



# **Estudo da Quantidade e Qualidade da Matéria Orgânica sob Diferentes Usos do Solo**

**Joceline Ailine Cruz Estevão Santos**

*Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de Bragança para obtenção do Grau de Mestre em Agroecologia*

Orientada por

**Professora Doutora Felícia Maria Da Silva Fonseca**

**Professora Doutora Zulimar Hernández**

**Bragança**

**2022**



À memória do meu avô Silvino Santos (Que Deus o tenha)

Aos meus pais Antão Monteiro e Osvaldina Santos e meus irmãos Andi Laura e Steven  
e a toda minha família e amigos em geral

Dedico este trabalho!

## AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus pelo dom da vida e por me ter capacitado para a realização deste trabalho.

Quero manifestar o meu profundo agradecimento a Professora Doutora Zulimar Hernandez, a professora Doutora Felícia Fonseca e ao professor Doutor Tomás Figueiredo por terem possibilitado a realização do meu trabalho de dissertação no laboratório colaborativo MORE, no Brigantia Eco-Park.

A minha co-orientadora Professora Doutora Zulimar Hernandez agradeço do fundo do meu coração todo o apoio disponibilizado ao longo da realização desta dissertação, pela amizade e confiança que em mim depositou, pela paciência e ensinamentos no decorrer desta pesquisa, pelo auxílio no laboratório para o desenvolvimento dos protocolos e pelas dicas que me ajudaram a direcionar o estudo.

A professora Doutora Felícia Fonseca pela gentileza e apoio que sempre me proporcionou ao longo desta pesquisa.

Ao meu colega de laboratório Daniel Figueiredo pelo apoio, ensinamentos e pela infundável compreensão demonstrada nos momentos que mais precisei e acima de tudo, agradeço por todo apoio disponibilizado no laboratório confiança e incentivo. Agradeço ainda ao pessoal do MORE Colab pelo apoio prestado, simpatia, carinho e amizade durante a minha estadia no Brigantia.

Agradeço imensamente a minha família, por serem meu alicerce por sempre fazerem dos meus sonhos o sonho deles e por sempre acreditarem e apostarem no meu potencial. Aos meus pais (Antão Monteiro e Osvaldina Cruz) por todo o esforço que tiveram para que eu pudesse me tornar quem eu sou hoje por todo o amor e cuidado e por nunca me terem deixado faltar nada, apesar das adversidades enfrentadas. Aos meus irmãos (Andi Laura e Steven) pelo apoio incondicional, pelo amor carinho e preocupação. As minhas primas (Marly, Leandra, Dircelene e Emmeline) pelo suporte e compreensão e por sempre me fazerem sorrir nos momentos em que eu estava triste e por serem meu pilar quando quis desistir.

A Arikson Santos, meu especial obrigado pelo apoio nesta trajetória por me apoiar quando mais precisei, pelo cuidado e por todos os conselhos.

A todos meus amigos e minhas queridas meninas, Cristina, Helgeneusa, Nelissa, Tania e Maiara, que sempre acreditaram em mim e me proporcionaram momentos inesquecíveis momentos mais leves, pelo carinho e por toda a diversão.

Muito obrigada a todos e todas que fizeram parte desta conquista e que de alguma forma fizeram parte da minha vida. Essa conquista é nossa.

Muito obrigada a todos!



*“A terra, que compreende o solo e a água, e a vida vegetal e animal que lhes está associada, é um dos recursos de que o homem dispõe. O seu uso não deve conduzir à sua degradação nem à sua destruição, já que a sobrevivência do homem está ligada à manutenção da capacidade produtiva dos solos”* (Princípio 1 da Carta Mundial dos Solos, Conferência da FAO, Roma, 1982).

## RESUMO

A matéria orgânica do solo é a chave da fertilidade dos solos pois determina os principais atributos que definem a qualidade do solo, primordialmente as suas frações e o mesmo é afetado principalmente pelas práticas de uso e manejo do solo. Uma das formas de avaliar a qualidade da matéria orgânica do solo tem sido a determinação da quantidade de carbono orgânico do solo, nomeadamente na fração das substâncias húmicas. As substâncias húmicas constituem cerca de 70% da matéria orgânica do solo e é sabido que são formadas por diversos compostos orgânicos aromáticos, de coloração castanha ou preta, possuindo alto peso molecular, sendo formadas reações de sínteses secundárias bióticas e abióticas que, através dos seus grupos carboxílicos, fenólicos e amins influenciam as propriedades físicas, químicas e biológicas do solo. Assim sendo, o objetivo deste trabalho foi estudar a quantidade e a qualidade da matéria orgânica do solo sob diferentes usos de solo: floresta de carvalho, matos (antes e após um fogo controlado) e lameiros (pastagens de montanha). As amostras para a realização deste estudo foram coletadas em 3 locais diferentes: floresta da espécie nativa carvalho (*Quercus pyrenaica*) na Serra da Nogueira, área de matos antes e após um fogo controlado (2021) em Aveleda, e lameiros situados no Parque Natural de Montesinho. Foram estudadas variáveis de rotina, como o pH e a condutividade elétrica, e além de determinar a matéria orgânica do solo e o carbono orgânico do solo, foi desenvolvido o fracionamento químico da matéria orgânica do solo que incluiu: a determinação da matéria orgânica livre ou particulada, a determinação das substâncias húmicas: ácidos húmicos e fúlvicos, e cálculo das huminas e a posterior purificação química dos ácidos húmicos para caracterização. Como um indicador da qualidade dos ácidos húmicos, foi determinada a densidade ótica dos ácidos húmicos e calculados os índices E4, E6 e E4/E6. **Os resultados demonstraram que** não houve grandes diferenças no que diz respeito a quantidade de carbono orgânico do solo, sendo a floresta o uso da terra que apresentou maior quantidade de carbono orgânico do solo (9,09 g carbono orgânico do solo /100 g solo) vs. os lameiros (7,72 g carbono orgânico do solo /100 g solo), pelo que **os diferentes usos da terra, contribuem praticamente na mesma medida ao sequestro de carbono de solo no Nordeste de Portugal, embora**, os resultados do fracionamento de matéria orgânica do solo mostraram diferenças na qualidade de carbono orgânico do solo.

**O fracionamento da matéria orgânica do solo evidenciou diferenças significativas nos diferentes usos do solo.** A floresta acumulou a maior parte do carbono orgânico do solo em forma de matéria orgânica livre e humina, isto demonstra que o aporte de material vegetal da floresta no solo é maior que nos outros usos de solo; os lameiros mostraram que armazenam grande parte do carbono orgânico do solo em forma de ácidos húmicos, que são as substâncias húmicas mais ativas/funcionais nos ecossistemas.

E por último, não foram encontradas diferenças significativas com o mato, mas chama-se a atenção que o efeito do fogo favorece a aromatização das substâncias húmicas a ácidos húmicos.

**Palavras-chave:** Carbono Orgânico do Solo, Qualidade, Fracionamento da Matéria orgânica do solo, Substâncias Húmicas, ácidos húmicos.

## ABSTRACT

Soil organic matter (SOM) is the key to soil fertility as it determines the main attributes that define soil quality, primarily its fractions, and it's mainly affected by soil use and management practices. One of the ways to assess the quality of SOM has been the determination of the amount of soil organic carbon, namely in the fraction of humic substances. Humic substances constitute about 70% of the soil organic matter and it's known that they are formed through several aromatic organic compounds, brown or black, having high molecular weight, being formed biotic and abiotic secondary synthesis reactions that, through their carboxylic groups, phenolics and amines influence the physical, chemical and biological properties of the soil. Therefore, the objective of this work was to study the quantity and quality of soil organic matter under different land uses: oak forest, scrub (before and after a controlled fire) and marsh (mountain pastures). The samples for this study were collected in 3 different locations: forest of the native species oak tree (*Quercus pyrenaica*) in Serra da Nogueira, area of bushes before and after a controlled fire (2021) in Aveleda, and marshes located in the Parque Natural de Montesinho. Routine variables such as pH and electrical conductivity were studied, and in addition to determining soil organic matter and soil organic carbon, the chemical fractionation of soil organic matter was developed, which included: determination of free or particulate organic matter, determination of humic substances: humic and fulvic acids, and the subsequent chemical purification of the humic acids for characterization. As an indicator of the quality of the humic acids, the optical density of the humic acids was determined and the E4, E6 and E4/E6 indices were calculated. The results showed that there were no major differences regarding the amount of soil organic carbon, with the forest being the land use that presented the highest amount of soil organic carbon (9.09 g soil organic carbon /100 g soil) vs. the swamps (7.72 g soil organic carbon /100 g soil), so the different land uses, contribute practically to the same extent to the sequestration of soil carbon, although the results of the fractionation of soil organic matter showed differences in the quality of soil organic carbon. Soil organic matter fractionation showed significant differences in different land uses. The forest accumulated most of the soil organic carbon in the form of free organic matter and humina, which shows that the contribution of plant material from the forest to the soil is greater than in other land uses; the marshes showed that they store a large part of the soil organic carbon in the form of

humic acids, which are the most active/functional humic substances in ecosystems. And finally, no significant differences were found with the bush, but it is worth noting that the effect of fire favors the aromatization of humic substances to humic acids.

**Keywords:** Soil organic carbon, Quality, soil organic matter Fractionation, Humic Substances, humic acids.

## ÍNDICE

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2. ENQUADRAMENTO TEÓRICO</b> .....	5
<b>2.1 Matéria orgânica e qualidade dos solos</b> .....	5
<b>2.2. Compartimentos da matéria orgânica do solo</b> .....	7
<b>2.2.1 Matéria orgânica do solo</b> .....	10
<b>2.2. Métodos de estudos da matéria orgânica do solo</b> .....	10
<b>2.3. Fracionamento Químico da matéria orgânica do solo</b> .....	11
<b>2.4. Composição Química da MOS</b> .....	12
<b>2.4.1. Ciclo do Azoto</b> .....	13
<b>2.4.2. Ciclo do Carbono</b> .....	14
<b>2.5. Qualidade da matéria orgânica do solo</b> .....	17
<b>2.5.1 Formação das Substâncias Húmicas</b> .....	17
<b>2.5.2. Cor em substâncias tipo Húmicas</b> .....	19
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	20
<b>3.1. Localização e caracterização dos locais de estudo</b> .....	20
<b>3.1.1. Breve caracterização da área de estudo Parque Natural de Montesinho</b> .....	21
<b>3.1.2. Breve caracterização da área de estudo: Serra da Nogueira</b> .....	23
<b>3.1.3 Breve caracterização da área de estudo: Lameiros</b> .....	23
<b>3.2. Preparação das amostras de Solo</b> .....	26
<b>3.3 Análises físico-químicas das amostras de solo</b> .....	27
<b>3.3.1. Parâmetros físico-químicos de rotina: pH e CE</b> .....	27
<b>3.3.2. Determinação do Carbono orgânico e da matéria orgânica do solo</b> .....	28
<b>3.3.3. Fracionamento da matéria orgânica do solo</b> .....	30
<b>3.3.3.1. Determinação da matéria orgânica livre</b> .....	32
<b>3.3.3.2. Extração e determinação das substâncias húmicas</b> .....	32
<b>3.3.3.2.1. Determinação quantitativa extrato húmico total, ácidos húmicos e ácidos fúlvicos</b> .....	33
<b>3.3.3.3 Purificação dos ácidos húmicos para posterior caracterização molecular</b> .....	35

3.3.3.4. Espectroscopia visível de ácidos húmicos purificados .....	37
3.4. Tratamento Estatístico.....	38
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>39</b>
5.1. Carbono orgânico do solo .....	39
5.2. Valores de pH do solo.....	40
5.3. Condutividade elétrica .....	41
5.4. Fracionamento da matéria orgânica do solo.....	42
5.4.1. Matéria orgânica livre .....	42
5.4.2. Substâncias húmicas .....	43
5.4.3. Distribuição de C de solo nas diferentes frações orgânicas.....	47
5.4.4. Qualidade da MOS: a cor dos AH.....	48
<b>6. CONCLUSÃO .....</b>	<b>52</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>53</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1-</b> Dinâmica da matéria orgânica do solo em relação aos processos e subprocessos (Fonte: Fontana, 2009) .....	5
<b>Figura 2-</b> Diagrama de classificação dos componentes da matéria orgânica do solo (Fonte: Schardosin, 2018). .....	8
<b>Figura 3-</b> Ciclo do Azoto (Fonte: Wikipédia, 2011) .....	13
<b>Figura 4-</b> Ciclo do Carbono (Fonte: khan Academy, 2019) .....	14
<b>Figura 5-</b> Possíveis processos edáficos que intervêm no sequestro de C. (Fonte: Almendros, 2004) .....	15
<b>Figura 6-</b> Mecanismo de formação das SH (Fonte: Schardosin, 2018) .....	17
<b>Figura 7-</b> Pontos de amostragem nas áreas ardidas da Aveleda, Parque Natural de Montesinho (antes e depois do fogo) (Fonte: Piovesan, 2022) .....	21
<b>Figura 8-</b> Localização da área de estudo do carvalho da Serra da Nogueira, NE Portugal. (Fonte: Fonseca et al., 2019) .....	22
<b>Figura 9-</b> Localização dos Lameiros no Parque Natural de Montesinho. ....	24
<b>Figura 10-</b> Preparação das amostras de solo e numeração das mesmas. ....	25
<b>Figura 11-</b> Determinação do pH com sensor de pH. ....	26
<b>Figura 12-</b> Determinação da condutividade elétrica. ....	27
<b>Figura 13-</b> Determinação do Carbono Orgânico do solo pelo método de oxidação parcial em húmido. ....	29
<b>Figura 14-</b> Esquema do fracionamento de matéria orgânica com base na densidade solubilidade das substâncias húmicas (Fonte: Adaptado de Hayes & Swift 1990) .....	29
<b>Figura 15-</b> Determinação da matéria orgânica livre nos solos em estudo por flotação em $H_3PO_4$ 2M .....	31
<b>Figura 16-</b> Ácidos Fúlvicos Livres. ....	31
<b>Figura 17-</b> Visão de lupa da matéria orgânica livre. ....	31
<b>Figura 18-</b> Extração de extrato húmico total (EHT) dos solos com soluções alcalinas... ..	33
<b>Figura 19-</b> Determinação do C na fração de AH separados previamente do EHT .....	33
<b>Figura 20-</b> Purificação dos AH pelo processo de diálise. ....	35
<b>Figura 21-</b> Determinação espectroscópica na faixa visível dos ácidos húmicos.....	36

<b>Figura 22</b> -Carbono orgânico do solo (COS) na camada 0-5 cm para os diferentes usos do solo (QP- Floresta de <i>Quercus pyrenaica</i> ; M AF- Matos Antes do Fogo; M PF- Matos Pós-fogo; LA- Lameiros). .....	38
<b>Figura 23</b> -Valores de pH do solo para os diferentes usos do solo (QP- Floresta de <i>Quercus pyrenaica</i> ; M AF- Matos Antes do Fogo; M PF- Matos Pós-fogo; LA- Lameiros). .....	39
<b>Figura 24</b> -Condutividade elétrica (CE) do solo para os diferentes usos do solo (QP- Floresta de <i>Quercus pyrenaica</i> ; M AF- Matos Antes do Fogo; M PF- Matos Pós-fogo; LA- Lameiros). .....	40
<b>Figura 25</b> -Matéria orgânica livre (MOL) do solo para os diferentes usos do solo (QP- Floresta de <i>Quercus pyrenaica</i> ; M AF- Matos Antes do Fogo; M PF- Matos Pós-fogo; LA- Lameiros). .....	41
<b>Figura 26</b> -Ácidos húmicos (AH) para os diferentes usos do solo (QP- Floresta de <i>Quercus pyrenaica</i> ; M AF- Matos Antes do Fogo; M PF- Matos Pós-fogo; LA- Lameiros) .....	43
<b>Figura 27</b> -Ácidos fúlvicos (AF) para os diferentes usos do solo (QP- Floresta de <i>Quercus pyrenaica</i> ; M AF- Matos Antes do Fogo; M PF- Matos Pós-fogo; LA- Lameiros). .....	44
<b>Figura 28</b> -Humina (H) para os diferentes usos do solo (QP- Floresta de <i>Quercus pyrenaica</i> ; M AF- Matos Antes do Fogo; M PF- Matos Pós-fogo; LA- Lameiros). .....	44
<b>Figura 29</b> -Carbono (C) das diferentes frações da matéria orgânica do solo (MOS) para os diferentes usos do solo (QP- Floresta de <i>Quercus pyrenaica</i> ; M AF- Matos Antes do Fogo; M PF- Matos Pós-fogo; LA- Lameiros). .....	45
<b>Figura 30</b> -Espectro de Absorvância em termos médios dos diferentes locais de amostragem. ....	47
<b>Figura 31</b> -Indicador E4 para a determinação da razão E4 e E6 para os diferentes usos do solo (QP- Floresta de <i>Quercus pyrenaica</i> ; M AF- Matos Antes do Fogo; M PF- Matos Pós-fogo; LA- Lameiros). .....	47
<b>Figura 32</b> -Indicador E6 para a determinação da razão E4 e E6 para os diferentes usos do solo (QP- Floresta de <i>Quercus pyrenaica</i> ; M AF- Matos Antes do Fogo; M PF- Matos Pós-fogo; LA- Lameiros). .....	48
<b>Figura 33</b> -Razão E4/E6 para os diferentes usos do solo (QP- Floresta de <i>Quercus pyrenaica</i> ; M AF- Matos Antes do Fogo; M PF- Matos Pós-fogo; LA- Lameiros). .....	48

<b>Figura 34-2<sup>a</sup></b> derivada dos EVIS, incluindo um padrão de pigmento fúngico (IIIJGCS) .....	49
<b>Figura 35</b> -Soma dos pigmentos para os diferentes usos do solo (QP- Floresta de <i>Quercus pyrenaica</i> ; M AF- Matos Antes do Fogo; M PF- Matos Pós-fogo; LA- Lameiros). ....	49

**LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1</b> -Evolução da definição de matéria orgânica do solo. ....	10
<b>Tabela 2</b> -Classificação dos Lameiros e coordenadas da localização. ....	24

**LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS**

AF- Ácidos Fúlvicos

AFL- Ácidos Fúlvicos Livres

AgNO<sub>3</sub>- Nitrato de Prata

AH- Ácidos húmicos

Al<sup>3+</sup>- Alumínio

ANOVA- Análise de variância

C- Carbono

Ca<sup>2+</sup>- Cálcio

C-AH/C-AF- Carbono dos ácidos húmicos pelo carbono dos ácidos fúlvicos

CE- Condutividade Elétrica

CO<sub>2</sub>- Dióxido de Carbono

COS- Carbono Orgânico do solo

COT- Carbono Orgânico Total

C/N- Relação Carbono/Azoto

cm- Centímetros

cm<sup>3</sup>- Centímetros cúbicos

CTC- Capacidade de Troca Catiônica

DAX- Data Analysis Expressions

EHT- Extrato Húmico Total

Fe<sup>3+</sup>- Ião Férrico

H- Humina

h- Horas

HF- Ácido fluorídrico

HCl- Ácido Clorídrico

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>- Ácido sulfúrico

H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>- Ácido fosfórico

IHSS- Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas

KMnO<sub>4</sub>- Permanganato de Potássio

K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>- Dicromato de potássio

LA- Lameiros

LSD- Diferença Mínima Significativa

Mg<sup>2+</sup>- Magnésio

mg C. Cm<sup>-3</sup>- Miligramas de Carbono por centímetros cúbicos

min- Minutos

mm- milímetros

MO- Matéria Orgânica

MOL- Matéria Orgânica Livre

MOP- Matéria Orgânica Particulada

MOS- Matéria Orgânica de Solo

mS/cm- Milisiemens por centímetros

nm- Nanómetros

N- Azoto

N<sub>2</sub>- Azoto molecular

Na<sup>+</sup>- Sódio

NaOH- Hidróxido de Sódio

Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>- Pirofosfato Sódico

NH<sub>4</sub><sup>+</sup>- Amónia

pH- pontos de Hidrogénio

Pg- picograma

pmol- Picomol

PNM- Parque Natural de Montesinho

PNM AF- Parque Natural de Montesinho Antes de Fogo

PNM PF- Parque Natural de Montesinho Pós Fogo

QP- *Quercus pyrenaica* rpm- Rotações por minuto

SH- Substâncias Húmicas

s- Segundos

SN- Serra da Nogueira

EVIS- Espectroscopia visível



## 1. INTRODUÇÃO

A matéria orgânica do solo (MOS), geralmente contribui com uma pequena fração da massa total dos solos minerais. Representa uma componente essencial nos vários processos físicos, químicos e biológicos dos ecossistemas terrestres. (Piccolo, 1996; Christensen, 2000; Carter, 2001). A matéria orgânica (MO) é composta por restos e produtos de transformação de plantas, animais e microrganismos que estão associados, na sua maior parte, à fração mineral do solo. Vários trabalhos têm ressaltado a sua importância para o aumento e manutenção da qualidade dos solos, sustentabilidade dos ecossistemas naturais e agrícolas (Carter, 2001; Smith & Woome, 1993) e também no balanço dos gases com efeito de estufa (Wigley & Schimel, 2000), uma vez que as práticas de manejo do solo podem fazer com que esta sofra mudanças rápidas (Mielnickuk, 2008). Esta mudança pode ser avaliada pelo teor de carbono no solo (COS), suas frações físicas e químicas ou pela combinação destes fatores (Blair et al., 1997).

