cana por ocasião da colheita, proporcionando assim adição de material vegetal no solo. Nesta área, a condução do canavial foi realizada sem movimentação de solo e sem renovação, sendo a palha da cana depositada na superfície ano após ano. Na lavoura estudada, no momento da amostragem, o canavial encontrava-se na 55ª soca. Não se fez adubação e correção do solo durante esse período. As amostras obtidas dessa área, no presente trabalho, foram denominadas: 1) Cana crua e 2) cana queimada.

Na segunda área, localizada na Usina Santa Cruz e distante aproximadamente 40 Km da primeira (Estrada para o Município de São Fidélis), desde 1966 até 2001 foram adicionados, anualmente, durante o período seco, $120 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ de vinhaça, subproduto da indústria sulcroalcooleira. Foram coletadas em áreas adjacentes, para efeito de comparação, amostras de solo cultivado com cana por longo tempo cujos manejos consistiam em: efetuar a queima em período anterior à colheita e o outro onde não se aplicou vinhaça. Nas áreas com e sem aplicação de vinhaça, a lavoura foi submetida à queima antes da colheita. Foram então denominadas: 3) cana com vinhaça e 4) cana sem vinhaça, as amostras obtidas dessa segunda área.

Com exceção do manejo cana crua, as demais áreas foram submetidas aos tratamentos convencionais de preparo do solo, que consistem em renovação do canavial (a cada 4 ou 5 cortes, correspondendo a 5 ou 6 anos), utilizando-se procedimentos de revolvimento do solo como aração e gradagem.

A coleta do solo foi realizada em duas profundidades (0-0,20 m e 0,20-0,40 m), em três amostras compostas formadas por dez amostras simples por área de lavoura de cerca de 492 m^2 . As amostras foram secas ao ar, destorroadas e passadas em peneira 2 mm para obtenção da terra fina seca ao ar (TFSA). Os

resultados de algumas características químicas e físicas desse solo estão apresentados no Quadro 2 e foram previamente discutidos por Canellas et al. (2003).

Foram avaliados os seguintes compartimentos de P: P total, P disponível, P orgânico e inorgânico e P nas substâncias húmicas. Os valores de P total foram obtidos através de digestão do solo com H_2SO_4 e H_2O_2 e o conteúdo de P orgânico, através do método da ignição pela diferença entre P no extrato ácido em material aquecido e não aquecido, conforme Saunders & Wilians, (1955). O conteúdo de P orgânico foi obtido através da diferença entre o P total e o P inorgânico. Para avaliação do P disponível, foram utilizados os métodos da resina de troca aniônica e Mehlich 1. Esses procedimentos foram descritos por Anderson e Imgram (1993). A obtenção das frações que compõem as substâncias húmicas foi realizada por meio da extração com NaOH $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ na razão solo:extrator de 1:10 (v/v). Os ácidos húmicos foram separados por precipitação através da acidificação do extrato alcalino até pH 1,0 – 1,5 utilizando-se HCl 6 mol L^{-1} . Em todas as frações, a determinação de P nos extratos foi realizada por colorimetria através da formação da cor azul do complexo fosfato-molibdato na presença de ácido ascórbico como redutor. A leitura das absorvâncias foi realizada em 880 nm de comprimento de onda (Anderson e Imgram, 1993).

No fracionamento do P total, amostras de 0,5 g de solo foram submetidas a diferentes extratores, num esquema seqüencial adaptado de Hedley et al. (1982), como apresentado na Figura 1. Essa metodologia baseia-se na extração em seqüência de formas mais lábeis, seguidas das mais estáveis (Pavan e Chaves, 1996). As formas mais lábeis de P foram obtidas pelo método da resina de troca aniônica saturada com NaCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e pela extração com NaHCO_3 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ (P adsorvido na superfície dos colóides). O P microbiano foi obtido pela diferença entre a quantidade existente em amostra de solo fumigado e não fumigado com CHCl_3 . Formas de P com disponibilidade moderada foram extraídas com NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. O P localizado na superfície interna dos agregados foi obtido a partir da sonificação durante 5 minutos e 75 W do extrato residual de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. As formas não disponíveis às plantas em curto espaço de tempo, principalmente as associadas ao cálcio, foram extraídas com HCl 1 mol L^{-1} . O P residual foi obtido por meio da digestão do material resultante em H_2SO_4 e H_2O_2 .

Inicialmente, para obtenção do P disponível, 0,5 g de solo e 0,5 g de resina de troca aniônica acondicionada em bolsas de nylon foram colocados em tubos de centrífuga contendo 50 mL de água e agitados durante 16 horas. O P retido na resina foi deslocado com 50 mL de NaCl 0,1 mol L⁻¹. O solo foi então recuperado por centrifugação e, na mesma amostra, procedeu-se à extração utilizando-se 30 mL de NaHCO₃ 0,5 mol L⁻¹ (P-NaHCO₃). Após essa etapa, o P associado ao Fe e Al e às substâncias húmicas (P-NaOH) foi extraído utilizando-se 30 mL de NaOH 0,1 mol L⁻¹. Novamente efetuou-se a agitação com NaOH 0,1 mol L⁻¹, submetendo o extrato à sonificação para obtenção do P retido na superfície interna dos agregados (P-NaOH sonificado). Realizou-se, então, a extração com 30 mL de HCl 1,0 mol L⁻¹ (P-HCl) para obtenção das formas de P ligadas ao cálcio. Por fim, realizou-se a digestão do material resultante com H₂SO₄ + H₂O₂ para a obtenção do P residual. Para avaliação do efeito do manejo da lavoura sobre o estoque total de P (Mg ha⁻¹), no solo, utilizou-se a equação:

$$\text{Estoque de P} = [P_{\text{total}} (\text{g Kg}^{-1}) \times \text{profundidade (m)} \times \text{densidade do solo (Mg m}^{-3})] \times 10$$

A área em estudo foi previamente analisada por meio de um modelo geoestatístico apresentado por Berner (1995). No presente trabalho, não houve um desenho experimental clássico. As diferenças entre os ambientes estudados foram atribuídas aos diferentes manejos utilizados na condução do canavial.

Para a caracterização dos componentes orgânicos de P presentes nos ácidos húmicos, foram obtidos espectros de RMN de ³¹P em solução alcalina (NaOH 0,1 mol L⁻¹), observados em aparelho Bruker WM 250 com alta resolução, 101,27 MHz, utilizando-se pulso de 45° com 1,5 s de tempo de relaxação e 0,508 s de aquisição. O ácido fosfórico foi utilizado como referência externa. Os espectros foram obtidos com a sequência de desacoplamento de prótons (inverse-gate pulse sequence-INVGATE) para eliminar o efeito NOE e permitir resultados quantitativos. A identificação dos compostos orgânicos de P ocorreu através da comparação com outros trabalhos publicados como referência e a quantificação realizada através da integração da área referente a cada composto.

Quadro 2 - Características químicas e físicas de um Cambissolo Háplico Ta Eutrófico vértico, localizado em Campos dos Goytacazes (RJ), cultivado com cana-de-açúcar, com preservação do palhico e adição de vinhaça por longo tempo

Tratamento com cana	pH	Grau de humificação	Carbono	CTC efetiva	CTC (pH 7)	V	Areia	Silte	Argila
		%	---g Kg ⁻¹ ---	-----cmol _c dm ⁻³ -----		%	-----g Kg ⁻¹ -----		
0 – 0,20 m									
Cana crua	6,7	67	22,34	12,8	15,0	85	350	380	270
Cana queimada	6,5	80	13,13	8,1	10,4	78	230	400	370
Cana com vinhaça	5,9	45	18,33	8,4	12,2	69	150	470	380
Cana sem vinhaça	6,0	39	15,71	7,8	10,0	71	160	520	320
0,20 – 0,40 m									
Cana crua	6,8	68	20,95	12,8	14,5	88	320	400	280
Cana queimada	6,6	83	11,81	7,6	10,1	75	220	410	360
Cana com vinhaça	6,3	52	12,12	7,5	10,5	72	80	490	430
Cana sem vinhaça	6,1	45	10,90	7,3	9,4	77	110	460	430

Adaptado de Canellas et al. (2003).

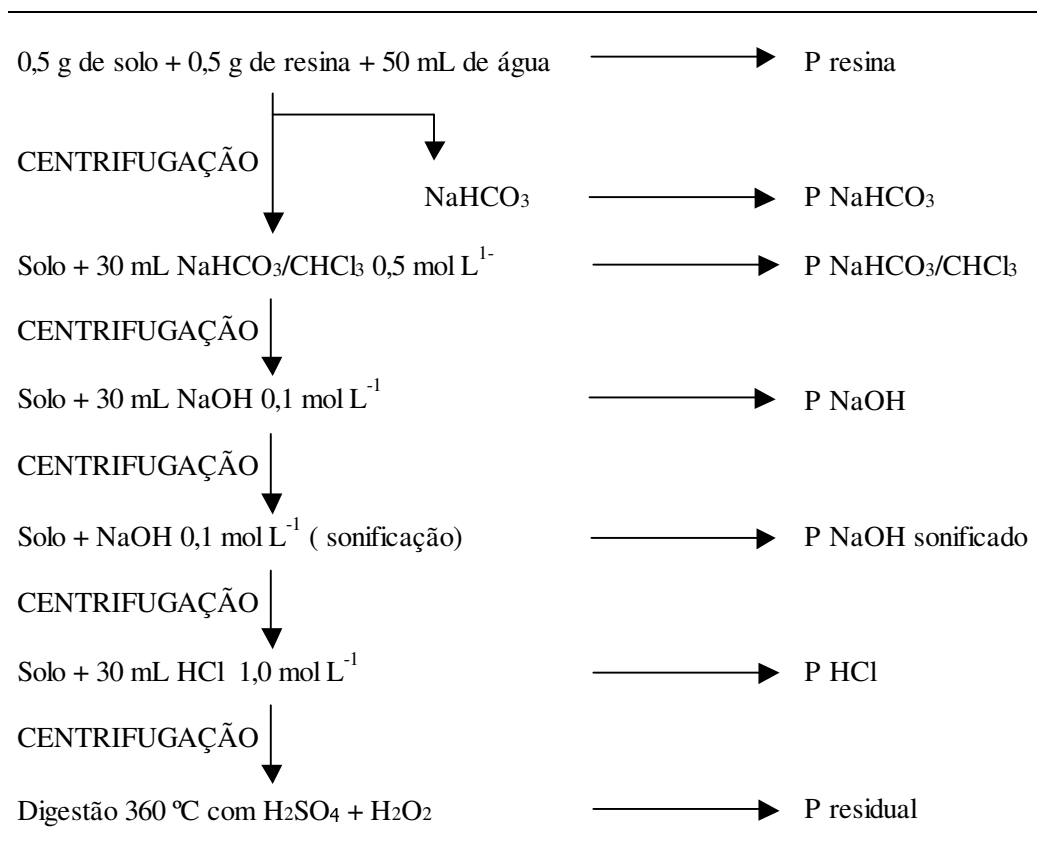


Figura 1 - Esquema simplificado do procedimento de extração seqüencial adaptado de Hedley et al. (1982).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Compartimentos de P

O sistema de manejo da lavoura da cana-de-açúcar com a preservação do palhicho, durante 55 anos, proporcionou acúmulo em todos os compartimentos de P analisados (Quadro 3). Isso indica que a preservação da palha contribui para a melhoria da fertilidade do solo, fato previamente demonstrado em outros trabalhos (Orlando Filho et al., 1998; Canellas et al., 2003).

