

EMANUELLE MERCÊS BARROS SOARES

FRAÇÕES DA MATÉRIA ORGÂNICA E COMPOSIÇÃO  
MOLECULAR DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS DE SOLOS SOB  
CULTIVO DE EUCALIPTO EM BIOMAS DISTINTOS

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL

2009

EMANUELLE MERCÊS BARROS SOARES

FRAÇÕES DA MATÉRIA ORGÂNICA E COMPOSIÇÃO  
MOLECULAR DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS DE SOLOS SOB  
CULTIVO DE EUCALIPTO EM BIOMAS DISTINTOS

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 23 de junho de 2009.

---

Prof. Eduardo de Sá Mendonça  
(Coorientador)

---

Prof. Julio Cesar Lima Neves

---

Prof. Jeferson Dieckow

---

Prof. Sergio Antonio Fernandes

---

Prof. Ivo Ribeiro da Silva  
(Orientador)

Aos meus pais, José & Maria, irmãos,  
Emichelle, Poliana, Eveline, Ivens Gabriel e  
José Avelino, a minha pequenina Georgia,  
pelo amor gratuito, fontes de minha  
inspiração...

Dedico.

"Ainda que tivesse o dom da profecia, e conhecesse todos os mistérios e toda a ciência, e ainda que tivesse toda a fé, de maneira tal que transportasse os montes, e não tivesse Amor, nada seria. O Amor tudo tolera, tudo crê, tudo espera, tudo suporta..."

Que os seres humanos nunca deixem faltar  
amor em suas vidas...

À Deus, agradeço por mais esse instante...

## AGRADECIMENTOS

Ao Departamento de Solos e Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas da Universidade Federal de Viçosa pela oportunidade de realização do curso. À Aracruz, parceira na realização desse trabalho, pela disponibilização da área experimental e assistência na coleta das amostras. Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) pela concessão das bolsas de doutorado e doutorado sanduíche.

Ao Professor Ivo Ribeiro da Silva pela orientação, incentivo, amizade e confiança a mim depositada.

Aos membros da banca de examinadora, Prof. Eduardo de Sá Mendonça, Júlio Cesar Lima Neves, Jeferson Dieckow, Sergio Antônio Fernandes, pelas colaborações, críticas e valiosas sugestões apresentadas.

Aos professores Vitor Hugo e Nairam Félix de Barros, pela oportunidade de conviver com exemplos de profissionalismo e ética. Aos demais professores do DPS/UFV pelos conhecimentos adquiridos durante as disciplinas.

Ao professor Dr. Klaus pela orientação e disponibilização do equipamento de RMN durante a realização das análises, em meu doutorado sanduíche na Iowa State University e à Yanyan Hu pelo valioso auxílio na condução dos experimentos.

Aos funcionários do DPS/UFV em especial ao Braz, Alisson, João Milagres, Cardoso, Beto, José Luiz, Geraldo, Cláudio, Carlos, Luciana e Sônia pela solicitude constante.

Aos estagiários Rafael, Rafaela, Ricardo Fialho, Joyce Barbosa e Aline Vasconcelos, pela dedicação, competência, e amizade.

À Daniela, Regina, Nilza, Eulene, Karina, Luiz, Carlos, Diana, Patrícia, Leonardus, Carolina, Fabrício, Fernanda, Carlão, Dalton, Guilherme, Michelle, Augusto, Rodney, Dalton, Ivan, Daniel e a Sueli por terem tornado as horas de estudo e trabalho mais agradáveis.

Aos amigos de sempre, espalhados por esse Brasil e no Mundo, que mesmo indiretamente contribuíram para essa conquista.

À mainha, painho, irmãos, Georgia e ao Evan pela torcida constante, a vida é uma grata surpresa.

Meu muito Obrigada!!!

## BIOGRAFIA

EMANUELLE MERCÊS BARROS SOARES, filha de José Xavier Soares e Maria José Barros Soares, nasceu no dia 22 de abril de 1979, na cidade de Maceió, Estado de Alagoas. Em março de 1997 iniciou o curso de Engenharia Agrônoma, na Universidade do Estado da Bahia - (UNEB), Faculdade de Agronomia do Médio São Francisco (FAMESF), Juazeiro-BA, onde foi monitora das disciplinas Gênese Morfologia e Física do Solo, e Manejo e Conservação do Solo e Água. Durante a graduação exerceu ainda atividades docentes nas disciplinas de química, física, biologia em unidades de ensino médio. Por ocasião do último período do curso de agronomia realizou estágio curricular na EMBRAPA SEMI-ÁRIDO (Petrolina-PE) na área de manejo de solos (manejo de resíduos orgânicos) no período de setembro de 2001 a fevereiro de 2002. Graduou-se em fevereiro de 2002, com o título de Engenheiro Agrônomo.

Após a graduação retornou a EMBRAPA SEMI-ÁRIDO (Petrolina-PE) realizando estágio na área de manejo de solos, com ênfase em manejo de resíduos orgânicos, no período de abril de 2002 a setembro de 2002.

No mês de março do ano de 2003 iniciou o curso de Mestrado em Agronomia, na Área de concentração em Solos e Nutrição de Plantas, na Universidade Federal de Lavras (UFLA), defendendo tese em fevereiro de 2005.

Em março de 2005, iniciou o curso de Doutorado no Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas, na Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa Minas Gerais, com realização de doutorado sanduíche na Iowa State University (ISU-USA), submetendo-se à defesa de tese em junho de 2009.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	ix
ABSTRACT .....	xi
1. INTRODUÇÃO GERAL .....	1
2. LITERATURA CITADA.....	7
CAPITULO I.....	11
FRAÇÕES DA MATÉRIA ORGÂNICA EM SOLOS COM TEXTURAS DISTINTAS SOB CULTIVO DE EUCALIPTO NO RIO GRANDE DO SUL..	11
RESUMO .....	11
ORGANIC MATTER FRACTIONS IN SOILS OF DISTINCT TEXTURE UNDER EUCALYPT IN RIO GRANDE DO SUL STATE.....	12
ABSTRACT .....	12
1. INTRODUÇÃO .....	13
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	15
Local de estudo e amostragem de solo .....	15
Frações da matéria orgânica do solo .....	17
3. RESULTADOS.....	18
Efeito do uso do solo em cada região.....	18
Efeito do solo em cada uso.....	25
4. DISCUSSÃO .....	26
5. CONCLUSÕES .....	32
6. LITERATURA CITADA.....	33
CAPITULO II .....	37
FRAÇÕES DA MATÉRIA ORGÂNICA SOB INFLUÊNCIA DA DURAÇÃO DA ROTAÇÃO, E DO TEMPO APÓS A REFORMA DE POVOAMENTOS DE EUCALIPTO .....	37
RESUMO .....	37

SOIL ORGANIC MATTER FRACTIONS UNDER INFLUENCE OF ROTATION LENGTH, AND TIME AFTER REFORM OF EUCALYPT PLANTATION .....	39
ABSTRACT .....	39
1. INTRODUÇÃO .....	41
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	43
Local de estudo e amostragem do solo .....	43
Frações da matéria orgânica do solo .....	45
3. RESULTADOS .....	46
Efeito da duração da rotação (idade) do eucalipto .....	46
Efeito do tempo pós-reforma .....	53
4. DISCUSSÃO .....	60
Efeito da duração da rotação (idade) do eucalipto .....	60
Efeito do tempo pós-reforma .....	63
5. CONCLUSÕES .....	65
6. LITERATURA CITADA .....	66
CHAPTER III .....	70
ALTERATIONS IN MOLECULAR COMPOSITION OF HUMIC AND FULVIC ACIDS BY EUCALYPT CULTIVATION IN SOILS FROM DISTINCT BIOMES IN BRAZIL ASSESSED BY DP/MAS AND CP/TOSS <sup>13</sup> C NMR SPECTROSCOPY .....	70
ABSTRACT .....	70
ALTERAÇÕES NA COMPOSIÇÃO MOLECULAR DE ÁCIDOS HÚMICOS E FÚLVICOS PELO CULTIVO DE EUCALIPTO EM SOLOS DE DISTINTOS BIOMAS NO BRAZIL AVALIADAS POR RMN DE <sup>13</sup> C DP/MAS E CP/TOSS .....	72
RESUMO .....	72
1. INTRODUCTION .....	74
2. MATERIAL AND METHODS .....	77
2.1. Site description and soil sampling .....	77
2.2. Soil organic matter chemical fractionation and elemental analysis .....	80
2.3 Solid-State Nuclear Magnetic Resonance .....	80

3. RESULTS .....	83
Overall results and NMR analysis .....	83
Effect of land use change in the Atlantic Forest biome.....	90
Effect of land use change in the Cerrado biome.....	95
Effect of land use change in the Grassland biome .....	98
4. DISCUSSION .....	100
5. CONCLUSIONS.....	106
6. REFERENCES.....	107
CONCLUSÕES GERAIS .....	111
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	113
ANEXOS .....	114
ANEXOS 1 .....	115
Anexo 1A. Teores de C (COT) e nitrogênio total (NT) e C e N associados as frações ácido fúlvico (AF), ácido húmico (AH), humina (HU), matéria orgânica leve (MOL) e biomassa microbiana (BM) em solos de diferentes texturas (arenoso e argiloso) sob uso de eucalipto e mata nativa na região leste do Rio Grande do Sul .....	115
Anexo 1B. Análise de variância para estimativa dos estoques acumulados de carbono (COT) e nitrogênio total (NT) e C e N associadas as frações ácido fúlvico (AF), ácido húmico (AH), humina (HU), matéria orgânica leve (MOL) e biomassa microbiana (BM) nas camadas de solo de 0-10, 0-20, 0-40, 0-60 e 0-100 cm, em solos de diferentes texturas (arenoso e argiloso) sob uso de eucalipto e mata nativa na região leste do Rio Grande do Sul. ....	117
ANEXOS 2 .....	119
Anexo 2A. Teores de C (COT) e nitrogênio total (NT) e C e N associados as frações ácido fúlvico (AF), ácido húmico (AH), humina (HU), matéria orgânica leve (MOL) e biomassa microbiana (BM) em solos de diferentes texturas (arenoso e argiloso) sob uso de eucalipto e mata nativa na região leste do Rio Grande do Sul .....	120
Anexo 2B. Teores de C (COT) e nitrogênio total (NT) e C e N associados as frações ácido fúlvico (AF), ácido húmico (AH), humina (HU), matéria orgânica leve (MOL) e biomassa microbiana (BM) em solos de diferentes texturas (arenoso e argiloso) sob uso de eucalipto e mata nativa na região leste do Rio Grande do Sul .....	121



Anexo 2C. Análise de variância para estimativa dos estoques acumulados de carbono (COT) e nitrogênio total (NT) e C e N associadas as frações ácido fúlvico (AF), ácido húmico (AH), humina (HU), matéria orgânica leve (MOL) e biomassa microbiana (BM) nas camadas de solo de 0-10, 0-20, 0-40, 0-60 e 0-100 cm, em argissolo sob uso de eucalipto com diferentes idades e sob campo nativo na região leste do Rio Grande do Sul..... 122

Anexo 2D. Análise de variância para estimativa dos estoques acumulados de carbono (COT) e nitrogênio total (NT) e C e N associadas as frações ácido fúlvico (AF), ácido húmico (AH), humina (HU), matéria orgânica leve (MOL) e biomassa microbiana (BM) nas camadas de solo de 0-10, 0-20, 0-40, 0-60 e 0-100 cm, em argissolo sob uso de eucalipto com diferentes idades após a realização da reforma e sob campo nativo na região leste do Rio Grande do Sul. .... 123

## RESUMO

SOARES, Emanuelle Mercês Barros, D. Sc., Universidade Federal de Viçosa, junho de 2009. **Frações da matéria orgânica e composição molecular de substâncias húmicas de solos sob cultivo de eucalipto em biomas distintos.** Orientador: Ivo Ribeiro da Silva. Co-Orientadores: Roberto Ferreira de Novais, Eduardo de Sá Mendonça e Nairam Felix de Barros.

O eucalipto é uma essência florestal de rápido crescimento que durante o ciclo e após a colheita aporta ao solo grande massa de resíduos, os quais podem contribuir para a formação da matéria orgânica do solo (MOS). A presente tese teve como objetivos gerais: i) avaliar o impacto do cultivo do eucalipto nas frações da MOS em solos de texturas distintas no Rio Grande do Sul; ii) avaliar as alterações nos estoques de C e N em frações da MOS sob influência da duração da rotação, e do tempo após a reforma de povoamentos de eucalipto; iii) realizar caracterização mais aprofundada da composição molecular de ácidos fúlvicos (AF) e húmicos (AH) de solos sob cultivo do eucalipto em biomas distintos no Brasil, por meio de técnicas de espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) do  $^{13}\text{C}$ . No primeiro estudo verificou-se que o solo argiloso sob cultivo do eucalipto (segunda rotação) apresentou estoques menores de C-AH, C associado à humina (C-HU) e à biomassa microbiana (C-BM), mas não se observaram diferenças nos estoques C orgânico total (COT), C associado à matéria orgânica leve (C-MOL) e C-AF em relação àquele sob mata nativa. No solo arenoso com povoamentos de eucalipto em segunda rotação houve maiores estoques de COT, C-MOL, C-AH e C-AF do que os observados no solo da mata nativa. O solo argiloso sob eucalipto estocou mais COT e substâncias húmicas (SH) que o solo arenoso. Ao contrário, os estoques de C-MOL e C-BM em áreas cultivadas sob eucalipto foram maiores no solo arenoso. O solo argiloso apresentou maior capacidade de armazenar MOS e SH, em razão dos maiores teores de argila. No segundo estudo constatou-se decréscimo nos estoques de COT, C-HU e C-MOL após 10 anos de cultivo com eucalipto em solo originalmente sob campo nativo. Contudo, observou-se recuperação dos estoques de C-BM e C-AF. No eucalipto com 13 anos observavam-se aumentos nos estoques de COT, C-AF, C-AH, C-MOL (0-100 cm) e C-BM (0-60 cm). Na fração humina aumento no estoque de C só foi observado após 22 anos de cultivo de eucalipto. Quando se procedeu à

reforma de povoamentos com 13 anos de idade ocorreram aumentos no estoque do COT, C-AF, C-AH, C-HU e N-HU após um ano da reforma (0-100 cm), mas nesse período houve reduções no C-MOL e C-BM. Quatro anos após a reforma ainda eram observados menores estoques de C-MOL e frações mais estáveis da MOS em relação ao solo do campo nativo. Assim, o cultivo de eucalipto com rotações curtas e reformas mais frequentes parece não fornecer o tempo suficiente para a recuperação da MOS em razão da decomposição continuada da MOS e da baixa contribuição da serapilheira nos anos iniciais após a reforma. No terceiro estudo o uso de RMN de  $^{13}\text{C}$  com as técnicas de polarização direta, e alta rotação da amostra em torno do ângulo mágico (DP/MAS, do inglês “Direct Polarization/Magic Angle Spinning”), polarização cruzada com supressão total das bandas laterais (CP/TOSS, do inglês “Cross Polarization/Total Suppression of Sidebands”), e filtro de anisotropia do deslocamento químico (CSA, do inglês “Chemical Shift Anisotropy”) permitiram a estimativa acurada do grau de aromaticidade das SH. A aromaticidade baseada em experimentos de DP/MAS foi maior que aquela baseada em experimentos de CP/TOSS. Os principais grupos identificáveis foram aromáticos, grupos COO, peptídeos, ligninas, carboidratos e alifáticos não polares. A substituição da vegetação nativa por eucalipto aumentou a contribuição relativa de grupos alifáticos não polares em AH de solos previamente sob Mata Atlântica, no Espírito Santo, Campo Nativo, no Rio Grande do Sul e Cerrado, em Minas Gerais (Curvelo). Tendência similar foi observada para o AF. Existem evidências de contribuição substancial de ligninas para AH e AF de solos sob pastagens plantadas de *Brachiaria sp.* Em todos os biomas a técnica de defasagem dipolar confirmou a presença de C em compostos aromáticos condensados, possivelmente como contribuição de material herdado de queima natural e antrópica. A relação alquil/O alquil (A/O-A) decresceu do AH para o AF, revelando grau mais avançado de humificação do primeiro.

## ABSTRACT

SOARES, Emanuelle Mercês Barros, D. Sc., Universidade Federal de Viçosa, June, 2009. **Organic matter fractions and humic substance molecular composition from soils under eucalypt cultivation in distinct biomes.** Advisor: Ivo Ribeiro da Silva. Co-Advisors: Roberto Ferreira de Novais, Eduardo de Sá Mendonça and Nairam Felix de Barros.

The eucalypt is a fast growing forest species. During its growth cycle and after its harvest contributes to the soil a large amount of biomass, which can contribute to formation of soil organic matter (SOM). The present thesis has as general goals: i) to evaluate the impact of eucalypt cultivation on C and N in fractions of SOM in soils of different texture in Rio Grande do Sul State; ii) to evaluate the alterations in the stocks of C and N in SOM fractions under influence of the rotation duration, and time after harvest and new planting of eucalypt plantations and; iii) to carry out characterization of molecular composition of fulvic acids (FA) and humic acids (HA) from soils under eucalypt cultivation in different biome in Brazil through  $^{13}\text{C}$  Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectroscopy. In the first study it was verified that the clayey soil under eucalypt cultivation (second rotation) presented smaller stocks of C-HA, C associated to humin (C-HU) and the microbial biomass (C-MB), and similar total organic C stock (TOC), C associated to the light organic matter (C-LOM) and C-FA in comparison to the soil under native forest. In the sandy soil with eucalypts plantations in the second rotation there were larger stocks of TOC, C-LOM, C-HA and C-FA than in the forest soil. The clayey soil under eucalypt plantation stored more TOC and humic substances (HS) than the sandy soil. On the other hand, the stocks of C-LOM and C-MB were larger in sandy soil under eucalypt. The clayey soil presented larger capacity to store SOM and HS, because of greater clay content. In the second study a decrease was verified in the TOC, C-HU and C-LOM stocks after 10 years of eucalypt cultivation in a soil previously under native grassland. However, recovery of the stocks of C-MB and C-FA was observed in this period. In the 13 year old eucalypt increases were observed in TOC, C-FA, C-HA, C-LOM (0-100 cm) and C-MB (0-60 cm) stocks. However C stocks in the HU increased only after 22 years of eucalypt cultivation. When the 13 year old plantations were harvested and a new planting was performed, increases in TOC, C-FA, C-HA, C-HU and N-HU along with reductions in LOM and MB were verified after year (0-

100 cm). After four years of the new planting, decreases were observed in C-LOM stocks and SOM mummified fractions. Eucalypt plantation management with short rotations and more frequent reforms seems not to provide enough time for the recovery of SOM. In the third study  $^{13}\text{C}$  NMR associated with advanced procedures of DP/MAS (Direct Polarization/Magic Angle Spinning), CP/TOSS (Cross Polarization/Total Suppression of Sidebands), and CSA (Chemical Shift Anisotropy) allowed obtaining more quantitative estimates of the degree of HS aromaticity. According to the results DP-based aromaticity was greater than the CP-based aromaticity. The major NMR-identifiable components in these HS were primarily: aromatics, COO groups, peptides, lignins, carbohydrate and nonpolar aliphatics. The replacement of native vegetation by eucalypt plantations increases the relative contribution of nonpolar aliphatic groups in HA from soils previously under Atlantic Forest (Sooretama and Montanha sites), grassland and the Cerrado (Curvelo site only) biomes. The same trend was observed for FA. There is evidence of substantial contribution of lignin-derived C for HA and FA, especially in sites planted with *Brachiaria sp* pastures. In all biomes the dipolar dephasing technique confirmed the presence of condensed C in the aromatic regions, possibly inherited from charred materials derived from natural and anthropic fires in the region. The ratio of alkyl to O alkyl (A/O-A ratio) decreased from HA to FA, revealing a more advanced humification degree of HA.

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

A matéria orgânica do solo (MOS) é uma importante fonte ou dreno de carbono (C) atmosférico. Sob a perspectiva do ciclo de C global, sua atuação como fonte ou dreno dependerá do balanço entre a quantidade de material orgânico aportado ao solo, da conversão deste a MOS, e estabilização da MOS, e do que é perdido. Logo, para haver balanço positivo, sequestrar C, têm se que, a principio promover adições efetivas de material orgânico e estabilização do C no solo.

Espécies de rápido crescimento oferecem a oportunidade de sequestrar C (Pegoraro, 2007; Lima et al., 2006) em regiões tropicais, as quais contribuem com a maior parte da área de florestas plantadas no mundo. Somente no Brasil existe mais de cinco milhões de florestas plantadas. Espécies exóticas como o eucalipto com ciclos curtos e alta produtividade, têm sido escolhidas para novas plantações, contribuindo com mais de 73,2 % de área plantada (ABRAF, 2007). O material orgânico retornado ao solo por uma dada espécie pode ser tanto advindo da parte aérea, como das raízes. Algumas espécies podem ser mais efetivas no aporte de C ao solo, pela grande quantidade de biomassa produzida e pela continuidade de produção desses resíduos, o que poderia resultar maior estoque de C no solo. Esses são aspectos abordados no capítulo I e II dessa tese, onde são comparamos povoamentos de eucalipto com a respectiva vegetação de referência. Dados compilados por Skorupa (2001) são de que a quantidade média de serapilheira em plantações de eucalipto em idade comercial no Brasil está em torno de 11 Mg ha<sup>-1</sup> por ocasião do corte, e resíduos da colheita podem aportar 30 Mg ha<sup>-1</sup> adicionais na forma de raízes, folhas, galhos e cascas.

A presente tese é composta por três capítulos. No capítulo I são comparados os estoques de C de solos com texturas distintas cultivados com eucalipto ou sob mata nativa em duas regiões do leste do Rio Grande do Sul. Em cada região, o solo tem o papel de sustentar uma vegetação particular. Assim, as taxas de sequestro de C dependem do aporte de material da vegetação atual, como do uso/vegetação anterior (o que define o patamar de C inicial). A recalcitrância das moléculas orgânicas é reconhecida como um dos mecanismos no solo que contribui para a estabilização da MOS. Além disso, existem os mecanismos inerentes ao solo, tais como a oclusão dentro dos agregados e a proteção dos

complexos organo-argilo-metálicos dentro da matriz mineral (Christensen, 1996). Solos tropicais possuem na fração argila uma abundância em sesquióxidos, os quais possuem importante papel na estabilização da MOS. Por apresentarem alto PCZ, podem apresentarem cargas positivas, de modo que a adsorção se dá diretamente via troca aniônica, principalmente com os grupos carboxílicos (Zech et al., 1997). Desse modo, foi hipotetizado que solos que no solo argiloso os estoques de C seriam mais elevados, mas, entretanto, as alterações causadas pelo cultivo do eucalipto seriam mais discretas, uma vez que são sistemas mais tamponados. Adicionalmente, em solos cultivados com eucalipto pode haver alteração dos estoques totais de C, bem como de C associado às diferentes frações da MOS, havendo sequestro, ou não de C na MOS, dependendo da textura do solo e idade do povoamento (anos após a reforma). Quando as rotações são conduzidas sob sistema de reforma, além do impacto da operação de colheita e baldeio da madeira, ocorre distúrbio adicional do sítio pelo preparo da área para o novo plantio. Em florestas temperadas têm sido frequentemente observado que os fluxos de CO<sub>2</sub> aumentam e a MOS decresce logo após a colheita (Jurgensen et al., 1997; Pennock & van Kessel, 1997; Yanai et al., 2003; Chatterjee et al., 2008), mas os efeitos negativos parecem ser minimizados quando se faz apenas a remoção do lenho do sítio (Johnson & Curtis, 2001). Essa região do leste do Rio Grande do Sul foi escolhida para desenvolver estudo por que foi uma das primeiras regiões no Brasil em que o manejo pós-colheita incluía deixar na área todos os resíduos, inclusive a casca.

O impacto da reforma de povoamento de eucalipto ao longo do tempo foi avaliado no capítulo II, onde foi selecionada uma cronosequência de povoamentos de eucalipto em diferentes idades após a reforma, e outra com povoamentos de eucalipto de diferentes idades e que nunca foram cortados. Em razão das espécies de eucalipto cultivadas possuírem crescimento favorecido na maior parte do Brasil, as rotações têm sido cada vez curtas. Não mais do que duas décadas atrás era comum se ter rotações que duravam aproximadamente 10 anos, mas, atualmente, a maioria das florestas comerciais possui rotação que duram de cinco a sete anos. Os distúrbios durante a reforma incluem compactação e desagregação do solo, incorporação de resíduos e horizontes orgânicos na massa de solo mineral, maior exposição do solo ao sol e a chuva, com alteração no regime de umidade e temperatura, além da menor taxa de infiltração de água e maior predisposição a

erosão (Jurgensen et al., 1997; Yanai et al. 2003; Silva et al., 2004; Lal, 2005; Epron et al., 2006; Schnurr-Pütz, 2006; Dias Junior et al., 2007). A combinação dessas várias alterações geralmente altera a estrutura e atividade biológica do solo (Hasset & Zak, 2005; Chatterjee et al., 2008; Tan et al., 2008), com potenciais efeitos na dinâmica e no sequestro de C na MOS. Contudo, o impacto da colheita e reforma de povoamentos de eucalipto, especialmente em regiões tropicais, ainda é pouco conhecido. Num sítio onde se fez o corte raso de povoamentos de eucalipto no Congo observou-se que os fluxos de CO<sub>2</sub> no primeiro ano após a colheita eram menores que naquele não cortado. As alterações na MOS nas parcelas não foram avaliadas, pois se acreditou que as mudanças seriam muito pequenas comparadas aos estoques. Contudo, é possível que ela tenha sido reduzida, pois a respiração heterotrófica no primeiro ano aumentou 115 % no sítio com corte raso, o que pode ter sido compensado pela manutenção dos resíduos no talhão (Epron et al., 2006).

As perdas de MOS após os distúrbios podem levar anos e até mesmo décadas para estabilizar e voltar aos níveis originais. Assim, é possível que em povoamentos de eucalipto nunca cortados, em razão do sequestro contínuo de MOS ao longo do tempo, os estoques de C poderiam chegar ao mesmo patamar que no solo de vegetação nativa, ou até mesmo ultrapassá-lo. No entanto, a adoção de rotações mais curtas no Brasil pode se tornar insustentável ao longo do tempo, visto que as perdas de C podem se acumular ao longo do tempo, e as rotações subsequentes iniciariam com estoques de MOS cada vez mais baixos que a rotação anterior. As perdas de MOS induzidas por ocasião da reforma das áreas poderiam, contudo, ser compensadas pelo grande aporte de resíduos da colheita e manutenção dos resíduos do cultivo anterior.

O tipo de C que está sendo estabilizado em frações mais humificadas da MOS, via contribuição direta ou por mudanças induzidas na população microbiana, pode ser um pouco melhor entendida no capítulo III, no qual foi avaliado o impacto dos povoamentos do eucalipto na composição molecular de ácidos húmicos (AH) e ácidos fúlvicos (AF), além de aspectos da utilização da técnica de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) na quantificação dos grupos que compõem as substâncias húmicas (SH).

O uso do solo que é frequentemente referido por alterar os estoques de MOS e seus principais constituintes, as SH. Contudo, o uso do solo pode também



influenciar a composição dos constituintes da MOS e, assim, sua qualidade. Em razão da complexidade e heterogeneidade das SH, mudanças na sua composição molecular não são facilmente detectadas, necessitando assim de técnicas analíticas mais sofisticadas. Nesse contexto a RMN de  $^{13}\text{C}$  tem possibilitado a obtenção resultados que estão mudando a forma de olhar dentro da “caixa preta” que era a MOS décadas atrás. Muitos estudos baseados na RMN no passado foram realizados em solos de regiões temperadas (Hatcher et al., 1981; Preston et al., 1994; Guggenberge et al., 1995; Simpson et al., 2002; Rumpel et al., 2004; Mao et al., 2008), mas em anos mais recentes verifica-se a crescente aplicação dessa técnica em solos de regiões tropicais e subtropicais, na busca de melhor entender efeitos da vegetação de cobertura, uso da terra, manejo, fertilização, textura do solo, na composição da MOS, dentre outros aspectos (Bayer et al., 2000; González-Perez et al., 2003; Alcântara et al., 2004; Dick et al., 2005; Dieckow et al., 2005, 2009).

Embora o corpo de informações utilizando técnicas de RMN tenha crescido em solos tropicais e subtropicais, o efeito do cultivo de espécies de rápido crescimento como o eucalipto para a MOS ainda é pouco conhecido. Além de alterar os estoques de C na MOS, alterações moleculares também são esperadas. Zinn et al. (2002) estudando solos sob Cerrado observou que a implantação de eucalipto levou a mudanças na qualidade da MOS, com menos C O-alquil e mais estruturas parafínicas em solo com maior teor de argila. Embora o clima tenha sido destacado como um importante fator regulando a dinâmica da MOS em solos sob povoamento de eucalipto (Lima et al., 2006), Dieckow et al. (2009) não encontraram claro padrão para mudanças na composição da MOS entre os biomas em região subtropical (Campo nativo-Grassland) e tropical (Cerrado). Os resultados apontam para uma uniforme recuperação no O-alquil e um decréscimo nos aromáticos em solos convertidos de sistema convencional de cultivo para sistema sob plantio direto. Os povoamentos de eucalipto aportam resíduos ao solo de forma continuada resíduos ao solo, o que poderia interferir na composição das SH, direta e indiretamente, uma vez que a população microbiana pode ser alterada quando ocorre a alteração do uso da terra.

Solos de regiões tropicais em razão da mineralogia menos ativa parecem preservar mais estruturas alifáticas. Dick et al. (2005) caracterizaram a MOS global de latossolos brasileiros e atribuíram à preservação de estruturas C O-alquil

às interações organo-minerais. Em Cambissolo distrófico, sob floresta, a contribuição do C-alquil foi atribuída por Rumpel et al. (2004) à estabilização de material alifático derivado do liter, de raiz, que é de grande importância nestes solos, e/ou; este material alifático é derivado microbiano e se acumula como resultado de decomposição crescente da MOS. O C-alquil pode ainda segundo Stevenson (1994) ser advindo de compostos de liter de plantas preservados seletivamente, como biopolímeros alifáticos de cutina e suberina.

A serapilheira de solos florestais possui composição química que desfavorece a decomposição. O maior acúmulo de serapilheira em plantios de eucalipto no sul da Bahia foi atribuído à composição química dos resíduos orgânicos constituintes da serapilheira, os quais possuíam menor teor de N e aos demais nutrientes em se comparando à floresta natural, assim como valores mais elevados das relações C/N, lignina/N e (lignina + celulose)/N da serapilheira (Gama-Rodrigues & Barros, 2002). Assim como hipótese apresentada no Capítulo III dessa tese, temos que: alterações nas molécula de SH podem ocorrer em razão da introdução dos povoamentos de eucalipto, o que poderá ser diferenciado, a depender do bioma em que esses povoamentos se encontram. Para tanto, foram selecionados sítios sob vegetação nativa e sob cultivo de eucalipto em três importantes biomas: Mata Atlântica, Cerrado e Campo nativo. Foi ainda objetivo deste capítulo, uma avaliação de técnicas de RMN que vêm sendo amplamente utilizada nos estudos da MOS.

A maior parte dos estudos da MOS realizados tem sido por meio da técnica de RMN de  $^{13}\text{C}$  com polarização cruzada, com alta rotação da amostra em torno do ângulo mágico (CP/MAS, do inglês “Cross Polarization/Magic Angle Spinning”). O uso da CP/MAS tem possibilitado reduzir algumas limitações nos estudos de RMN, como a baixa abundância natural de  $^{13}\text{C}$  e assim o avanço nos estudos da MOS. Contudo, ainda existem algumas limitações na utilização dessa técnica como meio de quantificar os componentes das SH, em razão dela apresentar: reduzida polarização cruzada de C não protonados (ligados ao H) e componentes de maior mobilidade na molécula ( $\text{CH}_3$ ); regiões com curto tempo de relaxação spin-lattice (como é comum em amostras contendo espécies paramagnéticas, como o Fe III); aparecimento de bandas laterais, que leva à redução relativa dos sinais das bandas centrais; (Wilson, 1987; Schmidt-Rohr and Spiess, 1994; Preston, 1996; Mao et al., 2000); e ainda, os sinais de O-C-O alquil

e C em grupos aromáticos sobrepõem-se na região entre 90 e 120 ppm no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  modo que a aromaticidade estimada pode incluir alguns sinais de C em grupos alquil ou excluir alguns sinais em grupos aromáticos (Mao & Schmidt-Rohr, 2004a).

Uma alternativa à técnica de CP/MAS é a polarização direta, com alta rotação da amostra em torno do ângulo mágico (DP/MAS, do inglês “Direct Polarization/Magic Angle Spinning”). Melhorias nos estudos de quantificação de SH foram alcançadas por Mao e colaboradores, com alguns ajustes na técnica de DP/MAS (Mao et al., 2000). Utilizar a RMN de  $^{13}\text{C}$  no estado sólido é mais desafiador do que parece, ressaltam os autores. Para tanto, técnicas específicas visando minimizar as limitações acima citadas podem ser utilizadas, tais como a separação de sinais de alquil e aromáticos, com supressão das bandas laterais e aplicação da técnica de DP (Mao & Schmidt-Rohr, 2004b). Muitos estudos têm ressaltado o caráter alifático das SH com base nos resultados de CP, entretanto, devido aos erros embutidos na quantificação desses componentes, muitas SH poderiam na verdade ter um caráter mais aromático do que alifático com base nos dados de DP. Assim o uso de técnicas avançadas de RMN como a DP/MAS, CP/MAS e outras técnicas avançadas, possibilitaria além de identificar, quantificar os grupos constituintes das SH que são indicativos da contribuição de principais componentes das SH (proteínas, carboidratos, biopolímeros alifáticos e lignina), determinando-se a real aromaticidade dessas SH.

Assim, esta tese aborda aspectos relacionados às mudanças ocasionadas na MOS e suas frações após o estabelecimento dos povoamentos de eucalipto em diferentes regiões, sob solos de diferentes texturas e, de períodos pós-colheita e duração da rotação, além de avaliar mais detalhadamente a composição molecular das SH, principal componente da MOS.

## 2. LITERATURA CITADA

- ABRAF - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE FLORESTAS PLANTADAS - Anuário Estatístico ABRAF, 2007 - Ano Base 2006.
- ALCANTARA F.A.; BUURMAN, P.; FURTINI NETO, A.E.; CURI N.; ROSCOE, R. Conversion of grassy cerrado into riparian forest and its impact on soil organic matter dynamics in an Oxisol from southeast Brazil. *Geoderma*, 123:305-317, 2004.
- BAYER, C.; MARTIN-NETO, L.; MIELNICZUK, J.; CERETTA, C.A. Effect of no-till cropping systems on soil organic matter in a sandy clay loam Acrisol from Southern Brazil monitored by electron spin resonance and nuclear magnetic resonance. *Soil Till. Res.*, 53:95-104, 2000.
- CHATTERJEE, A.; VANCE, G.F.; PENDALL, E.; STAHL, P.D. Timber harvesting alters soil carbon mineralization and microbial community structure in coniferous forests. *Soil Biol. Biochem.*, 40:1901-1907, 2008.
- CHRISTENSEN, B.T. Carbon in primary and secondary organo-mineral complexes. In: CARTER, M.R.; STEWART, B.A. (Ed.). *Structure and organic matter storage in agricultural soil*, Boca Raton: CRC, 1996. p.97-165. (Advances in soil Science).
- DIAS JUNIOR, M.S.; FONSECA, S. da; ARAÚJO JÚNIOR, C.F.; SILVA, A.R. Soil compaction due to forest harvest operations. *Pesq. Agropec. Bras.*, 42: 257-264, 2007.
- DICK, D. P.; GONÇALVES, C. N.; DALMOLIN, R. S. D.; KNICKER, H.; KLAMT, E.; KOGEL-KNABNER, I; SIMÕES, M. L.; MARTIN-NETO, L. Characteristics of soil organic matter of different Brazilian Ferralsols under native vegetation as a function of soil depth. *Geoderma*, 124:319-333, 2005.
- DIECKOW, J.; BAYER, C.; CONCEICA O, P.C.; ZANATTA, J.A.; MARTIN-NETO, L.; MILORI, D. B. M.; SALTON, J. C.; MACEDO, M. M.; MIELNICZUK, J.; HERNANI, L.C. Land use, tillage, texture and organic matter stock and composition in tropical and subtropical Brazilian soils. *Europ. J. Soil Sci.*, 60:240-249, 2009.
- DIECKOW, J.; MIELNICZUK, J.; KNICKER, H; BAYER, C; DICK, D. P.; KOGEL-KNABNER, I. Composition of organic matter in a subtropical Acrisol as influenced by land use, cropping and N fertilization, assessed by CPMAS <sup>13</sup>CNMR spectroscopy. *Europ. J. of Soil Sci.*, 56:705-715, 2005.
- EPRON, D.; NOUVELLON, Y.; DELEPORTE, P.; IFO, S.; KAZOTTI, J.G.M.; THONGO, M'BOU A.; MOUVONDY, W.J.; SAINT-ANDRÉ, L.; ROUPSARD, O.; JOURDAN, C.; HAMEL, O. Soil carbon balance in a

- clonal Eucalyptus plantation in Congo: effects of logging on carbon inputs and soil CO<sub>2</sub> efflux. *Global Change Biology*, 12:1021-1031, 2006.
- GAMA-RODRIGUES, A.C. & BARROS, N.F. Ciclagem de nutrientes em floresta natural e em plantios de eucalipto e de dandá no sudeste da Bahia, Brasil. *R. Árvore*, 26:193-207, 2002.
- GONZÁLEZ PÉREZ, M.; MARTIN-NETO, L.; SAAB, S.C.; NOVOTNY, E.H.; MILORI, D.M.B.P.; BAGNATO, V.S.; COLNAGO, L.A.; MELO, W.J.; KNICKER, H. Characterization of humic acids from a Brazilian Oxisol under different tillage systems by EPR, <sup>13</sup>C NMR, FTIR and fluorescence spectroscopy. *Geoderma*, 118:181-190, 2004.
- GUGGENBERGER G.; ZECH, W.; HAUMAIER, L.; CHRISTENSEN, B.T. Land-use effects on the composition of organic matter in particle-size separates of soils: II. CPMAS and solution <sup>13</sup>C NMR analysis. *Eur. J. of Soil Sci.* 46:147-158, 1995.
- HASSETT, J.E.; ZAK, D.R. Aspen Harvest Intensity Decreases Microbial Biomass, Extracellular Enzyme Activity, and Soil Nitrogen Cycling. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 69:227-235, 2005.
- HATCHER, P.G.; SCHNITZER, M.; DENNIS, L.W.; MACIEL, G.E. Aromaticity of Humic Substances in Soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 45:1089-1094, 1981.
- JOHNSON, D.W. & CURTIS, P.S. Effects of forest management on soil carbon and nitrogen storage: meta analysis. *For. Ecol. Manag.*, 140, 227-238, 2001.
- JURGENSEN, M.F.; HARVEY, A.E.; GRAHAM, R.T.; PAGE-DUMROESE, D.S.; TONN, J.R.; LARSEN, M.J.; JAIN, T.B. Impacts of Timber Harvesting on Soil Organic Matter, Nitrogen, Productivity, and Health of Inland Northwest Forests. *Forest Science*, 43:234-251, 1997.
- LAL, R. Forest soils and carbon sequestration. *For. Ecol. Manag.*, 220:242-258, 2005.
- LIMA, A.M.N.; SILVA, I. R.; NEVES, J.C.L.; NOVAIS, R. F.; BARROS N.F.; MENDONÇA, E.S.; SMYTH, T. J.; MOREIRA, M. S.; LEITE, F. P. Soil organic carbon dynamics following afforestation of degraded pastures with eucalyptus in southeastern Brazil, *For. Ecol. Manag.*, 235: 219-231, 2006.
- MAO, J.-D. & SCHMIDT-ROHR, K. Accurate quantification of aromaticity and unprotonated aromatic carbon fraction in natural organic matter by <sup>13</sup>C solid state NMR. *Environ. Sci. Technol.*, 38:2680-2684, 2004a.
- MAO, J.D. & SCHMIDT-ROHR, K. Separation of aromatic-carbon <sup>13</sup>C NMR signals from di-oxygenated alkyl bands by a chemical-shift-anisotropy filter. *Solid State NMR*, 26:36-45, 2004b.

- MAO, J.-D.; HU, W.; SCHMIDT-ROHR, K.; DAVIES, G.; GHABBOUR, E.A.; XING, B. Quantitative characterization of humic substances with solid state NMR. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 64:873-884, 2000.
- MAO, J.-D.; OLK, D.C.; FANG, X.; HE, Z. & SCHMIDT-ROHR, K. Influence of animal manure application on the chemical structures of soil organic matter as investigated by advanced solid-state NMR and FT-IR spectroscopy. *Geoderma*, 146:353-362, 2008.
- PEGORARO, R.F. Sequestro de carbono e alterações bioquímicas da matéria orgânica de solos cultivados com eucalipto. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2007. 140 p. 2007. Tese de Doutorado.
- PENNOCK, D.J.; van KESSEL, C. Clear-cut forest harvest impacts on soil quality indicators in the mixedwood forest of Saskatchewan, Canada. *Geoderma*, 75:13-32, 1997.
- PRESTON, C. M.; HEMPFLING, R.; SCHULTEN, H. -R.; SCHNITZER, M.; TROFYMOW J. A.; AXELSON D. E. Characterization of organic matter in a forest soil of coastal British Columbia by NMR and pyrolysis-field ionization mass spectrometry. *Plant and Soil*. 158:69-82, 1994.
- PRESTON, C.M. Application of NMR to soil organic matter analysis (history and prospects). *Soil Sci.*, 161:144-166, 1996.
- RUMPEL, C.; EUSTERHUESA, K.; KOGEL-KNABNER, I. Location and chemical composition of stabilized organic carbon in topsoil and subsoil horizons of two acid forest soils. *Soil Biol. Biochem.*, 36:177-190, 2004.
- SCHMIDT-ROHR, K., & H.W. SPIESS. *Multidimensional solid state NMR and polymers*. Academic Press, San Diego, 1994.
- SCHNURR-PUTZ, SILVIA; BAATH, ERLAND; GUGGENBERGER, GEORG; DRAKE, HAROLD L.; KUSEL, KIRSTEN. Compaction of forest soil by logging machinery favors occurrence of prokaryotes. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 58: 503-516, 2006.
- SILVA, I.R.; NOVAIS, R.F.; BARROS, N.F. & SILVA, E.F. Manejo de resíduos e matéria orgânica do solo em plantações de eucalipto: uma questão estratégica para a manutenção da sustentabilidade. *Boletim Informativo da Sociedade Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, 29, 2004, p.10-20.
- SIMPSON, A.J.; BURDON, J.; GRAHAM, C.L.; HAYES, M.H.B.; SPENCER, N.; KINGERY, W.L. Interpretation of heteronuclear and multidimensional NMR spectroscopy of humic substances. *Europ. J. Soil Sci.*, 52:495-509, 2002.
- SKORUPA, A.L.A. Acumulação e decomposição de serapilheira em povoamento de eucalipto na região do Baixo Rio do Doce-MG. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2001. 68p. Dissertação de Mestrado.

