

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE, UNICENTRO-PR

**ÁCIDOS HÚMICOS DE SOLOS EM DIFERENTES
FORMAÇÕES FLORESTAIS NA FLORESTA
NACIONAL DE IRATI, PR**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

HILBERT BLUM

IRATI-PR

2010

HILBERT BLUM

**ÁCIDOS HÚMICOS DE SOLOS EM DIFERENTES FORMAÇÕES FLORESTAIS NA
FLORESTA NACIONAL DE IRATI, PR**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Centro-Oeste, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais, área de concentração em Manejo Sustentável dos Recursos Florestais, para a obtenção do título de Mestre.

Prof(a). Dr(a). Kátia Cylene Lombardi

Orientadora

Prof. Dr. Antonio Salvio Mangrich

Co-orientador

IRATI-PR

2010

Catálogo na Fonte
Biblioteca da UNICENTRO - *Campus* de Irati

B658a BLUM, Hilbert.
Ácidos húmicos de solos em diferentes formações florestais na Floresta Nacional de Irati, PR / Hilbert Blum. – Irati, PR : UNICENTRO, 2010.

49p.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Centro-Oeste, PR

Orientador : Professora Dra. Kátia Cylene Lombardi

Co-Orientador : Professor Dr. Antonio Salvio Mangrich

1. Engenharia Florestal – dissertação. 2. Manejo sustentável.
3. Solo – solos. 4. Espectroscopia. 5. Carbono – sequestro.
I. Lombardi, Kátia Cylene. II. Mangrich, Antonio Salvio.
III. Título.

CDD 20^a ed. 634.95



Universidade Estadual do Centro-Oeste

Reconhecida pelo Decreto Estadual nº 3.444, de 8 de agosto de 1997


PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM CIÊNCIAS FLORESTAIS


PARECER


Defesa Nº 11

A Banca Examinadora instituída pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Florestais, do Setor de Ciências Agrárias e Ambientais, da Universidade Estadual do Centro-Oeste, *Campus* de Irati, após arguir o mestrando **Hilbert Blum** em relação ao seu trabalho de dissertação intitulado "ÁCIDOS HÚMICOS DE SOLOS EM DIFERENTES FORMAÇÕES FLORESTAIS NA FLORESTA NACIONAL DE IRATI, PR", é de parecer favorável à **APROVAÇÃO** do estudante, habilitando-o ao título de **Mestre em Ciências Florestais**, Área de Concentração em Manejo Sustentável de Recursos Florestais.

Irati-PR, 03 de março de 2010.


Dr.ª Lara Messerschmidt
Universidade Federal do Paraná
Primeira Examinadora


Dr. Marcos Vinicius Winckler Caldeira
Universidade Federal do Espírito Santo
Segundo Examinador


Dr.ª Kátia Cylene Lombardi
Universidade Estadual do Centro-Oeste
Orientadora e Presidente da Banca Examinadora

Home Page: <http://www.unicentro.br>

À minha esposa Vanessa, pelo amor e companheirismo e
aos meus pais João e Gina, pelo carinho e confiança.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar presente em todos os dias de minha vida abençoando a mim e a toda minha família.

Ao meu amor Vanessa e meus pais, João e Gina a quem dedico esta dissertação.

A professora Dr^a Kátia Cylene Lombardi, pela orientação e principalmente pela amizade e confiança.

Ao professor Dr^o Marcos Vinicius Winckler Caldeira pelo apoio e incentivo.

A meus colegas de laboratório Odiméia, Martila e Grazi, pela dedicação e ajuda nos trabalhos.

Aos meus amigos de apoio no trabalho de campo, Ademar, Gabriel, Diego, Rafael e Eduardo.

Aos meus colegas de curso Flávio, Enrique, Rodrigo, Jean, Carlos e André pelo companheirismo e momentos de descontração.

Ao LABPAM DQ/UFPR pelo apoio nas análises espectroscópicas, principalmente ao professor Antonio Salvio Mangrich e professora Iara Messerschmidt.

Aos meus amigos de tempo de graduação e irmãos: Rafael, Mariana, “Cissa”, Miller e Libna, “Baia”, Felipe e Lucieli, Guilherme e Luciana, “Dougrão” e “Cabelo” pela amizade acima do tempo e distância.

Ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Florestais da Universidade Estadual do Centro-Oeste - UNICENTRO.

Aos professores e funcionários do Departamento de Engenharia Florestal, UNICENTRO.

A Fundação Araucária pelo apoio financeiro e bolsa concedida para execução desta dissertação.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	I
LISTA DE TABELAS	II
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS	III
RESUMO	IV
ABSTRACT	V
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	3
2.1 <i>Objetivo Geral</i>	3
2.2 <i>Objetivos Específicos</i>	3
3. REFERENCIAL TEÓRICO	4
3.1 <i>Floresta Ombrófila Mista</i>	4
3.2 <i>Matéria Orgânica e o Carbono Orgânico do solo</i>	6
3.3 <i>Substâncias húmicas</i>	8
3.4 <i>Espectroscopia de Infravermelho</i>	10
3.5 <i>Espectroscopia do ultravioleta visível por reflectância difusa (DRUV-Vis)</i>	12
3.6 <i>Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR)</i>	13
4. MATERIAIS E MÉTODOS	18
4.1 <i>Caracterização da área de estudo</i>	18
4.1.2. Solos	18
4.2.2. Formações Florestais	20
4.3 <i>Material experimental</i>	22
4.3.1. Amostras de solo	22
4.3.2 Extração de ácidos húmicos	23
4.3.3 Caracterização de ácidos húmicos	27
4.3.3.1 Caracterização por Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	27
4.3.3.2. Caracterização por Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR)	27
4.3.3.3. Caracterização por espectroscopia de ultravioleta visível por reflectância difusa (DRUV-VIS)	28
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
5.1 <i>Espectroscopia de DRUV-VIS</i>	29
5.2 <i>Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier por transmitância (FTIR)</i>	31
5.3 <i>Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR)</i>	36
5.3.1. Densidade de spin	39
6. CONCLUSÕES	42
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mapa da Classificação da Vegetação do Brasil (Fonte: IBGE, 2010).....	4
Figura 2. Reações da degradação da MO em condições aeróbias e anaeróbias. Fonte: FERREIRA, 2006.	7
Figura 3. Estrutura esquemática proposta para AH mostrando os diversos grupos funcionais, estruturas aromáticas e alifáticas. Fonte: SCHULTEN, 1995).....	10
Figura 4. Espectro de EPR de pó em tubo de quartzo de caulinita exemplificando sinais de domínios concentrados e diluídos de Fe^{3+} (LOMBARDI <i>et al.</i> , 2002).	15
Figura 5. Espectros de EPR de ácidos húmicos mostrando as nove linhas características de Cu^{2+} ligado a quatro nitrogênios (LOMBARDI, 2005).....	16
Figura 6. Mapa de ocorrência das classes de solos na FLONA de Irati com a área de estudo demarcada – u.a. (Fonte: MAZZA <i>et al.</i> , 2005).	20
Figura 7. Mapa de localização dos experimentos na FLONA de Irati, Paraná. Fonte: Rode (2008).	22
Figura 8. Amostragem sistemática do solo dentro de uma parcela de 1 ha.....	23
Figura 9. Amostras de solo separadas por profundidades e por formação florestal. Fonte: Autor (2008).	23
Figura 10. Ácido fúlvico e ácido húmico filtrado em lã de vidro e acidificação para separação do ácido húmico e fúlvico.	24
Figura 11. Processo de decantação repetido três vezes para purificação do ácido húmico.....	25
Figura 12. Fluxograma do processo de extração do ácido húmico.	26
Figura 13. Espectros de DRUV-VIS de AH de solos nas profundidades 0-20 e 20-40 cm, para cada formação florestal (Floresta Ombrófila Mista Montana-FOM, plantios de <i>Araucaria angustifolia</i> -ARA e de <i>Pinus elliottii</i> -PIN).	29
Figura 14. Espectros de DRUV-VIS de AH analisados nas profundidades 40-60 e 60-80 cm, para cada formação florestal (Floresta Ombrófila Mista Montana-FOM, plantios de <i>Araucaria angustifolia</i> -ARA e de <i>Pinus elliottii</i> -PIN).	30
Figura 15. Espectros de FTIR por transmitância das formações florestais ARA, FOM e PIN na profundidade 0-20 cm.	33
Figura 16. Espectros de FTIR por transmitância das formações florestais ARA, FOM e PIN na profundidade 20-40 cm.	34
Figura 17. Espectros de FTIR por transmitância das formações florestais ARA, FOM e PIN na profundidade 40-60 cm.	35
Figura 18. Espectros de FTIR por transmitância das formações florestais ARA, FOM e PIN na profundidade 60-80 cm.	36
Figura 19. Espectros de EPR dos ácidos húmicos de solos sob Floresta Ombrófila Mista Montana (FOM), Plantio de <i>Araucaria angustifolia</i> (ARA) e Plantio de <i>Pinus elliottii</i> (PIN), na profundidade 0-20 cm, em campo magnético de 5000 Gauss.	37
Figura 20. Espectros de EPR dos ácidos húmicos de solos sob Floresta Ombrófila Mista Montana (FOM), Plantio de <i>Araucaria angustifolia</i> (ARA) e Plantio de <i>Pinus elliottii</i> (PIN), na profundidade 20-40 cm (A) e 40-60 cm (B).	38
Figura 21. Espectros de EPR dos ácidos húmicos de solos sob Floresta Ombrófila Mista Montana (FOM), Plantio de <i>Araucaria angustifolia</i> (ARA) e Plantio de <i>Pinus elliottii</i> (PIN), na profundidade 60-80 cm, em campo magnético de 5000 Gauss.	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Razão E_4/E_6 para as amostras de ácidos húmicos de cada formação por profundidade.....	31
Tabela 2. Atribuições das principais bandas de infravermelho encontradas nas amostras de AH de solos das formações florestais FOM, ARA e PIN.	32
Tabela 3. Densidade de Spin das amostras de ácido húmico nas profundidades de 0-20, 20-40, 40-60 e 60-80 cm para as formações florestais ARA, FOM e PIN.....	40
Tabela 4. Teor de matéria orgânica e carbono das amostras de solo nas profundidades de 0-20, 20-40, 40-60 e 60-80 cm das formações florestais ARA, FOM e PIN.....	41

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

<i>AF</i>	Ácido fúlvico
<i>AH</i>	Ácido húmico
<i>ARA</i>	Plantio de <i>Araucaria angustifolia</i>
<i>BM</i>	Biomassa microbiana
<i>COS</i>	Carbono Orgânico do Solo
<i>COT</i>	Carbono Orgânico Total
<i>Da</i>	Dalton (unidade de medida)
<i>E₄/E₆</i>	Razão entre a absorbância 465 nm e 665 nm
<i>EPR</i>	Ressonância Paramagética Eletrônica
<i>FLONA</i>	Floresta Nacional de Irati
<i>FOM</i>	Floresta Ombrófila Mista Montana
<i>FTIR</i>	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier
<i>ha</i>	Hectare
<i>HU</i>	Humina
<i>MOS</i>	Matéria Orgânica do Solo
<i>Pg</i>	Petagrama (unidade de medida)
<i>PIN</i>	Plantio de <i>Pinus elliottii</i>
<i>RLO</i>	Radical Livre Orgânico
<i>rpm</i>	Rotação por minuto
<i>SH</i>	Substâncias Húmicas
<i>UFPR</i>	Universidade Federal do Paraná
<i>DRUV-Vis</i>	Ultravioleta visível por Reflectância Difusa

RESUMO

Hilbert Blum. Ácidos Húmicos de Solos em Diferentes Formações Florestais na Floresta Nacional de Irati, PR.

Este estudo teve como objetivo identificar a contribuição de plantios de *Araucaria angustifolia* e de *Pinus elliottii* com 50 anos nas características dos ácidos húmicos dos solos formados sob Floresta Ombrófila Mista Montana, na FLONA/PR. Foram coletadas quarenta subamostras de solo que compuseram uma amostra composta para cada uma das três formações florestais: Floresta Ombrófila Mista Montana (FOM), Plantio de *Araucaria angustifolia* (ARA) e Plantio de *Pinus elliottii* (PIN). Foram extraídos ácidos húmicos segundo a metodologia de Isolamento de Substâncias Húmicas do Laboratório de Química Agrária da Universidade de Napoli, Itália, por Alessandro Piccolo. Para a caracterização dos ácidos húmicos extraídos das amostras de solo foram utilizados três métodos espectroscópicos: Espectroscopia no Ultravioleta Visível por Reflectância Difusa (DRUV-Vis), Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) e Espectroscopia por Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR). O AH da formação Plantio de *Pinus elliottii* (PIN), na profundidade de 0-20 cm, apresentou maior valor para razão E_4/E_6 calculada a partir dos espectros de DRUV-Vis e menor relação entre as intensidades das bandas em 1720 e 1620 cm^{-1} nos espectros de FTIR, indicando assim menor massa molar e menor condensação dos carbonos aromáticos. Na análise dos espectros de EPR a amostra FOM na profundidade 0-20 cm apresentou sinal para domínios diluídos de Fe^{3+} , $g = 4,3$, com maior intensidade, sugerindo que o ácido húmico dessa formação tem maior teor de ferro em domínios diluídos. Para a formação PIN (Plantio de *Pinus elliottii*) a densidade de spin da amostra, ao contrário das outras duas formações, manteve-se praticamente constante, da mesma forma que o teor de carbono em profundidade no solo. A respeito do potencial de solos florestais em sequestrar carbono pode-se indicar que uma floresta de *Pinus elliottii* de 50 anos tem potencial de sequestrar carbono, pelo fato da matéria orgânica dessa formação sofrer um processo lento de decomposição. Assim o ácido húmico desse solo permanece mais tempo em processo de humificação e o carbono das estruturas do ácido húmico da mesma forma ficam mais tempo sequestrados no solo. Apesar dos plantios de Araucária e da Floresta Ombrófila Mista Montana apresentar processo de decomposição da matéria orgânica mais acelerada, as estruturas formadas são mais aromáticas e condensadas, tornando o AH mais resistente a outros processos de decomposição microbiana e seu carbono também sequestrado. Assim faz-se necessário o estudo sobre sistemas de manejo dos solos florestais visando à conservação do solo, bem como das substâncias húmicas para a garantia da permanência do carbono sequestrado nos solos e nas substâncias húmicas.

Palavras-Chave: floresta, ácidos húmicos, espectroscopia, sequestro de carbono, formações florestais.

ABSTRACT

Hilbert Blum. Humic Acids of Soils in Different Forest Formations in Irati National Forest, PR.

This study aimed to identify the contribution of plantations of *Araucaria angustifolia* and *Pinus elliottii* with 50 years in the characteristics of humic acids of soils formed under Mixed Montane Ombrophylous Forest in FLONA/PR. Forty subsamples were collected from soil that comprised a composite sample for each of the three forest types: Forest Montana (FOM), Plantation of *Araucaria angustifolia* and *Pinus elliottii*. Humic acids were extracted according to the methodology of Isolation of Humic Substances of Agricultural Chemistry Laboratory, University of Napoli, Italy, by Alessandro Piccolo. For the characterization of humic acids extracted from soil samples using three spectroscopic methods: Ultraviolet Visible Spectroscopy of Diffuse Reflectance (DRUV-Vis) Spectroscopy Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy and Electron Paramagnetic Resonance (EPR). AH training Planting *Pinus elliottii* (PIN) at a depth of 0-20 cm, showed a higher value for E_4/E_6 ratio calculated from the spectra of DRUV-Vis and lower ratio of the intensities of the bands in 1720 and 1620 cm^{-1} in FTIR spectra, thus indicating lower molecular weight and lower condensation of aromatic carbons. In the analysis of EPR spectra of sample FOM at 0-20 cm depth showed signal for domains diluted Fe^{3+} , $g = 4.3$, with greater intensity, suggesting the formation of humic acid has a higher iron content in areas thinned. For the formation of PIN (*Pinus elliottii*) spin density of the sample, unlike the other two formations, remained practically constant in the same way that carbon deep in the soil. Regarding the potential to sequester carbon in forest soils may indicate that a forest of *Pinus elliottii* 50 years has the potential to sequester carbon, because the formation of organic matter undergoing a slow decomposition process. So that soil humic acid remains longer in the process of humification and the carbon structures of humic acid likewise spend more time sequestered in soil. Although the plantations of Araucaria and Natural Forest present process of decomposition of organic matter more rapidly, the structures formed are more aromatic and condensed, making HA more resistant to other processes of microbial decomposition and its carbon. Thus it is necessary to study the management systems of forest soils for conservation of soil and humic substances to guarantee the permanence of carbon sequestered in soil and humic substances.

Keywords: (forest, humic acids, spectroscopy, carbon sequestration).

1. INTRODUÇÃO

A questão ambiental e principalmente a discussão sobre o aquecimento global e emissão de gás carbônico na atmosfera está cada vez mais presente no dia-a-dia, não só da população científica, mas também da população em geral.

Pesquisas abordando esse assunto são cada vez mais presentes, porém, ainda muitas dúvidas são questionadas e muitas hipóteses sobre ações mitigadoras do aquecimento global são levantadas.

O seqüestro do carbono através de reflorestamentos e florestamentos bem como na conservação das florestas naturais são ações mitigadoras muito discutidas no meio científico, mas pouco se fala sobre o seqüestro de carbono através do solo sob essas florestas. Muitos estudos comprovam que o carbono seqüestrado por florestas não se resume apenas ao carbono presente na estrutura lenhosa das árvores, mas sim também ao carbono seqüestrado dentro do perfil do solo oriundo da decomposição da matéria orgânica da serrapilheira depositada nessas florestas.

O potencial para seqüestrar carbono de qualquer solo depende da sua capacidade em estocar componentes resistentes de plantas em médio prazo e em proteger e acumular substâncias húmicas (SH) formadas pelas transformações de materiais orgânicos de animais e plantas, principalmente, no ambiente dos solos. A formação das SH depende de características intrínsecas de cada solo, como a vegetação que suporta, sua composição mineralógica, profundidade, drenagem, disponibilidade de água e ar, temperatura e tipo de manejo empregado. O potencial para seqüestrar carbono também depende das características químicas da matéria orgânica dos solos e sua resistência à decomposição microbiana (OLENDZKI, 2006).