A qualidade da MOS é entendida como o resultado de um conjunto de propriedades (Almendros, 2010). De entre as que podem caracterizar a qualidade da MOS, as mais frequentemente indicadas na literatura, são o carbono e o azoto totais, a fração leve e a matéria sólida (macro-orgânica), o carbono (C) e o azoto (N) mineralizáveis, a biomassa microbiana, os carboidratos do solo e as enzimas. Todas elas se relacionam com vários processos do solo, como o armazenamento de nutrientes, atividade biológica e estrutura do solo.

De acordo com Schmidt et al., (2011), a quantidade de MOS é controlada por dois processos bióticos, a produtividade vegetal terrestre e a decomposição da matéria orgânica, ambos influenciados por fatores ambientais e biológicos. Como consequência, existem fortes relações entre quantidade e qualidade da MOS e tipo de ecossistema. Cada manejo da terra transforma o ecossistema natural e, de certa forma, modifica muitas propriedades do solo, em especial aquelas relacionadas com a matéria orgânica, que é um componente dinâmico do solo. Tanto os componentes vivos quanto os mortos da MOS são afetados pela mudança no uso da terra: a biota do solo em relação à biomassa, atividade e diversidade (Murugan et al., 2014), e a MOS morta em relação tanto à quantidade (Guo & Gifford, 2002) quanto à qualidade (Shrestha et al., 2008).

A importância da determinação da MO em solos agrícolas e florestais reside nas numerosas funções agroecológicas que esta exerce sobre os mesmos, que se traduzem nos aumentos dos níveis de fertilidade, na estabilidade dos agregados, na retenção hídrica do solo, na libertação de nutrientes na solução de solo ou na regulação da concentração de contaminantes. A acumulação de MO no solo depende de um amplo número de fatores abióticos e fatores de formação do solo, como o clima, o substrato rochoso, assim como a atividade microbiana do solo e práticas de manejo que se realizam nos solos agrícolas. O teor de matéria orgânica no solo pode variar de menos 1%, como a maioria dos solos agrícolas, a mais de 10%, como nos ecossistemas florestais (Carvalho et al., 2012).

A diminuição da MOS é uma das principais causas de desertificação na Europa, tendo em vista que, pelo menos 45% dos solos europeus apresentam baixos níveis de MO (menos de 2% de C orgânico) (Jones et al., 2012). Isto deve-se ao efeito do clima mediterrâneo nos países do Sul da Europa, bem como às técnicas de manejo com sistemas de cultivo não sustentáveis (Mulas et al., 2015), com intensificação das lavouras e defasada incorporação dos restos das culturas no solo, que não permitem a rápida reposição dos níveis da MOS (Fernandes, 2016). O declínio da MOS exerce impactos negativos na biodiversidade do solo, com diminuição da sua resistência e consequentemente maior suscetibilidade a outras formas de degradação, principalmente a erosão. A continuação, deste processo, pode gerar possíveis restrições ao uso da terra e perdas na produtividade potencial (Panagos et al., 2012).

As frações lábeis do carbono orgânico do solo (COS) têm sido amplamente utilizadas como indicadores sensíveis de mudanças na qualidade do solo (Bayer et al., 2002; Haynes, 2005), devido a interações importantes desses componentes com o sistema do solo. As substâncias orgânicas de recente incorporação são compostos lábeis com renovação relativamente rápida no solo, uma vez que são utilizadas como fonte de C e energia pelos microrganismos do solo (Schmidt et al., 2011).

As substâncias húmicas (SH) são compostos orgânicos mais estáveis que se formam no solo e constituem uma parte significativa do C e N orgânico total do solo, e estão envolvidos no sequestro e fixação de C no solo (Lal, 2005). Estas substâncias resultam do processo de decomposição e humificação da MOS (Pavly e Mühanselová, 2017) e podem melhorar a capacidade tampão do solo, aumentar a retenção de humidade e disponibilizar nutrientes às plantas.

Além disso, podem formar complexos organometálicos (quelatos), diminuindo a toxicidade das plantas por metais pesados e a disponibilidade destes metais no solo (McCarthy, 2001).

As SH representam aproximadamente 70-80% da MOS e inclui diferentes frações definidas de acordo com a solubilidade sob hidrólise ácida e básica (Almendros, 2015; Paul et al., 2001). As frações citadas acima são os ácidos húmicos (AH), os ácidos fúlvicos (AF) e a humina (H). Os AH são solúveis em meio alcalino e insolúveis em meio ácido diluído, enquanto os AF são solúveis em meio alcalino e também em meio ácido diluído. Por sua vez, a H é insolúvel em meio alcalino e meio ácido (Primo et al., 2011).

Os AH e os AF são os componentes utilizados para identificar a qualidade da MOS. De acordo com Trevisan et al. (2010) esses componentes desempenham um papel importante nos ecossistemas terrestres, e são conhecidos como uma mistura de substâncias na forma de moléculas supramoleculares. A natureza quimicamente reativa e refratária das SH contribui para a sua persistência no solo, assim como para o seu importante papel nos fluxos de nutrientes através dos sistemas ecológicos e nas emissões de C para a atmosfera (Lal, 2006). A relação entre as concentrações de AH e AF (razão AH/AF) é indicativa da potencial mobilidade do C no sistema do solo. Em geral, solos arenosos apresentam maiores proporções devido à solubilidade e perda seletiva de AF durante a decomposição da MOS. A razão  $(AH + AF) / H$  indica o grau de iluviação da MOS (Benites et al., 2003).

Mudanças nas práticas de manejo do solo podem alterar as propriedades químicas das SH do solo (Moraes et al., 2011). Vários autores como Spaccini et al. (2006) reportaram uma diminuição progressiva nas concentrações de SHs nos solos que foram convertidos de floresta para agricultura. Tal diminuição está relacionada com a oxidação microbiana dos materiais orgânicos previamente protegidos nos agregados do solo destruídos pelo cultivo. A maioria dos estudos relata uma redução na MOS e em suas frações quando a floresta é convertida para outros usos da terra ou quando sofre grandes incêndios (Navarrete e Tsutsuki, 2008; Almendros, 2015).

Segundo Lal (2018), a qualidade e a quantidade da MOS estão dependentes de vários fatores como a natureza dos resíduos, duração da decomposição, raízes, quantidade de materiais finos, tipo de decompositores (microrganismos), e também da temperatura e da humidade. Conforme Almendros (2015), há dois tipos de processos de humificação:

(1) alteração do material pré-existente (frações orgânicas herdadas) que não requerem degradação prévia do material de partida; (2) processos de neoformação baseado na condensação de precursores de baixo peso molecular derivados da degradação de biomoléculas de síntese biológica.

A quantificação da MOS se faz pela determinação do carbono orgânico total (COT), pois compõe 48 a 58 % da massa da MOS (Nelson & Sommers, 1982), assim Walkey-Black propôs usar um índice (constante) de 1,724 para transformar os dados de COT em MOS.

A MOS se associa a várias partículas minerais do solo de diferentes formas resultando em diferentes estados de decomposição e, conseqüentemente em diferentes potenciais de emissão de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) para a atmosfera. Uma das formas de quantificar o COT envolve a oxidação com dicromato potássico por via húmida e este método, embora quantifique todos os compartimentos do solo, não oferece uma estimativa das proporções de carbono orgânico nos diferentes compartimentos do solo (Serafim, 2014).

Assim sendo, os objetivos principais deste trabalho são, para os diferentes usos de solo analisados, a determinação dos parâmetros de quantidade de MOS como o pH, condutividade elétrica (CE), e determinação por via húmida da quantidade de MOS de cada solo, e também os parâmetros de qualidade que se resumem no fracionamento químico da matéria orgânica.

Para poder alcançar os objetivos deste trabalho, o mesmo foi estruturado em cinco capítulos. Inicialmente, a Revisão Bibliográfica que é baseado em estudos publicados sobre assuntos relacionados a temática que engloba uma linha tênue desde os compartimentos da MOS até os indicadores da qualidade da MOS e engloba secções como os métodos de estudo da MOS, o fracionamento da MOS bem como a descrição de cada um dos indicadores da qualidade MOS. O capítulo seguinte descreve os Materiais e Métodos utilizados para a realização das avaliações, evidenciando desde o preparo das amostras e atividade em laboratório até ao tratamento dos dados. Posteriormente, aparece os Resultados e Discussão com os principais resultados encontrados, comparando-os com trabalhos científicos similares anteriormente publicados. No último capítulo estão as respectivas Conclusões sobre os principais resultados obtidos.

## 2. ENQUADRAMENTO TEÓRICO

### 2.1 Matéria orgânica e qualidade dos solos

Os materiais orgânicos que estão presentes nos solos são constantemente atacados pelos microrganismos do solo, provocando profundas transformações nos mesmos, das quais resultam diferentes produtos. A critério de classificação, inicialmente a MOS pode ser dividida em dois grupos fundamentais: fração viva e fração morta. A fração viva é constituída por microrganismos, e raízes de plantas. A fração morta, pode ser subdividida em: Detritos que são raízes mortas e resíduos vegetais que são reconhecíveis; e, o húmus, uma mistura de substâncias orgânicas em fase avançada de decomposição que não apresenta vestígios morfológicos do material a partir do qual se originou (Melo e Alleoni, 2009; Brady e Weil, 2013). A **Figura 1**, apresenta um diagrama com a classificação dos componentes da MOS, separados por critérios químicos e físicos.



**Figura 1**- Dinâmica da MOS em relação aos processos e subprocessos (Fonte: Fontana, 2009)

Os processos mais importantes que ocorrem na MOS são a humificação (processo conservador pelo qual a MOS é incorporada na matriz da fração mineral) e mineralização (processo degradativo através do qual alguns constituintes orgânicos são mineralizados/degradados pelos microrganismos e convertidos em  $\text{CO}_2$  (Santos, 2010).

A mineralização é um processo que consiste na transformação dos constituintes dos resíduos orgânicos em compostos mais simples denominado de substâncias minerais, enquanto que a humificação é um processo que consiste na transformação de compostos orgânicos identificáveis em compostos amorfos (não identificáveis) (Cunha, 2010; Santos et al., 2010) (**Figura 1**).

Segundo os estudos feitos por Moreira (2006), as proteínas e os carboidratos solúveis são os compostos que se decompõe com maior facilidade enquanto a celulose, hemicelulose e a lenhina possuem maior grau de recalcitrância devido a sua estrutura química. Neste processo, os compostos mais resistentes, como a lenhina, hemicelulose e a celulose são ressintetizados por microrganismos especializados, formando compostos ricos em estruturas aromáticas que podem ser estabilizadas em radicais livres do tipo semiquinona, que são compostos altamente recalcitrantes no solo. (Canellas et al., 2000). Para entender melhor a dinâmica da MOS é sempre útil realizar a avaliação dos diferentes compartimentos que a constitui, por meio de métodos químicos e físicos de fracionamento. Uma forma de avaliar o teor de C lábil no solo é o método proposto por Rangel et al. (2008) que consiste na oxidação química das amostras com uma solução de permanganato de potássio ( $\text{KMnO}_4$ ). Este método apresenta alguns problemas como a baixa sensibilidade para detetar mudanças na labilidade do C (Vieira et al., 2007) e a suscetibilidade do  $\text{KMnO}_4$  à fotodegradação (oxidação na presença de luz), que pode superestimar os resultados (Blair et al., 1995; Mendonça e Matos, 2005).

Outro tipo de fracionamento é o físico, baseado na separação das diferentes frações de C utilizando métodos densimétricos ou a separação por tamanho de partículas ou a combinação de ambos os métodos (Vieira et al., 2007). O fracionamento físico do solo pode separar a MOS em compartimentos que apresentam diferentes tempos de ciclagem. Dentre esses compartimentos destaca-se a matéria orgânica particulada ou matéria orgânica livre (MOL ou MOP) que é composta principalmente por restos de plantas, raízes e hifas de fungos em diferentes estágios de decomposição, porém que ainda conserva características de seu precursor (Diekow et al., 2005; Ramnarine et al., 2014). Devido ao seu curto tempo de ciclagem, a MOL é considerada um compartimento lábil de C no solo. O C da fração leve é um importante componente do COS e atua na manutenção da atividade microbiana do solo e na ciclagem de nutrientes, sendo severamente alterado pelo manejo e uso do solo (Carneiro et al., 2009).

Outro compartimento importante é a MO associada á fração mineral. Nesta fração, a MOS se encontra intimamente ligada à matriz mineral do solo, especialmente na fração argila, sendo protegida do ataque dos microrganismos e, por isso é altamente recalcitrante, denominado de C não lábil (Jamala e Oke, 2013).

Várias estratégias de avaliação da qualidade dos solos têm sido propostas, em que se destaca as que consideram a necessidade de um conjunto de atributos físicos, químicos e biológicos do solo para a obtenção de um índice confiável de qualidade (Larson e Pierce, 1991; Doran & Parkin, 1994). Por outro lado, existem também aquelas que consideram um número reduzido de atributos chave, como a MOS, que pode expressar eficientemente a qualidade do solo (Gregorich et al., 1994; Seybold et al., 1998).

A MOS está diretamente relacionada com a capacidade do solo em sequestrar carbono da atmosfera (Zanatta et al., 2007), contribuindo assim, para a atenuação dos impactos do aquecimento global em função do crescimento do efeito de estufa. O maior reservatório de C nos sistemas terrestres é o solo e se estima que essa quantidade seja cerca de três vezes maior que a existente em toda a biomassa terrestre (Carvalho, 2010).

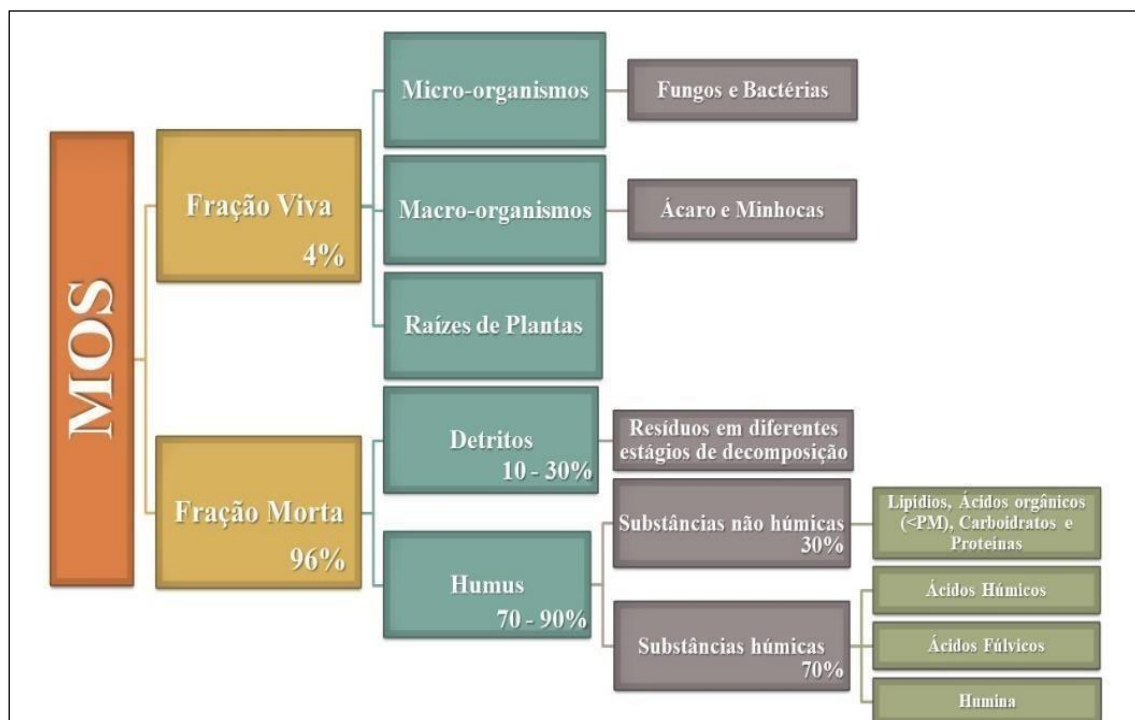
## **2.2. Compartimentos da matéria orgânica do solo**

Como referido anteriormente, a matéria orgânica do solo (MOS) é o resultado da decomposição de resíduos de plantas (designada de fonte primária) e animais (designada de fonte secundária), que se encontram no solo em diferentes estados de decomposição, para além dos organismos (vivos ou mortos), microrganismos e das raízes da vegetação (Theng, 1987). Os resíduos ao serem depositados, inicialmente são decompostos parcialmente pela mesofauna do solo e, posteriormente, são submetidos à ação decompositora dos microrganismos. Uma parte do carbono presente nos resíduos é libertada para a atmosfera na forma de CO<sub>2</sub>, no processo denominado de mineralização e o restante passa a fazer parte da matéria orgânica do solo. (Schnitzer & Khan, 1972; Bayer & Mielniczuk, 1997).

Segundo Theng (1987), a MOS pode ser dividida em dois compartimentos: (1) matéria orgânica viva e (2) matéria orgânica morta. O mesmo autor refere ainda que o compartimento vivo da matéria orgânica, que raramente excede os 4% de carbono orgânico total (COT) do solo, pode ainda ser dividido em três compartimentos: raízes (510%), fauna (15-30%) e microrganismos (60-80%).

Embora as raízes ocupem o menor compartimento, sua distribuição pode ter maior influência nos processos físicos, químicos e biológicos.

O componente morto pode também ser subdividido em dois compartimentos: matéria macrorrgânica ou fração leve e húmus. A matéria macrorrgânica consiste nos resíduos de plantas e animais em diferentes estados de decomposição (**Figura 2**).



**Figura 2-** Diagrama de classificação dos componentes da MOS (**Fonte:** Schardosin, 2018).

A MO morta, que permanece após a separação da matéria macrorrgânica, apesar de ser comumente denominada de húmus, é constituída por SH ou coloidais e não húmicas (Theng, 1987).

As substâncias não húmicas ou matéria orgânica livre (MOL) incluem os grupos químicos conhecidos como carboidratos, proteínas, peptídeos, ácidos gordos e nucleicos, resinas, pigmentos e outras substâncias orgânicas de baixo peso molecular (Schnitzer, 1991). Enquanto as substâncias húmicas constituem a maior parte da matéria orgânica morta do solo e tem sido as mais intensivamente estudadas (Coleman et al., 1989).

As SHs apresentam grande heterogeneidade e complexidade molecular, e estão divididas em três categorias ou frações que são conhecidas em função da sua solubilidade em soluções ácidas ou básicas: AH, AF, H, como referido anteriormente.

Segundo Coleman et al., (1989), a MOS pode também ser dividida em: compartimentos lábeis e compartimentos estáveis. Estas definições são baseadas na taxa de decomposição no solo de um constituinte particular.

No estudo feito por Kononova (1984), o autor refere que a fração estável corresponde à maior parte da MOS, da qual fazem parte as substâncias húmicas e outras macromoléculas que estão fisicamente protegidas pela adsorção com a superfície dos minerais (agregados).

As classificações propostas anteriormente por outros autores foram baseadas no procedimento de extração das diferentes frações químicas, propriedades visuais e morfológicas da MOS ou da sua origem (tipo de solo, floresta e campo) (Alexandrovová, 1970).

Recentemente, desenvolveu-se um novo modelo de classificação que utiliza a função como critério importante e diferencia:

- 1) **MOS lábil** - é a fração da matéria orgânica rapidamente reativa que fornece nutrientes e energia aos microrganismos do solo e liberta parte dos nutrientes para as plantas. Do ponto de vista químico é constituída por carboidratos, ácidos orgânicos e gorduras de rápida degradação. Com um tempo de vida de dias a anos, proporciona rotatividade da matéria orgânica de curto prazo durante o ano.
- 2) **MOS estável** - é o reservatório de MO com menor decomponibilidade. A principal função desta fração é a sua capacidade de troca catiónica (CTC). Esta fração é muitas vezes limitada pelos agregados organo-minerais.
- 3) **MOS inerte** - MO quase não reativa que afeta as propriedades físicas do solo. Tem uma capacidade de sorção potencialmente baixa. Este pool está protegido físico quimicamente contra a decomposição.

### 2.2.1 Matéria orgânica do solo

As classificações anteriores, como já foi mencionado acima, não utilizaram o conceito de MOS lábil. No entanto, algumas semelhanças no caráter dos conceitos anteriores podem ser observadas e a evolução da definição da fração aproximada a MOS lábil e o surgimento final do próprio termo, são mostrados na **Tabela 1**.