- STEVENSON, F.J. 1994. Humus chemistry: genesis, composition, reactions. 2.ed. New York: J. Wiley, 496p.
- TAN, X.; CHANG, S. X. ; KABZEMS, R. Soil compaction and forest floor removal reduced microbial biomass and enzyme activities in a boreal aspen forest soil. *Biol. Fert. Soils.*, 44:471-479, 2008.
- WILSON, M.A. NMR Techniques and Applications in Geochemistry and Soil Chemistry. Pergamon Press, Oxford, 1987.
- YANAI, R.D.; CURRIE, W.S.; GOODALE, C. L. Soil Carbon Dynamics after Forest Harvest: An Ecosystem Paradigm Reconsidered. *Ecosystems.* 6:197-212, 2003.
- ZECH, Z.; SENEZI, N.; GUGGENBERGER, G.; KAISER, K.; LEHMANN, J.; MIANO, T.M.; MILTNER, A.; SCHROTH, G. Factors controlling humification and mineralization of soil organic matter in the tropics. *Geoderma*, 79:69-116, 1997.
- ZINN, Y.L.; RESCK, D.V.S. & SILVA, J.E. Soil organic carbon as affected by afforestation with Eucalyptus and Pinus in the Cerrado region of Brasil. *For. Ecol. Manag.*, 166:285-294, 2002.

## CAPITULO I

### FRAÇÕES DA MATÉRIA ORGÂNICA EM SOLOS COM TEXTURAS DISTINTAS SOB CULTIVO DE EUCALIPTO NO RIO GRANDE DO SUL

#### RESUMO

O objetivo desse trabalho foi avaliar as alterações dos estoques C orgânico total (COT) e N total (NT), de C e N associados a ácidos fúlvicos (AF), ácidos húmicos (AH), huminas (HU), matéria orgânica leve (MOL), biomassa microbiana (BM), em solo arenoso e argiloso sob povoamentos de eucalipto e as respectivas matas nativas (MN) de referência no Leste do Rio Grande do Sul. No solo argiloso, os estoques foram COT, NT, C-MOL e N-MOL não diferiram entre os usos. O AH estocou 72 e 58 Mg ha<sup>-1</sup> de C no solo sob MN e eucalipto, respectivamente. O estoque de C-HU foi 18 % menor no solo com povoamentos de eucalipto que na MN (99,5 Mg ha<sup>-1</sup>). O eucalipto sob o solo arenoso, tomando-se a MN como referência, apresentou na camada de 0-100 cm: incrementos nos estoques de COT e NT; incremento de 19 Mg ha<sup>-1</sup> de C-AH e 1,66 Mg ha<sup>-1</sup> no N-AH; estoque de C-HU passou de 28,2 Mg ha<sup>-1</sup> no solo sob MN para 44,2 Mg ha<sup>-1</sup> na área com eucalipto e não apresentou diferença para C-AF e N-AF. O cultivo do eucalipto levou a um acréscimo de 3,4 Mg ha<sup>-1</sup> e 0,18 Mg ha<sup>-1</sup> de C e N da MOL, respectivamente (0-10 cm). Os estoques de C-BM aumentaram 60 % (0-10 cm) e 83 % (0-60 cm), em relação àquele sob MN. Nos solos sob MN os estoques de COT e NT (0-100 cm) foram, em média, cinco vezes maior no solo argiloso em comparação ao solo arenoso. Em áreas sob cultivo do eucalipto o solo arenoso estocou 74 Mg ha<sup>-1</sup> de COT (0-100 cm), inferior ao estocado no solo argiloso (167 Mg ha<sup>-1</sup>). Os estoques de C e N associados ao AF, AH e HU foram maiores no solo argiloso que no solo arenoso, em ambos os usos. Em áreas cultivadas com eucalipto os estoques de C-MOL foram maiores no solo arenoso (9,8 Mg ha<sup>-1</sup>) e apenas 3,5 Mg ha<sup>-1</sup> no solo argiloso (0-100 cm) e o estoque de C-BM foi maior no solo arenoso (0,5 Mg ha<sup>-1</sup>) do que no solo argiloso (0,3 Mg ha<sup>-1</sup>) (0-60 cm). Na MN os estoques de C-BM foram mais elevados no solo argiloso (0,5 Mg ha<sup>-1</sup>) que no solo arenoso (0,2 Mg ha<sup>-1</sup>) (0-60 cm).

**Palavras-chave:** biomassa microbiana, matéria orgânica leve, solos florestais, substâncias húmicas.



## ORGANIC MATTER FRACTIONS IN SOILS OF DISTINCT TEXTURE UNDER EUCALYPT IN RIO GRANDE DO SUL STATE

### ABSTRACT

The present study aimed to evaluate alterations in total organic C (TOC), total N (TN), and C and N associated to fulvic acids (FA), humic acids (HA), humins (HU), light organic matter (LOM) and microbial biomass (MB) stocks in soils of distinct textures under eucalypt plantation and respective native vegetation (NV) in Rio Grande do Sul State. In the clayey soil, there was no difference for TOC, TN, C-LOM and N-LOM stocks. The HA stored 72 Mg ha<sup>-1</sup> of C in soil under NV and 58 Mg ha<sup>-1</sup> C in soil under eucalypt. The C-HU stock was 18 % smaller in soil under eucalypt than that under NV (99.5 Mg ha<sup>-1</sup>). Compared to the NV soil, the eucalypt in the sandy soil, showed, in the 0-100 cm layer, greater TOC and TN stocks; increases of 19 Mg ha<sup>-1</sup> in C-HA and 1.66 Mg ha<sup>-1</sup> in N-HA; C-HU stock increased from 28.2 Mg ha<sup>-1</sup> in the soil under NV to 44.2 Mg ha<sup>-1</sup> in the soil under eucalypt. There was no difference for C-FA and N-FA. The eucalypt cultivation resulted in an increase of 3.4 Mg ha<sup>-1</sup> of C and 0.18 Mg ha<sup>-1</sup> in N-LOM stocks, respectively (0-10 cm). The C-MB stocks increased about 60% (0-10 cm) and 83% (0-60 cm) as compared to NV soil; TOC and TN stocks in clayey soil under NV (0-100 cm) averaged, five times those in the sandy soil. Under eucalypt cultivation the sandy soil stored 74 Mg ha<sup>-1</sup> of TOC (0-100 cm), which is much less than the stock stored in the clayey soil (167 Mg ha<sup>-1</sup>). The C and N stocks associated to FA, HA, HU were larger in the clayey soil than the sandy one, regardless of vegetation. In areas cultivated with eucalypt the C-LOM stocks were larger in the sandy soil (9.8 Mg ha<sup>-1</sup>) than in the clayey soil (3.5 Mg ha<sup>-1</sup>, 0-100 cm). Similarly, also the C-MB stock was larger in the sandy soil (0.46 Mg ha<sup>-1</sup>) than in clayey soil (0.27 Mg ha<sup>-1</sup>) (0-60 cm). On the other hand, in the soil under NV the C-MB stock was higher in the clayey soil (0.5 Mg ha<sup>-1</sup>) than in the sandy soil (0.25 Mg ha<sup>-1</sup>), 0-60 cm).

**Keywords:** forest soils, humic substances, light organic matter, microbial biomass.

## 1. INTRODUÇÃO

O aumento dos estoques de matéria orgânica do solo (MOS) pode ser resultante tanto do aporte dos resíduos via biomassa aérea e radicular, quanto da proteção química e física que o solo pode oferecer, das condições climáticas, da ação da comunidade de microrganismos decompositores (suscetível às condições do meio), bem como das práticas de manejo adotadas.

O continuum de compostos orgânicos no solo é influenciado, mas também atuam no processo de estabilização da MOS. Existem três mecanismos principais que contribuem para a estabilização da MOS: a estabilização bioquímica, favorecida pela humificação dos compostos orgânicos; a oclusão dentro dos agregados (estabilização física); e a proteção pela formação dos complexos organo-argilo-metálicos dentro da matriz mineral (proteção química/coloidal) (Christensen, 1996; Six et al., 2002), os dois últimos são mecanismos que dependem das características do solo. Solos argilosos geralmente possuem maior capacidade de estabilizar C que solos arenosos (Six et al., 2002) e, assim, correlações estreitas e significativas entre o teor de C e teor de argila ou teor de silte + argila dos solos têm sido reportados na literatura (Zinn et al., 2005), com tendência de solos mais argilosos serem mais tamponados às variações na MOS, e sofrerem menor impacto devido às mudanças de uso e manejo que solos mais arenosos (Zinn et al., 2002).

A estabilização bioquímica é dependente da recalcitrância das moléculas orgânicas, a qual é inerente à composição do material que é aportado ao solo (Christensen, 1996). Dessa forma, as espécies vegetais podem contribuir efetivamente para uma maior ou menor estabilização bioquímica da MOS. A serapilheira de solos florestais geralmente é constituída por resíduos cuja composição química dificulta a decomposição, quando comparado àqueles oriundos de sistemas agrícolas (Khanna et al., 2001). O maior acúmulo de serapilheira em plantios de eucalipto no sul da Bahia foi atribuído à composição química dos resíduos orgânicos constituintes da serapilheira, os quais possuíam menor teor de N e demais nutrientes em comparação àqueles da floresta nativa, assim como valores mais elevados das relações C/N, lignina/N e (lignina + celulose)/N da serapilheira (Gama-Rodrigues & Barros, 2002). A alta relação C/N desses resíduos, em torno de 30 a 100, pode resultar em decomposição mais lenta

(Skorupa, 2001). Espécies florestais de rápido crescimento como o eucalipto, durante o ciclo de crescimento e após a colheita, aportam ao solo uma grande massa de resíduos cuja porção significativa (casca e galhos) é constituída por compostos bastante complexos e recalcitrantes. Dados compilados por Skorupa (2001) são de que a quantidade média de serapilheira em plantações de eucalipto em idade comercial no Brasil está em torno de 11 Mg ha<sup>-1</sup> por ocasião do corte, e resíduos da colheita podem aportar 30 Mg ha<sup>-1</sup> adicionais na forma de raízes, folhas, galhos e cascas. Em solos cultivados com eucalipto poderia haver grandes contribuições de resíduos mais lignificados quando mantidos no talhão, contribuindo para a formação da MOS. Além do que, a composição desses resíduos pode influenciar não apenas a sua própria taxa de decomposição quando adicionado ao solo, mas também pode interferir na taxa de decomposição da MOS nativa, devido à adição de um novo substrato (Silva et al., 2004). Contudo, a utilização da reforma após a colheita leva a distúrbios adicionais do sítio, pelo preparo da área para o novo plantio. Têm sido observados fluxos de CO<sub>2</sub> maiores e decréscimo da MOS após a colheita (Jurgensen et al., 1997; Pennock & van Kessel, 1997; Yanai et al., 2003; Chatterjee et al., 2008), mas os efeitos negativos parecem ser minimizados quando se faz apenas a remoção do lenho do sítio (Johnson & Curtis, 2001).

Além de alterações nos estoques totais, alguns compartimentos mais lábeis da MOS podem sofrer alterações mais rapidamente em razão da mudança de uso do solo que a MOS como um todo. A fração leve da MOS (MOL) e a biomassa microbiana (BM) são consideradas como indicadores precoces às alterações ocasionadas por mudanças de sistemas de manejo do solo que as frações mais estáveis, tais como as substâncias húmicas (SH) (Leite et al., 2003; Pegoraro, 2007; Lima, 2008; Silva et al., 2008).

Neste estudo são comparados duas regiões do leste do Rio Grande do Sul. Essa região foi escolhida para estudo por que foi uma das primeiras regiões no Brasil em que o manejo dos resíduos colheita incluía o descascamento e manutenção da casca no local juntamente com os demais resíduos. Além disso, as texturas distintas dos solos possibilitaram avaliar o efeito da fração argila no tamponamento dos impactos do cultivo do eucalipto nas frações da MOS. Assim a nossa hipótese é de que o solo argiloso possui um maior potencial de estocar MOS que solo arenoso, mas as alterações nos estoques de C e N nas frações são

mais pronunciadas no solo arenoso. O objetivo geral foi comparar os estoques totais de C e N e associados às frações da MOS de cada uso (eucalipto e mata) dentro de cada solo e entre os solos arenoso e argiloso.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### *Local de estudo e amostragem de solo*

O presente estudo foi realizado em plantações comerciais de *Eucalyptus grandis* localizadas no estado do Rio Grande do Sul, e que se encontravam em sua segunda rotação, totalizando entre 16 e 18 anos de cultivo. Além das amostragens de solo realizadas nos povoamentos de eucalipto, também foram coletadas amostras em áreas de vegetação nativa adjacente de modo a possibilitar a comparação pareada. Áreas sob tais usos foram amostradas em duas regiões distintas, cuja principal diferença é a textura do solo (um muito arenoso e outro argiloso) (Quadro 1). Em ambas as regiões os solos vinham sendo cultivados com culturas anuais e pastagens por pelo menos três décadas antes da implantação do eucalipto.

**Quadro 1.** Frações texturais nas diferentes camadas do Horto Barba Negra (arenoso) e Horto Quitéria (argiloso).

Horto Florestal	Camada (cm)	Areia Grossa	Areia Fina	Silte	Argila	Densidade do solo kg dm <sup>-3</sup>
		..... dag kg <sup>-1</sup> .....				
	0-10	90	4	1	5	0,93
Barba Negra	10-20	94	2	2	2	0,92
	20-40	94	4	0	2	1,22
	40-60	91	7	0	2	1,03
	60-100	97	2	0	1	1,07
	0-10	35	7	22	36	0,69
Quitéria	10-20	43	10	13	34	0,85
	20-40	35	9	20	36	0,79
	40-60	44	9	16	31	0,72
	60-100	61	5	11	23	1,16

As amostragens de solos sob vegetação nativa e de eucalipto foram realizadas nas camadas de 0-10; 10-20; 20-40; 40-60; 60-100 cm. A coleta do solo foi realizada no ano de 2005. Em talhão representativo de eucalipto com 20-30 ha foram delimitadas quatro parcelas de 50 x 50 m (consideradas quatro repetições) para amostragem. Em cada parcela foram coletadas quatro amostras simples nas profundidades descritas acima, com o auxílio de trado, para compor uma amostra composta. As amostras de solo foram secadas ao ar, passadas em peneira de 2 mm, homogeneizadas. A caracterização química é apresentada no Quadro 2. Adicionalmente, em cada local foi aberta, manualmente, uma trincheira com 1,2 m de profundidade para coleta de amostras indeformadas de solo com anel volumétrico, no centro de cada camada de solo acima descrita.

**Quadro 2.** Caracterização química de amostras de solos sob diferentes usos, na camada de 0-10 cm, no leste do Rio Grande do Sul.

Horto	pH	Ca <sup>+2</sup>	Mg <sup>+2</sup>	Al <sup>+3</sup>	H+Al <sup>+3</sup>	P	K	CTC pH 7
Florestal		-----cmol <sub>c</sub> dm <sup>-1</sup> -----					mg dm <sup>-1</sup>	cmol <sub>c</sub> dm <sup>-1</sup>
Barba Negra	4,14	0,04	0,10	1,01	3,15	15	20,2	3,3
Quitéria	4,50	0,5	0,17	2,15	14	25	169,3	14,7

pH em H<sub>2</sub>O – relação 1:2,5; P – K – Extrator Mehlich 1; Ca – Mg – Al – KCl – 1 mol L<sup>-1</sup>; H+Al – Extrator Acetato de Cálcio 0,5 mol L<sup>-1</sup>.

O solo arenoso (Horto florestal Barba Negra) é um Neossolo Quartzarênico. Os povoamentos de eucalipto neste Horto foram implantados em abril de 1987 e reformados no ano de 2001, e a idade da floresta por ocasião da coleta era de quatro anos. A vegetação nativa dessa região é do tipo mata de restinga, com cobertura vegetal pouco exuberante. O Horto Barba Negra está localizado no município de Barra do Ribeiro. A área destina-se ao plantio comercial de eucalipto, e foi mantido dentre as formações nativas, a mata de restinga.

O solo argiloso (Horto Florestal Quitéria) é um Cambissolo típico. Áreas de eucalipto e mata nativa sobre este solo foram amostradas conforme descrito anteriormente. O povoamento de eucalipto foi implantado em janeiro de 1985 e reformado em janeiro de 2004.

### *Frações da matéria orgânica do solo*

O total de carbono orgânico (COT) foi determinado pelo método de oxidação via úmida, com aquecimento externo (Yeomans & Bremner, 1988) e o nitrogênio total (NT) pelo método de Kjeldhal.

As frações das substâncias húmicas (SH) foram obtidas por meio do fracionamento químico segundo o método da International Humic Substances Society (Swift, 1996), obtendo-se as frações ácidos fúlvicos (AF), ácidos húmicos (AH) e huminas (HU). Em cada fração foi feita a determinação de C (Yeomans & Bremner, 1988) e N (método de Kjeldhal).

Para a obtenção da matéria orgânica leve (MOL), seguiu-se o procedimento proposto por Sohi et al. (2001) utilizando-se solução de iodeto de sódio (NaI,  $d = 1,8 \text{ kg L}^{-1}$ ). Os teores de C e N na MOL foram determinados por combustão via seca em analisador elementar.

Antes da determinação do C e N da biomassa microbiana (BM) sub-amostras dos solos foram pré-incubadas por 15 dias a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  com umidade em 60 % da capacidade de campo para permitir o restabelecimento da comunidade microbiana. A determinação do C (C-BM) e N (N-BM) associados à BM foi realizada obtendo-se inicialmente os extratos salinos pelo método da irradiação-extração (Islam & Weil, 1998), seguida pela determinação de C e N pelos métodos de Yeomans & Bremner (1988) e Kjeldhal, respectivamente.

Com objetivo de corrigir qualquer influência da compactação, todos os estoques de C e N associados às frações da MOS foram obtidos por meio da multiplicação do teor ( $\text{g kg}^{-1}$ ) pela massa de solo sob a vegetação de referência, em cada profundidade estudada. A massa de solo de referência foi obtida por meio da multiplicação da espessura de cada camada (m), pela sua densidade ( $\text{kg dm}^{-3}$ ), e volume de solo ( $\text{dm}^3$ ). Finalmente, foram calculados os estoques acumulados das camadas de 0-10 cm, 0-20 cm, 0-40 cm, 0-60 cm e 0-100 cm.

Os resultados foram submetidos à análise de variância num delineamento inteiramente ao acaso com parcelas subdivididas (região-classe textural do solo na parcela principal, tipo de uso na sub-parcela). As análises foram realizadas individualmente para cada camada de solo. As médias dos tratamentos foram comparadas com o teste de DMS de Fisher, protegido ( $p < 0,05$ ) (Steel et al., 1996) utilizando o programa estatístico SAEG 9.0.

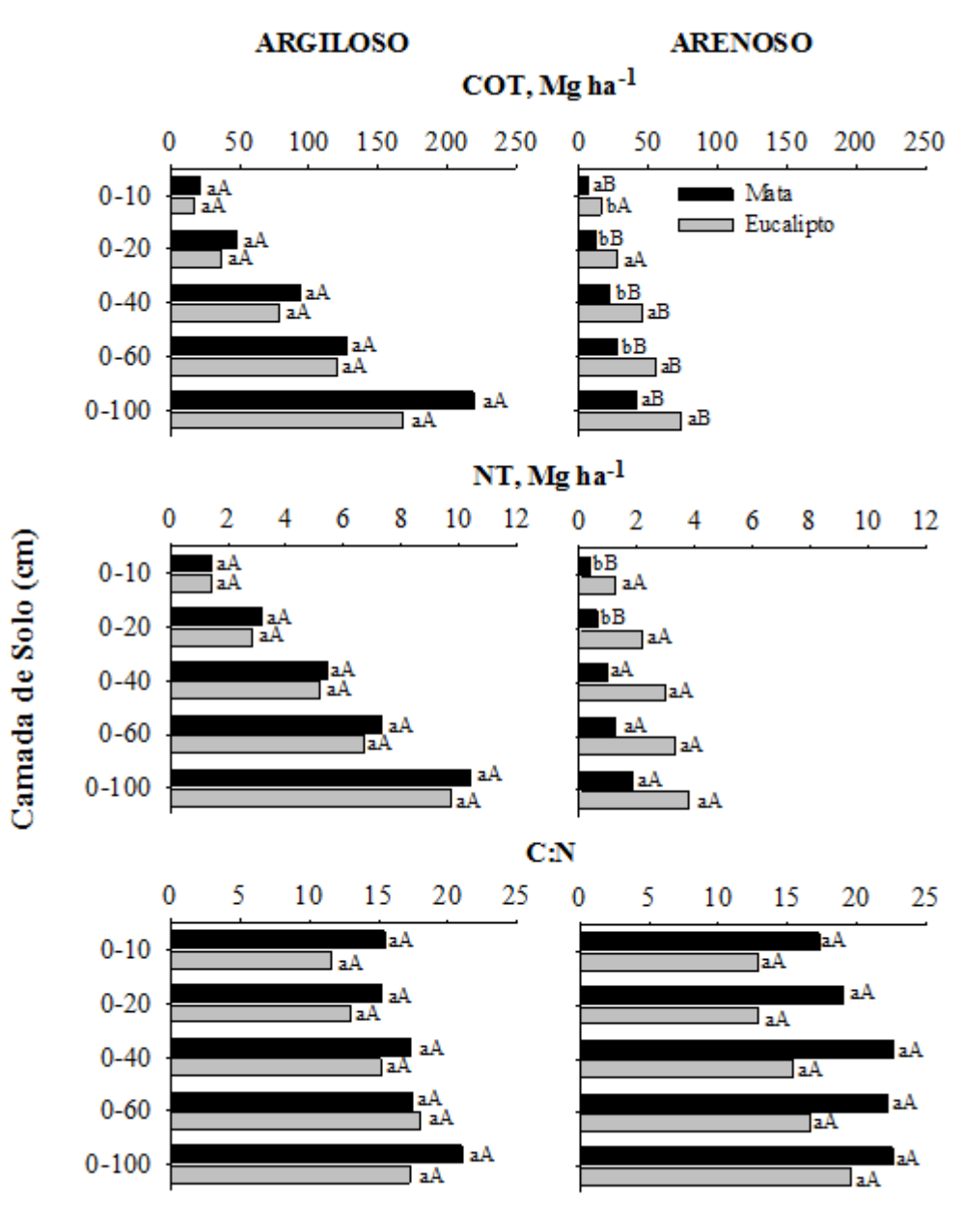
### 3. RESULTADOS

#### *Efeito do uso do solo em cada região*

No solo argiloso o cultivo do eucalipto não resultou em diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) nos estoques totais de C (COT) e N total (NT), em comparação àqueles da mata nativa (Figura 1). Considerando-se a camada de 0-100 cm, os estoques de COT foram de aproximadamente 219 e 168 Mg ha<sup>-1</sup> e os de NT foram de 10,4 e 9,7 Mg ha<sup>-1</sup> respectivamente, nos solos sob mata nativa e eucalipto.

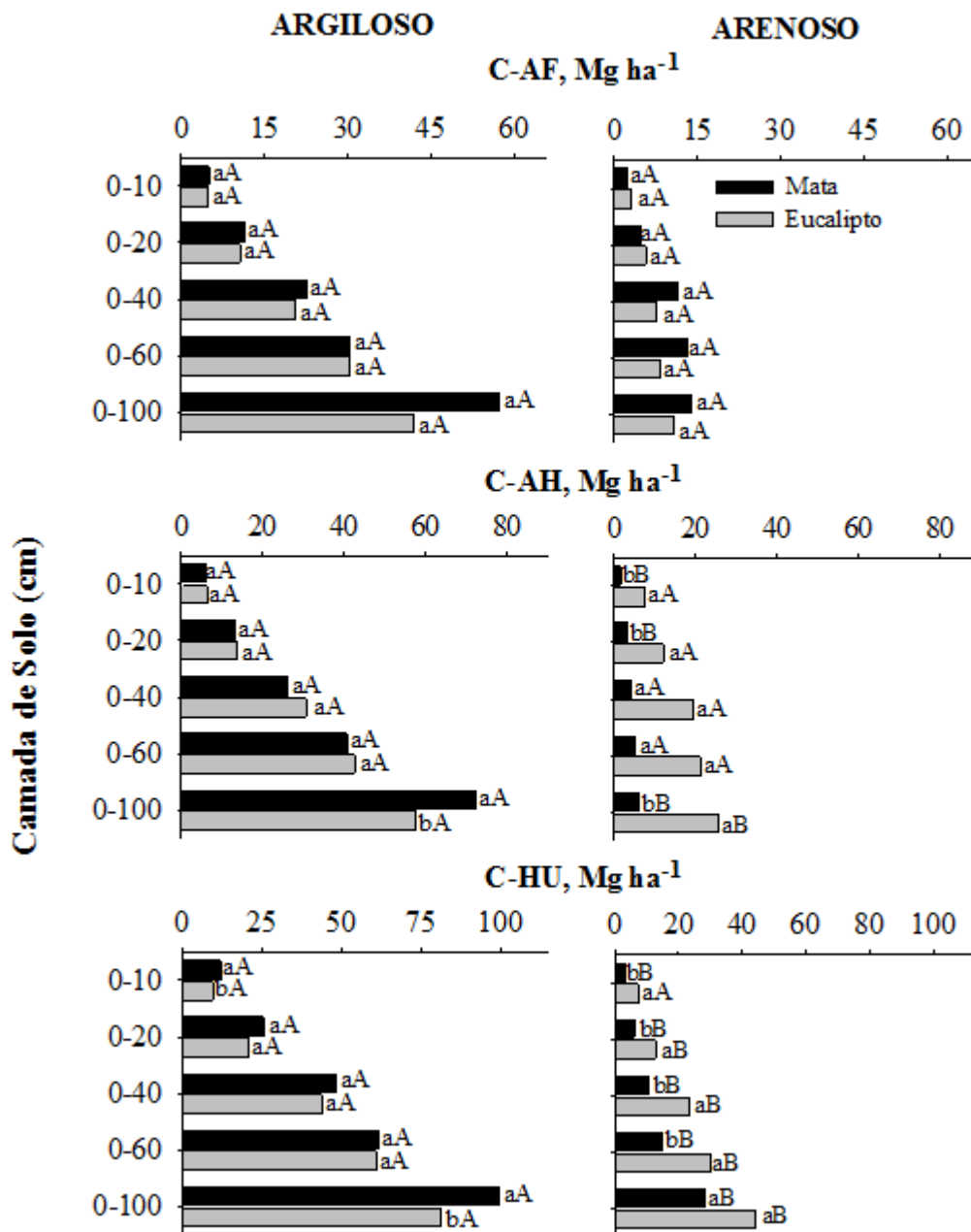
De maneira contrastante ao observado no solo argiloso, no solo arenoso sob povoamento de eucalipto foram observados incrementos nos estoques de COT e NT em todo o perfil do solo. As áreas cultivadas com eucalipto apresentaram estoques de COT significativamente ( $p < 0,05$ ) superiores aos estoques observados no solo da mata nativa a partir da camada superficial até a profundidade de 60 cm, para COT e até 20 cm para NT (Figura 1). Na camada de 0-10 cm do solo sob cultivo de eucalipto observou-se incremento de aproximadamente 150 % no estoque de COT em relação àquele da mata nativa. Esses incrementos no COT no solo de eucalipto foram proporcionalmente menores nas camadas subsequentes. Os estoques de NT também seguem o mesmo padrão, com um incremento de aproximadamente 250 % em relação à mata nativa até a profundidade de 20 cm, com diminuição à medida que se avança em profundidade no perfil do solo.

No solo argiloso não foram observadas diferenças significativas entre a área sob cultivo de eucalipto e a mata de referência quanto ao C e N associados à fração ácido fúlvico (AF), e N associado à fração ácido húmico (AH) e humina (HU) (Figuras 2 e 3). O AH estocou aproximadamente 72 Mg ha<sup>-1</sup> de C na condição de mata e 58 Mg ha<sup>-1</sup> em solo sob cultivo de eucalipto. O estoque de C-HU em solo sob mata foi significativamente ( $p < 0,05$ ) maior que na área sob cultivo de eucalipto (camada de solo de 0-100 cm). O estoque de 99,5 Mg ha<sup>-1</sup> de C-HU no solo da mata foi reduzido em 18 % no solo sob eucalipto.

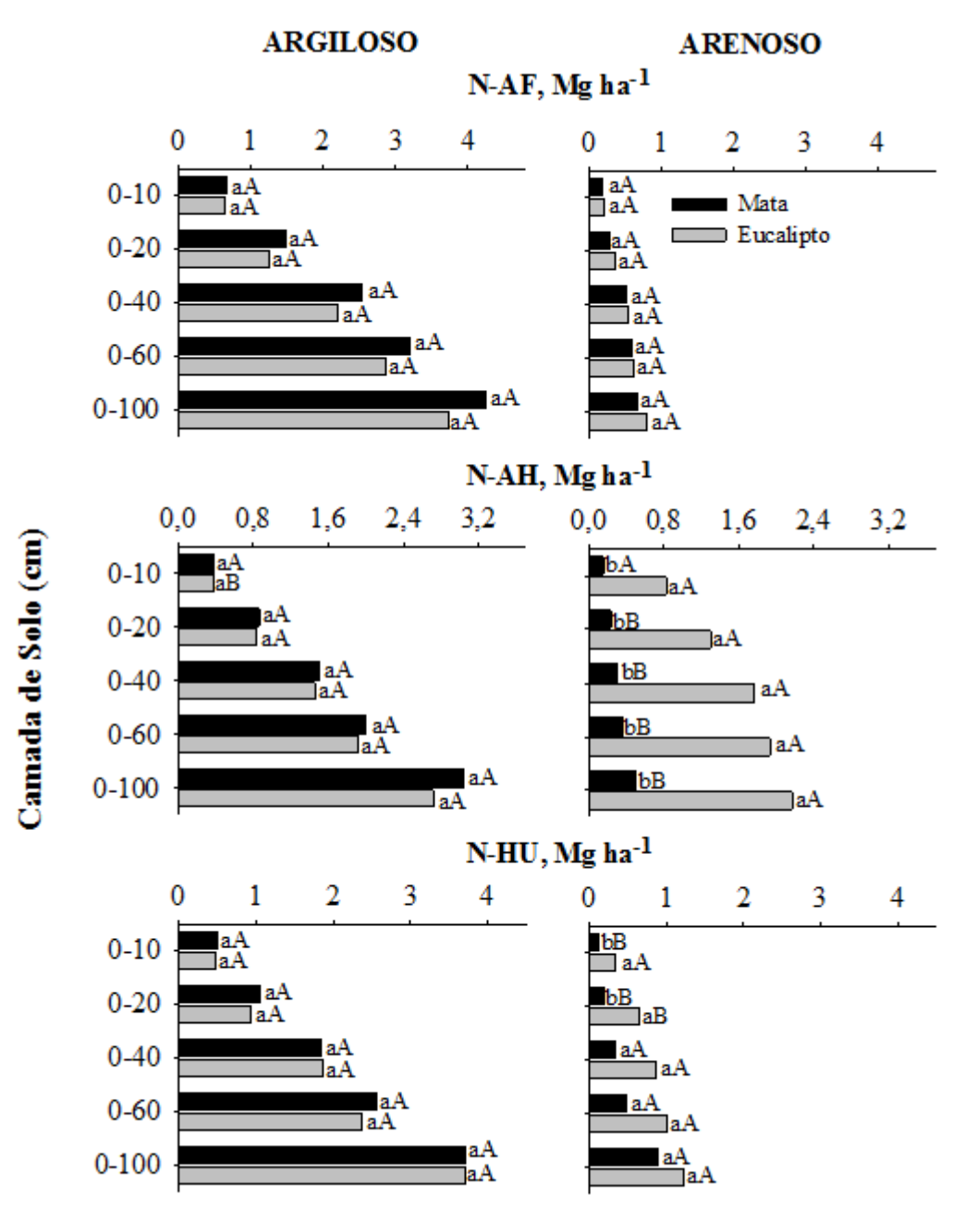


**Figura 1.** Estoques totais de C orgânico (COT) e N (NT) e relação C:N em solo e argiloso (Cambissolo) e solo arenoso (Neossolo Quartzarênico) sob mata nativa ou eucalipto na região Leste do estado do Rio Grande do Sul. Médias entre os usos do solo, em cada solo, dentro de cada camada, com letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente (Teste de DMS de Fisher protegido) ao nível de 5 %. Médias entre os tipos de solo, para cada uso, dentro de cada camada com letras maiúsculas iguais não diferem estatisticamente (Teste de DMS de Fisher protegido) ao nível de 5 %.





**Figura 2.** Estoques de C associados às frações ácido fúlvico (C-AF), ácido húmico (C-AH) e humina (C-HU) em solo argiloso (Cambissolo) e arenoso (Neossolo Quartzarênico) sob mata nativa ou eucalipto na região Leste do estado do Rio Grande do Sul. Médias entre os usos do solo, em cada solo, dentro de cada camada, com letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente (Teste de DMS de Fisher protegido) ao nível de 5 %. Médias entre os tipos de solo, para cada uso, dentro de cada camada com letras maiúsculas iguais não diferem estatisticamente (Teste de DMS de Fisher protegido) ao nível de 5 %.



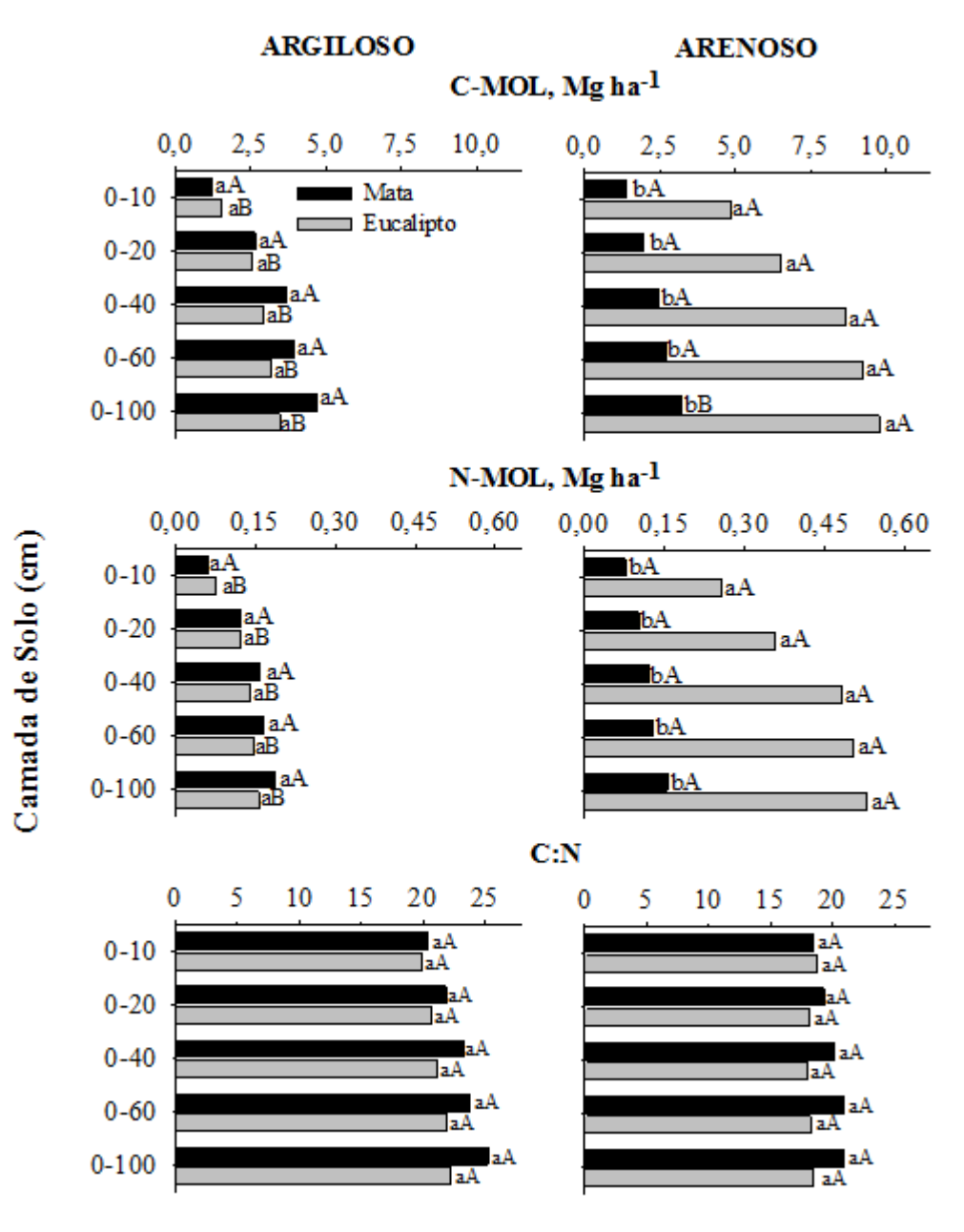
**Figura 3.** Estoques de N associados às frações das substâncias húmicas, ácido fúlvico (N-AF), ácido húmico (N-AH) e humina (N-HU) em solo argiloso (Cambissolo) e arenoso (Neossolo Quartzarênico) e sob mata nativa ou eucalipto na região Leste do estado do Rio Grande do Sul. Médias entre os usos do solo, em cada solo, dentro de cada camada, com letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente (Teste de DMS de Fisher protegido) ao nível de 5 %. Médias entre os tipos de solo, para cada uso, dentro de cada camada com letras maiúsculas iguais não diferem estatisticamente (Teste de DMS de Fisher protegido) ao nível de 5 %.

Não foram constatadas diferenças significativa ( $p < 0,05$ ) nos estoques de C e N associados ao AF no solo arenoso, observando-se estoques médios de 12 Mg ha<sup>-1</sup> de C-AF e 0,7 Mg ha<sup>-1</sup> de N-AF na camada de 0-100 cm. Os estoques de C e N-AH foram aumentados após duas rotações de eucalipto em solo arenoso, com um incremento de 19 Mg ha<sup>-1</sup> de C e 1,66 Mg ha<sup>-1</sup> no N-AH, em comparação aos estoques no solo da mata de referência, na camada de solo de 0-100 cm. Um acréscimo significativo ( $p < 0,05$ ) de 4 Mg ha<sup>-1</sup> de C e 0,23 Mg ha<sup>-1</sup> de N associados à fração HU na camada superficial (0-10 cm). O estoque de C-HU passou de 28,2 Mg ha<sup>-1</sup> no solo sob mata para 44,2 Mg ha<sup>-1</sup> na área cultivada com eucalipto, o que correspondeu a aumento de mais de 50 % (0-100 cm).

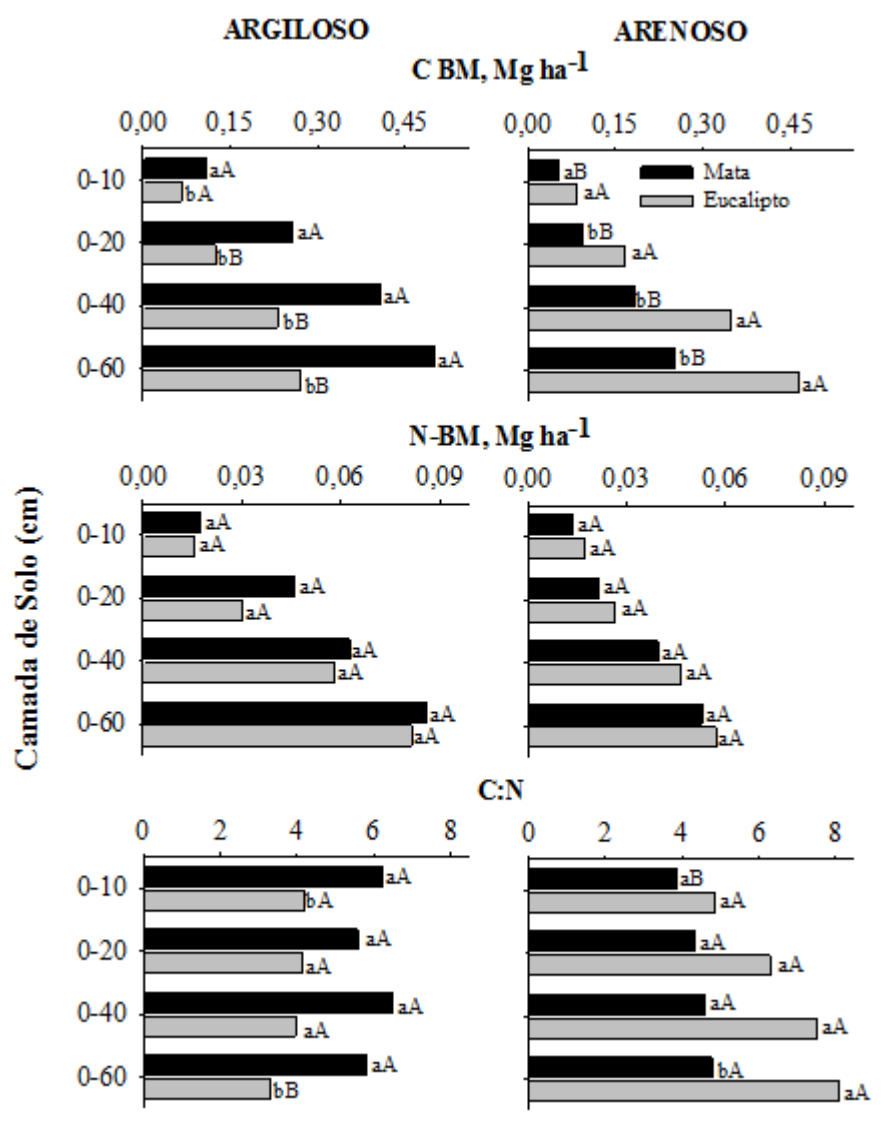
O estoques de C e N associados à matéria orgânica leve (MOL) no solo argiloso não foram significativamente ( $p < 0,05$ ) alterados em nenhuma das camadas de solo estudadas até 100 cm de profundidade após duas rotações de eucalipto. Assim, quando se considera os valores médios observou-se estoque de 4 e 0,17 Mg ha<sup>-1</sup> de C e N, respectivamente, associados à MOL no solo argiloso (Figura 4). O cultivo do eucalipto em solo arenoso levou a acréscimos de 3,4 Mg ha<sup>-1</sup> e 0,18 Mg ha<sup>-1</sup> de C e N da MOL, respectivamente, na camada de 0-10 cm. (Figura 5). Os acréscimos foram observados em todo o perfil do solo, com aumentos na camada de 0-100 cm de 6,5 e 0,37 Mg ha<sup>-1</sup>, respectivamente, para C-MOL e N-MOL. Dessas 6,5 Mg ha<sup>-1</sup>, 3,4 Mg ha<sup>-1</sup> foram incrementadas na camada de 0-10 cm

No solo argiloso sob eucalipto o estoque de C associado à biomassa microbiana (C-BM) foi reduzido em todas as camadas analisadas, passando de 0,11 Mg ha<sup>-1</sup> na mata de referência à 0,07 Mg ha<sup>-1</sup> na área cultivada com eucalipto na camada de 0-10 cm (Figura 5). Na camada de 0-60 cm houve um decréscimo de 0,23 Mg ha<sup>-1</sup> de C-BM. Os estoques de N-BM não foram significativamente ( $p < 0,05$ ) diferentes, apresentando em média estoque de 0,08 Mg ha<sup>-1</sup> (0-100 cm). A BM em solos sob eucalipto apresentou relação C:N mais estreita, da ordem de 3,3, quando comparada com àquela da mata nativa (5,8) no perfil de 0-60 cm. No solo arenoso cultivado com eucalipto, os estoques de C-BM aumentaram significativamente ( $p < 0,05$ ) em relação àquela sob mata; os ganhos foram de 60 % no estoque de C-BM na camada de 0-10 cm e 83 % na camada de solo de 0-60 cm, sendo os estoques originais na mata de restinga 0,05 e 0,25 Mg ha<sup>-1</sup> de C-BM. Contudo para o N-BM não se constatou diferença significativa e o estoque

médio na camada de 0-60 cm foi de 0,06 Mg ha<sup>-1</sup> de N-BM. Ao contrário do observado no solo argiloso, a relação C:N da BM sofreu um alargamento na camada de 0-60 cm, a relação passou de 5 para 8.



