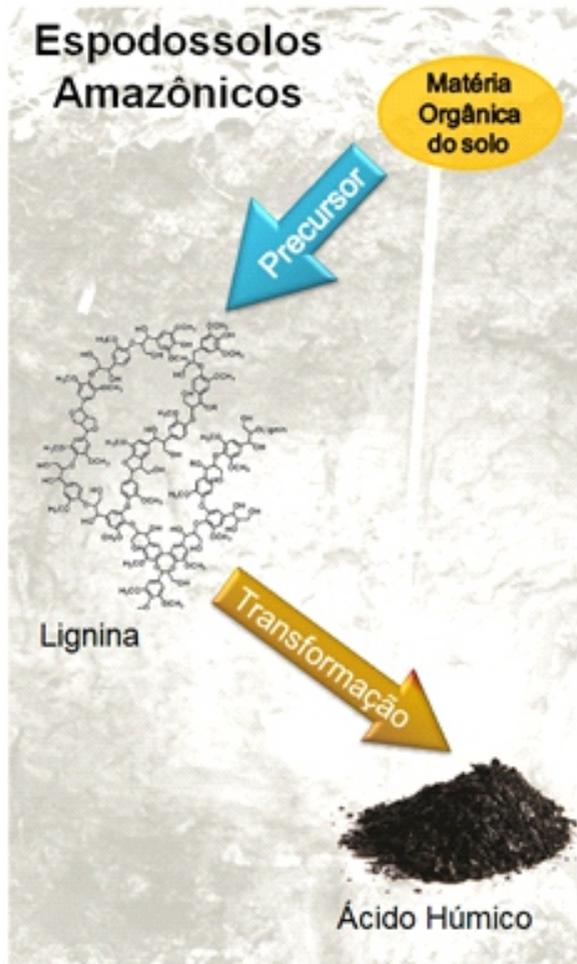


Relação do índice de humificação com a datação do carbono 14 dos Espodossolos Amazônicos



ISSN 1678-0434

Dezembro, 2018

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Instrumentação
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 43

Relação do índice de humificação com a datação do carbono 14 dos Espodossolos Amazônicos

Amanda M. Tadini
Stéphane Mounier
Débora Marcondes Bastos Pereira Milori

São Carlos, SP
2018

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Instrumentação

Rua XV de Novembro, 1452

Caixa Postal 741

CEP 13560-970 São Carlos, SP

Fone: (16) 2107 2800

Fax: (16) 2107 2902

www.embrapa.br

www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Unidade responsável pelo conteúdo e edição

Embrapa Instrumentação

Comitê de Publicações

Presidente

Wilson Tadeu Lopes da Silva

Secretária-executiva

Maria do Socorro Gonçalves de Souza Monzane

Membros

Carlos Renato Marmo

Cíntia Cabral da Costa

Cristiane Sanchez Farinas

Elaine Cristina Paris

Maria Alice Martins

Paulo Renato Orlandi Lasso

Normalização bibliográfica

Maria do Socorro Gonçalves de Souza Monzane

Imagem da capa

Amanda Maria Tadini

Capa, editoração eletrônica e

tratamento das ilustrações

Valentim Monzane

1ª edição

1ª impressão (2018): 100 exemplares

Todos os direitos reservados

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados internacionais de Catalogação na publicação (CIP)

Embrapa Instrumentação

T121bp&d Tadini, Amanda M.

Relação do índice de humificação com a datação do carbono 14 dos Espodossolos Amazônicos / Amanda M. Tadini, Stéphane Mounier, Débora Marcondes Bastos Pereira Milori. São Carlos, SP: Embrapa Instrumentação, 2018.

24 p. – (Embrapa Instrumentação. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, ISSN: 1678-0434; 43).

1. Espodossolos amazônicos. 2. Matéria orgânica. 3. Ácidos húmicos. 4. Índice de humificação. I. Tadini, Amanda M. II. Mounier, S. III. Milori, D. M. B. P. IV. Título. V. Série.

CDD 21 ED 631.4

© Embrapa 2018

Sumário

Resumo	5
Abstract	7
Introdução	9
Revisão Bibliográfica	9
Materiais e Métodos	10
Área de Estudo	10
Isolação dos Ácidos Húmicos	11
Análise do Solo	11
Análise da Matéria Orgânica do Solo e Ácidos Húmicos	12
Correção da Cor na análise do LIFS	13
Resultados e Discussão	13
Características dos solos e da matéria orgânica	13
Análise dos ácidos húmicos extraídos dos Espodossolos ...	16
Experimento da Lignina	17
Conclusão	19
Referência Bibliográfica	20

Relação do índice de humificação com a datação do carbono 14 dos Espodosolos Amazônicos

Amanda M. Tadini¹

Stéphane Mounier²

Débora Marcondes Bastos Pereira Milori³

Resumo

A matéria orgânica do solo (MOS) tem um papel primordial na sustentabilidade ambiental, especialmente na região Amazônica, que representa um dos reservatórios de carbono mais relevantes do mundo. Neste trabalho, as concentrações de carbono e determinações dos índices de humificação foram avaliadas e comparadas em vários horizontes de Espodosolos Amazônico. A Espectroscopia de Fluorescência foi utilizada para investigar as frações de ácido húmico (AH) da MOS isolada das diferentes amostras. Estruturas de carbono simples e lábeis parecem ser acumuladas em horizontes superficiais, enquanto compostos humificados mais complexos são lixiviados e acumulados em horizontes Bh intermediários e profundos. Os resultados sugerem que os ácidos húmicos são originários da lignina e seus derivados, e se acumulam nos horizontes Bh. Houve mudanças significativas na composição do AH com profundidade, com quatro tipos de matéria orgânica: recalcitrante, humificado e antigo; lábil e jovem; humificado e jovem; e pouco humificado e antigo. Portanto, o processo de humificação não teve relação direta com a idade da matéria orgânica nos Espodosolos Amazônicos.

Palavras-chave: Espodosolos Amazônicos, Matéria Orgânica, Ácidos Húmicos, Índice de Humificação

¹Química, Doutora em Química Analítica do Instituto de Química de São Carlos, SP;

²Químico, Doutor em Química, Professor da Université de Toulon, França;

³Física, Doutora em Física, pesquisadora na Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP, debora.milori@embrapa.br

Relation of humification index to carbon 14 dating of Amazonian Spodosols

Abstract

Soil organic matter (MOS) plays a key role in environmental sustainability, especially in the Amazon region, which represents one of the world's most relevant carbon reservoirs. In this work, the carbon concentrations and determinations of the humification indices were evaluated and compared in several horizons of Amazonian Spodosols. Fluorescence spectroscopy was used to investigate the humic acid (HA) fractions of SOM isolated from the different samples. Simple and labile carbon structures appeared to be accumulated in surface horizons, while more complex humified compounds were leached and accumulated in intermediate and deeper Bh horizons. The results suggested that the humic acids originated from lignin and its derivatives, and accumulate in the horizons Bh. There were significant compositional changes of HA with depth, with four types of organic matter: recalcitrant, humified, and old dating; labile and young dating; humified and young dating; and little humified and old dating. Therefore, the humification process had no direct relation with the age of the organic matter in the Amazonian Spodosols.