**Tabela 1**-Evolução da definição de matéria orgânica do solo.

Termos	Descrição	Referência
<b>Substâncias não húmicas</b>	Lenhina, hemicelulose, celulose, proteínas de baixo peso molecular, produtos de decomposição (ácidos orgânicos, aminoácidos)	Tjurin (1937)
<b>Húmus nutritivo</b>	Matéria orgânica hidrolisável	Najmr (1958)
<b>Substâncias húmicas não específicas</b>	Produtos da decomposição de resíduos orgânicos e produtos da síntese microbiana	Kononovová (1963)
<b>Fração ativa</b>	Componentes ativos que não faça parte da biomassa, reservatório temporário de nutrientes	Paulo (1984)
<b>Matéria orgânica primária</b>	Matéria orgânica não humificada	Schulz e Klimanek (1988)
<b>Fração lábil</b>	Matéria orgânica facilmente decomponível com flutuações temporais	Biederbek et al. (1994)

**Fonte:** Adaptado de Strosser (2010)

### 2.2. Métodos de estudos da matéria orgânica do solo

A matéria orgânica do solo (MOS) tem sido alvo de muito estudos e têm como base o fracionamento desta, seja pelo emprego de extratores químicos ou por métodos físicos (Stevenson & Elliot, 1987). As várias formas de fracionamento utilizadas nos estudos da MOS tem como objetivo reduzir a heterogeneidade das frações húmicas, procurando separar as frações homogêneas quanto a sua natureza, dinâmica e função, mas ao mesmo tempo, que sejam suficientemente diferentes entre si (Christensen, 2000).

A escolha do método de fracionamento depende da natureza específica do estudo, ou seja, para a caracterização e identificação química de componentes específicos da MOS, ou para a quantificação ou descrição dos compartimentos da MOS (Collins *et al.*, 1997).

A combinação da separação física seguida da extração química tem sido usada com algum sucesso para elucidar a dinâmica da MOS (Cambardella & Elliot, 1992).

### **2.3. Fracionamento Químico da matéria orgânica do solo**

A separação das distintas frações da MOS permite quantificar uma série de constituintes que, em função de que sejam particulados, solúveis ou coloidais, se denominam genericamente de MOL (matéria orgânica livre), AF (ácidos fúlvicos), AH (ácidos húmicos), e H (humina) ligada a óxidos ou argilas e H não extraível ou residual (Duchaufour, 1975; Duchaufour y Jacquin, 1975; Velthorst *et al.*, 1999). O teor de C nestas frações se relaciona com a eficácia do ciclo biogeoquímico do C e com a qualidade ambiental da MOS desde o ponto de vista da sua atividade no seu transporte e imobilização de elementos e na formação de complexos organo-minerais, o que permite utilizá-los como indicadores edáficos.

Segundo Primo *et al.* (2011), atualmente existem vários métodos de extração e fracionamento das SHs (Kononova, Dabin, Danneberg e Ullah, Schnitzer, Swift, Benites, purificação com ácido fluorídrico (HF), resina DAX-8, diálise e liofilização, Swift). A diferença entre esses métodos está no uso de substâncias extratoras, relação massa da amostra/extrator, tempo de agitação, centrifugação e formas de purificação.

O método de fracionamento químico padronizado pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS) é o mais comum entre a sociedade de pesquisadores de SHs. Este recomenda como extrator padrão a solução hidróxido de sódio (NaOH) na concentração de 0.5 ou 0.1 mol. L<sup>-1</sup> (SWIFT, 1996). A metodologia requer um tratamento inicial do solo com ácido clorídrico (HCl) 0.1 mol. L<sup>-1</sup> para remover carbonatos e outros cátions polivalentes que podem interferir na eficiência da extração da solução alcalina (Canellas *et al.*, 2005a).

As SH são compostas por uma série de constituintes de coloração escura, com elevado peso molecular, separadas com base nas características de solubilidade. Com base nestas características, são divididas em: AH - fração escura extraída em meio alcalino (NaOH, Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) e insolúvel em meio ácido diluído; H- fração insolúvel em meio alcalino; AF- fração colorida alcalino solúvel que se mantém em solução após a remoção dos AH por acidificação. Segundo Stevenson (1994), alguns autores consideram ainda os ácidos himatomelânicos- fração solúvel em álcool dos AH.

As estruturas moleculares são compostas por estruturas aromáticas e cadeias alifáticas, de peso molecular variável e de composição química complexa (Schnitzer, 1991), apresentando-se mais estáveis que a fração leve da MOS à degradação química e biológica.

Existem fortes evidências de que a estrutura química e as propriedades da fração H são similares às dos AH, e que a sua insolubilidade pode ser devida à sua forte interação com os constituintes inorgânicos do solo com a água. Dados obtidos em diversos estudos sugerem que as três frações são similares estruturalmente, mas diferem quanto ao peso molecular e ao conteúdo de grupos funcionais (Schnitzer, 1972, Catroux, 1987). Elevada quantidade de grupos carboxílicos e fenólicos resultam na acidez significativa das SHs (Sposito, 1989).

Tem sido amplamente aceite que os AH e os AF, ambos contribuem com um saldo de cargas negativas nos solos, porque os grupos carboxílicos e fenólicos são responsáveis por 80 a 90% das cargas negativas do húmus. Essas cargas negativas nas superfícies dos coloides orgânicos conferem-lhes características de troca catiónica muito superiores a aquelas geradas pela fração mineral de elevada capacidade troca catiónica (CTC), como as argilas 2:1 (Sposito, 1989). De acordo com Stevenson (1982), possibilitam a formação de complexos organo-minerais e organometálicos, agregados estáveis e a adsorção de pesticidas e herbicidas. Os AH e AF apresentam carga líquida negativa, uma vez que os grupos funcionais das SHs se dissociam em valores de pH entre 5 e 7.

#### **2.4. Composição Química da MOS**

Segundo Gregorich et al. (1994), os indicadores da composição química da MOS mais amplamente recomendados são o N total do solo, o COS e a relação Carbono/azoto (C/N).

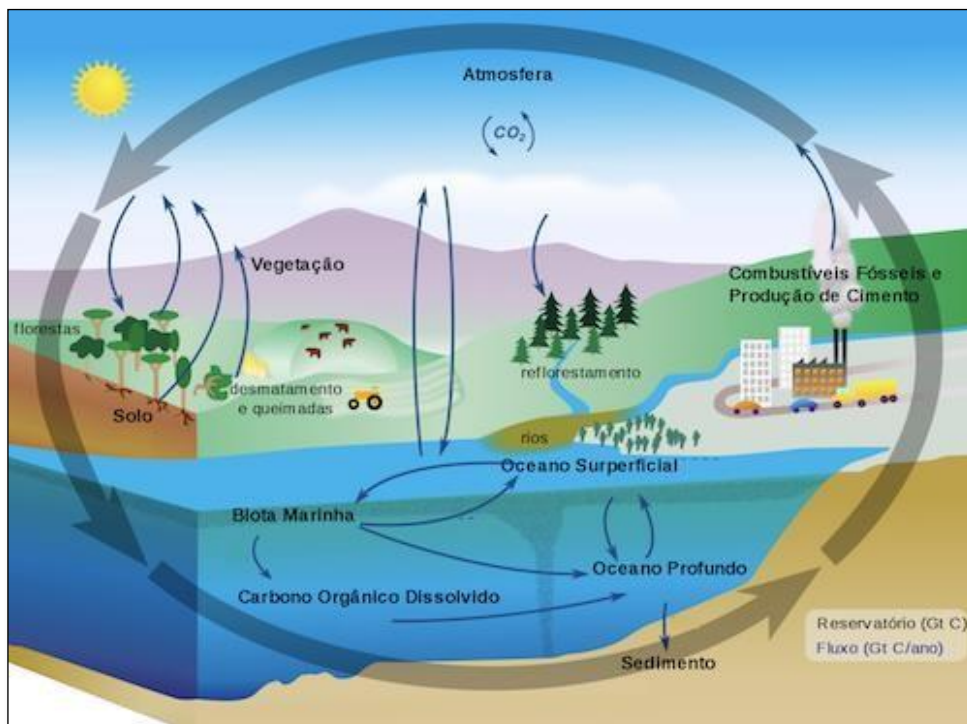
Entretanto, as mudanças no N total e no COS ocorrem muito lentamente, logo não fornecem, a curto prazo, informações adequadas sobre mudanças importantes na qualidade da MOS (Benites et al., 2003). As frações lábeis de N orgânico, como a biomassa microbiana de N, N orgânico extraível com água, fração leve e matéria orgânica particulada (MOP), são mais sensíveis às mudanças que são induzidas pelo manejo, logo podem servir de indicadores precoces de possíveis mudanças na qualidade da MOS.

#### **2.4.1. Ciclo do Carbono**

O carbono orgânico do solo (COS) é um dos indicadores da qualidade do solo que é mais amplamente utilizado, pois afeta várias propriedades físicas, químicas e biológicas do solo. Os solos contêm cerca de 2400 Pg de C e a MOS tem um papel fundamental no balanço global do C. Nos ecossistemas estáveis, a perda de MOS devido à decomposição é compensada pela entrada de materiais (resíduos de plantas e animais).

No entanto, as alterações no uso do solo como a conversão de pastagens para culturas anuais, a desflorestação, assim como a drenagem artificial dos solos, resultam na perda de C.

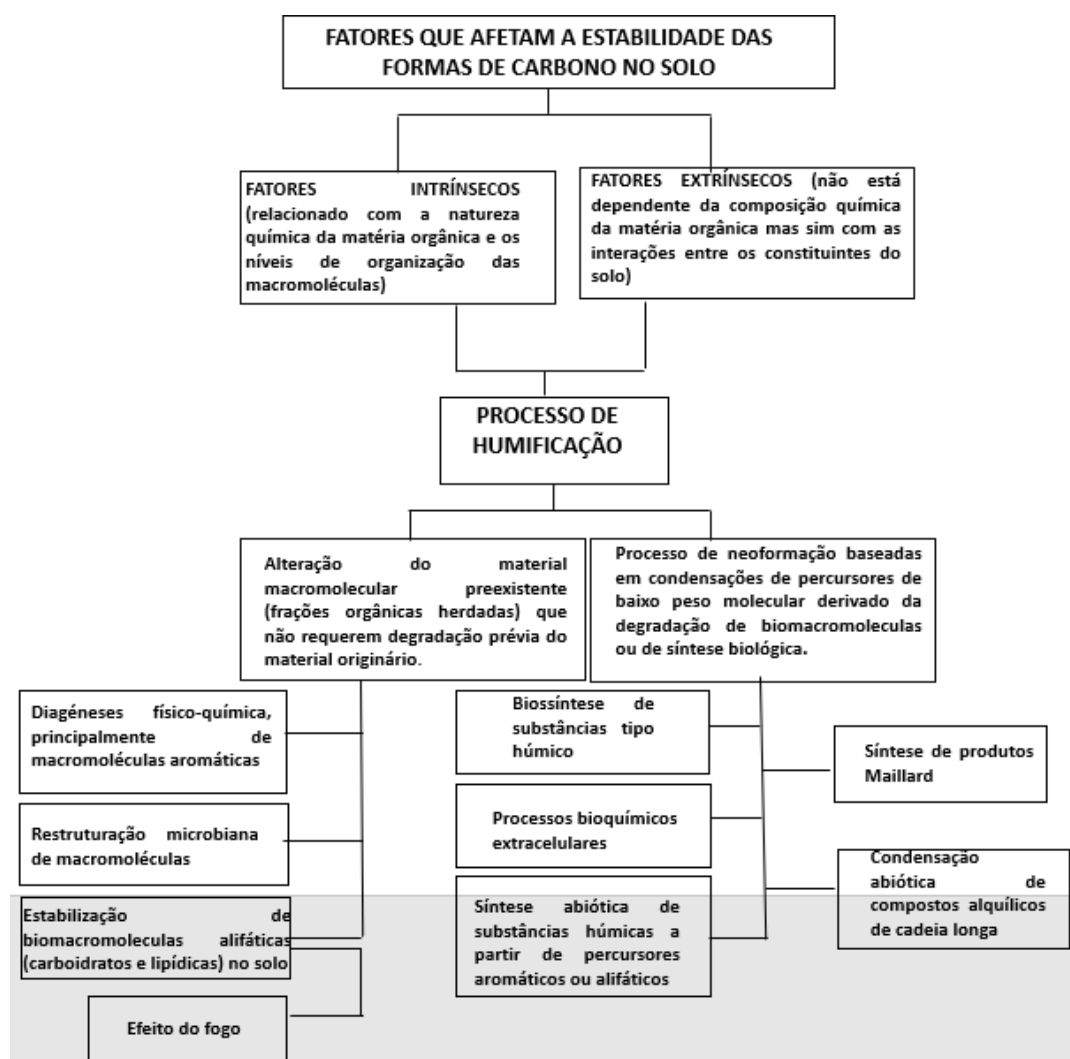
Estas perdas, conjuntamente com o uso de combustíveis fósseis, têm conduzido ao aumento dos níveis de CO<sub>2</sub> na atmosfera e os fogos têm contribuído também para este aumento. Na tentativa de inverter esta situação realizam-se estudos para estimar a possibilidade de aumentar a quantidade de C sequestrada no solo, visto que é o maior reservatório de C no ecossistema terrestre, adaptando práticas culturais que contrariem a perda de MO, e alterando o uso do solo, pelo aumento das áreas de florestas ou pastagens permanentes. Com a implementação destas práticas, poderá resultar em um aumento da retenção de carbono no solo, sobretudo em substâncias húmicas mais estáveis do que as restantes frações da matéria orgânica. **(Figura 3)**.



**Figura 3-Ciclo do Carbono (Fonte: khan Academy, 2019).**

#### **2.4.2.1. Efeitos da mudança de uso de solo no carbono orgânico do solo**

As entradas de C no solo são em grande parte determinadas pelo uso de solo, em que os sistemas florestais tendem a ter maior entrada para o solo (insumos o ano todo) e muitas vezes esse material é o mais recalcitrante (Bolin e Sukumar, 2000). As pastagens também tendem a ter grandes entradas de insumos embora o material seja menos recalcitrante do que o da floresta. Diferentes processos estão envolvidos no sequestro de C no solo como a preservação seleção de biomassa, alteração diagenética das biomacromoléculas, humificação por neoformação *sensu stricto* (microbial, enzimático ou abiótico) (**Figura 4**).



**Figura 4**-Possíveis processos edáficos que intervêm no sequestro de C. (Fonte: Almendros, 2004)

Segundo Smith (2008), a menor entrada de C no solo é frequentemente observada em solos cultivados, em que há entrada de insumos somente quando há culturas crescendo e as entradas de C estão entre as mais lábeis. A taxa de entrada de C no solo está relacionada com a produtividade da vegetação que cresce naquele solo, medida pela produção líquida primária.

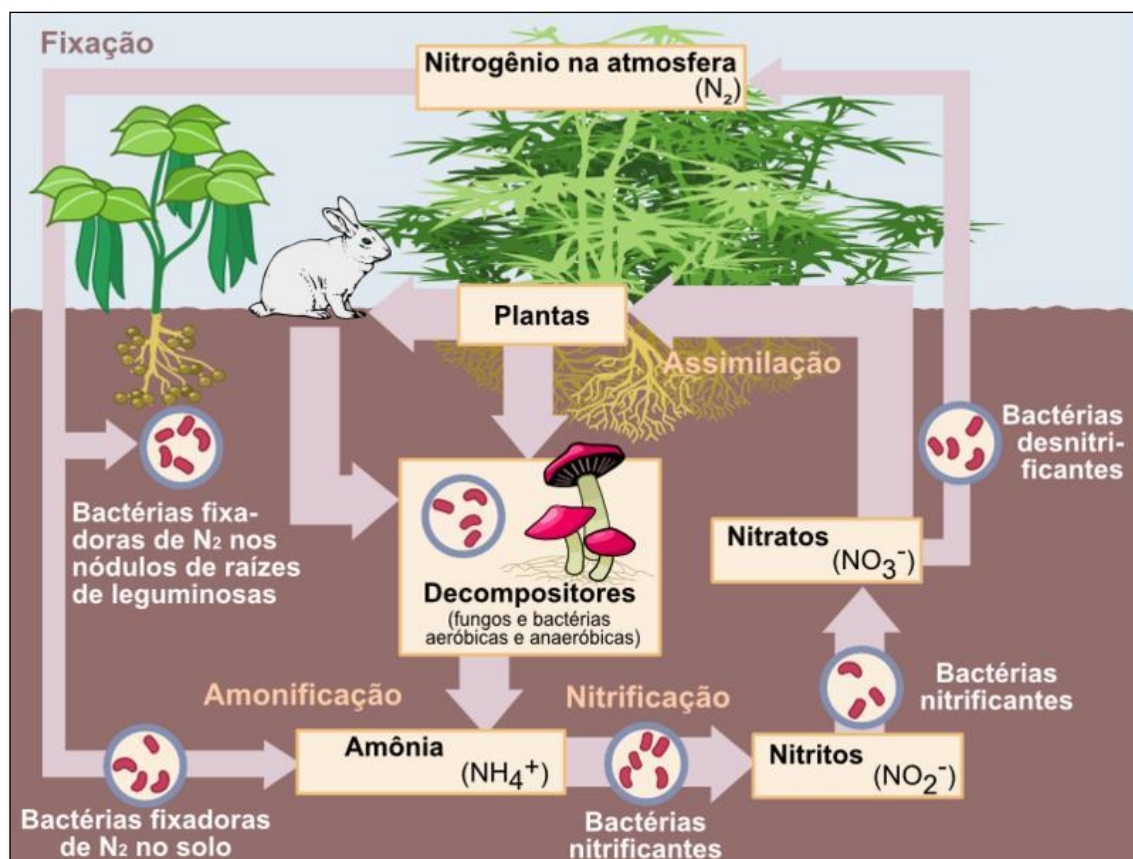
Um estudo feito por Were et al. (2015), sobre os efeitos das conversões de uso do solo no COS mostraram que houve uma nítida perda de concentração e estoque de carbono do solo da floresta natural para solos de cultivo. Este estudo indicou que a conversão de um sistema natural para um sistema controlado pelo homem aumenta o risco de degradação do solo e restringe a capacidade do ecossistema de armazenar C e N.

Da mesma forma, Post e Know (2002) afirmaram que a conversão de solos agrícolas para pastagens também aumenta o estoque de C no solo. Diferentes estudos analisaram os efeitos da mudança no uso/cobertura do solo nas propriedades físico-químicas do mesmo, e a maioria concorda que, a mudança frequente no uso do solo leva a perdas de nutrientes e redução de insumos de MOS (Sainepo, 2017).

#### **2.4.2. Ciclo do Azoto**

O N se fixa no solo através de microrganismos fixadores de  $N_2$  e é emitido novamente para a atmosfera na forma de amónia ou se liberta na forma de nitrato na água da chuva. Por isso, é importante estudar de que forma (assimilável ou não) se encontra o N no solo e qual a sua relação com a MOS na interface solo – planta. Neste sentido, se tem descrito na literatura que os AH e as H podem conter entre 3-5% de N, enquanto o teor de N nos AF pode variar entre 1-3% (Sowden et al., 1976).

Cerca de 95% do N do solo forma parte da MOS, em que esta atua como reservatório e fonte deste nutriente para as plantas e microrganismos do solo. (Schulten & Schnitzer, 1998; Tinoco, 2000). Na atmosfera média atual, o composto gasoso mais abundante é o azoto molecular ( $N_2$ ), representando cerca de 79% da sua composição. A incorporação deste elemento no solo, origina um ciclo complexo, o denominado ciclo do azoto (**Figura 5**), no qual é possível identificar os seguintes processos: fixação de  $N_2$  atmosférico; fixação em compostos orgânicos de seres vivos; imobilização; mineralização; nitrificação; fixação  $N-NH_4$  em argilas; adsorção  $N-NH_4$  em argilas; lixiviação e escorrência superficial; desnitrificação e volatilização. (Porta et al., 2003)



**Figura 5-Ciclo do Azoto (Fonte: Biogeonazarco, 2013).**

## 2.5. Qualidade da matéria orgânica do solo

Uma das formas de avaliar a qualidade da MOS tem sido a quantificação do teor de COS relacionado com as SHs, que representam cerca de 70% da MOS, Stevenson (1994) refere que essas substâncias são formadas por diversos compostos de coloração castanha ou preta, com alto peso molecular, formando reações de síntese secundárias bióticas e abióticas através dos seus grupos carboxílicos, fenólicos e amins, que por sua vez, influenciam as propriedades físicas químicas e biológicas dos solo, assim como, da água e sedimentos (Cunha et al., 2000). Estas substâncias são importantes, pois desempenham um papel fundamental na retenção de calor, estimulando a germinação de sementes, atuam contra a erosão dos solos devido aos agregados oriundos da combinação com argilas, reduzem o escoamento, além de favorecer alta capacidade de retenção de água. Além das características já citadas, as SHs, especificamente a fração AF, são também tidas como as principais reguladoras da CTC, formando também complexos com iões micronutrientes de plantas, permitindo que estes sejam biodisponíveis para as culturas (Primo et al., 2011).

A caracterização das SHs e suas proporções na MOS são essenciais para se entender a sustentação dos diferentes sistemas agrícolas, o ciclo global do C, a lixiviação de espécies químicas causando poluição das águas e empobrecimento dos solos (Bayer et al., 2002).

As relações entre os teores de C nas frações das SHs (AH, AF e H) podem ser utilizados como indicadores químicos da qualidade da MOS, onde os AH se destacam por serem aquele que mais sofrem mudanças estruturais, isto porque os AH representam a fração intermediária entre a estabilização dos compostos pela interação mineral (H) e a ocorrência de ácidos orgânicos oxidados livres na solução de solo.