Na área de cana crua, foram observados acréscimos de 541 mg P Kg⁻¹ solo e de 694 mg P Kg⁻¹ solo no compartimento P disponível (Mehlich 1), nas camadas de 0-0,20 m e 0,20-0,40 m. Foram observados também aumentos expressivos, na ordem de 230 mg P Kg solo e 181 mg P Kg solo, nas duas profundidades, quando utilizou-se o método da resina. O não revolvimento do solo em virtude do aproveitamento da cana soca pode ter contribuído para o aumento do P disponível, uma vez que há uma relação inversa entre o volume de solo em contato com o P e a sua disponibilidade às plantas (Novais e Smith, 1999). O maior aporte de material orgânico e sua conseqüente mineralização podem ter diminuído a capacidade de adsorção de P e a energia de ligação do fosfato aos grupos funcionais dos colóides

inorgânicos solo (Rheinheimer et al., 2003). Esses resultados indicam que a preservação da palha altera de forma considerável a oferta de P disponível no solo.

Observa-se, através do Quadro 3, que a extração de P pelo método Mehlich 1 foi maior que aquela obtida pela resina no manejo da cana crua. Este fato pode estar associado à maior participação do P ligado ao cálcio e extraído por HCl (Quadro 4). O extrator ácido pode estar promovendo a solubilização de grande quantidade de P ligado ao cálcio, superestimando a disponibilidade desse elemento (Furtini Neto et al., 2001).

Na área com aplicação de vinhaça, foram observadas mudanças marcantes no conteúdo de P total, P inorgânico e P disponível, principalmente na camada superficial. O conteúdo de P orgânico, entretanto, não foi alterado pela aplicação desse resíduo. Na profundidade de 0-0,20 m, houve acréscimos na ordem de 210% e 267% no compartimento P-disponível, avaliados pela resina e Mehlich 1, respectivamente (Quadro 3). O conteúdo de P presente na vinhaça da região de Campos dos Goytacazes – RJ encontra-se em valores próximos de 19 mg Kg^{-1} (Sobrinho et al., 1987). Na camada subsuperficial, entretanto, o P-disponível não foi alterado, fato que seria esperado em função da percolação do resíduo no perfil do solo.

Os valores mais altos no compartimento P total foram obtidos nos manejos com maior aporte de matéria orgânica, nas duas profundidades estudadas. O conteúdo total de P no solo onde se preservou a palha foi 277% maior do que na área com queima na profundidade de 0–0,20 m, acarretando uma diferença na ordem de $1687 \text{ mg P Kg}^{-1}$ solo entre os dois manejos. Em subsuperfície, o acréscimo de P total foi de 252%, proporcionando uma diferença de $1563 \text{ mg P Kg}^{-1}$ solo em relação ao manejo da cana queimada. Conte et al. (2003) avaliando a camada de 0-0,10 m de um Latossolo manejado sob plantio direto e que sofreu adição de fertilizantes fosfatados, quantificaram 336 mg P Kg^{-1} solo de acréscimo no conteúdo de P total na maior dose de fosfato aplicada. Isso demonstra que o acúmulo do material vegetal na área de produção, durante longo tempo, pode favorecer o retorno de P ao solo. No manejo com aplicação de vinhaça, observou-se um aumento de 48% (320 mg P Kg^{-1}) no conteúdo total de P, na camada de 0-0,20 m.

Quadro 3 - Fósforo nos diferentes compartimentos de um Cambissolo Háplico Ta Eutrófico vértico da região Norte Fluminense submetido ao cultivo de cana-de-açúcar por longo tempo. Os valores representam a média de três repetições $\pm$ desvio padrão

Sistema de manejo	Relação C/Po	P _{Estoque}	P _{total}	P _{orgânico}	P _{inorgânico}	P _{resina}	P _{Mellich}	P _{NaOH}	
								Ácido húmico	Ácido fúlvico
		--Mg ha ⁻¹ --	-----mg P kg ⁻¹ solo-----				--mg dm ⁻³ --	-----mg P kg ⁻¹ solo----	
			-----0-0,20m-----						
Cana crua	59	6,11	2297 ± 101	380 ± 03	1917 ± 97	237 ± 11	547 ± 21	657 ± 35	90 ± 03
Cana queimada	78	1,68	610 ± 46	169 ± 10	441 ± 56	7 ± 01	6 ± 02	223 ± 15	73 ± 02
Cana com vinhaça	88	2,79	983 ± 55	209 ± 04	774 ± 52	31 ± 05	22 ± 08	233 ± 22	64 ± 11
Cana sem vinhaça	74	1,95	663 ± 65	212 ± 06	451 ± 58	10 ± 03	6 ± 01	188 ± 14	56 ± 01
			-----0,20-0,40m-----						
Cana crua	52	5,89	2183 ± 92	404 ± 01	1779 ± 93	186 ± 12	697 ± 32	615 ± 16	91 ± 01
Cana queimada	62	1,96	620 ± 05	189 ± 15	431 ± 20	5 ± 01	3 ± 01	233 ± 05	30 ± 01
Cana com vinhaça	57	1,81	647 ± 23	212 ± 09	435 ± 10	6 ± 01	6 ± 0,1	227 ± 09	23 ± 03
Cana sem vinhaça	61	1,72	577 ± 18	179 ± 21	398 ± 24	7 ± 02	3 ± 0,1	107 ± 06	36 ± 02

O conteúdo de P na forma inorgânica foi maior que o P na forma orgânica no Cambissolo, independente do manejo adotado na lavoura de cana (Quadro 3). A proporção dos componentes orgânicos e inorgânicos de P encontram-se na Figura 2. Na área de cana crua, o P inorgânico representou 84% do conteúdo total de P na camada de 0-0,20 m e 81% na camada de 0,20-0,40 m. O conteúdo de P inorgânico nesse manejo teve um acréscimo de $1476 \text{ mg P Kg}^{-1}$ solo (335%) em relação à cana colhida com queima na camada superficial. Em subsuperfície, o aumento foi de 1348 mg Kg^{-1} solo (313%). A maior participação de componentes inorgânicos deve-se, provavelmente, à mineralização dos resíduos de cultivo ou mesmo da matéria orgânica humificada do solo, favorecendo principalmente o compartimento disponível de P (Quadro 3). Acréscimos significativos na participação do P inorgânico, em manejo que preserva a MOS, também foram observados por diferentes autores (Reinheimer & Anghinoni, 2001; Tokura et al., 2002). A aplicação de fertilizantes fosfatados solúveis promoveu aumento do componente inorgânico de P em área de cultivo de cana-de-açúcar comparada à área sob vegetação nativa (Araújo et al., 1993). No manejo com aplicação de vinhaça, observou-se um aumento de 323 mg P Kg^{-1} solo no conteúdo de P inorgânico na profundidade de 0-0,20m.

A quantificação do P orgânico auxilia o entendimento dos processos de mineralização-imobilização de P sob diferentes sistemas de cultivo (Kuo, 1996). A contribuição do P orgânico para o conteúdo total de P é muito variável, dependendo de fatores tais como cobertura vegetal, condições climáticas e grau de evolução pedogenética (Walker e Adams, 1959; Turrión et al., 2001). No presente estudo, a participação média do P orgânico no conteúdo de P total foi de 25%, em superfície, e de 28%, em subsuperfície, semelhante ao observado por Guerra et al. (1996), que encontraram contribuição média de 27% em amostras de 17 solos diferentes. O conteúdo de P orgânico variou na faixa de 169 a 404 mg P Kg^{-1} solo nos diferentes manejos e profundidades, valores considerados altos quando comparados aos obtidos por Araújo e Salcedo (1997) e Tokura et al. (2002). Em estudo que comparou o conteúdo de P orgânico total de um Cambissolo cultivado com cana-de-açúcar sob diferentes manejos, Manhães (1996) obteve, como média, o conteúdo de 132 mg P Kg^{-1} solo nesse compartimento. No mesmo trabalho, o autor verificou que

outra classe de solo (Podzólico amarelo) apresentou um conteúdo bem inferior de P orgânico, na ordem de $8,5 \text{ mg P Kg}^{-1}$ solo.

No manejo da cana crua, o compartimento orgânico teve sua participação aumentada em 211 mg P Kg^{-1} de solo e 215 mg P Kg^{-1} solo nas duas profundidades analisadas. Esse manejo foi responsável pela menor participação relativa desse compartimento no conteúdo total de P (Figura 2). Esse fato sugere uma maior participação do P orgânico em formas lábeis, que rapidamente são mineralizadas e aproveitadas pelas plantas ou convertidas em formas mais estáveis no solo.

A mineralização do P orgânico nos solos depende da relação C:P_o (Tisdale e Nelson, 1975). A imobilização líquida de P no solo só ocorre com relação C:P_o muito elevada, acima de 300, ou em resíduos que contenham menos de 2 g P Kg^{-1} na matéria seca (Siqueira e Moreira, 2001). O maior valor observado da relação C:P_o foi de 88 (Quadro 3), indicando que a direção do processo de transformação do P atua no sentido da mineralização não resultando em imobilização líquida de P no solo. Isso pode explicar o aumento considerável no P disponível do manejo da cana crua.

A razão de mineralização de P_o depende de fatores como temperatura, umidade e, também do substrato, determinando a atividade microbiana (Makarov, 1998). Apesar de não terem sido quantificados esses fatores nesse estudo, a literatura científica afirma que a presença da palha na área de produção oferece maior umidade no solo e reduz o pico de temperatura em até 7°C (Timm, 2002), beneficiando a atividade dos microrganismos e favorecendo a mineralização do P_o.

O conteúdo de P nos ácidos húmicos foi maior que nos ácidos fúlvicos em todos os manejos observados (Quadro 3). No manejo da cana crua, o P no ácido húmico representou 88% e 87% do P extraído com NaOH nas profundidades de 0-0,20 m e 0,20-0,40 m. No manejo da cana queimada, em 0-0,20 m de profundidade, a participação do ácido húmico foi de 75% no conteúdo de P. Esses resultados estão de acordo com os obtidos por Makarov et al. (1997), que obtiveram participações de 73% a 90% do ácido húmico em extrato alcalino de solos alpinos. Os resultados sugerem que os ácidos húmicos estão enriquecidos em P em comparação com os ácidos fúlvicos (Makarov et al., 1997). Esses autores verificaram que o fosfato monoéster foi a espécie de P dominante nos ácidos húmicos e em função de sua maior resistência à mineralização estão sendo acumulados nesse compartimento.