**Figura 4.** Estoques de C e N associados à matéria orgânica leve (C-MOL e N-MOL) e relação C:N em solo argiloso (Cambissolo) e arenoso (Neossolo Quartzarênico) e sob mata nativa ou eucalipto na região Leste do estado do Rio Grande do Sul. Médias entre os usos do solo, em cada solo, dentro de cada camada, com letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente (Teste de DMS de Fisher protegido) ao nível de 5 %. Médias entre os tipos de solo, para cada uso, dentro de cada camada com letras maiúsculas iguais não diferem estatisticamente (Teste de DMS de Fisher protegido) ao nível de 5 %.



**Figura 5.** Estoques de C e N associados à biomassa microbiana (C-BM e N-BM) e relação C:N em solo argiloso (Cambissolo) e solo arenoso (Neossolo Quartzarênico) e sob mata nativa ou eucalipto na região Leste do estado do Rio Grande do Sul. Médias entre os usos do solo, em cada solo, dentro de cada camada, com letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente (Teste de DMS de Fisher protegido) ao nível de 5 %. Médias entre os tipos de solo, para cada uso, dentro de cada camada com letras maiúsculas iguais não diferem estatisticamente (Teste de DMS de Fisher protegido) ao nível de 5 %.

### ***Efeito do Solo em cada Uso***

A mata do solo arenoso apresentou estoques de COT significativamente ( $p < 0,05$ ) menores que o observado na mata sob solo argiloso em todas as camadas de solo. Nos solos sob mata nativa os estoques de COT e NT na camada de 0-100 cm foram, em média, cinco vezes maior no solo argiloso em comparação ao solo arenoso (Figura 1). O estoque de NT diferiu apenas nas camadas superficiais (0-10 e 0-20 cm). Em áreas sob cultivo do eucalipto, o solo arenoso estocou 74 Mg ha<sup>-1</sup> de COT na camada de 0-100 cm, significativamente ( $p < 0,05$ ) inferior ao estocado no solo argiloso 167 Mg ha<sup>-1</sup>.

Os estoques de C e N associados às substâncias húmicas (SH) foram significativamente maiores ( $p < 0,05$ ) no solo argiloso que no solo arenoso, tanto sob eucalipto quanto sob mata. O C-SH na camada de 0-100 cm do solo argiloso cultivado com eucalipto apresentou, aproximadamente, quatro vezes mais C-AF (diferença não significativa,  $p > 0,05$ ), duas vezes mais AH ( $p < 0,05$ ) e duas vezes mais C-HU ( $p < 0,05$ ) em relação aos valores observados no solo arenoso. O N da fração AF foi cerca cinco vezes maior no solo argiloso (estoque de 3,7 Mg ha<sup>-1</sup>), uma vez e meia maior no AH (estoque de 2,7 Mg ha<sup>-1</sup>) e três vezes maior na fração HU (estoque de 3,7 Mg ha<sup>-1</sup>) que no solo arenoso, entretanto, as diferenças não foram significativas ( $p > 0,05$ ) na camada de 0-100 cm.

Em áreas cultivadas com eucalipto os estoques de C-MOL na camada de 0-100 cm foram maiores no solo arenoso (9,8 Mg ha<sup>-1</sup>) e apenas 3,5 Mg ha<sup>-1</sup> no solo argiloso. A maior parte (50 %) desse C-MOL está concentrada na camada de solo mais superficial (0-10 cm). Similarmente, no solo argiloso aproximadamente 45 % do C-MOL está na camada mais superficial. Os estoques de N-MOL também foram superiores no solo arenoso, observando-se estoques de 0,53 e 0,16 Mg ha<sup>-1</sup> na camada de 0-100 cm, respectivamente, para o solo arenoso e argiloso. A maior parte do estoque de N-MOL também se encontra na camada de 0-10 cm, em ambos os solos.

Do mesmo modo que a MOL, os estoques de C-BM (0-60 cm) nos solos sob povoamento de eucalipto foram maiores no solo arenoso (0,46 Mg ha<sup>-1</sup>) do que no solo argiloso (0,27 Mg ha<sup>-1</sup>). Contudo, os estoques de N-BM não diferiram significativamente daqueles do solo arenoso, com um estoque médio de 0,07 Mg ha<sup>-1</sup>.

Os estoques de C-BM observados em solos sob mata nativa foram mais elevados no solo argiloso ( $0,5 \text{ Mg ha}^{-1}$ ) que no solo arenoso ( $0,25 \text{ Mg ha}^{-1}$ ) na camada de 0-60 cm. Não verificada diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os solos para o estoque de N-BM.

#### 4. DISCUSSÃO

As depleções não significativas de COT, C-MOL e C-AF em relação a mata nativa no solo argiloso podem indicar que as depleções ocorridas por ocasião dos cultivos pós-desmatamento e, ou, após a implantação e anos iniciais do cultivo do eucalipto possam estar sendo recuperadas. No entanto, perdas de C-AH, C-HU e C-BM foram evidentes em solos sob eucalipto em relação àqueles sob mata de referência. Decréscimos associados a essas frações têm sido observadas por outros autores em estudos em plantações comerciais de eucalipto no Brasil (Lima et al., 2008). Perdas de C quando ocorre a substituição da vegetação nativa por outras espécies têm sido amplamente reportadas na literatura e podem ser resultantes da diminuição das quantidades de biomassa aérea e radicular aportadas ao solo, das mudanças no regime de umidade e temperatura que acentuam as taxas de decomposição, da alteração na labilidade dos resíduos culturais devido à relação C:N, teor de lignina, das perturbações induzidas pelo manejo, que diminuem a agregação do solo e a proteção física, e da maior erosão (Lal, 2005). As práticas silviculturais, e especialmente o impacto da operação de colheita e preparo da área por ocasião da reforma ao final da primeira rotação, levam ao distúrbio do sistema, com desorganização da estrutura do solo e subsequente decréscimo na proteção pelos agregados do solo. Juntamente com as alterações microclimáticas (maior insolação e temperatura do solo, por exemplo), esses distúrbios favorecem perdas de C e N das frações húmicas (Figuras 2 e 3, Lima et al., 2008).

Povoamentos de eucalipto no início da rotação, como esse sob solo argiloso (um ano após a reforma) não conseguem contribuir com grandes aportes via biomassa da parte aérea, pois a maior parte do C fixado via fotossíntese está imobilizado nas estruturas da planta. Contudo, os resíduos oriundos da 1ª rotação podem estar contribuindo para a amenização nos decréscimos de C em relação á

vegetação original. Observaram-se fluxos de CO<sub>2</sub> maiores e decréscimo da MOS após a colheita (Jurgensen et al., 1997; Pennock & van Kessel, 1997; Yanai et al., 2003; Chatterjee et al., 2008), mas os efeitos negativos parecem ser minimizados quando se faz apenas a remoção do lenho do sítio (Johnson & Curtis, 2001). Essa região foi uma das primeiras regiões no Brasil a manter os resíduos da colheita, inclusive a casca, na área.

Os maiores estoques de C observados até a camada de 60 cm na área cultivada com eucalipto no solo apontam para contribuições além dos resíduos da colheita aportados em superfície, provavelmente, como C aportado pelas raízes em camadas mais profundas. A contribuição das raízes para o C do solo pode ser devido a sua senescência e ciclagem, ou ainda via exsudação radicular. Rasse et al. (2005) verificaram que após meses ou anos de cultivo 40 % do C aportado via raízes foi recuperado como C da MOS, enquanto a adição de C pela parte aérea contribuiu com apenas 20 % do C da MOS. Em estudo com diferentes materiais genéticos de eucalipto conduzidos sob reforma e rebrota na região litorânea no estado do Espírito Santo, foi observado que o C da raiz da rotação antecedente foi transferido para os compartimentos da MOS ao longo do tempo. Nesse estudo os estoques de COT aumentaram até o povoamento atingir 3 anos de idade, para a maioria dos povoamentos, e em média, a maior estocagem foi na camada de 0-60 cm, onde se teria maior densidade de raízes velhas, em especial na área conduzida (Pegoraro, 2007).

O solo arenoso do presente estudo está sob cultivo de eucalipto há 18 anos, com um período relativamente longo com pouca interferência antrópica na primeira rotação (14 anos). Desse modo, durante a primeira rotação pode ter ocorrido grandes deposições de C via serapilheira e sistema radicular. Parte desses resíduos pode ter sido incorporada a MOS, levando a incrementos nos estoques de COT, C-MOL, C-AH e C-AF até as camadas mais profundas em relação ao solo da mata. Some-se a estes, os resíduos aportados ao solo mais recentemente, por ocasião da reforma (há aproximadamente quatro anos), e da deposição da serapilheira da atual rotação, os quais devem ter contribuído para os aumentos de maior magnitude nas camadas mais superficiais do solo. A quantidade média de serapilheira acumulada em um povoamento de eucalipto com nove anos de idade em solo arenoso no município de Alegrete-RS foi de 5,4 t ha<sup>-1</sup> (Freitas et al., 2004). Em um Argissolo na região litorânea do Espírito Santo sob povoamentos



de eucalipto com sete anos (4<sup>a</sup> rotação) em áreas anteriormente cultivadas com pastagem, o estoque de C na serapilheira variou de 3,89 em sistemas sob reforma a 6,45 t ha<sup>-1</sup>, em sistemas conduzidos sob rebrota (Pegoraro, 2007).

Plantios de eucalipto em solos arenosos podem estar mais susceptíveis a situações de estresse, como, por exemplo, falta de água, em alguns períodos do ano, o que resultaria num acréscimo da produção de litter (Zinn et al., 2002). Adicionalmente, neste trabalho, os incrementos, de grande magnitude observados nos estoques de COT e NT podem ser devido ao fato de que a vegetação original usada como referência (mata de restinga) possuir menor produtividade primária, com menor aporte de material orgânico ao solo em relação ao povoamento de eucalipto. Como resultado a taxa média de adição de C ao solo em 18 anos de cultivo do eucalipto na camada de 0-100 cm, foi de 1,8 Mg ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup>. Compara com 0-100. Em Eucalipto (*E. urophylla*) cultivado por 34 anos (atualmente com seis anos de idade e na quarta rotação), em áreas anteriormente sob pastagens, o seqüestro de C na camada de solo de 0-20 cm pelo cultivo do eucalipto foi de 14,2 Mg ha<sup>-1</sup> em Virgíópolis-MG e 10,0 Mg ha<sup>-1</sup>, em Belo Oriente - MG, resultando numa taxa de seqüestro de C de aproximadamente 0,42 e 0,29 Mg ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup>, respectivamente (Lima et al., 2008). Aumentos no estoque de C em áreas cultivadas com eucalipto 34 anos foram observados em solos arenosos, com estoques de 47,3 Mg ha<sup>-1</sup> na área sob povoamentos de eucalipto (pastagem como uso prévio), 34,6 Mg ha<sup>-1</sup>, sob pastagem e 35,8 Mg ha<sup>-1</sup>, sob cana de açúcar, na camada de 0-40 cm (Lima et al., 2008).

Os incrementos observados nas SH seguiram a seguinte ordem HU>AH>AF. O fato de se observar maior contribuição nas frações AH e HU num solo com baixo potencial de estabilização física e coloidal da MOS, devido à natureza muito arenosa, pode ser devido à contribuição de um material herdado, parcialmente modificado pela comunidade microbiana. De fato, evidências para a contribuição direta de material vegetal parcialmente modificado, estabilizado por pontes de hidrogênio e cátions metálicos, para formação de SH de natureza supramolecular têm sido verificadas em solos de regiões temperadas (Kelleher et al., 2006) e tal mecanismo também pode ser importante em solos subtropicais, como no presente estudo. Resíduos vegetais com maiores teores de lignina levaram a formação de maiores quantidades de compostos fenólicos durante sua decomposição e isto esteve correlacionado com a quantidade de C que permanecia

no solo (Martens, 2000). O grande aporte de litter ao longo das rotações e a manutenção de resíduos de natureza mais recalcitrante, como casca e galhos, após a colheita da primeira rotação são fatores que podem estar contribuindo para aumentar a formação de AH e HU no presente estudo. Em razão desses solos não oferecerem grande proteção química e física à manutenção das SH formadas, pode ter sido favorecida a perda preferencial da fração AF. Nas áreas cultivadas com eucalipto ocorreu maior enriquecimento do estoque de AF em relação às outras frações em profundidade. Tal movimentação no perfil é facilitada pelo pequeno tamanho e pela maior solubilidade e mobilidade dos ácidos fúlvicos (Stevenson, 1994; Silva & Mendonça, 2007).

A contribuição do material oriundo da reforma e material advindo da serapilheira da atual rotação na camada superficial, pode estar influenciando fortemente a fração MOL. Os estoques elevados de C e N MOL nas camadas superficiais em cultivos de eucalipto em relação à mata nativa, são reflexo disso. Os estoques decrescem em relação à mata nativa nas camadas sub-superficiais. Por ser um compartimento mais lábil, a MOL é influenciada pelo clima, práticas de manejo adotadas, tipo de vegetação, e o tipo de solo. Os estoques de MOL são frequentemente regulados pela quantidade e qualidade do material aportado ao solo, sendo frequentemente incrementados em sistemas mais produtivos (Lima et al., 2008), com aplicação de resíduos orgânicos (Soares et al., 2008), e com a diminuição do revolvimento do solo e com espécies em rotação (Bayer et al., 2006). De acordo com Skorupa (2001) os resíduos de eucalipto possuem alta relação C/N, que varia de 30 a 100 dependendo da parte da planta em questão (além de altas relações C/P e C/S), o que resulta em decomposição mais lenta do resíduo, favorecendo a permanência desse por mais tempo no solo, e assim a contribuição para a fração MOL, principalmente nas camadas mais superficiais. Tal acréscimo reflete não apenas a deposição de litter, mas também incorporação de material derivado dos resíduos da colheita deixados no talhão por ocasião da reforma, corroborando o caráter dinâmico dessa fração, com rapidez em responder as alterações no uso do solo. Ashagrie et al. (2005) constataram a redução dos estoques de C e N associados a MOL com a introdução de povoamentos de eucalipto com 21 anos em áreas anteriormente sob floresta natural mista com predominância de *Podocarpus* em solo argiloso, na Etiópia. E embora o grau de

agregação do solo tenha sido o mesmo na área sob floresta natural e eucalipto, a perda da MOL intra-agregados (aproximadamente 60 % menor em relação à floresta) foi maior que a MOL livre nos solos sob plantio de eucalipto. Por outro lado, Lima et al. (2006) observaram que a MOL livre foi a fração mais sensível às mudanças impostas pelo cultivo de eucalipto em área anteriormente sob pastagens degradadas.

Avaliando-se cada uso individualmente sob as diferentes condições, observa-se maior capacidade do solo argiloso em armazenar MOS, em razão dos maiores teores de argila. Pôde-se observar que no solo arenoso as alterações são de maior magnitude (maiores deltas) quando se compara a mata nativa com aquele sob eucalipto. No solo argiloso as alterações foram menores, indicando maior resiliência. A maioria dos solos tropicais possui abundância de óxidos na fração argila, os quais possuem importante papel na estabilização da MOS (Wiseman & Putmann, 2005; Kleber et al., 2005). Adicionalmente, os complexos orgânicos formados com o Fe e o Al são de baixa solubilidade e acessibilidade a microbiota (Zech et al., 1997). Lima et al. (2008) também observaram forte influência do teor de argila na estabilização do C em solos sob plantios de eucalipto; os solos da região de Virgíópolis, com maior teor de argila, apresentaram maior seqüestro de C ( $14,2 \text{ Mg ha}^{-1}$ ) que em Belo Oriente ( $10,0 \text{ Mg ha}^{-1}$ ), os quais possuíam menor teor de argila na camada de 0-20 cm. Na região do cerrado de Minas, um Latossolo argiloso apresentou maiores estoques de C que um Neossolo Quartzarênico. No entanto, ao contrário dos resultados encontrados no presente estudo, o cultivo de eucalipto no solo arenoso reduziu os estoques de C; Após uma rotação com eucalipto houve redução de 17 % ( $9 \text{ Mg ha}^{-1}$ ) no estoque de C na camada de 0-60 cm, mas no solo argiloso não houve alteração nos estoques de C pelo cultivo do eucalipto (Zinn et al., 2002). Se apenas a camada de 0-60 cm for considerada no presente estudo, também se observa que o cultivo do eucalipto não alterou os estoques de COT do solo argiloso, o que ilustra claramente a necessidade de se avaliar camadas mais profundas em solos florestais. No estudo de Zinn et al. (2002), no entanto, na camada mais superficial dos solos (0-5 cm) as perdas de COT foram de 23 e 48 %, respectivamente, no solo argiloso e arenoso cultivados com eucalipto (Zinn et al., 2002). Uma possível explicação para a recuperação no COT mesmo no solo arenoso do presente estudo é o maior aporte de resíduos, pois a produtividade do eucalipto nessa região do estado do Rio

Grande do Sul, devido às condições climáticas mais favoráveis e materiais genéticos com maior potencial de crescimento (*E. camaldulensis* no estudo do cerrado e *E. grandis* no presente estudo), é da ordem de 100 % maior que aquela reportada por Zinn et al. (2002) para o Cerrado de Minas (115 e 151,3 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup> aos sete anos, para o solo arenoso e mais argiloso, respectivamente). As condições de inverno mais frio no RS do que no Cerrado também podem ter favorecido a manutenção da MOL.

Ao contrário do que foi observado para o COT e SH, os estoques de MOL e BM em áreas cultivadas sob eucalipto foram maiores no solo arenoso. Tal efeito positivo pode ter sido devido ao fato que no solo arenoso, o povoamento de eucalipto ter sido reformado há mais tempo (quatro anos), ou seja, está numa fase de maior deposição de uma nova serapilheira, além do fato de que os efeitos dos distúrbios pós-colheita e reforma já podem ter sido reduzidos. Assim, a MOL estaria numa fase de recuperação em estudos em áreas sob sistema agrosilvopastoril com eucalipto na região do cerrado foi observado que a fração MOL decrescem drasticamente logo após o preparo da área na fase de implantação, mas também foi a fração que indica mais precocemente a recuperação da MOS ao longo do tempo de implantação do sistema (Vergütz, 2007).

Os estoques de C-MOL são mais elevados no solo arenoso que no solo argiloso. Como a produtividade e, portanto, a deposição do eucalipto é cerca de 20 % maior no solo argiloso (Comunicação Pessoal, Elias Frank Araújo), existe algum fator (es) no solo arenoso que estaria restringindo a sua decomposição e favorecendo o seu acúmulo. Possivelmente, a baixa capacidade de retenção de água e nutrientes maiores oscilações na temperatura do solo arenoso favorece o retardamento da ciclagem da MOL. Essa fração da MOS é a MOL livre no solo, e como se trata de um solo arenoso, haveria pequena proteção entre os agregados.

Devido ao acúmulo mais superficial este estoque de C da MOL pode ser rapidamente perdido por ocasião da reforma em rotações futuras, o que ficará na dependência das práticas silviculturais empregadas. No solo arenoso a deposição de resíduos de eucalipto, que apesar de ser considerados de menor degradabilidade que àqueles da vegetação nativa (Pulronik, 2006), certamente servem como substrato para a microbiota do solo. Na biodegradação dos resíduos vegetais no solo ocorre uma sucessão trófica da população microbiana ao longo

do tempo, com a biota consumindo rapidamente o substrato facilmente oxidável e senescendo posteriormente, tornando-se substrato para outras populações mais especializadas que passam também a utilizar outros substratos de menor biodisponibilidade (Moreira & Siqueira, 2007). Essa grande deposição de C na forma de resíduos pode, na verdade, superar a capacidade da microbiota do solo decompô-la, resultando em acúmulo de materiais parcialmente decompostos, como têm sido observados em solos sob sistemas de rotação de culturas em plantio direto que aportam grandes quantidades de resíduos ao solo (Dieckow, 2003). Isto pode ter levado aos incrementos nos estoques de C-BM no solo arenoso, comparação ao argiloso.

A relação C-BM/C-MOL foi superior no solo argiloso, indicando que assim uma maior quantidade de C foi imobilizada na BM por unidade de MOL, o que sugere algum fator de limitação na utilização da MOL. Gama-Rodrigues et al. (2005) constataram que 48 e 55 % da variação do CBM e NBM estiveram associada à umidade.

No solo sob condição de mata nativa, sem a intervenção antrópica, os estoques de C-MOL e C-BM foram maiores para o solo argiloso. A capacidade de agregação dos solos argilosos é uma das principais características que regula o tamanho da população microbiana em relação ao solo arenoso. A proteção física dada a microbiota do solo, resulta em uma menor exposição às oscilações de temperatura e umidade.

## 5. CONCLUSÕES

O cultivo do eucalipto em sua segunda rotação em solo argiloso não alterou os estoques de COT, C-MOL e C-AF, mas reduziu aqueles de C-AH, C-HU e C-BM, tomando-se como referência a mata nativa.

No solo arenoso com povoamentos de eucalipto houve maiores estoques de COT, C-MOL, C-AH e C-AF do que os observados na mata de restinga. Os incrementos observados nas SH seguiram a seguinte ordem HU>AH>AF.

O solo argiloso sob uso de eucalipto estocou mais COT e SH que o solo arenoso. Ao contrário, os estoques de MOL e BM em áreas cultivadas sob

eucalipto foram maiores no solo arenoso. No solo sob condição de mata, os estoques de C-MOL e C-BM foram maiores para o solo argiloso.

## 6. LITERATURA CITADA

- ASHAGRIE, Y.; ZECH, W.; GUGGENBERGER, G. Transformation of a *Podocarpus falcatus* dominated natural forest into a monoculture *Eucalyptus globulus* plantation at Munesa, Ethiopia: soil organic C, N and S dynamics in primary particle and aggregate-size fractions. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 30:89-98, 2005.
- BAYER, C.; MARTIN-NETO, L.; MIELNICZUK, J.; PAVINATO, A.; DIECKOW, J. Carbon sequestration in two Brazilian Cerrado soils under no-till. *Soil and Tillage. Research*, 86:237-245, 2006.
- CHRISTENSEN, B.T. Carbon in primary and secondary organo-mineral complexes. In: CARTER, M.R.; STEWART, B.A. (Ed.). *Structure and organic matter storage in agricultural soil*, Boca Raton: CRC, 1996. p.97-165. (Advances in soil Science).
- CHATTERJEE, A.; VANCE, G.F.; PENDALL, E.; STAHL, P.D. Timber harvesting alters soil carbon mineralization and microbial community structure in coniferous forests. *Soil Biol. Biochem.*, 40:1901-1907, 2008.
- DIECKOW, J. Estoque e qualidade da matéria orgânica do solo em função de sistemas de culturas e adubação nitrogenada no sistema plantio direto. Tese (Doutorado em Ciências do Solo) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2003. 164 p.
- FREITAS, R.; SCHUMACHER, M.V.; CALDEIRA, M.V.W. & SPATHELF, P. Biomassa e conteúdo de nutrientes em povoamento de *Eucalyptus grandis* w. *hill ex maiden* plantado em solo sujeito à arenização, no município de Alegrete-RS. *Biomassa & Energia*, 1:93-104, 2004.
- GAMA-RODRIGUES, A.C. & BARROS, N.F. Ciclagem de nutrientes em floresta natural e em plantios de eucalipto e de dandá no sudeste da Bahia, Brasil. *Rev. Árvore*, 26: 193-207, 2002.
- GAMA-RODRIGUES, E. F.; BARROS, N.F.; GAMA-RODRIGUES, A.C.; SANTOS, J.A. Nitrogênio, carbono e atividade da biomassa microbiana do solo em plantações de eucalipto. *R. Bras. Ci. Solo*, 29:893-901, 2005.
- ISLAM, K.R. & WEIL, R.R. Microwave irradiation of soil for routine measurement of microbial biomass carbon. *Biol. Fert. Soils*, 27:408-416, 1998.

- JOHNSON, D.W. & CURTIS, P.S. Effects of forest management on soil carbon and nitrogen storage: meta analysis. *For. Ecol. Managem.*, 140, 227-238, 2001.
- JURGENSEN, M.F.; HARVEY, A.E.; GRAHAM, R.T.; PAGE-DUMROESE, D.S.; TONN, J.R.; LARSEN, M.J.; JAIN, T.B. Impacts of Timber Harvesting on Soil Organic Matter, Nitrogen, Productivity, and Health of Inland Northwest Forests. *Forest Science*, 43:234-251, 1997.
- KELLEHER, B.P.; SIMPSON, M.J.; SIMPSON, A.J. Assessing the fate and transformation of plant residues in the terrestrial environment using HR-MAS NMR spectroscopy. *Geoch. et Cosmochimica Acta*, 70:4080-4094, 2006.
- KHANNA, P.K.; LUDWING, B.; BAUHUS, J.; O'HARA, C. Assessment and significance of labile organic C pools in forest soils. In: LAL, R.; KIMBLE, J. M.; FOLLET, R. F.; STEWART, B.A. (Ed). *Assessment methods for soil carbon Advances in Soil Science*. Lewis, Boca Ranton, 2001.p 167-192.
- KLEBER, M.; MIKUTTA, R.; TORN, S.; JAHN, R. Poorly crystalline mineral phases protect organic matter in acid subsoil horizons. *Europ. J. Soil Sci.* 56:717-725, 2005.
- LAL, R. Forest soils and carbon sequestration. *For. Ecol. Manag.*, 220:242-258, 2005.
- LEITE, L.F.C.; MENDONÇA, E.S.; NEVES, J.C.L.; MACHADO, P.L.O. A & GALVÃO, J.C.C. Estoques totais de carbono orgânico e seus compartimentos em argissolo sob floresta e sob milho cultivado com adubação mineral e orgânica. *R. Bras. Ci. Solo*, 27:821-832, 2003.
- LIMA, A.M.N.; SILVA, I. R.; NEVES, J.C.L.; NOVAIS, R. F.; BARROS N.F.; MENDONÇA, E.S.; SMYTH, T. J.; MOREIRA, M. S.; LEITE, F. P. Soil organic carbon dynamics following afforestation of degraded pastures with eucalyptus in southeastern Brazil, *For. Ecol. Manag.*, 235: 219-231, 2006.
- LIMA, A.M.N.; SILVA, I.R.; NEVES, J.C.L.; NOVAIS, R.F.; BARROS, N.F.; MENDONÇA, E.S.; DEMOLINARI, M.S.M. & LEITE, F.P. Frações da matéria orgânica do solo após três décadas de cultivo de eucalipto no vale do Rio Doce - MG. *R. Bras. Ci. Solo*, 32: 1053-1063, 2008.
- MARTENS, D.A. Plant residue biochemistry regulates soil carbon cycling and carbon sequestration. *Soil Biol. Biochem.* 32:361-369, 2000.
- MOREIRA, F.M.S. & SIQUEIRA, J.O. *Microbiologia e bioquímica do solo*. Lavras, ed. UFLA, 2007. p. 729.
- PEGORARO, R.F. Sequestro de carbono e alterações bioquímicas da matéria orgânica de solos cultivados com eucalipto. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2007. 140 p. 2007. Tese de Doutorado.

- PENNOCK, D.J.; van KESSEL, C. Clear-cut forest harvest impacts on soil quality indicators in the mixedwood forest of Saskatchewan, Canada. *Geoderma*, 75:13-32, 1997.
- PULROLNIK, K. Estoque e qualidade da matéria orgânica do solo de plantações de eucalipto em área de Cerrado. Tese (Doutorado em Solos Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2007. 85. p.
- RASSE, D.P.; RUMPEL, C.; DIGNAC, M. F. Is soil carbon mostly root carbon? Mechanisms for a specific stabilization. *Plant Soil*, 269:341-356, 2005.
- STEEL, R.G.D.; TORRIE, J.H. & DICKEY, D.A. Principles and procedures of statistics: a biometrical approach. New York: Mcgraw-Hill, 1997. 666p.
- SILVA, E.F. Frações da matéria orgânica e decomposição de resíduos da colheita de eucalipto em solos de tabuleiros costeiros da Bahia. Tese (Dotourado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2008. 124. p.
- SILVA, I.R. & MENDONÇA, E.S. Matéria orgânica do solo. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V., V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F., CANTARUTTI, R.B. & NEVES, J.C.L. eds. Fertilidade do solo. Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p. 275-374.
- SILVA, I.R.; NOVAIS, R.F.; BARROS, N.F. & SILVA, E.F. Manejo de resíduos e matéria orgânica do solo em plantações de eucalipto: uma questão estratégica para a manutenção da sustentabilidade. *Boletim Informativo da Sociedade Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, 29, 2004, p.10-20.
- SIX, J.; CONANT, R.T.; PAUL, E.A. & PAUSTIAN, K. Stabilization mechanisms of soil organic matter: Implications for C-saturation of soils. *Plant Soil*, 24:155-176, 2002.
- SKORUPA, A.L.A. Acumulação e decomposição de serapilheira em povoamento de eucalipto na região do Baixo Rio do Doce-MG. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2001. 68p. Dissertação de Mestrado.
- SOARES, E.M.B.; SILVA, C.A.; DIAS, B.O.; BETTIOL, W.; BELIZÁRIO, M.H. Frações da matéria orgânica de Latossolo sob influência de doses de lodo de esgoto. *Pesq. Agropec. Bras.* 43:1231-1240, 2008.
- SOHI, S.P.; MAHIEU, N.; ARAH, J.R.M.; POWLSON, D.S.; MADARI, B.; GAUNT, J.L. A procedure for isolating soil organic matter fractions suitable for modeling. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 65: 1121-1128, 2001.
- SWIFT, R.S. Method for extraction of IHSS soil fulvic and humic acids. In. SPARKS, D.L.; PAGE, A.L.; HELMKE, P.A.; LOEPPERT, R.H.; SOLTANPOUR, P.N.; TABATABAI, M.A.; JOHNSTON, C.T. &



- SUMMER, M.E., ed. Methods of soil analysis. Part 3. Chemical methods. Soil Science Society of American Books, 1996. p. 1018-1020.
- STEVENSON, F.J. 1994. Humus chemistry: genesis, composition, reactions. 2.ed. New York: J. Wiley, 496p.
- VERGUTZ, L. Mudanças na matéria orgânica do solo causada pelo tempo de adoção de um sistema agrosilvopastoril com eucalipto. 2007. 33. p Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa
- WISEMAN, C.L.S. & PUTTMANN, W. Interactions between mineral phases in the preservation of soil organic matter. *Geoderma*, 134:109-118, 2005.
- YEOMANS, J.C. & BREMNER, J.M. 1988. A rapid and precise method for routine determination of organic carbon in soil. *Comm. Soil. Sci. Plant Anal.*, 13:1467-1476.
- YANAI, R.D.; CURRIE, W.S.; GOODALE, C. L. Soil Carbon Dynamics after Forest Harvest: An Ecosystem Paradigm Reconsidered. *Ecosystems*. 6:197-212, 2003.
- ZECH, Z.; SENEZI, N.; GUGGENBERGER, G.; KAISER, K.; LEHMANN, J.; MIANO, T.M.; MILTNER, A.; SCHROTH, G. Factors controlling humification and mineralization of soil organic matter in the tropics. *Geoderma*, 79:69-116, 1997.
- ZINN, Y.L.; RESCK, D.V.S. & SILVA, J.E. Soil organic carbon as affected by afforestation with *Eucalyptus* and *Pinus* in the *Cerrado* region of Brasil. *For. Ecol. Manage.*, 166:285-294, 2002.
- ZINN, Y. L.; LAL, R.; RESCK, D.V.S. Changes in soil organic carbon stocks under agriculture in Brazil. *Soil & Till. Res.*, 84:28-40, 2005.

## CAPITULO II

### FRAÇÕES DA MATÉRIA ORGÂNICA SOB INFLUÊNCIA DA DURAÇÃO DA ROTAÇÃO, E DO TEMPO APÓS A REFORMA DE POVOAMENTOS DE EUCALIPTO

#### RESUMO

O objetivo desse trabalho foi avaliar alterações nos estoques totais de C orgânico total (COT), N (NT), e C e N associados às frações ácidos húmicos (AH), ácidos fúlvicos (AF), humina (HU), matéria orgânica leve (MOL) e biomassa microbiana (BM), em Argissolo sob povoamentos de eucalipto com 10, 13 e 22 anos, nunca cortados, e em áreas reformadas há um, dois e quatro anos, e bem como uma área de referência sob campo nativo, no Rio Grande do Sul. O cultivo do eucalipto em áreas anteriormente sob campo nativo levou, após 10 de cultivo, à perda no estoque de COT (0-10 cm), mas após 13 e 22 anos houve aumento de 24,8 e 61 Mg ha<sup>-1</sup> de COT (0-100 cm). Ocorreram reduções no estoque de NT de 8, 22 e 27 % aos 10, 13 e 22 anos respectivamente (0-40 cm). Foram observadas incrementos no estoque de C-AF após 13 e 22 anos, e de C-HU após 22 anos de cultivo de eucalipto. Foi observado aumento no C-AH aos 10 e 13 anos, entretanto, aos 22 anos houve redução. O C-MOL decresceu 1 Mg ha<sup>-1</sup> após 10 anos (0-100 cm), com recuperação após 13 e 22 anos. Observou-se incremento médio (após 10, 13 e 22 anos) de 0,7 e 0,07 Mg ha<sup>-1</sup> de C e N-BM, respectivamente (0-60 cm). A mudança de cobertura vegetal e as práticas silviculturais introduzidas levaram ao decréscimo de várias frações da MOS aos 10 anos, mas tais efeitos foram amenizados e os estoques de C da maioria das frações recuperaram em razão das rotações mais longas. A reforma do povoamento de eucalipto com 13 anos levou à incrementos de 78 % no estoque de COT (0-100 cm) após um ano, com reduções após dois e quatro anos. Após dois anos houve aumentos nos estoques de NT, os quais se mantiveram o mesmo patamar que antes da reforma até os quatro anos. Os acréscimos nos estoques de C-AF foram de 14,7 e 14,4 Mg ha<sup>-1</sup> após um e dois anos, respectivamente, mas esses não se mantiveram após quatro anos (0-100 cm). O C-AH foi reduzido após dois e quatro anos em 14,8 e 13,5 Mg ha<sup>-1</sup>, respectivamente (0-100 cm); mas não houve alteração nos estoques de N-AH. Aumentos de 63,5 e 13,5 Mg ha<sup>-1</sup> no estoques de C-HU foram observados um e dois após a reforma (0-100 cm), e após

quatro anos observaram-se decréscimos de  $7,4 \text{ Mg ha}^{-1}$  (0-100 cm); após um ano da reforma constatou-se aumento de  $1,4 \text{ Mg ha}^{-1}$  nos estoques de N-HU (0-100 cm). A contribuição da serapilheira do cultivo anterior, e dos resíduos retornados ao solo por ocasião da colheita resulta em incrementos iniciais de várias frações da MOS (após um ano). Contudo, ocorre efeito negativo nos anos posteriores (até quatro anos), possivelmente devido ao distúrbio da operação de colheita, e ao preparo da área para o novo plantio.

**Palavras chave:** Solos florestais, reforma, substâncias húmicas, biomassa microbiana, matéria orgânica leve.

## SOIL ORGANIC MATTER FRACTIONS UNDER INFLUENCE OF ROTATION LENGTH, AND TIME AFTER REFORM OF EUCALYPT PLANTATION

### ABSTRACT

The present study aimed to evaluate the alterations in total organic C (TOC), total N (TN), and C and N associated to humic acids (HA), fulvic acids (FA), humin (HU), light organic matter (LOM) and microbial biomass (MB) stocks, in an Ultisol under 10-, 13- and 22-year old eucalypt plantations, never cut, and in areas that have been reformed one, two and four years ago in Rio Grande do Sul state. We also sampled soils in a native grassland field as a reference. The eucalypt cultivation in areas previously under Grassland after 10 years decreased TOC stocks (0-10 cm). After 13 and 22 years of eucalypt cultivation there were TOC stocks (0-100 cm) increases of 24.8 and 61 Mg ha<sup>-1</sup>. Decreases in the TN stocks of 8 %, 22 % and 27 % were seen 10, 13 and 22 years after eucalypt cultivation started (0-40 cm). Increments were observed in C-FA stock after 13 and 22 years and in C-HU after 22 years. C-HA increases were observed 10 and 13 years after planting eucalypt, however, by 22 years there was a significant drop in the stock. After 10 years the C-LOM stocks decreased 1 Mg ha<sup>-1</sup> (0-100 cm), with recovery after 13 and 22 years. An average (across 10, 13 and 22-year old sites) increase of 0.7 and 0.07 Mg ha<sup>-1</sup> C-BM and N-MB were observed, respectively (0-60 cm). The vegetation change and the introduced management practices might have caused the decreases observed 10 years after eucalypt cultivation. Such negative effects were lessened because longer rotations favor the return of organic residues to the soil, the recycling and incorporation of C in SOM fraction that recovered in older eucalypt soils. The reform (new planting) of eucalypt plantation resulted in increments in TOC stocks of 78 % (0-100) one year later, with decrease observed two and four years after the new planting. After two years there were increases up to four years in the TN stock varied little and remained in the same level found before the reform. C-FA increments were 14.7 and 14.4 Mg ha<sup>-1</sup> after one and two years, respectively, whereas after four years there was a decrease (0-100 cm). C-HA stocks decreased after two and four years by 14.8 and 13.5 Mg ha<sup>-1</sup>, respectively (0-100 cm); there was no difference for N-HA stocks a long time; while increases of 63.5 and 13.5 Mg ha<sup>-1</sup> in C-HU stocks were observed

respectively after one and two years (0-100 cm). After four years a decrease of 7.4 Mg ha<sup>-1</sup> (0-100 cm) was observed; only after one year an increase of 1.4 Mg ha<sup>-1</sup> was verified in N-HU stock. The litter input from previous cultivations and from residues returned to the soil after harvest may have resulted in initial SOM stocks increments (after one year). However there are negative effects in the years that followed possibly due to harvest operation, and site preparation for the next eucalypt plantation.

**keywords:** forest soils, reform, humic substances, microbial biomass, light organic matter.

## 1. INTRODUÇÃO

A implantação de povoamentos com espécies florestais exóticas, tais como o eucalipto, tem aumentado expressivamente em razão da crescente demanda global. Devido às condições favoráveis ao rápido crescimento do eucalipto na maior parte do Brasil, as rotações têm sido cada vez curtas. Não mais do que duas décadas atrás era comum se ter rotações de aproximadamente 10 anos, mas atualmente a maioria das florestas comerciais possuem rotação de cinco a sete anos. Quando as rotações são conduzidas sob sistema de reforma, além do impacto da operação de colheita e baldeio da madeira, ocorre distúrbio adicional do sítio pelo preparo da área para o novo plantio. Esses distúrbios incluem compactação e desagregação do solo, incorporação de resíduos e horizontes orgânicos na massa de solo da região preparada, maior exposição do solo ao sol e a chuva, com alteração no regime de umidade e temperatura, além da menor taxa de infiltração de água e maior predisposição a erosão (Jurgensen et al., 1997; Yanai et al. 2003; Silva et al., 2004; Lal, 2005; Epron et al., 2006; Schnurr-Pütz, 2006; Dias Junior et al., 2007). A combinação dessas várias alterações geralmente altera a estrutura e atividade biológica do solo (Hasset & Zak, 2005; Chatterjee et al., 2008; Tan et al., 2008), com potenciais efeitos na dinâmica e no sequestro de C na matéria orgânica do solo (MOS). Em florestas temperadas têm sido frequentemente observado que os fluxos de CO<sub>2</sub> aumentam e a MOS decresce logo após a colheita (Jurgensen et al., 1997; Pennock & van Kessel, 1997; Yanai et al., 2003; Chaterjee et al., 2008), mas os efeitos negativos parecem ser minimizados quando se faz apenas a remoção do lenho do sítio (Johnson & Curtis, 2001).

No entanto, o impacto da colheita e reforma de povoamentos de eucalipto, especialmente em regiões tropicais e subtropicais, ainda é pouco conhecido. Num sítio onde se fez o corte raso de povoamentos de eucalipto no Congo observou-se que os fluxos de CO<sub>2</sub> no primeiro ano após a colheita eram menores que naquele não cortado. As alterações na MOS nas parcelas não foram avaliadas, pois se acreditou que as mudanças seriam muito pequenas comparadas aos estoques. Contudo, é possível que ela tenha sido reduzida, pois a respiração heterotrófica no primeiro ano aumentou 115 % no sítio com corte raso, o que pode ter sido compensado pela manutenção dos resíduos no talhão (Epron et al., 2006).

As perdas de MOS após os distúrbios podem levar anos e até mesmo décadas para estabilizar e voltar aos níveis originais (Johnson et al., 2002; Yanai et al., 2003; Lal, 2005). Em alguns casos, mesmo após décadas do distúrbio inicial a MOS ainda não se recuperou. Na Austrália, a implantação de eucalipto em solos de pastagens levou a redução da MOS até 15 anos após o plantio, mas mesmo após 35 anos ela não havia retornado ao valor original (Turner & Lambert, 2000). Um comportamento semelhante da MOS em solos sob cultivo do eucalipto com rotações curtas no Brasil seria insustentável ao longo do tempo, visto que se iniciaria uma segunda rotação com a MOS abaixo dos valores do início da rotação anterior. De fato, povoamentos de eucalipto cultivados por mais tempo sob condições similares de solo e clima conseguem manter valores mais elevados de MOS do que aqueles manejados com rotações mais curtas e, conseqüentemente, com distúrbios de sítio mais freqüentes (Pegoraro, 2007). As perdas de MOS induzidas por ocasião da reforma das áreas pode ser compensada pelo grande aporte de resíduos da colheita e de cepas do cultivo anterior (Silva et al., 2004; Faria et al., 2008). Isso pode explicar pelo menos parte dos incrementos na MOS, especialmente de frações mais lábeis, aproximadamente um ano após a reforma de um eucalipto bastante produtivo no Extremo Sul da Bahia (Silva, 2008).

O impacto do cultivo do eucalipto na dinâmica da matéria orgânica em solos originalmente sob Campo Nativo no Sul do Brasil ainda é pouco conhecido. Com a alteração do uso do solo e a substituição de uma vegetação graminóide por um povoamento florestal é de se esperar que ocorram mudanças nos vários compartimentos da MOS, mas com alterações precoces nos compartimentos mais lábeis e, talvez, a formação de uma MOS mais humificada em longo prazo. Assim, poderia se hipotetizar que a introdução de povoamentos de eucalipto em áreas sob campo nativo resultaria em reduções nos estoques totais de C e N, mas que poderiam ser recuperados ao longo do cultivo, a depender de como os povoamentos são manejados; a adoção de rotações mais curtas dificultaria o restabelecimento dos estoques originais. Tais alterações podem ser mais evidentes em curto prazo em frações mais lábeis da MOS, tais como a biomassa microbiana (BM) e a (MOL) (Janzen et al., 1992; Silva & Resck, 1997; Freixo et al., 2002; Leite et al., 2003; Lima et al., 2006; Silva, 2008). Deste modo, os objetivos desse trabalho foram: i) avaliar a alteração nos estoques totais de C e N e de seus compartimentos em solos sob povoamentos de eucalipto com diferentes idades,

nunca cortados, e que foram estabelecidos em área de campo nativo; ii) avaliar as alterações em frações lábeis e mais estáveis da MOS em tempos variáveis após a reforma de povoamentos de eucalipto implantados em área de campo nativo.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### *Local de estudo e amostragem do solo*

Os solos foram coletados em plantações clonais comerciais de eucalipto (*Eucalyptus grandis*) no município de Triunfo, no leste do estado do Rio Grande do Sul. As amostras foram oriundas de talhões selecionados para representar os plantios da região, no horto florestal de Colorado. A coleta do solo foi realizada no ano de 2005, em quatro repetições. Os solos foram secos ao ar, destorroados e passados em peneira de 2 mm. Sub-amostras foram retiradas para caracterização química (Quadro 1) e física (Quadro 2). Nos dois estudos foram amostradas as camadas de solo de 0-10; 10-20; 20-40; 40-60; 60-100 cm de profundidade.