Assim sendo, a manutenção de maiores teores de C na forma de AH (C-AH) em relação aos teores de C na fração AF (C-AF) dá indicação de solos mais preservados e indicador de um manejo mais conservacionista (Sciolo, 2008).

A relação de maior interesse para o C nas SHs é a estabelecida entre as frações AH e AF (C-AH/C-AF), uma vez que este indica a conversão mútua entre essas formas e a mobilidade do C no solo. Portanto, maiores valores de C-AH/C-AF evidenciam uma maior condensação de compostos húmicos e conseqüentemente, maior teor de COS (Sciolo, 2008).

### **2.5.1 Formação das Substâncias Húmicas**

As vias de formação das SHs são várias, devido à grande quantidade de estruturas precursoras e ao enorme número de possibilidades de interação entre elas, o que é de fato, a razão da dificuldade em se estabelecer uma estrutura precisa para os AH, AF e H (Pigatin, 2015). Stevenson (1994), estabelece que há pelo menos quatro vias principais, pelas quais as SH são formadas (**Figura 6**).



**Figura 6-**Mecanismo de formação das SHs (Fonte: ScharDOSIN, 2018)

A primeira via de formação (nº 1 da Figura 6), enuncia a teoria da condensação amino-açúcar. Maillard, em 1916, considerava que as SHs eram resultado da reação, exclusivamente química, entre açúcares redutores e aminoácidos (originados da atividade microbiana). A partir dos estudos de Maillard, surge então o conceito de humificação (referido acima) (Stevenson, 1994; Messias, 2004). Os principais processos que humificam a matéria são hidrólise, oxidação, redução e síntese por microrganismos (Segnini, 2007).

A segunda e a terceira via de humificação (nº 2 e 3 da Figura 6), representa a teoria dos polifenóis. Na via 2, os polifenóis são originados por microrganismos específicos ou de fontes de C não lenhificados. Já na via 3, a fonte de polifenóis é a lenhina (biopolímero de estrutura complexa). Nas duas vias, os polifenóis podem se recombinar entre si ou com outras moléculas, formando assim as quinonas. Estas sofrem reações de condensação com compostos nitrogenados (amónia, aminoácidos e proteínas) resultando em substâncias húmicas (Stevenson, 1994; Messias, 2004).

### 2.5.2. Cor em substâncias tipo Húmicas

O facto das SHs terem uma coloração escura, intensidade variável dependendo da sua origem, despertou interesse o seu estudo por espectroscopia na faixa do visível, e segundo os estudos de Traina et al. (1990) observou-se que quanto maior a intensidade da cor escura das SH maior era o teor de constituintes aromáticos. Se observou ainda que a intensidade da cor se acentuava com o progresso da humificação, entendida como maturidade da MOS.

A cor escura intensa foi atribuída posteriormente à presença de grupos cromóforos e radicais livres estáveis (Schnitzere khan, 1972). Os espectros de absorção na faixa visível fornecem pouca informação, são predominantemente monotônicos, ou seja, sem a presença de picos, exceto no caso dos chamados AH do tipo “P”, que incluem em sua estrutura derivados de quinona de origem microbiana (Kumada, 1955). No entanto, foi demonstrado que a intensidade da cor escura do AH, em igual concentração, é um caráter diferencial das amostras de solo e compostos, de modo que a leitura das unidades de absorbância do espectro (por exemplo, em 465 nm) foi estabelecida como uma medida semiquantitativa da aromaticidade das substâncias húmicas.

A espectroscopia na região do visível é usada, principalmente, para determinar a relação E4/E6 (razão entre a absorbância em 465 nm e 665 nm, segundo Kononova, 1982). Os valores da relação E4/E6 são frequentemente utilizados na determinação do grau de humificação da matéria orgânica do solo que está diretamente relacionada com o peso molecular, com a condensação dos carbonos aromáticos e com a aromaticidade das SHs (Stevenson, 1994). Nas análises da MOS e do composto, uma coloração escura é um indicador de alta qualidade, enquanto uma cor clara (os constituintes estruturais dos restos vegetais têm baixa coloração) é um indicador de baixa qualidade.

Também foi observado que a inclinação do espectro é um indicador da polidispersidade de SH, de modo que quando E4/E6 diminui, aumenta o tamanho molecular, o grau de condensação e a aromaticidade das SH (Chen et al., 1977; Kononova, 1982).

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1. Localização e caracterização dos locais de estudo**

As amostras de solo foram colhidas em três locais diferentes, correspondendo a três usos de solo: Serra da Nogueira representando a área de floresta de *Quercus pyrenaica*; Aveleda, no Parque Natural de Montesinho (PNM), representando a área de matos antes e após fogo controlado; e Lombada, no PNM, representando a pastagem (lameiros).

### 3.1.1. Breve caracterização da área de estudo: Parque Natural de Montesinho

O Parque Natural de Montesinho (PNM), criado pelo Decreto-Lei n.º 355/79, de 30 de agosto, e reclassificado pelo Decreto Regulamentar n.º 5-A/97, de 4 de abril. É uma área protegida que fica localizado no Nordeste de Portugal com uma área de cerca de 74 600 hectares (ha), fazendo fronteira com Espanha e engloba o norte dos conselhos de Vinhais e Bragança, assim como, as Serras de Montesinho e da Coroa. É um território com um complexo de paisagens naturais e montanhosas e com grande nível de biodiversidade. Segundo Figueiredo et al. (2012) é uma área constituída por uma sucessão de elevações e vales profundamente encaixados, com altitudes que variam entre 438 e 1481 m.

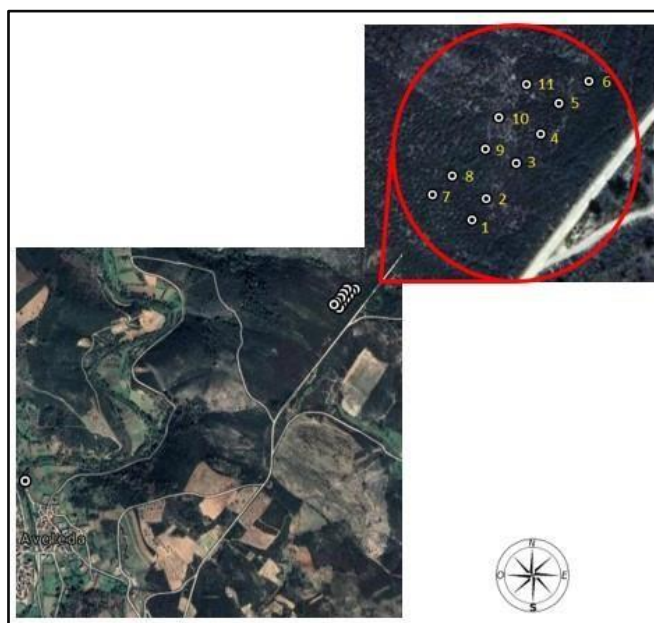
O material originário predominante é o xisto, com alguns afloramentos de rochas básicas e manchas de granito na parte superior da Serra de Montesinho. Como na maioria da paisagem transmontana, também no PNM dominam os Leptosolos, solos delgados, pedregosos e ácidos, com teores de matéria orgânica maiores nas zonas mais altas e mais húmidas do PNM, onde a atividade microbiana é menos intensa.

De acordo IPB/ICN (2007) os matos, que ocupam 1/3 da área total do PNM, são espécies arbustivas espontâneas com objetivos e funções bem definidas no território. Devido à sua variabilidade geológica e climática, o PNM possui grande biodiversidade natural.

Ao longo da sua extensão é possível observar matas de azinheira (*Quercus rotundifolia*), nos locais onde a altitude e a luminosidade são menores e o clima mais seco, predomina matas de carvalho-negral (*Quercus pyrenaica*), em altitudes superiores e clima mais húmido e frio, são observados castanheiros (*Castanea sativa*) (Rodrigues e Aguiar, 1998a).

Existem também áreas de matagais de urze (*Erica australis* e *Erica umbellata*), de carqueja (*Chamaespartium tridentatum*) e de sargaço (*Hailimium alyssoides*). Nas áreas mais frias, surgem os matagais de esteva (*Cistus ladanifer*), de arçã (*Lavandula stoechas* subsp. *sampaiana*) e de sal-puro (*Thymus mastichina*). Junto às florestas de azinheira e de carvalho, aparecem algumas espécies mais velhas, como a gilbardeira (*Ruscus aculeatus*), o medronheiro (*Arbutus unedo*), o trovisco (*Daphne gnidium*), a rosade-lobo (*Paeonia broteroi*), o jasmim-silvestre (*Jasminum fruticans*), a cássia-branca (*Osyris alba*) e o cadorno (*Phillyrea angustifolia*) (Rodrigues e Aguiar, 1998a).

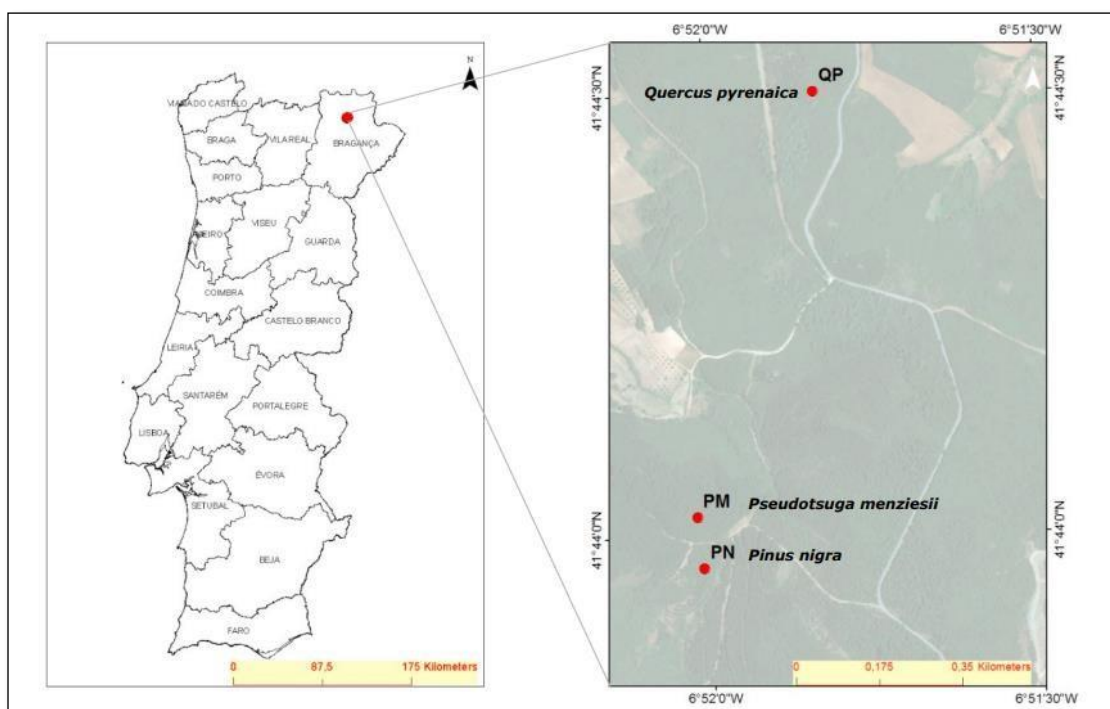
Na zona da Aveleda, PNM (41°53'57.06"N, 6°40'55.39"W) (**Figura 7**), foi instalado um ensaio experimental, onde a 22 de março de 2021 foi aplicado fogo controlado numa área de 5 ha, a fim de avaliar os efeitos do fogo nas propriedades físicas, químicas e biológicas do solo. Antes do fogo efetuou-se um levantamento botânico no terreno tendo sido identificadas manchas com clara dominância de espécies com maior representatividade das principais comunidades de matos do PNM. Na área do ensaio predominavam as espécies urze (*Erica australis*) que ocupava 44% da superfície, carqueja (*Chamaespartium tridentatum*) que ocupava 30% da superfície e a esteva (*Cystus ladanifer*) que ocupava 26% da superfície. A ação do fogo não foi uniforme, tendo a carqueja e a urze ardido quase por completo, e parte significativa das manchas de esteva resistido à passagem do fogo. Neste trabalho foi avaliado a qualidade e a quantidade de MOS desta área antes e logo imediatamente pós-fogo. O ensaio experimental está instalado numa zona de relevo ondulado, de declive suave a uma altitude de 800 m. O substrato geológico é xisto, e os solos são Leptossolos úmbricos, de textura mediana, pedregosos, ácidos, com teores medianos a elevados de MO no horizonte superficial (Agroconsultores e Coba, 1991). A precipitação média anual ronda os 850 mm, em Terra Fria de Planalto, zona climaticamente homogénea definida regionalmente pela temperatura média anual, situada entre os 10 e os 12,5°C (Agroconsultores e Coba, 1991).



**Figura 7**-Pontos de amostragem nas áreas ardidas da Aveleda, Parque Natural de Montesinho (antes e depois do fogo) (**Fonte:** Piovesan, 2022)

### 3.1.2. Breve caracterização da área de estudo: Serra da Nogueira

O carvalhal da Serra da Nogueira (*Quercus pyrenaica*, QP), localizado no NE Portugal, ocupa cerca de 6000 ha e constitui a vegetação climática do local. Nas últimas décadas, parte da área de QP foi substituída por espécies de crescimento rápido, nomeadamente *Pseudotsuga menziesii* e *Pinus nigra*. A área de estudo (41°44' N e 6°52' W) (**Figura 8**), ocupa uma faixa que varia de 1000 a 1100 m de altitude, a precipitação média anual, concentrada nos meses de outubro a março é de 1100 mm e a temperatura média anual é de 12°C (Agroconsultores e Coba, 1991). Os solos são classificados como Leptosolos Úmbricos derivados de rochas básicas (FAO/UNESCO, 1988) e apresentam elevada pedregosidade, subácidos e com um teor mediano a alto de MOS.



**Figura 8**-Localização da área de estudo do carvalhal da Serra da Nogueira, NE Portugal. (Fonte: Fonseca et al., 2019)

### 3.1.3 Breve caracterização da área de estudo: Lameiros

Conforme estudos feitos por Agroconsultores e Coba (1991), os Lameiros (LA) do Nordeste de Portugal são distribuídos pelas seguintes unidades pedológicas: Antrossolos, Regossolos, Cambissolos e Fluvisolos. Os lameiros de sequeiro ocupam uma área de 33 800 ha e os lameiros de regadio ocupam cerca de 22 000 ha, segundo os dados de Figueiredo (2005).

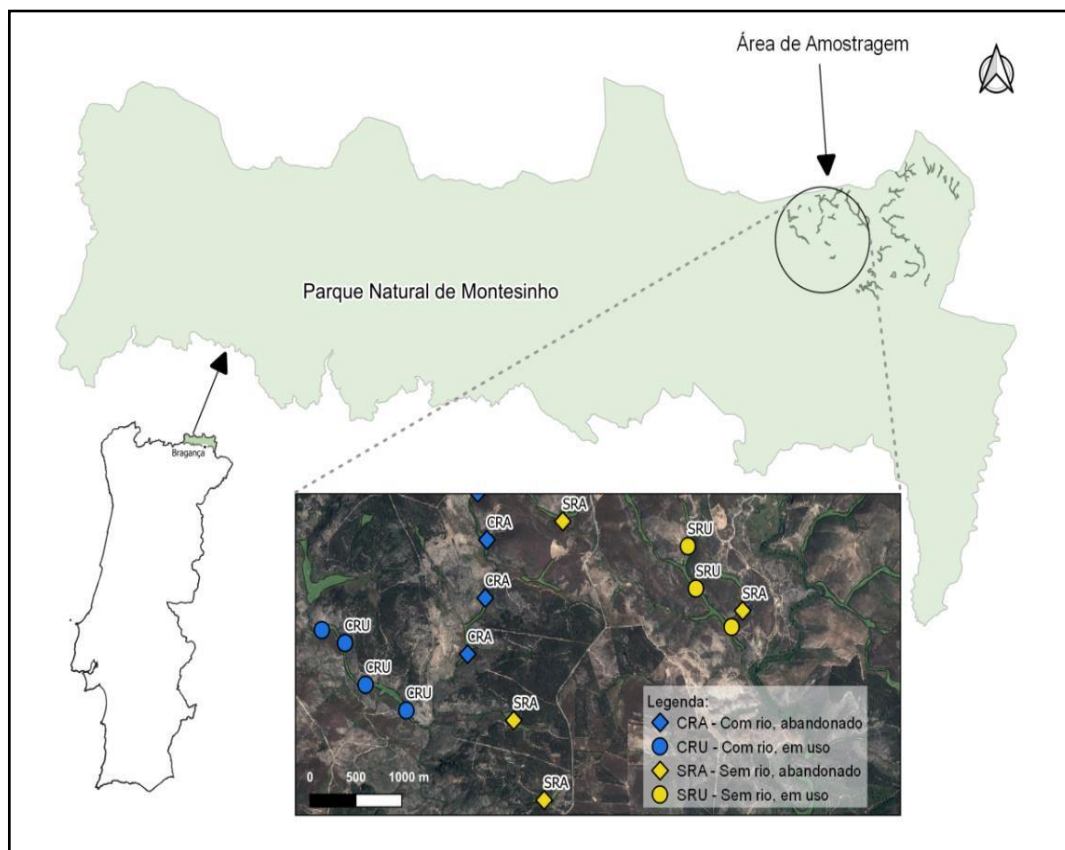
Os Antrossolos são solos em que as atividades humanas têm provocado profundas modificações nas características originais, através de mobilizações profundas, movimentação de terras, armação do terreno em socacos, construção de muros de suporte, rega, fertilizações. Normalmente, estão associados a lameiros sem linhas de água, podendo estes serem de estação húmida ou seca. São solos de textura franca a francaarenosa, ácidos, com teores médios de MO (Costa, 2011).

Os Regossolos são solos desenvolvidos sobre depósitos de coluvião, com espessura superior a 1 m, com perfis do tipo A C ou A C 2R. Geralmente, estão associados a lameiros húmidos, sem presença de linhas de água. A textura varia de franco-arenosa a franco-limosa. São solos ácidos, com teores médios a altos de MO (Costa, 2011).

Os Cambissolos ocupam cerca de 13 % da área total dos solos do NE de Portugal são solos com um horizonte B câmbico (Bw), onde se processou a mineralogia inicial da rocha e a formação de novos produtos, nomeadamente argila, óxidos de ferro e alumínio, com profundidade geralmente entre 50 a 70 cm e perfil do tipo A Bw C R (Agroconsultores e Coba, 1991; Figueiredo, 2005). Este tipo de solos desenvolve-se sobre depósitos de vertente e de coluvião de fundo de encosta, estando essencialmente associados a lameiros sem presença de linhas de água, podendo esses serem de estação húmida ou seca. Os Cambissolos desenvolvidos nas vertentes, tendem a apresentar textura mais grosseira (franco-arenosa), e os desenvolvidos no fundo de encosta tendem a mostrar textura mais fina (franco-limoso). Os solos são ácidos a subácidos, com teores altos de MO (Costa, 2011).

Os Fluviolos ocupam cerca de 0,9% da área total dos solos do NE de Portugal são solos espessos desenvolvidos sobre depósitos de aluvião, com perfis do tipo A C ou A Cg. São ocupados frequentemente por pastagens húmidas por se localizarem preferencialmente nas proximidades dos rios (Figueiredo, 2005; Agroconsultores e Coba, 1991). São solos ricos em MO e são de textura franco-arenoso e ácidos a subácidos (Costa, 2011).

Neste estudo, as amostras de solo foram colhidas em três lameiros da bacia do Rio Sabor, localizados no PNM (**Figura 9, Tabela 2**).



**Figura 9-** Localização dos Lameiros no Parque Natural de Montesinho.

Foram classificados em apenas uma tipologia, representando os lameiros com rio em uso, identificados na Figura 10 pelo círculo azul. Na **Tabela 2** estão descritos os lameiros com suas coordenadas e a categoria (Fernandes, 2019; Razan, 2020).

**Tabela 2-**Classificação dos Lameiros e coordenadas da localização.

<b>Lameiros</b>	<b>Uso</b>	<b>Rio</b>	<b>Localização</b>	
<b>LAVE20_05</b>	Em Uso	Com Rio	6°40'36.42" W	1°55'18.74" N
<b>LAVE20_06</b>	Em Uso	Com Rio	6°40'25.48"W	41°55'14.68"N
<b>LAVE20_07</b>	Em Uso	Com Rio	6°40'15.76"W	41°55'1.63"N

**Fonte:** Adaptado de Ranzan (2020)

### 3.2. Preparação das amostras de Solo

Para cada área de estudo, representadas por três tipos de uso do solo distintos (floresta, matos e pastagem), foram analisadas amostras de solo compósitas, colhidas na camada 0-5 cm de profundidade. No total foram analisadas 12 amostras: 3 para o uso florestal (*Quercus pyrenaica*); 6 para o uso matos (3 antes do fogo e 3 pós-fogo); 3 para o uso pastagem (lameiros).