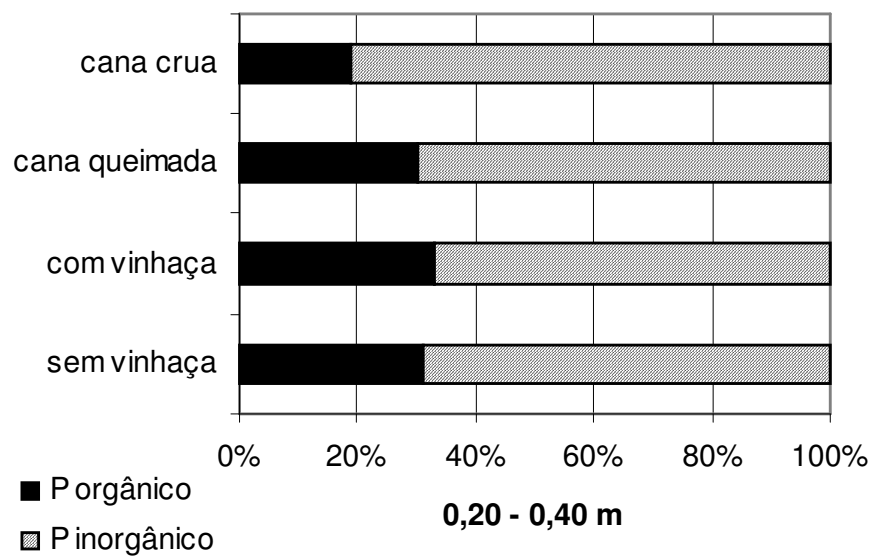
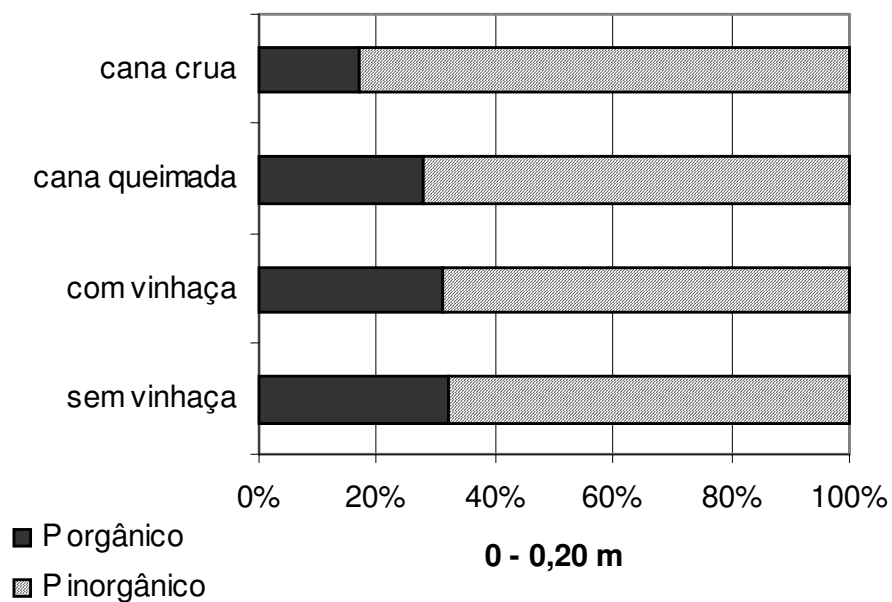


Figura 2 – Distribuição relativa de P orgânico e inorgânico de um Cambissolo Háplico Ta Eutrófico vértico da região Norte Fluminense cultivado com cana-de-açúcar, com preservação do palhço e adição de vinhaça por longo tempo.

Nos manejos cana queimada e cana sem aplicação de vinhaça, de 0-0,20 m, o menor conteúdo de P nos ácidos húmicos, 75% e 77%, sugere que em manejos onde não há preservação da MOS, os ácidos húmicos são fonte de P para a solução, sendo que, nos manejos mais conservacionistas, ocorre acúmulo de P nesse componente.

Fracionamento seqüencial de P

Os manejos avaliados apresentaram diferença na distribuição das formas de P avaliadas pelo procedimento de extração seqüencial (Quadro 4), indicando a alteração desse elemento no solo.

A adoção do manejo por longo tempo sem a queima, além de evitar a emissão de poluentes atmosféricos, aumenta representativamente o conteúdo de P no solo, tanto em superfície (0-0,20 m) como em subsuperfície (0,20-0,40 m).

a) P residual

Em todos os manejos observados, o P residual foi o compartimento que apresentou maior conteúdo (Quadro 4). Esta fração representa o P ocluso retido por minerais estruturalmente livres (Smeck, 1985) e formas orgânicas estabilizadas.

No manejo da cana crua, o conteúdo de P residual foi de 601 mg P Kg⁻¹ solo e de 570 mg P Kg⁻¹ solo, representando 34% e 36% do conteúdo total de P nas profundidades de 0-0,20 m e 0,20-0,40 m. Já na área que sofreu a queima, essa participação correspondeu em 311 mg Kg⁻¹ (59%) do total de P em superfície e 411 mg Kg⁻¹ (68%) em subsuperfície. Outros trabalhos também constataram maior participação do P residual em diferentes manejos de solos (Pavan e Sanches, 1996; Reinheimer e Anghinoni, 2001; Tokura et al., 2002). O conteúdo de P residual em diferentes solos cultivados e não cultivados variou de 79% a 96% (Tokura et al., 2002).

Os resultados obtidos no presente trabalho indicam que o manejo do solo pode alterar o ciclo biogeoquímico do P, fazendo com que formas mais disponíveis sejam favorecidas nos manejos que preservam a matéria orgânica do solo.

Quadro 4 - Conteúdo de P obtido pelo fracionamento seqüencial de Hedley et al., 1982, com adaptações, em amostras de solo de áreas cultivadas por longo tempo com cana-de-açúcar sob diferentes manejos (mg P Kg⁻¹ solo). Os valores representam a média de três repetições ± desvio padrão

Sistema de cultivo	Resina	NaHCO ₃	P microbiano	NaOH	NaOH sonificado	HCl	Residual	Σ do P extraído
0 – 0,20 m								
Cana crua	1 2 9 ± 1 1	1 1 5 ± 1 3	8 1 ± 0 6	2 0 3 ± 1 2	1 7 9 ± 1 2	4 6 4	6 0 1 ± 1 9	1 7 7 2
Cana queimada	1 2 ± 0 2	1 6 ± 0 1	- -	1 1 6 ± 0 2	4 4 ± 0 2	3 1 ± 0 2	3 1 1 ± 2 4	5 2 9
Cana com vinhaça	3 3 ± 0 3	2 2 ± 0 1	2 3 ± 0 2	2 4 6 ± 0 1	8 3 ± 0 4	3 5 ± 0 1	5 5 1 ± 3 9	9 9 3
Cana sem vinhaça	6 ± 0 1	1 4	1 2 ± 0 1	1 5 8 ± 0 6	5 2 ± 0 4	4 7 ± 0 8	3 9 0 ± 0 6	6 7 7
0,20 – 0,40 m								
Cana crua	1 0 4 ± 1 0	7 5 ± 0 3	2 3 ± 0 2	2 0 4 ± 0 2	1 5 1 ± 1 2	4 4 5 ± 1 0	6 0 1 ± 1 9	1 5 7 2
Cana queimada	1 2 ± 0 3	1 4	- -	9 8 ± 0 4	3 9 ± 0 4	3 0	3 1 1 ± 2 4	6 0 4
Cana com vinhaça	2 4 ± 0 1	1 9 ± 0 1	- -	1 4 0 ± 0 1	4 2 ± 0 3	3 2	5 5 1 ± 3 9	7 1 7
Cana sem vinhaça	3	1 8	- -	1 0 9 ± 1 0	6 7 ± 1 4	3 1 ± 0 1	3 9 0 ± 0 6	6 0 1

b) P microbiano

A atividade microbiana é responsável pela mineralização das formas orgânicas de P. O estoque de P orgânico compreende o P na MOS morta e na biomassa microbiana, sendo de grande interesse para a dinâmica e ciclagem desse elemento no solo (Siqueira e Moreira, 2001).

Na profundidade de 0-0,20 m, somente a área de cultivo da cana queimada não apresentou participação do componente microbiano (Quadro 4). O manejo com aplicação de vinhaça apresentou acréscimo de 23 mg P Kg⁻¹ solo, enquanto que, no manejo da cana crua, esse aumento foi de 81 mg P Kg⁻¹ solo. Na camada de 0,20-0,40 m de profundidade, o manejo da cana crua apresentou conteúdo de 23 mg P Kg⁻¹ solo no compartimento microbiano.

O P da biomassa microbiana, como proporção do P orgânico total do solo, é da ordem de 3% nos solos agricultáveis, 14% nos solos de pastagem e 20% nos solos de floresta (Siqueira e Moreira, 2001). No solo submetido ao manejo da cana crua, na camada de 0-0,20 m, o componente microbiano representou 21% do conteúdo total de P orgânico, enquanto os manejos com e sem aplicação de vinhaça representaram 11 e 6%, respectivamente. Na profundidade de 0,20-0,40 m, essa participação representou 6% do conteúdo total de P orgânico no manejo da cana crua. A preservação da palha favorece a biomassa microbiana e, conseqüentemente, a disponibilidade desse nutriente para as plantas. Os principais mecanismos de transformação de P no solo envolvem, além da retenção ou fixação, sua liberação ou solubilização da fração de transição (P lábil), mineralização e imobilização biológica pelos microrganismos (Siqueira e Moreira, 2001). A maior atividade microbiana no manejo da cana crua modifica o P do solo. A deposição dos resíduos e a mineralização do P orgânico forneceram P inorgânico para a reassimilação microbiana e absorção vegetal, além da transformação desse P em formas mais estáveis no solo.

c) P resina e P NaHCO₃

As formas de P resina e P extraído com NaHCO₃, consideradas lábeis, tiveram sua participação aumentada no manejo da cana crua. A soma dessas frações, nesse manejo em 0-0,20 m, representou 14% do conteúdo de P extraído em

seqüência, correspondendo a 244 mg P Kg^{-1} solo. Esses valores são maiores que aqueles apresentados nos estudos em região semi-árida e solos cultivados com cana-de-açúcar (Araújo e Salcedo, 1997; Araújo et al., 2003). Já na área onde ocorreu a queima do canavial, a participação dessas formas correspondeu a 5% do conteúdo total de P (28 mg P Kg^{-1} solo), evidenciando a importância da preservação da matéria orgânica para o aumento das formas de P mais disponíveis no solo. A aplicação de vinhaça, em ambas as profundidades, também condicionou maior conteúdo de P nas frações lábeis em função do teor de P existente nesse resíduo. O ciclo de P nos diferentes manejos está sendo diretamente afetado pela adição e preservação de matéria orgânica.

d) P NaOH e NaOH sonificado

Na fração de P extraída com NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, predominam as formas orgânicas que podem ser consideradas moderadamente lábeis (Bowman e Cole, 1978) e P coordenado ao ferro e alumínio dos óxidos (Rheinheimer e Anghinoni, 2001). Tiessen et al. (1992), entretanto, observaram que em solos tropicais, o P extraído com NaOH é uma fração mais dinâmica do que geralmente tem sido relatado na literatura.