Keywords: Amazon podzols, Organic matter, Humic acids, Humification index

Introdução

A Floresta Amazônica fornece importantes serviços para a humanidade, tais como: alta biodiversidade, regulação do clima, atua no seqüestro de carbono, na regulação dos recursos hídricos e nos ciclos de nutrientes. A vegetação amazônica é bastante diversificada, apresenta características que variam desde savanas, cerrados e florestas, as quais estão associadas ao clima e solo. Na Amazônia, os Espodosolos podem se desenvolver com o tempo a partir de solos Argilosos. Assim, as mudanças climáticas podem afetar diretamente a integridade física desse tipo de solo, causando alterações importantes na estrutura física e química do solo, além de interferir na qualidade e quantidade da matéria orgânica presente nesse ecossistema.

A Matéria Orgânica do Solo (MOS) tem um papel importante na sustentabilidade ambiental, pois está relacionada com a ciclagem de carbono e nutrientes. Deste modo, compreender os processos que ocorrem na matéria orgânica do solo é fundamental nos principais processos biogeoquímicos que ocorrem nesses solos. Frente a estas constatações este trabalho, visou avaliar as características estruturais da matéria orgânica e de ácidos húmicos empregando a espectroscopia de fluorescência induzida por laser e análise elementar.

Revisão Bibliográfica

Na Amazônia, a genese dos Espodosolos, ocorre com um movimento da matéria orgânica e óxidos de Fe e Al (organometálicos) presente nos horizontes A e/ou E, que translocam-se e acumulam-se em horizontes mais profundos, originando horizontes ricos em matéria orgânica. Assim, qualquer modificação na composição do solo e no ciclo da água devido a fontes antrópicas e/ou natural afeta a quantidade e a natureza química da matéria orgânica do solo (MOS) presente nesses ecossistemas naturais e, conseqüentemente, influencia a concentração de CO₂ na atmosfera. Um dos principais componentes da MOS são as substâncias húmicas (SH), e são fracionadas em ácidos húmicos (AH), ácidos fúlvicos (AF) e humina (HU) de acordo com a solubilidade.

Na literatura é possível encontrar três possíveis fontes de origem do material húmico: (a) derivado de material fenólico de flavonóides de plantas; (b) unidades fenólicas formadas durante a decomposição da lignina e (c) substâncias fenólicas sintetizadas de microorganismos no solo (Burgues *et al.*, 1963; Hatcher *et al.*, 1981). Acredita-se que a lignina e os produtos de sua degradação microbiana nos solos são os progenitores das substâncias húmicas especialmente os ácidos húmicos (Flaig, 1972; Hatcher *et al.* 1981; Hedges *et al.* 1984; Piccolo 1996).

A lignina é considerada resistente à degradação microbiana quando comparado a outros compostos como polissacarídeos, aminoácidos presentes nas plantas.

Porém, o uso da lignina em estudos que avaliam o ciclo do carbono, tem-se intensificado desde o início dos anos 70. Segundo Jex et al. (2014) a lignina tem um potencial significativo na sua degradação à medida que é percolada no solo. Os principais processos que podem modificar a estrutura química da lignina são: processos físicos (sorção), químicos (fotodegradação) e biológicos (degradação microbiana), cujas condições ambientais são fatores importantes para que ocorram estas modificações (Jex et al. 2014).

A quantidade de carbono orgânico armazenado na camada superficial (0 a 1,0 m) em Espodosolos hidromórficos da bacia do alto Rio Negro representa $87 \pm 7 \text{ kg m}^{-2}$ de carbono nesses solos, o que corresponde a $14 \pm 1 \text{ Pg}$ de Carbono (Cerri et al., 2000; Montes et al., 2011). MOS não é homogênea, e estudos com o objetivo de avaliar as características estruturais e os processos que ocorrem com essa matéria orgânica são importantes, especialmente neste ecossistema que é considerado um dos reservatórios de carbono mais importante do mundo (Cerri et al., 2000).

A espectroscopia de fluorescência é uma técnica amplamente utilizada para diferenciar e classificar a MOS e a AH de acordo com sua origem, gênese e natureza (Senesi et al., 1991). Os métodos de fluorescência de emissão e/ou excitação têm sido extensivamente aplicados para avaliar os processos de humificação de AH (Zsolnay et al., 1999; Kalbitz et al., 1999; Milori et al., 2002; Tadini et al., 2015). A espectroscopia de fluorescência induzida por laser (LIFS) é uma ferramenta valiosa para uso na análise estrutural e funcional da MOS. Esta técnica é muito interessante devido à sua rapidez, simplicidade, sensibilidade e desempenho em condições naturais (Milori et al., 2006, 2011; Martins et al., 2011; Tadini et al., 2015; Senesi et al., 2016).

Milori et al. (2006) avaliaram o índice de humificação (HLIFS) de solos inteiros com excitação de fluorescência na região azul. A presença e conservação de unidades estruturais como anéis aromáticos conjugados e quinonas substituídas foram sugeridas como diretamente relacionadas aos processos de humificação.

Poucos estudos (Bravard e Righi, 1991a, 1991b; Santos et al., 2015a, 2015b) investigaram AH isolado de Espodosolos Amazônicos. Portanto, o objetivo principal deste trabalho foi avaliar as características da MOS e de AH nos diferentes horizontes dos três Espodosolos da região Amazônica, utilizando análise elementar (CHN) e espectroscopia de fluorescência.

Materiais e Métodos

Área de Estudo

A área de estudo situa-se no Município de Barcelos, na bacia do Rio Demeni, afluente médio do Rio Negro (Figura 1). A geologia regional é representada por sedimentos da Formação Içá, cujos sedimentos mais recentes são encontrados nas várzeas atuais. O clima é tipicamente equatorial, caracterizado por temperatura média anual de $25 \text{ }^\circ\text{C}$ e por elevada pluviosidade (cerca de 3000 mm), sem estação de seca pronunciada.