**Quadro 1.** Caracterização química de amostras de Argissolo sob diferentes usos, na camada de 0-10 cm, no leste do Rio Grande do Sul.

Uso do Solo	pH	Ca	Mg	Al	H+Al	P	K	CTC pH 7
		-----cmol <sub>c</sub> dm <sup>-1</sup> -----					mg dm <sup>-1</sup>	cmol <sub>c</sub> dm <sup>-1</sup>
Campo Nativo	4,59	0,81	0,83	1,89	5,79	3,23	43,21	7,43
Eucalipto 10 anos	4,40	2,28	1,46	2,02	5,79	18,31	97,13	9,53
Eucalipto 13 anos	4,45	2,39	1,34	2,02	7,25	7,33	153,29	10,98
Eucalipto 22 anos	4,18	0,35	0,70	4,16	7,25	13,92	73,16	8,30
Eucalipto 1 ano	4,16	0,13	0,29	4,29	11,30	10,15	113,35	11,72
Eucalipto 2 anos	4,05	0,35	0,43	4,54	8,87	14,31	55,19	9,65
Eucalipto 4 anos	4,25	1,27	0,81	2,90	6,60	13,17	105,36	8,68

pH em H<sub>2</sub>O – relação 1:2,5; P e K – Extrator Mehlich 1; Ca,Mg, Al extraíveis com KCl 1 mol L<sup>-1</sup>; H+Al – Extrator Acetato de Cálcio 0,5 mol L<sup>-1</sup>.



**Quadro 2.** Composição granulométrica do Argissolo Vermelho sob campo nativo e eucalipto com diferentes idades, e eucaliptos com vários tempos pós-reforma

Uso do Solo	Camada de solo (cm)	Areia	Silte	Argila	Densidade
		-----%-----			kg dm <sup>-3</sup>
Campo Nativo	0-10	45	16	39	1,01
	10-20	45	15	40	0,86
	20-40	38	15	47	0,78
	40-60	37	12	51	0,76
	60-100	34	13	53	1,31
Eucalipto 10 anos	0-10	48	17	35	0,79
	10-20	47	14	39	0,90
	20-40	47	17	36	0,96
	40-60	43	16	41	0,94
	60-100	34	14	52	0,77
Eucalipto 13 anos	0-10	38	20	42	0,69
	10-20	44	17	39	0,72
	20-40	54	20	26	0,99
	40-60	59	16	25	1,08
	60-100	52	20	28	1,17
Eucalipto 22 anos	0-10	46	12	42	1,03
	10-20	40	10	50	1,03
	20-40	26	11	63	0,84
	40-60	35	13	52	1,01
	60-100	21	16	63	0,83
Eucalipto Reformado há 1 ano	0-10	31	14	55	1,01
	10-20	30	12	58	1,04
	20-40	35	8	57	0,77
	40-60	28	9	63	0,79
	60-100	19	11	70	0,71
Eucalipto Reformado há 2 anos	0-10	49	18	33	0,87
	10-20	45	17	38	0,84
	20-40	44	18	38	0,96
	40-60	42	16	42	0,93
	60-100	41	16	43	0,83
Eucalipto Reformado há 4 anos	0-10	46	11	43	1,07
	10-20	44	9	47	1,02
	20-40	27	11	62	0,88
	40-60	19	17	64	0,77
	60-100	19	21	60	0,84

O solo é um Argissolo Vermelho, e nessa área foram selecionadas duas cronosequências onde foram realizados dois estudos: o primeiro constituiu-se da avaliação do efeito da duração da rotação (idade do eucalipto) nas frações da matéria orgânica do solo (MOS), amostrando-se para tanto solo sob vegetação nativa (campo nativo) como referências e povoamentos de eucalipto implantados há 10, 13, e 22 anos em área anteriormente sob campo nativo. Esses povoamentos foram implantados num sistema de cultivo mínimo e nunca foram cortados; o segundo estudo consistiu na avaliação do efeito do tempo após a reforma de povoamentos de eucalipto que havia sido implantado em solo sob campo nativo. Foram amostrados o campo nativo (referência original), um povoamento de eucalipto com 13 anos (implantado em área de campo nativo) e que não foi reformado (tempo 0), além de áreas desse mesmo eucalipto que foram reformadas há um, dois e quatro anos.

#### ***Frações da matéria orgânica do solo***

O total de carbono em compostos orgânicos (COT) foi determinado por meio de oxidação via úmida, com aquecimento externo (Yeomans & Bremner, 1988) e o nitrogênio total (NT) pelo método de Kjeldhal.

As frações das substâncias húmicas (SH) foram obtidas por meio de fracionamento químico segundo o método da International Humic Substances Society (Swift, 1996), obtendo-se as frações ácidos fúlvicos (AF), ácidos húmicos (AH) e huminas (HU). Em cada fração obtida foi feita a determinação de C (Yeomans & Bremner, 1988) e N (método de Kjeldhal).

Para a obtenção da matéria orgânica leve (MOL), seguiu-se o procedimento proposto por Sohi et al. (2001) utilizando-se solução de iodeto de sódio (NaI,  $d = 1,8 \text{ kg L}^{-1}$ ). Os teores de C e N na MOL foram determinados por combustão via seca em analisador elementar.

Antes da determinação do C e N da biomassa microbiana (BM) sub-amostras dos solos foram pré-incubadas por 15 dias à 25 °C com umidade em 60 % da capacidade de campo para permitir o restabelecimento da comunidade microbiana. A determinação do C (C-BM) e N (N-BM) associados à BM foi realizada obtendo-se inicialmente os extratos salinos pelo método da irradiação-

extração (Islam & Weil, 1998), seguida pela determinação de C e N pelos métodos de Yeomans & Bremner (1988) e Kjeldhal, respectivamente.

Com objetivo de corrigir qualquer influência da compactação nas áreas cultivadas com eucalipto, todos os estoques de C e N associados às frações da MOS foram obtidos por meio da multiplicação do teor ( $\text{g kg}^{-1}$ ) pela massa de solo sob a vegetação de referência, em cada camada estudada. A massa de solo de referência foi obtida por meio da multiplicação da espessura de cada camada (m), pela sua densidade ( $\text{kg dm}^{-3}$ ), e volume de solo ( $\text{dm}^3$ ). Finalmente, foram calculados os estoques acumulados das camadas de 0-10, 0-20, 0-40, 0-60 e 0-100 cm. Os resultados foram submetidos à análise de variância, utilizando-se um delineamento inteiramente casualizado. As médias dos tratamentos foram comparadas com o teste de DMS de Fisher, protegido ( $p < 0,05$ ) (Steel et al., 1996) utilizando o programa estatístico SAEG 9.0.

### 3. RESULTADOS

#### *Efeito da duração da rotação (idade) do eucalipto*

A idade do povoamento de eucalipto alterou as frações da MOS de forma distinta, e os efeitos variaram bastante com a profundidade. Após 10 anos da substituição do campo nativo pelo eucalipto observou-se diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) no estoque de COT na camada de 0-10 cm (Figura 1). No entanto, as perdas de C só foram significativas na camada superficial (0-10 cm), pois quando se considerou as camadas mais profundas, os estoques se igualaram aos valores do solo sob campo nativo. Do mesmo modo, no povoamento mais velho de eucalipto com 13 anos houve ligeira redução no estoque de COT de 0-10 cm, alcançou o mesmo valor que o solo de campo nativo nas camadas de 0-20 e 0-40 e 0-60 cm, e atingiu um valor superior na camada de 0-100 cm, com aumento de  $24,8 \text{ Mg ha}^{-1}$ .

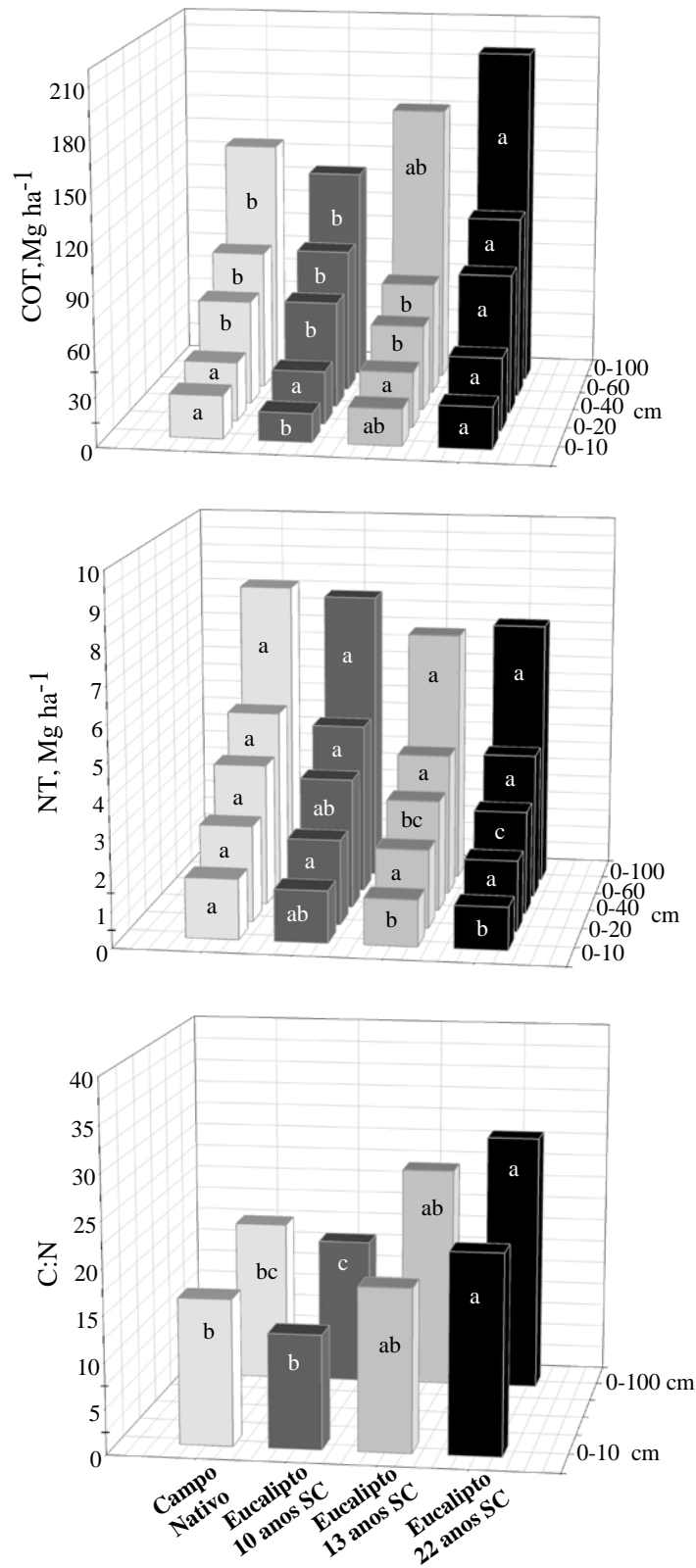
Após 22 anos de cultivo de eucalipto na camada superficial (0-10 cm) observou-se que o estoque de COT era similar aquele do solo campo nativo, com média ao redor de  $25,6 \text{ Mg ha}^{-1}$  (0-10 cm). A partir dos 20 cm de profundidade, os estoques de COT foram significativamente superiores no solo sob eucalipto. Considerando-se a camada de 0-100 cm houve incremento de  $61 \text{ Mg ha}^{-1}$  do COT no solo deste povoamento mais velho (22 anos).

Os estoques de NT apresentaram comportamento distinto daqueles de COT. Foram observadas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) nas camadas de 0-10 cm e 0-40 cm. Na camada de 0-40 cm, observou-se reduções no estoque de NT de aproximadamente 8, 22 e 27 % no solo com povoamentos de 10, 13 e 22 anos, respectivamente, em relação ao solo sob campo nativo. Com o passar do tempo observou-se alargamento da relação C:N na camada de 0-10 e 0-100 cm (Figura 1). Isso ocorreu devido os ganhos de COT terem sido acompanhados por reduções de NT ao longo do tempo.

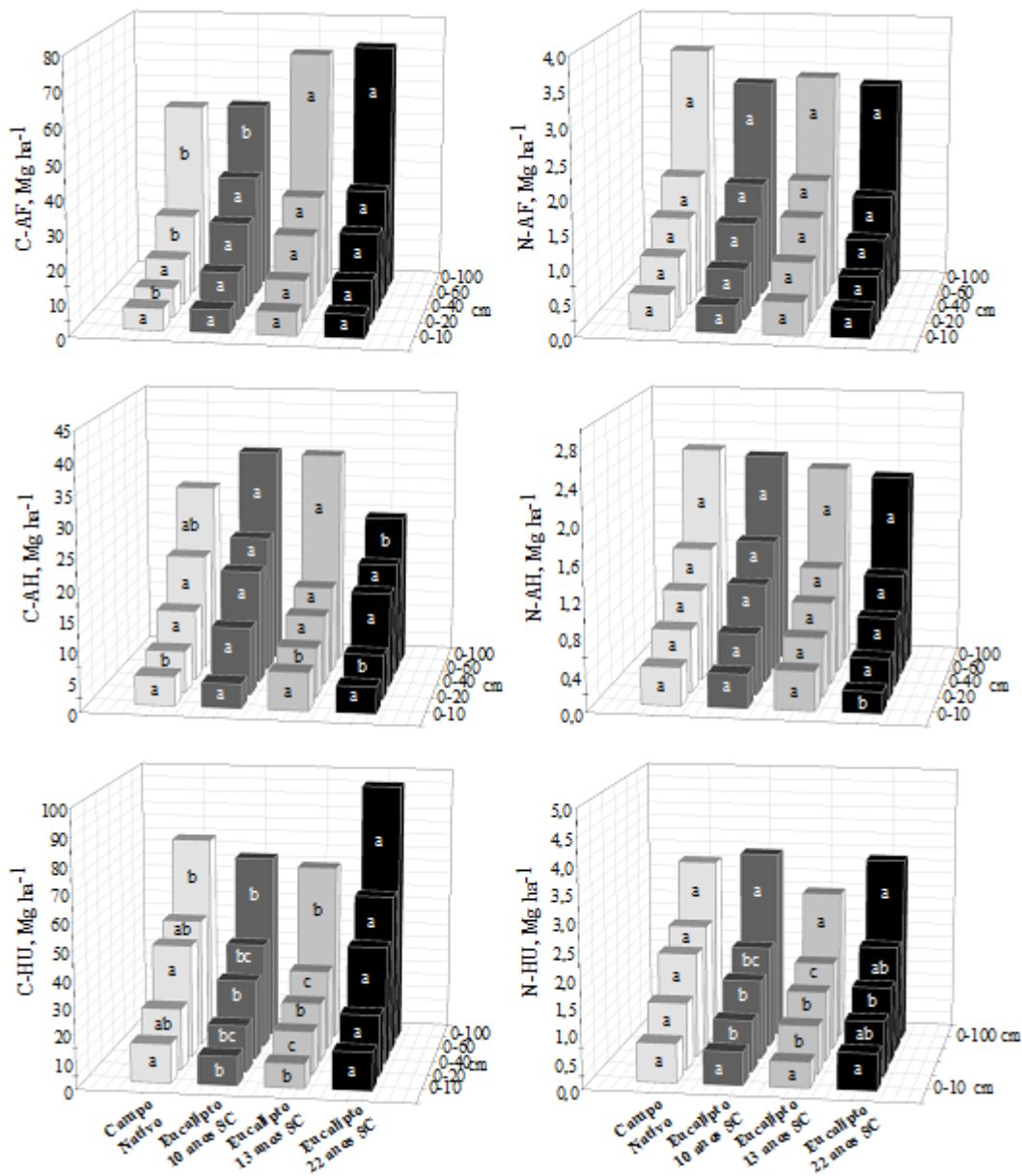
O estoque de C-AF nas camadas de 0-20 de 0-60 cm aumentou significativamente ( $p < 0,05$ ) a partir dos 10 anos de cultivo até os 22 anos (Figura 2). Na camada de 0-100 cm incrementos nos estoques de C-AF só foram observados após 13 anos de cultivo, e estes se mantiveram elevados até os 22 anos. Os estoques de N-AF não apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) ao longo do tempo entre solo sob eucalipto e campo nativo.

O solo cultivado com eucalipto por 10 anos apresentou o maior estoque de C-AH na camada de 0-20 cm (Figura 2). Na camada de 0-100 cm o maior estoque de C-AH foi observado no solo sob povoamento de eucalipto com 22 anos. As demais áreas apresentaram estoques similares aos da área sob campo nativo. Só foi observada diferença significativa no estoque de N-AH na camada de 0-10 cm, em que o eucalipto de 22 anos apresentou o estoque mais baixo.

Tomando-se o solo de campo como referência O estoque de C-HU nas camadas de 0-10, 0-20, 0-40 e 0-60 cm, decresceu em áreas cultivadas por 10 e 13 anos com eucalipto. Contudo, considerando-se a camada de 0-100 cm esses estoques alcançaram os mesmos valores que os observados no solo sob campo. O povoamento de 22 anos por sua vez, apresentou estoque similar àquele campo nativo na camada de 0-10 e 0-40 cm, atingindo valores superiores ao solo do campo nativo nas camadas de 0-20, 0-60 e 0-100 cm.



**Figura 1.** Estoques total carbono orgânico (COT), Nitrogênio Total (NT) e relação C:N em Argissolo Vermelho da região Leste do estado do Rio Grande do Sul sob campo nativo, e eucalipto implantado há 10, 13, e 22 anos em área originalmente sob campo nativo. Médias de usos com letras minúsculas iguais, dentro de cada camada de solo, não diferem estatisticamente (Teste de DMS de Fisher protegido) ao nível de 5 %.

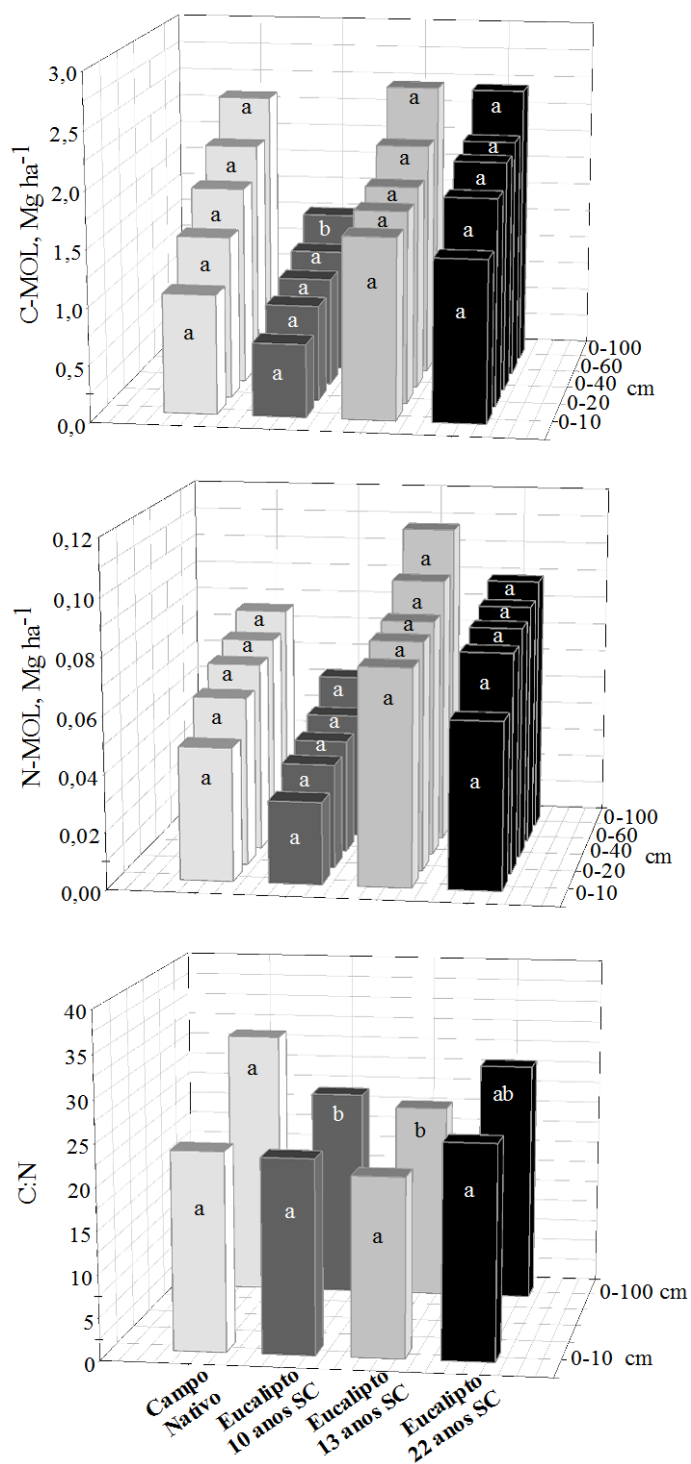


**Figura 2.** Estoques de C e N associados às frações ácidos fúlvicos (C-AF e N-AF), ácidos húmicos (C-AH e N-AH) e humina (C-HU e N-HU) em Argissolo Vermelho da região Leste do estado do Rio Grande do Sul sob campo nativo, e eucalipto implantado há 10, 13, e 22 anos em área originalmente sob campo nativo. Médias de usos com letras minúsculas iguais, dentro de cada camada de solo, não diferem estatisticamente (Teste de DMS de Fisher protegido) ao nível de 5 %.

Decréscimos em relação ao solo de campo foram observados também no estoque de N-HU, nas camadas de 0-20, 0-40 e 0-60 cm nos povoamentos de eucalipto de com 10 e 13 anos. No entanto, mesmo na camada de 0-100 cm estoques não retornaram aos valores do solo de vegetação natural. No povoamento de 22 anos os estoques de N-HU foram maiores que nos povoamentos mais jovens (10 e 13 anos) mas ainda ficaram abaixo daqueles do campo nativo.

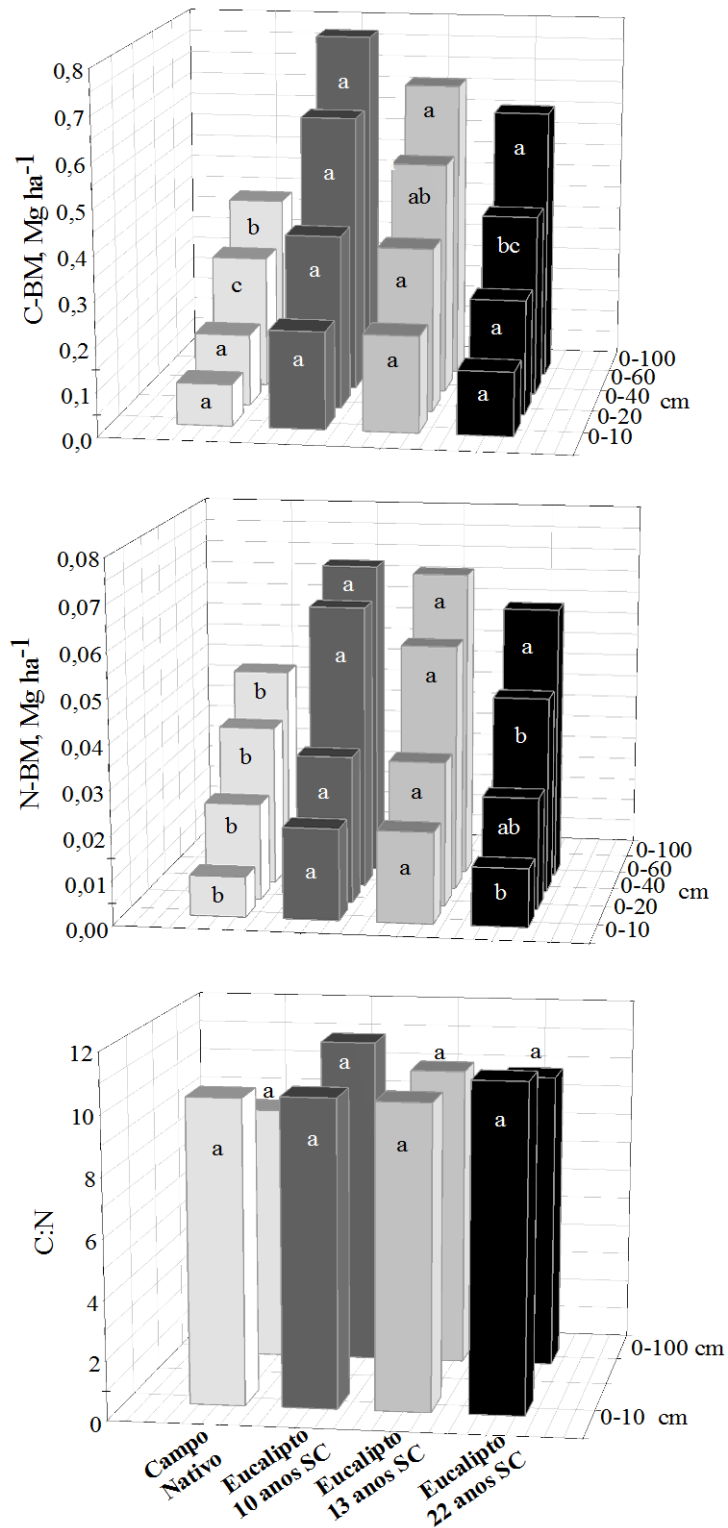
Só foram detectadas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) no C associado a MOL (C-MOL) na camada de 0-100 cm. A substituição do campo nativo resultou em decréscimo de  $1 \text{ Mg ha}^{-1}$  em solo cultivado com eucalipto por 10 anos (Fig. 3). Após 13 anos já se observa a recuperação desse estoque em comparação ao campo nativo, o qual se se manteve no mesmo patamar em solo sob eucalipto com 22 anos. A relação C:N da MOL decresceu nos povoamentos de eucalipto com 10 e 13 anos, mas voltou a alargar no povoamento de 22 anos, ficando ainda abaixo da C:N observada no solo de campo nativo. Não foram observadas diferenças significativas para o N associado a MOL (N-MOL), entre solo de eucalipto com diferentes idades e aqueles do campo nativo.

O estoque de C associado a biomassa microbiana (C-BM) aumentou na camada de 0-40 cm no solo sob eucalipto com 10 anos, e os estoques aos 13 e 22 anos foram maiores que no solo de campo nativo, mas não que sob eucalipto mais jovem (10 anos). Na camada de 0-60 cm aos 10, 13 e 22 anos observaram-se estoques maiores de C-BM que no solo de campo nativo (média de  $0,7 \text{ Mg ha}^{-1}$ ). O N associado a biomassa microbiana (N-BM) na camada de 0-10 cm apresentou maiores estoques nos povoamentos de eucalipto com 10 e 13 anos, enquanto que de 0-60 cm houve aumento nos povoamentos com 10, 13 e 22 em relação ao solo de campo nativo, com estoque médio equivalente à  $0,07 \text{ Mg ha}^{-1}$  de N-BM (Fig. 4).



**Figura 3.** Estoques de C e N associados à matéria orgânica leve (C-MOL e N-MOL) em Argissolo Vermelho da região Leste do estado do Rio Grande do Sul sob campo nativo, eucalipto implantado há 10, 13, e 22 anos em área originalmente sob campo nativo. Médias de usos com letras minúsculas iguais, dentro de cada camada de solo, não diferem estatisticamente (Teste de DMS de Fisher protegido) ao nível de 5 %.





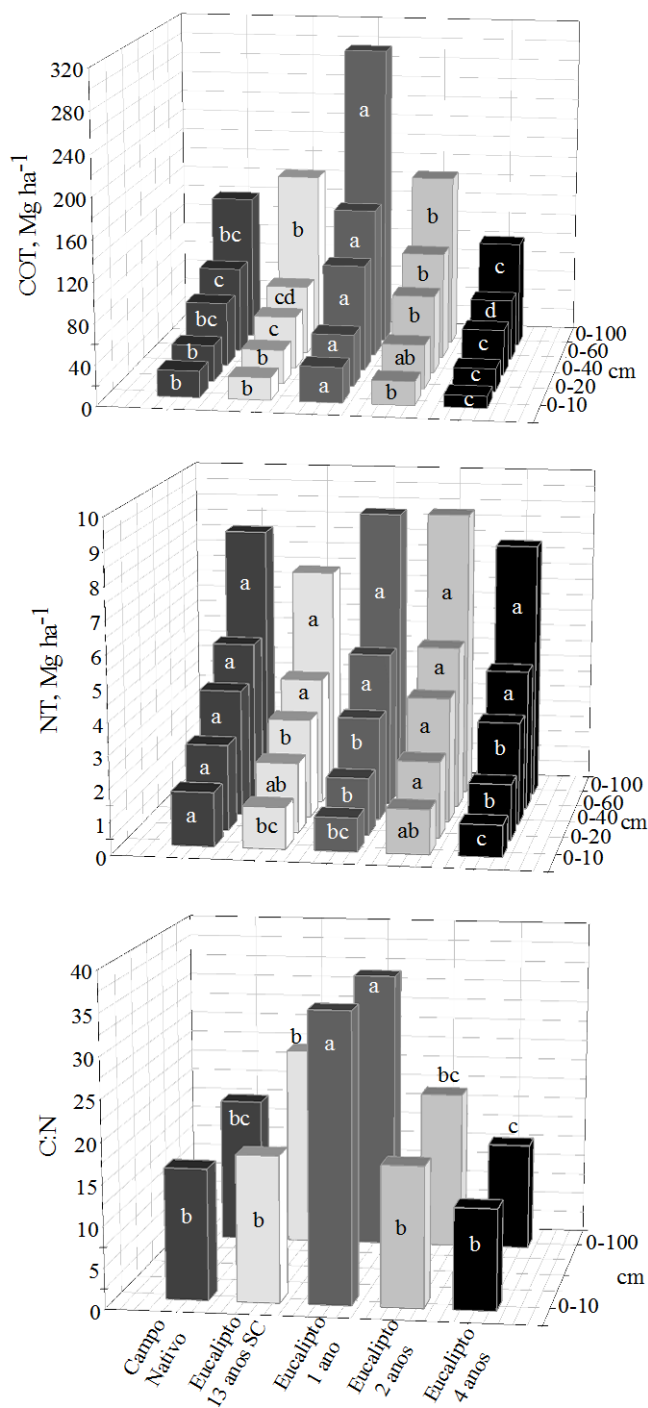
**Figura 4.** Estoques de C e N associados à biomassa microbiana (C-BM e N-BM) em Argissolo Vermelho da região Leste do estado do Rio Grande do Sul sob campo nativo, eucalipto implantado há 10, 13, e 22 anos em área originalmente sob campo nativo. Médias de usos com letras minúsculas iguais, dentro de cada camada de solo, não diferem estatisticamente (Teste de DMS de Fisher protegido) ao nível de 5 %.

### *Efeito do tempo pós-reforma*

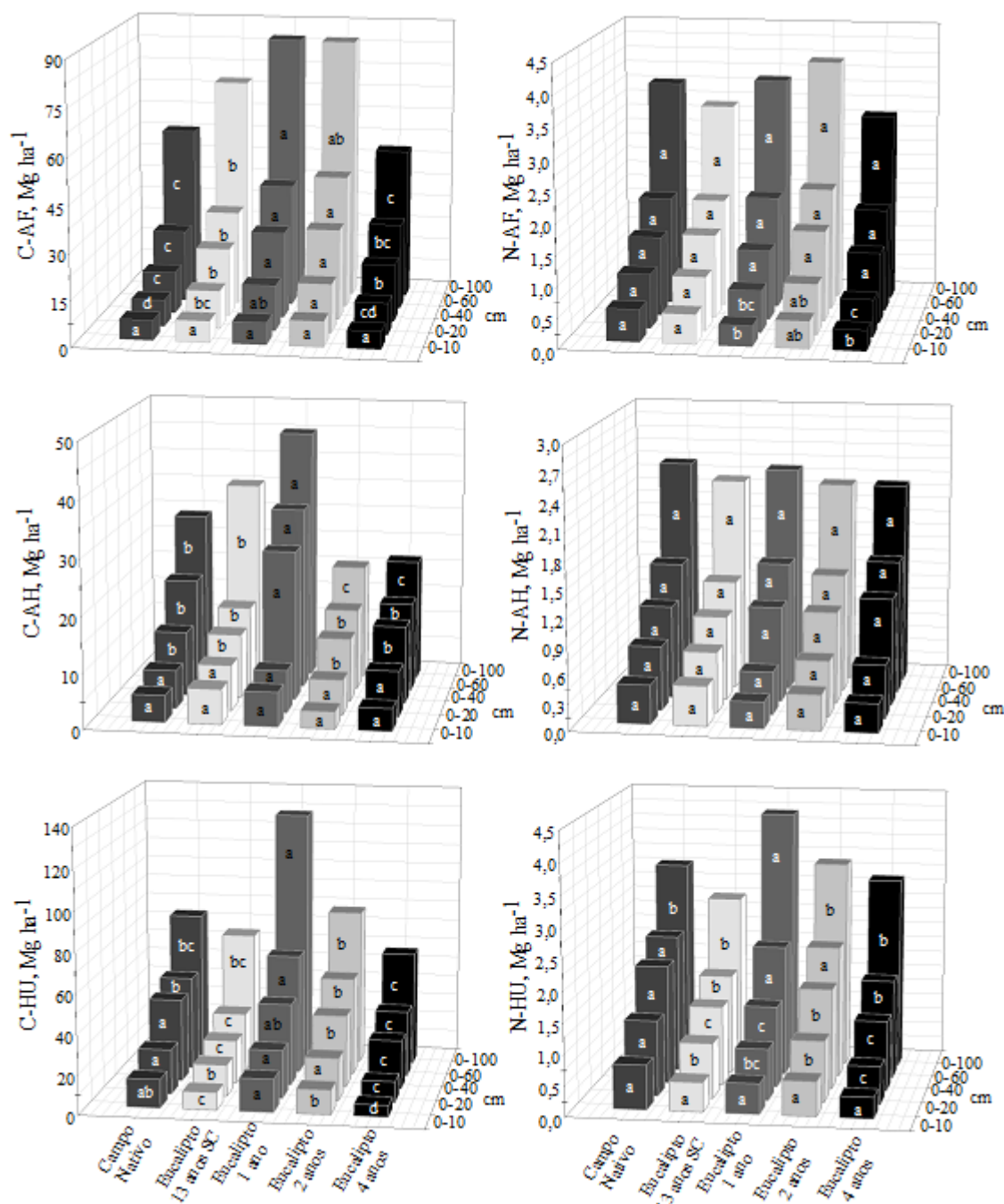
A reforma de um povoamento de eucalipto implantado há 13 anos, considerado aqui como o tempo inicial (referência), levou à incrementos ( $p < 0,05$ ) nos estoques de COT em todas as camadas de solo após um ano da realização da reforma, com aumento de 56 e 78 % nos estoques de COT nas camadas de 0-10 e 0-100 cm, respectivamente (Fig. 5). Entretanto, passados dois anos da reforma, observou-se reduções no COT, que decresceu para valores similares ao solo voltando ao patamar do solo no tempo inicial (camadas 0-10 e 0-100 cm). Nas demais camadas esses valores estiveram acima dos observados no eucalipto não reformado. Aos 4 anos da realização da reforma, os estoques de COT sofreram decréscimos ainda maiores, ficando abaixo do estoque inicial (nas camadas de 0-10, 0-20, 0-60 e 0-100 cm). Somente na camada de 0-40 cm observou-se a manutenção desse COT nos níveis iniciais.

Houve a manutenção dos estoques de NT após um ano da reforma nas camadas de 0-10 cm e 0-40 cm. Após dois anos da reforma houve aumentos nos estoques de NT de  $0,09 \text{ Mg ha}^{-1}$  (0-10 cm),  $0,19 \text{ Mg ha}^{-1}$  (0-20 cm) e de  $0,81 \text{ Mg ha}^{-1}$  (0-40 cm). Após quatro anos da reforma os estoques de NT decresceram nas camadas superficiais (0-10 e 0-20 cm) mas permaneceram no mesmo patamar que o tempo inicial em profundidade (0-40 cm). Nas demais profundidades não se observaram diferenças significativas em função dos tempos pós-reforma. Similarmente aos elevados estoques de COT na camada de 0-10 cm, a relação C:N foi maior após um ano da reforma na camada de 0-10 e 0-100 cm, voltando a decrescer aos dois e quatro anos, com relação similar ao povoamento nunca cortado (13 anos) na camada de 0-10 cm. No entanto, a relação C:N foi inferior na camada de 0-100 cm (Fig. 5).

Os estoques de C-AF aumentaram após um e dois anos da reforma em todas as camadas estudadas exceto mais superficialmente (Fig. 6). Os acréscimos foram de  $14,7$  e  $14,4 \text{ Mg ha}^{-1}$  após um e dois anos, respectivamente, na camada de 0-100 cm. Entretanto, os estoques foram reduzidos aos quatro anos após a reforma em todas as camadas (exceto na camada mais superficial) alcançando redução de  $21,7 \text{ Mg ha}^{-1}$  na camada de 0-100 cm.



**Figura 5.** Estoques de carbono orgânico total (COT, Mg ha<sup>-1</sup>), nitrogênio total (NT, Mg ha<sup>-1</sup>) e relação C:N em Argissolo Vermelho da região Leste do estado do Rio Grande do Sul sob campo nativo, eucalipto com 13 anos implantado em área de campo nativo e que nunca foi reformado (SC), e eucalipto com 13 anos reformado há 1, 2, e 4 anos. Médias de usos com letras minúsculas iguais, dentro de cada camada de solo, não diferem estatisticamente (Teste de DMS de Fisher protegido) ao nível de 5 %.



**Figura 6.** Estoques de C e N associados as frações ácidos fúlvicos (C-AF e N-AF), ácidos húmicos (C-AH e N-AH) e humina (C-HU e N-HU) em Argissolo Vermelho da região Leste do estado do Rio Grande do Sul sob campo nativo, eucalipto com 13 anos implantado em área de campo nativo e que nunca foi reformado (SC), e eucalipto com 13 anos reformado há 1, 2, e 4 anos. Médias de usos com letras minúsculas iguais, dentro de cada camada de solo, não diferem estatisticamente (Teste de DMS de Fisher protegido) ao nível de 5 %.

Só foram observadas diferenças significativas nas camadas de 0-10 e 0-20 cm no estoque de N-AF. Ao contrário do que se observou para C-AF, os estoques de N-AF foram menores após um, dois e quatro anos da reforma em relação ao tempo inicial em ambas as camadas de solo. Nas camadas de 0-10 e 0-20 cm não se observaram diferenças significativas nos estoques de C-AH, enquanto nas camadas de 0-40 e 0-60 cm observaram maiores estoques no povoamento com um ano da realização da reforma. Os estoques nos demais povoamentos permaneceram no mesmo patamar inicial. Na camada de 0-100 cm as diferenças foram mais acentuadas, observando-se decréscimos nos estoques de C-AF de 14,8 e 13,5 Mg ha<sup>-1</sup>, respectivamente após dois e quatro anos da reforma. Quanto ao N-AH não foram constatadas diferenças significativas.

A reforma do povoamento de eucalipto ocasionou aumento no estoque de C-HU em todas as camadas avaliadas, após um e dois anos da realização da reforma. Na camada mais superficial os incrementos foram de 7,7 e 3,7 Mg ha<sup>-1</sup>, respectivamente, alcançando incrementos de 63,5 e 13,5 Mg ha<sup>-1</sup> nos mesmos povoamentos na camada de 0-100 cm. Após 4 da reforma, como nas demais frações, observaram-se decréscimos de 3,7 e 7,4 Mg ha<sup>-1</sup>, respectivamente, nas camadas de 0-10 e 0-100 cm.

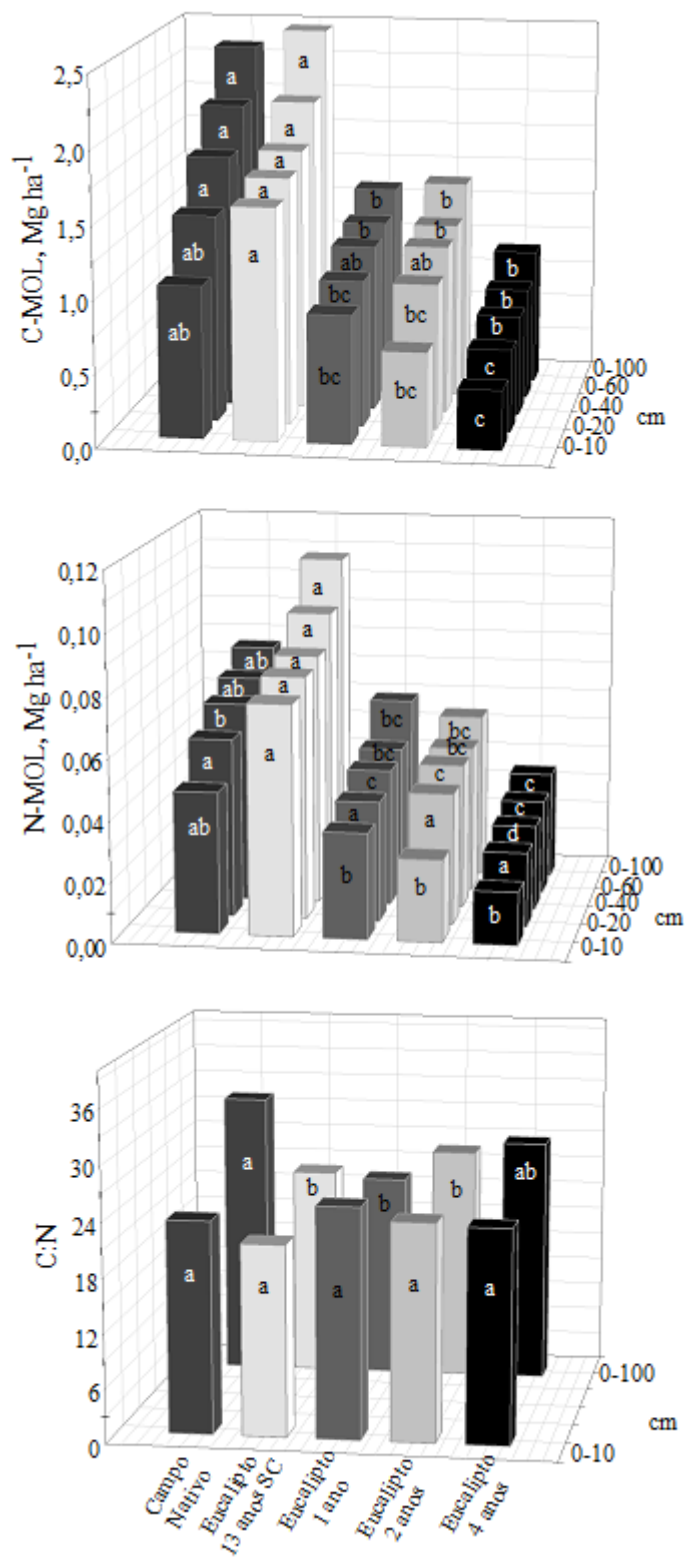
Na camada superficial de 0-20 cm após um ano da reforma o estoque de N-HU decresceu, mas após dois anos houve recuperação para o mesmo patamar da área não reformada. Considerando-se a camada de 0-100 cm, após um ano da reforma constatou-se aumento de 1,4 Mg ha<sup>-1</sup> de N-HU, e aos dois e quatro anos da reforma os estoques de N-HU permaneceram no mesmo patamar que antes da reforma.