Segundo Bayer e Mielniczuk (1997), a matéria orgânica do solo (MOS) constitui o maior reservatório de carbono da superfície terrestre. Este reservatório é dinâmico, podendo variar em decorrência de práticas de manejo. Assim, são importantes os estudos que direcionem o entendimento do comportamento do carbono no solo e a relação desse comportamento com diferentes técnicas de manejo e espécies florestais.

Zech *et al.* (1997) descrevem que cerca de 10 a 15% da reserva total de carbono orgânico (CO) nos solos minerais é constituída por macromoléculas (proteínas e aminoácidos, carboidratos simples e complexos, resinas, ligninas e outras), e 85 a 90% pelas substâncias húmicas.

Segundo Stevenson (1994) o fracionamento das substâncias húmicas do solo resulta

em três principais frações químicas, denominadas ácidos fúlvicos (AF), ácidos húmicos (AH) e humina (H).

O ácido húmico é uma fração da matéria orgânica responsável por uma grande quantidade do carbono que realmente permanece no solo. Segundo estudos, alguns ácidos húmicos permanecem por centenas até milhares de anos no solo. Assim, o estudo de ácidos húmicos e de sua composição é de suma importância para se estabelecer modelos destas moléculas, dando assim um subsídio para uma futura quantificação do carbono fixo em solos sob floresta, visando também contabilizar essa quantificação para créditos de carbono (BLUM *et al.*, 2009).

São estudados os ácidos húmicos de solos sob diferentes sistemas de manejo, comparando-se sistemas convencionais com conservacionistas, focados na manutenção ou melhoria da qualidade dos solos. Nestes estudos são utilizados solos sob florestas nativas como sistemas mais estáveis (PÉREZ *et al.*, 2004; SPACCINI *et al.*, 2008; TATZBER *et al.*, 2008).

Na Floresta Nacional de Irati (FLONA), ocorrem áreas com Floresta Atlântica, denominada especificamente como Floresta Ombrófila Mista Montana (FOM) (IBGE, 1992; IBGE, 2010), e plantios de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze e de *Pinus elliottii* Engelm com aproximadamente 50 anos. Destas áreas foram estudados os ácidos húmicos com o objetivo de identificar a contribuição desses plantios nas características dos ácidos húmicos dos solos formados sob FOM, na FLONA/PR.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Identificar a contribuição de plantios de *Araucaria angustifolia* e de *Pinus elliottii* com 50 anos nas características dos ácidos húmicos dos solos formados sob Floresta Ombrófila Mista Montana, na FLONA/PR.

2.2 Objetivos Específicos

- a) Caracterizar os ácidos húmicos, através de métodos espectroscópicos, de três formações florestais: Floresta Ombrófila Mista Montana e plantios de *Araucaria angustifolia* e *Pinus elliotti*;
- b) Identificar a contribuição de cada formação florestal estudada na formação do ácido húmico no solo e em profundidade no perfil do solo;
- c) Contribuir para a avaliação do potencial de solos florestais em seqüestrar carbono;

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. Floresta Ombrófila Mista

O Mapa de Vegetação do Brasil (Figura 1) reconstitui a situação da vegetação no território brasileiro na época do descobrimento pelos portugueses e mostra que no país ocorrem dois grandes conjuntos vegetacionais: um florestal, que ocupa mais de 60% do território nacional, e outro campestre. As formações florestais são constituídas pelas florestas ombrófilas (em que não falta umidade durante o ano) e estacionais (em que falta umidade num período do ano) situadas tanto na região amazônica quanto nas áreas extra-amazônicas, mais precisamente na Mata Atlântica. Na Amazônia, predominam as florestas ombrófilas densas e abertas, com árvores de médio e grande porte, com ocorrência de cipós, bromélias e orquídeas. As florestas extra-amazônicas coincidem com as formações florestais que compõem a Mata Atlântica, onde predominam as florestas estacionais semidecíduais (em que 20 a 50 % das árvores perdem as folhas no período seco do ano), e as florestas ombrófilas densas e mistas (com araucária). Em ambos os conjuntos florestais ocorrem, em menor proporção, as florestas estacionais decíduais (em que mais de 50% das árvores perdem folhas no período seco) (IBGE, 2010).



Figura 1. Mapa da Classificação da Vegetação do Brasil (Fonte: IBGE, 2010).

A concepção de Floresta Ombrófila Mista (FOM) procede da ocorrência da mistura de diferentes espécies, definindo padrões fitofisionômicos típicos, em zona climática caracteristicamente pluvial (IBGE, 1992). Este tipo de floresta também é conhecido como

Floresta com Araucária, Floresta de Pinheiros, Floresta de Pinhais, Floresta de Pinheirais, Zona dos Pinhais, Mata de Araucária e Floresta Aciculifoliada Subtropical (BRITZ *et al.*, 1995). Essas denominações devem-se à presença de *Araucaria angustifolia*, que domina o dossel e caracteriza fisionomicamente essa formação florestal. Contudo, o termo “mista” está relacionado à mistura de floras (IBGE, 1991).

A Floresta Ombrófila Mista apresenta, de acordo com VELOSO, RANGEL FILHO e LIMA (1991), quatro subformações distintas: a) Aluvial: em terrenos antigos dos flúvios – *Araucaria angustifolia* associada com *Podocarpus lambertii* e *Drimys brasiliensis* ou gêneros da família *Lauraceae*; b) Submontana: de 50 até mais ou menos 400 m de altitude; c) Montana: de 400 até mais ou menos 1000 m de altitude – *Araucaria angustifolia* associada com *Ocotea porosa* formando agrupamentos bem característicos e d) Alto Montana: situada a mais de 1000 m de altitude – *Araucaria angustifolia* associada com *Podocarpus lambertii*, *Drimys brasiliensis*, *Cedrela fissilis* e gêneros da família *Lauraceae* e *Myrtaceae*.

A região centro sul do Estado do Paraná é a que apresenta a maior cobertura de Floresta com Araucária, onde se encontram os municípios de Bituruna, General Carneiro, Coronel Domingos Soares, Porto Vitória, União da Vitória, Cruz Machado, Inácio Martins, parte de Pinhão, Guarapuava e Turvo, estes últimos acompanhando a Serra da Esperança (CASTELA, 2001).

Galvão *et al.*, (1989) encontraram na Floresta Nacional de Irati, em áreas de Floresta Ombrófila Mista Montana, 5 grupos com dominância de determinadas espécies: 1) *Acacia poliphylla* (monjoleiro) e *Nectandra megapotamica* (canela-imbuia), acompanhados de *Alsophila sp.* e *Nephelea sp.* (xaxim-com-espinho); 2) *Araucaria angustifolia* e *Diatenopteryx sorbifolia* (maria-preta), com sub-bosque bastante desenvolvido; 3) *Araucaria angustifolia*, *Nectandra lanceolata* (canela-branca), *Capsicodendron dinisii* (pimenteira), *Prunus brasiliensis* (pessegueiro-bravo) e *Podocarpus lambertii* (podocarpus); 4) *Araucaria angustifolia*, *Nectandra lanceolata* (canela-branca), *Ilex paraguariensis* (erva-mate), *Matayba elaeagnoides* (miguelpintado) e *Siphoneugenia sp.* (cambuí); 5) *Alsophila sp.* e *Nephelea sp.* (xaxim-com-espinho) e *Nectandra lanceolata* (canela-branca).

A *Araucaria angustifolia*, de acordo com KLEIN (1960), é a árvore mais alta da Floresta Ombrófila Mista Montana, cujas copas umbeliformes, verde-escuras, formam uma cobertura arbórea muito característica, distinguindo-se facilmente à distância. Ela pode atingir alturas entre 30 a 35 m e diâmetros de 80 a 120 cm nos exemplares adultos e velhos. O dossel formado é muito uniforme e se encontra alguns metros acima dos estratos inferiores, compostos por agrupamentos de árvores, arvoretas e arbustos, que variam em abundância e

porte, de acordo com o local e o estágio de desenvolvimento em que se encontram.

3.2. Matéria Orgânica e o Carbono Orgânico do solo

Em solos tropicais e subtropicais altamente intemperizados, a matéria orgânica do solo (MOS) e a serapilheira têm grande importância para o fornecimento de nutrientes às espécies florestais, a retenção de cátions, a complexação de elementos tóxicos e de micronutrientes, a estabilidade da estrutura, a infiltração e retenção de água, a aeração, e a atividade de biomassa microbiana (BM), constituindo-se assim um componente fundamental da sua capacidade produtiva (BAYER e MIELNICZUK, 1999).

Do ponto de vista da sua estabilidade no solo, a matéria orgânica pode ser dividida em uma fração lábil (biodegradável, leve) e uma fração humificada (estável, pesada). A fração lábil representa aproximadamente 1/3 do carbono orgânico do solo e apresenta alta taxa de decomposição e um curto período de permanência no solo. Sua principal função é o fornecimento de nutrientes às plantas e de energia e carbono aos microorganismos do solo obtidos da sua mineralização (OADES, 1989). Já a fração humificada representa cerca de 2/3 do carbono orgânico do solo e tem maior permanência neste (THENG *et al.*, 1989; ANDRIULO *et al.*, 1990). Sua principal função é atuar sobre as condições físicas e químicas do solo. (NOVOTNY, 2002).

Os principais constituintes da matéria orgânica do solo são: o carbono (52-58%), o oxigênio (34-39%), hidrogênio (3,3-4,8%) e o nitrogênio (3,7-4,15%) (SILVA *et al.*, 2004).

O carbono orgânico é obtido pelas plantas através da fixação fotossintética do CO₂ da atmosfera. O oxigênio e o hidrogênio acompanham o metabolismo do carbono e são obtidos da água também no processo de fotossíntese das plantas (FAVORETTO, 2007).

Conforme Bayer e Mielniczuk (1999) a MO é considerada uma das fontes de entrada de carbono orgânico (CO) nos solos, a mesma é resultante principalmente, da deposição de resíduos de origem animal e vegetal. Esses resíduos ao serem depositados, sofrem inicialmente decomposição parcial pela mesofauna e, posteriormente, ação decompositora dos microrganismos. Parte do carbono presente nos resíduos é liberado para atmosfera como dióxido de carbono (CO₂), e o restante passa a fazer parte da MOS, como um componente do solo. Na Figura 2, um modelo das reações da degradação da matéria orgânica em condições aeróbicas e anaeróbicas.

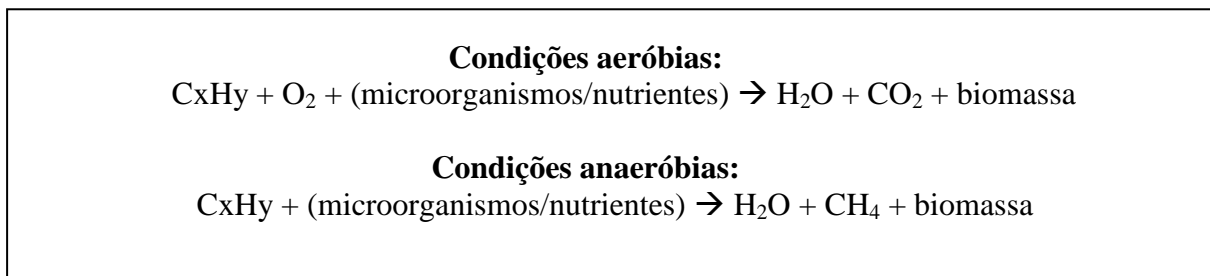


Figura 2. Reações da degradação da MO em condições aeróbias e anaeróbias. Fonte: FERREIRA, 2006.

Segundo Schlesinger (1986), os solos, no geral, têm um papel importante no ciclo do carbono na terra. Isso é devido a sua maior alocação de estoque em ecossistemas terrestres. Em uma escala global, os solos minerais a 1 m de profundidade possuem 1300 a 1500 Pg (petagramas) de C, ou seja, duas vezes mais do que o estoque de carbono na biomassa de plantas terrestres.

O balanço entre os processos que aumentam e diminuem o estoque de carbono orgânico dos solos (COS) é influenciado por fatores antropogênicos (queima da biomassa, desmatamento, aração, conversão de ecossistemas para terras agriculturáveis, etc.) sendo esses fatores que determinam o estoque desse elemento na pedosfera (LAL, 2004).

Em áreas florestais encontra-se maior quantidade de carbono orgânico do solo na superfície porque a contribuição da liteira é maior do que a das raízes (RUIVO *et al.*, 2005).

A nível mundial, a quantidade média de carbono nos solos florestais aumenta dos tropicais, temperados até as florestas boreais (SCHLESINGER, 1977). Esses baixos valores nos solos tropicais são causados por uma decomposição rápida que compensa a produção rápida de serapilheira. A variação entre as florestas tropicais pode ser muito grande, alcançando diferenças comparáveis entre florestas tropicais e as florestas temperadas e boreais (ANDERSON e SWIFT, 1983; O'CONNELL e SANKARAN, 1997).

O termo seqüestro de carbono no solo implica na remoção do CO₂ da atmosfera e incorporação por meio de plantas na MOS. Isso, segundo Lal (2004), deve ser feito através de técnicas de manejo, tais como: conservação de áreas cultivadas, cobertura verde, manejo ou gerenciamento de nutrientes, irrigação, recuperação de solos degradados, manejo de pastagens, manejo dos solos urbanos e solos florestais.

De acordo com Cheng e Kimble (2001), diversas técnicas de fracionamento físico e químico têm sido desenvolvidas com a finalidade de separar e isolar frações de carbono orgânico total do solo (COT).

3.3. Substâncias húmicas

As substâncias húmicas (SH) são diferentes de outros biopolímeros do húmus, como carboidratos e proteínas, devido à estrutura molecular e propriedades físicas não definidas e longas persistências no solo (recalcitrância). Absorve luz visível em uma ampla faixa de comprimento de onda (cor marrom-clara a escura), o que é possibilitado pela presença de cromóforos. Desempenham um papel significativo na formação de agregados, no controle da acidez do solo, no ciclo de elementos nutrientes e na detoxificação de ambientes. As SH são amorfas, parcialmente aromáticas e quimicamente complexas (MANGRICH, 1983; SAAB, 1999; NOVOTNY *et al.*, 1999). De acordo com a solubilidade em bases e ácidos, as SH são operacionalmente divididas em ácidos húmicos, fúlvicos e humina. Os ácidos fúlvicos (AF) são solúveis em toda a faixa de pH, os ácidos húmicos (AH) são solúveis em pH básico e estão entre as SH mais estudadas e a humina (HU) é insolúvel em toda a faixa de pH (STEVENSON, 1994).

As substâncias húmicas têm sido objeto de vários estudos pelos cientistas. Assim, desde instrumentação a procedimentos químicos para o estudo de sua composição estão sendo realizados, pois é sabido que as substâncias húmicas constituem um meio de se garantir o seqüestro de carbono no solo, armazenando-o e contribuindo para minimizar o aquecimento global (CARVALHO *et al.*, 2004).

No final do século XIX já se compreendiam as substâncias húmicas como uma mistura complexa de substâncias orgânicas com natureza principalmente coloidal e com propriedades fracamente ácidas. Também já havia informações a respeito da sua interação com outros componentes do solo (STEVENSON, 1994).

Em 1916, Mailard acreditava que ácidos húmicos seriam produtos da reação exclusivamente química, sem envolvimento direto de microorganismos, entre açúcares redutores e aminoácidos (NOVOTNY, 2002).

O modelo de Flaig de 1964 (FLAIG *et al.*, 1975¹ citado por NOVOTNY, 2002) continha anéis aromáticos e quinonas substituídas por grupos hidroxilas, carbonilas e metoxilas. Os núcleos seriam conectados por átomos de O, N e outras “pontes” enquanto polissacarídeos e peptídeos estariam presentes como estruturas lineares. Neste modelo mostrou-se o papel dos cátions polivalentes, no caso íons Fe^{3+} , na associação entre substâncias húmicas e a porção mineral do solo.

¹ FLAIG, W.; BEUTELSPACHER, E.R. Chemical composition and physical properties of humic substances. In Gieseking, J.E. (Ed) Soil Components. v.1. New York, 1975, p.35-57.

Certa evolução foi o modelo de Schnitzer e Khan (1978) que era composto de fenóis e ácidos benzóicos unidos por ligações de H. A diferença é que haveria espaços vazios de diferentes tamanhos que poderiam alojar compostos orgânicos de baixa massa molecular (SCHULTEN e SCHNITZER, 1997).

A extração de substâncias húmicas do solo através da solubilidade ácido-base (processo de extração padrão IHSS – International Humic Substances Society) tem sido criticada por produzir artefatos e produtos diferentes da matéria orgânica original. Uma alternativa é utilizar a metodologia desenvolvida por Cozzolino *et al.*, (2001), que utiliza como solução extratora uma mistura de NaOH 1 mol L⁻¹ e Na₄P₂O₇ 0,25 mol L⁻¹. Este tratamento salifica os grupos ácidos e, então as bases conjugadas solubilizam-se em água. Após a extração, a adição de HCl é utilizada para neutralizar as cargas e protonar as bases conjugadas.

O pirofosfato de sódio atua como um sal neutro capaz de complexar os metais divalentes e, principalmente os trivalentes como Al³⁺ e Fe³⁺, rompendo dessa forma, os efeitos de ligações intermoleculares, como as de SH com óxidos metálicos e/ou argilas, e intramoleculares que fazem com que as SH sejam insolúveis em água. Estes metais são trocados por Na⁺ formando o sal orgânico resultante (carboxilato, e/ou fenolato de sódio) solubilizando-se.

Os ácidos fúlvicos (AF) são solúveis em toda a faixa de pH, altamente funcionalizados, contendo cadeias carbônicas aromáticas e alifáticas. Em comparação com outras frações, os AF contêm, proporcionalmente, maior quantidade de grupos ácidos carboxílicos e fenólicos.

Os ácidos húmicos (AH) são solúveis em pH básico e estão entre as SH mais estudadas por terem importantes funções no ambiente e atividades na agricultura, como a de formarem complexos com metais pesados e micronutrientes de plantas, adsorverem agrotóxicos e atuarem no tamponamento do solo. Proporcionalmente, não são tão funcionalizados como os AF.

A humina (HU) é insolúvel em toda a faixa de pH representando mais de 50% do carbono orgânico no solo. Das SH é dita ser a mais estável devido a fortes associações com substâncias minerais, sendo também importante como adsorvente de xenobióticos (agrotóxicos) no ambiente (STEVENSON, 1982).