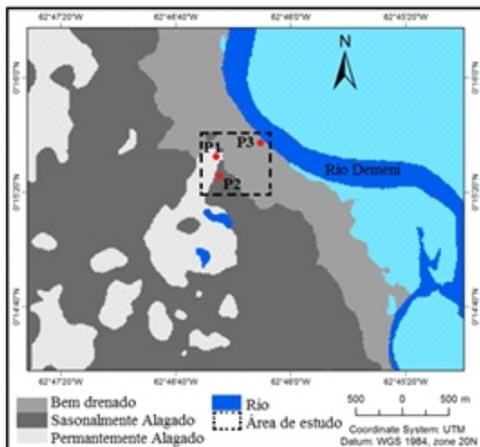


Figura 1 - Localização da área de estudo na região Amazônica.
(Fonte: Adaptado de Tadini et al. 2018).

Os Espodosolos amostrados foram: permanentemente alagado (Ponto 1); sazonalmente alagado (Ponto 2); bem drenado (Ponto 3). Os procedimentos de amostragem, preservação e preparação das amostras seguiram métodos descritos na literatura (Santos et al., 2005; Embrapa, 2006). As sucessões pedológicas das camadas amostradas nos três perfis de podzol foram: **Ponto 1 (P1):** P1 A 0-15, P1 A-E 15-30, P1 Bh 40-50, P1 Bh-C 240, P1 Bh-C 260, P1 C 350; **Ponto 2 (P2):** P3 A 0-15, P3 Bh 165-175, P3 Bh 180-183, P3 Bh 210, P3 Bh 280-310, P3 Bh 335-350; **Ponto 3 (P3):** P4 A 0-20, P4 A 20-30, P4 A 30-40, P4 Bh 110-120, P4 Bh 170-180, P4 Bh-C 270-280, P4 Bh 370-380, P4 Bh 380-390.

Na classificação acima, P1, P2 e P3 representam o tipo de podzol; A, E, AE, Bh, Bh-C e C são os tipos de horizonte pedológico; e os números representam as profundidades de amostragem superior e inferior (em cm).

Após a coleta, as amostras de solo foram liofilizadas, e posteriormente, trituradas e peneiradas em 60 mesh antes das análises por espectroscopia de fluorescência induzida por laser (LIFS).

Isolação dos Ácidos Húmicos

A extração dos Ácidos Húmicos seguiu as recomendações descritas pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS) e Swift (1996).

Análise do Solo

As texturas dos solos foram analisadas utilizando o método da pipeta Robinson (Santos et al., 2005) no trabalho de Pereira et al. (2013).

As medições do LIFS foram realizadas usando pastilhas de solo. Para isto, misturas contendo 70% de solo e 30% de ácido bórico foram preparadas, e confeccionadas pastilhas com cerca de 1 cm de diâmetro e 2 mm de espessura foram obtidos pela aplicação de 10 toneladas de pressão por 2 min. A análise LIFS foi realizada em duplicada para cada amostra.

Um teste utilizando a lignina foi realizada com o LIFS, para isso a amostra empregada foi P3 Bh-C 270-280. Nessa amostra foram adicionadas 1,0; 5,0 e 10% do padrão de lignina (Sigma-Aldrich). Neste procedimento, as misturas foram preparadas com 360 mg de solo e 40 mg de lignina (10%), 380 mg de solo e 20 mg de lignina (5%) e 396 mg de solo e 4 mg de lignina (1%).

Todos os espectros de LIFS foram adquiridos com aplicação de um laser de ondas contínuas (potência de 20 mW) a 405 nm (Santos et al., 2015a, 2015b). O comprimento de onda de emissão utilizado variou de 420 a 800 nm, a intensidade máxima de emissão foi de 1.000 contagens e o tempo de integração foi de 400 ms para todas as medições. Quatro réplicas foram registradas para cada amostra e o espectro médio final foi usado para calcular os valores de HLIFS por meio da razão da área do espectro de emissão de fluorescência na faixa de 420-800 nm dividido pela quantidade de carbono (% C) na amostra de solo (Milori et al., 2006).

Análise da Matéria Orgânica do Solo e Ácidos Húmicos

O conteúdo de carbono (%) foi medido em duplicata utilizando 10 mg do solo inteiro e 3 mg de AH em um analisador elementar CHNS (Modelo 2400, PerkinElmer). A datação do Radiocarbono dos solos inteiros foi realizada no Laboratório de Radiocarbono de Poznań, na Polônia, como descrito por Doupoux et al. (2017).

Medidas de fluorescência foram realizadas empregando um espectrômetro de luminescência (modelo LS50B, PerkinElmer). Para isto, alíquotas de 12,5 mg L⁻¹ (pH 8,0), soluções de AH dissolvidas em 0,05 mol L⁻¹ de NaHCO₃ foram utilizadas. Uma amostra adicional contendo 3mg L⁻¹ de lignina (Sigma-Aldrich) também foi analisada (pH 8,0). Os espectros de emissão foram adquiridos em comprimento de onda de excitação de 465 nm, na faixa de emissão varredura 480-700 nm, usando um filtro aberto, e largura de fenda de emissão de 10 nm, e uma velocidade de 500 nm min⁻¹. Os índices de humificação (H_{465 nm}) dos AH e da lignina foram determinados como a área total sob o espectro de emissão de fluorescência registrado no comprimento de onda de excitação de 465 nm (Milori et al., 2002) em 12,5 mg L⁻¹ de solução de AH.

Nesse estudo, assumiu-se que quando a Matéria Orgânica do Solo é transformada em Ácido Húmico, a quantidade de porções aromáticas e fenólicas conjugadas aumenta, conduzindo a um efeito de desvio para o vermelho nos picos de fluorescência de excitação em 465nm. Portanto, H_{LIFS} e H_{465 nm} devem aumentar com o aumento do conteúdo dessas frações consideradas como indicadores do progresso do processo de humificação.

Correção da Cor na análise do LIFS

A cor é amplamente utilizada para caracterização e classificação do solo no campo. Geralmente, a padronização da cor do solo é obtida por meio da cartela de cores Munsell (Munsell, 2000).

Um fator de correção empírico pode ser usado para melhorar a determinação do HLIFS. Deste modo, nesse estudo para uma melhor compreensão, esse índice HLIFS foi dividido pelo valor da cor Munsell da amostra global, com uma amostra mais escura resultando em um valor menor. Por exemplo, para solos com a cor “marrom escuro”, o valor 10YR3/3 correspondente era 3; para “castanho e castanho claro”, os valores correspondentes de 10YR5/3 e 10YR6/3 $(5 + 6)/2 = 5,5$; para “preto e marrom muito escuro”, o valor correspondente de 10YR2/1 e 10YR2/2 foi $(2 + 2)/2 = 2$.

Resultados e Discussão

Características dos solos e da matéria orgânica

As texturas das amostras de solo são apresentadas na Tabela 1. Os três Espodosolos estudados apresentaram uma textura predominantemente arenosa, com diferentes distribuições de areia grossa e fina, silte e argila. O perfil de P1 não possuía o desenvolvimento do horizonte E bem diferenciado, provavelmente devido às condições alagadas que prevaleceram na área. O perfil de P2 foi o de um Espodosolo Amazônico típico com lençol freático permanente localizado no topo do horizonte Bh e outro em profundidade. O perfil de P3 refletiu um Espodosolo truncado, onde o horizonte E, e a parte superior do horizonte de Bh foram removidos pela erosão causada pelo desenvolvimento de um meandro do rio Demeni.

