

## Determinação da respiração basal (RBS) e quociente metabólico do solo ( $qCO_2$ )

Edmilson Evangelista da Silva<sup>1</sup>  
Pedro Henrique Sabadin de Azevedo<sup>2</sup>  
Helvécio De-Polli<sup>3</sup>

### Introdução

A respiração basal do solo (RBS) é definida como a soma total de todas as funções metabólicas nas quais o  $CO_2$  é produzido. As bactérias e os fungos são os principais responsáveis pela maior liberação de  $CO_2$  via degradação da matéria orgânica (MO). A RBS possui uma estreita relação com as condições abióticas do solo, entre elas a umidade, temperatura e aeração. CATTELAN & VIDOR (1990) detectaram influência destas características, além da disponibilidade de substrato no solo, sobre a RBS e o Carbono da Biomassa Microbiana do Solo (BMS-C). A disponibilidade de C no solo tem sido descrita como fonte contribuidora para o aumento da RBS (CATTELAN & VIDOR, 1990).

Em associação com a RBS podemos obter o quociente metabólico do solo ( $qCO_2$ ), pela razão entre a RBS por unidade de BMS-C e tempo, sendo usado para estimar a eficiência do uso de substrato pelos microrganismos do solo (ANDERSON & DOMSCH, 1993), podendo ser utilizado como sensível indicador de estresse quando a BMS-C é afetada, sendo ambas as ferramentas importantes no entendimento das transformações e perdas nos compartimentos orgânicos do solo.

O objetivo deste documento é apresentar de forma simplificada o procedimento originalmente proposto por JENKINSON & POWLSON (1976),

para determinação da respiração basal do solo associado ao BMS-C para obtenção do  $qCO_2$ .

### Materiais e Equipamentos necessários

- Balança analítica com precisão de 0,1 mg;
- Capela de exaustão para vapores ácidos;
- Balão volumétrico 100 e 1000 mL;
- Bechers de 100 e 1000 mL;
- Pipeta automática de 10 mL, com precisão de 0,01;
- Frascos de vidro 100 mL com tampa;
- Frascos de vidro 2 ou 3 L com tampa de fechamento hermético;
- Agitador magnético;
- Erlenmeyer 125 mL;
- Bureta ou titulador automático com precisão de 0,01 mL;
- Solução de hidróxido de sódio (NaOH) 1 M: pesar rapidamente 39,9971 g de hidróxido de sódio, pois o mesmo é altamente higroscópico. Transferir para um becher de 1000 mL, adicionar 700 mL de água deionizada cuidadosamente. Dissolver e transferir quantitativamente para um balão volumétrico de 1000 mL aferindo o volume com água deionizada após o resfriamento;
- Solução de cloreto de bário ( $BaCl_2$ ) 10% (m/v): pesar 10,000 g de cloreto de bário, transferir para um becher de 100 mL e adicionar 60 mL de água deionizada. Dissolver o sal por

<sup>1</sup> Doutorando em Fitotecnia, UFRRJ – BR 465, km 07, Caixa Postal 74505, CEP 23890-000, Seropédica, RJ. E-mail: edmilson@cnpab.embrapa.br

<sup>2</sup> Graduando em Química, UFRRJ. E-mail: pedrosabadin@hotmail.com

<sup>3</sup> Pesquisador Embrapa Agrobiologia, BR 465, km 07, Caixa Postal 74505, CEP 23890-000, Seropédica, RJ. E-mail: depolli@cnpab.embrapa.br

completo e transferir quantitativamente para um balão volumétrico de 100 mL aferindo o volume com água deionizada;