As formas extraídas com NaOH dominaram amplamente sobre as ligadas ao cálcio extraídas com HCl $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, exceção feita ao manejo da cana crua. Esta fração representou uma porção importante no conteúdo total de P em todas as áreas avaliadas, especialmente, no manejo com aplicação de vinhaça em ambas profundidades (Quadro 4); provavelmente, pelo maior aporte de matéria orgânica desse manejo. No manejo da cana crua, foram observadas as menores participações desse compartimento, representando 11% no conteúdo de P extraído através do fracionamento, em ambas profundidades. O conteúdo de P extraído com NaOH representou 22% do conteúdo total de P no manejo da cana queimada, em 0-0,20 m de profundidade e 16% de 0,20-0,40 m.

Segundo Hedley et al. (1982), os componentes extraídos com NaOH e NaOH sonificado são considerados pouco lábeis e podem suprir os componentes mais lábeis. Dessa forma, as menores participações encontradas na cana crua podem ocorrer em função da conversão do P pouco lábil para formas mais disponíveis.

Entretanto, como o conteúdo de P extraído com HCl 1,0 mol L⁻¹ também aumentou nesse manejo, as formas extraídas com NaOH 0,1 mol L⁻¹ podem também estar fornecendo P para os compartimentos mais estáveis. O conteúdo de P, no extrato sonificado, teve sua participação variando de 6 a 11% no conteúdo de P.

e) P HCl

A extração com HCl 1,0 mol L⁻¹ solubiliza as formas de P ligadas ao cálcio (Hedley et al., 1982) e, em regiões temperadas, está associada aos minerais apatíticos (Smeck, 1985).

Esse compartimento apresentou, de forma geral, valores inferiores a 7% do conteúdo total de P nos diferentes manejos. No manejo sem efetuar a queima, entretanto, foi observado que em superfície esta extração representou 26% do conteúdo total de P e, em subsuperfície, cerca de 28%. Esta foi a principal forma de acúmulo de P observada pelo fracionamento seqüencial. O maior conteúdo de cálcio presente no solo sem a queima da palha (Canellas et al., 2003) pode ter favorecido o acúmulo de P nesta fração. Nos demais manejos, não foram obtidas diferenças neste compartimento. Os elevados conteúdos de P apresentados na fração extraída com HCl 1,0 mol L⁻¹, no manejo da cana crua, sugerem a formação de compostos de menor solubilidade como a monetita (CaHPO₄), hidroxiapatita [Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂] e Fluorapatita Ca₁₀(PO₄)F₂ (Furtini Neto et al., 2001).

f) Formas lábeis, pouco lábeis e não lábeis

A representação esquemática da participação das frações lábil, pouco lábil e não lábil de P, no solo sob cultivo da cana-de-açúcar, encontra-se na Figura 3. O manejo da cana crua, em ambas profundidades, proporcionou redução da participação das formas não lábeis e conseqüente aumento das frações pouco lábil e lábil. A diferença entre cana queimada e cana crua, no somatório das formas lábeis, em 0-0,20m de profundidade, foi de 298 mg P Kg⁻¹ solo. O mesmo efeito foi observado na área com aplicação de vinhaça.

A preservação do palhço na área de cultivo proporcionou aumento no estoque de P no solo de 1,68 Mg ha⁻¹ para 6,11 Mg ha⁻¹ em superfície (Quadro 3). Na profundidade de 0,20–0,40 m, a diferença entre a cana crua e queimada foi de

3,93 Mg ha⁻¹. Na área com aplicação de vinhaça, a diferença entre o estoque de P em relação à área sem aplicação, na profundidade de 0-0,20 m, foi de 0,84 Mg ha⁻¹, enquanto que na profundidade de 0,20-0,40 m não houve diferença no estoque de P. A aplicação da vinhaça, portanto, condiciona mudanças na participação das formas mais lábeis no solo, entretanto, com pouco ou nenhum efeito no estoque de P total do solo.

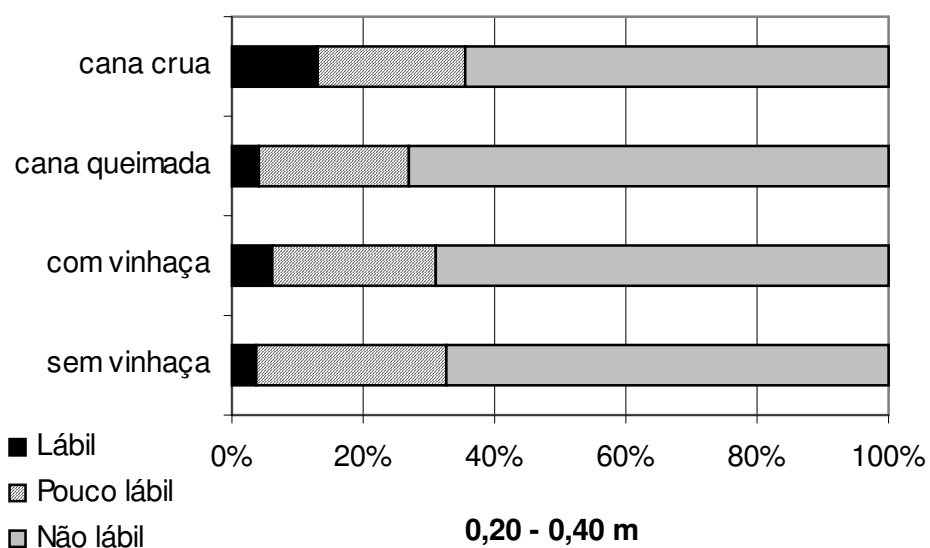
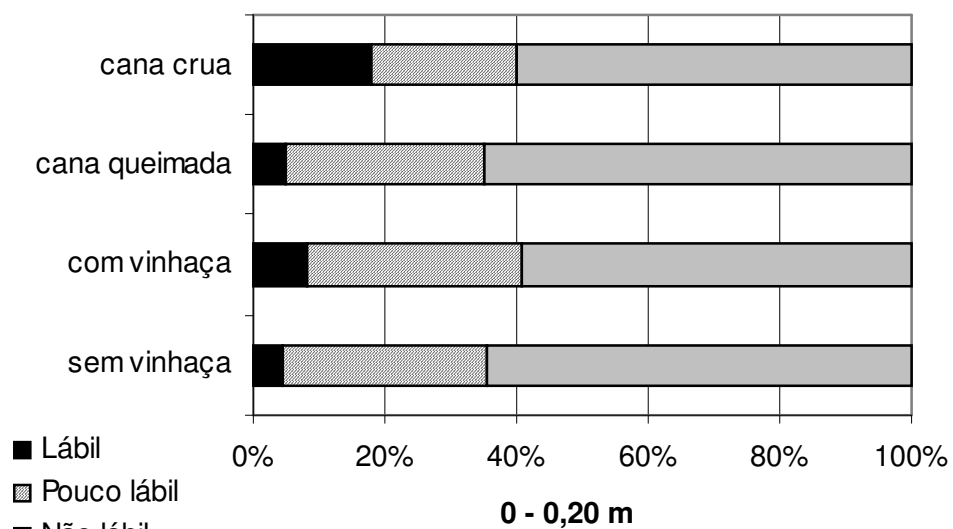


Figura 3 - Distribuição relativa das formas de P lábil, pouco lábil e não lábil em relação ao P recuperado através de extração seqüencial em um Cambissolo Háplico Ta Eutrófico vértico da região Norte Fluminense cultivado com cana-de-açúcar, com preservação do palhico e adição de vinhaça por longo tempo.

Ressonância magnética nuclear de ^{31}P

Para a observação das diferentes espécies de P nos solos e nas substâncias húmicas através de RMN ^{31}P , é utilizado, rotineiramente, o NaOH como extrator. Com o uso de solução alcalina é possível obter um conteúdo representativo do Po do solo, favorecendo a avaliação desse compartimento em relação ao P total. No presente estudo, a solução de NaOH 0,5 mol L⁻¹ recuperou entre 25% e 49% do conteúdo total de P, sendo que valores entre 75% e 91% do P solúvel em alcali estiveram associados aos ácidos húmicos (Quadro 3). Estes resultados foram semelhantes aos obtidos por Makarov et al. (1997) onde o P, nos ácidos húmicos extraídos de solos, representou de 73% a 90% do extrato alcalino.

Os espectros de RMN ^{31}P dos ácidos húmicos extraídos nas profundidades de 0-0,20 m e 0,20-0,40 m, da área de lavoura de cana-de-açúcar colhida com e sem a queima durante 55 anos, são mostrados na Figura 4. Já os espectros dos ácidos húmicos isolados da área onde se comparou o efeito da aplicação anual de 120 m³ ha⁻¹ de vinhaça, durante 35 anos, encontram-se na Figura 5.

A participação relativa de cada composto de P observado através da RMN ^{31}P está apresentada no Quadro 5. A proporção de cada classe de composto de P foi obtida através da integração eletrônica da área de cada sinal. Um guia para a interpretação dos espectros, elaborado a partir dos trabalhos prévios de Hawkes et al. (1984), Cade Menun e Preston (1996), Solomon et al. (2002) e Makarov et al. (2004), é encontrado no Quadro 1.

Diferente da maioria dos trabalhos já realizados (Makarov et al., 1995; Guggenberger et al., 1996; Makarov, 1997), tanto para o extrato alcalino de solos como para as frações isoladas e purificadas das substâncias húmicas, os espectros dos ácidos húmicos da cana crua, na profundidade de 0-0,20 m, apresentaram pouca diversidade de sinais e, ainda, demonstraram a presença exclusiva de P em ligações diésteres (Figura 4). Essa classe de compostos possui baixa densidade de carga e seus grupos fosfatos são protegidos contra interações iônicas fortes, favorecendo a sua degradação através da atividade de hidrólise por microrganismos, ocasionando menor acúmulo nos solos (Makarov, 1998; Turrión et al., 2001). Assim, a persistência do P diéster pode ser observada em solos que apresentam restrições à atividade

microbiana, tais como os sob inunda  o, submetidos a baixas temperaturas ou devido à acidez (Makarov et al., 1995). Entretanto, Summan et al. (1998) encontraram grande propor  o de espécies orgânicas lábeis em solos florestais sob condi  es favoráveis para o desenvolvimento microbiano, provavelmente, pelo maior aporte de material vegetal.

Na  rea de cana crua (0-0,20 m), 92% do espectro correspondeu   absor  o em 0,84 ppm, atribuído ao P de ácido nucléico e fosfolipídios (Newman e Tate, 1980). Altas propor  es de DNA foram encontradas no extrato de NaOH de material vegetal (Makarov et al., 2002). O trabalho de Tate e Newman (1982) confirmou a origem do P nos fosfolipídios de extrato alcalino como sendo de resíduos vegetais. O acúmulo de formas mais lábeis de Po nos ácidos húmicos da área de cana crua, principalmente na camada de 0-0,20 m, pode ser determinado pelo equilíbrio entre a entrada de resíduos vegetais e sua conseqüente mineraliza  o através dos microrganismos. A não ser que sejam estabilizadas pelos minerais de argila ou pelos ácidos húmicos, as formas lábeis de Po são prontamente mineralizadas no solo. Contribui para essa dinâmica o maior conteúdo de P disponível no manejo da cana crua (Quadro 3), que pode estar favorecendo o acúmulo de formas orgânicas de Po lábeis nos ácidos húmicos. Dessa forma, a deposi  o de palha, durante 55 anos, favoreceu o aumento da participa  o de formas orgânicas lábeis de origem vegetal nos ácidos húmicos.