Os valores do índice HLIFS calculados a partir dos espectros LIFS, conforme proposto por Milori *et al.* (2002) (Tabela 1), mostraram uma baixa correlação ($r = 0,67$) com os valores do índice H_{465} (Figura 2a). Um fator de correção de cor foi aplicado à emissão de fluorescência LIFS para levar isso em conta. O índice corrigido, denominado H_{LIFS_M} , mostrou uma correlação satisfatória ($r = 0,85$) com o índice de $H_{465\text{ nm}}$ (Figura 2b).

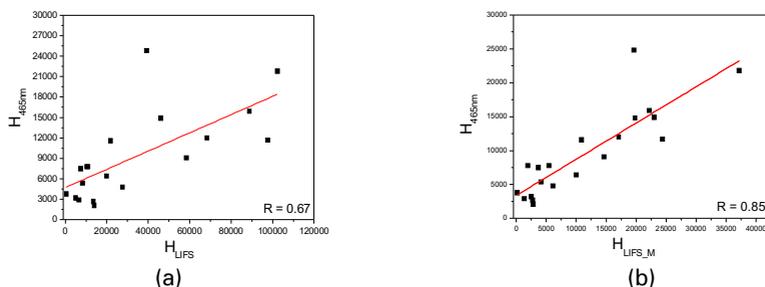


Figura 2 - Correlação com: (a) $H_{465\text{nm}}$ vs H_{LIFS} ; (b) $H_{465\text{nm}}$ vs H_{LIFS_M} .

Tabela 1 - Composição textural (Pereira et al. 2015), carbono, radiocarbono (datação), Cor Munsell, % de carbono, H_{LIFS} e H_{LIFS_M} dos horizontes de solos e % de carbono e H465 dos Ácidos Húmicos (HA).

Amostras	Solo inteiro										Ácido Húmico	
	Areia grossa (%)	Areia fina (%)	Silte (%)	Argila (%)	Textura	^{14}C (anos)	Cor Munsell	Carbono (%)	H_{LIFS} ($\times 10^3$)	H_{LIFS_M} ($\times 10^3$)	Carbono (%)	H_{465} ($\times 10^3$)
P1 A 0-15	*	*	*	*	*	*	10YR3/2	15.2 ± 0.1	0.5 ± 0.3	0.2 ± 0.1	38 ± 3	3.8
P1 A-E 15-30	13.24	45.13	40.63	1.00	Arenoso-Argiloso	2645	10YR4/3	1.00 ± 0.02	10 ± 6	2 ± 1	49 ± 1	7.8
P1 Bh 40-50	14.47	45.25	37.26	3.02	Arenoso-Argiloso	3240	10YR3/2	2.74 ± 0.02	7 ± 1	4 ± 1	52.8 ± 0.2	7.5
P1 Bh-C 240	*	*	*	*	*	*	7,5YR4/4	0.46 ± 0.01	89 ± 18	22 ± 5	46 ± 2	15.9
P1 Bh-C 260	40.92	48.96	5.26	4.86	Arenoso	*	7,5YR4/4	0.45 ± 0.00	68 ± 7	17 ± 2	43 ± 1	12.0
P1 C 350	48.80	46.90	2.79	1.50	Arenoso	*	2,5Y4/3	0.47 ± 0.00	58 ± 6	15 ± 2	48 ± 3	9.1
P2 A 0-15	12.91	55.56	30.53	1.00	Arenoso-Argiloso	106	7,5YR3/2	2.06 ± 0.03	14 ± 2	2.8 ± 0.4	53.3 ± 0.8	2.1
P2 Bh 165-175	37.72	41.07	15.66	5.55	Argiloso-Arenoso	5060	7,5YR2/1	2.17 ± 0.03	5 ± 1	3 ± 1	45.2 ± 0.1	3.2
P2 Bh 180-183	*	*	*	*	*	5860	7,5YR3/3	2.36 ± 0.02	7 ± 1	1.3 ± 0.2	54 ± 6	2.9
P2 Bh 210	*	*	*	*	*	8480	10YR5/4	0.88 ± 0.01	191 ± 18	6 ± 4	37 ± 1	4.8
P2 Bh 280-310	70.08	23.74	0.33	5.84	Arenoso	6165	5YR2.5/1	1.42 ± 0.01	11 ± 1	5 ± 1	52 ± 3	7.8
P2 Bh 335-350	9.65	81.49	4.31	4.54	Arenoso	5590	5YR2.5/1	1.59 ± 0.02	8 ± 1	4 ± 1	53.7 ± 0.8	5.4
P3 A 0-20	64.62	30.53	4.35	0.50	Arenoso	107	10YR4/2	1.45 ± 0.01	14 ± 1	2.7 ± 0.2	41.3 ± 0.3	2.7
P3 A 20-30	48.35	44.30	5.85	1.51	Arenoso	105	10YR2/2	1.04 ± 0.03	20 ± 3	10 ± 2	46.99 ± 0.01	6.4
P3 A 30-40	*	*	*	*	*	460	10YR2/2	1.18 ± 0.03	22 ± 3	11 ± 2	40 ± 2	11.6
P3 Bh 110-120	*	*	*	*	*	2510	10YR4/2	0.47 ± 0.01	97 ± 12	24 ± 3	26.3 ± 0.1	11.7
P3 Bh 170-180	*	*	*	*	*	7570	10YR2/2	0.54 ± 0.01	39 ± 3	23 ± 2	50 ± 6	14.9
P3 Bh-C 270-280	*	*	*	*	*	*	2,5YR6/4	0.39 ± 0.01	661 ± 220	132 ± 44	51 ± 3	13.3
P3 Bh 370-380	30.31	59.52	7.16	3.02	Arenoso	9980	10YR2/2	0.71 ± 0.01	39 ± 2	20 ± 1	49.3 ± 0.3	24.8
P3 Bh 380-390	*	*	*	*	*	*	7,5YR3/3	0.58 ± 0.01	102 ± 10	37 ± 4	50.6 ± 0.5	21.8

* não analisado

Milori *et al.* (2002) mostraram que a excitação de 465nm resultou em dados com altas correlações com a aromaticidade medida pela Ressonância Magnética Nuclear (acrônimo em inglês RMN) e o número de radicais livres de semiquinona avaliados pela Ressonância Paramagnética Eletrônica (acrônimo em inglês EPR). Assim, a boa correlação obtida entre os valores H_{LIFS_M} e H_{465nm} confirmou que a matéria orgânica mais humificada nesses solos pertencia à fração de Ácido Húmico.