Os estoques de C-MOL e N-MOL no solo de eucalipto com 13 anos e nunca reformado eram maiores (0-10 e 0-20 cm) e similares (0-40, 0-60 e 0-100 cm) aos observados no solo sob campo nativo. No entanto, a reforma desse povoamento de eucalipto resultou num impacto negativo nos estoques de C-MOL ao longo do tempo (Fig. 7). Após um e dois anos da reforma foi observado estoque médio de C-MOL de 0,77 Mg ha<sup>-1</sup> na camada superficial (0-10 cm), o que corresponde a redução média de 52 % no C desta fração. Quatro anos após a reforma constatou-se ainda estoques menores (0,41 Mg ha<sup>-1</sup>). Nesse povoamento na camada de 0-100 cm, houve decréscimo médio de 1,25 Mg ha<sup>-1</sup> após a reforma em relação ao solo sob eucalipto não reformado.

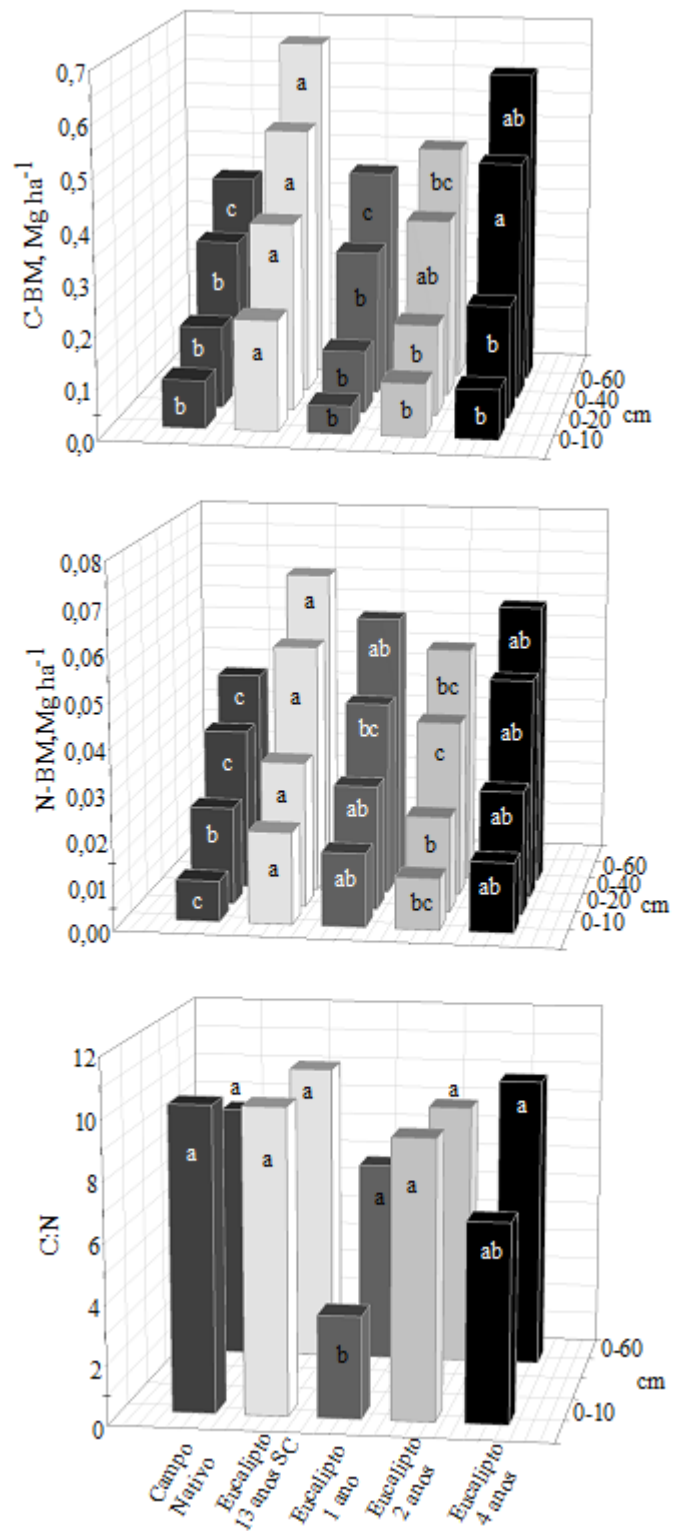
Os estoques de N-MOL decresceram em média 47 %, após um e dois anos da realização da reforma na camada de 0-100 cm, apresentando estoque médio de 0,06 Mg ha<sup>-1</sup>. Após quatro anos da reforma esse estoque foi reduzido à 0,04 Mg ha<sup>-1</sup>.

O estoque de C-BM e N-BM aumentou aos 13 anos após a implantação do eucalipto em área de campo nativo (Figura 8), mas com a reforma do povoamento houve decréscimo médio de 60 e 53 % nos estoques de C-BM após um, dois e quatro anos nas camadas de 0-10 e 0-20 cm, respectivamente. Na camada de 0-40 cm foram observados decréscimos de 0,24 e 0,17 Mg ha<sup>-1</sup>, após um e dois anos respectivamente, enquanto que aos quatro anos este estoque foi recuperado ao valor encontrado antes da reforma. Na camada de 0-60 cm os decréscimos foram de 0,26, 0,21 e 0,05 Mg ha<sup>-1</sup> um, dois e quatro anos após a reforma, respectivamente.

A reforma resultou em decréscimos no estoque de N-BM em todas as camadas, nos diferentes tempos. Os maiores decréscimos foram observados após dois anos da reforma atingindo 44 % na camada de 0-10 cm e 23 % na camada de 0-60 cm.



**Figura 7.** Estoques de C (C-MOL) e N (N-MOL) associados à matéria orgânica leve em Argissolo Vermelho da região Leste do estado do Rio Grande do Sul sob campo nativo, eucalipto com 13 anos implantado em área de campo nativo e que nunca foi reformado, e eucalipto com 13 anos reformado há 1, 2, e 4 anos. Médias de usos com letras minúsculas iguais, dentro de cada camada de solo, não diferem estatisticamente (Teste de DMS de Fisher protegido) ao nível de 5 %.



**Figura 8.** Estoques de C C-BM e N N-BM associados à biomassa microbiana em Argissolo Vermelho da região Leste do estado do Rio Grande do Sul sob campo nativo, eucalipto com 13 anos implantado em área de campo nativo e que nunca foi reformado, e eucalipto com 13 anos reformado há 1, 2, e 4 anos. Médias de usos com letras minúsculas iguais, dentro de cada camada de solo, não diferem estatisticamente (Teste de DMS de Fisher protegido) ao nível de 5 %



## 4. DISCUSSÃO

### *Efeito da duração da rotação (idade) do eucalipto*

O decréscimo inicial nos estoques de COT na camada superficial, e C associado a fração humina (até os 60 cm) e a MOL (0-100 cm) após a substituição do campo nativo pelo povoamento de eucalipto (10 anos) pode ser explicado pelo distúrbio do ecossistema ocasionado pela mudança da cobertura vegetal, e as práticas culturais introduzidas para a realização da implantação do eucalipto. Possivelmente, os decréscimos podem ter sido bem mais elevados nos primeiros anos após a implantação. Dados compilados por Paul et al. (2002) de estudos de florestamento em 204 sítios em várias regiões do mundo, indicaram como tendência que nos primeiros cinco anos após o plantio da floresta o teor de C na camada de 0-30 cm de profundidade foi reduzido em 3,15 %. Em seguida, essa taxa de declínio foi reduzida e, finalmente, depois de 30 anos, o teor de C retornou ao mesmo nível daquele encontrado na floresta nativa o sequestro e acúmulo do COT foi favorecido por rotações mais longas, de 20 a 50 anos.

O maior impacto negativo foi constatado na MOL em se considerando todo o perfil de solo analisado, e enquanto os estoques de C-AF e C-BM apresentaram recuperação em relação ao solo de campo nativo aos 10 anos após a implantação do eucalipto, o que talvez indique recuperação antecipada nas alterações dos estoques totais. A MOL e a BM são indicadores bastante responsivos às alterações na MOS, pois representam compartimentos com menor tempo de ciclagem (Stevenson, 1994; Tótola & Chaer, 2002).

Nos povoamentos mais velhos de eucalipto há recuperação nas frações da MOS. No eucalipto com 13 anos observou-se aumentos nos estoques de COT, C-AF, C-AH, C-MOL de 0-100 cm e C-BM de 0-60 cm. Entretanto, na fração humina os aumentos nos estoques de C só foram observados após 22 anos da implantação do eucalipto. Nesse povoamento mais antigo de eucalipto (22 anos) os estoques de COT e de C associado aos AF, HU, e BM atingem valores já acima daqueles observados no solo sob campo nativo. O fato de essas áreas permanecerem sem serem cortadas e sofreram poucas operações silviculturais por períodos mais longos (rotação mais longa) favorece o aporte, a reciclagem e incorporação do C derivado do litter de parte aérea e raízes em compostos mais humificados. Durante o ciclo de crescimento o eucalipto deposita na área uma

grande quantidade de resíduos; as quantidades de serapilheira aportada por plantações de eucalipto em idade comercial no Brasil é, em média, em torno de 11 t ha<sup>-1</sup> (Skorupa, 2001). Uma porção significativa deste material (casca e galhos) é constituída por compostos bastante lignificados e pobres em nutrientes, além da relação C:N, e lignina:N elevadas, fazendo com que sejam lentamente decompostos (Skorupa, 2001; Pulronik, 2006; Pegoraro, 2007; Gama-Rodrigues et al.; 2005; Demolinari, 2008; Silva, 2008). Isso poderia estar favorecendo o acúmulo de MOL observado no longo prazo.

A tendência de decréscimo do COT nas camadas superficiais nos primeiros 10 anos após a substituição do campo nativo pelo eucalipto e sua recuperação gradativa nos povoamentos mais velhos, especialmente em profundidade, demonstra que não apenas a diferença na qualidade do litter aportado ao solo pelo eucalipto está influenciando a MOS. Os resultados indicam que o aporte de C via sistema radicular é um fator importante; Nos primeiros anos após a implantação do eucalipto há a rápida decomposição das raízes finas e mais superficiais das plantas do campo nativo, dominado por espécies graminóides. Como o eucalipto ainda encontra-se numa fase de rápido crescimento e o C fixado via fotossíntese está sendo alocado para formação da planta, o aporte de C ao solo nos primeiros anos é limitado. Apenas quando se inicia a ciclagem biogeoquímica, com deposição de serapilheira e aporte de C via raízes (ciclagem de raízes finas exsudação de compostos orgânicos), é que as entradas de C serão maiores que as saídas, resultando na recomposição da MOS. Os dados do presente estudo são corroborados pelo fato do C derivado das raízes contribuir, em média, com pelo menos 30 % a mais para a MOS que o C derivado da parte aérea (Rasse et al., 2005).

Os aumentos nos estoques de C nas frações HU e AF e a redução da fração AH observados em relação ao campo nativo pode indicar uma acumulação preferencial do C nas duas primeiras frações após 22 anos de cultivo. Demolinari (2008) incubou resíduos de colheita de eucalipto (folhas, cascas, galhos, raízes e resíduos combinados) na ausência ou presença de N em amostras de Latossolo Amarelo, originalmente sob Mata Atlântica, em área cultivada com pastagem de *Brachiaria brizantha* por mais de 20 anos. Todos os resíduos adicionados levaram ao aumento nos teores de C das frações HU e AF comparativamente à não adição de resíduos. Na fração HU, o ganho de C foi, na

média dos resíduos, de 66 % e para o AF de 33 %. Contrariamente, ocorreu decréscimo médio de 22 % nos teores de C no AH, sendo os decréscimos médios maiores quando se adicionou cascas e galhos (33,6 e 34,9 %, respectivamente). Os maiores ganhos de C associados à fração HU foi quando se adicionou casca (93 %) e galho (82 %), em relação à amostra inicial de solo, situações em que houve decréscimos de C-AH. Isso aponta para uma contribuição diferenciada do C às diferentes frações da MOS de acordo com o tipo de resíduo.

De maneira distinta ao observado para o C, os estoques de N não se recuperam na mesma magnitude nos povoamentos mais velhos, fazendo com que os estoques de NT e N associado às frações AH (0-10 cm) e HU (0-20, 0-40 e 0-60 cm) ficassem abaixo ou não apresentem nenhuma diferença significativa (nas demais camadas) do observado para o solo sob campo nativo. O N-AF não apresentou nenhuma diferença em longo prazo em todo o perfil analisado. Os incrementos no C e a não recuperação nos estoques de N resultam num alargamento da relação C/N da MOS ao longo do tempo. O alargamento da relação C/N é um indicativo de limitação por N, o que poderá limitar a capacidade desse sistema em estocar mais C no futuro, uma vez que a presença de N tem sido apontada como um importante fator na estabilização do C dos resíduos derivado dos resíduos nas frações da MOS (Moran et al., 2005). Silva (2008) constatou que galhos e cascas provenientes de áreas cultivadas com eucalipto com teores iniciais de N mais elevados tiveram um estímulo à decomposição da fração mais recalcitrante (lignina insolúvel). De modo geral, o maior teor inicial de N no resíduo proporcionou aumento no valor de k para lignina insolúvel e reduzindo, em média, o tempo de meia vida ( $t_{0,5}$ ) em 249 e 243 dias para galho e casca, respectivamente. Assim, a baixa disponibilidade de N no sistema poderia estar limitando não apenas a ciclagem do C da MOL, mas também sua incorporação em frações humificadas mais ricas em N, como os AH. De fato, Dijkstra et al. (2004) observaram que quando há maior abundância de compostos de natureza aromática nos resíduos aportado ao solo, a presença de N é essencial para a decomposição dos resíduos e sua incorporação na MOS.

### *Efeito do tempo pós-reforma*

Os distúrbios causados pela operação de colheita e reforma levam a alterações, geralmente de natureza negativa, principalmente nas características físicas e biológicas do solo. As mudanças na densidade e agregação do solo, bem como no regime hídrico e térmico logo após a reforma alteram substancialmente as populações microbianas e a atividade das enzimas envolvidas na ciclagem da MOS. Quando as rotações são conduzidas sob sistema de reforma, além do impacto da operação de colheita e baldeio da madeira, ocorre distúrbio adicional do sítio pelo preparo da área para o novo plantio. Esses distúrbios incluem compactação e desagregação do solo, incorporação de resíduos e horizontes orgânicos na massa de solo, maior exposição do solo ao sol e a chuva, com alteração no regime de umidade e temperatura, além da menor taxa de infiltração de água e maior predisposição a erosão (Jurgensen et al., 1997; Yanai et al. 2003; Silva et al., 2004; Lal, 2005; Epron et al., 2006; Schnurr-Pütz, 2006; Dias Junior et al., 2007). A combinação dessas várias alterações geralmente altera a estrutura e atividade biológica do solo (Hasset & Zak, 2005; Chatterjee et al., 2008; Tan et al., 2008). As frações da MOS possuem labilidades e tempos de ciclagem distintos (Silva e Mendonça, 2007) e, portanto, era de se esperar que elas respondessem de maneira diferenciada aos distúrbios causados pela reforma do povoamento do eucalipto.

Quando se procede a reforma do povoamento de eucalipto ocorre um expressivo aumento no estoque do COT, C-AF, C-AH, C-HU e N-HU após um ano da reforma (0-100 cm). Ainda nesse período já se observa reduções expressivas na MOL e na BM. Silva (2008) constataram que a substituição da mata nativa por pastagem e a retirada da pastagem para implantação do eucalipto ocasionava reduções nos estoques de SH em Argissolo no Sul da Bahia. No entanto, quando cultivado sob reforma, em 2ª rotação (eucalipto 1,2 ano), havia recuperação do estoque de C-SH para valores similares ao solo sob mata nativa. O eucalipto manejado sob reforma promoveu em tais povoamentos incrementos de 16, 18 e 26 % para os estoques de C-HU, C-AH e C-AF, respectivamente, em comparação à primeira rotação. Comparado ao uso do solo que antecedeu (pastagem), o maior ganho ficou restrito ao C-HU (19,2 %).

Entretanto, no presente estudo após quatro anos da realização da reforma foram observados decréscimos nos estoques de MOL e todas as frações mais

estáveis da MOS. Possivelmente, a contribuição da serapilheira do cultivo anterior, e dos resíduos retornados ao solo por ocasião da colheita, podem ter favorecido esse aumento no estoque de MOS logo no primeiro ano. Durante e após as operações de colheita grandes quantidades de compostos carbonados, inclusive formas hidrossolúveis, podem ser aportadas ao solo. A manutenção dos resíduos da colheita no campo e as cepas do cultivo anterior podem contribuir para o aumento do COT, e C da MOL, AF, AH e HU (Faria et al., 2008). A contribuição das raízes para o C do solo pode ser devido a sua senescência, ciclando o C imobilizado pelos vegetais temporariamente na biomassa radicular durante o seu ciclo de vida, e via exsudação. Rasse et al. (2005) verificaram que 40 % do C aportado via raízes foi recuperado como C da MOS, enquanto a adição de C pela parte aérea contribuiu com apenas 20 % do C da MOS. Pegoraro (2007) avaliando povoamentos de eucalipto ao final da 4<sup>a</sup> rotação, aos sete anos, no estado do Espírito Santo, sugeriu que no início do ciclo o C da raiz da rotação antecedente foi transferido para os compartimentos da MOS, observando um ano após a colheita a média de C associado às raízes foi de 10 t ha<sup>-1</sup>. Os estoques de C no solo aumentaram até o povoamento atingir três anos de idade e, na média dos clones utilizados no estudo, a maior estocagem foi até a camada de 60 cm, região onde se teria um maior acúmulo de raízes mais velhas e mais grossas. O fato dos ganhos nos estoques de C do solo ao final de uma rotação terem sido de maior magnitude no povoamento conduzido em comparação àqueles reformados, demonstra a importância da redução do distúrbio da área por ocasião da reforma dos povoamentos. Solos de povoamentos mais velhos de eucalipto (24 anos), também apresentam maiores estoques de C do que aqueles cultivados por 28 anos, porém com rotações de 7 anos (Pegoraro, 2007), indicando que o encurtamento da rotação pode levar a perdas consecutivas de C, a depender do manejo adotado.

Assim, a condução de povoamentos de eucalipto com rotações curtas e reformas mais frequentes parece não fornecer o tempo suficiente para a recuperação da MOS, em razão da sua decomposição continuada e da baixa contribuição da serapilheira nos anos iniciais após a reforma. Ainda as frações como a MOL e a BM podem ser indicadores precoces de mudanças nos estoques totais de C da MOS, cujas melhorias ainda não haviam sido detectadas quatro anos após a realização da reforma. A rápida resposta da BM e da MOL às alterações no solo tem sido evidenciada por outros autores (Freixo et al., 2002;

Roscoe & Buurman, 2003; Pinheiro et al., 2004; Xavier et al., 2006; Vergutz, 2007). A tendência de restabelecimento mais rápido da população microbiana ao longo do tempo (após quatro anos de reforma) aponta para o dinamismo dessa fração. Após cinco horas da incorporação de diferentes resíduos de eucalipto e adubação nitrogenada, Demolinari (2008) constatou aumento da BM principalmente no tratamento com folhas, mais ricas em extrativos (Silva, 2008) e, portanto, fonte lábil de C e nutrientes. Após a colheita os resíduos de eucalipto deixados na área são constituídos por componentes bastante lignificados (casca e galhos), e tão logo os compostos facilmente degradáveis são metabolizados, permanece no solo o material mais estável do ponto de vista bioquímico. Marschner et al. (2003) ressaltam a ocorrência de sucessão da população microbiana, considerando que a mudança na composição da MOS altera a dinâmica temporal da decomposição. Segundo esses autores as bactérias utilizam os materiais prontamente disponíveis, enquanto fungos decompõem materiais mais recalcitrantes e menos solúveis. A ciclagem bioquímica via deposição de litter só é iniciada, aproximadamente, após os dois anos. Esse fato implica em pouco e descontinuado aporte de substrato para a BM nos primeiros dois anos. Além disso, oscilações de temperatura e de umidade devido a exposição do solo nesse período são maiores devido ao pequeno porte das plantas.

## 5. CONCLUSÕES

Há nas condições do presente estudo um decréscimo inicial nos estoques de COT na camada superficial, e de C associado à humina (até os 60 cm) e no C-MOL (0-100 cm) após a substituição do campo nativo pelo povoamento de eucalipto com 10 anos. O maior impacto negativo foi constatado na MOL. Já, aos 10 anos observou-se recuperação precoce dos estoques de C-BM e C-AF com maior impacto na BM.

Nos povoamentos mais velhos de eucalipto há recuperação nas frações da MOS. No eucalipto com 13 anos observou-se aumentos nos estoques de COT, C-AF, C-AH, C-MOL (0-100 cm) e C-BM (0-60 cm). Entretanto, na fração humina os aumentos nos estoques de C só são observados após 22 anos da implantação do eucalipto. Os aumentos nos estoques de C nas frações HU e AF e a redução

daquela da fração AH observados em relação ao campo nativo pode indicar uma acumulação preferencial do C nas duas primeiras frações após 22 anos de cultivo.

Os incrementos no C e a não recuperação nos estoques de N resultam num alargamento da relação C:N da MOS ao longo do tempo.

Quando se procede a reforma do povoamento de eucalipto ocorre expressivo aumento no estoque do COT, C-AF, C-AH, C-HU e N-HU após uma ano da reforma (0-100 cm). Ainda nesse período já se observa reduções expressivas na MOL e na BM. Após quatro anos da realização da reforma são observados decréscimos nos estoques de MOL e todas as frações mais estáveis da MOS.

## 6. LITERATURA CITADA

- CHATTERJEE, A.; VANCE, G.F.; PENDALL, E. & STAHL, P.D. Timber harvesting alters soil carbon mineralization and microbial community structure in coniferous forests. *Soil Biol. & Biochem.*, 40:1901-1907, 2008.
- DEMOLINARI, M.S.M. Transferência do carbono de resíduos da colheita de eucalipto para frações da matéria orgânica do solo. Viçosa, MG, 2008. 74 f. 2008.
- DIAS JUNIOR, M.S.; FONSECA, S. da; ARAÚJO JÚNIOR, C.F.; SILVA, A.R. Soil compaction due to forest harvest operations. *Pesq. Agropec. Bras.*, 42: 257-264, 2007
- DIJKSTRA, F.A.; HOBBIE, S.E.; KNOPS, J.M.H. & REICH, P.B. Nitrogen deposition and plant species interact to influence soil carbon stabilization. *Ecol. Letters*, 7:1192-1198, 2004.
- EPRON, D.; NOUVELLON, Y.; DELEPORTE, P.; IFO, S.; KAZOTTI, J.G.M.; THONGO, M'BOU A.; MOUVONDY, W.J.; SAINT-ANDRÉ, L.; ROUPSARD, O.; JOURDAN, C.; HAMEL, O. Soil carbon balance in a clonal Eucalyptus plantation in Congo: effects of logging on carbon inputs and soil CO<sub>2</sub> efflux. *Global Change Biology*, 12:1021-1031, 2006.
- FARIA, G.E. DE; BARROS, N. F. DE; SILVA, I.R. DA; NOVAIS, R.F. DE & PAIVA, A.O. Carbono orgânico total e frações da matéria orgânica em diferentes distâncias da cepa de eucalipto. *Cerne*, 14:259-266, 2008.
- FREIXO, A.A.; MACHADO, P.L.O. de A.; GUIMARÃES, C.M.; SILVA, C.A. & FADIGAS, F. de S. Estoques de carbono e nitrogênio e distribuição de frações orgânicas de Latossolo do cerrado sob diferentes sistemas de cultivo. *R. Bras. Ci. Solo*, 26:425-434, 2002.

- GAMA-RODRIGUES, E. F.; BARROS, N.F.; GAMA-RODRIGUES, A.C. & SANTOS, J.A. Nitrogênio, carbono e atividade da biomassa microbiana do solo em plantações de eucalipto. *R. Bras. Ci. Solo*, 29:893-901, 2005
- HASSETT, J.E.; ZAK, D.R. Aspen Harvest Intensity Decreases Microbial Biomass, Extracellular Enzyme Activity, and Soil Nitrogen Cycling. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 69:227-235, 2005.
- ISLAM, K.R. & WEIL, R.R. Microwave irradiation of soil for routine measurement of microbial biomass carbon. *Biol. Fert. Soils*, 27:408-416, 1998.
- JANZEN, H.H.; CAMPBELL, C.A.; BRANDT, S.A.; LAFOND, G.P. & TOWNLEY-SMITH, L. Light-fraction organic matter in soils from long-term crop rotations. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 56:1799-1806, 1992.
- JOHNSON, D.W. & CURTIS, P.S. Effects of forest management on soil carbon and nitrogen storage: meta analysis. *For. Ecol. Managem.* 140:227-238, 2001.
- JOHNSON, D.W.; KNOEPP, J.D.; SWANK, W.T.; SHAN, J.; MORRIS, L.A.; VAN LEAR, D.H. & KAPELUCK, P.R. Effects of forest management on soil carbon: results of some long-term resampling studies. *Environmental Pollution* 116:201-208, 2002.
- JURGENSEN, M.F.; HARVEY, A.E.; GRAHAM, R.T.; PAGE-DUMROESE, D.S.; TONN, J.R.; LARSEN, M.J.; JAIN, T.B. Impacts of Timber Harvesting on Soil Organic Matter, Nitrogen, Productivity, and Health of Inland Northwest Forests. *Forest Science*, 43:234-251, 1997
- LAL, R. Forest soils and carbon sequestration. *For. Ecol. Manag.*, 220:242-258, 2005.
- LEITE, L.F.C.; MENDONÇA, E.S.; NEVES, J.C.L.; MACHADO, P.L.O. A & GALVÃO, J.C.C. Estoques totais de carbono orgânico e seus compartimentos em argissolo sob floresta e sob milho cultivado com adubação mineral e orgânica. *R. Bras. Ci. Solo*, 27:821-832, 2003.
- LIMA, A.M.N.; SILVA, I. R.; NEVES, J.C.L.; NOVAIS, R. F.; BARROS N.F.; MENDONÇA, E.S.; SMYTH, T. J.; MOREIRA, M. S.; LEITE, F. P. Soil organic carbon dynamics following afforestation of degraded pastures with eucalyptus in southeastern Brazil, *For. Ecol. Manag.*, 235: 219-231, 2006.
- MARSCHNER, P; KANDELER, E. & MARSCHNER, B. Structure and function of the soil microbial community in a long-term fertilizer experiment. *Soil Biol. Bioch.*, 35:453-461, 2003.
- MORAN, K.K.; SIX, J.; HORWATH, W.R. & VAN KESSEL, C. Role of mineral-nitrogen in residue decomposition and stable soil organic matter formation. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 69:1730-1736, 2005.



- PAUL, K.I.; POLGLASE, P.J.; NYAKUENGAMA, J.G. & KHANNA, P.K. Change in soil carbon following afforestation. *For. Ecol. Manag.*, 168:241-257, 2002.
- PEGORARO, R.F. Sequestro de carbono e alterações bioquímicas da matéria orgânica de solos cultivados com eucalipto. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2007. 140 p. 2007. Tese de Doutorado.
- PENNOCK, D.J.; van KESSEL, C. Clear-cut forest harvest impacts on soil quality indicators in the mixedwood forest of Saskatchewan, Canada. *Geoderma*, 75:13-32, 1997.
- PINHEIRO, E.F.M.; PEREIRA, M.G.; ANJOS, L.H.C. & MACHADO, P.L.O.A. de. Fracionamento densimétrico da matéria orgânica do solo sob diferentes sistemas de manejo e cobertura vegetal em Paty do Alferes (RJ). *R. Bras. Ci. Solo*, 28:731-737, 2004.
- PULROLNIK, K. Estoque e qualidade da matéria orgânica do solo de plantações de eucalipto em área de Cerrado. Tese (Doutorado em Solos Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2007. 85. p.
- RASSE, D.P.; RUMPEL, C. & DIGNAC, M. F. Is soil carbon mostly root carbon? Mechanisms for a specific stabilization. *Plant Soil*, 269: 341-356, 2005.
- ROSCOE, R. & BUURMAN, P. Tillage effects on soil organic matter in density fractions of a Cerrado Oxisol. *Soil Till. Res.*, 70:107-119, 2003.
- STEEL, R.G.D.; TORRIE, J.H. & DICKEY, D.A. Principles and procedures of statistics: a biometrical approach. New York: Mcgraw-Hill, 1997. 666p.
- SCHNURR-PUTZ, SILVIA; BAATH, ERLAND; GUGGENBERGER, GEORG; DRAKE, HAROLD L.; KUSEL, KIRSTEN. Compaction of forest soil by logging machinery favors occurrence of prokaryotes. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 58: 503-516, 2006
- SILVA, E.F. Frações da matéria orgânica e decomposição de resíduos da colheita de eucalipto em solos de tabuleiros costeiros da Bahia. Viçosa, MG, 2008. 110 f. 2008.
- SILVA, I.R.; NOVAIS, R.F.; BARROS, N.F. & SILVA, E.F. Manejo de resíduos e matéria orgânica do solo em plantações de eucalipto: uma questão estratégica para a manutenção da sustentabilidade. *Boletim Informativo da Sociedade Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, 29, 2004, p.10-20.
- SILVA, I.R. & MENDONÇA, E.S. Matéria orgânica do solo. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V., V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F., CANTARUTTI, R.B. & NEVES, J.C.L. eds. *Fertilidade do solo*. Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p. 275-374.

- SILVA, J.E. & RESCK, D.V.S. Matéria orgânica do solo. In: VARGAS, M.T.; HUNGRIA, M., ed. *Biologia dos solos dos cerrados*. Planaltina, EMBRAPA-CPAC, 1997. p. 465-524.
- SKORUPA, A.L.A. Acumulação e decomposição de serapilheira em povoamento de eucalipto na região do Baixo Rio do Doce-MG. Dissertação de Mestrado, Curso de Pós Graduação em Solos e Nutrição de Plantas, UFV, Viçosa, 2001.
- SOHI, S.P.; MAHIEU, N.; ARAH, J.R.M.; POWLSON, D.S.; MADARI, B.; GAUNT, J.L. A procedure for isolating soil organic matter fractions suitable for modeling. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 65: 1121-1128, 2001.
- STEVENSON, F.J. *Humus chemistry: genesis, composition, reactions*. 2.ed. New York: J. Wiley, 1994. 496p.
- SWIFT, R.S. Method for extraction of IHSS soil fulvic and humic acids. In: SPARKS, D.L.; PAGE, A.L.; HELMKE, P.A.; LOEPPERT, R.H.; SOLTANPOUR, P.N.; TABATABAI, M.A.; JOHNSTON, C.T. & SUMMER, M.E., ed. *Methods of soil analysis. Part 3. Chemical methods*. Soil Sci. Soc. Am. Books, 1996. p. 1018-1020.
- TÓTOLA, M.R. & CHAER, G.M. Microorganismos e processos microbiológicos como indicadores da qualidade dos solos. In: ALVAREZ, V.H.V. et al. *Tópicos em ciência do solo*. Viçosa: SBCS, 2002. v.2, p.195-276.
- TAN, X.; CHANG, S. X. & KABZEMS, R. Soil compaction and forest floor removal reduced microbial biomass and enzyme activities in a boreal aspen forest soil. *Biol. Fert. Soils*, 44:471-479, 2008.
- TURNER, J. & LAMBERT, M. Change in organic carbon in forest plantation soils in eastern Australia. *For. Ecol. Manag.*, 133:231-247, 2000.
- VERGUTZ, L. Mudanças na matéria orgânica do solo causada pelo tempo de adoção de um sistema agrosilvopastoril com eucalipto. Dissertação de Mestrado, Curso de Pós Graduação em Solos e Nutrição de Plantas, UFV, Viçosa, 2007.
- XAVIER, F.A.S.; MAIA, S.M.F.; OLIVEIRA, T.S.; MENDONÇA, E.S. Biomassa microbiana e matéria orgânica leve em solos sob sistemas agrícolas orgânico e convencional na chapada da Ibiapaba-CE. *R. Bras. Ci. Solo*, 30:247-258, 2006.
- YANAI, R.D.; CURRIE, W.S.; GOODALE, C. L. Soil Carbon Dynamics after Forest Harvest: An Ecosystem Paradigm Reconsidered. *Ecosystems*. 6:197-212, 2003.
- YEOMANS, J.C. & BREMNER, J.M. A rapid and precise method for routine determination of organic carbon in soil. *Comm. Soil. Sci. Plant Anal.*, 13:146, 1988.

## CHAPTER III

### ALTERATIONS IN MOLECULAR COMPOSITION OF HUMIC AND FULVIC ACIDS BY EUCALYPT CULTIVATION IN SOILS FROM DISTINCT BIOMES IN BRAZIL ASSESSED BY DP/MAS AND CP/TOSS <sup>13</sup>C NMR SPECTROSCOPY

#### ABSTRACT

Studies on the impact of replacing the native vegetation by short-rotation eucalypt plantations have largely emphasized soil organic matter (SOM) stocks, whereas studies investigating qualitative aspects of SOM are still incipient. Nuclear Magnetic Resonance (NMR) techniques have been used to look into SOM from temperate soils and more recently in tropical and subtropical soils. In this present study advanced NMR approaches such as <sup>13</sup>C **D**irect **P**olarization/**M**agic **A**ngle **S**pinning (<sup>13</sup>C DP/MAS), <sup>13</sup>C **C**ross **P**olarization/**T**otal **S**uppression of **S**idebands (<sup>13</sup>C CP/TOSS), **C**hemical **S**hift **A**nisotropy (CSA) filtering and spectral editing experiments were used to evaluate the alterations in the molecular composition of fulvic (FA) and humic (HA) acids from soils under eucalypt plantations in three major biomes (Atlantic Forest, Grassland and Cerrado) in Brazil. The results indicate that the C content in HA and FA molecules generally increased after eucalypt cultivation. On the other hand, N content did decrease, resulting in wider C/N molar ratio of HA became large. The aromatic C of HA and FA was in fact underestimated when using CP/TOSS in comparison to DP/MAS and consequently there was a redistribution of others functional groups intensity. There was substantial overlapping O-C-O carbon signals in the so-called aromatic region, thus part of that signal was from non-aromatic compounds. The DP-based-aromaticity was greater than the CP-based aromaticity by an average factor of 1.4 and 1.8 for HA and FA, respectively. The major NMR-identifiable components in these humic substances (HS) were primarily aromatics, COO groups, peptides, carbohydrates, and nonpolar aliphatics. The ratio of alkyl to O alkyl (A/O-A ratio) in average was 1.4 for HA and 1.1 for FA. The replacement of native vegetation by eucalypt plantations increased the relative contribution of nonpolar aliphatic groups in HA from soils previously under Atlantic Forest (Sooretama and Montanha sites), Grassland, and the Cerrado (Curvelo site only). The same overall trend was observed for FA. The substitution of native vegetation also resulted in a

decrease in HA and FA O alkyl group in most of sites. At the Sooretama (Atlantic Forest biome) eucalyptus cultivation led to a 10 % increase in the HA aromaticity and an 11 % decrease in the FA aromaticity in comparison to those from the Atlantic Forest soil. The HA from Cerrado soil (Itacambira site) showed the most intense peak (42 %) assigned to aromatic-C (115-145 ppm) as compared to those from soils under other natural vegetations, and eucalypt cultivation in this site increased the contribution of aromatics pure further to 45 %. At the Triunfo site (Grassland) the aromaticity decreased 18 and 8 %, respectively, for HA and FA after 22 years of continuous eucalypt cultivation. There is evidence of substantial contribution of lignin-derived C for HA and FA in sites planted with *Brachiaria sp* pastures. In all biomes the dipolar dephasing technique confirmed the presence of condensed C in the aromatics region, possibly inherited from charred materials derived from natural and anthropic fires in the region.

**Keywords:** land use change, aromaticity, A/O-A ratio, aliphaticity, forest plantation, soil organic matter quality.

# ALTERAÇÕES NA COMPOSIÇÃO MOLECULAR DE ÁCIDOS HÚMICOS E FÚLVICOS PELO CULTIVO DE EUCALIPTO EM SOLOS DE DISTINTOS BIOMAS NO BRASIL AVALIADAS POR RMN DE $^{13}\text{C}$ DP/MAS E CP/TOSS

## RESUMO

Estudos do impacto da substituição da vegetação nativa por plantações de eucalipto em curta rotação tem enfatizado largamente os estoques de matéria orgânica do solo (MOS), entretanto estudos investigando aspectos qualitativos da MOS são ainda incipiente. Técnicas de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) tem sido usadas para olhar dentro da MOS em solos temperados e mais recentemente em solos tropicais e subtropicais. No presente estudo estudos avançados de RMN como os de  $^{13}\text{C}$  Direct Polarization/Magic Angle Spinning ( $^{13}\text{C}$  DP/MAS),  $^{13}\text{C}$  Cross Polarization/Total Suppression of Sidebands ( $^{13}\text{C}$  CP/TOSS), Chemical Shift Anisotropy (CSA) filtering e experimentos de edição espectral foram usados para avaliar as alterações na composição molecular de ácidos fúlvico (AF) e ácidos húmicos (AH) de solos sobre plantações de eucalipto em três biomas principais (Mata Atlântica, Campo Nativo e Cerrado) no Brasil. Os resultados indicaram que o teor de C em moléculas de AH e AF geralmente aumentou após o cultivo de eucalipto. Por outro lado, o teor de N não aumentou, resultando em uma relação molar C/N mais larga no AH. O C aromático do AH e AF foi de fato subestimado quando se utilizou a técnica de CP/TOSS em comparação ao DP/MAS e conseqüentemente houve uma redistribuição da intensidade dos outros grupos funcionais. Houve uma substancial sobreposição de sinais de C O-C-O na região considerada como aromática, assim parte do sinal foi atribuído a compostos não aromáticos. A aromaticidade baseada nos dados de DP foi maior que a baseada em dados de CP em média por um fator de 1,4 e 1,8 para AH e AF, respectivamente. Os principais componentes identificáveis por RMN nas substâncias húmicas (SH) foram aromáticos, grupos COO, peptídeos, carboidratos, e alifáticos não polar. A relação alquil para O alquil (A/O-A) em média foi 1,4 para AH e 1,1 para AF. A substituição da vegetação nativa por plantações de eucalipto aumentou a contribuição relativa de grupos alifáticos não polar em AH de solos previamente sob Mata Atlântica (Sooretama e Montanha sites), Campo Nativo, e Cerrado (Curvelo). A mesma tendência foi observada para AF. A substituição da vegetação nativa também resultou em um decréscimo no

grupo O alquil dos AH e AF na maioria dos sites. Em Sooretama (Bioma Mata Atlântica) o cultivo do eucalipto levou à um incremento de 10 % na aromaticidade do AH e 11 % de decréscimo na aromaticidade do AF em comparação aos da Mata Atlântica. O AH do solo de Cerrado (Itacambira) apresentou o pico mais intenso (42 %) designado ao C aromático (115-145 ppm) quando comparado àqueles de solos sob vegetações natural, nesse local o cultivo do eucalipto aumentou a contribuição de aromáticos puros acima de 45 %. Em triunfo (Campo Nativo) a aromaticidade decresceu 18 e 8 %, respectivamente, para AH e AF após 22 anos de contínuo cultivo de eucalipto. Existem evidências sobre a substancial contribuição de C derivado de lignina em AH e AF na área cultivada com pastagem *Brachiaria sp.* Em todos os biomas a técnica de defasagem dipolar confirma a presença de C condensado em região aromática, possivelmente inerente a contribuição de material carbonizado derivado de fogo natural e antrópico na região.

**Palavras chave:** uso do solo, aromaticidade, relação A/O-A, alifaticidade, plantações florestais, qualidade da MOS.

## 1. INTRODUCTION

Humic substances (HS) represent the largest fraction of soil organic matter (SOM) and alterations in its quality will affect several soil processes ranging from nutrient and pesticides retention to aggregation and C sequestration (Stevenson, 1994). Land use changes may impact not only HS stocks, but also its molecular nature, hence its quality. Given the complexity and heterogeneity of the HS components the changes in its molecular composition are not easily detected, thus requiring more sophisticated techniques and equipments. Although several techniques are available to look into HS molecular composition, nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy has gained substantial attention. Most NMR-based studies of SOM in the past have focused on temperate soils (Hatcher et al., 1981; Preston et al., 1994; Guggenberger et al., 1995; Simpson et al., 2002; Rumpel et al., 2004; Mao et al., 2008), but in more recent years several studies applying NMR techniques have been used to look into the effect of vegetation cover, land use change, cropping, fertilization, soil texture and depth, on SOM composition of tropical and subtropical soils (Bayer et al., 2000; González-Perez et al., 2004; Alcântara et al., 2004; Dick et al., 2005; Dieckow et al., 2005, 2009). Some studies have shown that the SOM composition is changed when the native vegetation is replaced. For example, conversion of native vegetation to conventionally tilled crops decreased O alkyl C and increased aromatic C, carbonyl C, and the aromatic C/O alkyl C ratio in SOM from tropical and subtropical soils (Dieckow et al., 2009). The impact of distinct managements on changing SOM molecular composition, however, is not always observed (Dieckow et al., 2005).

Although the body of information on the impact of planting annual crops on SOM composition is rapidly growing, the effect of planting tree species on SOM in tropical regions has been overlooked. Fast growing trees offer a great opportunity for C sequestration (Pegoraro, 2007; Lima et al., 2006) in tropical regions, which currently contribute with the majority of plantation forests in the world. Only in Brazil there are over 5 million ha of planted forests. Exotic species such as eucalypt whose cycles are shorter and have high productivity have been the choice for new plantations, contributing with over 70 % of the planted area (ABRAF, 2006). The more recent expansion of eucalypt plantation has occurred

in areas in the Cerrado (savanna-like) and Grassland biomes, but extensive areas in the past were established in the Atlantic Forest biome. In the Atlantic Forest biome studies have shown that soils under degraded pastures have the potential to sequester C after introducing eucalypt (Lima et al., 2006), especially in the HS compartment (Lima et al., 2006). Results on the effects of substituting the native Cerrado by eucalypt plantations are not unequivocal, especially in sand-textured soils (Zinn et al., 2002). Besides altering C stocks, changes in SOM molecular composition are expected. Using NMR experiments, compositional differences in SOM were attributed to the induced changes in the soil by microbial community and the quality of its biochemical products, with SOM in arable soils being richer in aromatic C and smaller alkyl C content (Dieckow et al., 2005). The quality of the litter input also changes the quality of SOM. Comparing soils under native Cerrado to a planted riparian forest, Alcântara et al. (2004) observed that there was a clear effect of vegetation cover on litter and extracted SOM. The riparian forest litter showed higher contribution of aromatic C and alkyl C than the Cerrado's, and the same trend was observed for the SOM extracted by an alkaline solution. Also in the Cerrado biome it was found that afforestation with eucalypt led to larger SOM losses in surface layers of sandier soils than in clayey soils, but only in the later it was observed changes in SOM quality, which had less O alkyl C and more paraffinic C (Zinn et al., 2002). Contrastingly, Dieckow et al. (2009) found greater changes in SOM quality of sandier than in clayey soils after introducing annual crops.