As frações húmicas representam quase a totalidade da matéria orgânica e, devido à sua grande reatividade, correspondem à porção envolvida na maioria das reações químicas do solo (CANELLAS *et al.*, 1999). Não é de se admirar que estas substâncias mereçam destaque em

muitas pesquisas, já que representam o principal reservatório de carbono no solo e ainda interagem com a atmosfera modificando a concentração de CO₂, dependendo do uso e manejo adotado no solo (PICCOLO, 1999). Ainda segundo Santos (2005), estas frações da MOS apresentam tamanho coloidal e correspondem entre 80 a 90% do carbono do solo, dependendo do uso e manejo adotado.

A quantidade e a proporção com que essas frações são encontradas nos solos têm servido como indicador de qualidade dos solos em diversos trabalhos, devido à forte interação das substâncias húmicas com o material mineral do solo (FONTANA *et al.*, 2001).

Um modelo padrão para a molécula de ácido húmico ainda hoje é bastante discutido e vários autores chegaram a um modelo genérico. A Figura 3 mostra um modelo proposto por Schulten (1995).

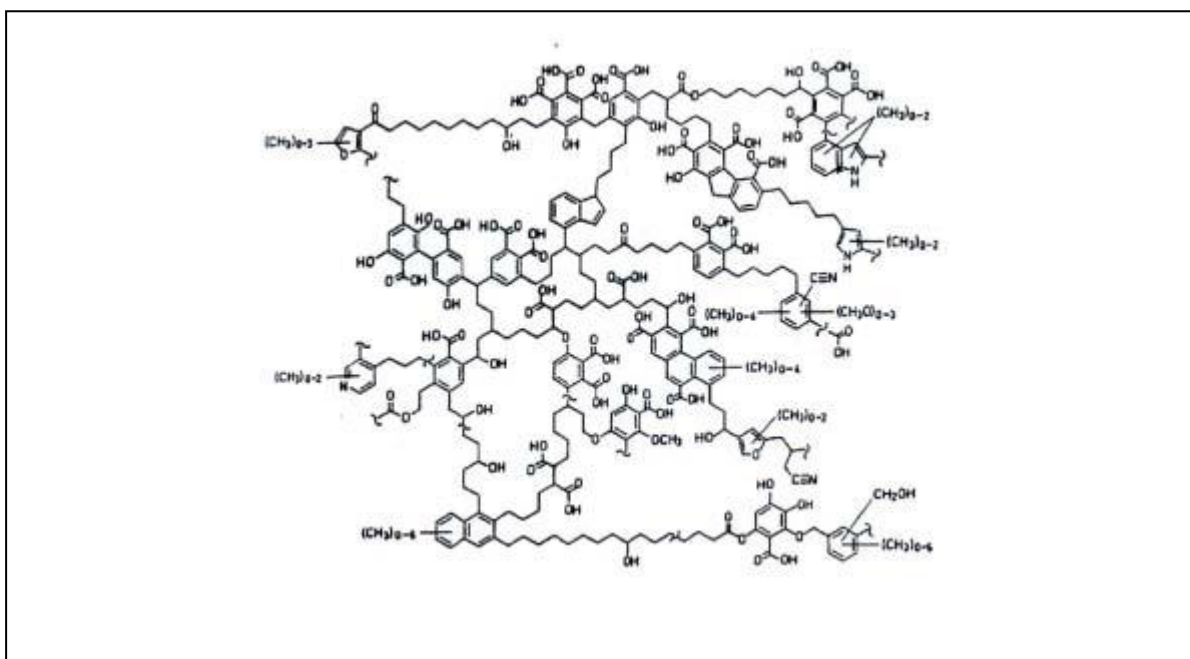


Figura 3. Estrutura esquemática proposta para AH mostrando os diversos grupos funcionais, estruturas aromáticas e alifáticas. Fonte: SCHULTEN, 1995).

3.4. Espectroscopia de Infravermelho

A radiação infravermelha (IR) corresponde aproximadamente à parte do espectro eletromagnético situada entre as regiões do visível e das microondas. Essa radiação na faixa de 10.000 cm⁻¹ a 100 cm⁻¹ converte-se, quando absorvida por uma molécula orgânica, em energia de vibração molecular. O processo também é quantizado, porém o espectro vibracional aparece como uma série de bandas em vez de linhas, porque cada mudança de nível de energia vibracional corresponde a uma série de mudanças de níveis de energia rotacional. Normalmente são utilizadas as bandas que ocorrem entre 4000 cm⁻¹ e 400 cm⁻¹. A

frequência ou o comprimento de onda de uma absorção depende das massas relativas dos átomos, das constantes de força das ligações e da geometria dos átomos (SILVERSTEIN, 2005).

Essa técnica permite analisar a natureza química, a reatividade e o arranjo estrutural de grupos funcionais contendo O e a eficiência do processo de purificação da amostra de AH quanto à contaminantes como argila, sais e metais (STEVENSON, 1982).

A espectroscopia no infravermelho fornece evidências da presença de vários grupos funcionais na estrutura orgânica devido à interação das moléculas ou átomos com a radiação eletromagnética em um processo de vibração molecular. As vibrações moleculares podem ser de dois tipos: deformações axiais e deformações angulares. Quando a deformação ocorre na direção do eixo da molécula, a distância interatômica aumenta e diminui alternadamente e o modo de vibração é denominado estiramento ou deformação axial. As vibrações de deformação angular correspondem ao movimento de um grupo de átomos em relação ao resto da molécula, sem que as posições relativas dos átomos do grupo se alterem. Essas deformações recebem a denominação de deformação angular simétrica e assimétrica no plano e deformação angular simétrica e assimétrica fora do plano.

Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) tem sido aplicada extensivamente em pesquisas de vários materiais incluindo matéria orgânica, bem como na caracterização de substâncias húmicas. Uma variedade de bandas características de estrutura molecular e de grupos funcionais foi identificada para estas substâncias (NIEMEYER *et al.*, 1992). Também a técnica tem sido aplicada para estimar quantitativamente os grupos funcionais, como por exemplo, a análise de grupos carboxílicos de ácidos húmicos extraídos do solo (CELI *et al.*, 1997).

As principais bandas de absorção que aparecem nos espectros das frações húmicas estão associadas, segundo Rocha e Rosa (2003) a:

- 1) estiramento OH (livre e ligado por pontes de hidrogênio) de alcoóis e/ou fenóis e/ou ácidos carboxílicos na região de 3500-3300 cm^{-1} ;
- 2) estiramento CO de alcoóis e/ou fenóis na região de ~1030 e 1180 cm^{-1} , indicando a presença de alcoóis;
- 3) a presença de anéis aromáticos pode ser verificada em razão do estiramento CH também de alquenos e/ou aromáticos acima de 3000 cm^{-1} , banda na região de 1630 cm^{-1} referente ao estiramento C=C de alquenos e/ou aromáticos e bandas na região de 900 cm^{-1} referente à deformação fora do plano da ligação CH de anéis aromáticos;

- 4) a presença de alifáticos nas bandas de absorção abaixo de 3000 cm^{-1} , que nos espectros aparecem na região de 2930 cm^{-1} , (C-H) aliadas ao estiramento C-C na região de 1420 cm^{-1} ;
- 5) a forte banda na região de 1710 cm^{-1} pode ser atribuída ao estiramento C=O de cetonas e/ou ácidos carboxílicos.

Em FTIR há alguns problemas associados com o método de transmitância (T) onde se faz o uso de pastilha prensada. O brometo de potássio (KBr) é higroscópico e é difícil preparar-se uma pastilha completamente livre de umidade. A absorção de água pelo KBr pode resultar no alargamento da banda centrada em 3400 cm^{-1} devido à formação de pontes de hidrogênio (STEVENSON, 1982).

3.5. Espectroscopia do ultravioleta visível por reflectância difusa (DRUV-Vis)

A espectroscopia DRUV-Vis é uma técnica valiosa na identificação de grupos funcionais cromóforos (em amostras sólidas), pois alguns compostos presentes nas SH absorvem fortemente acima de 200 nm. Esse comprimento de onda não representa a absorbância máxima das SH, mas é onde ocorrem as transições eletrônicas do tipo $\pi - \pi$, características de compostos como ácidos benzóicos, derivados de anilina e outros correlatos que são subunidades da estrutura das substâncias húmicas. Entretanto, considerando a natureza complexa das substâncias húmicas essa técnica não possibilita medir ou caracterizar um cromóforo em particular, mas a sobreposição de absorbâncias de vários grupos funcionais (STEVENSON, 1982).

As substâncias húmicas são conhecidas por conter sistemas de ligações duplas conjugadas aleatoriamente distribuídas nas macromoléculas, as quais são responsáveis por sua coloração marrom. A avaliação da cor marrom dos ácidos húmicos, baseados em suas propriedades óticas, pode ser utilizada na indicação do grau de humificação (BUDZIAK, 2002).

A proporção entre cadeias alifáticas e aromáticas nas substâncias húmicas é calculada através da razão E_4 (absorbância a 465 nm) / E_6 (absorbância a 665 nm). Os valores baixos implicam um alto grau de aromaticidade, e os valores altos indicam um maior conteúdo de cadeias alifáticas (CANELLAS, 2001; BUDZIAK e MANGRICH, 2003; NOVOTNY *et al*, 1999).

Esta razão está diretamente relacionada à condensação estrutural, podendo ser indicativo do grau de humificação, aromaticidade, massa molar e conteúdo ácido. O

decréscimo da razão E_4/E_6 está diretamente relacionado com o aumento da massa molar, condensação dos carbonos aromáticos e a aromaticidade, e inversamente relacionado à quantidade de grupos alifáticos (STEVENSON, 1994).

3.6. Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR)

A espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica é uma técnica bastante sensível, não destrutiva e diz respeito à detecção de elétrons desemparelhados de espécies químicas, numa amostra em fase gasosa, líquida ou sólida, e à caracterização de ambiente químico em torno das espécies químicas (GUIMARÃES *et al.*, 2001).

Para a detecção de um elétron de EPR a amostra é colocada dentro de uma cavidade cujas dimensões são ajustadas à frequência de microondas utilizadas e, para variar esta frequência a fim de atingir a condição de ressonância, as dimensões da cavidade deveriam variar também. Em seguida, submete-se a amostra à radiação de microondas com frequência fixa e conhecida e varia-se o fluxo do campo magnético aplicado (PARISH, 1990). Isto provoca a variação da energia de interação do momento magnético até ocorrer ressonância e também a transição de spin com a absorção de energia, que é detectada pelo equipamento. Geralmente os espectros de EPR são adquiridos na forma de primeira derivada do espectro de absorção (MANGRICH, 1998).

A técnica de EPR permite, em muitos casos, a caracterização de sistemas com um ou mais elétrons desemparelhados. Esta técnica é usada no estudo das substâncias húmicas para identificar e quantificar radicais livres orgânicos estáveis, principalmente em estruturas de semiquinonas, e metais de transição. As semiquinonas podem ser produzidas pela redução de quinonas ou por oxidação de orto ou para-difenóis (FERREIRA, 2006). Uma das importantes características dos ácidos húmicos é a presença de radicais livres orgânicos estáveis em sua estrutura (MARTIN-NETO *et al.*, 1991).

Além da quantificação e identificação de radical livre orgânico (RLO), a espectroscopia de EPR pode fornecer outros parâmetros espectroscópicos como o fator g, largura de linha e saturação de potência do sinal do radical livre que podem dar informações detalhadas sobre as substâncias húmicas (MARTIN-NETO *et al.*, 1994).

A técnica de EPR é uma das poucas, entre os métodos de laboratório, que pode fornecer informações estruturais sem artefatos ou condições experimentais restritivas sobre os complexos dos íons metálicos paramagnéticos com os ácidos húmicos (MANGRICH e VUGMAN, 1988; SENESI, 1990).

Deve-se ter cautela na análise quantitativa dos dados de EPR, principalmente no que se diz em relação a umidade da amostra. Por outro lado, estes resultados abrem novas perspectivas nos estudos da interação de metais com substâncias húmicas.

Entre as espécies paramagnéticas frequentes encontradas em EPR de substâncias húmicas destacam-se: Mn^{2+} , Cu^{2+} , VO^{2+} e Fe^{3+} além dos radicais livres orgânicos, sendo o Fe^{3+} uns dos mais importantes.

Em substâncias húmicas a interação dipolar entre íons de Fe^{3+} , principalmente como contaminantes inorgânicos tais como na forma de óxidos ou hidróxidos, é a principal responsável pelas linhas largas em $g \approx 2,0$ frequentemente observadas em seus espectros, o que dificulta ou mesmo impossibilita a análise deste tipo de material por EPR (NOVOTNY, 2002). As moléculas de AH dos solos formam estruturas amorfas, diferentemente dos minerais dos solos. Por isso, os espectros de EPR de AH também são diferentes dos de minerais (Figura 4). Enquanto que nos espectros de minerais se observam linhas de íons Fe^{3+} em diferentes simetrias dadas a substituições isomórficas deste dentro da organização cristalina dos minerais, nos espectros de substâncias húmicas se observa apenas as linhas do centro I de ferro, com $g = 4,3$, nos domínios diluídos, que consiste da interação de íons Fe^{3+} com a matéria orgânica, ligados aos grupos funcionais dos ácidos húmicos em sítios tetraédricos ou octaédricos com alta simetria rômica (LOMBARDI, 2005). Allard *et al*, (2004) evidenciaram que esta linha é intensificada, sem sinal de Fe^{3+} estrutural típico de argilas, em espectro de amostra rica em material orgânico.

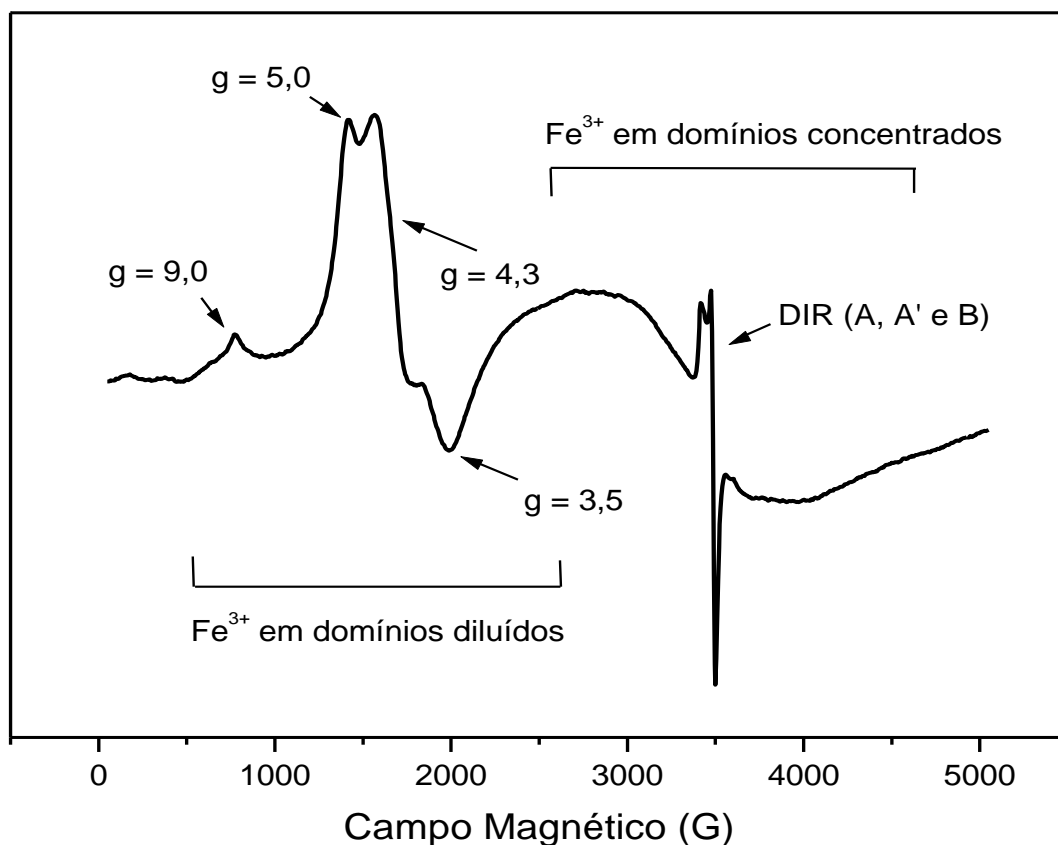


Figura 4. Espectro de EPR de pó em tubo de quartzo de caulinita exemplificando sinais de domínios concentrados e diluídos de Fe^{3+} (LOMBARDI *et al.*, 2002).

O Cu^{2+} é outra espécie paramagnética importante das que aparecem frequentemente nas amostras de substâncias húmicas. O Cu possui dois isótopos com abundância natural significativa, ^{63}Cu (69,09%) e ^{65}Cu (30,91%) sendo que ambos possuem $I=3/2$, assim espera-se um quarteto para ambos os isótopos e como os momentos magnéticos nucleares são similares, as linhas são próximas e nem sempre é possível distingui-las, principalmente quando elas são largas. A interação pode ser anisotrópica sendo que A_{\parallel} é normalmente sete vezes maior do que A_{\perp} (PARISCH, 1990).

Porém existe o sinal de Cu^{2+} ligado a quatro átomos de N, típico de Cu^{2+} em estruturas do tipo porfirina, onde apresentam nove linhas com $g_{\perp} = 2,06$ e interação super-hiperfina, $A_{N\perp} = 17 \text{ G}$ (Figura 5).