A reprodutibilidade dos valores do H_{LIFS_M} foi excelente, como mostrado na Figura 3, que compara dois conjuntos de valores obtidos das amostras do mesmo local, analisadas nos anos de 2012 e 2014. Isso confirmou a confiabilidade do fator de correção proposto e sua aplicabilidade em amostras de solo com variabilidade de cor do horizonte.

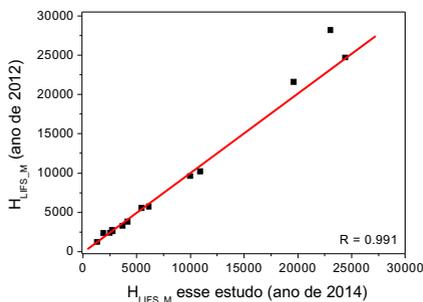


Figura 3 - Demonstração da aplicabilidade do fator de correção proposto nesse estudo.

As amostras dos horizontes Bh abaixo de 240 cm (solo P1) e 210 cm (solo P3) apresentaram maiores valores de índice de humificação, em comparação aos horizontes superficiais e ao solo P2. Para o solo P3, o maior valor H_{LIFS_M} foi encontrado para o horizonte Bh-C 270-280, enquanto no horizonte abaixo (Bh 370-380), foi observado acúmulo de carbono, mas o valor do índice de humificação foi menor, indicativo de menor quantidade carbono aromático condensado neste horizonte.

Para os solos P1 e P3, a variação do H_{LIFS_M} foi observada com o aumento da profundidade, enquanto que no solo P2 verificou-se baixa variação nos valores H_{LIFS_M} ($1,3 - 6,0 \times 10^3$). Os resultados obtidos nesse estudo estão de acordo com o obtido por González-Pérez *et al.* (2007), que mostraram que houve maior acúmulo de MO aromática conjugada e humificada nos horizontes mais profundos dos solos sob plantio direto e vegetação nativa, com menor humificação nos horizontes superficiais.

Segundo Bardy *et al.* (2008), o caráter aromático observado em horizontes de Bh de Espodosolos Amazônicos pode ser adquirido durante os processos de humificação e/ou percolação de material húmico. Este material de baixo tamanho molecular e alta solubilidade poderia migrar e acumular em horizontes macro-porosos, sugerindo que esse processo provavelmente ocorreu nos horizontes Bh mais profundos dos solos P1 e P3.

Segundo Senesi *et al.* (2016), a estabilização da MOS deve-se aos processos de humificação que ocorre não apenas pela incorporação de compostos recalcitrantes como a lignina e componentes fenólicos e alifáticos, mas também fragmentos moleculares menores e mais lábeis derivados da atividade microbiana do solo. Assim, os baixos valores de índice de humificação obtidos para MOS nos horizontes superficiais poderiam ser atribuídos à presença de matéria orgânica mais lábil (plantas e/ou compostos não húmicos da atividade microbiana), enquanto a decomposição da MOS aumentou com a profundidade. Esse aumento poderia ser explicado pelo movimento das moléculas mais solúveis de menor tamanho molecular para horizontes mais profundos, devido a processos físicos (tamanho) e químicos (afinidade mineral) (Bayer *et al.*, 2000; Senesi *et al.*, 2016).

Análise dos ácidos húmicos extraídos dos Espodosolos

Experimentos preliminares de fluorescência realizados para avaliar, minimizar e corrigir o possível efeito de filtro interno (Luciani *et al.*, 2009; Guo *et al.*, 2015) foram realizados. A Figura 4 apresenta esse estudo, o qual mostrou que até 15 mg L⁻¹ de ácido húmico não houve influência desses efeitos. Portanto, a concentração de AH empregada nas análises de fluorescência foi de 12,5 mg L⁻¹.

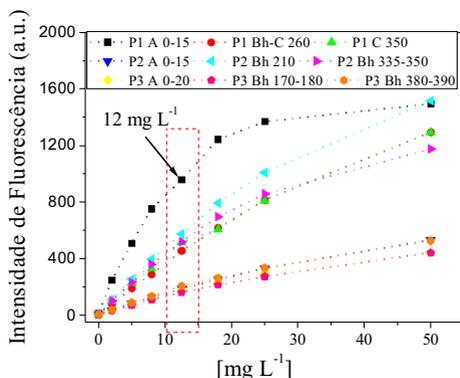


Figura 4 - Experimento para avaliar a concentração de ácido húmico empregada na Fluorescência com excitação em 465nm.

A Tabela 1 mostra os valores da % de carbono para os AH (%C) e índice de humificação (H_{465nm}) utilizados para avaliar o índice de humificação do solo. Os valores da %C nas frações de AH variaram de 45 a 56,2%, sendo os maiores valores obtidos nos horizontes Bh dos três solos: P1 Bh 40-50, P2 Bh 180-183, P3 Bh 170-180, P3 Bh-C 270-280 e P3 Bh 380-390. O AH presente nos horizontes do solo P1 mostrou um aumento gradual da %C com o decorrer da profundidade no horizonte P1 Bh 40-50, e uma diminuição subsequente nos horizontes Bh mais profundos. A %C do AH dos solos P2 e P3 apresentou padrão descontínuo nos horizontes superiores e maiores nos horizontes Bh mais profundos. Em geral, os valores H_{465} para o AH dos horizontes superficiais foram menores do que para os horizontes mais profundos e aumentaram progressivamente com a profundidade. Estes resultados sugerem que a presença de compostos aromáticos conjugados que aumentou com a profundidade dos horizontes de Bh (Allard, 2006; Zhang *et al.*, 2011).

A Figura 5 mostra os valores H_{LIFS_M} dos solos (Figura 5a) e os valores H_{465} dos AH (Figura 5b), em função da idade por radiocarbono nos horizontes, dos quais quatro grupos de solo podem ser visto.

Na Figura 5a e b, o primeiro grupo inclui solos de horizontes de superficiais com valores baixos de H_{LIFS_M} e idade de carbono mais recente, isto é, estruturas ricas em compostos lábeis. O segundo grupo de amostras de solos é observado apenas para horizontes de superfície que se referem a uma matéria orgânica

jovem, mas com humificação intermediária (H_{LIFS_M}). Este resultado demonstra a rápida contribuição das estruturas de carbono com anéis aromáticos condensados que possivelmente vem da recente atividade microbiana levando a uma matéria orgânica aromática condensada, mas nova. Uma hipótese sugerida é que este material orgânico é originado por vias de formação de polifenóis (condensação de polifenóis) e transformados em quinonas, que reagem com outros compostos (Wu *et al.*, 2017).