Although climate has been pointed out as an important factor regulating SOM dynamics (Lima et al., 2006) and quality, Dieckow et al. (2009) found no clear pattern for changes in SOM composition between soils from subtropical (Grassland) and tropical (Cerrado) biomes. The results pointed out to a uniform recover in the O alkyl C and a decrease in aromatics C in soils converted from conventional to no-tillage soils.

Despite the widespread use of **Cross Polarization Magic Angle Spinning (CP/MAS)**  $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopy on SOM research in the last decades; its limitations in quantitative studies have become apparent. Shortcomings such as reduced cross-polarization of unprotonated C, mobile components or regions with short spin-lattice relaxation time (as it is common in samples containing paramagnetic species as Fe), the appearance of spinning sidebands, which leads to



the reduction of the center band signal intensity (specially for  $sp^2$ -hybridized carbonyl- and aromatic-C with high Chemical Shift Anisotropy (CSA), and baseline distortion due to a dead-time at the start of detection (Wilson, 1987; Schmidt-Rohr & Spiess, 1994; Preston, 1996; Mao et al., 2000). An attractive alternative to overcome the major drawbacks of CP/MAS is **D**irect **P**olarization **M**agic **A**ngle **S**pinning (DP/MAS) at high rotating speeds, but the excessively long  $^{13}\text{C}$  spin-lattice relaxation times ( $T_1^{\text{C}}$ ) have discouraged the application of the technique for studying soil HS. Nevertheless, Mao and colleagues reported that improvements in the quantification of soil HS could be achieved by correcting the DP/MAS collected at fast sample spinning with  $T_1^{\text{C}}$  obtained from CP/**T**otal **S**uppression of **S**idebands (CP/ $T_1$ -TOSS) spectra, thus suppressing the major spinning sidebands and accounting for the effects of incomplete relaxation (Mao et al., 2000). Employing such approach they found that previous  $^{13}\text{C}$ -CPMAS experiments have underestimated the  $sp^2$ - to  $sp^3$ -C ratio (Mao et al., 2000). Using  $^{13}\text{C}$  solid-state NMR with MAS to quantify aromatics is more difficult, because the signals of alkyl O-C-O and of aromatic carbons overlap between 90 and 120 ppm. Therefore, aromaticity estimated based on routine  $^{13}\text{C}$ -NMR has included some of alkyl C signals, namely those of O-C-O groups, or excluded some aromatics (Mao & Schmidt-Rohr, 2004a). Therefore, to obtain a quantitative aromatic fraction, the distinction of the signals of alkyl O and aromatic C has to be made. To separate the overlapping  $sp^3$ -hybridized O-C-O C signals from the aromatic bands, one of the options is to acquire a CP/MAS spectrum with a  $^{13}\text{C}$  CSA filter (Mao & Schmidt-Rohr, 2004b).

In the present study advanced NMR approaches such as  $^{13}\text{C}$  DP/MAS,  $^{13}\text{C}$  CP/TOSS, CSA filtering and spectral editing experiments were used to: 1) identify and quantify the major components of HA and FA from soils from three major biomes in Brazil (Atlantic Forest, Grassland and Cerrado); 2) compare the main molecular composition differences between humic acid and fulvic acids; 3) evaluate the true aromaticity of HS, and; 4) evaluate the impact of eucalypt cultivation on humic and fulvic acids molecular composition.

## 2. MATERIAL AND METHODS

### 2.1. Site description and soil sampling

The study involved a qualitative and quantitative assessment of the humic (HA) and fulvic acids (FA) from Brazilian soils under three major biomes (Atlantic Forest, Grassland/Pampa, and the savanna-like Cerrado) (Figure 1) and the alterations that occurred after eucalypt establishment. These biomes are the second, third and fifth in extension and are the ones where short-rotation eucalypt planting is concentrated. Representative areas that have been under commercial eucalypt plantation were selected within each biome. In each region, soil from adjacent primary native vegetation (NV) areas representative of those biomes was also sampled as reference. Two sites were selected for sampling within both Cerrado and Atlantic Forest biomes and one site was selected in the Grassland biome. The characteristics of the studied areas are summarized below (Table 1).

**Atlantic Forest** – It was sampled two sites in order to represent the Atlantic Forest biome. Both are located in Espírito Santo State, Brazil. The first site (Sooretama) is situated at 19°11'21.16''S and 40°07'41.53''W, 40 km south of São Mateus city. The second (Montanha) is situated at 18°7'34.52''S and 40°21'58.29''W, 80 km north-northwestern São Mateus city. These two sampled sites provided the opportunity to relate the effect of local climate and vegetation in the humic substances (HS) molecular composition since the local rainfall is distinct. Because of the gradient in the rainfall from Brazilian Atlantic coast toward inland in the studied region, a more exuberant perennial Atlantic Forest occurs closer to the coast (Sooretama) than in the semi-perennial Atlantic forest located about 80 Km inland in north-northwestern Espírito Santo State (seasonally dry Atlantic Forest). Since in one of the sites eucalypt was introduced after sugarcane plantation, and in the other region planted *Braquiaria sp* pasture is a dominant alternative land use, it was also sampled soils from those areas.

**Cerrado** - Two sites were sampled in the Cerrado biome and both are located in Minas Gerais state. This is the state with the largest eucalypt plantation area in Brazil. The dry season spans from April to September. The first site is located in Itacambira County and is situated at 17° 5'8.92''S and 43°18'35.29''W at 1.048 m altitude. This site is in a large flat plateau and the vegetation is dominated by shrubs with small abundance of grassy species, locally called *senso*

*strictu* Cerrado. The second site is located in Curvelo County, at 18°44'57.00''S and 44°26'48.32''W at 633 m altitude. The Cerrado in Curvelo is taller and denser and is called Cerradão. There are virtually no grasses present. Winters are cooler and the dry season is longer in Itacambira.

**Grassland/Pampa** - It was sampled one site that has been cultivated with Eucalyptus for 22 years. It has never been harvested or thinned. This is not a regular situation once the commercial stands are usually harvest in 6-7 year long rotations. Our choice of sampling was more restrict in this biome since large-scale commercial plantings are more recent. The site is located in Triunfo County- Rio Grande do Sul state in subtropical (southern) Brazil, situated at 29°56'34.28°S and 51°43'6.44''W, approximately 50 km East of the state capital, Porto Alegre.

Commercial eucalypt stands of approximately 20 ha were chosen to be representative of plantations in each biome. Four areas of 50 x 50 m were delimited randomly in each stand and six to ten soil samples were collected in the 0-10 cm layer. The individual samples from each area were combined to yield a composite sample for each stand, which were subsequent by used to extract the HS to carry out the NMR experiments. After collection the soil samples were air dried and passed through a standard 2 mm sieve.



**Figure 1.** Brazilian biomes and the five study sites in the Atlantic Forest/Mata Atlântica (Sooretama and Montanha), in the Cerrado (Curvelo and Itacambira) and in the Grassland/Pampa (Triunfo) biomes. Note: Figures are not in the same scale.

**Table 1.** Site and soil characteristics in the studied Atlantic Forest, Cerrado, and Grassland biomes.

Biome Site	Atlantic Forest						Cerrado				Grassland		
	Sooretama		Atlantic Forest		Montanha		Curvelo Cerradão		Itacambira Cerrado		Triunfo Grassland		
<b>Previous Land Use</b>	Eucalypt planted in 1969; replanted in 2001	1970-1990 <i>Panicum</i> sp.; 1990 – Braquiaria sp		1966-1986 Pasture 1986-1999 Sugarcane		1966-1986 Pasture ; 1986-2007 Sugarcane						Eucalypt planted in 1984	
<b>Current Use</b>	Eucalypt	Pasture	Atlantic Forest	Eucalypt	Atlantic Forest	Sugarcane	Cerrado	Eucalypt	Cerrado	Eucalypt	Eucalypt	Grassland	
<b>Cultivation Period</b>	38 years	37 years		8 years		41 years		14		14		21 years	
<b>Current Age</b>	7 years	27 years		10 years		21 years		7 years		7 years		21 years	
<b>Number of rotations</b>	5 <sup>th</sup> rotation			1 <sup>st</sup> rotation				2 <sup>nd</sup> rotation		2 <sup>nd</sup> rotation			
<b>Management</b>	Coppiced and Reformed twice			Plantation				Coppiced once		Coppiced once		Never Cut	
<b>Tmax (°C)</b>		29.0			29.3		29.2		28.2			21.8	
<b>Tmin (°C)</b>		19.0			18.6		16.7		12.6			12.6	
<b>Rainfall (mm year<sup>-1</sup>)</b>		1500			1100		1306		1067			1915	
<b>Altitude (masl)</b>		36			50		633		1048			31	
<b>Köppen's Climate type</b>		Tropical, Af			Tropical, Aw		Tropical, Aw		Tropical, Aw			Subtropical, Cfa	
<b>Soil C (dag kg<sup>-1</sup>)</b>	2.16	2.91	3.78	1.23	3.46	0.98	2.38	2.59	6.32	5.38	1.57	2.15	
<b>δ<sup>13</sup>C v-PDB</b>	-26.31	-17.04	-30.54	-13.08	-24.91	-19.43	-23.72	-23.31	-26.37	-26.00	-22.81	-16.35	
<b>N (dag kg<sup>-1</sup>)</b>	0.76	0.82	0.84	0.76	0.78	0.75	0.82	0.74	0.94	0.85	0.74	0.73	
<b>Sand (%)</b>	88	74	94	90	90	91	11	12	9	15	46	45	
<b>Silt (%)</b>	0	2	1	0	0	0	12	14	10	8	12	16	
<b>Clay (%)</b>	12	24	5	10	10	9	77	74	81	77	42	39	
<b>Soil type (FAO)</b>			Ultisol					Oxisol				Alfisol	

## **2.2. Soil organic matter chemical fractionation and elemental analysis**

Soil humic substances fractionation was performed according to Swift (1996), with small modifications. The humic fraction was extracted by adding 0.1 mol L<sup>-1</sup> NaOH under an atmosphere of N<sub>2</sub> to soil sample, giving a final 1:2.5 soil:extractant ratio. This alkaline-extracted SOM was separated into humic acid (HA) and fulvic acid (FA) fraction through acidification with HCl to pH 1.0-2.0 range. The NaOH-insoluble humin fraction was reserved for future studies. The humic acids fraction was purified by first redissolving it in NaOH and solid KCl (to yield a 0.3 mol L<sup>-1</sup> final concentration, to facilitate the removal of suspended solids). Following, clay minerals in the HA were removed by treating them for 2 h with a 0.5 % (w/v) HCl/ 10 % (w/v) HF solution to give a final 1:10 HA:solution ratio. This procedure was based on previous NMR work with tropical and subtropical soils (Gonçalves et. al., 2003; Dieckow et al., 2009), except that it was repeated 10 times to ensure a low enough paramagnetic ions concentration. The HF-treated HA samples were transferred to dialysis tubes (MW cut off 10000 kDa) and dialyzed against ultra pure water. The desalted samples then were freeze-dried. To purify the crude FA fraction it was passed through chromatographic columns (10 mL min<sup>-1</sup>) containing a non-ionic resin (DAX-8 Supelite, Supelco) to remove organic, non-humic contaminants. The FA fraction adsorbed to the resin in the column was eluted with 0.1 mol L<sup>-1</sup> NaOH (4 mL min<sup>-1</sup>). The eluted fraction containing the FA was desalted by passing it through H<sup>+</sup>-saturated cation exchange resin (Amberlite - IR 120<sup>+</sup>) at 2.5 mL min<sup>-1</sup>. Then the eluate containing the purified FA was freeze-dried. Total C and N content of HA and FA were determined by dry combustion in an elemental analyzer. <sup>13</sup>C natural abundance was carried out on a continuous flow isotope ratio mass spectrometer (20-20 ANCA GSL, Sercon, Crewe, UK) and results expressed based on the PDB international standard.

## **2.3 Solid-State Nuclear Magnetic Resonance**

In order to characterize the molecular composition of HA and FA, advanced <sup>13</sup>C NMR experiments were carried out. The HA and FA samples were packed in 7 mm rotors for the best sensitivity for most of experiments and analyzed using a Bruker DSX 400 spectrometer operating at a <sup>13</sup>C frequency of

100 MHz, using a magic-angle spinning (MAS) probehead. An exception was the high-speed experiments at 14 kHz MAS.

### ***High-speed quantitative $^{13}\text{C}$ DP/MAS NMR***

The high-speed DP and  $^{13}\text{C}$  NMR experiments were performed using a Bruker 4-mm double-resonance probehead at a spinning speed of 14 kHz to provide quantitative structural information. Recycle delays were tested by the Cross Polarization/Spin Lattice Relaxation Time–Total Sideband Suppression (CP/T<sub>1</sub>–TOSS) technique to ensure that all C sites were fully relaxed (Mao et al., 2000). It was used a recycle delay of five times the  $^{13}\text{C}$  T<sub>1</sub> measured. The details of this technique have been described elsewhere (Mao et al., 2000). The  $^{13}\text{C}$  90°  $^{13}\text{C}$  pulse length was 4.3 μs. In order to obtain the quantitative fraction of non protonated C, dipolar dephasing of 40 μs was adapted to high-speed direct polarization MAS  $^{13}\text{C}$  NMR according to Mao & Schmidt-Rohr (2004a). After acquisition, necessary corrections were made to compensate for residual spinning sidebands (Mao et al., 2000).

### ***$^{13}\text{C}$ CP/TOSS and $^{13}\text{C}$ CP/TOSS with dipolar dephasing***

Qualitative composition information was obtained by  $^{13}\text{C}$  CP/TOSS (Cross Polarization/TOTAL Suppression of Sidebands) experiments, performed at a 6.5 kHz spinning speed.  $^1\text{H}$  90° pulse length was 4.4 μs and  $^{13}\text{C}$  180° pulse was 9.1 μs, with a contact time of 500 μs and recycle delay of 1 s. Four-pulse total suppression of sidebands (TOSS) (Dixon, 1982) was employed before detection. The corresponding sub spectrum with signals of nonprotonated C and mobile groups such as rotating CH<sub>3</sub> was obtained by  $^{13}\text{C}$  CP/TOSS combined with 40 μs dipolar dephasing.

### ***$^{13}\text{C}$ chemical shift anisotropy filter***

The signals of anomeric C (O-C-O) overlapped with aromatic groups (115-94 ppm) were determined by using a CSA (Chemical Shift Anisotropy) filter along with CP/TOSS. The aromatic-C signals were selectively suppressed by a three-pulse  $^{13}\text{C}$  CSA filter with a CSA filter time of 70 μs. In order to select the

signals of nonprotonated O–C–O (ketal) C, which may extend to 115 ppm, this CSA filter was combined with a dipolar dephasing time of 40  $\mu$ s (Mao & Schmidt-Rohr, 2004b). The details of this technique have been described elsewhere (Mao and Schmidt-Rohr, 2004b).

### ***CH and CH<sub>2</sub> spectral editing***

The spectrum of immobile CH<sub>2</sub> and CH C, with a small CH<sub>3</sub> contribution comes from the difference of a CP/TOSS and a CP/TOSS spectrum after 40  $\mu$ s dipolar dephasing (Mao and Schmidt-Rohr, 2005). For CH selection, a robust method based on C–H multiple-quantum coherence (Schmidt-Rohr and Mao, 2002) was used.

For the quantitative solid-state <sup>13</sup>C NMR, the molecular composition of HA and FA was accessed by dividing the spectra into ranges and then integrating the areas. Generally, the assignments are as follows (Mao et al., 2000): Nonpolar alkyl – integration obtained from DP/MAS spectrum 0-46 ppm range. OCH<sub>3</sub> groups – integration obtained from DP/MAS spectrum after dipolar dephasing, 48-65 ppm range; NCH – integration obtained from the difference between DP/MAS spectrum before (46-65 ppm range), and after dipolar dephasing (48-65 ppm range). Carbohydrate C non protonated (OCq) – integration obtained from CSA filter spectrum after dipolar dephasing (65-94 ppm range); Carbohydrate C protonated – integration obtained from the difference between CSA filter spectrum before (65-94 ppm range), and after dipolar dephasing (65-94 ppm range); O–C–O anomeric non protonated (O-Cq-O) – integration obtained from CSA filter spectrum after dipolar dephasing (94–115 ppm range); O–C–O anomeric non protonated – integration obtained from the difference between CSA filter spectrum before (94–115 ppm range) and after dipolar dephasing (94–115 ppm range). Aromatic pure non protonated – integration obtained from DP/MAS spectrum after dipolar dephasing (94-145 ppm range) and corrected by contribution of anomeric C in the 94-115 ppm range; Aromatic pure protonated – integration obtained from the difference between from DP/MAS spectrum before (94-145 ppm range) and after dipolar dephasing (94-145 ppm range) and corrected by contribution of O-C-O anomeric in the 94-115 ppm range (from CSA filter spectrum); Phenolics non protonated – integration obtained from DP/MAS

spectrum after dipolar dephasing (145-161 ppm range); Phenolics protonated – integration obtained from the difference between from DP/MAS spectrum before (145-161 ppm range) and after dipolar dephasing (145-161 ppm range). COO – integration obtained from DP/MAS spectrum, 161–188 ppm range. Ketone, quinone, or aldehyde C – integration obtained from DP/MAS spectrum, 190-220 ppm range. The CH and CH<sub>2</sub> spectral editing were used for some samples to confirm the presence of carbohydrates as O-CH-O in the CH selection (92-64 ppm) and the CH<sub>2</sub>-OH around 62 ppm in CH<sub>2</sub> selection; and the peptides presence with NHC groups resonating in 64-46 ppm range in the CH selection (Mao et al., 2007).

### 3. RESULTS

#### *Overall results and NMR analysis*

Humic and fulvic acid (HA and FA) elemental and isotopic composition are showed in the Table 2. The C content in HA and FA molecules generally increased after eucalypt cultivation. On the other hand, N content did decrease, consequently C/N molar ratios of HA widen. FA showed larger C/N ratio than HA. The natural <sup>13</sup>C abundance showed a partial substitution of <sup>13</sup>C from area cultivated with sugarcane (-20.27 ‰ in HA, -24.86 ‰ in FA) followed by eucalypt during 8 years (-26.36 ‰ in HA, -28.38 ‰ in FA)- Montanha site. We also could see that in South Brazil with the substitution of Grassland (-15.91 ‰ in HA, -23.50 ‰ in FA) by eucalypt for 22 years (-23.29 ‰ in HA, -29.01 ‰ in FA) resulted in a change in the natural <sup>13</sup>C abundance in HA.

The aromatic fraction and aromaticity were accurately determined based on full <sup>13</sup>C **D**irect **P**olarization/**M**agic **A**ngle **S**pinning (DP/MAS), <sup>13</sup>C **C**ross **P**olarization/**T**otal **S**uppression of **S**idebands (CP/TOSS) spectra with a <sup>13</sup>C **C**hemical **S**hift **A**nisotropy (CSA) filtering and spectral editing experiments.

In Figures 2 and 3 it is shown a series of <sup>13</sup>C CP/TOSS NMR spectra for HA and FA, respectively. Besides the <sup>13</sup>C CP/TOSS full spectra, which show qualitative structural information, we also acquired a CP/TOSS spectra after a <sup>13</sup>C CSA filter, which exhibit only sp<sup>3</sup>-carbon signals (Figures 2a and 3a). Specifically, the CSA filter separates overlapping anomeric (O-C-O) from



aromatics between 94 and 115 ppm. Using the CSA filter it could be observed the contribution of OCq (94-65 ppm) and OCqO (115-94 ppm) in HA and FA. By difference before and after gate, it was estimated in the CSA spectra the OCH and OCHO, which resonate in the 94-65 ppm and 115-94 ppm ranges, respectively.

**Table 2.** Elemental analyses and isotopic composition of the humic substances

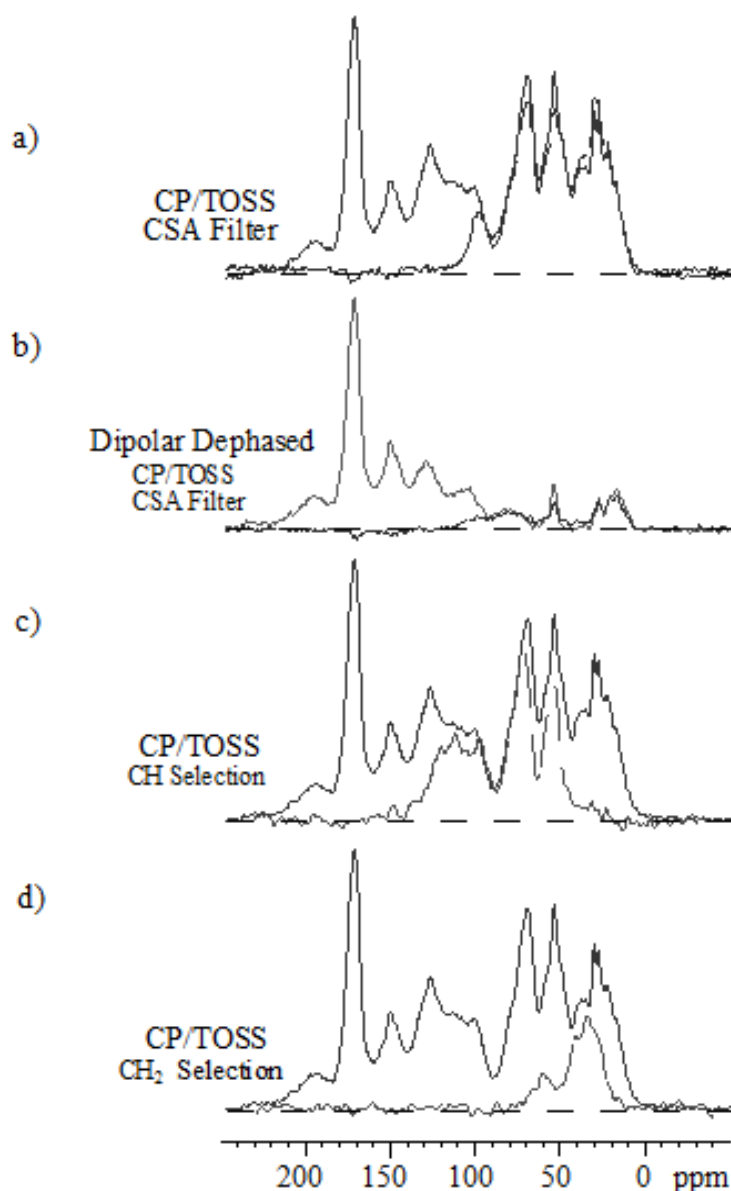
Biome/Site	Use	C	H	N	O	Humic Acid			
						$\delta^{13}\text{C}$ V-PDB ‰	H/C	C/N	O/C
Atlantic Forest Sooretama	Atlantic Forest	45.4	5.1	4.0	45.5	-28.0	1.3	13.1	0.75
	Eucalypt 38 years	47.1	5.2	3.6	44.1	-29.0	1.3	15.4	0.70
	Pasture	46.2	5.0	3.4	45.3	-21.1	1.3	15.6	0.74
Atlantic Forest Montanha	Atlantic Forest	45.8	4.8	4.4	45.0	-30.2	1.3	12.2	0.74
	Eucalypt 8 years	47.8	5.1	3.8	43.3	-26.4	1.3	14.6	0.68
	Sugarcane	46.3	4.5	3.8	45.4	-20.3	1.2	14.3	0.73
Cerrado Curvelo	Cerrado	46.6	4.9	4.4	44.1	-22.1	1.3	12.4	0.71
	Eucalypt	48.5	5.5	3.7	42.3	-23.6	1.3	15.2	0.66
Cerrado Itacambira	Cerrado	45.5	4.5	4.0	46.0	-25.0	1.2	13.1	0.76
	Eucalypt	45.6	4.3	3.0	47.2	-24.3	1.1	18.0	0.78
Grassland Triunfo	Grassland	48.4	5.3	4.4	41.9	-15.9	1.3	12.9	0.65
	Eucalypt 22 years	48.8	5.2	4.6	41.3	-23.3	1.3	12.5	0.63
						Fulvic Acid			
Atlantic Forest Sooretama	Atlantic Forest	25.0	2.3	1.3	71.5	-25.5	1.1	22.6	2.15
	Eucalypt 38 years	26.9	2.4	1.3	69.4	-26.4	1.1	23.9	1.94
	Pasture	27.9	2.6	1.6	67.9	-19.9	1.1	20.3	1.83
Atlantic Forest Montanha	Atlantic Forest	22.2	1.9	1.8	74.0	-30.3	1.0	14.3	2.50
	Eucalypt 8 years	27.1	2.5	1.4	69.0	-28.4	1.1	22.9	1.91
	Sugarcane	22.7	2.0	1.4	73.9	-24.9	1.1	18.8	2.44
Cerrado Curvelo	Cerrado	31.1	3.1	1.2	64.5	-26.7	1.2	29.8	1.55
	Eucalypt	29.8	2.8	1.1	66.3	-26.4	1.1	31.3	1.67
Cerrado Itacambira	Cerrado	33.2	3.2	1.2	62.5	-28.4	1.1	32.5	1.41
	Eucalypt	33.2	3.1	1.0	62.7	-25.7	1.1	38.7	1.42
Grassland Triunfo	Grassland	28.4	2.6	1.6	67.4	-23.5	1.1	20.6	1.78
	Eucalypt 22 years	30.9	2.8	1.1	65.1	-29.0	1.1	32.5	1.58

The  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  2D HETCOR spectra applied by Mao et al. (2001) to evaluate peat HA from Amherst-MA enabled unambiguous identification of the otherwise poorly resolved anomeric carbons (O-CHR-O); those bands are indeed predominantly carbohydrates; The peak positions of the O alkyl signals show deviations from those recorded for cellulose, as well as larger line widths; this suggests that these are the signals of secondary carbohydrates.

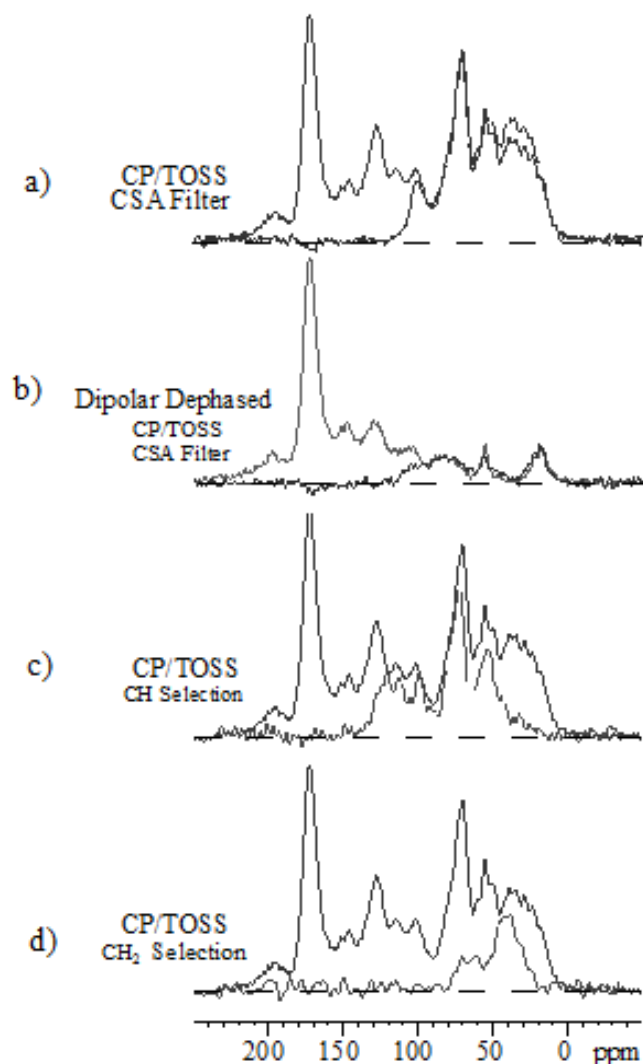
The combination of those  $^{13}\text{C}$  CP/TOSS full spectra, and filter technique with dipolar dephasing leads to subspectra (dashed lines in Figures 2b and 3b) of exclusively nonprotonated carbons and mobile groups. The  $^{13}\text{C}$  CP/TOSS after dipolar diphase spectra show small signals from mobile  $\text{CH}_3$  (10-25 ppm) and  $(\text{CH}_2)_n$  (around 30 ppm) components, and strong signal from  $\text{COO/NC=O}$  groups (173 ppm). A sharp peak, around 55 ppm, can be assigned to  $\text{OCH}_3$  group. This peak is prominent in all the dipolar-dephased spectra, due to the  $\text{CH}_3$  mobility and relatively large distance of the  $\text{OCH}_3$  carbon from other protons; correspondingly, it is suppressed in the fast CP/MAS spectrum (Mao et al., 2001). Nonprotonated aromatic carbons in multiple oxygen-substituted rings are detected around 155 ppm and 110 ppm. These three types of bands (55, 155 and 110 ppm) are characteristic of lignin (Mao et al., 2008). Mao et al. (2001) observed strong cross-peaks between  $\text{OCH}_3$  carbons and aromatic protons, showing that the  $\text{OCH}_3$  groups are connected directly with aromatic rings near protonated aryl carbons, in a lignin-like structure. By difference before and after the gate, we could estimate the contribution of  $\text{NHC/CCH}$  groups that resonate in the same range of the  $\text{OCH}_3$  groups.  $^{13}\text{C}$  resonance of  $\text{NCH}$  groups, for instance in proteins, are expected in the 50-65 ppm range (Mao et al., 2001). Nonprotonated aromatic signals are also observed around 130 ppm and a small, broad band around 65–94 and 94-115 ppm arises from  $\text{OCq}$  and  $\text{O-Cq-O}$ .

The full spectrum (CP/TOSS) compared with CH spectral editing is showed in Figures 2c and 3 c. The presence of carbohydrates compounds can be confirmed by the the  $\text{O-CH-O}$  band in the CH selection (92-64 ppm), as well the peptides presence, evidenced by  $\text{NHC}$  groups resonating in 64-46 ppm range. Carbohydrates contribution was confirmed by the band of  $\text{CH}_2\text{-OH}$  resonating around 62 ppm in  $\text{CH}_2$  selection (Figures 2d and 3d).

$^{13}\text{C}$  DP/MAS spectra, which can provide quantitative structural information were also obtained. The relative contribution of different functional groups was altered when we compared CP-based data with DP-based. The results indicate that the aromatic fraction for HA and FA was in fact underestimated when using CP/TOSS in comparison to DP/MAS (Tables 3 and 4). In addition, is observed a substantial overlapping  $\text{O-C-O}$  C signals in the so-called aromatic region, thus part of that signal was from non-aromatic compounds (as showed in Figures 2a and 3a).



**Figure 2.** Full spectrum (CP/TOSS) of a humic acid compared with CSA-filtered  $^{13}\text{C}$  spectra (dashed lines). The overlapping chemical-shift ranges of alkyl O-C-O and aromatic C-C-O C is from 94 to 115 ppm (a) Spectrum (CP/TOSS) compared with CSA-filtered  $^{13}\text{C}$  spectra (dashed lines) after 40- $\mu\text{s}$  gated decoupling for dipolar dephasing. The overlapping chemical-shift ranges of alkyl O and aromatic C nonprotonated is from 94 to 115 ppm (b). Full spectrum (CP/TOSS) compared with CH spectral editing to confirm the presence of carbohydrates compounds as O-CH-O in the CH selection (92-64 ppm) and the peptides presence with NHC groups resonating in 64-46 ppm range in the CH selection (c) and Full spectrum (CP/TOSS) compared with  $\text{CH}_2$  spectral editing, the  $\text{CH}_2\text{-OH}$  around 62 ppm in  $\text{CH}_2$  selection (d).



**Figure 3.** Full spectrum (CP/TOSS) of a fulvic acid compared with CSA-filtered  $^{13}\text{C}$  spectra (dashed lines). The overlapping chemical-shift ranges of alkyl O-C-O and aromatic C-C-O C is from 94 to 115 ppm (a) Spectrum (CP/TOSS) compared with CSA-filtered  $^{13}\text{C}$  spectra (dashed lines) after 40- $\mu\text{s}$  gated decoupling for dipolar dephasing. The overlapping chemical-shift ranges of alkyl O and aromatic C nonprotonated is from 94 to 115 ppm (b). Full spectrum (CP/TOSS) compared with CH spectral editing to confirm the presence of carbohydrates compounds as O-CH-O in the CH selection (92-64 ppm) and the peptides presence with NHC groups resonating in 64-46 ppm range in the CH selection (c) and Full spectrum (CP/TOSS) compared with CH<sub>2</sub> spectral editing, the CH<sub>2</sub>-OH around 62 ppm in CH<sub>2</sub> selection (d).

**Table 3.** Aromaticity, aliphaticity and alkyl/O alkyl ratio (A/A-O) of fulvic (FA) and humic acids (HA) from tropical and subtropical soils using  $^{13}\text{C}$  DP/MAS NMR and  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR.

Biome	Use	Tech	HA	FA	DP/CP	HA	FA	AH	FA	
Site			Aromaticity (%)		AH	AF	Aliphaticity (%)		A/O-A	
Atlantic Forest Sooretama	Atlantic	DP	45.1	42.8	1.4	2.0	54.9	57.2	1.1	1.1
	Forest	CP	33.2	21.1			66.9	78.9	0.9	0.8
	Eucalypt	DP	49.8	38.0	1.5	1.8	50.2	62.0	1.6	0.9
	38 years	CP	32.7	20.6			67.3	79.4	1.3	1.1
	Pasture	DP	53.8	40.8	1.3	1.5	46.2	59.2	1.1	0.7
		CP	40.0	26.6			60.0	73.4	0.9	0.7
Atlantic Forest Montanha	Atlantic	DP	56.2	50.6	1.4	1.6	43.8	49.4	1.2	0.9
	Forest	CP	41.5	30.9			58.5	69.1	1.0	0.8
	Eucalypt	DP	50.6	42.1	1.4	1.8	49.4	57.9	1.6	1.2
	8 years	CP	36.6	23.9			63.4	76.1	1.5	1.0
	Sugar	DP	62.8	52.8	1.4	1.7	37.2	47.2	1.4	0.9
		CP	46.0	31.9			54.0	68.1	1.0	0.8
<b>Average DP-based</b>			<b>53.0</b>	<b>44.5</b>	<b>1.4</b>	<b>1.7</b>	<b>47.0</b>	<b>55.5</b>	<b>1.3</b>	<b>0.9</b>
Cerrado Curvelo	Cerrado	DP	49.6	27.1	1.5	1.9	50.4	72.9	1.4	1,4
		CP	33.0	14.2			67.0	85.8	1.0	1,2
	Eucalypt	DP	42.7	39.9	1.5	1.9	57.3	60.1	1.7	1,4
		CP	28.8	21.4			71.2	78.6	1.4	1,2
Cerrado Itacambira	Cerrado	DP	64.9	27.9	1.5	1.8	35.1	72.1	1.2	1,3
		CP	42.8	15.6			57.2	84.4	1.0	1,1
	Eucalypt	DP	68.1	30.0	1.5	2.0	31.9	70.0	1.2	1,4
		CP	46.9	15.2			53.2	84.8	1.0	1,1
<b>Average DP-based</b>			<b>56.3</b>	<b>31.2</b>	<b>1.5</b>	<b>1.9</b>	<b>43.7</b>	<b>68.8</b>	<b>1.4</b>	<b>1.4</b>
Grassland Triunfo	Grassland	DP	52.9	40.7	1.4	1.6	47.1	59.3	1.2	1,2
		CP	37.5	26.1			62.5	73.9	1.1	0,9
	Eucalypt	DP	43.3	37.6	1.3	1.7	56.7	62.4	1.6	1,3
		CP	33.7	22.2			66.3	77.8	1.1	1,1
<b>Average DP-based</b>			<b>48.1</b>	<b>39.2</b>	<b>1.3</b>	<b>1.6</b>	<b>51.9</b>	<b>60.8</b>	<b>1.4</b>	<b>1.3</b>

Aromaticity= (115 to 161 ppm range)/ (0 to 161 ppm range); Aliphaticity= (0 to 115 ppm range)/ (0 to 161 ppm range); A/O-A=(0 to 46 ppm/65-115 ppm).

The relative increase in aromatic groups when using DP/MAS resulted in a redistribution of others functional groups intensity (Fig 4-11) and as a result it could be seen in some cases that the HS that would be considered mostly aliphatic using CP actually have an aromatic nature based on DP results (Tables 3 and 4). The DP-based aromaticity was 1.4 and 1.8 times the CP-based aromaticity of HA and FA, respectively. The largest underestimation was observed for HA and FA from Cerrado soils (1.5 and 1.9), followed by Atlantic Forest (1.4 and 1.7) and Grassland (1.3 and 1.6) soils.

**Table 4.** Aromaticity, aliphaticity and alkyl/O alkyl ratio (A/A-O), in Humic Substances under different use of tropical and subtropical soil using <sup>13</sup>C DP-MAS NMR.

Use	Site	AH	AF	AH	AF	HA	FA
		Aromaticity (%)		Aliphaticity (%)		A/A-O	
Native Vegetation							
Atlantic Forest	Sooretama	45.1	42.8	54.9	57.2	1.1	1.1
	Montanha	56.2	50.6	43.8	49.4	1.2	0.9
	Curvelo	49.6	27.1	50.4	72.9	1.4	1.4
Cerrado Grassland	Itacambira	64.9	27.9	35.1	72.1	1.2	1.3
	Triunfo	52.9	40.7	47.1	59.3	1.2	1.2
	Average	53.7	37.8	46.3	62.2	1.2	1.2
	Amplitude	45-65	27-51	35-55	49-73	1.1-1.4	0.9-1.4
Eucalypt							
Eucalypt 38 years	Sooretama	49.8	38	50.2	62	1.6	0.9
Eucalypt 8 years	Montanha	50.6	42.1	49.4	57.9	1.6	1.2
Eucalypt 14 years	Curvelo	42.7	39.9	57.3	60.1	1.7	1.4
Eucalypt 14 years	Itacambira	68.1	30	31.9	70	1.2	1.4
Eucalypt 22 years	Triunfo	43.3	37.62	56.7	62.37	1.6	1.3
	Average	50.9	37.5	49.1	62.5	1.5	1.2
	Amplitude	43-68	30-42	32-57	58-70	1.2-1.7	0.9-1.4
Others							
Pasture	Sooretama	53.8	40.8	46.2	59.2	1.05	0.69
Sugarcane	Montanha	62.8	52.8	37.2	47.2	1.4	0.9
	Average	58.3	46.8	41.7	53.2	1.2	0.8
	Amplitude	43-68	30-44	32-57	61-70	1.05-1.4	0.69-0.9

Aromaticity= (115 to 161 ppm range)/ ( 0 to 161 ppm range); Aliphaticity= (0 to 115 ppm range)/ ( 0 to 161 ppm range); A/O-A=(0 to 46 ppm/65-115 ppm).

The DP results also point out for large differences in aromaticity between HA and FA, with the former being more aromatic than the later in all sites. The A/O-A ratio was generally lower in FA than in HA (Table 3). The average A/O-A ratio was 1.4 for HA and 1.1 for FA.

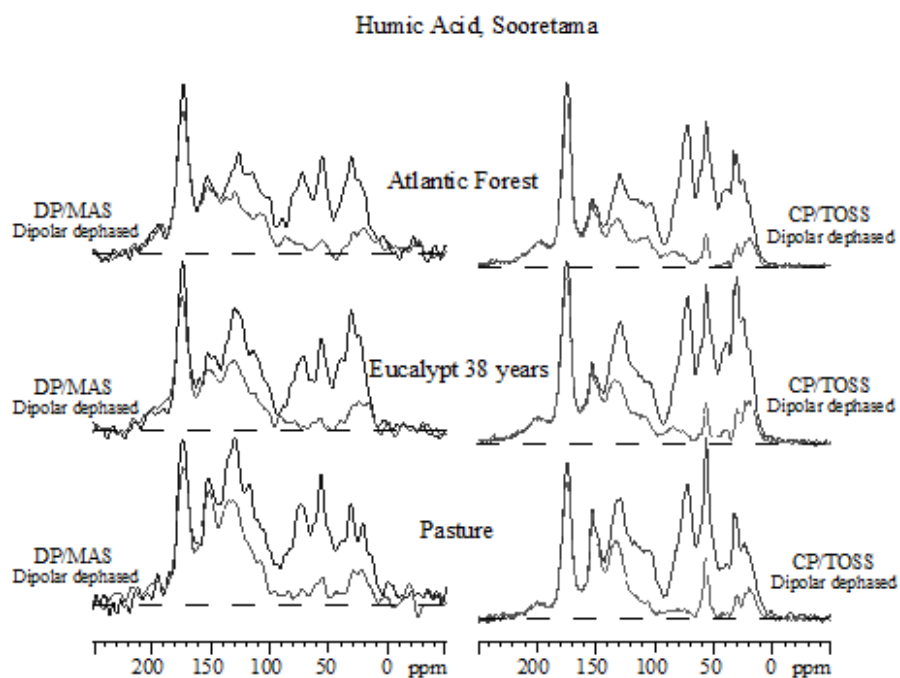
The average HA and FA aromaticity was, respectively, 53.7 and 37.8 % to Native Vegetation, 50.9 and 37.5 % to Eucalypt, and 58.3 and 46.8 % to other uses pasture and sugarcane (Table 4), illustrating that the overall aromaticity is greater for HA than FA. Also, the average A/O-A ratio for eucalypt and other uses was greater for HA than for FA.

The  $^{13}\text{C}$  CP/TOSS and DP/MAS spectra of HA and FA for the three biomes are shown in Figures 4 to 11. Despite the differences in vegetation, soils and climate the HA and FA present a similar molecular composition pattern. However, differences were observed for the proportion between the groups in each sample, and the distribution of the relative signal in the spectral regions among samples. The major NMR-identifiable components in these HS were primarily aromatic, COO groups, peptides, carbohydrate, and nonpolar alkyl.

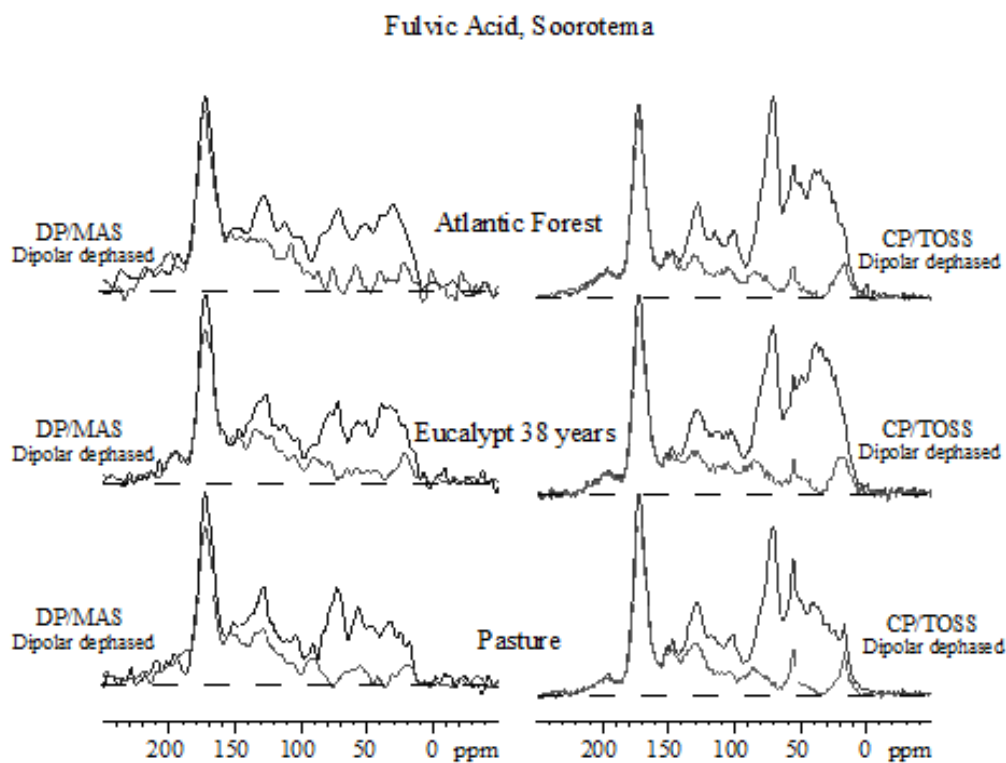
#### *Effect of land use change in the Atlantic Forest biome*

At the Sooretama site after 38 years of eucalypt cultivation there was a 10 % increase in the HA aromaticity and a 11 % decrease in the FA aromaticity (Table 3) in comparison to those from the Atlantic Forest soil. Aliphatic compounds (nonpolar alkyl -  $\text{CH}_3$  and  $\text{CH}_2$  groups), which resonate between 0-46 ppm, have a sharper peak around 33 ppm for HA (Figure 4) than for FA (Figure 5). The relative contribution of these compounds in HA was: Eucalypt (20%) > native forest (18 %) > Pasture (15 %), whereas in FA the contribution of alkyl C was lower in the Atlantic Forest (16 %) than in the eucalypt area (17 %). It was possible to observe a higher contribution of pasture to compounds containing  $\text{OCH}_3$  groups (65-46 ppm; Figures 4 and 5), in which such contribution was around 3 % for HA and FA. The contribution of NHC/CCH groups, whose contribution (averaged across biomes) was 8 % in HA and 7 % in FA (Tables 5 and 6).