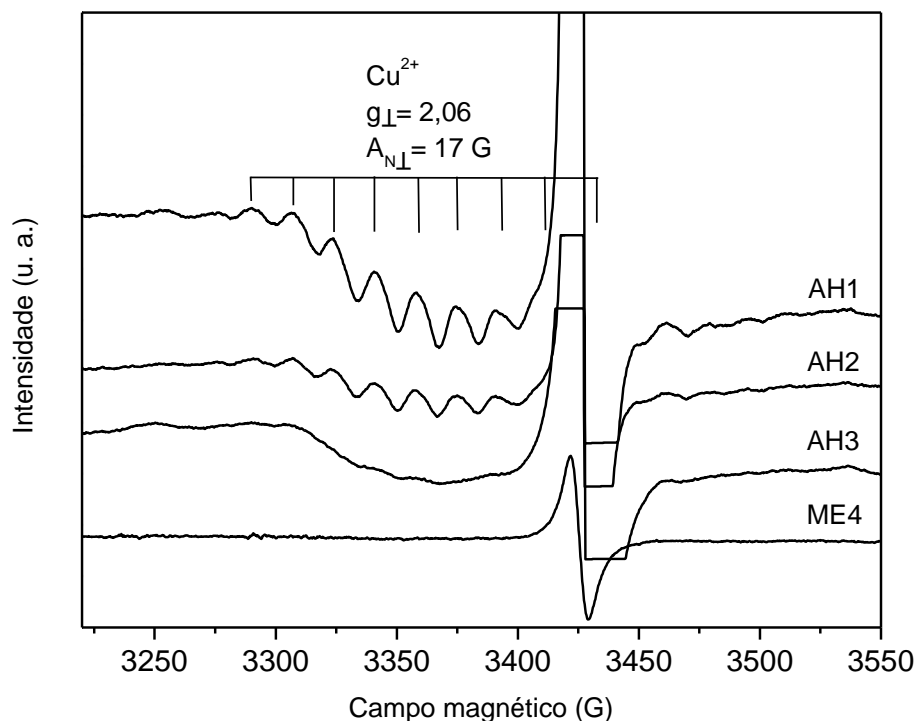


Figura 5. Espectros de EPR de ácidos húmicos mostrando as nove linhas características de Cu^{2+} ligado a quatro nitrogênios (LOMBARDI, 2005).

Já os radicais livres orgânicos podem ser detectados em substâncias húmicas pela espectroscopia de EPR como um sinal estreito e intenso com g entre 2,0030 e 2,0043. Este sinal é atribuído a semiquinonas possivelmente conjugadas a anéis aromáticos ($g=2,0041$ para radical 9,10-antraquinona), embora possam ocorrer contribuições de radicais metoxibenzênicos, cujo valor- g varia de 2,0035-2,004 (BLOIS *et al.*, 1961).

Geralmente os espectros dos radicais livres orgânicos de substâncias húmicas não apresentam estrutura hiperfina, principalmente em amostras sólidas, o que torna impossível qualquer outra descrição da estrutura química destes radicais, porém alguns autores descreveram sinais com estrutura hiperfina resolvida (CHESHIRE E McPHAIL, 1996; NOVOTNY, 2002).

Provavelmente o sinal dos radicais livres orgânicos observados em substâncias húmicas seja devido a mais de uma espécie paramagnética, sendo uma delas mais transiente e envolvida em reações de óxido-redução (SENESI e SCHNITZER, 1977). Segundo alguns autores existem a presença de dois a três tipos de radicais livres orgânicos em amostras de ácidos húmicos sendo que uma delas apresentava um sinal bem alargado e sem estrutura e outra com estrutura bem resolvida (ONIKI e TAKAHAMA, 1994; CHESHIRE e McPHAIL, 1996).

A largura da linha, medida de pico a pico no sinal de primeira derivada, dos radicais livres orgânicos detectados em substâncias húmicas geralmente é de 0,002 a 0,01 Gauss (G), sendo menores em solução do que no estado sólido (pó) e geralmente aumenta no sentido: huminas < ácidos húmicos < ácidos fúlvicos (NOVOTNY, 2002).

Ainda segundo Novotny (2002), visto que a área sob a curva de absorção de um sinal de EPR é diretamente proporcional ao número de centros paramagnéticos que contribuem para a ressonância, é relativamente simples obter-se a concentração de spins de uma amostra comparando-se a área do seu sinal com a de um padrão cuja concentração de spins seja conhecida. Porém, medidas absolutas da concentração de spins requerem o conhecimento de um grande número de fatores, todos os quais são fontes de erro ou ainda podem variar durante o experimento. Então, a concentração de spins é usualmente medida de forma relativa.

A concentração destes radicais livres orgânicos em substâncias húmicas é um importante parâmetro que pode ser obtido por EPR (SENESI, 1990). Tal parâmetro pode ser usado na estimativa do grau de humificação das substâncias húmicas (RIFFALDI e SCHNITZER, 1972; SENESI, 1990; NOVOTNY, 2002).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Caracterização da área de estudo

As áreas do presente estudo estão demarcadas dentro da Floresta Nacional de Irati (FLONA/PR), localizada nos municípios de Irati e Fernandes Pinheiro, no Estado do Paraná. Situa-se no Segundo Planalto Paranaense e faz parte da microrregião Centro-Sul do Paraná. Possui uma área total de 3.495 hectares, sendo 57,6 % ocupadas por florestas nativas com predominância de *Araucaria angustifolia* e 37,5 % por plantios estabelecidos principalmente entre as décadas de 40 a 60 com *Pinus elliottii* (698,37 ha), *Araucaria angustifolia* (435,91 ha), dentre outras. (FIGUEIREDO FILHO *et al.*, 2006).

Entre as décadas de 1940 e 1950 foi realizado corte raso em parte da Floresta Ombrófila Mista Montana originalmente existente, sendo então, realizados plantios com *Araucaria angustifolia* e *Pinus elliottii*. Ao longo do tempo os talhões foram desbastados e depois deixados sem mais intervenções. A redução da densidade possibilitou o estabelecimento da vegetação natural, apresentando atualmente, um aspecto natural a esses talhões, devido à presença de indivíduos de porte arbóreo (RODE, 2008). Segundo IBGE (1992), as áreas da FLONA correspondentes a Floresta Ombrófila Mista Montana (FOM) conservadas hoje correspondem a áreas de floresta natural que antes da criação da unidade de conservação sofreram corte seletivo e desde a criação da FLONA estão conservadas e podem ser consideradas uma floresta primária alterada ou uma floresta secundária avançada.

O ecossistema que compõe a região da FLONA é a Floresta Ombrófila Mista Montana (FOM), também conhecida como Floresta de Araucária. Esta região, segundo EMBRAPA (1992) apresenta um clima de tipo Cfb – Subtropical Úmido Mesotérmico, de verões frescos, geadas severas e freqüentes, sem estação seca, cujas principais médias anuais dos meses mais quentes são inferiores a 24°C e dos meses mais frios são inferiores a 18°C, sendo a temperatura média anual de 17°C. Segundo Mendonça e Danni-Oliveira (2002) o caráter subtropical do clima dessa área é evidenciado pela redução de seus valores térmicos. Por esse motivo é dominada pelos ventos de NE, que quando é orientada pelas feições topográficas da bacia do Rio Ribeira contígua à do Rio Tibagi, favorece a atuação das massas de ar Tropical Atlântica e Polar Atlântica, que é o maior responsável pelas chuvas que nela ocorrem.

4.1.2. Solos

Segundo Mazza *et al.* (2005), a área de estudo possui solo da classe, LATOSSOLO

VERMELHO Distrófico típico álico sendo a classe de solo de maior representatividade na FLONA de Irati, com 37,80%, localizando-se na porção interna esquerda, no sentido norte-sul. A associação LATOSSOLO VERMELHO Distrófico típico, álico + NITOSSOLO HÁPLICO Distrófico típico, álico, de textura argilosa representa 26,62% da área, e está localizado no limite esquerdo, sentido norte-sul, margeando o rio das Antas. Ocupando 25,42% da área, a associação CAMBISSOLO Háplico Distrófico típico, álico + GLEISSOLO indiscriminado localiza-se na várzea do rio Imbituva em praticamente todo o limite direito. A associação ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO Distrófico típico + CAMBISSOLO Háplico Distrófico típico + LATOSSOLO VERMELHO Distrófico típico representa 9,59% da área e localizam-se na porção sudeste da FLONA, seguida de mais uma mancha a leste. As demais classes são pouco representativas, totalizando 0,57% da área da FLONA: associação ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO Distrófico típico + LATOSSOLO BRUNO Distrófico típico (0,39%), associação CAMBISSOLO Háplico Distrófico típico álico + ALISSOLO CRÔMICO Húmico típico (0,10%) e ARGISSOLO VERMELHO AMARELO Distrófico câmbico álico (0,08%) (Figura 6).

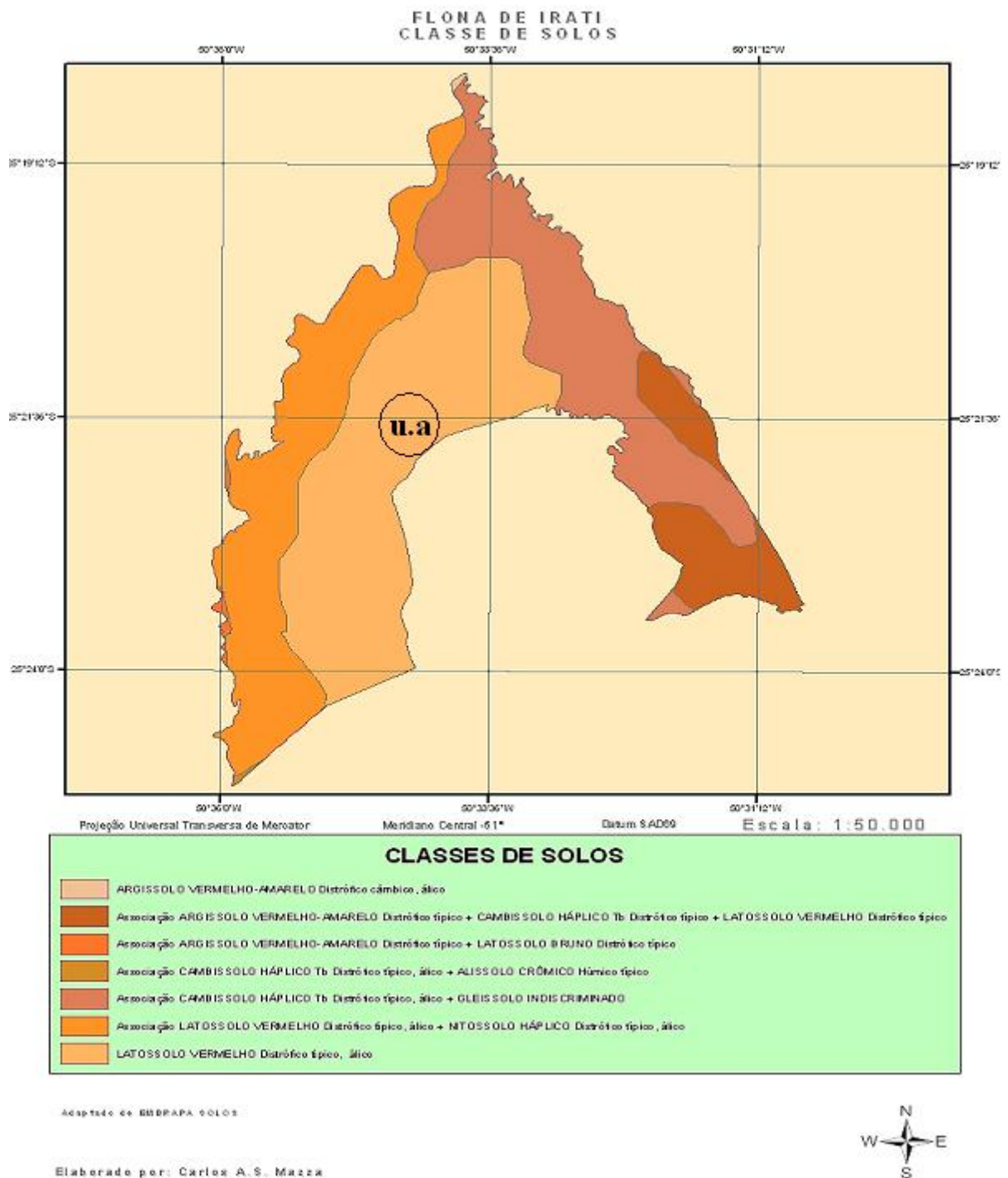


Figura 6. Mapa de ocorrência das classes de solos na FLONA de Irati com a área de estudo demarcada – u.a. (Fonte: MAZZA *et al.*, 2005).

Os solos onde se encontram as áreas da pesquisa estão classificados como LATOSSOLO VERMELHO Distrófico típico álico, que ocupam a porção interna esquerda, no sentido norte-sul da Floresta Nacional de Irati.

4.2.2. Formações Florestais

O experimento foi conduzido em três formações florestais: Floresta Ombrófila Mista Montana (FOM), Plantio de *Araucaria angustifolia* e Plantio de *Pinus elliottii*, ambos os plantios com aproximadamente 50 anos, dentro de um mesmo tipo de solo, descrito anteriormente.

A área A (Figura 7) corresponde a um total de 10 ha de plantio de *Araucaria angustifolia* estabelecido entre os anos de 1943 e 1947, após corte raso da Floresta Ombrófila Mista Montana. O terreno foi então preparado, seguindo-se o plantio das mudas, realizando-se capinas por um período de cerca de 10 anos. Ao longo dos anos foram aplicados desbastes e atualmente remanescem cerca de 300 indivíduos por hectare (RODE, 2008).

A área B (Figura 7) corresponde a 25 ha de um fragmento de Floresta Ombrófila Mista Montana (FOM). Ambas as áreas fazem parte de um projeto sobre dinâmica e florística coordenado pelo professor Afonso Figueiredo Filho, da Universidade Estadual do Centro-Oeste-UNICENTRO.

Dentro das duas áreas foram estabelecidos cinco hectares, de forma que representassem cada formação florestal: área A (Plantio de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze) e área B (Floresta Ombrófila Mista Montana). Ainda foram demarcados, com um teodolito, cinco ha (área C) que representam a formação florestal de Plantio de *Pinus elliottii* Engelm em um talhão, próximo as áreas A e B para minimizar a diferença entre as áreas (Figura 7).

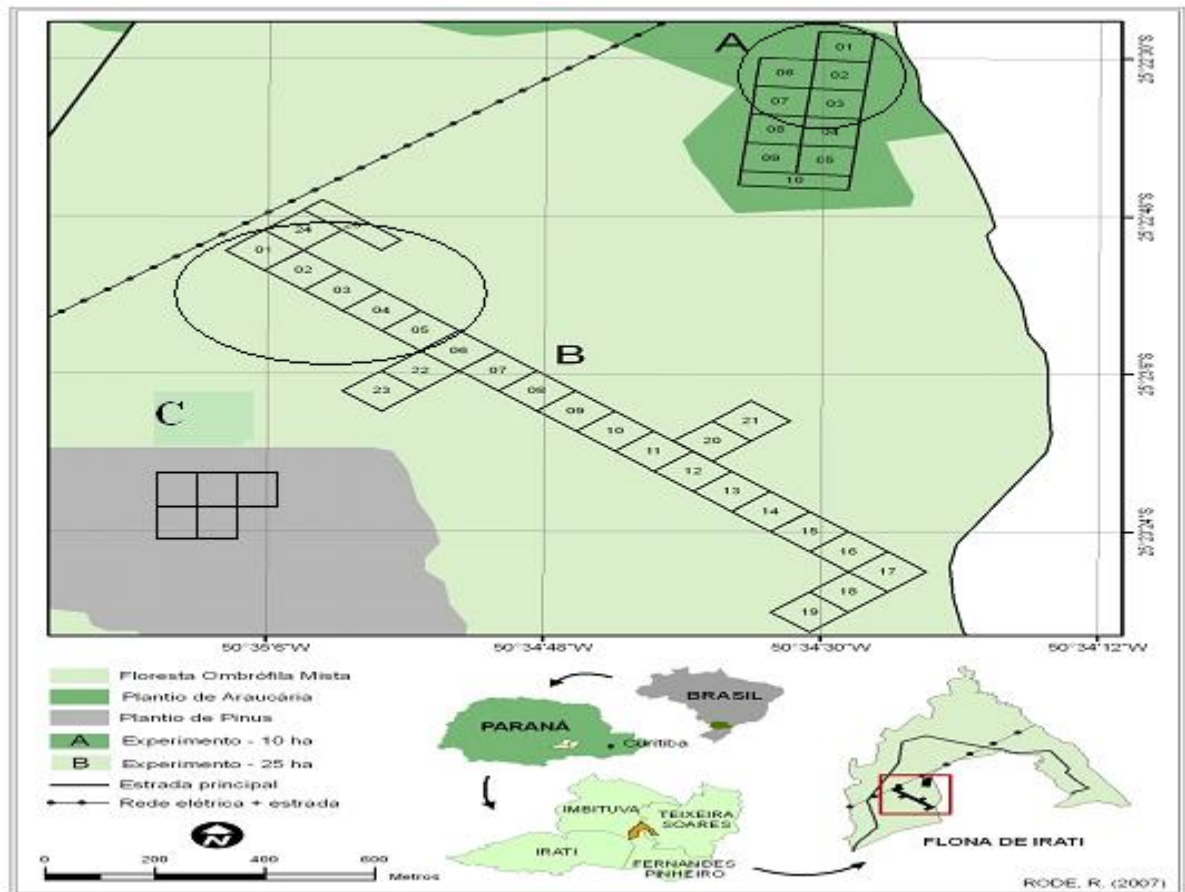


Figura 7. Mapa de localização dos experimentos na FLONA de Irati, Paraná. Fonte: Rode (2008).

4.3. Material experimental

4.3.1. Amostras de solo

Em cada formação florestal estudado foi demarcado um bloco de 5 hectares, que foi dividido em parcelas de 1 ha e estas divididas em 4 sub-parcelas de 2500 m² cada. Essa divisão de parcelas e sub-parcelas teve a finalidade de facilitar a amostragem e o deslocamento dentro dos 5 ha. Foram coletadas em cada área 40 sub-amostras em pontos distribuídos sistematicamente de maneira que representasse um ziguezague dentro das parcelas (Figura 8). As sub-amostras foram coletadas com trado holandês, e misturadas para homogeneização dentro de um balde, e deste retirada a amostra composta (aproximadamente 2 kg). As coletas foram realizadas nas profundidades de 0-20, 20-40, 40-60 e 60-80 cm em cada formação florestal, resultando em 3 amostras em diferentes profundidades para cada área (Figura 9).