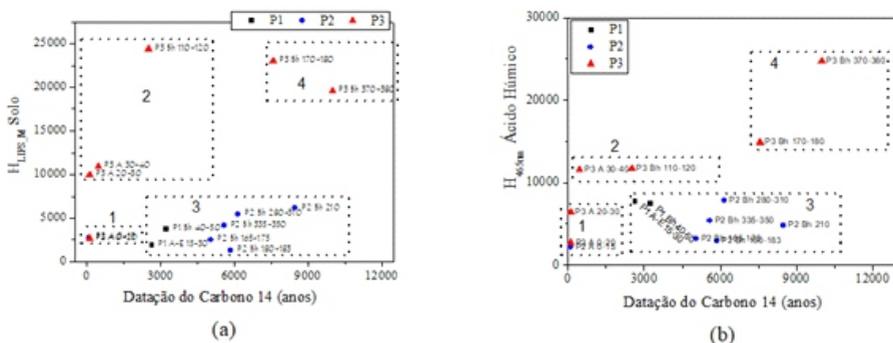


Figura 5 - Valores de (a) H_{LIFS_M} dos solos inteiros e (b) H_{465} dos ácidos húmicos em função da datação de carbono dos Espodosolos P1, P2 e P3

O terceiro grupo tem influência direta das águas subterrâneas e inclui o horizonte P1 A-E 15-30 e P1 Bh 40-50 e todos os horizontes Bh da P2. Eles apresentam baixa humificação para o solo (H_{LIFS_M}) e AH (H_{465}). No entanto, esse grupo mostra carbono mais antigo do que na superfície, que pode ser associado à presença de poucas modificações estruturais. Uma hipótese é que este grupo apresente compostos ricos em derivados de lignina. O quarto grupo incluiu amostras com o carbono mais antigo e altos valores de H_{LIFS_M} e H_{465} (Figura 5a e b). Além disso, esses resultados sugerem que o MOS nos horizontes de superfície inclui compostos simples e lábeis e pouco humificado, ao passo que os compostos humificados mais complexos são lixiviados e acumulados ou retidos em horizontes mais profundos enquanto a molécula pequena e menos condensada é direcionada pelo fluxo de água (Lucas *et al.*, 2012). Portanto, existem quatro tipos de matéria orgânica: - uma humificada, recalcitrante e antiga; - lábil e jovem; - pouco humificada e antiga; - humificada e jovem. Desta forma, o processo de humificação não tem relação direta com a datação do material orgânico.

Experimento da Lignina

Para avaliar a hipótese de estar associada à presença de estruturas contendo lignina e derivados de lignina no terceiro grupo (Figura 6). Um experimento exploratório foi realizado com a adição de quantidades controladas de lignina à amostra de Espodosolo que apresentou o maior índice de humificação, amostra P3 Bh-C 270-280. O valor do índice de humificação H_{LIFS_M} da amostra P3 Bh-C 270-280 diminuiu com o aumento das adições de lignina. Em particular, o

valor H_{LIFS_M} da amostra com 1, 5 e 10% de lignina relacionada à massa da pastilha (massa do solo 400 mg) apresentou valores aproximados de 19.798, 6.279 e 2.740, respectivamente (Figura 6a). Além disso, a determinação do índice de humificação A_{465nm} de uma solução de lignina foi realizado, conforme observado na Figura 6b. O resultado sugere que os ácidos húmicos presentes nos horizontes Bh, como P1 Bh-C 240, P1 Bh-C 260, P1 C 350, P3 Bh 170-180 e P3 Bh-C 270-280, obtiveram valores de A_{465nm} muito semelhantes ao A_{465nm} da lignina. Portanto, sugerindo que existe uma influência da lignina na composição de ácidos húmicos, uma vez que ambos têm a mesma intensidade de fluorescência (512 nm) conforme observado na Figura 6b. Os ácidos húmicos têm fluorescência mais intensa quando comparados com a lignina, o que pode ser explicado com o fato de que o ácido húmico possui mais compostos, como grupos carboxílicos, fenóis e aminas.

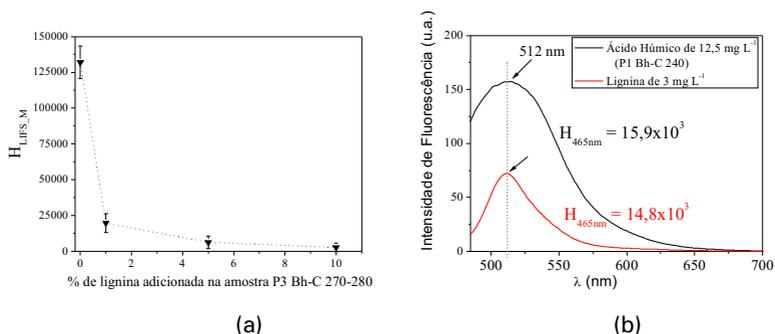


Figura 6 - (a) valores de H_{LIFS} em função da quantidade de lignina adicionada na amostra P3 Bh-C 270-280, e (b) espectro de fluorescência de emissão da solução de 3 mg L^{-1} lignina e 12.5 mg L^{-1} ácido húmico (amostra P1 Bh-C 240).

No geral, os resultados obtidos com as pastilhas de lignina de solo e em solução, sugeriram que as características da lignina eram muito semelhantes às dos ácidos húmicos (Fig. 2b, Tabela 1), que apresentavam valores intermediários de índice de humificação (de 14.000 a 22.000) e idades intermediárias. Outra característica interessante foi que o AH presente no solo P2 apresentou características diferentes e um baixo valor de índice de humificação, sugerindo que o AH foi derivado de outras rotas de formação. Isso leva à hipótese de que os ácidos húmicos presentes nos Espodosolos Amazônicos foram formados a partir da lignina modificada (teoria clássica) e a outra via de formação sugerida seria de polifenol (condensação dos polifenóis).

Esses resultados possibilitaram uma proposta de modelo para os três perfis de Espodosolos na Amazônia. No perfil P1, houve um acúmulo de material orgânico fresco com baixo índice de humificação, que foi deslocado com a profundidade por meio de processos físicos e químicos. As águas subterrâneas presentes no perfil auxiliaram na translocação de material orgânico mais antigo e mais humificado para horizontes mais profundos. Comportamento semelhante foi observado para o perfil P3 até uma profundidade de 280 cm (P3 Bh 270-

280), enquanto abaixo deste horizonte observou-se quantidades de material orgânico humificado, o que poderia ser atribuído à presença de compostos mais recalcitrantes derivados de lignina. O perfil P2 apresentou algumas características interessantes, sendo o carbono acumulado no horizonte P2 Bh 180-183 antigo e mais humificado. Isso pode ser explicado pela presença de um horizonte impermeável acima do horizonte P2 Bh 180-183, e que resultou no material orgânico mais antigo nos horizontes mais profundos. Esse material orgânico extremamente antigo e com baixo índice de humificação foi associado à presença de estruturas semelhantes à lignina neste horizonte. Além disso, o nível de água subterrânea neste solo poderia ter facilitado a contribuição da atividade microbiológica (decomposição) e o deslocamento de moléculas com maior solubilidade, menor tamanho molecular e maior humificação para horizontes Bh mais profundos, como os horizontes P2 Bh 280-310 e P2 Bh 335-350.