The replacement of the native forest by eucalypt resulted in 18 and 20 % decrease of signal attributed to O-C-O alkyl groups (65-115 ppm range - DP/MAS spectra) in HA and FA, respectively (Tables 5 and 6). The protonated phenolic C (161-145 ppm) increased more than 100 % in the HA after introducing eucalypt plantations in comparison to those from the native forest soil. On the other hand, the nonprotonated form (161-145 ppm) decreased 17 %.



**Figure 4.** DP/MAS and CP/TOSS  $^{13}\text{C}$  NMR spectra of humic acids from soils under Atlantic Forest, eucalypt and pasture in Sooretama, Espirito Santo.



**Figure 5.** DP/MAS and CP/TOSS  $^{13}\text{C}$  NMR spectra of fulvic acid from soils under Atlantic Forest, eucalypt and pasture in Sooretama, Espirito Santo.



**Table 5.** <sup>13</sup>C DP/MAS NMR functional groups in the humic acid samples from the Atlantic Forest, Cerrado and Grassland soils.

		C=O	COO/ NCO	Phenolic		Aromatic		O Alkyl			OCH <sub>3</sub>	NHC/ CCH	Nonpolar alkyl		
		220-188	188-161	prot	nonprot	prot	nonprot	OCHO	oCqO	oCq	OCH	65-48	65-46	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>
		ppm													
Site	Use	----- % -----													
	At For	3.13	18.43	0.52	8.00	9.59	17.82	1.69	1.15	1.98	10.88	1.51	9	12.64	4.96
Sooretama	Euc	3.05	16.24	1.71	6.68	14.73	18.64	1.45	0.88	1.72	8.77	1.64	7.68	14.65	5.34
	Past	1.67	14.27	0.48	9.18	16.08	19.95	1.46	0.61	1.31	10.63	2.72	7.80	11.12	3.61
Montanha	At For	2.26	17.92	0.65	8.47	14.81	20.82	0.17	1.78	1.53	8.04	2.01	6.98	10.76	3.58
	Euc	2.06	16.22	0.19	7.19	13.51	20.81	0.43	1.75	1.25	8.72	0.75	7.93	14.82	5.07
	SC	2.28	17.43	2.87	7.00	18.05	22.89	0.91	0.66	1.21	6.59	1.25	6.39	8.16	4.88
Curvelo	Cer	2.08	17.83	0.93	6.02	12.75	19.91	1.55	0.63	1.67	9.03	0.44	8.91	13.48	4.61
	Euc	3.62	17.73	0.02	6.68	7.39	19.82	1.52	0.71	1.56	9.97	1.05	7.84	16.75	6.09
Itacambira	Cer	3.35	19.62	2.65	5.41	26.09	15.87	0.91	0.65	1.68	6.42	1.55	3.82	7.39	4.60
	Euc	2.69	18.85	0.02	8.26	13.25	32.14	0.96	0.70	1.30	5.91	1.55	3.99	6.83	3.90
Triunfo	Gras	2.67	18.01	1.83	6.96	14.17	19.29	0.81	0.84	0.17	10.49	3.26	7.28	10.53	4.19
	Euc	3.36	19.30	2.10	5.70	11.05	14.26	0.01	2.26	0.90	9.88	1.22	8.18	14.82	6.10

At For: Atlantic Forest; Euc: Eucalypt; Past: Pasture; SC: sugarcane; Cer: Cerrado; Gras: Grassland; prot:protonated C; unprot:unprotonated C.

**Table 6.**  $^{13}\text{C}$  DP/MAS NMR functional groups in the fulvic acid samples from the Atlantic Forest, Cerrado and Grassland soils.

Site	Use	C=O	COO/ NCO	Phenolic		Aromatic		O Alkyl			OCH <sub>3</sub>	NHC/ CCH	Nonpolar alkyl		
		220-188	188-161	prot	nonprot	prot	nonprot	OCHO	oCqO	oCq	OCH	65-48	65-46	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>
		ppm													
		----- % -----													
Sooretama	At For	4.72	23.11	0.73	6.27	7.78	15.27	2.41	0.88	1.54	10.78	2.21	6.02	13.45	2.96
	Euc	4.14	23.87	0.59	5.61	8.37	12.86	2.63	1.94	3.43	10.68	1.04	7.53	13.61	3.82
	Past	4.47	24.17	1.30	6.19	8.66	13.06	2.06	2.17	2.03	12.94	3.06	6.96	10.62	2.56
Montanha	At For	3.51	21.74	2.18	7.16	11.02	17.46	1.34	1.17	2.10	9.97	1.34	7.62	10.68	2.72
	Euc	3.93	20.89	2.27	6.16	8.72	14.53	2.30	1.60	2.22	10.00	1.46	7.25	15.02	3.65
	SC	3.85	24.33	3.64	7.08	10.34	16.86	1.67	2.11	1.90	8.34	1.28	6.28	10.06	2.26
Curvelo	Cer	3.78	23.79	1.33	3.40	6.59	8.30	2.04	1.98	2.83	10.92	2.03	8.48	19.64	4.89
	Euc	4.65	24.05	3.31	4.46	6.99	13.71	1.64	1.41	2.60	8.93	1.87	5.92	15.20	5.26
Itacambira	Cer	3.19	24.26	1.42	3.46	4.36	10.91	1.07	3.65	6.55	7.20	1.87	7.50	18.58	5.64
	Euc	2.12	24.66	1.65	3.80	5.93	10.61	2.32	2.14	4.49	8.38	4.53	4.81	18.05	6.52
Triunfo	Gras	1.29	21.37	0.05	6.49	13.66	11.16	2.44	2.44	2.80	9.11	1.52	7.08	15.15	5.12
	Euc	4.75	24.37	2.28	4.49	7.23	12.85	1.84	1.93	2.41	9.44	1.25	7.28	15.47	4.89

At For: Atlantic Forest; Euc: Eucalypt; Past: Pasture; SC: sugarcane; Cer: Cerrado; Gras: Grassland; prot: protonated C; unprot: unprotonated C.

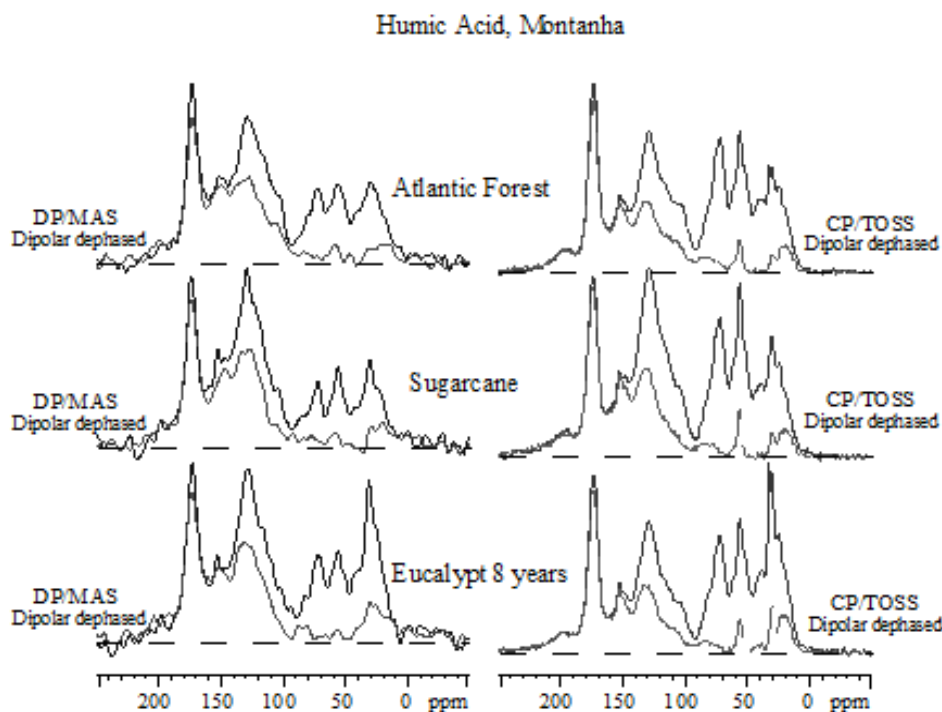
For the aromatic pure (145-115 ppm) in HA occurred 54 and 5 % increases in protonated and nonprotonated forms, respectively, due to the substitution of the native forest by eucalypt. The same land use change resulted in a 19 % drop in contribution of the protonated phenolic C and 11 % lower contribution of nonprotonated phenolic C of FA. The protonated forms of aromatic pure participation increased 7 % and the nonprotonated decreased 16 % when comparing eucalypt and native forest FA. The ratio between aromatic pure C (145-115 ppm) and phenolic C (161-145 ppm) in HA and FA was slightly larger in the eucalypt than in the Atlantic Forest soil (Tables 5 and 6).

The HA from the soil under pasture showed a higher contribution of phenolic C and aromatic pure C (Table 5) and a greater contribution of phenolics units in FA (Table 6). The contribution of COO/NCO and C=O groups in HA decreased in the order: Atlantic Forest >Eucalyptus>Pasture. There was, however, slight differences for FA; the average across all sites was 4 % for C=O and 24 % for COO/NCO in FA.

At the Montanha site there were increases of 12 and 5 % in the aromaticity of HA and FA, respectively, after the introduction of sugar cane in comparison to the native Atlantic forest soil (Figures 6, Tables 5 and 6). After 8 years of eucalypt implantation in former sugarcane fields, and opposite pattern was observed because the aromaticity of HA and FA was reduced by 19 and 20 %, respectively. In the DP/MAS CP/TOSS spectra there were clear differences in signal intensity in the 0 to 45 ppm range; it decreased in the order: eucalypt >Atlantic Forest>sugar cane for both HA (Figure 6) and FA (Table 6). The contribution of NHC/CCH groups was greater in HA from soil under eucalypt (7.9 %) than in those under native forest and sugar cane (Table 5). The OCH<sub>3</sub> groups represented 0.7 % of the C in the HA and 1.5 % in the FA from soil cultivated with eucalypt.

The substitution of the Atlantic Forest by sugar cane resulted in 19 and 4 % decreases in the intensity of O alkyl C (115-65 ppm), respectively, in HA and FA. On the other hand, the cultivation of eucalypt after sugar cane in this site resulted in a recover of O alkyl C in the HS. The aromatic C:phenolic C ratio in HA was higher in the eucalypt area, but there was no significant change in this ratio for the FA. Sugar cane cultivation increased HA aromatics groups (161-115 ppm) by 14 %, but when the sugar cane was substituted by eucalypt the aromatics

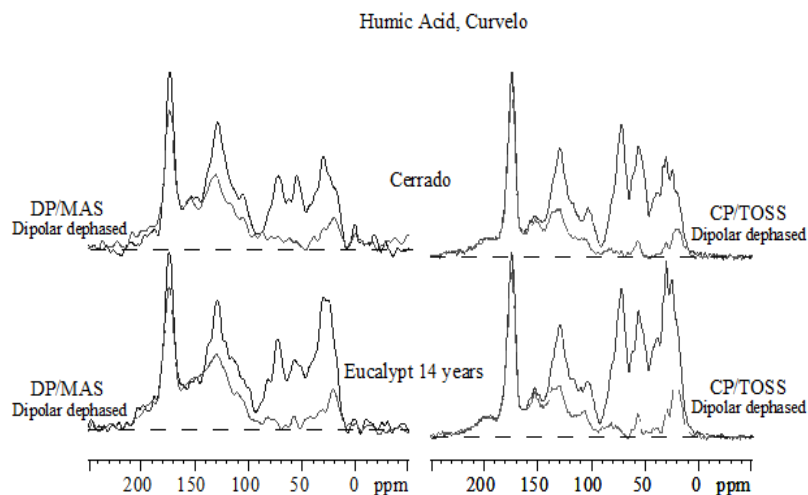
group decreased 18 % in the HA and 16 % in the FA. In Montanha site the aromaticity of HS is higher than in Sooretama (Tables 5 and 6).



**Figure 6.** DP/MAS and CP/TOSS  $^{13}\text{C}$  NMR spectra of humic acids from soils under Atlantic Forest, eucalypt and sugarcane in Montanha, Espírito Santo.

#### *Effect of land use change in the Cerrado biome*

At the Curvelo site 14 years of eucalypt cultivation (two rotations) led to HA with lower aromaticity (decreased from 50 to 43 %), whereas de reverse was observed for FA, which became more aromatic (aromaticity increased from 27 to 40 %). The signals corresponding to the  $\text{CH}_3$  group in the 0-26 ppm range and to the  $\text{CH}_2$  group in the 22-46 ppm range were more intense in HA from the soil cultivated with eucalypt (23 % contribution) than in that under native cerrado soil (18 % contribution). On the other hand, eucalypt soil FA showed a lower signal intensity of alkyl groups than that from the cerrado soil, with contribution decreasing from 24 to 20 %.



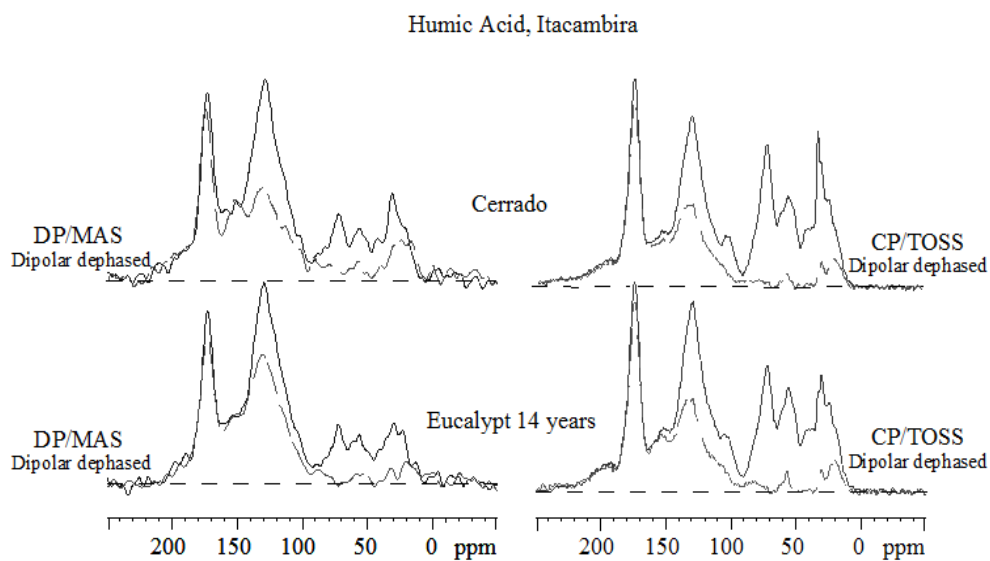
**Figure 7.** DP/MAS and CP/TOSS  $^{13}\text{C}$  NMR spectra of humic acids from soils under Cerrado and eucalypt in Curvelo, Minas Gerais.

Eucalypt cultivation in this cerrado soil increased the contribution of  $\text{OCH}_3$  in HA from 0.4 % to about 1 %, but in the FA only small differences between the distinct uses were observed (Figure 7). The *O* aliphatic groups (115-94 ppm range) represented 13 % of the HA C from the cerrado and 14 % in HA from soil under eucalypt. In the FA the contribution of *O* alkyl C decreased 18 % after the replacement of native vegetation by eucalypt. The aromatics group represented around 40 % of the C in HA and 20 % in FA from Cerrado soil, and 34 and 28 % in HA and FA from eucalypt soil, respectively. The  $\text{COO}/\text{NCO}$  groups intensity did not change significantly their signal after eucalypt introduction, and they represent approximately 18 % in HA and 24 % in FA.

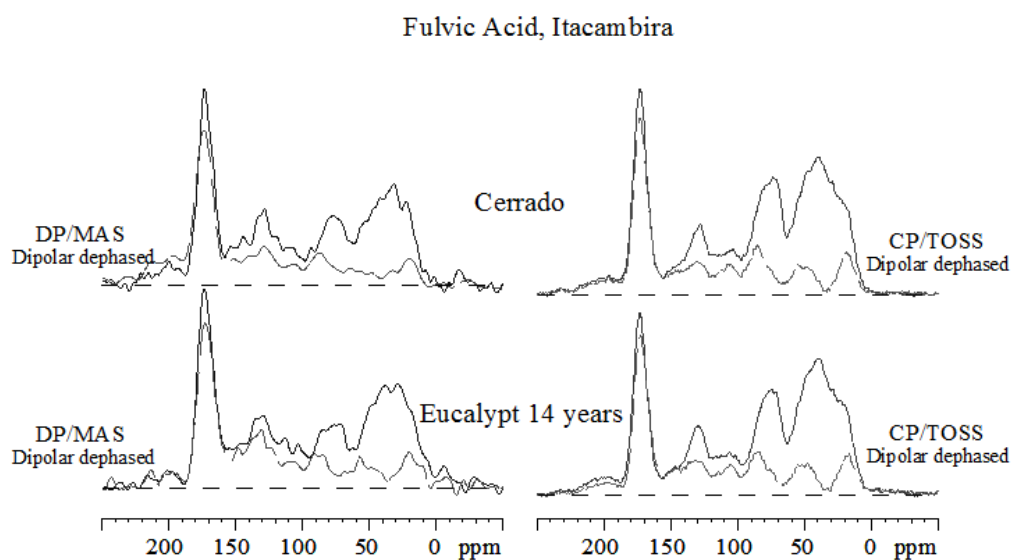
At the Itacambira site the HA and FA became more aromatic after eucalypt cultivation and, consequently, the aliphaticity decreased in both fractions (Table 4). The signal in the 0-46 ppm range corresponding to alkyl C HA decreased 10 % with the replacement of Cerrado. However, FA showed no difference after cerrado substitution.

The participation of  $\text{OCH}_3$  and  $\text{NHC}/\text{CCH}$  groups in HA was similar for eucalypt and cerrado (Figure 8). However, the  $\text{OCH}_3$  group in FA from soil under eucalypt had greater signal intensity than that under Cerrado, and the opposite was observed for  $\text{NHC}/\text{CCH}$  groups (Figure 9). The substitution of native Cerrado

vegetation by eucalypt resulted in 8 % decrease in HA and 6 % reduction in FA O alkyl (Tables 5 and 6).



**Figure 8.** DP/MAS and CP/TOSS  $^{13}\text{C}$  NMR spectra of humic acids from soils under Cerrado and eucalypt in Itacambira, Minas Gerais.



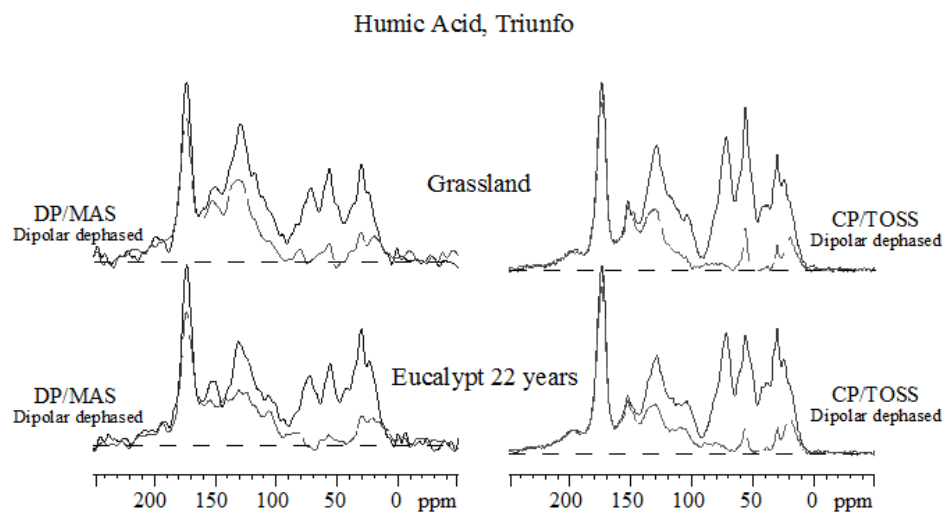
**Figure 9.** DP/MAS and CP/TOSS  $^{13}\text{C}$  NMR spectra of fulvic acids from soils under Cerrado and eucalypt in Itacambira, Minas Gerais.

The HA from Cerrado soil at the Itacambira site showed the most intense peak (42 %) assigned to aromatic C (115-145 ppm) (Figure 8) as compared to HA from soils under other natural vegetation (Atlantic Forest and Grassland). Interestingly, eucalypt cultivation in this site increased the contribution of aromatics pure further to 45 %. This high signal intensity for aromatic compounds in HA is also observed in the spectra after gate dipolar dephasing (Figure 8). In the FA the aromatics groups signal increased from 20 to 22 % after eucalypt establishment.

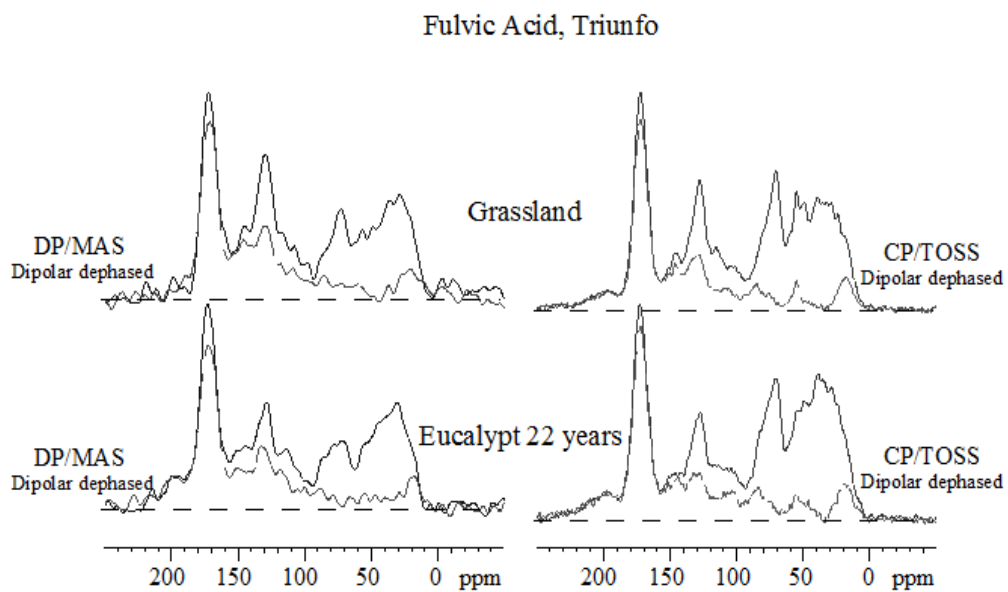
#### *Effect of land use change in the Grassland biome*

At the Triunfo site in southern Brazil decreases in the aromaticity of 18 and 8 % were observed, respectively, for HA and FA after 22 years of continuous eucalypt (a single long rotation) cultivation. Consequently, the aliphaticity increased 20 and 5 %, respectively, for HA and FA in this site (Table 4).

As in the others sites in the Atlantic Forest and Cerrado biome, there was a 42 % increment in peak intensity of alkyl C when the native grassland vegetation was substituted by eucalypt, whereas in the FA the changes in such compounds were virtually absent. Nevertheless, the changes observed in the O alkyl C showed a pattern distinct from the other sites, with a 6 % increment for HA and a 7 % decrease for FA after 22 years of cultivation in soil formerly under native Grassland. The peak at 55 ppm assigned to OCH<sub>3</sub> groups, had the HA and FA C signal after dipolar dephasing (Figures 10 and 11) slightly more intense in the Grassland than in eucalypt. Aromatic groups represented around 33 % of the C in HA and 27 % in FA from the eucalypt area, and 42 and 31 % in HA and FA from the Grassland area. The COO/NCO groups in HA and FA increased C in 7 and 14 %, respectively, after eucalypt cultivation in soils previously under grassland.



**Figure 10.** DP/MAS and CP/TOSS  $^{13}\text{C}$  NMR spectra of humic acids from soils under Grassland and eucalypt in Triunfo, Rio Grande do Sul.



**Figure 11.** CP/TOSS MAS  $^{13}\text{C}$  NMR spectra of fulvic acids from soils under Grassland and eucalypt in Triunfo, Rio Grande do Sul.



#### 4. DISCUSSION

The determination of relative intensity of functional groups of SOM has been most frequently carried out using CP techniques (Bayer et al., 2000; González-Perez et al., 2004; Alcântara et al., 2004; Rumpel et al., 2004; Dick et al., 2005; Dieckow et al., 2005, 2009) and when aiming to compare distinct uses of the same soil that information is deemed acceptable. However, if SOM samples are from soils under distinct environments and have very distinct characteristics, the use of  $^{13}\text{C}$  CP/MAS as a quantitative tool may prove inadequate (Preston, 1996; Mao et al., 2000). The  $^{13}\text{C}$  DP/MAS NMR, CP and editing experiments have been used to evaluate HA from temperate soils (Mao et al., 2001, 2008), these experiments overcame a major shortcoming of the  $^{13}\text{C}$  CP/MAS technique, namely the underestimation of  $sp^2$ -hybridized C with high CSA, such as those in aromatics. Those techniques have been used to evaluate HS composition from temperate soils (Mao et al., 2001, 2007, 2008), and in the present study they allowed obtaining more accurate, quantitative estimates of the aromaticity degree of HA and FA extracted from soils under distinct biomes in Brazil.

The results indicated that the aromaticity of HA and FA obtained through traditional  $^{13}\text{C}$  CP/MAS experiments is underestimated in soils under distinct uses. Determining the true aromaticity of HS is crucial not only to improve their current proposed structural models, but also to gain insights on the impact of land use changes on quality of sequestered C in soils, which in turn will affect other important global C compartments.

The replacement of native vegetation by eucalypt plantations increased the relative contribution of aliphatic groups in HA from soils previously under Atlantic Forest (Sooretama and Montanha sites), Grassland, and the Cerrado (Curvelo site only) biomes. The same trend was observed for FA, except in the Curvelo site. Following eucalypt planting there are large changes not only in the amount, but also in the quality of the litter input to soils. The nonpolar alkyl source can be attributed to fatty acids (Stevenson, 1994) and poly (methylene) groups (Mao et al., 2007). The increase in those groups can be attributed to the selective preservation of compounds derived from plants, such as the non-saponifiable rigid structures of cutans and suberans and also to *in situ* microbial

alkyl synthesis (Baldock et al., 1990, 1992). The selective preservation of aliphatics compounds has been observed by other authors (Dieckow et al., 2005).

The period that soils have been under eucalypt plantations vary from 8 to 38 years. The Sooretama site has been cultivated with eucalypt during 38 years and is in its 5<sup>th</sup> rotation. There it could be observed the lowest contribution of aliphatic to HA in comparison to those of the native Atlantic Forest vegetation. The highest contribution of those compounds was observed in Montanha site (Atlantic Forest biome) and in southern Brazil (Grassland biome), where conditions seem to favor additional mechanisms of stabilization. The uninterrupted 22-year long rotation in the Grassland biome may have created conditions favorable for transferring nonpolar alkyl C compounds to soil and, or its selective preservation in the soil environment.

Despite the very distinct conditions of soils, climates and vegetations where eucalypt has been introduced, the long-term eucalypt cultivation in Sooretama, Curvelo and Triunfo sites led to constant deposition and incorporation of material from litter into HA and FA in soils. For FA, the highest contribution of alkyl C was observed at the Montanha site. Because of the greater bioavailability of FA as compared to HA, the maintenance of nonpolar alkyl C in FA and also HA may have been favored in this slightly dryer Atlantic Forest site in Montanha. The lower participation of nonpolar alkyl C in HA and FA from eucalypt area in Itacambira site (Cerrado biome) may be a result of lower rates of litter and harvest residue decomposition and incorporation in HS because of its cooler and dryer climate in winter months (Table 1). The input of C from slowly decomposing eucalypt residue accumulates to a greater extent in soils of this region as components of the light fraction. Indeed the largest stocks of C in particulate and light fraction is found in soils of the cerrado region, followed by those under Atlantic Forest and then those from the Grassland Biome (Vergutz, unpublished data). Generally in Cerrado sites an accumulation of alkyl structures has been favored in comparison to lignins structures when the native vegetation is substituted by eucalypt. Rumpel et al. (2004) evaluating SOM quality in a Cambisol under spruce forest observed changes of the distributions of phenols and hydroxyalkanoic acids with depth that might indicate a preferential preservation of C derived from cutin/suberin compared to C derived from lignin. In a horizon subjected to eluviations of SOM and iron oxides. Alkyl C dominated the fine

particle size fractions (<6.3 mm) of the Aeh horizon of the Haplic Podzol, and it was suggested by the authors that the observed compounds would be the insoluble material remains, possibly derived from selectively preserved plant litter (Rumpel et al., 2004).

A trend for degradation and smaller contribution of O alkyl C (carbohydrates) in HA was observed in soils under eucalyptus in Atlantic Forest and Cerrado. For FA such decreases were seen in Cerrado and Grassland biomes after eucalypt implantation. That can indicate that eucalypt introduction can decrease the relative contribution of carbohydrates in HA and FA. The reduction of carbohydrates amount has been found following deforestation in previous works (Dieckow et al., 2005; Spaccini et al., 2006; Dieckow et al., 2009). The carbohydrates are the most easily degradable components of humic substances (Baldock et al., 1992). Its degradation is commonly attributed to microbial oxidation of the organic materials previously protected in the soil aggregates which can be destroyed by cultivation. The low oxidation degree and the contribution of considerable portion of easily decomposable structures (O alkyl C) in a SOM in topsoil in South Brazil was attributed to the formation of organo-mineral complexes (Dick et al., 2005). Non-cellulosic polysaccharides were found to be protected from mineralization by surface complexation on the clay fraction (Neufeldt et al., 2002), pointing out to a fairly low SOM decomposition degree in Ferralsols (Oxisols) in the Cerrado biome. Considering that the eucalypt rotation length are becoming increasingly shorter (currently around 6-7 years), it is apparent that the more labile organic C components will have smaller contribution to the HS. The 22 year-old stand may have favored microbial diversity and activity and the contribution of microbial derived-C for the HA in this soil is likely. In eucalypt stands under longer rotation periods there is a recovery in SOM content, which is richer not only in plant-derived carbohydrates, but also microbial-derived amino sugars such as glucosamine and galactosamine (Pegoraro, 2007). In the present study the contribution of other carbohydrates besides cellulose has been clearly verified after the CSA filtering. Since the peak was not centered in 105 ppm, typical for anomeric C of cellulose, it is additional evidence for contribution of secondary carbohydrates (Mao et al., 2001).

The lignin contribution for HA was confirmed by the presence of OCH<sub>3</sub> peak around 55 ppm associated to that around 150 ppm in the spectrum after

dipolar dephasing (DP/MASS-DD). In the area cultivated with pasture in Sooretama (Atlantic Forest biome) and the Grassland it was found the highest contribution of compounds originated from the lignin in HA structure. Lignin contribution can be indicated by the presence of peaks resonating around 155 ppm (phenolics structures) and OCH<sub>3</sub> groups (Mao et al., 2007). The pasture area has been continuously cultivated with pasture for 37 years; 10 years with *Panicum sp* and 27 years with *Braquiaria sp*. These species have a high biomass production and this result in a large input of plant material in soil, mostly as roots. It has been demonstrated that root C is more efficient than shoot C in converting to SOM and that root-derived C contributes, on average, 30 % more to SOM than shoot-derived C (Rasse et al., 2005). One of the main reasons that explain such greater contribution of roots is their chemical recalcitrance. Roots are richer in lignin and suberin than shoot, especially in grassy species (Rasse et al., 2005). Such chemical composition slows down their decomposition rate, which in turn may favor the incorporation of phenolic units generated by the enzymatic oxidation, and possibly quinones generated from the breakdown of phenoxy radicals (Martinez et al., 2005) derived from lignin decomposition into humified SOM (Stevenson, 1994; Simpson et al., 2002; Rasse et al., 2005); The HA from the soil under pasture also presented larger carbohydrates contribution than that from the eucalyptus area, possibly due to the fine and extensive root system and intense rhizodeposition typical of grassy plants.

The HA from the Cerrado at the Curvelo site, where the woody vegetation is virtually devoid of grass species showed a lower intensity of lignin signal than those from the Cerrado sensu stricto in Itacambira, where grass species are more abundant. Alcântara et al. (2004) found higher concentration of C and N under Cerrado than under a riparian forest. In grass-dominated Cerrado the underground input from roots was suggested by the authors as the main source for soil C. In a study in Brazil it was found that the <sup>13</sup>C signal for soils under native cerrado (sensu stricto) was between 20.5 and 19.7 %, indicating a substantial contribution of C4 grasses-derived C. Even though the aboveground biomass was mostly from C3 woody species, with C4 grass species contributing only 11%, about 50 % of SOC was derived from the C4 grasses, clearing pointing for a large contribution of grass roots to stabilized C (Wilke et al., 2004). The frequent input of dying thin roots and a very active rhizosphere facilitate the decomposition process,

transferring C from the light fraction to the heavy, more humified fractions (Alcântara et al., 2004). Among the studied areas Itacambira is the highest (1.048 masl), with temperature varying from 12.5 to 28.8 °C, 1000 mm year rainfall, with relatively mild summers and 7 month-long dry winter. These factors may favor the incorporation of lignin-derived residues into the HA. In the other sites where the climate is more favorable to residue decomposition, the contribution of lignins is reduced. Even fine roots of forest species that improve SOM are not efficient in providing lignin-derived C to HS. Rather, the more recalcitrant SOM pool seems to be the result of fine root activity and stabilization of microbial-derived C (Russel et al., 2007).

The widening aromatic C:phenolics C ratio indicates a loss of phenolic structures associated to the increment of substituted aromatic C. Consequently, it is an indication of a more advanced humification degree (Stevenson, 1994). This ratio averaged 4 in HA and 3 in FA. In Sooretama, in spite HA and FA having a larger aromaticity in area cultivated with pasture than under eucalypt, the pasture soil area still has great contribution from little altered materials, such as lignin fragments (as deduced from the phenolics signal around 155 ppm). The lower aromatic C: phenolics C of HA and FA from eucalypt soils in comparison to those under the native Atlantic Forest is possibly a result of a more oxidative, faster decomposing environment. It should be noted, however, that it was not observed the same trend in the others sites.

After 38 years of eucalypt cultivation in Sooretama (Atlantic Forest biome), the eucalypt cultivation kept the aromaticity of HA to the level observed for those under native vegetation. A decrease in HA aromaticity following eucalyptus implantation, including the aromatic pure, was seen in Curvelo site (Cerrado), Triunfo site (Grassland), and in Montanha (Atlantic Forest), possibly due to the increased aliphatic contribution, diluting the aromaticity factor. The HAs from a Brazilian Oxisol analyzed by Gonzalez-Perez et al. (2003) showed the same trend in compositional change after land use change to annual crop cultivation. The <sup>13</sup>C NMR spectra showed small differences in chemical composition of the HA from soils where incorporation of plant residues was higher, but indicated that SOM formed under such conditions was less aromatic. The effect of constant accumulation of crop residues was more important in this soil than the effect of tillage system. In no-till systems plowing is not used for the

incorporation of crop residues into the soil, favoring the continuous accumulation of crop residues at the soil surface, a condition similar to what has been practiced in the last couple of rotations in eucalypt areas, where soil preparation/tillage have been minimized. Therefore, for soil microorganisms, “fresh” plant residues are always available at soil surface, sometimes in quantities higher than their capacity to metabolize those (Gonzalez-Perez et al., 2003).

In order to distinguish between protonated and non-protonated carbons, the technique of dipolar dephasing (DD) was applied. It was possible to verify the contribution of compounds whose groups showed peaks in the aromatic range after DD. The peak remaining after DD around 130 ppm can be explained by contributions from highly modified lignin molecules. This signal can also be derived from condensed aromatic structures like black carbon (Mao et al., 2007). At our study sites the presence of charred material is most likely derived from burning off the native vegetation, as naturally occurs in the Cerrado region, or anthropic fires in the Grassland biome. Burning off harvest residues in eucalypt fields was also an ordinary practice in the early rotations. The presence of black fragments in an optical light transmission photomicrographs associated with a prominent aromatic C signal at 130 ppm in the NMR spectrum observed by Dieckow et al. (2005), was taken as evidence for the occurrence of materials derived from charcoal in SOM of a southern Brazil sub-tropical soils.

The ratio of alkyl to O alkyl (A/O-A ratio) was suggested by Baldock et al. (1997) as a sensitive index of the extent of SOM decomposition because as it proceeds the content of alkyl C increases and O alkyl C decreases. Contrary to the traditional view that HS with an aromatic core accumulate as decomposition proceeds, changes in the aromatic region were variable and suggested a relationship with the activity of lignin-degrading fungi (Baldock et al., 1997). However, the use of the A/O-A ratio will be used here just to compare the HA and FA within each region, into each soil use, assuming that they come from the same environmental condition (plant-soil-climate). There was a decrease of A/O-A ratio of the HA as compared to those of the FA fraction in 8 of 12 areas studied; It was an average of 1.4 for HA and 1.1 for FA. Thus, the HA in areas cultivated with eucalyptus would be in a more advanced stage of degradation than their respective FA, in the Atlantic Forest Biome (Sooretama – 28 yrs > Montantha – 8 yrs) as compared to those from the Cerrado and Grassland biomes (eucalypt 14

yrs=eucalypt 22 years), which in turn are more altered than those from the Itacambira (14 yrs). The O/C ratio for humic acids was lower than for FA, which may reflect higher amounts of COOH and/or carbohydrates (Stevenson, 1994). This clearly indicates that the effects of land use changes are strongly affected by the conditions at each biome and they should be taken into account in future studies.

## 5. CONCLUSIONS

<sup>13</sup>C DP/MAS NMR experiments associated with CSA filter allowed more accurate quantitative estimates of the aromaticity degree of HS extracted from soils under distinct biomes in Brazil, and results support that the DP-based-aromaticity was greater than the CP-based aromaticity. The major NMR-identifiable components in these HS were primarily aromatics, COO groups, peptides, carbohydrates and nonpolar aliphatics.

The replacement of native vegetation by eucalypt plantations increases the relative contribution of nonpolar aliphatic groups in HA from soils previously under Atlantic Forest (Sooretama and Montanha sites), Grassland, and the Cerrado (Curvelo site only) biomes. The alkyl C also increased after introducing eucalypt in FA from soils previously under Atlantic Forest (Sooretama and Montanha sites), Grassland, and the Cerrado (Itacambira site only) biomes. There is evidence of substantial contribution of lignin-derived C for HA and FA, especially in sites planted with *Brachiaria sp* pastures.

In HS from all biomes the dipolar dephasing technique confirmed a significant contribution of nonprotonated, condensed aromatic ring structures, in the aromatic regions, possibly inherited from charred materials derived from natural and anthropic fires in the region.

The widening aromatic C:phenolics C ratio indicates a loss of phenolic structures associated to the increment of substituted aromatic C. This ratio averaged 4 in HA and 3 in FA. There was also a decrease of A/O-A ratio from HA as compared to FA and this ratio averaged 1.4 for HA and 1.1 for FA, revealing a more advanced humification degree of HA.

There was an increase (HA) and a decrease (FA) of aromaticity after 38 years of eucalypt cultivation (comparing to Atlantic Forest soil - Sooretama). In Montanha, the HS aromaticity increased after sugarcane (in comparison to Atlantic forest soil). However, after 8 years of eucalypt implantation in former sugarcane fields, the HS aromaticity was reduced.

At the Curvelo site 14 years of eucalypt cultivation led to HA with lower aromaticity, whereas the reverse was observed for FA, which became more aromatic. At the Itacambira site the HA and FA became more aromatic after eucalypt cultivation.

In Triunfo, southern Brazil decreases in the aromaticity were observed for HS after 22 years of continuous eucalypt (a single long rotation) cultivation.