Também foi observado na área de cana crua, na profundidade de 0-0,20 m, outro sinal importante com ressonância em 1,46 ppm e atribuído ao ácido teicóico (Condr  n et al., 1990), responsável por 8% da área do espectro de RMN ^{31}P (Quadro 5). O  cido teicóico é um ortofosfato em liga  es diésteres, que corresponde ao glicerol ligado por grupos fosfatos (Guggenberger et al., 1996). Esse composto é originado exclusivamente da parede celular de bactérias gran positivas (Duckworth, 1977). Da mesma forma que os ácidos nucléicos e fosfolipídios, os ácidos teicóicos podem participar ativamente no fornecimento de P para as plantas uma vez que são também acessíveis ao ataque microbiano e enzimático no solo (Tate, 1984).

Quadro 5 - Distribuição relativa dos compostos de fósforo presentes nos ácidos húmicos extraídos de um Cambissolo Háplico Ta Eutrófico vértico submetido a diferentes manejos da cultura da cana-de-açúcar

Sistema de cultivo	P em ligação monoéster.....			P em ligação diéster.....			Relação di/monoéster	
	Açúcares	Mononucleotídio	Inositol fosfato	Ácido teicóico	Ortofosfato diéster	Não identificado		
	Deslocamento químico em ppm							
	5 a 5,9	3,8 a 5	2 a 3,5	1 a 2	1 a -1	-1 a -2,1	-5,5 a -8,5	
0 – 0,20 m								
Cana crua	-	-	-	8	92	-	-	1
Cana queimada	-	-	32	51	17	-	-	0,3
Cana com vinhaça	-	10	20	-	51	19	-	0,7
Cana sem vinhaça	-	50	23	-	21	6	-	0,3
0,20 – 0,40 m								
Cana crua	-	-	21	59	20	-	-	0,5
Cana queimada	8	-	73	19	-	-	-	0
Cana com vinhaça	-	9	32	-	9	-	50	0,3
Cana sem vinhaça	-	-	68	-	17	-	15	0,3

Em áreas florestais não perturbadas pelo cultivo agrícola, Adams (1990) e Solomon et al. (2002) observaram acúmulo de Po em ligações diésteres, sugerindo a importância destas substâncias no fornecimento de P para a manutenção da capacidade produtiva dos vegetais.

Os espectros de RMN ^{31}P dos ácidos húmicos sob manejo da cana crua, isolados da profundidade de 0,20-0,40 m, apresentaram alterações consideráveis em comparação com os extraídos na camada superficial. Se houve predominância de ortofosfato diéster (92%) nas amostras originadas de 0-0,20 m, na profundidade de 0,20-0,40 m, os sinais de absorção atribuídos ao ortofosfato em ligações diésteres, com ressonância em 0,35 ppm e (-0,13) ppm, representaram 20% do espectro de RMN ^{31}P (Quadro 5). Também, foi observado o aumento da participação do ácido teicóico de 8% para 59% da área integrada dos espectros. Outra diferença representativa nos espectros da cana crua em profundidade foi a presença de um sinal adicional em 2,03 ppm, campo mais baixo que o normalmente encontrado para diésteres e ácido teicóico (Figura 4). Esse grupamento de P provavelmente se encontra em ligações monoésteres. No entanto, essa atribuição não é inequívoca e é de difícil interpretação. No presente trabalho, a absorção em 2,03 ppm foi atribuída como sendo de compostos em ligação monoéster, representando 21% da área do espectro. Assim, na área de cana crua em profundidade, foi observada diminuição de P em ligações diésteres, proveniente de resíduos vegetais e, aumento relativo de P diéster originado da fração microbiana. Isso sugere que o acúmulo de Po nos ácidos húmicos depende da quantidade de resíduos vegetais que são depositados no solo.

Rubaek et al. (1999) observaram uma relação linear positiva entre as formas de P disponível e a concentração de espécies de Po em ligações diésteres. A maior participação das formas de P prontamente disponíveis (Quadro 4) também foi refletida no acúmulo de formas orgânicas lábeis, observado na área de cana crua.

Na área com cana queimada, na profundidade de 0-0,20 m, foram observadas as mesmas absorções que as vistas na área de cana crua (Figura 4). Entretanto, a distribuição relativa dos compostos foi diferente, sugerindo uma alteração no ciclo do Po em função da queima do material vegetal. A participação de componentes de P diéster de origem vegetal (ácidos nucleicos e fosfolipídios) foi reduzida de 92% na área de cana crua, para 17%, no manejo da cana queimada, nas

amostras de 0-0,20 m (Quadro 5). De forma contrária, a presença de Po lábil de origem microbiana, nessa mesma profundidade, foi favorecida no manejo da cana queimada. Esse componente representou 51% da área do espectro de RMN ^{31}P , com um sinal de absorção pronunciado em 1,24 ppm e outro, menos pronunciado, em 1,86 ppm. A presença dominante do ácido teicóico, na camada superficial da área de cana queimada, pode estar relacionada com a morte de microrganismos e conseqüente extravasamento do material celular ocasionados pelo fogo. O conteúdo pouco representativo do P microbiano, obtido através do fracionamento seqüencial, pode dar suporte a essa hipótese (Quadro 4).

Na camada superficial da área de cana queimada, foi observada a presença de um sinal com ressonância em 2,17 ppm referente ao fosfato de inositol que correspondeu a 32% da área do espectro de RMN ^{31}P (Quadro 5). As formas de Po, em ligações monoésteres, são caracterizadas pela alta densidade de carga e maior interação com óxidos, hidróxidos e argila no solo (Guggenberger et al., 1996; Makarov et al., 2004). Isso faz com que esses compostos sejam protegidos da degradação, ocasionando o seu acúmulo na maioria dos solos (Condon et al., 1990). O P em ligações monoésteres presentes nos ácidos húmicos extraídos do solo amostrado na profundidade de 0,20-0,40 m predominou amplamente sobre os demais compostos. Os sinais de fosfato de inositol corresponderam a 73% do espectro e, ainda, houve participação de 8% de P ligado a mioinositol, com ressonância observada em 5,22 ppm (Quadro 5). Zech et al. (1985) encontraram proporções maiores de P monoéster em profundidade quando comparadas com as de subsuperfície dos mesmos solos. O menor aporte de material vegetal, na área de cana queimada com o aumento da profundidade, indica que as formas de P, preferencialmente acumuladas nos ácidos húmicos, são em ligação monoéster.

O acúmulo de P em formas mais estáveis no solo em profundidade, a maior proporção de P em ligação diéster de origem microbiana e, ainda, uma menor participação da fração Po de origem vegetal reforçam o conceito de que manejos que preservam os resíduos vegetais ocasionam, além da maior disponibilidade de P, acúmulo de reservas desse nutriente mais prontamente disponível nas frações humificadas.

Canellas et al (2003) verificaram maior grau de humificação na matéria orgânica, da área de cana queimada em relação à área de cana crua. O processo de formação das substâncias húmicas, na área com 55 anos de preservação do palhço, permite indicar a presença de ácidos húmicos menos evoluídos quimicamente. O elevado grau de humificação da matéria orgânica nos solos sob manejo da cana queimada, em ambas profundidades, pode ter colaborado para o acúmulo de formas de Po mais estáveis nos ácidos húmicos. O acúmulo das formas orgânicas de P pode, nesse caso, ser controlada pelo grau de humificação da matéria orgânica do solo.

Assim, a estabilização de formas orgânicas de P no manejo da cana queimada, reflete o baixo conteúdo de P na solução do solo bem como na predominância de formas de P retidas com alta energia no solo (Quadro 4 e Figura 3). A baixa concentração de Po lábil, nos ácidos húmicos isolados do solo na área de cana queimada, na profundidade de 0,20-0,40 m, também pode sugerir que as formas mais disponíveis de Po estão suprindo a solução do solo, ao contrário do que ocorre no manejo da cana crua onde os ácidos húmicos estão sendo depositários de formas de Po lábeis.

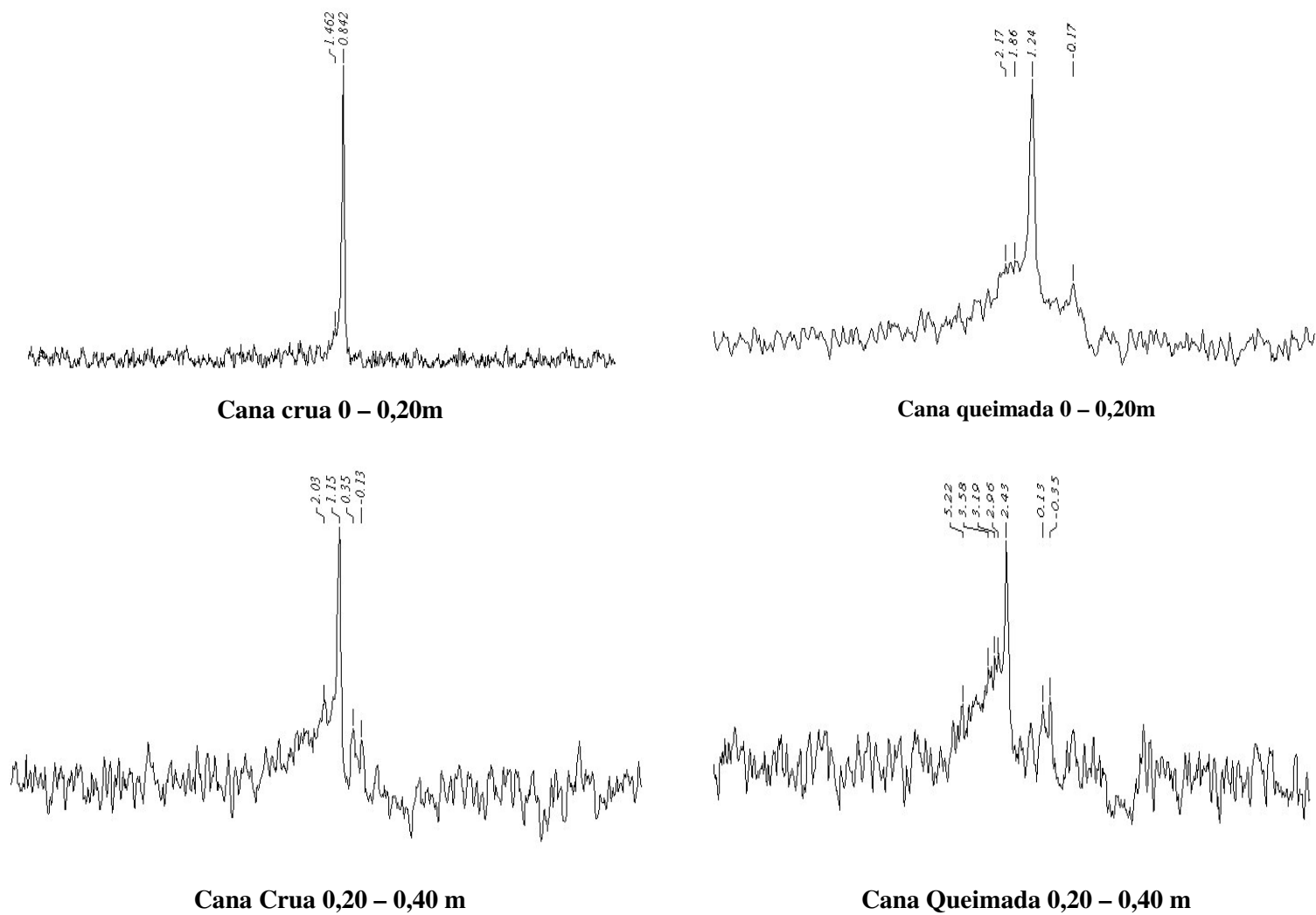


Figura 4 – Espectros de ^{31}P RMN de ácidos húmicos extraídos de Cambissolo Háplico Ta Eutrófico vértico submetido aos manejos de cana crua e cana queimada.