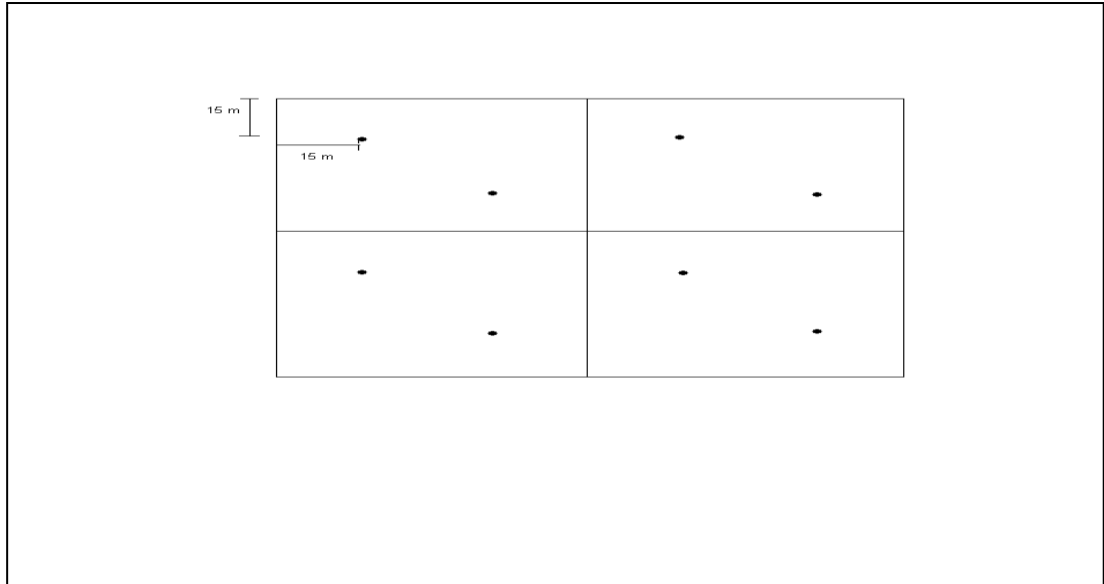


Figura 8. Amostragem sistemática do solo dentro de uma parcela de 1 ha.



Figura 9. Amostras de solo separadas por profundidades e por formação florestal. Fonte: Autor (2008).

As amostras foram denominadas, nas 4 profundidades descritas, com a seguinte nomenclatura:

- Plantio de *Araucaria angustifolia*: ARA,
- Plantio de *Pinus elliotti*: PIN,
- Floresta Ombrófila Mista Montana: FOM

4.3.2 Extração de ácidos húmicos

Das amostras de solos coletadas nas 4 profundidades descritas anteriormente foram realizadas as extrações dos ácidos húmicos, que seguiram a metodologia de Isolamento de Substâncias Húmicas do Laboratório de Química Agrária da Universidade de Napoli, Itália, por Alessandro Piccolo, no Laboratório de Solos Florestais da Universidade Estadual do Centro-Oeste, Irati, PR.

Ao solo seco e peneirado (200 g) foram adicionados 500 mL de solução 1 mol L⁻¹ de NaOH e 500 mL de solução 0,1 mol L⁻¹ de Na₄P₂O₇, que em seguida ficaram 24 horas sob agitação em frasco fechado. Este material foi centrifugado durante 30 minutos a 5.000 rpm. O precipitado (humina) foi neutralizado com ácido clorídrico e guardado em câmara fria. O sobrenadante foi filtrado em lã de vidro, e o pH deste baixado entre 1,0 e 2,0 com HCl concentrado, e posto em repouso por 24 horas (acidificação) (Figura 10).



Figura 10. Ácido fúlvico e ácido húmico filtrado em lã de vidro e acidificação para separação do ácido húmico e fúlvico.

O ácido fúlvico, em solução, foi separado do ácido húmico precipitado, por sifonamento e também reservado em câmara fria. Ao ácido húmico precipitado foram adicionados 3 L de água destilada e deionizada e pastilhas de NaOH até alcançar pH 12, e novamente adicionado HCl concentrado até pH entre 1,0 e 2,0. Após sedimentação por mais 24 horas, o líquido sobrenadante foi separado do ácido húmico novamente por sifonamento. Este procedimento de purificação do ácido húmico foi realizado 3 vezes (Figura 11). Ao precipitado (ácido húmico) centrifugado por 15 minutos, a 5000 rpm, adicionou-se 1 L de água destilada e deionizada com 48 mL de HF (40 %, v/v) e 2,5 mL de HCl (37 %, v/v), que ficou novamente sob agitação por 48 horas.



Figura 11. Processo de decantação repetido três vezes para purificação do ácido húmico.

O precipitado foi centrifugado novamente por 15 minutos, a 5.000 rpm, dialisado em tubo de diálise de 14.000 Da de tamanho de poro, até teste negativo para cloreto com nitrato de prata, e seco em liofilizador. Abaixo o esquema do processo de extração do ácido húmico (Figura 12).

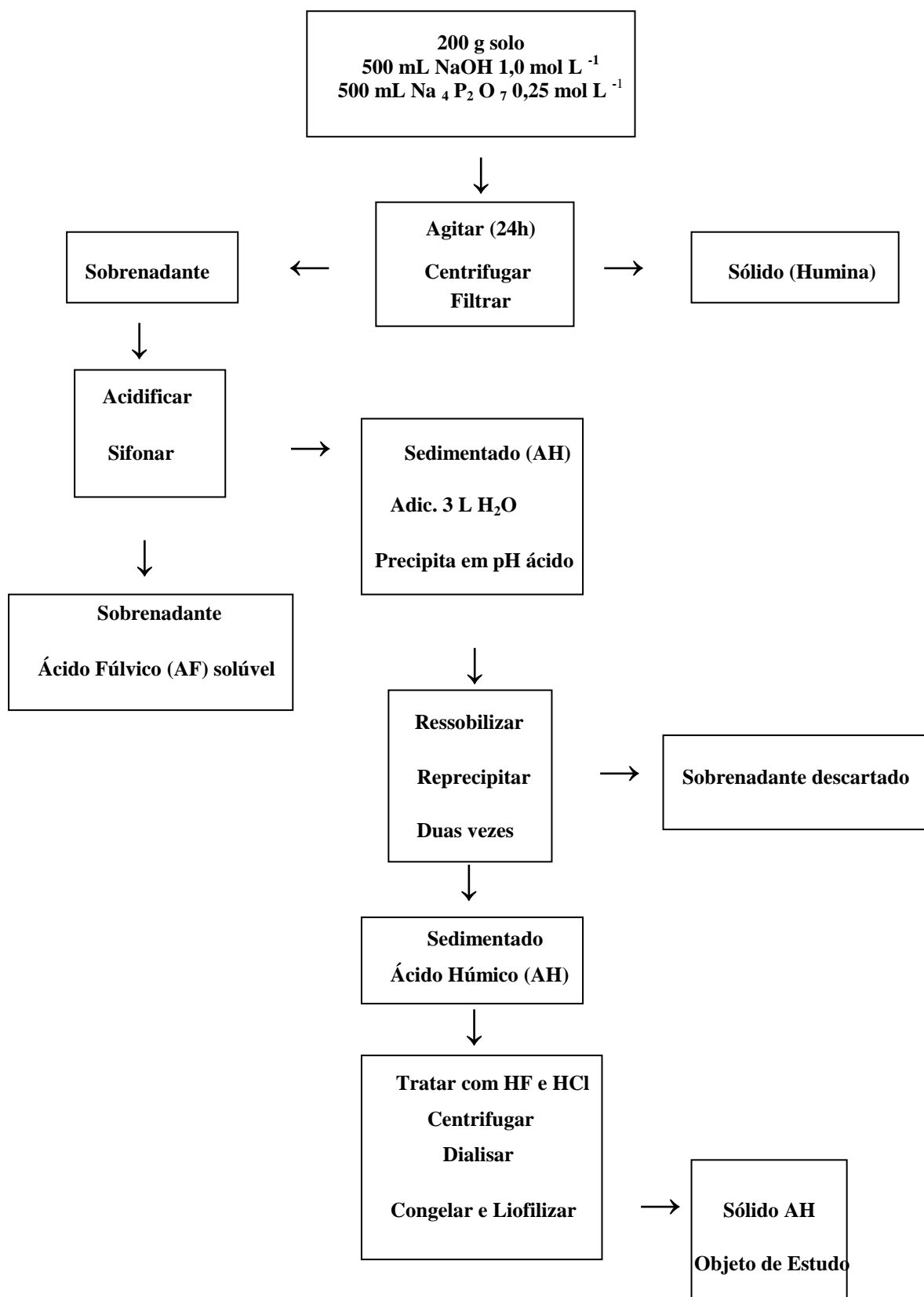


Figura 12. Fluxograma do processo de extração do ácido húmico.

4.3.3 Caracterização de ácidos húmicos

A caracterização dos ácidos húmicos extraídos das amostras de solo foi realizada utilizando métodos espectroscópicos: Espectroscopia Eletrônica no Ultravioleta-Visível por Reflectância Difusa (DRUV-VIS), Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) e Espectroscopia por Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR). As três realizadas no Laboratório LABPAM/DQ/UFPR.

4.3.3.1 Caracterização por Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros por transmitância foram registrados em espectrofotômetro Bomem Hartmann e Braun série MB100 utilizando-se pastilhas de KBr obtidas por prensagem de misturas preparadas com aproximadamente 1 mg de amostra e 99 mg de KBr de grau espectroscópico. Para cada espectro foram acumuladas 16 varreduras com resolução de 4cm^{-1} , na região de 4000 a 400 cm^{-1} .

Os espectros FTIR foram normalizados para melhor comparação e avaliação dos resultados. Cada valor de intensidade do espectro foi dividido pela soma total dos valores de todas as intensidades que compõem o mesmo espectro. Todos os espectros gerados pelo espectrofotômetro foram analisados no software Origin 5.0[®].

4.3.3.2. Caracterização por Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR)

Os espectros de Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR) foram obtidos em espectrofotômetro Bruker ESP 300E, operado a uma frequência de 9,5 GHz (X-banda), com frequência de modulação de 100 kHz, amplitude de modulação de 2,024 G e potência das microondas de aproximadamente 20 mW.

Foram realizadas medidas em EPR com amostras de ácido húmico em estado sólido a temperatura de 300 K em tubos de quartzo. As amostras foram pesadas e foi medida a altura da amostra no tubo de quartzo de diâmetro conhecido para conseqüente determinação do número de spins por grama ou densidade de spin (quantidade de spins contidos em cada 1 g de amostra). Calculou-se a densidade de spin dos radicais livres orgânicos (RLO) formados nas amostras utilizando-se os espectros de EPR registrados em faixa de campo magnético de 50 G, tendo uma amostra padrão de concentração de spins conhecida (Strong Pitch (SP) =

$3,667 \times 10^{15}$ spins cm^{-1}). Os espectros foram integrados e por deconvolução calculou-se a área (S) sob a curva de absorção. A densidade de spin da amostra foi calculada da seguinte forma:

$$S_{SP} \times n^{\circ} \text{ spin } \text{cm}^{-1}_{AH} = S_{AH} \times n^{\circ} \text{ spin } \text{cm}^{-1}_{SP};$$

$$N^{\circ} \text{ spin } \text{g}^{-1}_{AH} = n^{\circ} \text{ spin } \text{cm}^{-1}_{AH} \times H_{AH} (\text{cm}) \times m^{-1}_{AH} (\text{g});$$

Em que: H a altura (cm) e m a massa (g) da amostra dentro do tubo de EPR.

Também foram registrados espectros de EPR em faixa de campo magnético de 50 a 5000 G e de 2500 a 3500 G.

Os espectros de EPR foram normalizados para melhor comparação e avaliação dos resultados. Cada valor de intensidade do espectro foi dividido pela soma total dos valores (desconsiderando sinal) de todas as intensidades que compõem o mesmo espectro.

Os espectros gerados pelo equipamento foram analisados no software Bruker WinEPR[®].

4.3.3.3. Caracterização por espectroscopia de ultravioleta visível por reflectância difusa (DRUV-VIS)

As amostras de ácido húmico foram analisadas por espectroscopia de DRUV-Vis em amostras sólidas, utilizando-se espectrofotômetro Shimadzu UV-2401PC, e acessório de esfera de integração. O material sólido foi moído, em seguida, esse material foi compactado na cela e colocado no aparelho. Foram acumuladas 5 varreduras que posteriormente foram analisados com a ajuda do software Origin 5.0[®]. Para a obtenção do grau de aromaticidade, foi calculada a razão E_4/E_6 que corresponde à razão entre a absorbância em 465 cm^{-1} e 665 cm^{-1} . A razão E_4/E_6 foi calculada dividindo-se as intensidades $\log 1/R$, onde R é a reflectância, nos λ 465 nm e 665 nm.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Espectroscopia de DRUV-VIS

As Figuras 13 e 14 mostram os espectros de DRUV-Vis dos ácidos húmicos dos solos sob Floresta Ombrófila Mista Montana (FOM), plantios de *Araucaria angustifolia* (ARA), e de *Pinus elliottii* (PIN), utilizados para obtenção da razão E_4/E_6 , comparados entre si por profundidade, 0-20, 20-40, 40-60 e 60-80 cm.

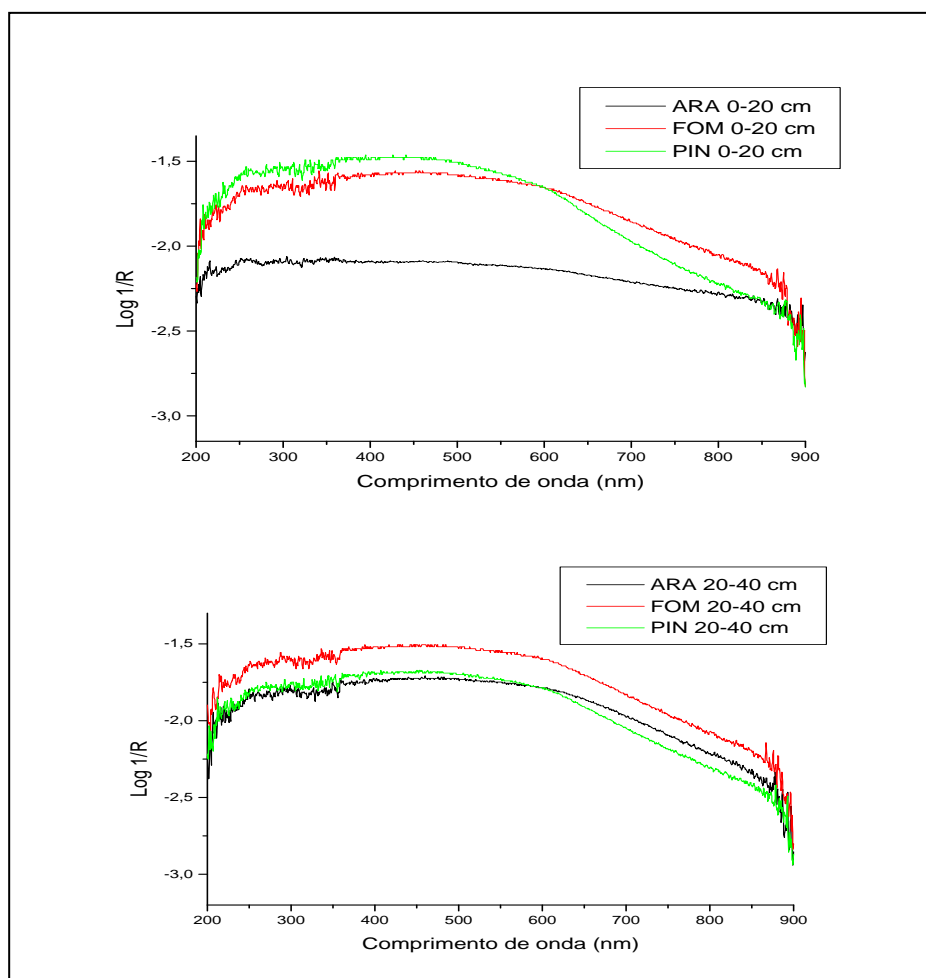


Figura 13. Espectros de DRUV-VIS de AH de solos nas profundidades 0-20 e 20-40 cm, para cada formação florestal (Floresta Ombrófila Mista Montana-FOM, plantios de *Araucaria angustifolia*-ARA e de *Pinus elliottii*-PIN).

O decréscimo da razão E_4/E_6 está relacionado com o aumento da massa molar e condensação dos carbonos aromáticos e a aromaticidade, e inversamente relacionado à quantidade de grupos alifáticos (STEVENSON, 1994; FERREIRA, 2006).

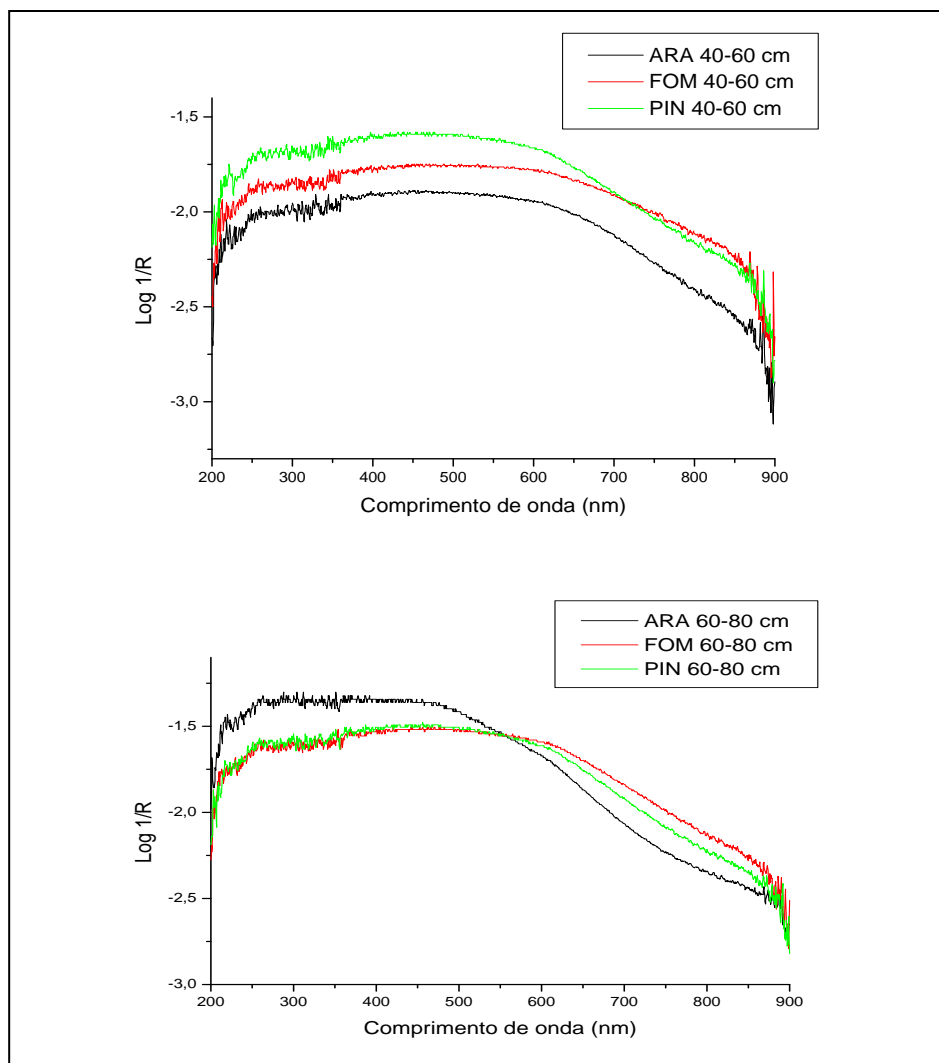


Figura 14. Espectros de DRUV-VIS de AH analisados nas profundidades 40-60 e 60-80 cm, para cada formação florestal (Floresta Ombrófila Mista Montana-FOM, plantios de *Araucaria angustifolia*-ARA e de *Pinus elliottii*-PIN).