## 6. REFERENCES

- ABRAF-Associação Brasileira de Produtores de Florestas Plantadas. Anuário estatístico da ABRAF: ano base 2005 /ABRAF -- Brasília, 2006. 80p
- ALCANTARA F.A.; BUURMAN, P.; FURTINI NETO, A.E.; CURI N. & ROSCOE, R. Conversion of grassy cerrado into riparian forest and its impact on soil organic matter dynamics in an Oxisol from southeast Brazil. *Geoderma*, 123:305-317, 2004.
- BAYER, C.; MARTIN-NETO, L.; MIELNICZUK, J.; CERETTA, C.A. Effect of no-till cropping systems on soil organic matter in a sandy clay loam Acrisol from Southern Brazil monitored by electron spin resonance and nuclear magnetic resonance. *Soil Till. Res.*, 53:95-104, 2000
- BALDOCK, J.A.; OADES, J.M.; VASSALLO, A.M. & WILSON, M.A. Solid-state CP/MAS  $^{13}\text{C}$  N.M.R. Analysis of bacterial and fungal cultures isolated from a soil incubated with glucose. *Aust. J. Soil Res*, 28:213-225, 1990.
- BALDOCK, J.A.; OADES, J.M.; WATERS, A.G.; PENG, X.; VASSALLO, A.M. & WILSON, M.A. Aspects of the chemical structure of soil organic materials as revealed by solid-state  $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopy. *Biogeochem.*, 16:1-42, 1992.
- BALDOCK, J.A.; OADES, J.M.; NELSON, P.N.; SKENE, T.M.; GOLCHIN, A. & CLARK, P. Assessing the extent of decomposition of natural organic materials using solid-state  $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopy. *Australian journal of soil research*, 35:1061-1083, 1997.
- BAYER, C.; MARTIN-NETO, L.; MIELNICZUK, J. & CERETTA, C.A. Effect of no-till cropping systems on soil organic matter in a sandy clay loam



- Acrisol from Southern Brazil monitored by electron spin resonance and nuclear magnetic resonance. *Soil & Till. Res.*, 53:95-104, 2000.
- DICK, D. P.; GONÇALVES, C. N.; DALMOLIN, R. S. D.; KNICKER, H.; KLAMT, E.; KOGEL-KNABNER, I; SIMÕES, M. L. & MARTIN-NETO, L. Characteristics of soil organic matter of different Brazilian Ferralsols under native vegetation as a function of soil depth. *Geoderma*, 124:319-333, 2005.
- DIECKOW, J.; BAYER, C.; CONCEICA O, P.C.; ZANATTA, J.A.; MARTIN-NETO, L.; MILORI, D. B. M.; SALTON, J. C.; MACEDO, M. M.; MIELNICZUK, J.; HERNANI, L.C. Land use, tillage, texture and organic matter stock and composition in tropical and subtropical Brazilian soils. *Europ. J. Soil Sci.*, 60:240-249, 2009.
- DIECKOW, J.; MIELNICZUK, J.; KNICKER, H; BAYER, C; DICK, D. P.; KOGEL-KNABNER, I. Composition of organic matter in a subtropical Acrisol as influenced by land use, cropping and N fertilization, assessed by CPMAS <sup>13</sup>C NMR spectroscopy. *Europ. J. of Soil Sci.*, 56:705-715, 2005.
- DIXON, W.T. NMR spectra in spinning sidebands (TOSS). *J. Chem. Phys.* 77:1800-1809, 1982.
- GONCALVES, C.N.; DALMOLIN, R.S.D.; DICK, D.P.; KNICKER, H.; KLAMT, E.; KOGEL-KNABNER, I. The effect of 10% HF treatment on the resolution of CPMAS C-13 NMR spectra and on the quality of organic matter in Ferralsols. *Geoderma*, 116:373-392. 2003.
- GONZÁLEZ PÉREZ, M.; MARTIN-NETO, L.; SAAB, S.C.; NOVOTNY, E.H.; MILORI; D.M.B.P.; BAGNATO, V.S.; COLNAGO, L.A.; MELO, W.J.; KNICKER, H. Characterization of humic acids from a Brazilian Oxisol under different tillage systems by EPR, <sup>13</sup>C NMR, FTIR and fluorescence spectroscopy. *Geoderma*, 118:181-190, 2004.
- GUGGENBERGER G.; ZECH, W.; HAUMAIER, L.; CHRISTENSEN, B.T. Land-use effects on the composition of organic matter in particle-size separates of soils: II. CPMAS and solution <sup>13</sup>C NMR analysis. *Eur. J. of Soil Sci.* 46:147-158, 1995.
- HATCHER, P.G.; SCHNITZER, M.; DENNIS, L.W.; MACIEL, G.E. Aromaticity of Humic Substances in Soils. *Soil Sci Soc Am J.* 45:1089-1094, 1981.
- LIMA, A.M.N.; SILVA, I. R.; NEVES, J.C.L.; NOVAIS, R. F.; BARROS N.F.; MENDONÇA, E.S.; SMYTH, T. J.; MOREIRA, M. S. & LEITE, F. P. Soil organic carbon dynamics following afforestation of degraded pastures with eucalyptus in southeastern Brazil, *For. Ecol. Manag.*, 235:219-231, 2006.

- MAO, J.-D.; HU, W.; SCHMIDT-ROHR, K.; DAVIES, G.; GHABBOUR, E.A.; XING, B. Quantitative characterization of humic substances with solid state NMR. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64:873-884, 2000.
- MAO, J.-D. & SCHMIDT-ROHR, K. Accurate quantification of aromaticity and unprotonated aromatic carbon fraction in natural organic matter by  $^{13}\text{C}$  solid state NMR. *Environ. Sci. Technol.* 38:2680-2684, 2004a.
- MAO, J.D. & SCHMIDT-ROHR, K. Separation of aromatic-carbon  $^{13}\text{C}$  NMR signals from di-oxygenated alkyl bands by a chemical-shift-anisotropy filter. *Solid State NMR*, 26:36-45, 2004b.
- MAO, J.D. & SCHMIDT-ROHR, K. Methylene spectral editing in solid-state NMR by three-spin coherence selection. *J. Magn. Reson.* 176:1-6, 2005.
- MAO, J.D.; FANG, X.W.; SCHMIDT-ROHR, K.; CARMO, A.M.; HUNDAL, L.S. & THOMPSON, M.L. Molecular-scale heterogeneity of humic acid in particle-size fractions of two Iowa soils. *Geoderma*, 140:17-29, 2007.
- MAO, J.-D.; OLK, D.C.; FANG, X.; HE, Z.; SCHMIDT-ROHR, K. Influence of animal manure application on the chemical structures of soil organic matter as investigated by advanced solid-state NMR and FT-IR spectroscopy. *Geoderma*. 146:353-362, 2008.
- MAO, J.-D.; XING, B.; SCHMIDT-ROHR, K. New structural information on a humic acid from two-dimensional  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  correlation solid-state nuclear magnetic resonance. *Environ. Sci. Technol.* 35:1928-1934, 2001.
- MARTINEZ, Á.T.; SPERANZA, M.; RUIZ-DUEÑAS, F.J.; FERREIRA, P.; CAMARERO, S.; GUILLÉN, F.; MARTÍNEZ, M.J.; GUTIÉRREZ, A.; DEL RÍO, J.C. Biodegradation of lignocellulosics: microbial, chemical, and enzymatic aspects of the fungal attack of lignin. *Int. Microbiol.* 8:195-204, 2005.
- NEUFELDT, H.; RESCK, D.V.S. & YARZA, M.A. Texture and land use effects on soil organic matter in Cerrado Oxisols, Central Brazil. *Geoderma*, 107:151-164, 2002.
- PEGORARO, R.F. Sequestro de carbono e alterações bioquímicas da matéria orgânica de solos cultivados com eucalipto. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2007. 140p. 2007. Tese de Doutorado.
- PRESTON, C. M.; HEMPFLING, R.; SCHULTEN, H. -R.; SCHNITZER, M.; TROFYMOW J. A.; AXELSON D. E. Characterization of organic matter in a forest soil of coastal British Columbia by NMR and pyrolysis-field ionization mass spectrometry. *Plant and Soil.* 158:69-82, 1994.
- PRESTON, C.M. Application of NMR to soil organic matter analysis (history and prospects). *Soil Sci.*, 161:144-166, 1996.

- RASSE, D.P.; RUMPEL, C.; DIGNAC, M. F. Is soil carbon mostly root carbon? Mechanisms for a specific stabilization. *Plant Soil*, 269: 341-356, 2005
- RUMPEL, C.; EUSTERHUESA, K. & KOGEL-KNABNER, I. Location and chemical composition of stabilized organic carbon in topsoil and subsoil horizons of two acid forest soils. *Soil Biol. Biochem.*, 36: 177-190, 2004.
- RUSSELL, E.; RAICH, J. W.; VALVERDE-BARRANTES, O. J. & FISHER, R. F. Tree species effects on soil properties in experimental plantations in tropical moist forest. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 71:1389-1397, 2007.
- SCHMIDT-ROHR, K. & MAO, J.-D. Efficient CH-group selection and identification in  $^{13}\text{C}$  Solid-state NMR by dipolar DEPT and  $^1\text{H}$  chemical-shift filtering. *J. Am. Chem. Soc.* 124:13938-13948, 2002.
- SCHMIDT-ROHR, K., & H.W. SPIESS. Multidimensional solid state NMR and polymers. Academic Press, San Diego, 1994.
- SIMPSON, A. J.; BURDON, J.; GRAHAM, C.L.; HAYES, M. H. B.; SPENCER, N. & KINGERY, W. L. Interpretation of heteronuclear and multidimensional NMR spectroscopy of humic substances. *Europ. J. Soil Sci.*, 52:495-509, 2002.
- SPACCINI, R.; MBAGWU, J.S.C.; CONTE, P. & PICCOLO, A. Changes of humic substances characteristics from forested to cultivated soils in Ethiopia. *Geoderma*, 132:9-19, 2006.
- STEVENSON, F.J. Humus chemistry: genesis, composition, reactions. New York, J. Wiley & Sons, 1994. 496p.
- SWIFT, R.S. Method for extraction of IHSS soil fulvic and humic acids. In. SPARKS, D.L.; PAGE, A.L.; HELMKE, P.A.; LOEPPERT, R.H.; SOLTANPOUR, P.N.; TABATABAI, M.A.; JOHNSTON, C.T. & SUMMER, M.E., ed. Methods of soil analysis. Part 3. Chemical methods. *Soil Sci. Soc. Am. Books*, 1996. p. 1018-1020.
- WILCKE, W.; LILIENFEIN, J. Soil Carbon-13 Natural Abundance under Native and Managed Vegetation in Brazil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 68:827-832, 2004.
- WILSON, M.A. NMR Techniques and Applications in Geochemistry and Soil Chemistry. Pergamon Press, Oxford, 1987.
- ZINN, Y.L.; RESCK, D.V.S. & SILVA, J.E. Soil organic carbon as affected by afforestation with *Eucalyptus* and *Pinus* in the *Cerrado* region of Brasil. *For. Ecol. Manage.*, 166:285-294, 2002.

## CONCLUSÕES GERAIS

Em povoamentos de eucalipto cultivados em áreas anteriormente com culturas anuais e pastagem, os estoques de algumas frações da MOS são menores que os observados no solo sob vegetação nativa, enquanto se se verifica diferenças em relação ao estoque total de C, C-MOL e C-AF no solo de textura argilosa. Os maiores estoques de C observados até a camada de 60 cm na área cultivada com eucalipto apontam para contribuições além dos resíduos da colheita aportados em superfície, provavelmente, como C aportado pelas raízes em camadas mais profundas.

No solo arenoso o cultivo de eucalipto há 18 anos (2ª rotação) leva a incrementos nos estoques de C até as camadas mais profundas em comparação ao solo da mata nativa de restinga. As deposições de C via serapilheira e sistema radicular na primeira rotação, além de aporte de resíduos da colheita por ocasião da reforma, podem ter sido incorporados à MOS. Adicionalmente, os incrementos, de grande magnitude observados podem ser devido ao fato de a vegetação original, mata de restinga, possuir menor produtividade primária que o povoamento de eucalipto.

O solo argiloso apresentou maior capacidade de armazenar MOS, e especialmente nas SH, mas não na MOL e na BM em áreas cultivadas sob eucalipto. Possivelmente em razão de se tratar de um povoamento mais velho (4 anos), e estar numa fase deposição de serapilheira, além de haver fator (es) que estaria restringindo a sua decomposição e favorecendo o seu acúmulo.

A mudança de cobertura vegetal, e as práticas culturais introduzidas na implantação de povoamentos de eucalipto levaram a decréscimos de estoques de COT na camada superficial até aos 10 anos após a implantação. O maior impacto negativo foi constatado na MOL. Contudo, aos 10 anos observa-se recuperação precoce dos estoques de C-BM, C-AF e BM. Tais efeitos negativos foram amenizados em povoamentos mais velhos (13 e 22 anos). Rotações mais longas favorecem o aporte, a reciclagem e incorporação do C na MOS. No eucalipto com 13 anos observava-se aumentos nos estoques de C e frações da MOS, com exceção da fração humina, cujo aumentos só são observados após 22 anos da implantação do eucalipto. Os incrementos no C e a não recuperação nos estoques

de N resultam num alargamento da relação C:N da MOS, e, possivelmente, deficiência de N ao longo do tempo.

Logo após a reforma do povoamento de eucalipto ocorre um expressivo aumento no estoque do COT e C e N associado a algumas frações da MOS, enquanto para outras como a MOL e a BM se observa reduções expressivas. Já, após 4 anos da realização da reforma ainda são observados decréscimos nos estoques de MOL e todas as frações mais estáveis da MOS. A contribuição da serapilheira do cultivo anterior e dos resíduos retornados ao solo por ocasião da colheita resulta em incrementos iniciais (após um ano). Contudo, existe impacto negativo ao longo do tempo, possivelmente, devido ao impacto da operação de colheita, e preparo da área para o novo plantio.

Experimentos de RMN do  $^{13}\text{C}$ , DP/MAS associado com filtro CSA permitiram obter estimativas mais acuradas da aromaticidade das SH extraídos de solos de distintos biomas no Brasil. Os resultados baseados em dados gerados por DP foram maiores que os gerados por CP. Os principais componentes identificáveis foram aromáticos, grupos COO, peptídeos, carboidratos, e alifáticos não polar. A relação alquil/O-alquil decresceu do AH para o AF, revelando um grau mais avançado de humificação do primeiro.

A substituição da vegetação nativa por povoamentos de eucalipto aumentou a contribuição relativa de grupos alifáticos não polares em AH de solos previamente sobre Mata Atlântica (Sooretama e Montanha), Campo Nativo, e Cerrado (Curvelo). Os AF apresentaram a mesma tendência Houve evidências de contribuição substancial de ligninas em solo plantado com *Brachiaria sp.* Em todos os biomas a técnica de defasagem dipolar confirmou a presença de C em compostos aromáticos condensados, possivelmente, como contribuição de material herdado de material de queima natural e, ou antrópica.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com esse trabalho esperamos contribuir para a construção do conhecimento à respeito da MOS, componente chave em solos sob florestas plantadas de eucalipto, principalmente no Brasil. Os rendimentos alcançados aqui tem ultrapassado aqueles observados em outros países, onde o cultivo do eucalipto é tradição. A eucaliptocultura está em ascensão, é um fato. Essa espécie exótica, assim como tantas outras (arroz e feijão, por exemplo), tem sido alvo de muitas críticas socioambientais. A MOS regula, e é parte integrante de processos no solo, e entender qual o comportamento da MOS em solos sob esses povoamentos é parte importante para entender esses sistemas, e sua sustentabilidade. Os processos que envolvem a MOS são dinâmicos e complexos, assim taxas de sequestro, estoques, e composição da MOS são aspectos que variam com solo, clima, uso anterior, idade, manejo dos resíduos, entre outros fatores. Mas existe hoje um esforço grande do grupo de cientistas do Departamento de Solos /UFV em estudar a MOS em solos cultivados com eucalipto. Uma série de informações vem sendo levantadas e de forma concatenadas, possivelmente, ajudarão a nortear por exemplo, um manejo mais eficiente em áreas com povoamentos de eucalipto. Além de influenciar localmente a sustentabilidade dessas florestas, reafirma a importância de estudos da Ciência do solo no contexto do mercado global de C.

## **ANEXOS**

### **ANEXOS CAPITULO 1**

## ANEXO 1A

**Quadro 1A.** Teores de C (COT) e nitrogênio total (NT) e C e N associados as frações ácido fúlvico (AF), ácido húmico (AH), humina (HU), matéria orgânica leve (MOL) e biomassa microbiana (BM) em solos de diferentes texturas (arenoso e argiloso) sob uso de eucalipto e mata nativa na região leste do Rio Grande do Sul

Camada de solo	<u>Teor COT (g kg<sup>-1</sup>)</u>				<u>Teor NT (g kg<sup>-1</sup>)</u>			
	<u>Argiloso</u>		<u>Arenoso</u>		<u>Argiloso</u>		<u>Arenoso</u>	
	<u>eucalipto</u>	<u>mata</u>	<u>eucalipto</u>	<u>mata</u>	<u>eucalipto</u>	<u>mata</u>	<u>eucalipto</u>	<u>mata</u>
0-10 cm	24,42	31,77	17,63	7,10	2,10	2,06	1,36	0,41
10-20 cm	23,63	31,11	12,75	5,88	1,65	2,07	0,99	0,27
20-40 cm	26,39	29,14	7,31	4,35	1,48	1,43	0,33	0,15
40-60 cm	29,14	23,24	4,45	2,76	1,06	1,31	0,16	0,13
60-100 cm	10,24	19,69	4,45	3,16	0,65	0,67	0,11	0,13
	<u>Teor C-AF (g kg<sup>-1</sup>)</u>				<u>Teor N-AF (g kg<sup>-1</sup>)</u>			
0-10 cm	7,00	7,26	3,27	2,50	0,94	0,97	0,24	0,21
10-20 cm	6,79	7,69	2,93	2,57	0,73	0,95	0,16	0,10
20-40 cm	6,33	7,01	0,78	2,83	0,59	0,68	0,07	0,10
40-60 cm	6,81	5,44	0,28	0,76	0,46	0,46	0,04	0,04
60-100 cm	2,49	5,82	0,62	0,19	0,19	0,23	0,04	0,02
	<u>Teor C-AH (g kg<sup>-1</sup>)</u>				<u>Teor N-AH (g kg<sup>-1</sup>)</u>			
0-10 cm	9,11	8,55	8,07	1,79	0,55	0,55	0,89	0,17
10-20 cm	8,82	8,61	4,88	1,76	0,54	0,58	0,52	0,09
20-40 cm	10,71	8,28	3,14	0,35	0,39	0,41	0,19	0,03
40-60 cm	8,36	10,12	0,74	0,51	0,32	0,34	0,08	0,03
60-100 cm	3,25	6,80	1,02	0,23	0,17	0,23	0,06	0,03
	<u>Teor C-HU (g kg<sup>-1</sup>)</u>				<u>Teor N-HU (g kg<sup>-1</sup>)</u>			
0-10 cm	14,22	17,88	7,96	3,74	0,70	0,73	0,37	0,12
10-20 cm	13,37	15,68	5,91	2,80	0,54	0,65	0,33	0,09
20-40 cm	14,52	14,53	4,34	1,98	0,58	0,51	0,10	0,06
40-60 cm	11,78	9,26	3,29	1,95	0,36	0,50	0,06	0,07
60-100 cm	4,37	8,16	3,27	3,10	0,29	0,25	0,05	0,10

continua...



...

	<u>Teor C-MOL (g kg<sup>-1</sup>)</u>				<u>Teor N-MOL (g kg<sup>-1</sup>)</u>			
0-10 cm	2,215	1,794	5,220	1,523	0,112	0,088	0,278	0,082
10-20 cm	1,181	1,677	1,817	0,596	0,054	0,072	0,108	0,027
20-40 cm	0,272	0,650	0,875	0,202	0,011	0,023	0,051	0,008
40-60 cm	0,172	0,185	0,273	0,121	0,004	0,005	0,011	0,004
60-100 cm	0,058	0,162	0,131	0,125	0,002	0,004	0,006	0,006
	<u>Teor C-BM (g kg<sup>-1</sup>)</u>				<u>Teor N-BM (g kg<sup>-1</sup>)</u>			
0-10 cm	0,095	0,156	0,090	0,056	0,023	0,025	0,019	0,015
10-20 cm	0,070	0,178	0,091	0,046	0,017	0,034	0,010	0,009
20-40 cm	0,068	0,095	0,075	0,036	0,018	0,011	0,008	0,007
40-60 cm	0,027	0,066	0,056	0,034	0,016	0,016	0,005	0,006

## ANEXO 1 B

**Quadro 1B.** Análise de variância para estimativa dos estoques acumulados de carbono (COT) e nitrogênio total (NT) e C e N associados as frações ácido fúlvico (AF), ácido húmico (AH), humina (HU), matéria orgânica leve (MOL) e biomassa microbiana (BM) nas camadas de solo de 0-10, 0-20, 0-40, 0-60 e 0-100 cm, em solos de diferentes texturas (arenoso e argiloso) sob uso de eucalipto e mata nativa na região leste do Rio Grande do Sul.

Estoques		COT	NT	C:N <sub>Total</sub>	C-AF	N-AF	C-AH	N-AH	C-HU	N-HU	C-MOL	N-MOL	C:N- MOL	C-BM	N-BM	C:N - BM
FV	GL	Quadrado médio (0-10 cm)														
Solo	1	249,7*	1,49*	68,08 <sup>ns</sup>	20,14**	0,79 <sup>ns</sup>	9,18 <sup>ns</sup>	0,054 <sup>ns</sup>	127,32**	0,27**	12,24***	0,039**	15,08 <sup>ns</sup>	0,0014 <sup>ns</sup>	0,0000045 <sup>ns</sup>	3,30 <sup>ns</sup>
Resíduo a	6	25,0	0,15	69,73	0,56	0,024	1,96	4,40E-02	4,42	1,10E-02	0,87	3,00E-03	2,99	7,00E-04	7,00E-06	3,51
Uso	1	22,2 <sup>ns</sup>	0,84**	79,22 <sup>ns</sup>	0,28 <sup>ns</sup>	0,00002 <sup>ns</sup>	38,77***	0,45**	1,98 <sup>ns</sup>	0,044 <sup>ns</sup>	13,89**	0,039*	0,22 <sup>ns</sup>	0,00011 <sup>ns</sup>	0,000004 <sup>ns</sup>	0,99 <sup>ns</sup>
Uso x Solo	1	220,7**	0,73*	0,66 <sup>ns</sup>	0,80 <sup>ns</sup>	0,003 <sup>ns</sup>	29,66***	0,45**	41,58***	0,062*	9,89**	0,03*	0,56 <sup>ns</sup>	0,005**	0,00003 <sup>ns</sup>	6,97 <sup>ns</sup>
Resíduo b	6	11,93	0,070	32,18	1,88	0,009	0,96	0,021	1,15	0,009	0,46	0,002	3,42	0,0004	0,00003	4,27
média		15,44	1,13	15,77	3,80	0,44	5,34	0,44	8,26	0,36	2,26	0,12	19,70	0,08	0,02	5,08
CV (%)		22,37	23,27	35,97	35,96	21,64	18,37	33,25	13,01	25,61	30,03	37,40	9,38	24,70	36,96	40,67
		Quadrado médio (0-20 cm)														
Solo	1	2028,42**	10,35**	41,89 <sup>ns</sup>	136,82***	4,30***	136,65**	0,025 <sup>ns</sup>	777,44***	1,32***	10,85*	0,046**	26,93*	0,015***	0,0008*	0,15 <sup>ns</sup>
Resíduo a	6	97,22	0,35	35,82	3,74	2,10E-02	6,33	0,11	19,0841	1,90E-02	1,012	3,80E-03	2,81	3,80E-04	7,10E-05	2,82
Uso	1	21,91 <sup>ns</sup>	1,49 <sup>ns</sup>	58,32 <sup>ns</sup>	0,01 <sup>ns</sup>	0,017 <sup>ns</sup>	85,81**	1,07*	5,307754 <sup>ns</sup>	0,12 <sup>ns</sup>	19,61**	0,066**	5,19 <sup>ns</sup>	0,0036**	0,00012 <sup>ns</sup>	1,10 <sup>ns</sup>
Uso x Solo	1	756,30*	3,51*	8,49 <sup>ns</sup>	3,93 <sup>ns</sup>	0,086 <sup>ns</sup>	66,23*	1,21**	126,882**	0,31*	21,97**	0,065**	0,41 <sup>ns</sup>	0,043***	0,00043 <sup>ns</sup>	7,73 <sup>ns</sup>
Resíduo b	6	69,02	0,37	25,43	3,92	0,04	5,76	0,10	10,52	0,03	0,75	0,003	1,19	0,0003	0,0001	2,68
média		31,31	2,21	15,82	8,13	0,85	10,55	0,81	16,40	0,71	3,42	0,18	20,14	0,16	0,03	5,40
CV (%)		26,54	27,40	31,88	24,37	24,31	22,74	39,20	19,77	25,20	25,27	31,50	5,42	10,78	29,44	30,33

FV: fonte de variação; GL: graus de liberdade; ns, \*, \*\*, \*\*\* - não significativo e significativo a 5, 1 e 0,1 % pelo teste F, respectivamente.

continua...

...

Estoques	COT	NT	C:N <sub>Total</sub>	C-AF	N-AF	C-AH	N-AH	C-HU	N-HU	C-MOL	N-MOL	C:N- MOL	C-BM	N-BM	C:N - BM	
FV	GL	Quadrado médio (0-40 cm)														
Solo	1	10808,2***	43,94***	30,51 <sup>ns</sup>	569,71***	13,39***	1090,85***	0,78 <sup>ns</sup>	3383,98***	6,15***	19,95***	0,093*	43,14*	0,011*	0,0012***	2,83*
Resíduo a	6	41,81	0,87	30,27	3,01	0,11	10,07	0,14	13,01	0,07	0,63	0,003	5,10	0,001	0,00003	0,49
Uso	1	57,13 <sup>ns</sup>	3,002 <sup>ns</sup>	94,51 <sup>ns</sup>	35,49 <sup>ns</sup>	0,11 <sup>ns</sup>	394,79**	1,996*	64,78 <sup>ns</sup>	0,29 <sup>ns</sup>	29,93***	0,12***	18,63**	0,00008 <sup>ns</sup>	0,000006 <sup>ns</sup>	0,16 <sup>ns</sup>
Uso x Solo	1	1524,62**	4,99 <sup>ns</sup>	10,82 <sup>ns</sup>	3,78 <sup>ns</sup>	0,13 <sup>ns</sup>	123,12 <sup>ns</sup>	2,29*	289,73**	0,28 <sup>ns</sup>	47,86***	0,14***	0,15 <sup>ns</sup>	0,12***	0,00013 <sup>ns</sup>	31,61**
Resíduo b	6	122,13	1,56	30,28	7,73	0,35	22,66	0,19	11,67	0,15	0,69	0,004	1,18	0,002	0,00004	2,01
média		60,23	3,65	18,59	15,57	1,45	20,14	1,26	31,66	1,23	4,43	0,23	20,77	0,29	0,05	5,72
CV (%)		18,35	34,30	29,60	17,86	40,89	23,64	34,22	10,79	31,09	18,74	26,24	5,23	14,52	12,88	24,76
Solo	1	26971,2***	88,77***	8,85 <sup>ns</sup>	1544,9***	23,29***	3243,42***	2,57**	6011,29***	11,96***	22,75	0,10**	46,14**	0,003 <sup>ns</sup>	0,0033***	14,02***
Resíduo a	6	103,09	1,45	23,44	3,52	0,19	16,99	0,16	27,61	0,12	0,81	0,004	3,78	0,001	0,0001	1,01
Uso	1	381,05 <sup>ns</sup>	2,018 <sup>ns</sup>	33,01 <sup>ns</sup>	24,86 <sup>ns</sup>	0,11 <sup>ns</sup>	317,51*	2,20*	208,67*	0,11 <sup>ns</sup>	33,25	0,13***	19,33***	0,0004 <sup>ns</sup>	0,000000003 <sup>ns</sup>	0,33 <sup>ns</sup>
Uso x Solo	1	1159,46 <sup>ns</sup>	6,98 <sup>ns</sup>	22,06 <sup>ns</sup>	23,89 <sup>ns</sup>	0,13 <sup>ns</sup>	198,75 <sup>ns</sup>	2,71*	261,46*	0,52 <sup>ns</sup>	52,61	0,16***	0,15 <sup>ns</sup>	0,20***	0,00008 <sup>ns</sup>	35,37**
Resíduo b	6	205,79	2,94	22,61	8,40	0,55	37,33	0,27	19,66	0,30	0,85	0,004	1,36	0,002	0,0001	1,99
média		82,75	4,65	19,31	20,50	1,82	27,42	1,55	41,92	1,61	4,77	0,24	21,35	0,37	0,07	5,61
CV (%)		17,34	36,91	24,62	14,14	40,78	22,28	33,28	10,58	34,35	19,31	26,94	5,61	12,66	13,23	25,13
Solo	1	73052,7***	209,62***	15,61 <sup>ns</sup>	5524,43***	42,064***	9636,93***	9,42***	11728,55***	28,21***	23,48**	0,12**	69,05**			
Resíduo a	6	531,64	1,80	20,25	3,12	0,28	41,36	0,26	43,76	0,16	0,88	0,004	4,01			
Uso	1	350,54 <sup>ns</sup>	1,58 <sup>ns</sup>	48,45 <sup>ns</sup>	344,67*	0,15 <sup>ns</sup>	22,41 <sup>ns</sup>	1,79*	5,47 <sup>ns</sup>	0,10 <sup>ns</sup>	28,17***	0,12***	28,96**			
Uso x Solo	1	6951,73**	6,86 <sup>ns</sup>	5,65 <sup>ns</sup>	152,47 <sup>ns</sup>	0,41 <sup>ns</sup>	1152,92***	3,97**	1186,61*	0,11 <sup>ns</sup>	60,16***	0,16***	1,10 <sup>ns</sup>			
Resíduo b	6	359,99	3,58	14,99	36,14	0,73	36,53	0,27	110,65	0,54	0,85	0,004	1,31			
média		125,56	6,44	20,59	30,99	2,37	40,40	2,11	63,26	2,38	5,30	0,26	21,82			
CV (%)		15,11	29,38	18,81	19,40	36,22	14,96	24,58	16,63	30,96	17,37	24,15	5,25			

FV: fonte de variação; GL: graus de liberdade; ns, \*, \*\*, \*\*\* - não significativo e significativo a 5, 1 e 0,1 % pelo teste F, respectivamente.

## **ANEXOS CAPITULO 2**

## ANEXO 2A

**Quadro 2A.** Teores de C (COT) e nitrogênio total (NT) e C e N associados as frações ácido fúlvico (AF), ácido húmico (AH), humina (HU), matéria orgânica leve (MOL) e biomassa microbiana (BM) em solos sob uso de eucalipto com diferentes idades (10, 13 e 22 anos sem nunca serem cortados) e sob Campo Nativo.

Camada de Solo	<u>COT(g kg<sup>-1</sup>)</u>				<u>NT(g kg<sup>-1</sup>)</u>			
	Campo Nativo	Eucalipto			Campo Nativo	Eucalipto		
		10 anos	13 anos	22 anos		10 anos	13 anos	22 anos
0-10	25,74	17,06	21,87	25,13	1,64	1,41	1,26	1,16
0-20	10,89	16,78	12,99	21,54	1,13	1,05	1,01	0,89
0-40	17,45	20,35	11,38	25,53	0,80	0,78	0,57	0,57
0-60	13,66	14,76	10,67	16,81	0,70	0,72	0,56	0,76
0-100	11,29	7,73	19,11	18,04	0,62	0,63	0,58	0,63
		<u>C-AF (g kg<sup>-1</sup>)</u>				<u>N-AF (g kg<sup>-1</sup>)</u>		
0-10	6,47	6,80	6,94	6,94	0,53	0,40	0,48	0,42
0-20	2,47	8,18	6,17	6,90	0,42	0,40	0,45	0,33
0-40	3,17	7,04	6,16	6,54	0,26	0,32	0,31	0,23
0-60	6,30	6,90	5,43	6,23	0,31	0,28	0,26	0,32
0-100	5,83	3,63	7,73	7,74	0,34	0,27	0,27	0,30
		<u>C-AH (g kg<sup>-1</sup>)</u>				<u>N-AH (g kg<sup>-1</sup>)</u>		
0-10	4,81	4,01	6,28	4,39	0,42	0,37	0,43	0,24
0-20	2,36	8,18	2,19	3,52	0,32	0,35	0,26	0,25
0-40	3,01	4,78	2,09	5,23	0,20	0,27	0,16	0,20
0-60	4,89	2,56	1,86	1,99	0,23	0,24	0,17	0,23
0-100	1,96	2,50	4,02	1,18	0,20	0,17	0,20	0,19
		<u>C-HU (g kg<sup>-1</sup>)</u>				<u>N-HU (g kg<sup>-1</sup>)</u>		
0-10	14,21	10,57	8,88	14,01	0,72	0,61	0,48	0,68
0-20	9,50	7,49	7,95	10,09	0,59	0,39	0,48	0,40
0-40	12,27	7,78	3,73	13,16	0,45	0,33	0,25	0,25
0-60	3,56	6,20	5,04	9,87	0,21	0,27	0,22	0,36
0-100	5,24	5,61	6,84	7,27	0,20	0,31	0,22	0,28
		<u>C-MOL (g kg<sup>-1</sup>)</u>				<u>N-MOL (g kg<sup>-1</sup>)</u>		
0-10	1,039	0,635	1,579	1,416	0,046	0,029	0,075	0,058
0-20	0,435	0,230	0,122	0,467	0,014	0,009	0,005	0,019
0-40	0,201	0,069	0,063	0,130	0,005	0,002	0,002	0,003
0-60	0,181	0,081	0,170	0,098	0,003	0,003	0,007	0,002
0-100	0,066	0,042	0,082	0,070	0,001	0,002	0,003	0,002
		<u>C-BM (g kg<sup>-1</sup>)</u>				<u>N-BM (g kg<sup>-1</sup>)</u>		
0-10	0,093	0,216	0,214	0,142	0,009	0,020	0,020	0,013
0-20	0,077	0,198	0,176	0,133	0,015	0,014	0,014	0,014
0-40	0,086	0,147	0,097	0,095	0,009	0,019	0,015	0,012
0-60	0,064	0,103	0,097	0,133	0,006	0,004	0,009	0,011

## ANEXO 2B

**Quadro 2B.** Teores de C (COT) e nitrogênio total (NT) e C e N associados as frações ácido fúlvico (AF), ácido húmico (AH), humina (HU), matéria orgânica leve (MOL) e biomassa microbiana (BM) em solos sob uso de eucalipto com diferentes idades (1, 2 e 4 anos após a reforma) e sob Campo Nativo.

Camada de Solo	COT(g kg <sup>-1</sup> )				NT(g kg <sup>-1</sup> )			
	Campo Nativo	Eucalipto			Campo Nativo	Eucalipto		
		1 anos	2 anos	4 anos		1 anos	2 anos	4 anos
0-10	25,74	34,21	23,19	11,79	1,64	1,02	1,35	0,97
0-20	10,89	18,75	22,91	11,97	1,13	0,84	1,13	0,86
0-40	17,45	34,30	21,28	14,52	0,80	0,90	0,97	0,92
0-60	13,66	27,92	18,71	9,94	0,70	1,04	0,77	0,78
0-100	11,29	28,72	12,35	8,41	0,62	0,78	0,73	0,68
		<u>C-AF (g kg<sup>-1</sup>)</u>				<u>N-AF (g kg<sup>-1</sup>)</u>		
0-10	6,47	7,17	8,26	5,78	0,53	0,34	0,45	0,34
0-20	2,47	8,68	8,76	5,24	0,42	0,40	0,44	0,31
0-40	3,17	8,36	8,68	5,27	0,26	0,29	0,42	0,35
0-60	6,30	7,76	8,97	6,10	0,31	0,45	0,33	0,34
0-100	5,83	8,74	8,01	4,02	0,34	0,35	0,38	0,27
		<u>C-AH (g kg<sup>-1</sup>)</u>				<u>N-AH (g kg<sup>-1</sup>)</u>		
0-10	4,81	6,13	3,08	4,04	0,42	0,29	0,39	0,31
0-20	2,36	1,68	3,71	4,89	0,32	0,21	0,25	0,31
0-40	3,01	12,36	3,28	3,65	0,20	0,37	0,25	0,37
0-60	4,89	3,82	2,03	1,31	0,23	0,24	0,19	0,19
0-100	1,96	2,37	1,14	1,12	0,20	0,18	0,17	0,14
		<u>C-HU (g kg<sup>-1</sup>)</u>				<u>N-HU (g kg<sup>-1</sup>)</u>		
0-10	14,21	16,53	12,26	5,77	0,72	0,49	0,56	0,34
0-20	9,50	8,89	10,36	5,56	0,59	0,40	0,51	0,32
0-40	12,27	10,86	9,66	8,98	0,45	0,31	0,41	0,34
0-60	3,56	12,45	8,52	5,67	0,21	0,53	0,33	0,31
0-100	5,24	13,05	5,59	4,66	0,20	0,40	0,24	0,29
		<u>C-MOL (g kg<sup>-1</sup>)</u>				<u>N-MOL (g kg<sup>-1</sup>)</u>		
0-10	1,039	0,878	0,644	0,408	0,046	0,035	0,027	0,017
0-20	0,435	0,143	0,407	0,181	0,014	0,006	0,019	0,008
0-40	0,201	0,086	0,100	0,075	0,005	0,003	0,003	0,002
0-60	0,181	0,044	0,062	0,053	0,003	0,002	0,001	0,002
0-100	0,066	0,029	0,039	0,032	0,001	0,002	0,001	0,001
		<u>C-BM (g kg<sup>-1</sup>)</u>				<u>N-BM (g kg<sup>-1</sup>)</u>		
0-10	0,093	0,054	0,103	0,097	0,009	0,016	0,011	0,015
0-20	0,077	0,077	0,086	0,142	0,015	0,013	0,011	0,014
0-40	0,086	0,102	0,109	0,157	0,009	0,010	0,011	0,014
0-60	0,064	0,084	0,075	0,098	0,006	0,011	0,009	0,009

## ANEXO 2C

**Quadro 2 C.** Análise de variância para estimativa dos estoques acumulados de carbono (COT) e nitrogênio total (NT) e C e N associados as frações ácido fúlvico (AF), ácido húmico (AH), humina (HU), matéria orgânica leve (MOL) e biomassa microbiana (BM) nas camadas de solo de 0-10, 0-20, 0-40, 0-60 e 0-100 cm, em argissolo sob uso de eucalipto com diferentes idades e sob campo nativo na região leste do Rio Grande do Sul.

Estoques		COT	NT	C:N <sub>Total</sub>	C-AF	N-AF	C-AH	N-AH	C-HU	N-HU	C-MOL	N-MOL	C:N- MOL	C-BM	N-BM	C:N - BM
FV	GL	Quadrado médio (0-10 cm)														
Tempo	3	64,10*	0,176*	61,14*	0,20ns	0,015ns	4,00ns	0,0323**	27,99**	0,05ns	0,72**	0,0016sn	11,55ns	0,015ns	0,00013**	0,54ns
Resíduo	12	12,64	0,049	12,59	2,50	0,007	1,40	0,006	3,56	0,014	0,27	0,0007	7,07	0,008	0,00002	13,19
CV (%)		15,72	16,06	20,87	23,13	18,09	24,15	20,13	15,71	19,13	44,42	50,71	11,51	54,72	26,99	34,84
		Quadrado médio (0-20 cm)														
Tempo	3	119,20ns	0,34ns	71,72**	21,29**	0,036ns	14,11**	0,051ns	52,63*	0,086ns	0,77ns	0,002ns	10,50ns	0,045ns	0,00012*	12,00ns
Resíduo	12	46,04	0,12	7,93	3,83	0,012	2,93	0,019	13,55	0,022	0,28	0,0007	8,23	0,018	0,000033	11,00
CV (%)		18,81	15,08	17,18	16,36	13,65	20,32	21,97	18,80	14,32	36,48	42,69	12,25	45,58	20,66	32,58
		Quadrado médio (0-40 cm)														
Tempo	3	745,82**	0,93*	179,54*	101,46***	0,067ns	47,35ns	0,077*	432,23***	0,32***	0,89ns	0,0016ns	20,78ns	0,080**	0,00060***	2,00ns
Resíduo	12	130,09	0,21	35,22	9,06	0,03	16,41	0,023	27,43	0,029	0,296	0,0008	9,45	0,014	0,0004	6,52
CV (%)		17,45	13,80	28,87	14,37	13,35	28,23	16,00	15,38	11,13	33,40	40,90	12,45	25,87	13,88	27,42
		Quadrado médio (0-60 cm)														
Tempo	3	1209,9***	1,071ns	106,04*	110,33**	0,042ns	44,84ns	0,098ns	615,42***	0,27**	0,98ns	0,0019ns	38,10*	0,105**	0,00051**	3,88ns
Resíduo	12	202,40	0,34	22,73	15,72	0,036	17,87	0,039	57,48	0,039	0,32	0,0008	10,86	0,019	0,00006	5,37
CV (%)		16,42	13,38	23,44	13,04	11,23	22,67	15,52	17,45	10248,00	31,40	38,06	12,97	22,79	12,33	23,32
		Quadrado médio (0-100 cm)														
Tempo	3	4550,6**	1,35ns	134,37*	430,35*	0,196ns	107,27*	0,055ns	804,84**	0,44ns	1,33*	0,0021ns	56,61*			
Resíduo	12	819,36	1,04	27,50	86,05	0,23	25,30	0,10	124,54	0,24	0,36	0,0008	16,22			
CV (%)		17,87	13,46	24,16	14,72	14,72	16,08	13,68	14,66	15,19	27,88	33,91	15,01			

FV: fonte de variação; GL: graus de liberdade; ns, \*, \*\*, \*\*\* - não significativo e significativo a 5, 1 e 0,1 % pelo teste F, respectivamente.

## ANEXO 2D

**Quadro 2D.** Análise de variância para estimativa dos estoques acumulados de carbono (COT) e nitrogênio total (NT) e C e N associados as frações ácido fúlvico (AF), ácido húmico (AH), humina (HU), matéria orgânica leve (MOL) e biomassa microbiana (BM) nas camadas de solo de 0-10, 0-20, 0-40, 0-60 e 0-100 cm, em argissolo sob uso de eucalipto com diferentes idades após a realização da reforma e sob campo nativo na região leste do Rio Grande do Sul.

Estoques		COT	NT	C:N <sub>Total</sub>	C-AF	N-AF	C-AH	N-AH	C-HU	N-HU	C-MOL	N-MOL	C:N- MOL	C-BM	N-BM	C:N - BM
FV	GL	Quadrado médio (0-10 cm)														
Reforma	4	263,56***	0,299**	315,37***	3,4ns	0,030*	7,57ns	0,017*	73,9***	0,076***	0,80**	0,0020**	0,223ns	0,015*	0,00008**	34,21*
Resíduo	15	24,44	0,056	35,59	1,56	0,007	3,92	0,005	3,60	0,008	0,17	0,0004	0,10	0,0036	0,000014	7,94
CV (%)		21,01	18,73	30,37	17,93	19,76	40,38	19,28	16,33	16,97	44,99	48,07	43,23	52,74	25,46	35,33
		Quadrado médio (0-20 cm)														
Reforma	4	460,05***	0,61**	196,1***	35,87**	0,062**	2,95ns	0,032ns	126,40***	0,20***	0,75*	0,0018*	10,15ns	0,036**	0,00009*	22,09*
Resíduo	15	43,57	0,13	20,67	5,14	0,014	4,71	0,018	9,63	0,022	0,18	0,0004	6,57	0,007	0,000024	7,07
CV (%)		17,87	17,03	24,99	18,29	15,11	29,06	22,39	16,40	16,09	37,72	42,55	10,84	39,44	18,75	33,22
		Quadrado médio (0-40 cm)														
Reforma	4	2245,58***	0,68*	235,55***	171,71***	0,084ns	181,45***	0,034ns	355,69***	0,40***	0,86*	0,0018*	15,29ns	0,045*	0,00025**	6,29ns
Resíduo	15	163,13	0,18	30,23	8,31	0,033	15,39	0,029	11,88	0,026	0,20	0,00048	7,84	0,013	0,000033	6,65
CV (%)		18,79	12,55	27,06	12,92	14,06	25,94	16,48	10,38	10,99	34,64	40,56	11,32	29,88	13,02	29,87
		Quadrado médio (0-60 cm)														
Reforma	4	4886,81***	0,89ns	192,38***	276,80***	0,058ns	241,0926***	0,045ns	634,14***	0,38**	1,26**	0,0023**	28,46	0,063**	0,00032**	6,79ns
Resíduo	15	171,39	0,40	20,82	12,98	0,059	15,61	0,042	23,40	0,062	0,23	0,00049	10,20	0,014	0,00005	4,80
CV (%)		14,14	13,76	22,48	10,97	13,45	20,41	15,37	11,01	12,66	32,79	37,86	12,55	23,34	12,65	24,72
		Quadrado médio (0-100 cm)														
Reforma	4	21111,82***	2,48ns	258,40***	1164,79***	0,51ns	415,70***	0,034ns	3106,15***	1,13*	1,83**	0,003**	50,48**			
Resíduo	15	1334,17	1,03	33,63	93,61	0,19	22,15	0,07	151,52	0,26	0,25	0,00048	10,35			
CV (%)		20,72	12,48	26,55	14,07	12,46	15,45	11,86	15,20	15204,00	29,32	32,71	12,39			

FV: fonte de variação; GL: graus de liberdade; ns, \*, \*\*, \*\*\* - não significativo e significativo a 5, 1 e 0,1 % pelo teste F, respectivamente.