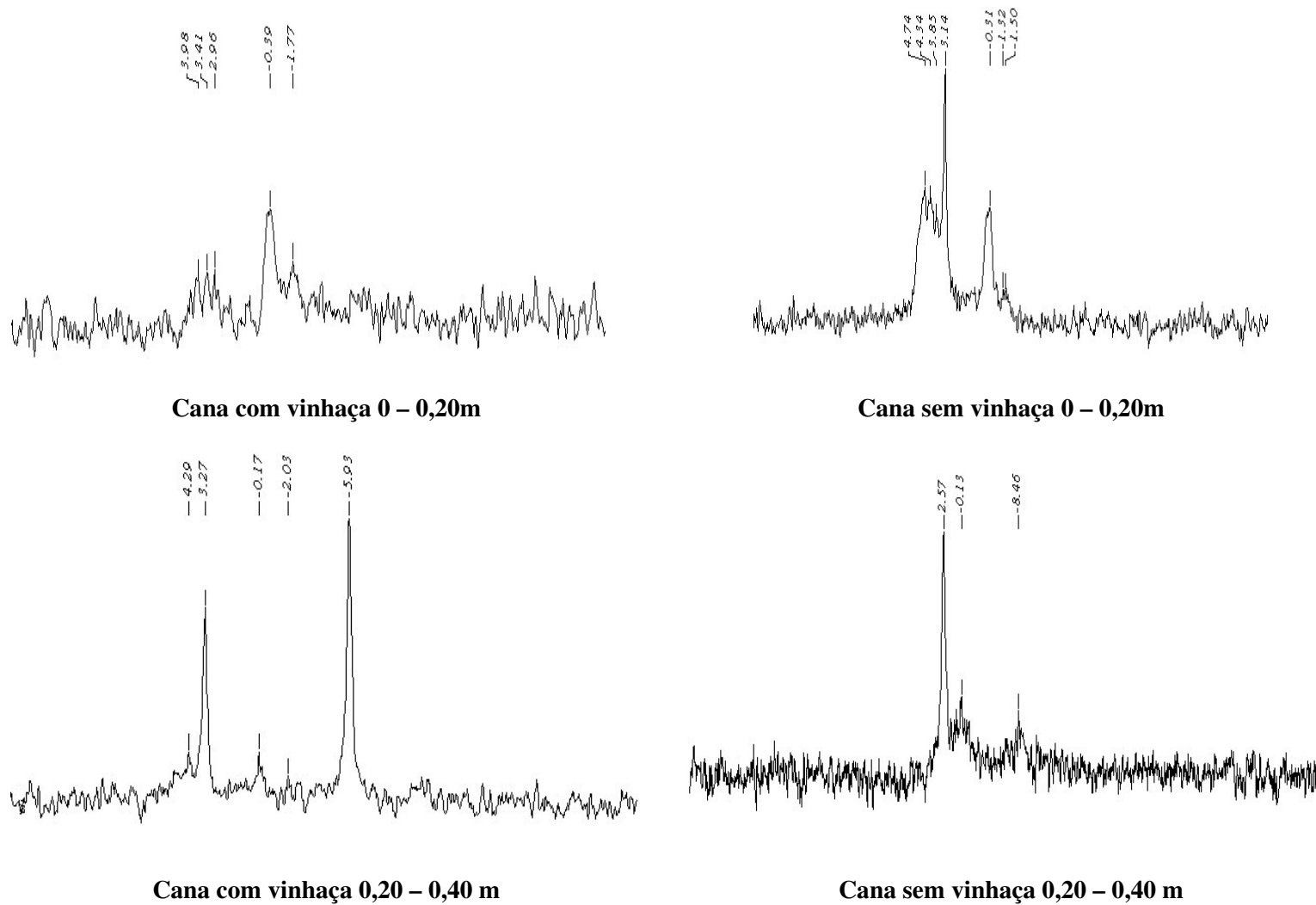


Figura 5 – Espectros de ^{31}P RMN de ácidos húmicos extraídos de Cambissolo Háplico Ta Eutrófico vértico submetido aos manejos com e sem aplicação de vinhaça na cultura da cana-de-açúcar.

Solo com aplicação de vinhaça

A aplicação de vinhaça, na área de produção de cana-de-açúcar durante 35 anos, proporcionou mudanças representativas na distribuição das espécies de P presentes nos ácidos húmicos (Figura 5).

Na profundidade de 0-0,20 m, na área com aplicação de vinhaça, foi observado um sinal pronunciado no espectro de RMN ^{31}P em $-0,39$ ppm, característico de P em ligação diéster. Esse sinal foi responsável por 51% da área do espectro e correspondeu à maior parte do Po presente no ácido húmico (Quadro 5). No solo que não recebeu a vinhaça, na mesma profundidade, o P relacionado ao mononucleotídeo foi o que apresentou maior participação nos ácidos húmicos. Esse componente, com ressonâncias em 3,85, 4,34 e 4,74 ppm, correspondeu a 50% da área do espectro.

Foi observado que a aplicação de vinhaça, durante 35 anos, favoreceu o compartimento microbiano e proporcionou maior conteúdo de P disponível no solo (Quadro 4). Assim, pode-se sugerir que a aplicação de vinhaça e o P disponível da matriz mineral do solo suprimam a demanda das plantas por esse nutriente, sendo o P não aproveitado pelo ciclo da cultura estabilizado em componentes lábeis nos ácidos húmicos.

Nos manejos da cana com e sem aplicação de vinhaça, o número de sinais obtidos pela RMN ^{31}P foi maior que nas áreas de cana crua e cana queimada. A complexidade química dos componentes de Po, nos ácidos húmicos dessas áreas, sugere que as substâncias húmicas têm sofrido menor evolução. Essa idéia pode ser comprovada através do menor grau de humificação da matéria orgânica desses solos (Quadro 2). Esta conclusão também tem suporte na participação representativa de sinais de compostos não identificados presentes nas áreas com e sem adição de vinhaça, nas amostras retiradas na profundidade de 0-0,20 m, com ressonâncias entre $(-1,32)$ e $(-1,77)$ ppm. Essas formas foram responsáveis pela participação de 19% na área com aplicação de vinhaça e, 6%, na área sem aplicação (Quadro 5), e sugerem a presença de compostos intermediários da decomposição vegetal (Gil-Sotres et al., 1990). Esses valores são maiores que os apresentados por Solomon et

al. (2002), que corresponderam de 3 a 8% do P extraído, e por Makarov et al. (2004), que observaram participações variando de 0,4 a 7,9%.

Maiores participações de componentes em ligação monoéster foram observadas na área sem aplicação de vinhaça, na profundidade de 0-0,20 m (Quadro 5). Esses compostos, mais estáveis em função da elevada densidade de cargas, representaram 73% da área do espectro de RMN ^{31}P nesse manejo. Em função de sua maior resistência à mineralização, o acúmulo dessas formas de Po nos ácidos húmicos forma uma reserva de Po pouco disponível no solo. Como o P presente nos ácidos húmicos da área sem vinhaça (0-0,20 m) correspondeu em torno de 28% do conteúdo total (Quadro 3) e como grande parte do Po (73%) encontra-se em compostos pouco disponíveis, sugere-se que as formas mais lábeis das substâncias húmicas serviram como fonte desse nutriente para a solução do solo, acarretando menor participação dessas formas no manejo sem a aplicação de vinhaça. De forma contrária, na área com aplicação de vinhaça, em função do maior conteúdo de P disponível, a fração húmica pode estar servindo como reserva de P em formas lábeis. Isso indica que a aplicação de vinhaça na área alterou a distribuição das formas desse nutriente no solo.

A presença de sinais de absorção referentes a pirofosfato, com ressonância entre (-5,5) e (-8,5) ppm nos manejos com e sem aplicação de vinhaça na camada de 0,20–0,40 m, pode ser explicada, em parte, pela hidrólise do Po durante a concentração da solução para a espectroscopia ou, mais provavelmente, pela liberação do ortofosfato associado com o material húmico (Makarov, 1998). A maior participação de pirofosfato, em análises de RMN ^{31}P , foi observada em horizontes subsuperficiais, sendo esta forma considerada relativamente estável no solo (Makarov, 1998). Na área com aplicação de vinhaça, na profundidade de 0,20-0,40 m, a participação de pirofosfato no ácido húmico correspondeu a 50% do espectro de RMN ^{31}P . Já na área sem aplicação desse subproduto, na mesma profundidade, a participação desse composto representou 15% da área do espectro (Quadro 5). Esses valores são maiores que os observados por Solomon et al. (2002), que encontraram participações do pirofosfato variando de 2 até 6% em extrato alcalino.

Um importante ponto de discussão, na maioria dos estudos de RMN ^{31}P , é a relação entre ortofosfato diéster e monoéster como resultado de vários efeitos naturais e artificiais, podendo informar quanto à presença de formas mais ou menos disponíveis dos componentes de Po. Comparações quanto ao conteúdo das frações monoéster e diéster, nos ácidos húmicos extraídos de vários solos, sugerem certa relação entre a distribuição do Po e a evolução das substâncias húmicas. Porém, a concentração real dos componentes diésteres do solo pode ser subestimada e as formas monoéster superestimadas quando analisados em extrato alcalino. Esse processo ocorre devido à quase completa hidrólise do RNA e a parcial hidrólise dos fosfolipídios em monoéster (Makarov et al., 2002). A utilização dessa relação, visando estimar a proporção de P lábil no solo, deve considerar as transformações ocasionadas pelos extratores (Makarov et al., 2002), uma vez que sua natureza química pode interferir nos resultados levando a conclusões equivocadas.