Estes resultados demonstraram que o LIFS e a espectroscopia de fluorescência clássica podem ser usados como técnicas sensíveis para observar mudanças estruturais na composição da matéria orgânica e frações húmicas extraídas de Espodossolos Amazônico. Uma consideração adicional é que essas técnicas contribuem para o uso da química verde em estudos ambientais.

Conclusão

Ácidos húmicos dos Espodossolos Amazônicos mostraram características estruturais que dependeram do processo pedológico, como observado por meio de dois índices de humificação (H_{LIFS-M} e H_{465}), datação de solo e testes empregando lignina.

Os resultados mostraram que existem quatro tipos de matéria orgânica: - uma humificada, recalcitrante e antiga; - lábil e jovem; - pouco humificada e antiga; - humificada e jovem. Fatores como textura do solo, presença de água, microorganismos e idade influenciaram os processos de formação e humificação do material orgânico. Além disso, os compostos orgânicos do tipo lignina pareciam estar preservados por muitos anos nos horizontes mais profundos do solo. Portanto, não houve associação direta entre o processo de humificação e a idade da matéria orgânica nos Espodossolos da Amazônia.

Destaque

Este estudo resultou na seguinte publicação: *“Tadini, A.M., Nicolodelli, G., Senesi, G.S., Ishida, D.A., Montes, C.R., Lucas, Y., Mounier, S., Guimarães, F.E.G., Milori, D.M.B.P. 2018. Soil organic matter in podzol horizons of the Amazon region: Humification, recalcitrance, and dating. Science of The Total Environment, 613, 160-167.”*

Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, bolsas # 2011/03250-2, # 2012/51469-6, # 2013/07276-1, e #2013/13013-3) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, bolsas nº 303478/2011-0, nº 306674/2014-9, nº 150087/2017-9 e nº 232225/2014-1-SWE). Os autores também gostariam de agradecer à Embrapa Instrumentação e à ANR francesa (Agência Nacional de Pesquisa, concessão #ANR-12-IS06-0002 "C-PROFOR") pelo apoio a esta pesquisa.

Referência Bibliográfica

ALLARD, B. A comparative study on the chemical composition of humic acids from forest soil, agricultural soil and lignite deposit Bound lipid, carbohydrate and amino acid distributions. **Geoderma**, n. 130, p. 77–96, 2006.

BARDY, M.; FRITSCH, E.; DERENNE, S.; ALLARD, T.; NASCIMENTO, N. R.; BUENO, G. T. Micromorphology and spectroscopic characteristics of organic matter in waterlogged podzols of the upper Amazon basin. **Geoderma**, n. 145, p. 222–230, 2008.

BAYER, C.; MARTIN-NETO, L.; MIELNICZUK, J.; CERETTA, C. A. Effect of no-till cropping system on soil organic matter in a sandy clay loam Acrisol from Southern Brazil monitored by electron spin resonance and nuclear magnetic resonance. **Soil & Tillage Research**, v.53, p.95-104, 2000.

BRAVARD, S., RIGHI, D. Characterization of fulvic and humic acid from an oxisol-spodosol toposequence of Amazonia, Brazil. **Geoderma**, n. 48, v. 1-2, p. 151-162, 1991.

BRAVARD, S.; RIGHI, D. The Dynamics of organic matter in a latosol-podzol toposequence in Amazonia (Brazil). **Developments in Geochemistry**, n. 6, p. 407 – 417, 1991.

BURGUES, A.; HURST, H. M.; WALKDEN, S. B.; DEAN, F. M.; HIRST, M. Nature of Humic Acids. **Nature**, n. 4894, 1963.

CERRI, C. C.; BERNOUX, M.; ARROUAYS, D.; FEIGL, B. J.; PICCOLO, M. C., 2000. Carbon stocks in soils of the Brazilian Amazon. In: Kimble, R. L. J. M.; Stewart, B. A. (Ed.). **Global Climate Change and Tropical Ecosystems. Advances in Soil Science**. CRC Press, p. 438, 1999.

DOUPOUX, C.; MERDY, P.; MONTES, C.R.; NUNAN, N.; MELFI, A.J.; PEREIRA, O. J. R.; LUCAS, Y. Modelling the genesis of equatorial podzols: age and implications for carbon fluxes. **Biogeosciences**, n. 14, p. 2429–2440. 2017.

SANTOS, H. G. dos; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C. dos; OLIVEIRA, V. A. de; OLIVEIRA, J. B.; COELHO, M. R.; LUMBRERAS, J. F.; CUNHA, T. J. F. (Ed.). **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 306 p. 2006.

FLAIG, W. Biochemical factors in coal formation in coal formation. Gaertner, H. R.; Wehner, H. (Ed). **Advances in Organic Geochemistry**, Pergamon Press, p. 197-232, 1972.

GONZÁLEZ-PÉREZ, M.; MILORI, D.M.B.P.; COLNAGO, L.A.; MARTIN-NETO, L.; MELO, W.J.A. Laser-induced fluorescence spectroscopic study of organic matter in a Brazilian Oxisol under different tillage systems. **Geoderma**, n. 138, p. 20-24, 2007.

GUO, X. J.; ZHU, N.; CHEN, L. Characterizing the fluorescent properties and copper complexation of dissolved organic matter in saline-alkali soils using fluorescence excitation-emission matrix and parallel fact. **Journal Soils Sediments**, n. 15, p. 1473–1482, 2015.

HATCHER, P. G.; MACIEL, G. E.; DENNIS, L. W. Aliphatic structure of humic acids; a clue to their origin. **Organic Geochemistry**, v. 3, n. 1-2, p. 43-48, 1981.

HEDGES, J.; ERTEL, J. R. The lignin component of humic substances: Distribution among soil and sedimentary humic, fulvic, and base-insoluble fractions. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 48, n. 10, p. 2065-2074, 1984.

JEX, C. N.; PATE, G. H.; BLYTH, A. J.; SPENCER, R. G. M.; HERNES, P. J.; KHAN, S. J.; BAKER, A. Lignin biogeochemistry: From modern processes to Quaternary archives. **Quaternary Science Reviews**, v. 87, p. 46–59, 2014.

KALBITZ, K.; GEYER, W.; GEYER, S. Spectroscopic properties of dissolved humic substances – a reflection of land use history in a fen area. **Biogeochemistry**, v. 47, p. 219-238, 1999.