As amostras de solo, depois de passadas por um crivo de malha de 2 mm, foram trituradas com a ajuda de um almofariz (**Figura 10**) e numeradas numa sequência de 1 a 12 com a letra A (A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, ..., A<sub>12</sub>). Todas as amostras são compósitas, ou seja, constituídas pela mistura de um conjunto de subamostras colhidas em diferentes pontos de amostragem. As amostras A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub> foram obtidas no carvalhal (*Quercus pyrenaica*) em três parcelas de amostragem distintas, e cada uma é constituída pela mistura de 5 subamostras. As amostras A<sub>4</sub>, A<sub>5</sub>, A<sub>6</sub> são referentes ao uso matos antes do fogo e cada uma engloba a mistura de três subamostras. As amostras A<sub>7</sub>, A<sub>8</sub>, A<sub>9</sub> também são referentes ao uso matos, mas imediatamente pós-fogo, e foram colhidas nos mesmos pontos antes do fogo. As amostras A<sub>10</sub>, A<sub>11</sub>, A<sub>12</sub> são referentes aos lameiros com rio em uso estudados em trabalhos anteriores LAVE 20\_05, LAVE 20\_06, LAVE 20\_07 (Fernandes, 2019; Razan, 2020) e resultaram da mistura de 4 subamostras.



**Figura 10**-Preparação das amostras de solo e numeração das mesmas.

### 3.3 Análises físico-químicas das amostras de solo

#### 3.3.1. Parâmetros físico-químicos de rotina: pH e CE

##### 3.3.1.1. Determinação do pH

Calibrou-se previamente o sensor de pH, usando-se as soluções salina previamente fornecidas (pH 4 e pH 7). Foram identificados, devidamente, em triplicado os tubos para cada amostra (12 x 3 amostras).

Pesaram-se 12 g de amostras, em triplicado, em erlenmeyers de 50 cm<sup>3</sup> (1:2,5). Adicionou-se 30 cm<sup>3</sup> de água destilada com um dispensador.

As amostras foram para um agitador vaivém durante 1 hora (h) (a 190 rotações por minuto (rpm)) e deixou-se repousar 15 minutos (min). Pipetou-se 7 cm<sup>3</sup> do sobrenadante para um tubo de Falcon de 10 cm<sup>3</sup> limpo e procedeu-se à leitura do pH, uma vez estabilizada procedeu-se a leitura durante mais de 10 segundos, e registou-se o valor.

Uma vez que o pHmetro foi calibrado, introduziu-se o sensor de pH até a metade (sem tocar a parede). O pH foi medido em agitação suave (manual). Limpou-se com água destilada o sensor depois de cada medição e secou-se suavemente com papel (**Figura 11**).



**Figura 11**-Determinação do pH com sensor de pH.

### 3.3.1.2. Determinação da condutividade elétrica

Calibrou-se previamente o sensor de condutividade elétrica (CE) com as soluções fornecidas. Pipetou-se 4 cm<sup>3</sup> do sobrenadante utilizado para medir o pH para um tubo de Falcon limpo, adicionou-se mais 4 cm<sup>3</sup> de água destilada, agitou-se suavemente e deixou-se repousar durante 5 min. Após esse tempo, procedeu-se à leitura da CE de forma a evitar a ressuspensão de partículas que se encontravam depositadas no fundo do tubo. Assumiu-se o valor de CE uma vez estabilizada a leitura durante mais de 10 s e registou-se o mesmo (**Figura 12**).



**Figura 12**-Determinação da condutividade elétrica.

### 3.3.2. Determinação do Carbono orgânico e da matéria orgânica do solo

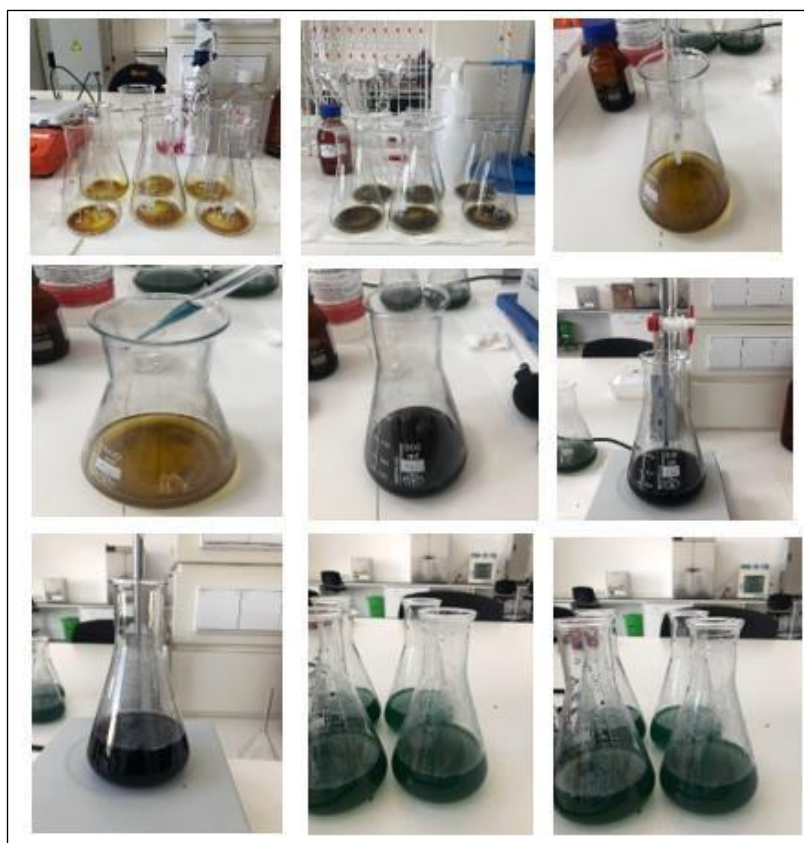
Na avaliação da COS das amostras de solo utilizou-se o método de oxidação parcial do solo com Dicromato de Potássio ( $K_2Cr_2O_7$ ) em meio ácido. O teor de COS calculou-se avaliando o excesso de  $K_2Cr_2O_7$  com sal de Mohr ( $(SO_4)_2Fe(NH_4)_2 \cdot 6H_2O$ ) e usando difenilamina como reagente indicador (Walkley e Black, 1934). Para isso, se procedeu da seguinte forma:

Pesou-se  $\pm 0,1$  g de amostra de solo, previamente triturada com a ajuda de um almofariz, que foi introduzido em um Erlenmeyer de  $250 \text{ cm}^3$ , adicionou-se  $5 \text{ cm}^3$  de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  1N agitou-se durante 30 segundos (s) e adicionou-se  $10 \text{ cm}^3$  de ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) concentrado, agitando suavemente por 30 s. Após a mistura, deixou-se descansar por 30 minutos. Em seguida, adicionou-se  $100 \text{ cm}^3$  de água destilada e deixou-se a mistura arrefecer até à temperatura ambiente. Depois, foram adicionados  $10 \text{ cm}^3$  de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  concentrado seguidos por  $1 \text{ cm}^3$  de solução indicadora de difenilamina (esta solução foi preparada dissolvendo 0,5 g de difenilamina em pó com  $100 \text{ cm}^3$  de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado e  $20 \text{ cm}^3$  de  $\text{H}_2\text{O}$  destilada). Imediatamente após o excesso de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  não reduzido foi titulado incorporando, com uma bureta, solução salina de Mohr 0,5M (A solução  $(\text{SO}_4)_2\text{Fe}(\text{NH}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  foi preparada dissolvendo 72,17 g de  $(\text{SO}_4)_2\text{Fe}(\text{NH}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  em  $366 \text{ cm}^3$  de água destilada, à qual foram adicionados  $3,66 \text{ cm}^3$  de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado visto que neste protocolo foi usado metade das quantidades do protocolo original).

Formulação: Na reação química redox a cor da dissolução muda de *azul escuro* para *verde maçã*. O C na amostra de solo foi calculado pela seguinte equação:

$$\text{COS} (\%) = [(B-X) \times 0,195 \times f] / p$$

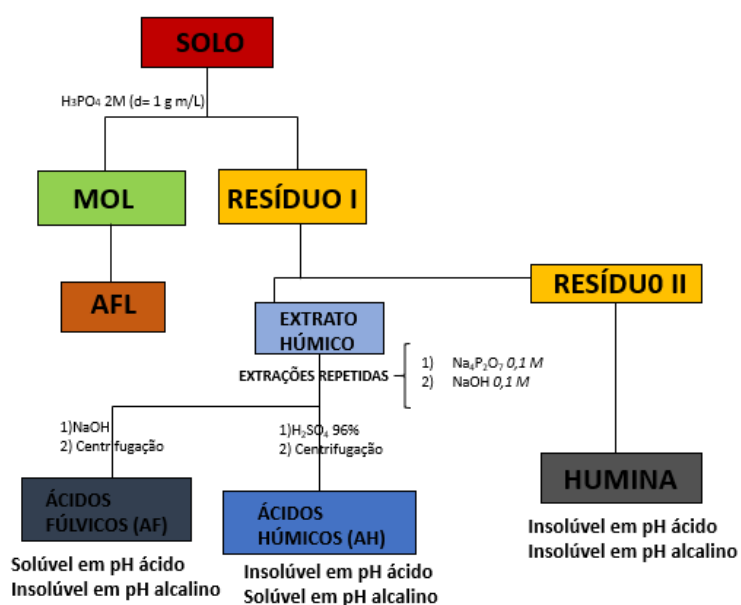
Onde X é o volume de  $(\text{SO}_4)_2\text{Fe}(\text{NH}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  consumido durante a titulação de cada amostra, B é o volume de  $(\text{SO}_4)_2\text{Fe}(\text{NH}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  consumido no branco (sem solo), 0,195 representa o fator de correção da oxidação do dicromato de potássio, p é o peso em gramas da amostra e f é um fator do sal de Mohr que corrige sua normalidade. Este fator deve ser 1. Para calcular o fator  $5 \text{ cm}^3$  de  $(\text{SO}_4)_2\text{Fe}(\text{NH}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0,5 M,  $250 \text{ cm}^3$  de  $\text{H}_2\text{O}$  destilada e  $5 \text{ cm}^3$  de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado foram introduzidos em um frasco de  $500 \text{ cm}^3$  e o volume de 0,1N  $\text{KMnO}_4$  que reagiu com um volume conhecido de sal de Mohr alterando a cor de incolor para magenta. O fator  $(\text{SO}_4)_2\text{Fe}(\text{NH}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  foi calculado como:  $F = M / 25$ , onde M corresponde ao volume de 0,1 N  $\text{KMnO}_4$  gasto na factoração. A percentagem de MOS foi obtida multiplicando o COS pelo fator empírico 1,724, proposto por Walkley (1947) (**Figura 13**).



**Figura 13-**Determinação do Carbono Orgânico do solo pelo método de oxidação parcial em húmido.

### 3.3.3. Fracionamento da matéria orgânica do solo

Foi seguida a metodologia de fracionamento de MOS, isolamento e purificação de AH, conforme trabalhos prévios de Hernández (2009) descritos a seguir (**Figura 14**):

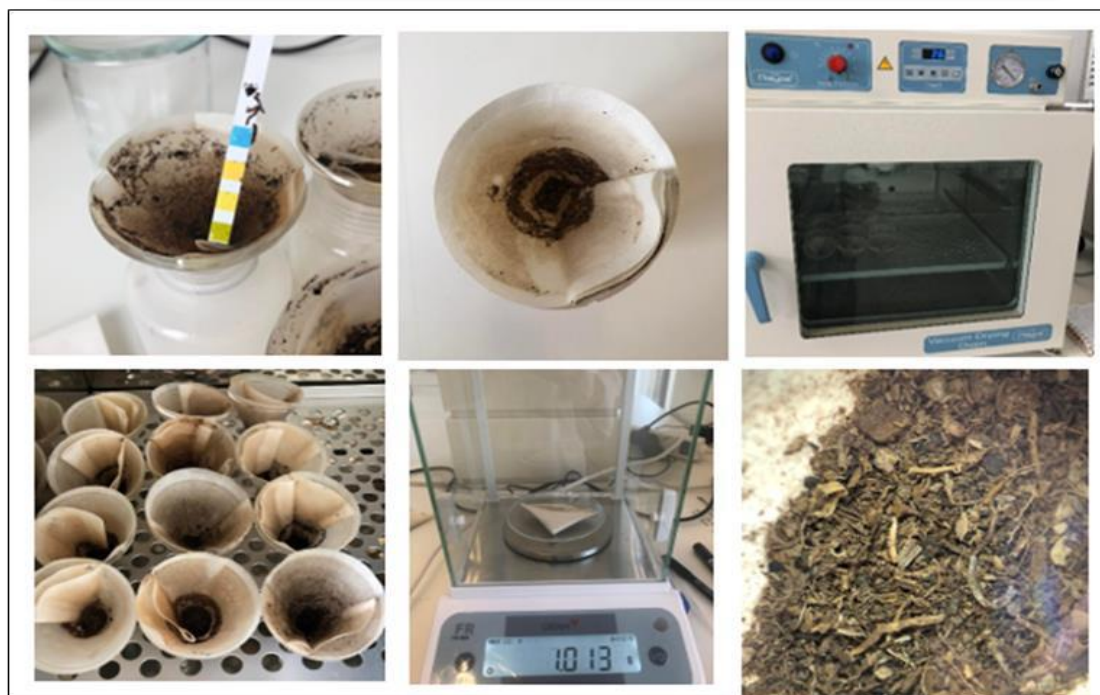


**Figura 14-** Esquema do fracionamento de matéria orgânica com base na densidade solubilidade das substâncias húmicas (**Fonte:** Adaptado de Hayes & Swift 1990).

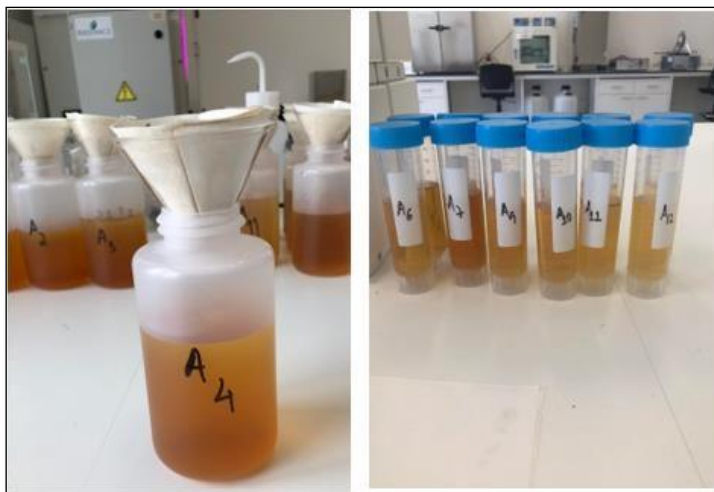
### 3.3.3.1. Determinação da matéria orgânica livre

Para a determinação da matéria orgânica livre (MOL) pesaram-se 20 g de solo de cada amostra (distribuídos 5 g de solo em 4 tubos Falcon) e foram levados a tubos de centrifuga de 50 cm<sup>3</sup>, onde foram adicionados 30 cm<sup>3</sup> de ácido fosfórico 2M (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) em cada tubo (a densidade foi baixada uma vez que o H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> possuía uma densidade de 1,2 g cm<sup>-3</sup> que fazia com que sua passagem pelo filtro fosse dificultada) (Dabin, 1971). As amostras foram agitadas em um agitador (durante 4 h) e foram centrifugados durante 15 min a 3500 rpm. Após a centrifugação, a suspensão sobrenadante foi filtrada e a MOL foi recolhida nos papéis de filtro (**Figura 15**).

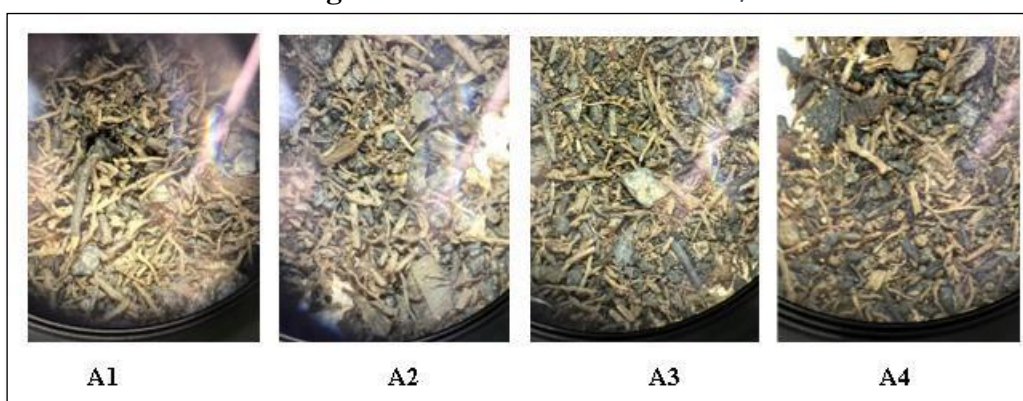
Os papéis de filtro, de diâmetro 20 cm, foram lavados repetidas vezes com bastante água quente para evitar, que após a dessecação, o H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> concentrado absorvido nas partículas de MOL, contribuísse para o peso da amostra ou destruísse o papel de filtro ao evaporar-se a água. A solução sobrenadante resultante da filtração da MOL foi guardada para posterior determinação dos ácidos fúlvicos livres (AFL) (**Figura 16**). Os papéis de filtro foram secos na estufa (60 °C) e no dia seguinte separou-se cuidadosamente a MOL do papel, obtendo-se o peso seco de MOL (**pmol**) (**Figura 17**). De modo a avaliar o teor de C da MOL de cada tipo de vegetação, foi determinado o C em cada fração particulada pelo método de oxidação de Walkley e Black.



**Figura 15-**Determinação da MOL nos solos em estudo por flotação em  $H_3PO_4$  2M.



**Figura 16-**Ácidos Fúlvicos Livres.



**Figura 17-**Visão de lupa da matéria orgânica livre.

### 3.3.3.2. Extração e determinação das substâncias húmicas

Para a extração das SH utilizou-se parte do resíduo do solo do qual se tinha separado previamente a MOL por flotação com  $\text{H}_3\text{PO}_4$  2 M (descrito anteriormente), lavado sucessivamente com água quente para retirar os restos de ácido. Utilizou-se em primeiro lugar como solução extratante o pirofosfato sódico ( $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ ) 0,1 M (22,3 g  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$  em 500  $\text{cm}^3$  de água destilada) tendo sido adicionado 36  $\text{cm}^3$  desta solução em cada tubo de Falcon de 50  $\text{cm}^3$  e agitou-se durante 5 h. Passado este tempo, centrifugou-se os tubos durante 5 min a 3200 rpm e após isto, a solução sobrenadante de cor escura com a solução húmica foi transferida para uma garrafa. Esta extração foi repetida 2 vezes. De seguida, se aplicou uma solução extratante de NaOH 0,1 M (4 g NaOH em 1000  $\text{cm}^3$  de água destilada). Fez-se sucessivas extrações com NaOH, agitando durante 3-4 h e centrifugando durante 5 min a 3200 rpm, até que o extrato húmico total (EHT) apresentasse uma coloração pouco intensa, o que indicava que o processo extrativo de SH tinha terminado (**Figura 18**).

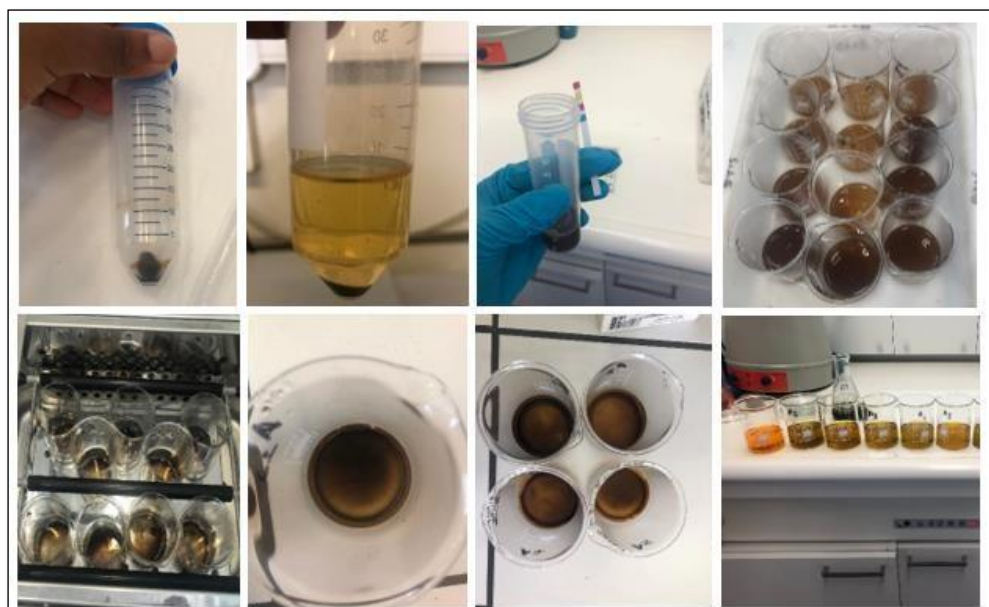
### 3.3.3.2.1. Determinação quantitativa extrato húmico total, ácidos húmicos e ácidos fúlvicos

A determinação quantitativa do extrato húmico total (EHT) se realizou da seguinte forma: Separou-se um copo de vidro de 250 cm<sup>3</sup> e se agregou 10 cm<sup>3</sup> do EHT e pôs-se para evaporar no banho-maria a 60 °C; uma vez seco, determinou-se o **C do EHT** (isto é, AH e AF) pelo método de oxidação em húmido descrito anteriormente.