Os valores da relação diéster/monoéster, excluindo ácido teicóico, foram calculados para os ácidos húmicos extraídos do solo sob investigação e estão apresentados no Quadro 5.

Na profundidade de 0-0,20 m, os valores obtidos desta relação variaram de 0,3 até 1. Já nas amostras obtidas na camada de 0,20-0,40 m, a variação foi de 0,3 até 0,5, sendo que, no manejo da cana queimada, não foi observada participação de ortofosfato diésteres. Esses valores são compatíveis com os observados em extrato de solos tropicais da Etiópia, que apresentaram variação de 0,13 até 1, sendo os maiores valores referentes às áreas de florestas não perturbadas e os menores originados de solos sob intenso cultivo agrícola (Solomon et al., 2002).

A avaliação dos resultados desta relação possibilita a conclusão de que a classe predominante na área de cana crua, na profundidade de 0-0,20 m, representa o P em ligação diéster. O decréscimo desta relação, no manejo da cana queimada, na mesma profundidade, sugere maior participação de formas menos disponíveis de Po em função do menor aporte de material vegetal. Na área com aplicação de vinhaça foi observado maior valor da relação diéster/monoéster, quando comparada à área sem a aplicação. Já na profundidade de 0,20-0,40 m, o manejo da cana queimada não apresentou participação de ortofosfato diéster e nas áreas com e sem aplicação de vinhaça, não se observou diferença na relação diéster/monoéster,

sugerindo participações semelhantes desses compostos em subsuperfície. As alterações observadas na relação diéster/monoéster refletem as modificações nos compostos de Po nos ácidos húmicos extraídos no Cambissolo cultivado com cana-de-açúcar com a preservação do palhico e adição de vinhaça por longo tempo.

5. RESUMO E CONCLUSÕES

O objetivo deste trabalho foi avaliar, através do fracionamento seqüencial, a distribuição das formas de P em um Cambissolo Háplico Ta Eutrófico vértico cultivado com cana-de-açúcar, com preservação do palhico e adição de vinhaça por longo tempo. Também foi objeto deste estudo identificar, através da RMN ^{31}P , as espécies de P presentes nos ácidos húmicos extraídos dos solos.

O manejo do solo alterou expressivamente a distribuição das formas de P fazendo com que formas mais disponíveis fossem acumuladas nas áreas de preservação do palhico durante 55 anos e, com aplicação de vinhaça durante 35 anos.

A preservação da palha proporcionou acréscimos de 277% e 252% no conteúdo de P total nas amostras retiradas nas profundidades de 0-0,20 m e 0,20-0,40 m, respectivamente. No manejo com aplicação de vinhaça, houve um aumento de 48% no conteúdo total de P na profundidade de 0-0,20 m.

O conteúdo de P em formas inorgânicas foi superior ao conteúdo das formas orgânicas, em todos os manejos avaliados.

Através do fracionamento seqüencial, foi possível observar a grande participação do componente residual de P em todas as áreas avaliadas. A manutenção da palha (0-0.20 m e 0.20-0.40 m) e a aplicação de vinhaça (0-0.20 m), entretanto, aumentaram a quantidade de P em formas lábeis e diminuíram o compartimento não lábil.

A espectroscopia de RMN ^{31}P demonstrou que a preservação da palha e a adição de vinhaça alteraram a participação e a distribuição das formas orgânicas de P nos ácidos húmicos.

Compostos fosfatados orgânicos facilmente mineralizáveis foram acumulados nos ácidos húmicos extraídos dos manejos da cana crua (0-0.20 m e 0.20-0.40 m) e cana com vinhaça (0-0.20 m). Nos manejos da cana queimada e cana sem vinhaça, em ambas profundidades, houve participação representativa de formas orgânicas mais estáveis nos ácidos húmicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abelson, P. H. (1999) A potential phosphate crisis. *Science*, 283:2015-2016.
- Adams, M. A. (1990) ^{31}P -NMR identification of phosphorus compounds in neutral extracts of mountain ash (*Eucalyptus regnans* F. Muell.) soils. *Biology & Biochemistry*, 22:419-421.
- Adams, M. A., Byrne, L. T. (1989) ^{31}P -NMR analysis of phosphorus compounds in extracts of surface soils from selected Karri (*Eucalyptus diversicolor* F. Muell.) forests. *Biology & Biochemistry*, 21:523-528.
- Alvarez, I. A., Castro, P. R. de C. (1999) Crescimento de parte aérea de cana crua e queimada. *Scientia Agricola*, 56:1069-1079.
- Alvarez, I. A., Castro, P. R. de C., Nogueira, M. C. S. (2000) Crescimento de raízes de cana crua e queimada em dois ciclos. *Scientia Agricola*, 57:653-659.
- Amelung, W., Rodionov, A., Urusevskaja, I. S., Haumaier, L., Zech, W. (2001) Forms of organic phosphorus in zonal steppe soils of Russia assessed by ^{31}P NMR. *Geoderma*, 103:335-350.
- Anderson, J. M., Ingram, J. S. I. (1993) *Tropical soil biology and fertility: a handbook of methods*. 2. ed. Wallingford: CAB International, 221p.

- Araújo, M. S. B., Salcedo, I. H. (1997) Formas preferenciais de acumulação de fósforo em solos cultivados com cana-de-açúcar na região Nordeste. *R. Bras. Ci. Solo*, 21:643-650.
- Araújo, M. S. B., Salcedo, I. H., Sampaio, E. V. S. B. (1993) Efeitos de fertilizantes fosfatados anuais em solo cultivado com cana-de-açúcar II: Formas disponíveis e efeito residual do P acumulado. *R. Bras. Ci. Solo*, 17:397-403.
- ASFLUCAN - Associação Fluminense de plantadores de cana (2003) *Levantamento das últimas doze safras de cana-de-açúcar no Município de Campos dos Goytacazes* - RJ, Dados não publicados.
- Beck, M. A., Sanchez, P. A. (1994) Soil-phosphorus fraction dynamics during 18 years of cultivation on a typic paleudult. *Soil Science*, 58:1424-1431.
- Bedrock, C. N., Cheshire, M. V., Chudek, J. A., Goodman, B. A., Shand, C. A. (1994) Use of ^{31}P NMR to study the forms of phosphorus in peat soils. *Sci. Total Environ.*, 152:1-8.
- Berner, P. G. M. (1995) *Variabilidade espacial de propriedades de um Cambissolo sob sistemas de manejo de cana-de-açúcar*. Tese (Mestrado) - Itaguaí-RJ, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ, 79p.
- Black, C. A. (1968) *Soil plant relationships*. New York: John Wiley & Sons, 653p.
- Bowman, R. A. (1989). A sequential extraction procedure with concentrated sulfuric acid and diluted base for soil organic phosphorus. *Soil Science*, 53:326-366.
- Bowman, R. A., Cole, C. V. (1978) An exploratory method for fractionation of organic phosphorus from grassland soils. *Soil Science*, 125:95-101.
- Cade-Menun, B. J., Preston, C. M. (1996) A comparison of extraction procedures for ^{31}P NMR spectroscopy. *Soil Science*, 161:770-785.
- Canellas, L. P., Espíndola, J. A. A., Guerra, J. G. M., Teixeira, M. G., Rumjanek, V. M. (2002) Conteúdo e distribuição do fósforo orgânico no extrato alcalino de um argissolo com cobertura viva de leguminosas herbáceas perenes através de RMN ^{31}P . CD_ROM dos *Resumos da XXV Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas*. *Resumos da IX Reunião Brasileira Sobre Micorrizas*. *Resumos do VII Simpósio Brasileiro de Microbiologia do Solo*. *Resumos da IV Reunião Brasileira de Biologia do Solo*, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. Fertilidade do solo.
- Canellas, L. P., Velloso, A. C. X., Marciano, C. R., Ramalho, J. F. G. P., Rumjanek, V. M., Rezende, C. E., Santos, G. de A. (2003) Propriedades químicas de um Cambissolo cultivado com cana-de-açúcar, com preservação do palhico e adição de vinhaça por longo tempo. *R. Bras. Ci. Solo*, 27:935-944.

- Ceretta, C. A., Bayer, C., Dick, D. P., Martins-Neto, L., Colnago, L. A. (1999) Métodos espectroscópicos. In: SANTOS, G. de A.; CAMARGO, F. A. O. (Eds) *Fundamentos da matéria orgânica: ecossistemas tropicais e subtropicais*. Porto Alegre: Gênese, p. 293-336.
- Conte, E., Anghinoni, I., Rheinheimer, D. S. (2003) Frações de fósforo em Latossolo argiloso pela aplicação de fosfato no sistema plantio direto. *R. Bras. Ci. Solo*, 27:893-900.
- Condon, L. M., Moir, J. O., Tiessen, H., Stewart, J. W. B. (1990). Critical evaluation of methods for determining total organic phosphorus in tropical soils. *Soil Science*, 54:1261-1266.
- Cross, A. F., Schlesinger, W. H. A. (1995) Literature review and evaluation of the Hedley fractionation: applications to the biogeochemical cycle of soil phosphorus in natural ecosystems. *Geoderma*, 64:197-214.
- Delgado, A. A. (1985) Os efeitos da queima do canavial. *STAB Açúcar, Alcool e Subprodutos*, 3:42-45.
- Duckworth, M. (1977) Teichoic acids. In: Sutherland, I., (Ed) *Surface Carbohydrates of the Prokaryotic Cell*. London: Academic Press, p. 177-208.
- EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Agroecologia da cana-de-açúcar / Impactos físicos, <http://www.cana.cnpm.embrapa.br> acesso em 22/09/2003.
- Faquin, V. (2001) *Nutrição mineral de plantas*. Lavras: UFLA/FAEPE, 182p.
- Fernandes, L. A., Faquin, V., Furtini Neto, A. E., Curi, N. (2002) Formas de fósforo de várzea e disponibilidade para o feijoeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 37:373-383.
- Ferreira, W. A. *Efeito da vinhaça em solos de diferentes texturas*. (1980) Tese (Mestrado) – Itaguaí-RJ, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ, 67p.
- Furtini Neto, A. E., Vale, F. R. do, Resende, A. V. de, Guilherme, L. R. G., Guedes, G. A. (2001) *Fertilidade do solo*. Lavras: UFLA/FAEPE, 252p.
- Gama, M. A. P. (2002) *Dinâmica do fósforo em solo submetido a sistemas de preparo alternativo ao corte e queima no nordeste paranaense*. Tese (Doutorado) – Piracicaba-SP, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz-ESALQ, 96p.
- Gil-Sotres, F., Zech, W., Alt, H. G. (1990) Characterization of phosphorus fractions in surface horizons of soils from Galicia (N.W. Spain) by ^{31}P NMR spectroscopy. *Soil Biology & Biochemistry*, 22:75-79.