LUCAS, Y. ; MONTES, C. R. ; MOUNIER, S.; LOUSTAU CAZALET, M. ; ISHIDA, D.; ACHARD, R.; GARNIER, C.; COULOMB, B.; MELFI, A. J. Biogeochemistry of an Amazonian podzol-ferralsol soil system with white kaolin. **Biogeosciences**, n. 9, p. 3705-3720, 2012.

LUCIANI, X.; MOUNIER, S.; REDON, R.; BOIS, A. A simple correction method of inner filter effects affecting FEEM and its application to the PARAFAC decomposition. **Chemometrics Intelligent Laboratory Systems**, v. 96, n. 2, p. 227-238, 2009.

MARTINS, T.; SAAB, S. C.; MILORI, D. M. B. P.; BRINATTI, A. M.; ROSA, J. A.; CASSARO, F. A. M.; Pires, L. F. Soil organic matter humification under diferente tillage managements evaluated by Laser Induced Fluorescence (LIF) and C/N ratio. **Soil and Tillage Research**, v. 111, n. 2, p. 231-235, 2011.

MILORI, D. M. B. P.; GALETI, H. V. A.; MARTIN-NETO, L.; DIECKOW, J.; GONZÁLEZ-PÉREZ, M.; BAYER, C.; SALTON, J. Organic matter study of whole soil samples using laser-induced fluorescence spectroscopy. **Soil Science Society of America Journal**, v. 70, n. 1, p. 57-63, 2006.

MILORI, D. M. B. P.; MARTIN-NETO, L.; BAYER, C.; MIELNICZUK, J.; BAGNATO, V. S. Humification degree of soil humic acids determined by fluorescence spectroscopy. **Soil Science**, v. 167, p. 739-749, 2002.

MILORI, D. M. B. P.; SEGNINI, A.; SILVA, W. T. L.; POSADAS, A.; MARES, V.; QUIROZ, R.; MARTIN-NETO, L. Emerging techniques for soil carbon measurements. **Research Program on Climate Change, Agriculture and Food Security**, n. 2, 2011.

MONTES, C. R.; LUCAS, Y.; PEREIRA, O. J. R.; ACHARD, R.; GRIMALDI, M.; MELFI, A. J. Deep plant-derived carbon storage in Amazonian podzols. **Biogeosciences**, v. 8, p. 113-120, 2011.

PEREIRA, O. J. R.; MONTE, C. R.; LUCAS, Y.; MELFI, A. J. Use of remote sense imagery for mapping deep plant-derived carbon storage in Amazonian podzols in regional scale. **IEEE International Symposium on Geoscience and Remote Sensing**, Bourne, Australia, 2013.

PEREIRA, O. J. R.; MONTE, C. R.; LUCAS, Y.; SANTIN, R. C.; MELFI, A. J. A multi-sensor approach for mapping plant-derived carbon storage in Amazonian podzols. **International Journal Remote Sensing**, v. 36, n. 8, p. 2076-2092, 2015.

PICCOLO, A. Humus and soil conservation. In: **Humic Substances in Terrestrial Ecosystems**, Amsterdam: Elsevier, p. 225-264, 1996.

SANTOS, C. H.; NICOLODELLI, G.; ROMANO, R. A.; TADINI, A. M.; VILLAS-BOAS, P. R.; MONTES, C. R.; MOUNIER, S.; MILORI, D. M. B. P. Structure of humic substances from some regions of the Amazon assessed coupling 3D fluorescence spectroscopy and CP/PARAFAC. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 26, n. 6, p. 1136-1142, 2015.

SANTOS, C. H.; ROMANO, R. A.; NICOLODELLI, G.; CARVALHO, C. M.; VILLAS-BOAS, P. R.; MARTIN-NETO, L.; MONTES, C. R.; MELFI, A. J.; MILORI, D. M. B. P. Performance evaluation of a portable laser-induced fluorescence spectroscopy system for the assessment of the humification degree of the soil organic matter. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 26, n. 6, p. 775-783, 2015.

SANTOS, R. D.; LEMOS, R. C.; SANTOS, H. G.; KER, J. C.; ANJOS, L. H. C. Manual de descrição e coleta de solo no campo. 5. ed. Viçosa: **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, p. 100, 2005.

SENESI, G. S.; MARTIN-NETO, L.; VILLAS-BOAS, P. R.; NICOLODELLI, G.; MILORI, D. M. B. P. Laser-based spectroscopic methods to evaluate the humification degree of soil organic matter in whole soils: a review. **Journal of Soils and Sediments**, v. 18, n. 4, p. 1242-1302, 2016.

SENESI, N.; MIANO, T. M.; PROVENZANO, M. R.; BRUNETTI, G. Characterization, differentiation and classification of humic substances by fluorescence spectroscopy. **Soil Science**, v. 152, p. 259-271, 1991.

TADINI, A. M.; NICOLODELLI, G.; MOUNIER, S.; MONTES, C. R.; MILORI, D. M. B. P. The importance of humin in soil characterisation: A study on Amazonian soils using different fluorescence techniques. **Science Total Environment**, v. 537, p. 152–158, 2015.

TADINI, A. M.; NICOLODELLI, G.; SENESI, G. S.; ISHIDA, D. A.; MONTES, C. R.; LUCAS, Y.; MOUNIER, S.; GUIMARÃES, F. E. G.; MILORI, D. M. B. P. Soil organic matter in podzol horizons of the Amazon region: Humification, recalcitrance, and dating. **Science of the Total Environment**, v. 613, p.160-167, 2018.

WU, J.; ZHAO, Y.; ZHAO, W.; YANG, T.; ZHANG, X.; XIE, X.; CUI, H.; WEI, Z. Effect of precursors combined with bacteria communities on the formation of humic substances during different materials composting. **Bioresource Technology**, v. 226, p. 191-199, 2017.

ZHANG, Y.; HAN, G.; JIANG, T.; HUANG, Y.; LI, G.; GUO, Y.; YANG, Y. Structure characteristics and adhesive property of humic substances extracted with different methods. **Journal of Central South University Technology**, v. 18, n. 4, p. 1041–1046, 2011.

ZSOLNAY, A.; BAIGAR, E.; JIMENEZ, M.; STEINWEG, B.; SACCOMANDI, F. Differentiating with fluorescence spectroscopy the sources of dissolved organic matter in soils subjected to drying. **Chemosphere**, v. 38, p. 45-50, 1999.



Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

Embrapa Instrumentação

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Rua XV de Novembro, 1452 - Caixa Postal 741 - CEP 13560-970 - São Carlos - SP

Telefone: (16) 2107 2800 - Fax: (16) 2107 2902

www.embrapa.br/instrumentacao



MINISTÉRIO DA
**AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO**