Para a determinação do C dos ácidos húmicos (AH), tomou-se 10 cm<sup>3</sup> da solução dos EHT e pôs-se num tubo Falcon de 50 cm<sup>3</sup> e se agregou 1 cm<sup>3</sup> de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 1:1 até que o pH ficasse ácido (pH=1) e levou-se a centrifugar durante 5 min a 3000 rpm. O sobrenadante foi descartado e o precipitado constituído pelos AH foi redissolvido com NaOH 0,5 M até pH básico (pH>8) (foram necessários 25 cm<sup>3</sup> da solução de NaOH). A solução também foi evaporada no banho-maria a 60 °C e uma vez seco, determinou-se o C mediante o método de oxidação, e obteve-se o **C dos AH** expresso em g C. 100 g<sup>-1</sup> de solo. A concentração de **C de ácidos fúlvicos (AF)** calculouse por diferença entre o C do EHT anteriormente obtido e o C dos AH ( $C_{AF}=C_{AH+AF}-C_{AH}$ ). E o **C da humina** (fração de C de solo não extraível com soluções alcalinas) foi calculado por diferença com o C total do solo ( $C_H=C_{OS}-(C_{AH}+C_{AF})$ ) (**Figura 19**).



**Figura 18-**Extração de extrato húmico total (EHT) dos solos com soluções alcalinas.



**Figura 19-** Determinação do carbono na fração de ácidos húmicos (AH) separados previamente do extrato húmico total (EHT).

### 3.3.3.3 Purificação dos ácidos húmicos para posterior caracterização molecular

No recipiente com o EHT se deseja sedimentar os limos e as argilas, de modo que as SH (AH+AF) constituem a solução sobrenadante. O EHT se decantou com a ajuda de uma bomba de vácuo, com o devido cuidado para que se não absorvesse o sedimento onde se encontrava a fração mineral. Uma vez recuperado o extrato com as SH, sem turbidez, se adicionou 25 cm<sup>3</sup> de HCl 6M para que a solução chegasse a pH ácido. Em poucos minutos, se observou a coagulação (floculação) e posterior precipitação dos **AH (insolúveis a pH ácido)**.

Eliminação de argilas em AH: Apesar da sedimentação prévia, o precipitado com os AH pode conter uma apreciável porção de argila fina. Para isso, o precipitado foi adicionado em tubos de Falcon de 50 cm<sup>3</sup>, foram redissolvidos em NaOH e foi centrifugado a 10.000 rpm durante 10 min. O resultado foi um sedimento que continha as argilas e uma solução sobrenadante de cor marrom muito escuro que continha os AH na forma de sal sódico.

Para purificar os AH se adicionou novamente HCl até pH 1, de modo que, os AH se precipitassem. Estes foram centrifugados a 3200 rpm durante 5 min para obter um precipitado de AH purificados (sem argilas).

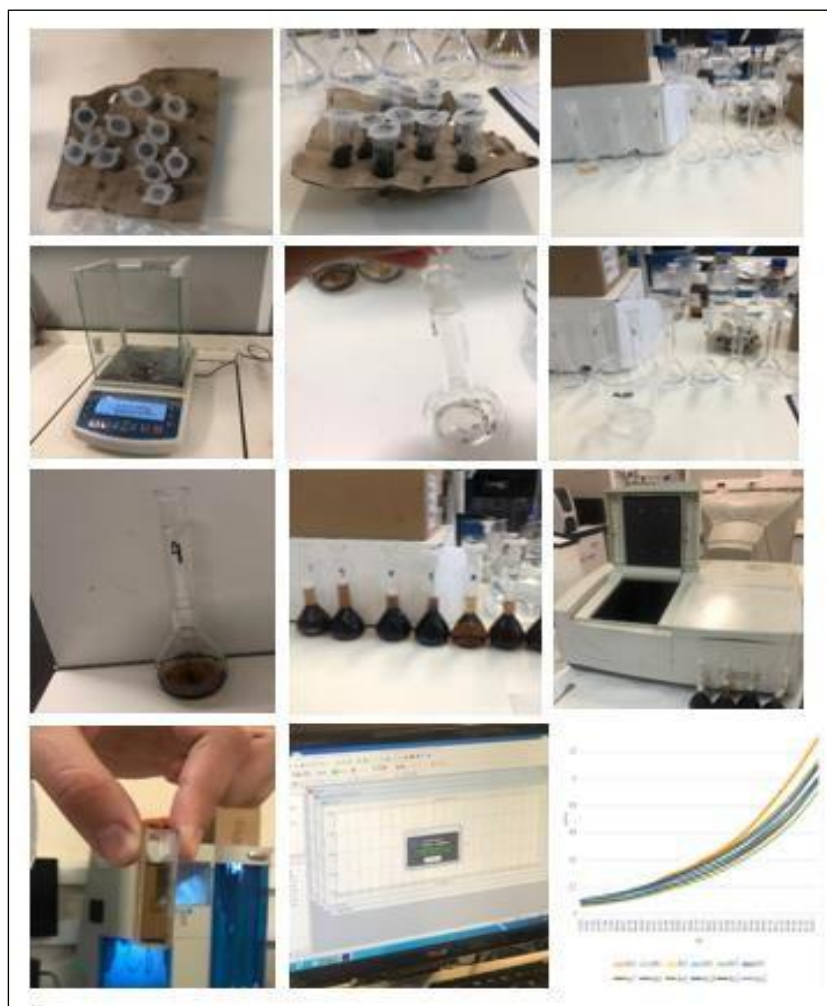
Eliminação de sais por diálises: De seguida, se procedeu a eliminação dos sais que acompanham os AHs, isto é, a lavagem dos sais (principalmente cloreto de sódio (NaCl), fosfatos, etc.) que se incorporaram durante a extração das SH. Para isso, se introduziu os AH numa bolsa de diálise (Visking®, intervalo de pesos moleculares 12.000 – 14.000; diâmetro do poro ca. 25 Å) e se submergeu em um recipiente com água destilada durante vários dias, mudando a água 2 a 3 vezes ao dia. Uma vez terminada a diálise (quando já não se observava reação positiva com Nitrato de Prata (AgNO<sub>3</sub>)), abriram-se as bolsas e foram vertidas em placas de petri e foram secas na estufa a 50 °C, durante 48 h. Uma vez evaporada a água, se desprenderam os AH da placa com uma espátula e foram guardadas para posterior caracterização química (**Figura 20**).



**Figura 20-**Purificação dos AH pelo processo de diálise.

#### 3.3.3.4. Espectroscopia visível de ácidos húmicos purificados

Para a determinação da densidade ótica dos AH, as amostras foram dissolvidos em NaOH 0,01 M a uma concentração de  $0,2 \text{ mg C. cm}^{-3}$  (Kononova, 1982), para o qual se pesou 10 mg dos cristais de AH e se adicionou  $50 \text{ cm}^3$  de NaOH 0,01 M. A densidade ótica de cada amostra se determinou em um espectrofotómetro T70 VIS-UV- PG Instruments (detetor de matriz de díodos que adquire espectros em tempo real) entre 400 e 700 nm (**Figura 21**), o que permitiu obter picos de absorção em 465 (E4) e 665 (E6) nm respetivamente. Assim, foi possível calcular a razão E4/E6 para obter uma estimativa do tamanho molecular dos AH em estudo. Por último foi calculada a segunda derivada nos espectros EVIS dos AH para detetar pigmentos de perilenquinonas, pigmentos fúngicos que conformam a estrutura dos AH e que tem sido identificado como marcador biogeoquímico da atividade fúngica nos ecossistemas. Foi usado o espectro dum pigmento puro (IIIJGCS) (Hernández, 2009).



**Figura 21-**Determinação espectroscópica na faixa visível dos ácidos húmicos.

### 3.4. Tratamento Estatístico

O tratamento estatístico dos resultados obtidos inclui a análise de variância (ANOVA) a um fator, com o intuito de avaliar o efeito destes nos valores das variáveis em causa e ver se há ou não diferenças significativas nas variáveis estudadas. Após a ANOVA realizou-se uma comparação de médias entre tratamentos através do Teste de Fisher LSD (Diferença mínima significativa) para destacar entre que variáveis existe diferenças significativas, a 5% de probabilidade.

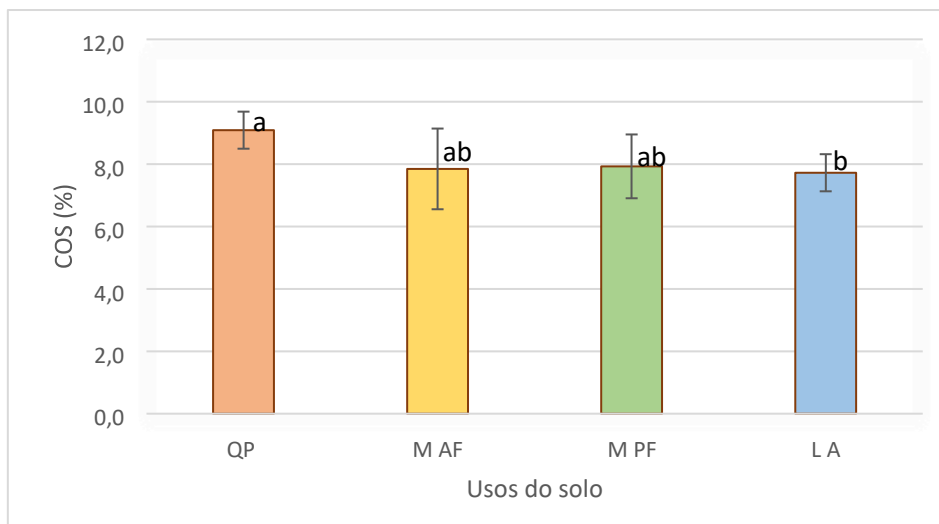
O tratamento de todos os dados foi realizado utilizando as ferramentas do software Excel.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Visando a melhor apresentação e comparação dos resultados, a estratégia de explicação adotada foi através das diferenças significativas observadas em cada local de amostragem, tendo como referência o aspeto abordado, ou seja, para cada variável estudada.

### 5.1. Carbono orgânico do solo

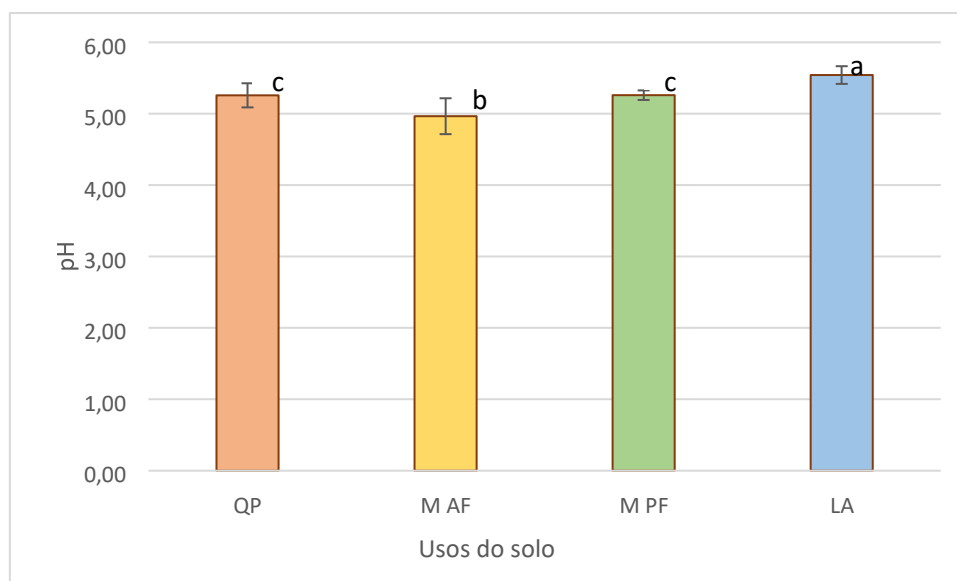
Os resultados obtidos para o carbono orgânico do solo (COS) nos diferentes usos de solo apresentam-se na **Figura 21**. Este parâmetro apresentou diferenças significativas entre diferentes usos ( $p < 0,05$ ). As diferenças observadas foram entre a floresta de *Quercus pyrenaica* (QP) e os lameiros (LA), sendo verificado um valor medio de 9,09 g C/100 g solo para QP versus 7,72 g C/100 g solo para os LA, sendo a diferença de 1,36%. Não foram observadas diferenças significativas entre QP e as situações de matos antes e após o fogo (M AF, M PF) e também não houve diferenças significativas entre os matos e os lameiros (LA). Em termos gerais, os diferentes usos da terra acumulam praticamente a mesma quantidade de C ( $\cong 8$  g COS/100 g de solo). Existem muitos fatores e processos que determinam a taxa de acumulação do COS quando as práticas de manejo da vegetação e do solo são alteradas. Estes resultados são comparáveis com os descritos por Fonseca et al. (2019) para florestas no NE Portugal, que referem que os sistemas florestais podem sequestrar em média 80 Mg C ha<sup>-1</sup>, embora as florestas de carvalhal (QP) do Sistema Ibérico Central (Sierra de Madrid, Espanha) apresentam valores mais baixos de COS (45 g C/100 g solo) (Récio, 2014; Jiménez-González et al., 2018). Comportamento semelhante foi observado por Lima et al. (2008) onde os maiores stock de COS foram obtidos sob vegetação nativa em relação às pastagens naturais.



**Figura 22**-Carbono orgânico do solo (COS) na camada 0-5 cm para os diferentes usos do solo (QP- Floresta de *Quercus pyrenaica*; M AF- Matos Antes do Fogo; M PF- Matos Pós-fogo; LA- Lameiros). Médias representadas por colunas com letras diferentes diferem significativamente entre si (Teste de Fisher LSD,  $p < 0,05$ ).

## 5.2. Valores de pH do solo

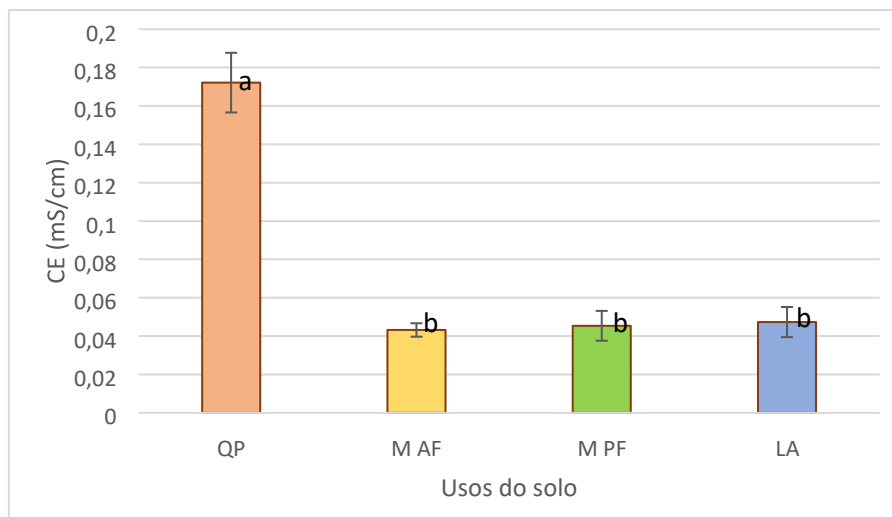
O pH expressa a concentração dos iões  $H^+$  na solução de solo. Se considera um parâmetro edáfico muito importante por estar muito correlacionado com outras propriedades do solo como o CTC, a absorção de nutrientes, atividade biológica e nos processos de absorção/dessorção de contaminantes orgânicos, pesticidas e metais pesados (Almendros, 1995). Para este parâmetro os resultados obtidos encontram-se representadas na **Figura 23**. Observou-se diferenças significativas ( $p$  valor  $< 0,05$ ) entre os diferentes usos do solo: floresta (QP), matos (M AF) e lameiros (LA), sendo os valores de pH maiores em LA (5,54), seguido de floresta (5,26) e matos (4,97). De referir que entre o QP e M PF não se observou diferenças significativas. As diferenças observadas nos matos antes e após o fogo são nítidas (um aumento de pH de 4,97 a 5,26) e estão de acordo com os estudos feitos por Figueiredo et al.(2013), Brook & Wittenberg (2016) Fonseca et al. (2017) e estes observaram que o pH do solo aumenta após a aplicação um fogo controlado, uma vez que as cinzas são solubilizadas e estas podem conter na sua composição óxidos e carbonatos que apresentam reação alcalina (Soares, 1986).



**Figura 23-** Valores de pH do solo para os diferentes usos do solo (QP- Floresta de *Quercus pyrenaica*; M AF- Matos Antes do Fogo; M PF- Matos Pós-fogo; LA- Lameiros). Médias representadas por colunas com letras diferentes diferem significativamente entre si (Teste de Fisher LSD,  $p < 0,05$ ).

### 5.3. Condutividade elétrica

A condutividade elétrica (CE) mede a concentração dos sais no solo e facilmente assimiláveis pelas plantas, o qual está relacionado com a dinâmica dos ciclos biogeoquímicos assim como o efeito da agregação de determinados iões, alguns dos quais (como o sódio ( $\text{Na}^+$ )) podem atuar como dispersantes. Os resultados obtidos para este parâmetro encontram-se na **Figura 24**. Para os diferentes usos de solo, observou-se valores significativamente superiores para QP relativamente aos restantes usos (M-AF, M-PF, LA) de 0,13 mS/cm. Não foram observadas diferenças significativas entre M AF, M PF e LA.



**Figura 24**-Condutividade elétrica (CE) do solo para os diferentes usos do solo (QP- Floresta de *Quercus pyrenaica*; M AF- Matos Antes do Fogo; M PF- Matos Pós-fogo; LA- Lameiros). Médias representadas por colunas com letras diferentes diferem significativamente entre si (Teste de Fisher LSD,  $P < 0,05$ ).

#### 5.4. Fracionamento da matéria orgânica do solo

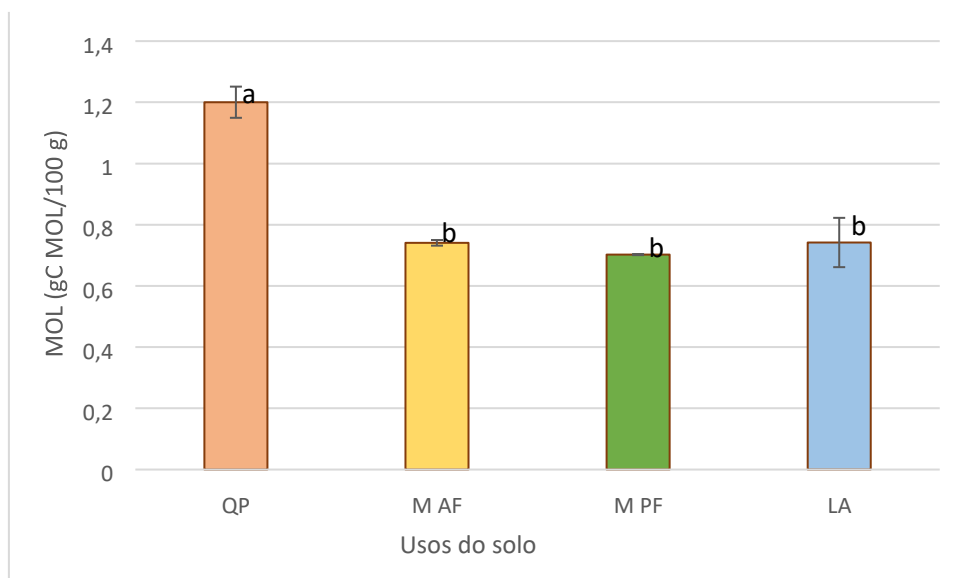
A separação das distintas frações da matéria orgânica do solo (MOS) permite quantificar uma série de constituintes que, em função de serem particulados, solúveis ou coloidais, se denominam genericamente como MOL, AH, AF e H (Hernández, 2009). A determinação do C nestas frações se relaciona com a eficácia do ciclo biogeoquímico do C e a qualidade ambiental da MOS do ponto de vista da sua atividade no transporte e imobilização de elementos e na formação de complexos organominerais, o que permite utilizá-las como indicadores edáficos.

##### 5.4.1. Matéria orgânica livre

A MOL é formada por fragmentos de raízes, sementes, hifas de fungos, restos de vegetais e microrganismos, que se encontram incorporados na forma pouco estável no complexo organomineral do solo mediante ligações predominantemente física que se rompem com facilidade por agitação mecânica. Os resultados obtidos para a MOL encontram-se transcritos na **Figura 25**. Observou-se diferenças significativas ( $p$  valor  $< 0,05$ ) entre QP, com um valor médio de MOL de 1,2 g C/100 g solo, e os restantes usos do solo (M AF, M PF, LA), com uma média de 0,7 g C /100 g solo.