- Guerra, J. G. M., Almeida, D. L. de, Santos, G. de A., Fernandes, M. S. (1996) Conteúdo de fósforo orgânico em amostras de solos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 31:291-299.
- Guggenberger, G., Christensen, B. T., Rubaek, G., Zech, W. (1996) Land-use and fertilization effects on P forms in two European soils: resin extraction and ^{31}P -NMR. *European Journal of Soil Science*, 47:231-239.
- Hansen, J. W. (1996) Is agricultural sustainability a useful concept?. *Agricultural systems*, 50:117-143, 1996.
- Hedley, M. J., Stewart, J. W. B., Chauhan, B. S. (1982) Changes in inorganic and organic soil phosphorus fractions induced by cultivation, practices and by laboratory incubations. *Soil Science Society America Journal*, 46:970-976.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia Estatística. - Indicadores Conjunturais / Agropecuária / Produção Agrícola; <http://www.ibge.gov.br> em 21/09/2003.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia Estatística (2003) Produção Agrícola Municipal; *Rio de Janeiro*, 29:1-8.
- Machado, M. I. C. S., Brauner, J. L., Vianna, A. C. T. (1993) Formas de fósforo na camada arável de solos do Rio Grande do Sul. *R. Bras. Ci. Solo*, 17:331-336.
- Manhães, M. S. (1996) *Fósforo em dois solos cultivados com cana-de-açúcar colhida em sistema de cana crua e cana queimada*. Tese (Doutorado) - Itaguaí-RJ, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ, 219p.
- Makarov, M. I. (1998) Organic Phosphorus Compounds in Alpine Soils is the Northwestern Caucasus. *Eurasian Soils Science*, 31:778-786.
- Makarov, M. I., Guggenberger, G., Alt, H. G., Zech, W. (1995) Phosphorus status of Eutric Cambisols polluted by P-containing immissions: results of ^{31}P -NMR spectroscopy and chemical analysis. *Z. Pflanzenernahr*, 158:293-298.
- Makarov, M. I., Haumaier, L., Zech, W. (2002) Nature of soil organic phosphorus: an assessment of peak assignments in the diester region of ^{31}P spectra. *Soil Biology & Biochemistry*, 34:1467-1477.
- Makarov, M. I., Haumaier, L., Zech, W., Malysheva, T. I. (2004) Organic phosphorus compounds in particle-size fractions of mountain soils in the northwestern Caucasus. *Geoderma*, 118:101-114.
- Makarov, M. I., Malysheva, T. I., Haumaier, L., Alt, H. G., Zech, W. (1997) The forms of phosphorus in humic and fulvic acids of alpine soils in the northern Caucasus. *Geoderma*, 80:61-73.

- Medina, C. C., Brinholi, O. (1998) Uso de resíduos agroindustriais de cana-de-açúcar, açúcar e álcool. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 33:1821-1825.
- Mehta, N. C., Legg, J. O., Goring, C. A. I., Black, C. A. (1954) Determination of organic phosphorus in soils. Extraction method. *Soil Science Society American Proceedings*, 18:443-449.
- Motta, P. E. F. (1999) *Fósforo em Latossolos com diferentes mineralogias, cultivados e não cultivados: fracionamento, sorção e disponibilidade para soja e braquiária com e sem micorriza*. Tese (Doutorado) - Lavras-MG, Universidade Federal de Lavras - UFLA, 130p.
- Novais, R. F., Smyth, T. J. (1999) *Fósforo em solo e planta em condições tropicais*. Viçosa: UFV/DPS, 399p.
- Newman, R. H., Tate, K. R. (1980) Soil phosphorus characterization by ^{31}P nuclear magnetic resonance. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.*, 11:835-842.
- Oliveira, M. W. de., Trivelin, P. C. O., Gava, G. J. de C., Penatti, C. P. (1999) Degradação da palhada cana de açúcar. *Scientia Agricola*, 56:803-809.
- Orlando Filho, J., Rosseto, R., Muraoka, T., Zotelli, H. B. (1998) Efeitos do sistema de despalha (cana crua x cana queimada) sobre algumas propriedades do solo. *STAB Álcool, Açúcar e Subprodutos*, 16:30-33.
- Osaki, F. (1991) *Calagem & adubação*. Campinas: Instituto Brasileiro de Ensino Agrícola, 503p.
- Pavan, M. A., Chaves, J. C. D. (1996) Alterações nas frações de fósforo no solo associadas com a densidade populacional de cafeeiros. *R. Bras. Ci. Solo*, 20:251-256.
- Preston, C. M. (1996) Applications of NMR to soil organic matter analysis: History and prospects. *Soil Science*, 161:144-165.
- Ravelli Neto, A. (1989) *Caracterização e classificação de uma seqüência de solos da Baixada dos Goytacazes, RJ*. Tese (Mestrado) – Itaguaí-RJ, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ, 189p.
- Reinheimer, D. S.; Anghinoni, I. (2001) Distribuição do fósforo inorgânico em sistemas de manejo de solo. *Pesq. Agropec. Bras.*, 36: 151-160.
- Reinheimer, D. S., Anghinoni, I., Conte, E. (2003) Sorção de fósforo em função do teor inicial e de sistemas de manejo de solos. *R. Bras. Ci. Solo*, 27:41-49.
- Rezende, J. O. (1979) *Conseqüências ad aplicação de vinhaça sobre algumas propriedades físicas de um Aluvial – Estudo de caso*. Tese (Doutorado) – Piracicaba-SP, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” - ESALQ, 112p.

- Ripoli, T. C., Villanova, W. A. (1992) Colheita mecanizada da cana-de-açúcar: novos desafios. *STAB Açúcar, Álcool e Subprodutos*, 10:28-31.
- Rubaek, G.H., Guggenberger, G., Zech, W., Christensen, B. T. (1999) Organic phosphorus in soil size separates characterized by phosphorus 31 nuclear magnetic resonance and resin extraction. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 63:1123-1132.
- Saunders, W. M. H., Willians, E. G. (1955). Observation on the determination of total organic phosphorus in soils. *Journal of Soil Science*, 6:254-267.
- Silva, L. L. (1996) Álcool e a nova ordem econômica mundial. *Frente Parlamentar Sucroalcooleira*, 4:60-63.
- Silverstein, R. M., Bassler, G., Morril, T. C. (1994) *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos*. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan,. 387p.
- Siqueira, J. O.; Moreira, F. M. S. (2001) *Biologia e bioquímica do solo*. Lavras: UFLA/FAEPE, 291p.
- Smeck, N. E. (1985) Phosphorus dynamics in soil and land-scapes. *Geoderma*, 36:185-199.
- Sobrinho, N. M. B. A., Luisi, M. V. V., Rossiello, R. O. P., Velloso, A. C. X., Leal, J. R. (1987) Transformações do nitrogênio mineral em solo podzólico vermelho-amarelo tratado com vinhaça *Pesq. Agropec. Bras.*, 22:249-256.
- Solomon, D., Lehmann, J., Mamo, T., Fritzsche, F., Zech, W. (2002) Phosphorus compounds and dynamics as influenced by land use changes in the sub-humid Ethiopian highlands. *Geoderma*, 105:21-48.
- Skoog, D. A., Holler, F. J., Nielman, T. A. (2002) *Princípios de análise instrumental*. Porto Alegre: Bookman, 807p.
- Sparovek, G., Alleoni, L. R. F., Pereira, J. C., Rossetto, R. (1997) Aptidão das terras de Piracicaba para o corte mecanizado de cana-de-açúcar. *STAB açúcar, Álcool e Subprodutos*, 15:14-17.
- Stevenson, F. J. (1994) *Humus chemistry: genesis, composition, reactions*. New York: John Wiley & Sons, 496p.
- Summan, M., Amelung, W., Haumaier, L., Zech, W. (1998) Climatic effects on organic phosphorus in the North American Great Plains identified by phosphorus-31 nuclear magnetic resonance. *Soil Sci. Am. J.*, 62:1580-1586.

- Taranto, M. T., Adams, M. A., Polglase, P. J. (2000) Sequential fractionation and characterisation (^{31}P -NMR) of phosphorus-amended soils in *Banksia integrifolia* (L.f) woodland and adjacent pasture. *Soil Biology & Biochemistry*, 32:169-177.
- Tate, K. R., Newman, R. H. (1982) Phosphorus fractions of a climosequence of soils in New Zealand Tussock Grassland. *Soil Biology & Biochemistry*, 14:191-196.
- Tate, K. R. (1984) The biological transformation of P in soil. *Plant Soil*, 76:245-256.
- Tavares, R. Comissão Nacional de Relações do Trabalho e Previdência Social – Diário do trabalho. <http://www.cna.org/relaçõesdaotrabalho/diariotrabalho> acesso em 16/03/2004.
- Tiessen, H., Moir, J. O. (1993) Characterization of available P by sequential extraction. In: Carter, M. R. (Ed.). *Soil Sampling and Methods of Analysis*. Boca Raton: Lewis, p.75–86.
- Timm, L. C. (2002) *Efeito do manejo da palha da cana-de-açúcar nas propriedades físico-hídricas de um solo*. Tese (Doutorado) - Piracicaba-SP, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” - ESALQ, 115p.
- Tisdale, S. L., Nelson, W. L. (1975) *Soil fertility and fertilizers*. 3.ed. New York: Macmillan Publishing, 694p.
- Tokura, A. M., Furtini Neto, A. E., Curi, N., Alovise, A. A. (2002) Formas de fósforo em solo sob plantio direto em razão da profundidade e tempo de cultivo. *Pesq. Agrop. Bras.*, 37:1467-1476.
- Trivelin, P. C. O., Bendassolli, J. A., Oliveira, M. W. (1997) Potencialidade da mistura de aquamônia com vinhaça na fertilização de canaviais colhidos sem despalha a fogo: I. Estabilidade química da mistura. *STAB - Açúcar, Alcool e Subprodutos*, 16:26-29.
- Turner, B. L., Mahieu, N., Condon, L. M. (2003) The phosphorus composition of temperate pasture soils determined by NaOH-EDTA extraction and solution ^{31}P NMR spectroscopy. *Organic geochemistry*, 34:1199-1210.
- Turrión, M. B., Gallardo, J. F., Haumaier, L., Gonzáles, M. I., Zech, W. (2001) ^{31}P NMR characterization of phosphorus fractions in natural and fertilized forest soils. *Ann. For. Sci*, 58:89-98.
- Urquiaga, S., Boddey, R. M., Oliveira, O. C., Lima, E., Guimarães, D. H. V. (1991) *A importância de não queimar a palha da cana-de-açúcar*. Comunicado técnico, 5:1-6.
- Velloso, A. C. X., Santos G. de A., Ramos, D. P. (1982) Capacidade de troca de cátions e adsorção de fosfato de solos sob vegetação do cerrado do Amapá. *Pesq. Agrop. Bras.*, 17:27-32.

Zech, W., Alt, H.G., Zucker, A., Kögel, I. (1985) ^{31}P NMR spectroscopic investigations of NaOH extracts from soils with different land use in Yucatan (Mexico). *Z. Pflanz.* 150:119-123.

Walker, T. W., Adams, A. F. R. (1959) Studies on soil organic matter: 3. Influence of increased leaching at various stages of weathering on levels of carbon, nitrogen, sulfur, organic and inorganic phosphorus. *Soil Science*, 87:1-10.