As razões E_4/E_6 (Tabela 1) mostram que ao comparar as formações florestais, o plantio de *Araucaria angustifolia* (ARA) e Floresta Ombrófila Mista Montana (FOM) na primeira profundidade (0-20 cm) apresentam valores menores do que o valor para Plantio de *Pinus elliottii* (PIN), sugerindo assim que o AH da formação PIN na primeira profundidade apresenta menor massa molar e condensação dos carbonos aromáticos e maior quantidade de grupos alifáticos, quando comparados com as formações ARA e FOM.

Observa-se que na formação PIN a razão E_4/E_6 decresce à medida que aumenta a profundidade, voltando a ter um pequeno acréscimo apenas na última profundidade estudada. Uma vez que a presença de material alifático está relacionada com a humificação de MO nova (STEVENSON, 1994) e sabendo-se que a formação de plantio de *Pinus* acumula maior massa vegetal na serrapilheira (BRISTOT, 2008), acúmulo esse observado nesse estudo, pode-se

indicar que a formação PIN adiciona ácidos húmicos jovens aos solos.

Tabela 1. Razão E_4/E_6 para as amostras de ácidos húmicos de cada formação por profundidade.

Formação	Profundidades			
	0-20	20-40	40-60	60-80
ARA	1,04	1,09	1,07	1,41
FOM	1,12	1,15	1,05	1,15
PIN	1,26	1,14	1,12	1,20

Ainda, para a formação florestal ARA os valores de razão E_4/E_6 se mantiveram constantes nas três profundidades superficiais indicando a presença de um material mais humificado que as outras formações e maior condensação de carbonos aromáticos. Isso pode ser explicado pelo fato de que a quantidade de matéria orgânica depositada nessa formação é menor (BRISTOT, 2008) se comparado com a FOM e PIN, fazendo dessa forma com que a relação de material aromático com alifático nessa formação seja menor, uma vez que a presença de material alifático está relacionada com a humificação de MO nova. Por outro lado, a Araucária apresenta estruturas mais lignificadas (PEREIRA e TOMASELLI, 2004), se comparado com a FOM, que no processo de decomposição microbiana pode formar ácidos húmicos nos solos com estruturas mais condensadas.

5.2. Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier por transmitância (FTIR)

Os espectros no Infravermelho com Transformada de Fourier dos AH das formações florestais estudados apresentaram-se semelhantes, com bandas características de amostras de ácidos húmicos. Na Tabela 2 são apresentadas as principais bandas encontradas nos espectros de FTIR dos ácidos húmicos dos solos dessas formações e suas atribuições.

Tabela 2. Atribuições das principais bandas de infravermelho encontradas nas amostras de AH de solos das formações florestais FOM, ARA e PIN.

Número de Ondas (cm ⁻¹)	Atribuições
3300-3400	v AlO-H, v FeO-H (argilas) e/ou v OH, v NH
3070-3100	v CH (aromáticos, olefinas)
2930-2850	v CH (CH ₂ e CH ₃ de alifáticos)
2500	2 v vibração C=O (COOH)
2000	2 v vibração C-O (carboidratos)
1735-1700	v C=O (ésteres, cetonas, ác. carboxílicos), v C=C (aromáticos)
1660-1610	v C=O (COO ⁻ , amida I), δ OH (H ₂ O), v C=N, v C=C (anel aromático ou de alifático insaturado)
1600-1500	v C=C (anel aromático), amida II, δ CH (CH ₃)
1410	δ C-O-H fenólico
1250	v C=O (COOH), v C-OH (aromático)
1200-1000	C-C alifático, v C-O de carboidratos, alcoóis e ésteres, Si-O-C de substâncias poliméricas, Si-O (matéria inorgânica)
1033	v C-O (carboidratos)

A Figura 15 apresenta os espectros de ácidos húmicos das três formações florestais na profundidade 0-20 cm. Em todas as amostras são vistas absorções em 2500 cm⁻¹ (sobreton de 1250 cm⁻¹) e 1720 atribuídas a grupos carboxílicos (COOH). Porém, a relação entre as intensidades das bandas em 1720 e 1620 cm⁻¹, que é maior para a amostra PIN, indicam que o AH da formação PIN apresenta maior número de grupamentos carboxílicos, caracterizando menor massa molecular e menor condensação molecular. Pois a banda em 1720 cm⁻¹ é atribuída a vibrações (COOH) de ácidos carboxílicos (NAIDJA *et al.*, 2002; OLENDZIK, 2006; NOVOTNY, 2002). Já em 1620 cm⁻¹ têm-se vibrações assimétricas de C=O de COO⁻ de carboxilatos (NIEMEYER *et al.*, 1992; LOMBARDI, 2005; OLENDZIK, 2006; FERREIRA, 2006; NOVOTNY, 2002 e GUIMARÃES, 1997).

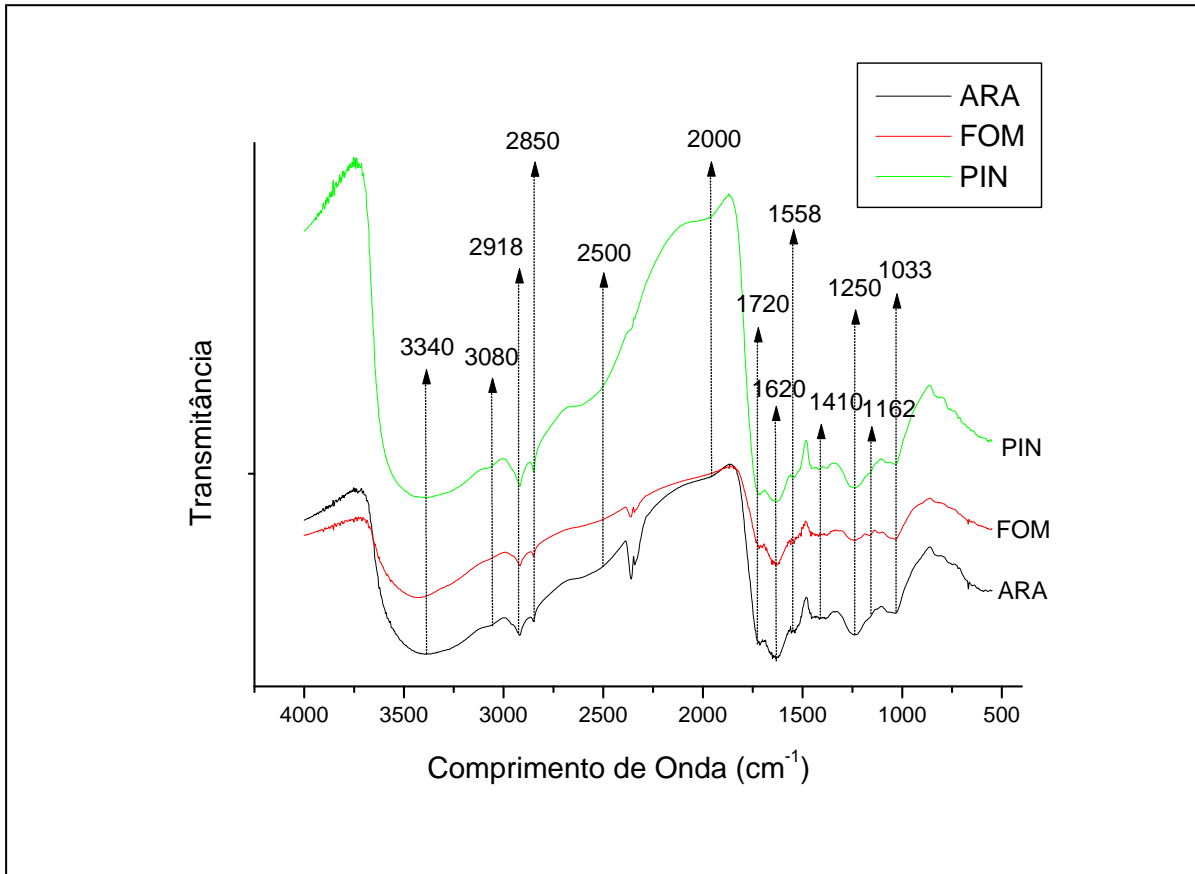


Figura 15. Espectros de FTIR por transmitância das formações florestais ARA, FOM e PIN na profundidade 0-20 cm.

Em 2000 cm^{-1} a absorção pode ser atribuída ao primeiro sobreton de 1033 cm^{-1} do estiramento de C-O de carboidratos, que podem indicar presença de material “jovem”, pois Bravard e Righi (1991) observaram a presença de carboidratos em espectros de FTIR de ácidos fúlvicos extraídos de latossolo, e o AF é dentro das substâncias húmicas a fração mais “jovem”. São observadas maiores intensidades dessa banda nas amostras de PIN nas primeiras profundidades (0-20 e 20-40 cm).

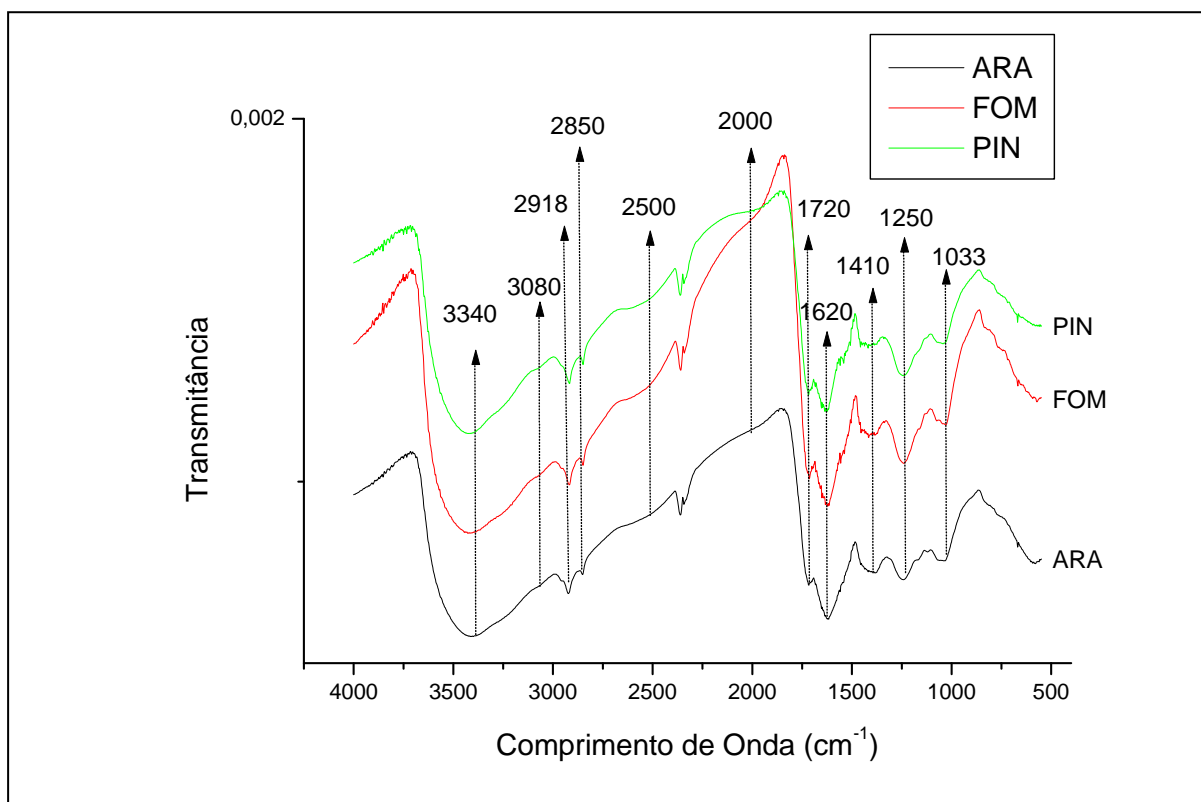


Figura 16. Espectros de FTIR por transmitância das formações florestais ARA, FOM e PIN na profundidade 20-40 cm.

Em 1558 cm^{-1} observa-se absorção atribuída a C=C de anéis aromáticos, indicador de material rico em lignina (DOBBS *et al.*, 2009), com bandas mais largas e intensas principalmente nas amostras da profundidade 0-20 cm das três formações florestais estudados. A presença dessa banda mais intensa nessa profundidade indica a presença de lignina resultante de um estágio menos humificado da MO, mais especificamente do AH, uma vez que a lignina é um componente da estrutura vegetal. Entretanto observa-se (Figuras 16, 17 e 18) que em profundidade a intensidade dessa banda diminui para as formações ARA e FOM, enquanto que para as amostras de todas as profundidades no PIN essa banda permanece presente, indicando a maior dificuldade de decomposição da matéria orgânica na formação PIN, mesmo em profundidade.

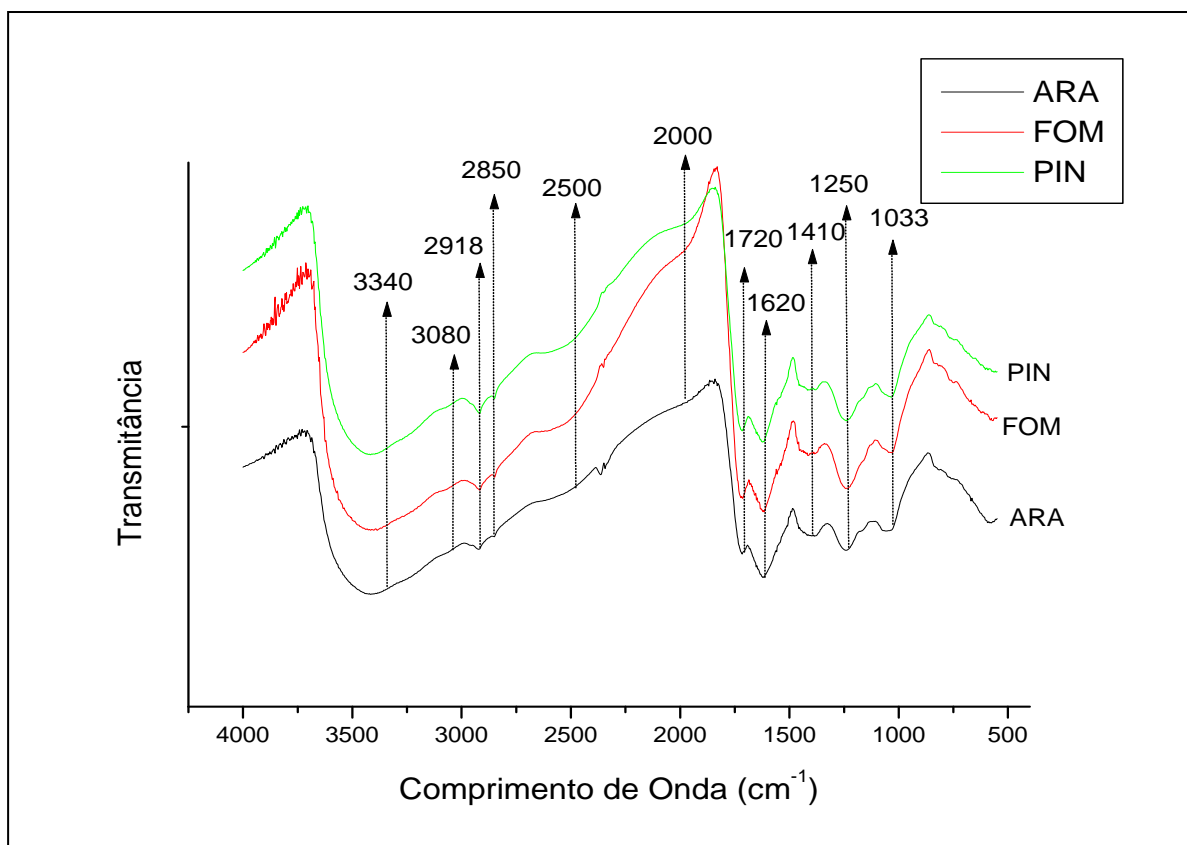


Figura 17. Espectros de FTIR por transmitância das formações florestais ARA, FOM e PIN na profundidade 40-60 cm.

Os espectros de FTIR da profundidade 60-80 cm são semelhantes com as demais profundidades (Figura 18), entretanto as bandas que são atribuídas a grupos aromáticos (3080, 1620 e 1410 cm^{-1}), aparentemente são mais intensas nessa profundidade. Porém, observou-se por DRUV-Vis na Tabela 1 um aumento no valor da razão E_4/E_6 em relação à profundidade anterior (40-60 cm). Segundo Saab e Martin-Neto (2007), a razão E_4/E_6 está muito mais associada à condensação dos grupos aromáticos do que com a aromaticidade total das amostras. Pode-se indicar então que nessa profundidade existe a presença de material mais humificado (aromático), porém menos condensado.