Não foram observadas diferenças significativas entre M AF, M PF e LA. Por outro lado, foi determinado o teor de C da fração MOL isolada nos diferentes tipos de vegetação, onde foi observado que a MOL do QP continha 87% de C, o LA 73% e o mato 68%, o que demonstra que o tipo de vegetação que mais aporta C ao solo é a floresta (QP), a seguir os lameiros (LA) e por último, a vegetação e matos (M).

As diferenças observadas na floresta de QP já eram previstas uma vez que, como descreve Bolin e Sukumar (2000), nos sistemas florestais a quantidade de resíduos orgânicos que entram é maior, em relação aos outros usos de solo estudados, e também por ser uma espécie de folha caduca (perde as folhas no inverno) aporta muita MO através de restos vegetais e estes evoluem posteriormente para AH, AF e H. Em relação aos LA a quantidade de restos vegetais que entra no ecossistema também é grande, mas são mais facilmente degradados pelos microrganismos.



**Figura 25-**Matéria orgânica livre (MOL) do solo para os diferentes usos do solo (QP- Floresta de *Quercus pyrenaica*; M AF- Matos Antes do Fogo; M PF- Matos Pós-fogo; LA- Lameiros). Médias representadas por colunas com letras diferentes diferem significativamente entre si (Teste de Fisher LSD,  $P < 0,05$ ).

#### 5.4.2. Substâncias húmicas

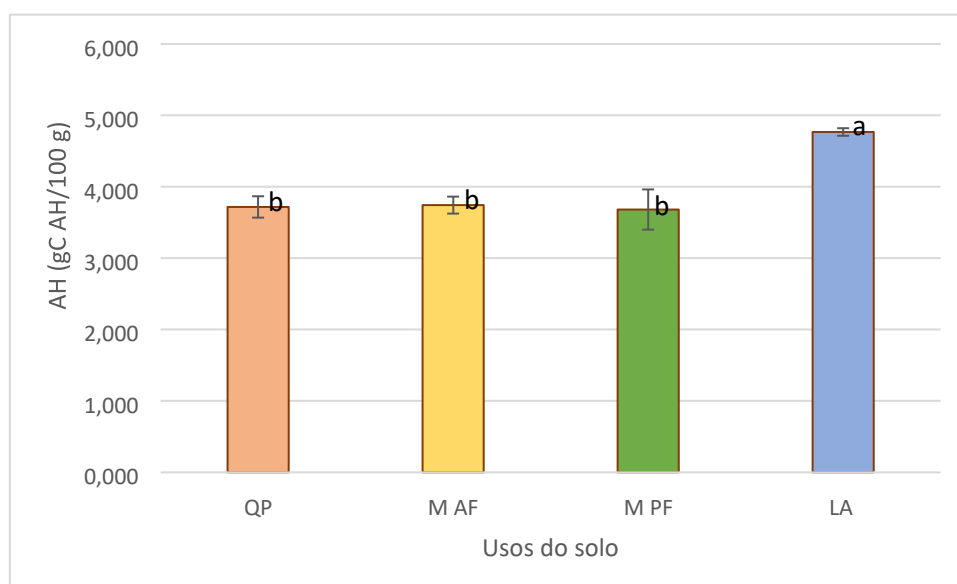
A extração de substâncias húmicas (SHs) pode ser resumida em três fases (Hayes e Swift, 1990; Hernández 2009). Em primeiro lugar, os sais de  $\text{Na}^+$  são formados a partir das SHs extraíveis que geralmente se encontram no solo na forma de sais de cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) ou magnésio ( $\text{Mg}^{2+}$ ), ferro ( $\text{Fe}^{3+}$ ), alumínio ( $\text{Al}^{3+}$ ).

Em segundo lugar, as ligações entre os complexos organominerais do solo, que geralmente estão fortemente associados por pontes salinas ou ligações iónicas, são quebradas, assim como os impedimentos estéricos que retêm a MO na matriz do solo (AH e AF são macromoléculas de geometria variável dependendo da concentração e composição da solução do solo, razão pela qual os agentes extratores demoram a se difundir nas superfícies reativas). Por outro lado, a extração de SHs com reagentes alcalinos ( $\text{pH} > 8$ ) geralmente produz solvólise, ou seja, a quebra de ligações covalentes relativamente lábeis, principalmente do tipo éster. Como consequência do exposto, o processo de quebra das ligações organo-minerais é lento.

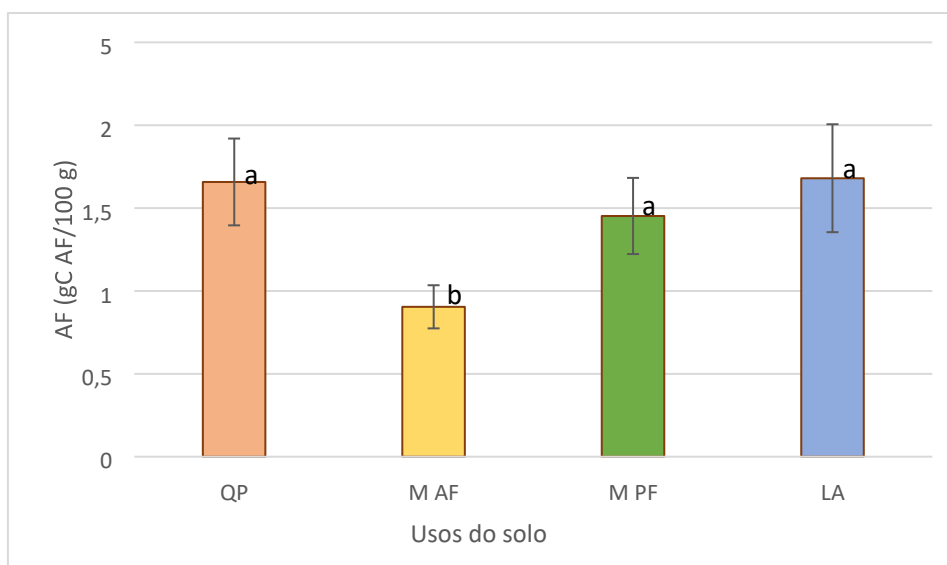
Os resultados obtidos para os AH se encontram expostos na **Figura 26** e podemos observar que, ao contrário da MOL, os AH dos LA apresentam diferenças significativas em relação aos outros usos do solo (M AF, M PF e QP), com um valor médio de 4,4 g C de AH/100 g solo versus 3,7 g C de AH/100 g solo, sendo a diferença de 1,03 g C de AH/100 g de solo. Os restantes usos de solo não apresentaram diferenças significativas entre si. Estes resultados coincidem com trabalhos prévios desenvolvidos em pastos de montanha da Península Ibérica (Almendros et al., 1981), que refletem que a dinâmica de C que acontece nos pastos de montanha é diferente da que acontece nas florestas. Embora o teor de C possa ser semelhante a uma floresta, estes sistemas agropastoris conseguem degradar rapidamente os resíduos orgânicos (pouca MOL) e transformá-los em SH, principalmente AH, que é a fração orgânica mais funcional em termos de propriedades do solo, como a fertilidade, retenção de água, etc. Destacar que nestes ecossistemas a fração de humina é menor que os AH (Almendros et al., 1983). Estes resultados demonstram que nestes agroecossistemas o balanço de C é mais dinâmico que nas florestas, o qual parece acontecer também nos lameiros de Portugal.

Os resultados obtidos para os AF se encontram demonstrados graficamente na **Figura 27**. Observa-se que apenas há diferenças significativas entre QP e M AF, entre M AF e M PF e entre LA e M AF. Entre QP, M PF e LA não houve diferenças significativas. As diferenças observadas nos matos antes e após o fogo diferem de estudos prévios que demonstram que, depois do fogo, deveriam ocorrer as seguintes alterações: diminuição de AH (descarboxilam e tornam-se insolúveis) e aumenta a humina (Almendros e Vila, 2012); isto não foi observado e atribuiu-se ao facto que o fogo controlado foi de pouca intensidade, sem grandes mudanças nas propriedades físico-químicas da MOS.

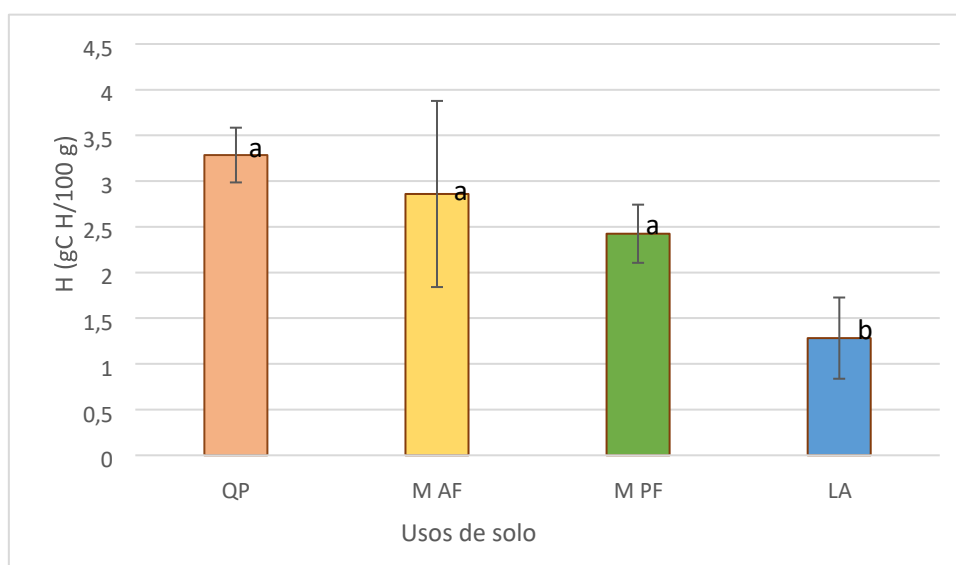
Os resultados obtidos para a Humina constam na **Figura 28**. Ao contrário do que acontece nos AF e a semelhança do que acontece nos AH observou-se diferenças significativas entre QP e LA, M AF e LA, M PF e LA, respetivamente. Estes resultados são semelhantes ao descritos por anteriormente (Almendros et al, 1991, 1993) que demonstra que as florestas são os ecossistemas que tem maior quantidade de C na forma de Humina, isto significa que o C está muito associado à fração mineral do solo, tão associada que não é possível extrair esse C por métodos químicos. Portanto, é um importante sequestrador de C a longo prazo pois vai acumulando C e aumentando a sua reserva na forma de humina.



**Figura 26**-Ácidos húmicos (AH) para os diferentes usos do solo (QP- Floresta de *Quercus pyrenaica*; M AF- Matos Antes do Fogo; M PF- Matos Pós-fogo; LA- Lameiros) Médias representadas por colunas com letras diferentes diferem significativamente entre si (Teste de Fisher LSD,  $p < 0,05$ ).



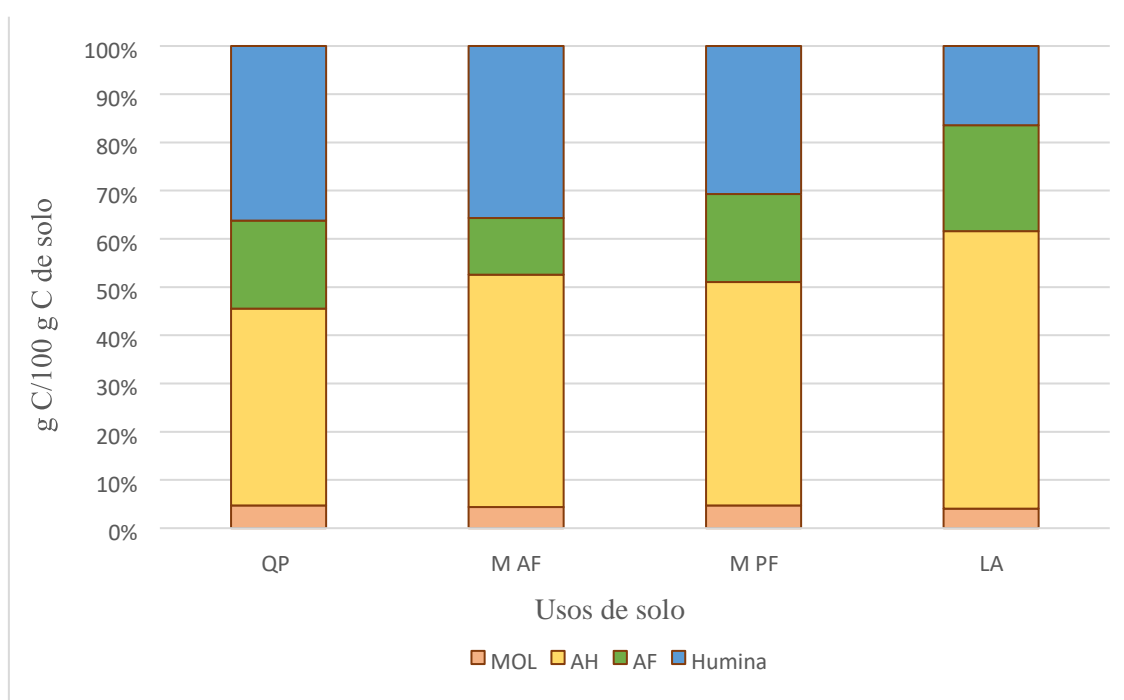
**Figura 27**-Ácidos fúlvicos (AF) para os diferentes usos do solo (QP- Floresta de *Quercus pyrenaica*; M AF- Matos Antes do Fogo; M PF- Matos Pós-fogo; LA- Lameiros). Médias representadas por colunas com letras diferentes diferem significativamente entre si (Teste de Fisher LSD,  $p < 0,05$ ).



**Figura 28**-Humina (H) para os diferentes usos do solo (QP- Floresta de *Quercus pyrenaica*; M AF- Matos Antes do Fogo; M PF- Matos Pós-fogo; LA- Lameiros). Médias representadas por colunas com letras diferentes diferem significativamente entre si (Teste de Fisher LSD,  $p < 0,05$ ).

### 5.4.3. Distribuição de C de solo nas diferentes frações orgânicas

Na **figura 29** está representado graficamente o C das diversas frações da MOS (MOL, AH, AF, H) a igualdade de concentração de C expressos em percentagem. O C é superior na fração AH variando entre 41(QP) a 58 (LA) g C/100 g de C solo e com uma tendência crescente desde QP até LA. De seguida a fração Humina também se destaca na figura variando entre 37 (QP) a 19 (LA) g C/100 g de C de solo, e com uma tendência decrescente nos diferentes usos de solo. Segue-se a fração de AF que apresenta a menor concentração de C no uso M AF. Os restantes usos apresentam valores muito semelhantes, variando de 18 (QP e M PF) a 22 (LA) g C/100 g de solo. Por fim, a MOL é a que apresenta os menores valores de C, sendo muito idênticos entre os diversos usos do solo, variando entre 4 e 5 g C/100 g de solo. Segundo os estudos desenvolvidos por Scielo (2008), a manutenção de maiores teores de C na forma de AH (C-AH) em relação aos teores de C na fração AF (C-AF) é um indicador de solos mais preservados com um manejo mais conservacionista. Com base nesse facto, o uso de solo que aparentemente está mais conservado são os lameiros (LA). No geral, o C encontra-se mais alocada à fração mais ativa do solo que são os AH (Stevenson, 1994).

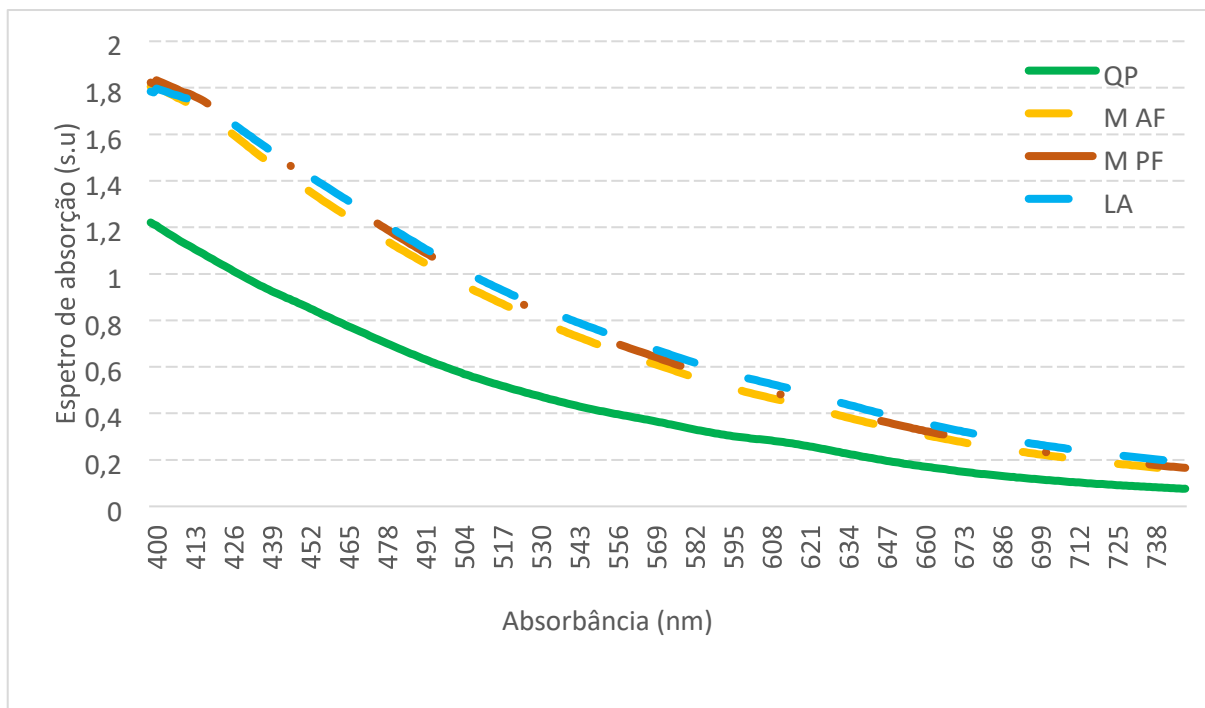


**Figura 29**-Carbono (C) das diferentes frações da matéria orgânica do solo (MOS) para os diferentes usos do solo (QP- Floresta de *Quercus pyrenaica*; M AF- Matos Antes do Fogo; M PF- Matos Pós-fogo; LA- Lameiros). MOL- matéria orgânica livre; AH- ácidos húmicos; AF- ácidos fúlvicos; H- humina.

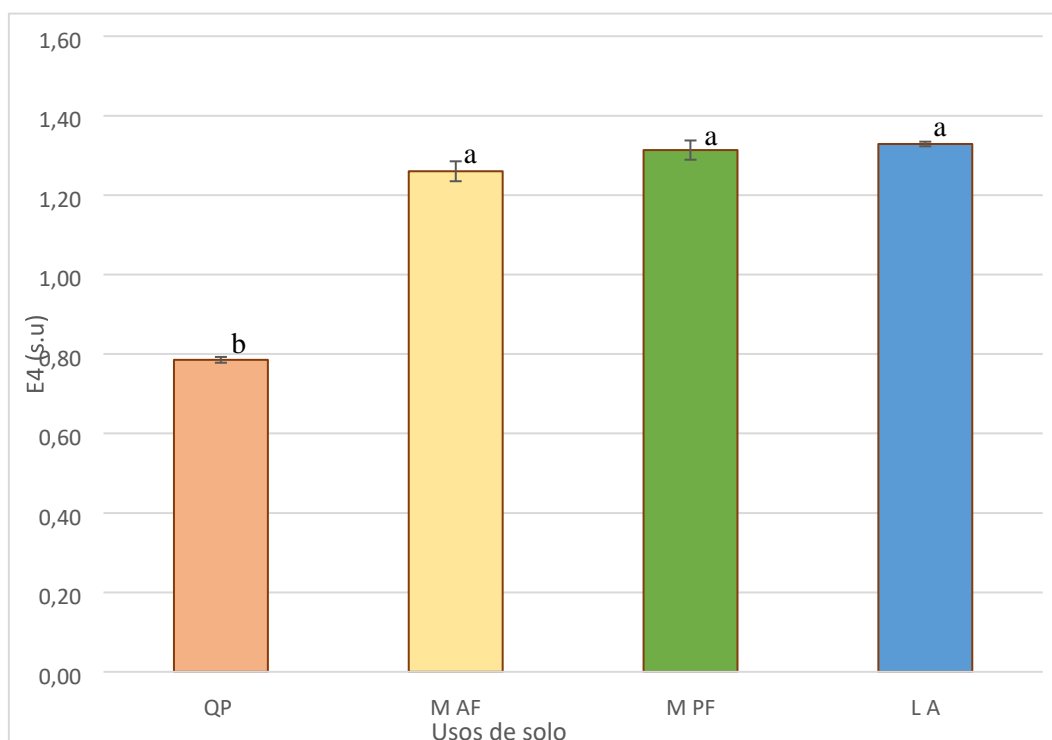
#### 5.4.4. Qualidade da MOS: a cor dos AH

A qualidade do C dos AH foi avaliada em termos da cor dos AH com espectroscopia visível (EVIS) na faixa dos 400-700 nm, nomeadamente os indicadores E4 (465 nm), E6 (665 nm) e a razão E4/E6 proposto por Kononova (1982). Na **Figura 30** encontra-se demonstrado graficamente os resultados do EVIS e podemos verificar que, há diferenças significativas entre QP e os restantes usos de solo. Nas **Figuras 31, 32** observa-se que o QP obteve menores valores para o E4 e E6. Estes resultados mostram que os AH das florestas são menos escuros e menos aromáticos. Os matos e os lameiros possuem AH mais escuros, aromáticos e moléculas maiores, como também se encontra demonstrado na **Figura 33** que indica exatamente a razão entre E4/E6. Kononova (1982) descreveu que quanto maior essa razão menor é a aromaticidade, menor é o peso molecular e o grau de condensação dos AH. Estes resultados são inconclusivos e, portanto, ficarão para estudos futuros.