- Fenolftaleína ( $C_{20}H_{14}O_4$ ) 1% (m/v) em etanol: pesar 1,000 g de fenolftaleína e transferir para um becher de 100 mL. Adicionar 50 mL de etanol ( $C_2H_5OH$ ) P.A.; dissolver e transferir quantitativamente para um balão volumétrico de 100 mL e aferir o volume a 100 mL com o mesmo álcool;
- HCl P.A. 37%;
- Solução de tris hidroxí amino metano ( $C_4H_{11}NO_3$ ) 0,03 M: pesar 3,6340 g de THAM, previamente seco em estufa a 105°C e transferir para um becher de 1000 mL, dissolver o sal e transferir quantitativamente para um balão volumétrico de 1000 mL, aferindo o volume com água deionizada;
- Solução de ácido bórico ( $H_3BO_3$ ) 1% (m/v): pesar 10,000 g de ácido bórico e dissolver em 900 mL de água deionizada acondicionando em um balão volumétrico de 1000 mL (Sol. A). Dissolver 0,100 g de vermelho de metila em um balão volumétrico de 100 mL aferindo o volume com metanol P.A. (Sol. B). Dissolver 0,100 g de verde de bromocresol em um balão volumétrico de 100 mL aferindo o volume com metanol P.A. (Sol. C). Tomar 7 mL da “Sol. B” e 10 mL da “Sol. C” e adicionar no balão volumétrico contendo a “Sol. A”. Ajustar o pH da solução entre 5,0 – 6,0 transferindo uma alíquota da solução solubilizada e realizando leitura no pHmetro. Adicionar ao balão gotas de NaOH 0,5 M, sempre retornando a alíquota a origem e realizando a leitura após cada adição. Após ajuste do pH na faixa requisitada aferir o volume final com água deionizada.
- Solução de ácido clorídrico (HCl) 0,5 M: pipetar 41,40 mL de ácido clorídrico P.A. 37%, em capela de exaustão, em um becher de 1000 mL contendo 500 mL de água deionizada. Homogeneizar a solução no becher e transferir quantitativamente para um balão volumétrico de 1000 mL, aferindo o valor com água deionizada.

## Amostra

As amostras devem ser coletadas em pontos e profundidades previamente determinados,

conforme o planejamento da pesquisa. A umidade do solo nas amostras para o processamento poderá ser em torno de 60% da capacidade de campo ou conforme o objeto da pesquisa. As amostras devem ser mantidas o mais próximo das condições em que foram coletadas até a sua chegada ao laboratório, onde serão preparadas, procedendo as análises em até três dias ou armazenadas em geladeira a 4°C por até dez dias.

## Limitações do método

A limitação do método está na possibilidade da saturação total do hidróxido de sódio (NaOH) com a função de absorver o  $CO_2$  evoluído, subestimando a taxa de respiração do solo. Outro fator importante está na umidade do solo, pois solos com alto teor de umidade são de difícil manuseio no processo de tamisagem, sendo também desfavoráveis na difusão do  $CO_2$  na RBS. Para evitar tais inconvenientes aconselha-se que a amostragem de campo seja a mais próxima possível de 60% da capacidade de campo do solo.

## Procedimento

### Preparação da amostra

As amostras recém coletadas devem ser peneiradas em malha de 2 mm, retirando-se os fragmentos de animais e vegetais por meio de catação. Em seguida, devem ser acondicionadas em novos recipientes, para que sejam processadas.

### Determinação da umidade relativa frente à capacidade de campo do solo

A forma de determinação da umidade na capacidade de campo do solo aqui descrita, apesar de expedita, fornece precisão suficiente.

O método baseia-se na determinação da umidade do solo na capacidade máxima de retenção de água (capacidade de campo) e na determinação da umidade do solo no momento da coleta das amostras, para que se determine se a umidade do solo na coleta é correspondente à desejada.

Realizar o preenchimento de proveta de 100 mL com cerca de 80 mL de solo recém coletado e já peneirado. Adicionar água até que a frente de molhamento atinja cerca de 40 a 50% do volume de solo, recobrir a proveta com papel alumínio,

deixando o solo em repouso por 12 horas, ou até que a frente de molhação estacione. A frente de molhação não deve tocar o fundo da proveta, o que invalidaria o procedimento, neste caso deve-se repetir o teste com nova amostra com quantidade menor de água. Retirar uma porção de solo da parte molhada, pesar e levar para estufa a  $105^\circ C$  por 24 horas ou até que o solo atinja peso constante, obtendo o peso do solo seco posteriormente. A determinação da umidade total do solo na capacidade de campo e das amostras oriundas do campo é obtida pela Equação 1, para cálculo para umidade total do solo:

$$U \text{ (g de água g}^{-1} \text{ de solo)} = (P_U - P_S)/P_S \text{ (Equação 1)}$$

onde,  $P_U$  = peso úmido do solo;  $P_S$  = peso seco do solo, usado tanto para a amostra de solo trazida do campo quanto a retirada da proveta.