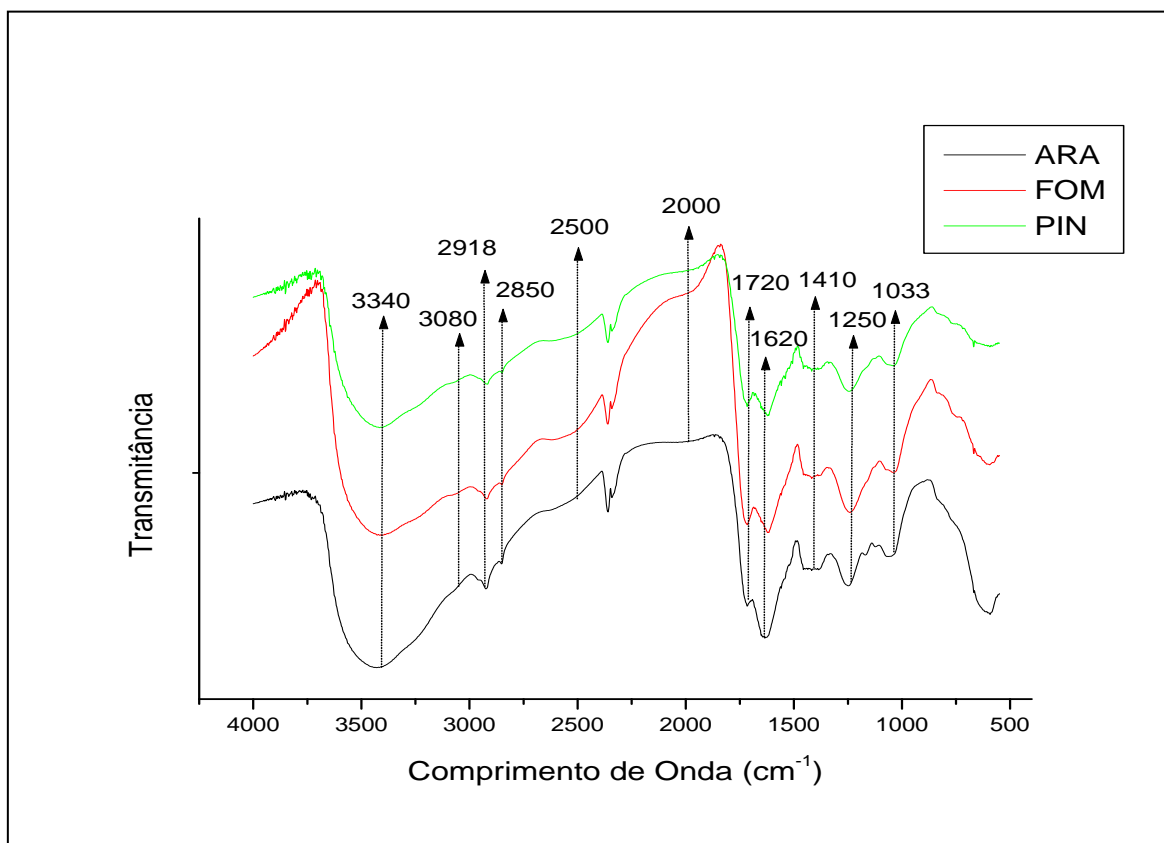


Figura 18. Espectros de FTIR por transmitância das formações florestais ARA, FOM e PIN na profundidade 60-80 cm.

5.3. Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR)

A Figura 19 apresenta os espectros registrados em campo magnético de 5000 Gauss das amostras de AH sob Floresta Ombrófila Mista Montana(FOM), Plantio de *Araucaria angustifolia* (ARA) e Plantio de *Pinus elliottii* (PIN), na profundidade 0-20 cm.

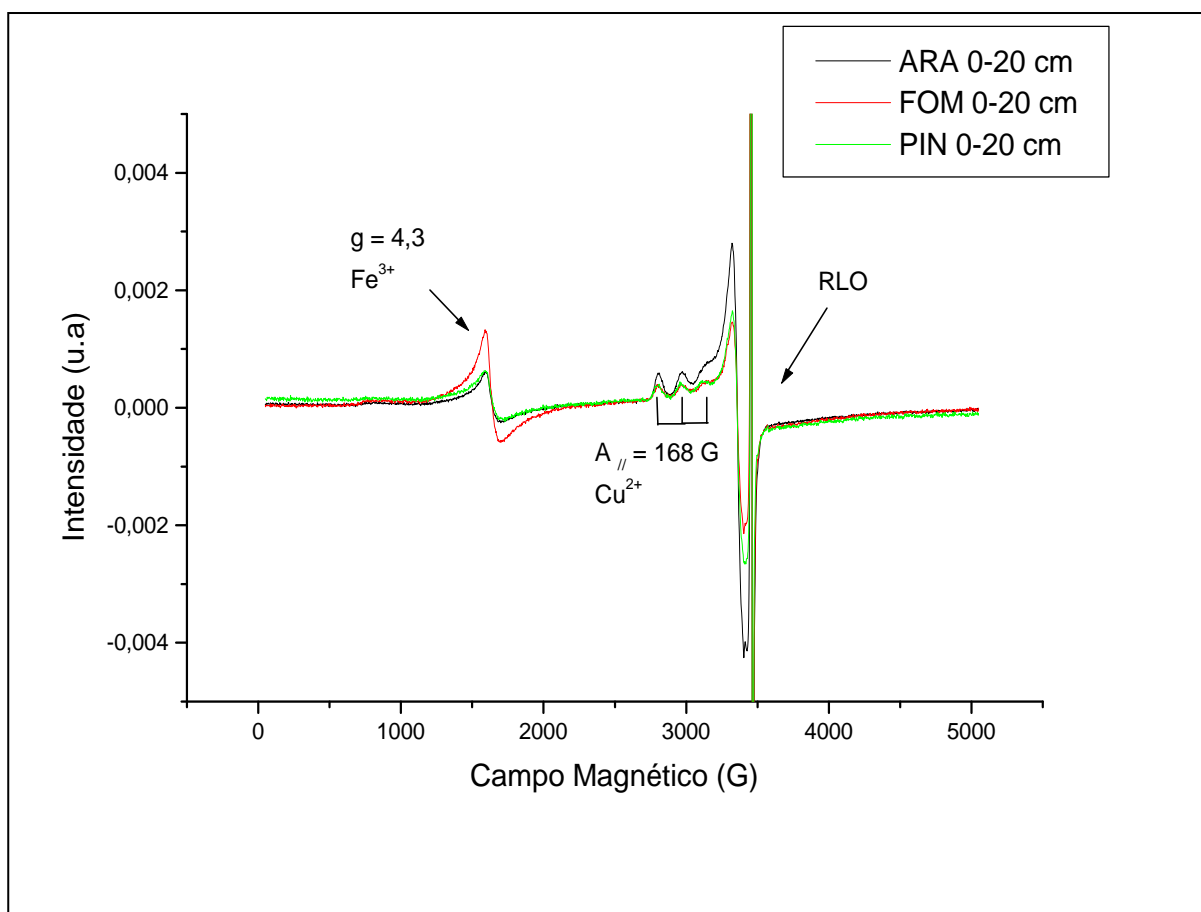


Figura 19. Espectros de EPR dos ácidos húmicos de solos sob Floresta Ombrófila Mista Montana (FOM), Plantio de *Araucaria angustifolia* (ARA) e Plantio de *Pinus elliotii* (PIN), na profundidade 0-20 cm, em campo magnético de 5000 Gauss.

As moléculas de AH dos solos formam estruturas amorfas, diferentemente dos minerais dos solos. Por isso, os espectros de EPR de AH também são diferentes dos de minerais. Enquanto que nos espectros de minerais se observam linhas de íons Fe^{3+} em diferentes simetrias dadas a substituições isomórficas deste dentro da organização cristalina dos minerais, nos espectros de substâncias húmicas se observa apenas as linhas do centro I de ferro, com $g = 4,3$, nos domínios diluídos, que consiste da interação de íons Fe^{3+} com a matéria orgânica, ligados aos grupos funcionais dos ácidos húmicos em sítios tetraédricos ou octaédricos com alta simetria rômbrica. Allard *et al.* (2004) evidenciaram que esta linha é intensificada, sem sinal de Fe^{3+} estrutural típico de argilas, em espectro de amostra rica em material orgânico.

Na análise dos espectros de EPR na profundidade 0-20 cm, a amostra FOM apresentou sinal para domínios diluídos de Fe^{3+} , $g = 4,3$, com maior intensidade, sugerindo que o ácido húmico dessa formação apresenta maior teor de ferro em sítios isolados.

Outro sinal identificado em todos os espectros dos AH estudados foram quatro linhas

com $A_{//}$ de 168 G, $g_{//}$ de 2,0085 e g_{\perp} perpendicular de 2,2795, característico de cobre ligado a estruturas oxigenadas. Analisando a intensidade deste sinal nas amostras de 0-20 cm de profundidade observa-se maior intensidade para a amostra ARA, sugerindo maior concentração de Cu nos AH do solo sobre plantio de araucária. Este metal pode ser responsável pela condensação molecular dos AH, já visto por DRUV-VIS e FTIR, uma vez que forma quelatos com grupos carboxílicos.

Os espectros dos AH das formações florestais em estudo correspondentes as profundidades de 20-40 e 40-60 cm (Figura 20) apresentaram as linhas já caracterizadas para Fe^{3+} e Cu^{2+} sem nenhuma diferença mais acentuada.

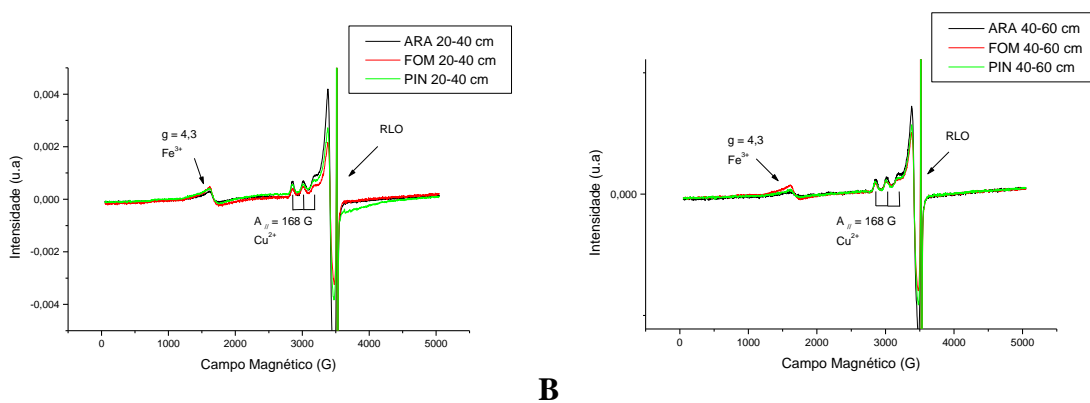


Figura 20. Espectros de EPR dos ácidos húmicos de solos sob Floresta Ombrófila Mista Montana (FOM), Plantio de *Araucaria angustifolia* (ARA) e Plantio de *Pinus elliottii* (PIN), na profundidade 20-40 cm (A) e 40-60 cm (B).

Os espectros dos AH das formações ARA e PIN na profundidade de 60-80 cm (Figura 21) apresentaram maior concentração de ferro em domínios concentrados, caracterizado pela linha larga em $g = 2,0$. Isto pode ser devido à maior interação destes AH com os óxidos de ferro do solo. A maior relação entre as intensidades das bandas em 1720 e 1620 cm^{-1} observada nos espectros de FTIR para AH de ARA, que sugere maior concentração de carboxilatos nestas amostras, pode contribuir para esta indicação. A maior concentração de ferro em domínios concentrados nessas amostras pode ter contribuído para o aumento da razão E_4/E_6 (1,41 e 1,20) calculadas dos espectros de DRUV-Vis, porque os óxidos de ferro goetita e hematita absorvem em 485 e 550 nm, respectivamente.

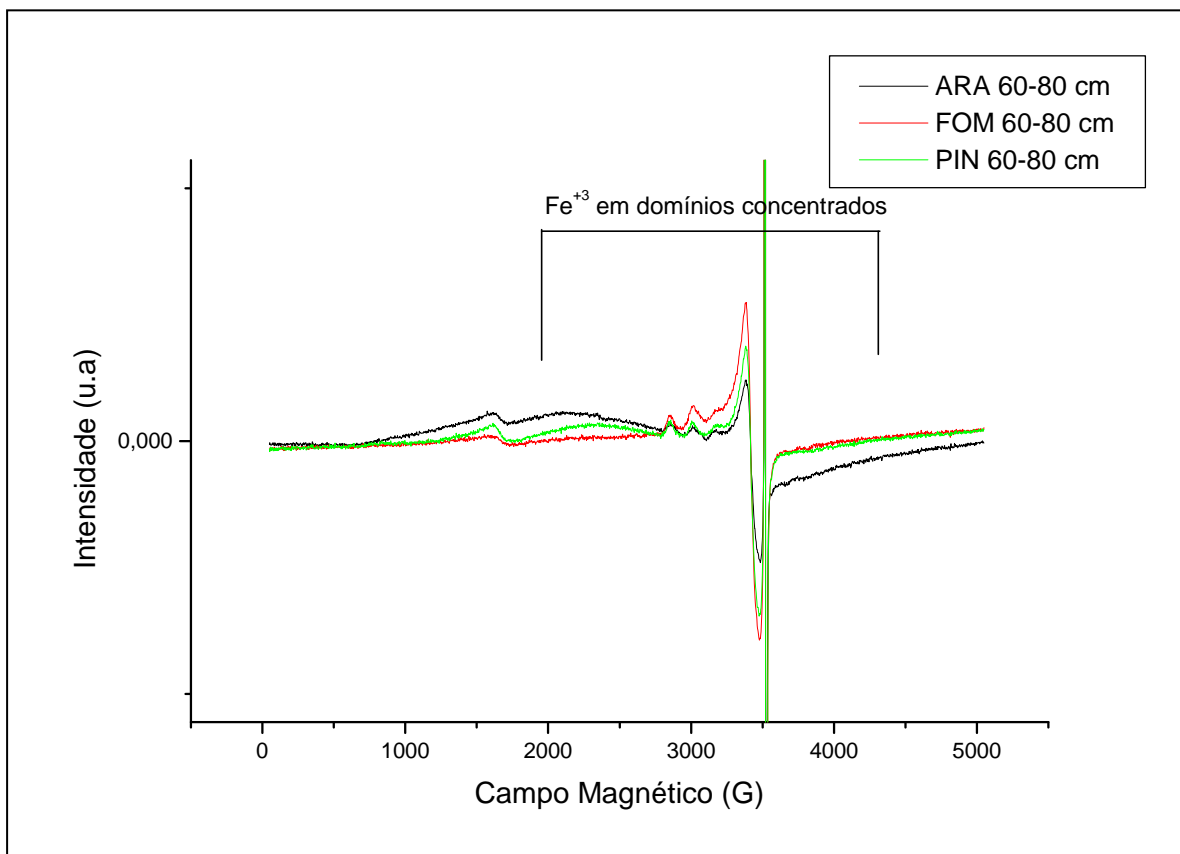


Figura 21. Espectros de EPR dos ácidos húmicos de solos sob Floresta Ombrófila Mista Montana (FOM), Plantio de *Araucaria angustifolia* (ARA) e Plantio de *Pinus elliotii* (PIN), na profundidade 60-80 cm, em campo magnético de 5000 Gauss.

Todos os espectros também apresentaram sinal intenso em $g = 2,0$, atribuído à radical livre orgânico (RLO) do tipo orto/para-semiquinonas. A partir deste sinal foi determinada a densidade de spin das amostras.

5.3.1. Densidade de spin

A Tabela 3 mostra a densidade de spin de cada amostra de ácido húmico para cada formação florestal dentro das profundidades estudadas. Estes dados mostram a seletividade da técnica e o seu potencial para diferenciar as amostras quanto à concentração de radical livre orgânico (RLO) (SIMÕES, 2005).

Tabela 3. Densidade de Spin das amostras de ácido húmico nas profundidades de 0-20, 20-40, 40-60 e 60-80 cm para as formações florestais ARA, FOM e PIN.

AMOSTRAS	g fator	Delta PP	Nº de Spin/g
ARA 0-20	2,0033	5,3	$7,8 \times 10^{16}$
ARA 20-40	2,0035	4,1	$1,9 \times 10^{16}$
ARA 40-60	2,0035	3,9	$3,5 \times 10^{16}$
ARA 60-80	2,0036	4,1	$4,4 \times 10^{16}$
FOM 0-20	2,0035	5,0	$7,2 \times 10^{16}$
FOM 20-40	2,0033	3,6	$2,0 \times 10^{16}$
FOM 40-60	2,0034	3,8	$5,3 \times 10^{16}$
FOM 60-80	2,0035	3,9	$5,4 \times 10^{16}$
PIN 0-20	2,0033	5,0	$5,7 \times 10^{16}$
PIN 20-40	2,0035	3,9	$6,4 \times 10^{16}$
PIN 40-60	2,0035	4,0	$5,9 \times 10^{16}$
PIN 60-80	2,0035	3,9	$7,1 \times 10^{16}$

A maior densidade de spin aparece na primeira camada (0-20 cm) para todos as formações florestais, sendo a formação de Plantio de *Araucaria angustifolia* (ARA) a que apresentou maior quantidade de RLO (Tabela 3). Observa-se que o decréscimo na densidade de spin da amostra da camada 0-20 cm pra a camada 20-40 cm é relativamente abrupto, para as formações ARA e FOM, e volta a crescer gradativamente de maneira mais amena em profundidade. Essa variação na densidade de spin em profundidade pode estar relacionada com a quantidade de íons paramagnéticos (Fe^{3+} , Mn^{2+} ou Cu^{2+}) presentes no solo, que influencia uma diminuição “a posteriori” da concentração de radicais livres orgânicos detectáveis por EPR, esse efeito “a posteriori” pode ser geral para todas as substâncias húmicas (JEZIERSKI *et al.*, 2000; NOVOTNY, 2002). Além disso, a quantidade de ácidos húmicos, e conseqüentemente de radicais livres orgânicos, pode estar relacionada ao teor de matéria orgânica ou de carbono do solo, que é maior na camada superficial do solo. A Tabela 4 apresenta os teores de carbono (método Walkley-Black) das formações florestais nas profundidades de 0-20, 20-40, 40-60 e 60-80 cm.

Tabela 4. Teor de matéria orgânica e carbono das amostras de solo nas profundidades de 0-20, 20-40, 40-60 e 60-80 cm das formações florestais ARA, FOM e PIN.