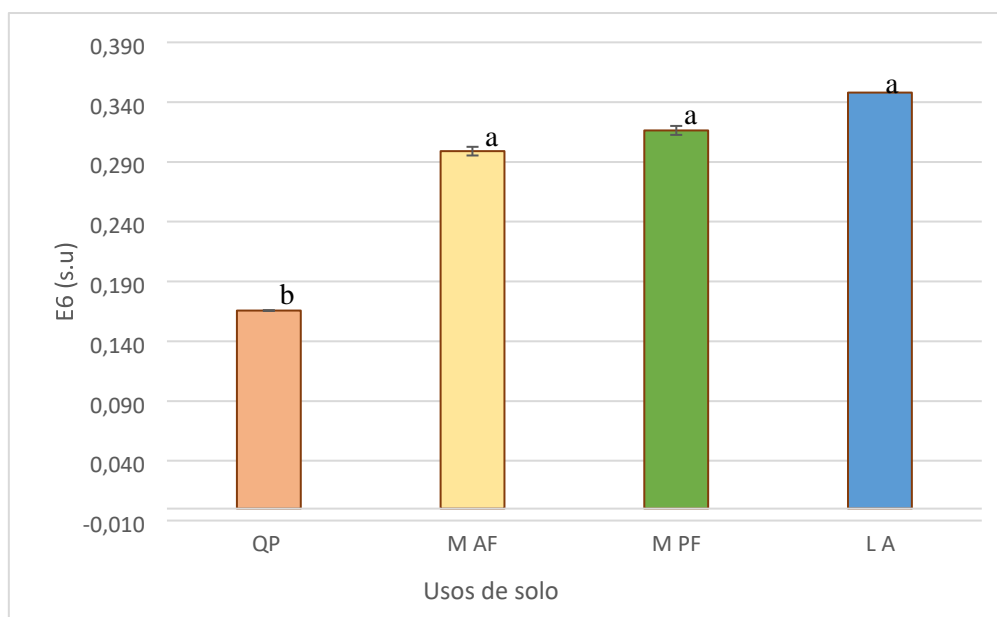
Por último, foi calculada a 2ª derivada dos espectros visíveis dos AH com o intuito de identificar os vales e picos indicadores da presença de pigmentos fúngicos. A **Figura 34** mostra a 2ª derivada dos EVIS, incluindo um padrão de pigmento fúngico (IIIJGCS) e a **Figura 35** a soma dos pigmentos, onde pode observar-se que a floresta QP contém a maior quantidade de pigmentos fúngicos; não foram encontradas diferenças significativas com outros usos do solo. Resultados semelhantes tem sido descrito para QP noutras regiões da Península Ibérica (Almendros et al., 1982).



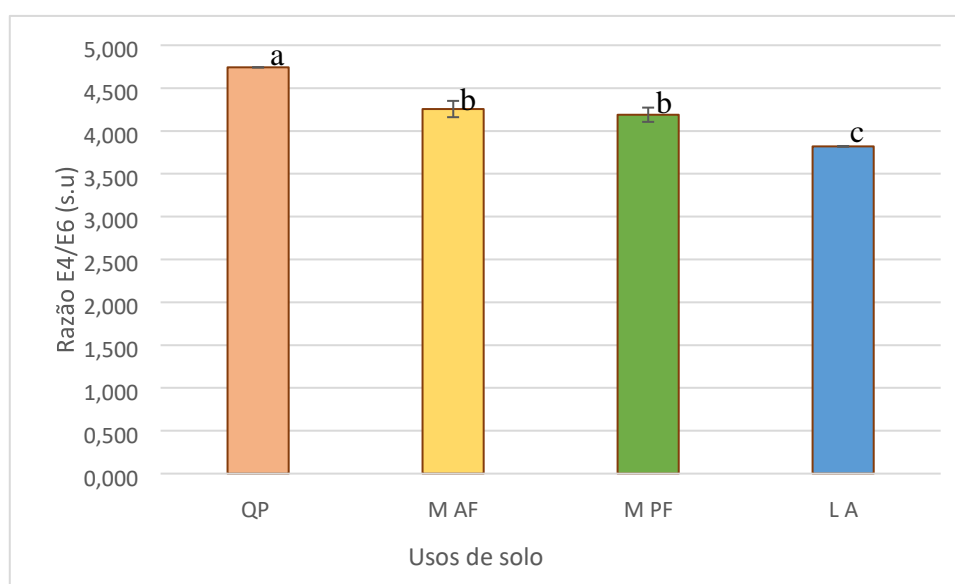
**Figura 30**-Espectro de Absorbância em termos médios dos diferentes locais de amostragem.



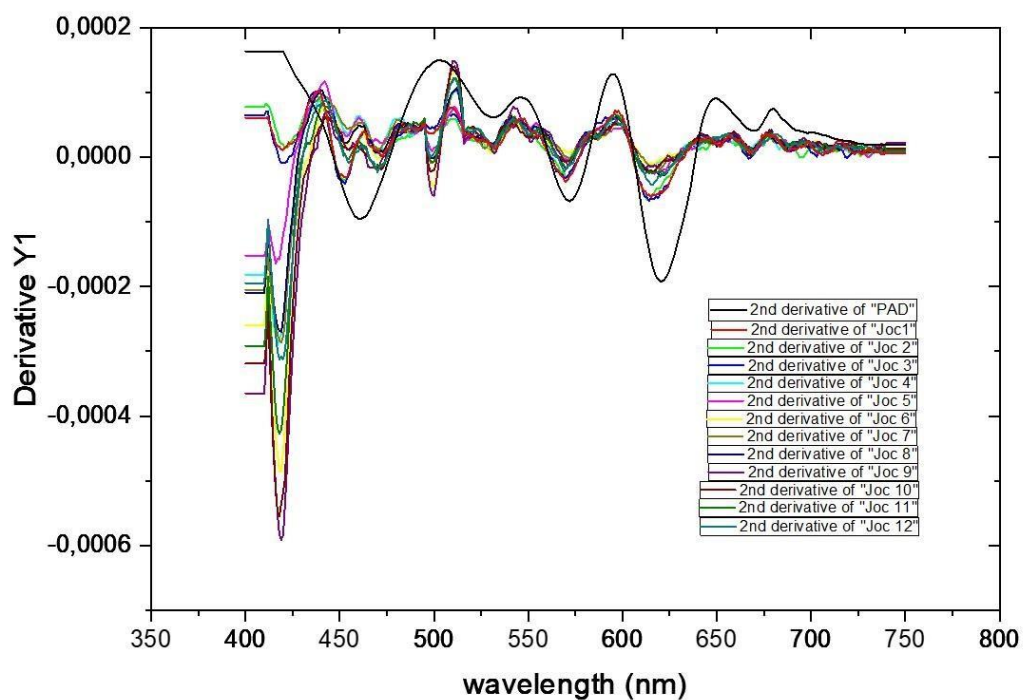
**Figura 31**-Indicador E4 para a determinação da razão E4 e E6 para os diferentes usos do solo (QP- Floresta de *Quercus pyrenaica*; M AF- Matos Antes do Fogo; M PF- Matos Pós-fogo; LA- Lameiros). Médias representadas por colunas com letras diferentes diferem significativamente entre si (Teste de Fisher LSD,  $p < 0,05$ ).



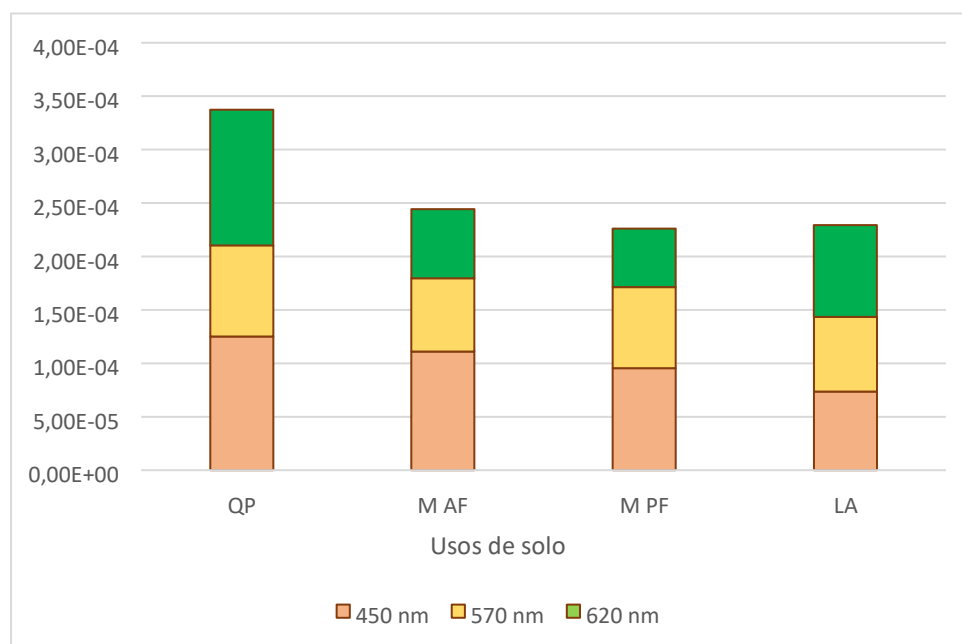
**Figura 32**-Indicador E6 para a determinação da razão E4 e E6 para os diferentes usos do solo (QP- Floresta de *Quercus pyrenaica*; M AF- Matos Antes do Fogo; M PF- Matos Pós-fogo; LA- Lameiros). Médias representadas por colunas com letras diferentes diferem significativamente entre si (Teste de Fisher LSD,  $p < 0,05$ ).



**Figura 33**-Razão E4/E6 para os diferentes usos do solo (QP- Floresta de *Quercus pyrenaica*; M AF- Matos Antes do Fogo; M PF- Matos Pós-fogo; LA- Lameiros). Médias representadas por colunas com letras diferentes diferem significativamente entre si (Teste de Fisher LSD,  $p < 0,05$ ).



**Figura 34-2<sup>a</sup>** derivada dos EVIS, incluindo um padrão de pigmento fúngico (IIIJGCS).



**Figura 35-**Soma dos pigmentos para os diferentes usos do solo (QP-Floresta de *Quercus pyrenaica*; M AF- Matos Antes do Fogo; M PF- Matos Pós-fogo; LA- Lameiros).

## 6. CONCLUSÃO

O estudo demonstrou que, em termos gerais, não houve grandes diferenças significativas quanto a **quantidade de COS** nos diferentes usos da terra (floresta de carvalhal, matos antes e após o fogo e lameiro), **os quais sequestram em média, aproximadamente, 8 g C/100 g de solo, sendo superior na floresta, com um valor de 9,09 g C/100 g de solo e inferior nos lameiros com um valor de 7,72 g C/100 g de solo.** No caso das florestas de QP do NE de Portugal é de destacar que os valores médios são superiores que outras florestas do Sistema Central da Península Ibérica (com valores médios de 4-5 g C/100 g de solo), o que pode ser devido neste estudo foram analisados apenas os primeiros 5 cm, enquanto que outras estudos estudaram a 0-10 ou 0-20 cm.

**A maior diferença observada entre os usos do solo foi em termos da qualidade do COS**, pois o fracionamento da MOS mostrou diferenças significativas nos diferentes usos de solo, **e significa que, embora estes solos acumulem aproximadamente a mesma quantidade de C, a via de estabilização de C no solo (processo de humificação) é diferente.** A floresta de QP acumula a maior parte do C em forma de MOL e Humina, isto demonstra que o aporte de material vegetal da floresta é maior que nos outros usos de solos; os LA armazenam grande parte do C em forma de AH que são as SH mais ativas/funcionais nos ecossistemas e pouco em humina; e por último, não foram encontradas diferenças significativas no mato antes e após do fogo, pelo que conclui-se que o fogo controlado foi de pouca intensidade.

Como indicador da qualidade do C foi usada a cor dos AH, e é destacar que os AH mais escuros pertencem aos lameiros e matos. A floresta nativa de QP apresentou maior concentração de pigmentos fúngicos, de modo a conotar que esta é uma via de humificação nestes ecossistemas de montanha. Estes dados são provisórios e podem ser revisado no futuro.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alexandrovová, L., 1970. Sobre a nomenclatura da matéria húmus do solo. No Húmus do Solo (Sua gênese, propriedades e importância para a pedogênese e produtividade do solo). *Biol Nauki, Zap LSCHI*, pp. 91-99.
- Almendros, G., & Gonzalez, F.J. 2012. Wildfires, soil carbon balance and resilient organic matter in Mediterranean ecosystems. *Spanish journal of soil science year*, vol. 2.
- Almendros, G., Ibáñez, J., Polo A., Dorado, E., 1981. Caracterización de la materia orgánica de los suelos en algunos ecosistemas forestales de la Tierra del Ayllón. *Proc. I. Col. Ecol. Biogeogr.*, pp.108–120.
- Almendros, G., 2008a. Carbon sequestration in soil. *kluwer encyclopedia of soil science, ward chesworth ed.*, springer, dordrecht, pp. 315–323.
- Almendros, G., 2008b. Humic substances. *kluwer encyclopedia of soil science, ward chesworth ed.*, springer, dordrecht, pp. 97–99.
- Bayer, C., & Mielniczuck, J. 1997. Características químicas do solo afetadas por métodos de preparo e sistemas de cultura. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, vol. 21, pp. 105-112.
- Benites, M., Madari, B., Machado, P., 2003. Extração e fracionamento quantitativo de substâncias húmicas do solo: um procedimento simplificado de baixo custo, *Embrapa Solos*.
- Blair, G., Lefroy, R., Singh, B., Till, A., 1997. Desenvolvimento e uso de um índice de manejo de carbono para monitorar mudanças no tamanho do reservatório de C do solo e na taxa de rotatividade. *Open Journal of Soil Science*, pp. 273-281.
- Cambardella, C., & Elliott, E., 1992. Particulate soil organic matter changes across a grassland cultivation sequence. *Soil Science Society of America Journal*, vol. 56, pp. 777-783.
- Campbell, C., & Watson, C., 2003. Sustainable management of soil organic matter. *Cabi Publishing*, pp. 9-22.
- Carter, M., 2001. Organic matter and sustainability. *Sustainable management of soil organic matter*.

Carvalho, M., & Lourenço, E., 2012. Conservation agriculture — A portuguese case study. *Journal of Agronomy and Crop Science*, vol. 200, pp. 317-324.

Catroux, G., & Schinitzer, M., 1987. Chemical, spectroscopic, and biological characteristics of the organic matter in particle size fractions separated from na Aquoll. *Soil Science Society of America Journal*, vol. 15, pp. 1200-1207.

Coleman, K., 1987. A model for turnover of carbon in soil. *Evaluation of soil organic matter models springer-verlag*, pp. 237-246.

Costa, K., 2008. O estoque de carbono na vegetação e no solo em fragmentos florestais de paisagens tropicais. São Paulo, São Paulo, Brasil.

Christensen, B., 2000. Organic matter in soil: structure, function and turnover. *Plant Production*, pp. 95.

Duchaufour, P. 1975. *Manual de Edafología*. Toray-Masson, SA, Barcelona.

Duchaufour, P., & Jacquin, F., 1975. Comparaison des processus d'humification dans les principaux types d'humus forestiers. *Pascal Francis*, vol. 1, pp. 29–36.

Fonseca, F., Guerra, A., Nogueira, C., 2018. Efeito da Substituição de Espécies Florestais nos Horizontes Orgânicos e Características Químicas do Solo. *Silva Lusitana*, pp.183-190.

Hernández, Z., 2009. Functional study of the soil organic matter in vineyards from Tenerife Island, Spain, pp. 412.

Jiménez M., Álvarez A., Hernández Z., Almendros G., 2018. Soil carbon storage predicted from the biodiversity of pyrolytic alkanes. *Biology and Fertility Soils*, vol. 54, pp. 617–629

Jones, A., Panagos, P., Barcelo, S., Bouraoui, F., Bosco, C., Dewitte, O., Yigini, Y., 2012. *The state of soil in Europe*. JRC reference reports.

Kononova, M., 1984. Current problems in the study of organic matter accumulation in soils under anaerobiosis. *Soil Science*, vol. 137, pp. 419-427.

Kumada K., 1987. Chemistry of Soil Organic Matter. *Elsevier*, pp.17–30.

Lal, R., 2005. Solos florestais e sequestro de carbono. *Ecologia Florestal e Gestão*, vol. 220, pp. 242-258.

Lal, R. 2018. Indo mais fundo: uma perspectiva holística dos fatores que afetam o sequestro de carbono orgânico do solo em agroecossistemas. *Global Change Biology*, vol. 24, pp. 3285-3301.

MAPA (Ministerio de Agricultura, pesca y Alimentación), 1973. Comisión de Métodos Analíticos del Instituto Nacional de Edafología y Agrobiología. *An. Edafol. Agrobiol*, vol. 32, pp. 1153-1172.

Mulas, R., Lafuente, F., Turrión, M., Ruipérez, C., 2015. Efectos de los cambios de uso y manejo del suelo sobre la calidad y cantidad de la materia orgánica edáfica. *In Proteção do solo e Combate à Desertificação: oportunidade para as regiões transfronteiriças*, pp. 15–25.

Pavly L., & Mühlhanslová M., 2017. Diferenças em ácidos húmicos estrutura de vários tipos de solo estudados por espectroscopia DRIFT. *Soil and Water Research*, vol. 13, pp.29-35.

Piccolo, A., 1996. Humus and soil conservation. In: Piccolo, A. (Ed.). Humic substances in terrestrial ecosystems. Amsterdam: *Elsevier*, pp. 225- 264

Piper, C., 1950. Soil and plant analysis. *The Hasell Press*, Adelaide, Australia.

Piccolo, A., 1996. Humus and soil conservation. Humic substances in terrestrial ecosystems. *Elsevier*, pp. 225- 264.

Piovesan, E., 2022. Efeitos de curta duração do fogo controlado em propriedades e processos físicos do solo: um exemplo em áreas de matos do Parque Natural de Montesinho. *Tese de Mestrado*, biblioteca IPB, pp. 15-16.

Porta, J., & De Laburu, C., 1994. Edafología para la Agricultura y el Medio Ambiente. *Mundi-Prensa*, pp.807.

Rangel, O., Silva, C., Guimarães, P., 2008. Frações oxidáveis do carbono orgânico de Latossolo cultivado com cafeeiro em diferentes espaçamentos de plantio. *Ciência e Agrotecnologia*, vol. 32, pp. 429-437.

Segnini, A., 2007. Estrutura e estabilidade da Matéria Orgânica em áreas com potencial de sequestro de carbono no solo. *Tese de Doutorado* (Doutorado em Ciências Química Analítica).

Stevenson, F., 1994. Humus chemistry: Genesis, composition, reactions. *2nd ed. John Wiley and Sons*.

Soares, R., 1986. Curso de prevenção e controlo de incêndios florestais. *Associação Brasileira de Educação Agrícola Superior*, pp. 61-73.

Sowden, F., Griffith, S., Schnitzer, M., 1976. The distribution of nitrogen in some highly organic tropical volcanic soils. *Soil Biologic Biochemistry*, vol.8, pp. 55–60.

Schnitzer, M., & Khan, S., 1972. Humic substances in the environment. *Marcel Dekker*, pp. 2-3.

Schnitzer, M., 1991. Soil organic matter – the next 75 years. *Soil Science*, vol.151, pp. 41-58.

Sposito, G., 1989. The chemistry of soils. *New York, Oxford University Press*, pp 277.

Spycher, G., Sollins, P., Rose, S., 1989. Carbon and nitrogen in the light fraction of a Forest soil: vertical distribution and seasonal patterns. *Soil Science Society of América Journal*, vol. 51, pp. 1390-1393.

Swift, M., & Woomer, P., 1993. Organic matter and the sustainability of agricultural systems: definition and measurement. *Soil organic matter dynamics and sustainability of tropical agriculture*, pp. 3-18.

Swift, R., 1996. Organic matter characterization. *Soil Science Society of America; American Society of Agronomy*, vol 3, pp. 1011-1020.

Theng, B., 1987. Clay-humic interactions and soil aggregate stability. *Dynamics of soil organic matter in tropical ecosystems*, pp.5-32.

Vázquez, L. 2014. Soil hydrophysical quality in relation to organic matter in mediterranean ecosystems of central Spain, pp. 304.

Wigley, T., & Schimel, D., 2000. The carbon cycle. Cambridge University Press, pp. 292.