Para determinar a umidade percentual relativa ( $U_R$ ) das amostra frescas de solo frente à umidade do solo na capacidade de campo é utilizada a Equação 2:

$$U_R \text{ (\%)} = (U_A / U_C) \cdot 100 \text{ (Equação 2)}$$

onde,  $U_R$  = umidade relativa do solo fresco frente a capacidade de campo;  $U_A$  = umidade do solo amostrado (g de água  $g^{-1}$  de solo);  $U_C$  = umidade do solo na capacidade de campo (g de água  $g^{-1}$  de solo).

### Procedimento analítico

As amostras serão analisadas em duplicata, para isto a amostra inicial será dividida em três sub-amostras de 50 g acondicionadas em frascos de vidro de 100 mL, sendo uma delas para determinação da umidade do solo e as demais para a respiração basal do solo.

### Incubação

Partindo das amostras de solo previamente pesadas, necessita-se para cada sub-amostra 10 mL de NaOH 1 M, que deve ser acondicionados com o auxílio de pipeta automática de 10 mL, em novos frascos de vidro de 100 mL. Transfere-se imediatamente cada sub-amostra juntamente com seu respectivo frasco contendo NaOH para um frasco de vidro de 2 L, hermeticamente fechado, para que não haja entrada de  $CO_2$  do ar externo ou fuga do  $CO_2$  internamente produzido (Figura 1). Serão dois

frascos de vidro de 100 mL para cada frasco de vidro de 2 L, sendo que devem constar também alguns frascos de 2 L com apenas o frasco com NaOH, que servirá de solução controle (branco). Após realizar todo o preparo para a incubação das sub-amostras, deve-se anotar a hora e a data de quando iniciou-se a incubação, para que seja calculada através destes dados a respiração basal do solo, lembrando que as sub-amostras devem ser mantidas em local isento de luminosidade e com temperatura em torno de 25 a  $28^\circ C$  durante um período que pode variar de 5 a 10 dias.



Figura 1 – Frascos utilizados para a incubação, juntamente com a amostra de solo e seu respectivo frasco contendo NaOH.

### Quantificação do $CO_2$ respirado

Após o processo de incubação, retirar do frasco de 2 L o frasco contendo NaOH e adicionar 2 mL de  $BaCl_2$  10% (m/v) para a completa precipitação do  $CO_2$ , seguido de imediato fechamento do frasco com solução precipitada. Destampar apenas a sub-amostra precipitada que irá ser titulada, adicionar 2 gotas de fenolftaleína 1% (m/v) e titular sob agitação magnética com solução 0,5 M de ácido clorídrico que posteriormente deve ser padronizada. Ao final da titulação a coloração da solução irá de rosa (A) à incolor (B) (Figura 2).

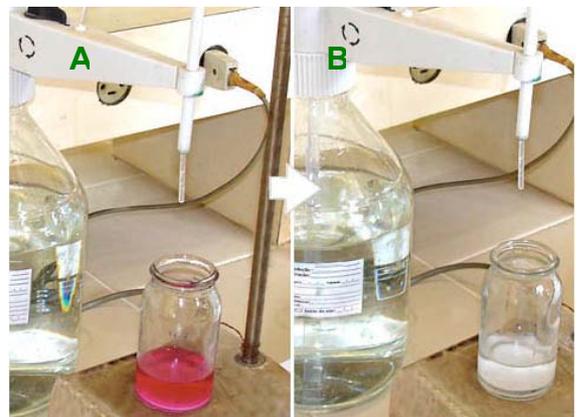


Figura 2 – Ponto estequiométrico da volumetria de neutralização ácido-base.

## Determinação da molaridade exata do ácido clorídrico

Adicionar 50 mL da solução THAM e 10 mL da solução de ácido bórico em um Erlenmeyer, e titular sob agitação magnética com ácido clorídrico a ser determinado. Ao final da titulação a coloração da solução irá de verde para rosa. O cálculo da molaridade exata do HCl é dado pela equação 3:

$$M_{AC} = (M_{THAM} \cdot V_{THAM})/V_{AC} \text{ (Equação 3)}$$

Onde, M<sub>AC</sub> = molaridade do ácido clorídrico a ser determinada; V<sub>AC</sub> = volume de ácido clorídrico gasto na titulação; M<sub>THAM</sub> = molaridade da solução THAM e V<sub>THAM</sub> = volume de THAM utilizado na titulação.

## Cálculo da respiração basal do solo

O cálculo da respiração basal do solo é dado pela Equação 4:

$$RBS \text{ (mg de C-CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ solo hora}^{-1}) = ((V_b - V_a) \cdot M \cdot 6 \cdot 1000)/Ps/T \text{ (Equação 4)}$$

Equação 4 – Determinação da respiração basal do solo, onde: RBS = carbono oriundo da respiração basal do solo; V<sub>b</sub> (mL) = volume de ácido clorídrico gasto na titulação da solução controle (branco); V<sub>a</sub> (mL) = volume gasto na titulação da amostra; M = molaridade exata do HCl; Ps (g) = massa de solo seco e T = tempo de incubação da amostra em horas.

## Quociente metabólico do solo (qCO<sub>2</sub>)

O qCO<sub>2</sub> é a razão entre a respiração basal do solo por unidade de carbono da biomassa microbiana do solo conforme descrito por SILVA et al. (2007), e tem sido usado para estimar a eficiência do uso de substrato pelos microrganismos do solo

(ANDERSON & DOMSCH, 1993), podendo ser utilizado como sensível indicador de estresse quando a BMS-C é afetada.

O cálculo qCO<sub>2</sub> da respiração basal do solo é dado pela Equação 5:

$$qCO_2 \text{ (mgC-CO}_2 \cdot g^{-1} \text{ BMS-C} \cdot h^{-1}) = \frac{RBS \text{ (mgC-CO}_2 \cdot kg^{-1} \text{ solo} \cdot h^{-1})}{BMS-C \text{ (mgC} \cdot kg^{-1} \text{ solo)} \cdot 10^{-3}}$$

Equação 5 – Determinação do quociente metabólico do solo, onde: qCO<sub>2</sub> = Quociente metabólico do solo; RBS = Respiração basal do solo; BMS-C = Carbono da biomassa microbiana do solo.

## Referências Bibliográficas

ANDERSON, T. H.; DOMSCH, K. H. The metabolic quotient for CO<sub>2</sub> (qCO<sub>2</sub>) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 25, n. 3, p. 393-395, mar. 1993.

CATTELAN, A. J.; VIDOR, C. Flutuações na biomassa, atividade e população microbiana do solo, em função de variações ambientais, **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 14, n. 2, p. 133-142, maio/ago. 1990.

JENKINSON, D. S.; POWLSON, D. S. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. V. A method for measuring soil biomass. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 8, n. 3, p. 209-213, 1976.

SILVA, E. E. da; AZEVEDO, P. H. S.; DE-POLLI, H. **Determinação do carbono da biomassa microbiana do solo (BMS-C)**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2007. 6 p. (Embrapa Agrobiologia. Comunicado Técnico, 98)

### Comunicado Técnico, 99

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

#### Embrapa Agrobiologia

BR465 – km 7  
Caixa Postal 74505  
23851-970 – Seropédica/RJ, Brasil  
Telefone: (0xx21) 2682-1500  
Fax: (0xx21) 2682-1230

Home page: [www.cnpab.embrapa.br](http://www.cnpab.embrapa.br)  
e-mail: [sac@cnpab.embrapa.br](mailto:sac@cnpab.embrapa.br)

1ª impressão (2007): 50 exemplares



Ministério da Agricultura,  
Pecuária e Abastecimento



### Comitê de publicações

Eduardo F. C. Campello (Presidente)  
José Guilherme Marinho Guerra  
Maria Cristina Prata Neves  
Veronica Massena Reis  
Robert Michael Boddey  
Maria Elizabeth Fernandes Correia  
Dorimar dos Santos Felix (Bibliotecária)

### Expediente

Revisor e/ou ad hoc: Marco Antônio de Almeida Leal e Marta dos Santos Freire Ricci  
Normalização Bibliográfica: Dorimar dos Santos Félix.  
Editoração eletrônica: Marta Maria Gonçalves Bahia.