AMOSTRAS	MO (g/dm³)	Carbono (g/dm³)
ARA 0-20	39,53	22,92
ARA 20-40	25,46	14,76
ARA 40-60	18,09	10,49
ARA 60-80	12,06	6,99
FOM 0-20	43,55	25,25
FOM 20-40	33,5	19,43
FOM 40-60	25,46	14,76
FOM 60-80	21,44	12,43
PIN 0-20	44,22	25,64
PIN 20-40	41,54	24,09
PIN 40-60	36,85	21,37
PIN 60-80	32,16	18,65

Para a formação PIN (Plantio de *Pinus elliottii*) a densidade de spin da amostra, ao contrário das outras duas formações, manteve-se praticamente constante, acompanhando o teor de carbono em profundidade no solo. Essa quantidade de radical livre orgânico, praticamente constante ou com pouca variação em profundidade na formação PIN, e o maior teor de carbono em profundidade em relação às outras formações (FOM e ARA), podem ser explicados pelo fato do *Pinus* ser uma espécie exótica nesse ecossistema e a atividade microbiana ser afetada, fazendo com que a matéria orgânica no solo mantenha o processo de humificação lento. Segundo Carvalho *et al.* (2008), a atividade microbiana reduzida em florestas de *Pinus* faz com que haja um acúmulo de serrapilheira e conseqüentemente de MO nos solos sob essas florestas.

6. CONCLUSÕES

A espectroscopia de DRUV-Vis mostrou que os plantios de *Araucaria angustifolia* e *Pinus elliottii* se comportam de forma diferente na formação do ácido húmico do solo. A razão E_4/E_6 indica que o Plantio de Araucária forma ácido húmico aromático condensado e o Plantio de Pinus mais alifático ou aromático menos condensado no solo sob essas formações se comparado com a floresta natural. A maior densidade de spin apresentada na espectroscopia de EPR para o Plantio de Araucária confirma essa hipótese. Este resultado pode estar relacionado principalmente com a diferença na quantidade de serrapilheira depositada e acumulada nessas formações, o plantio com Araucária adiciona quantidade menor, e ainda à dificuldade da ação microbiana na formação com Pinus.

O comportamento em profundidade do ácido húmico formado sob a formação com Araucária apresentou-se de maneira semelhante ao ácido húmico formado sob a floresta natural. Essas formações caracterizam-se por formarem ácido húmico em profundidade mais humificados, enquanto que a formação com Pinus incorpora ácido húmico mais “jovem” em profundidade, resultado observado por DRUV-VIS e densidade de spin.

A respeito do potencial de solos florestais em sequestrar carbono pode-se indicar que uma floresta de *Pinus elliottii* de 50 anos tem potencial de sequestrar carbono, pelo fato da matéria orgânica dessa formação sofrer um processo lento de decomposição. Assim a matéria orgânica desse solo permanece mais tempo em processo de humificação e o carbono das estruturas do ácido húmico da mesma forma ficam mais tempo sequestrados no solo.

Apesar dos plantios de Araucária e da floresta natural apresentar processo de decomposição da matéria orgânica e de humificação do ácido húmico mais acelerado, as estruturas formadas são mais aromáticas e condensadas, tornando o ácido húmico mais resistente a outros processos de decomposição microbiana garantindo que o carbono presente nas estruturas do ácido húmico do solo permaneça seqüestrado por mais tempo.

Assim faz-se necessário o estudo sobre sistemas de manejo dos solos florestais visando à conservação do solo, bem como das substâncias húmicas para a garantia da permanência do carbono seqüestrado nos solos e nas substâncias húmicas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLARD, T.; MULLER, J. P.; DRAN, J. C.; MENAGER, M. T. Radiation-induced paramagnetic defects in natural kaolinites – alpha-dosimetry with ion-beam irradiation. **Physics and chemistry of minerals**, v. 21, p. 85-96, 1994.
- ANDERSON, J.M.; SWIFT, M.J. Decomposition in tropical forests. In: SUTTON, S.L.; WHITMORE, T.C.; CNADWICK, A.C. (eds.) **Tropical Rain Forest: Ecology and Management**. Blackwell Scientific Publications, Oxford, p.287-309, 1983.
- ANDRIULO, A.E.; GALANTINI, J.A.; PECORARI, C.; TORIONI, E. Materia orgânica Del suelo em la región pampeana; I. Um método de fraccionamento por tamizado. **Agrochimica**. 34, 1990. p. 475-489.
- BALBINOT, R.; SCHUMACHER, M.V.; WATZLAWICK, L.F.; SANQUETTA, C.R. Inventário do carbono orgânico em um plantio de *Pinus taeda* aos 5 anos de idade no Rio Grande do Sul. **Revista Ciências Exatas e Naturais**, v.5, n.1, p.59-68, 2003.
- BAYER, C.; MIELNICZUK, J. Dinâmica e função da matéria orgânica. In: SANTOS, G.A.; CAMARGO, F.A.O. (eds.) **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. Genesis: Porto Alegre, 1999. p.9-26, 508p.
- BLOIS, M.S.Jr., BROWN, H.W., MAILING, J.E. Precision g-value measurements of free radicals of biological interest. In: BLOIS, M.S.Jr.; BROWN, H.W., LEMMON, R.M., LINDLOM, R.O., WEISSBLUTH, M. (Eds.) **Free radicals in biological systems**. New York, Academic. 1961, p117-131.
- BLUM, H.; LOMBARDI, K. C.; MANGRICH, A. S.; Caracterização de Ácidos Húmicos de solos sob diferentes Sistemas Florestais (compact disc). In: XXXII Congresso Brasileiro de Ciência do Solo: O Solo e a Produção de Bioenergia: Perspectivas e Desafios. Fortaleza, Ceará, 2009. **Resumos...** Fortaleza, 2009.
- BRAVARD, S.; RIGHI, D. Characterization of fulvic and humic acids from na Oxisol-Spodosol toposequence of Amazonia, Brazil. **Geoderma**. v.48, 1991, p.151-162.
- BRISTOT, D. **O efeito da substituição da floresta com araucária por monoculturas florestais sobre a deposição de serrapilheira e a ciclagem de nutrientes**. São Leopoldo-RS, 2008, 57f. Dissertação (Mestrado em Biologia), Universidade do Vale do Rio dos Sinos.
- BRITEZ, R.M.; SILVA, S.M.; SOUZA, W.S.; MOTTA, J.T.W. Levantamento Florístico em Floresta Ombrófila Mista, São Mateus do Sul, Paraná, Brasil. **Arq. Biol. Tecnol.**, v. 38, n. 4, p. 1147-1161, 1995.
- BUDZIAK, C. R.; MANGRICH, A. S. Transformações químicas da matéria orgânica durante a compostagem de resíduos da Indústria madeireira. **Química. Nova**, v.27, n.3, 2004, p.339-403.
- BUDZIAK, C. R.; **Grupos Ácidos e Capacidade de Oxidação de Ácidos Húmicos como Método de Avaliação de Processos de Compostagem**. Curitiba . PR. Dissertação de Mestrado, Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná. 2002.

CANELLAS, L. P. Reações da matéria orgânica. In: SANTOS, G. de A.; CAMARGO, F. O (eds). **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre: Gênese, 1999. cap. 5, p 69-90.

CANELLAS, P.L.; SANTOS, A.G. Distribuição da matéria orgânica e características de ácidos húmicos; Pesquisa. **Agropecuária brasileira**, Brasília, v.36, n.12, 2001, p.1529-1538.

CARVALHO, E.R.; MARTIN-NETO, L.; MILORI, D.M.B.P., ROCHA, J.C.; ROSA, A.H.; Interactions of chlorine with tropical aquatic fulvic acids and formation of intermediates observed by fluorescence spectroscopy. **J. Braz. Chem. Soc.**, vol. 15, No. 3, 421-426, 2004.

CARVALHO, A.M.X.; VALE, H.M.M.; FERREIRA, E.M.; CORDERO, A.F.P.; BARROS, N.F.; COSTA, M.D. Atividade microbiana de solo e serapilheira em áreas povoadas com *Pinus elliottii* e *Terminalia ivorensis*. **Revista Bras. Ciência do Solo**, v.32, 2008, p.2709-2716.

CELI, L.; SCHNITZER, M.; NÈGRE, M. Analysis of Carboxil Groups in Soil Humic Acids by Wet Chemical Method, Fourier-Transform Infrared Spectrophotometry, and Solution-State Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance. A comparative Study, **Soil Sci.**, 162, 189-197, 1997.

CHENG, H.H.; KIMBLE, J.M. Characterization of soil organic carbon pools. In: LAL, R.; KIMBLE, J.M.; FOLLET, R.F.; STEWART, B.A. (Eds). **Assessment methods for soil carbon**. Boca Raton, Lewis Publishers. p.117-130, 2001.

CHESHIRE, M.V., McPHAIL, D.B. **Hyperfine splitting in the electron spin resonance solution spectra of humic substances**. 1996, *European J. Soil Sci.* 47, p.205-213.

CONSERVAÇÃO DO BIOMA FLORESTA COM ARAUCÁRIA: RELATÓRIO FINAL. Curitiba: FUPEF, 2001. v.1/2.

DOBBS, L.B.; RUMJANECK, V.M.; BALDOTTO, M.A.; VELLOSO, A.C.X.; CANELLAS, L.P.; Caracterização química e espectroscópica de ácidos húmicos e fúlvicos isolados da camada superior de latossolos brasileiros. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. Vol. 33, p. 51-63, 2009.

ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO. CCEN – Universidade Federal do Pará. Disponível em: <http://www.ufpa.br/ccen/disciplinas/PDF%20files/12%20-Infravermelho%20e%20Ultravioleta.pdf>. Acessado em : 7 fev. 2010.

FAVORETTO, C.M. **Caracterização da matéria orgânica humificada de um latossolo vermelho distrófico através da espectroscopia de fluorescência induzida por laser**. Ponta Grossa-PR, 2007, 99 f. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Estadual de Ponta Grossa.

FERREIRA, A. R.; **Caracterização Química e Espectroscópica de Ácidos Húmicos e Sedimentos retirados da Baía de Guaratuba-PR e Avaliação do nível de poluição ambiental**. Curitiba, 2006, 114 f. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal do Paraná.

FIGUEIREDO FILHO, A.; DIAS, A.N.; WATZLAWICK, L.F. **Inventário das florestas plantadas na Floresta Nacional de Irati, Estado do Paraná**. Irati: UNICENTRO, 2006. 103p.

FONTANA, A.; NASCIMENTO, G. B.; ANJOS, L. H. C.; PEREIRA, M. G.; EBELING, A. G. Matéria orgânica em solos de Tabuleiros na região norte fluminense (RJ). UFRRJ, **Revista Floresta e Ambiente**, v. 8, n. 1, p.114-119. 2001.

GALVÃO, F.; KUNIYOSHI, Y. S.; RODERJAN, C. V. Levantamento fitossociológico das principais associações arbóreas da Floresta Nacional de Irati - PR. **Revista Floresta**, v. 19, n. 1 e 2, p. 30-49, 1989.

GUIMARÃES, E. **Caracterização química, espectroscópica e por análise térmica de ácidos húmicos e vermicompostos obtidos de esterco de diferentes animais**. Curitiba, PR. Dissertação de Mestrado, Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná. 1997.

GUIMARAES, E.; MANGRICH, A. S.; MACHADO, V. G.; Criterious preparation and characterization of earthworm-composts in view of animal waste recycling. Part II. A synergistic utilization of EPR and H-1 NMR spectroscopies on the characterization of humic acids from vermicomposts. **J. Brazil Chem. Soc**, v. 12, n. 6, p. 734-741, 2001.

IBGE. Manual técnico da vegetação brasileira. Rio de Janeiro, 1992. 92p.

IBGE. Classificação da vegetação brasileira adaptada a um sistema universal. Rio de Janeiro, 1991. 124p.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Mapa de Biomas do Brasil e o Mapa de Vegetação do Brasil. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=169. Acessado em: 8 fev. 2010.

JEZIERSKI, A.; CZECHOWSKI, F.; JERZYKIEWICZ, M.; CHEN, Y. Electron paramagnetic resonance (EPR) studies on stable and transient radicals in humic acids from compost, soil, peat and brown coal. 2000, **Spectrochim. Acta A** 56,p.379-385.

KLEIN, R.M. O aspecto dinâmico do pinheiro-brasileiro. **Sellowia**, Itajaí, v. 12, n. 12, p. 17-48, 1960.

LAL, R. Soil carbon sequestration to mitigate climate change. **Geoderma**, v.123, p.1 –22, 2004.

LIMA, V.C.; LIMA, J.M.J.C.; CERRI, C.C.; FRANZON, J.F. Efeito da substituição de campo natural por *Pinus* na dinâmica de carbono do solo. **Revista do Setor de Ciências Agrárias**, v.14, p.7-12. 1995.

LOMBARDI K. C.; GUIMARÃES J. L.; MANGRICH A. S.; MATTOSO N; ABBATE M; SCHREINER W. H.; WYPYCH F. Structural and Morphological Characterization of the PP-0559 Kaolinite from the Brazilian **Amazon Region J. Braz. Chem. Soc**, 13: (2) p.270-275, 2002.

LOMBARDI, K. C.; **Nova estratégia no estudo das interações de estruturas orgânicas**

com componentes inorgânicos do solo com vistas à degradação de agrotóxicos e ao sequestro de carbono, e a contribuição de macrofungos na formação de matéria orgânica de solos. Curitiba-PR, 2005. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal do Paraná.

LU, X.Q.; JOHNSON, W.D. The reaction of aquatic substances with copper (II) ions: an ESR study of complexation. **The Science of the Total Environment**, Elsevier, v.203, p.199-207. 1997.

MANGRICH, A.S. **Caracterização de Complexos de Substâncias Húmicas com VO²⁺, Mn²⁺, Fe³⁺, Cu²⁺.** Rio de Janeiro, 1983. Tese (Doutorado em Química Inorgânica) – Universidade Federal do Rio de Janeiro.

MANGRICH, A. S. **Apostila de EPR.** DQ-UFPR. 1998.

MANGRICH, A.S.; VUGMAN, N.V. Bonding parameters of vanadyl ion in humic acid from the Jucu river estuarine region, Brazil. **Sci. Total Environ.** 75, p235-241. 1988.

MARTÍN-NETO, L; VIEIRA, M.; SPOSITO, G. Mechanism of Atrazine Sorption by Humic Acid: A Spectroscopic Study. **Environ. Sci. Technol.**, 28, 1867-1873, 1994.

MARTIN-NETO, L.; NASCIMENTO, O.R.; TALAMONI, J., POPPI, N.R. EPR of micronutrients-humics substances complexes extracted from a brazilian soil. **Soil Sci.** 51, p369-376, 1991.

MAZZA, C.A.S.; MAZZA, M.C.M., SANTOS, J.E. SIG aplicado à caracterização ambiental de uma unidade de conservação Floresta Nacional de Irati, Paraná. In: ANAIS XII SIMPÓSIO BRASILEIRO DE SENSORIAMENTO REMOTO, 2005, Goiânia. **Resumos...** Goiânia: INPE. 2005.

NAIDJA, A., HUANG, P.M., ANDERSON, D.W.; VAN KESSEL, C. Fourier transform infrared, UV-Visible, and X-ray diffraction analysis of organic matter in humin, humic acid, and fulvic acid fractions in soil exposed to elevated CO₂ and N fertilization. **Applied Spectroscopy**, v. 56, n. 3, p. 318-324, 2002.

NIEMEYER, J.; CHEN, Y.; BOLLAG, J. M.; Characterization of Humic Acids, Composts, and Peat by Diffuse Reflectance Fourier-Transform Infrared Spectroscopy, **Soil Sci. Soc. of Am. J.**, 56, 135-130, 1992.

NOVOTNY, E.H. **Estudos espectroscopicos e cromatograficos de substancias humicas de solos sob diferentes sistemas de preparo.** São Carlos –SP, 2002. 213 f. Tese (Doutorado em Ciências- Físico Química). Instituto de Química de São Carlos. Universidade de São Paulo.

NOVOTNY, E.H.; BLUM, W.E.H.; GERZABEK, M.H.; MANGRICH, A.S. Soil management system effects on size fractionated humic substances. **Geoderma**, v. 92, p. 87-109, 1999.

O'CONNELL, A.M.; SANKARAN, K.V. Organic matter accretion, decomposition and mineralisation. In: NAMBIAR, E.K.S., BROWN, A.G. (Ed.) Management of soil, nutrients and water in tropical plantations forests. Canberra: **ACIAR** Australia/CSIRO, 1997. p. 443-480. (Monograph; n.43).

OADES, J.M.; GILLMAN, G.P.; UEHARA, G. Interaction of soil organic matter and variable charge clays. In: OADES (Ed). **Dynamics of soil organic matter in tropical ecosystems**. Honolulu, University of Hawaii. 1989, p. 69-95.

OLENDZIK, R. N.; **Caracterização das Interações de Substâncias Húmicas com a matéria inorgânica em solos de cultivo de arroz irrigado: contribuição à aquisição de dados essenciais para avaliação global do seqüestro de carbono no solo**. Curitiba-PR, 2006. 153 f. Tese (Doutorado em Química). Universidade Federal do Paraná.

ONIKI, T.; TAKAHAMA, U. **Effects of reaction time, chemical reduction, and oxidation, on ESR in aqueous solutions of humic acids**. 1994, Soil SCI. 158, p204-210.

PARISH, R. V. NMR, NQR, EPR and Mossbauer spectroscopy in inorganic chemistry. London: **Elis Horwood**, 1990.

PEREIRA, B. F. **Caracterização Química, Térmica e Espectroscópica de Húmus Produzidos na Região de Curitiba-PR**. Curitiba, 2000, (Dissertação de Mestrado). Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

PEREIRA, J.C.D.; TOMASELLI, I. A influência do desbaste na qualidade da madeira de *Pinus elliottii* Engelm. Var. *elliottii*. **Boletim de Pesquisa Florestal**. Colombo, PR. Jul/dez. 2004. v.49, p. 61-81.

PÉREZ, M.G.; MARTIN-NETO, L.; SAAB, S.C.; NOVOTNY, E.H.; MILORI, D.M.B.P.; BAGNATO, V.S.; COLNAGO, L.A.; MELO, W.J.; KNICKER, H. Characterization of humic acids from a Brazilian Oxisol under different tillage systems by EPR, ¹³C NMR, FTIR and fluorescence spectroscopy. **Geoderma**, Elsevier. v. 118, p.181–190, 2004.

PICCOLO, A. Atmospheric CO₂ and alteration of Global Climate. In: ENCONTRO BRASILEIRO SOBRE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS, 3., 1999, Santa Maria. **Resumos...** Santa Maria: Imprensa Universitária, 1999. 145 p.

RIFFALDI, R.; SCHNITZER, M. Electron spin resonance spectrometry of humic substances. **Soil Sci. Soc. Am. J.** 36, p301-305.

ROCHA, J. C., ROSA, A. H. **Substâncias Húmicas Aquáticas: interações com espécies metálicas**. São Paulo: Editora UNESP, 2003.

RODE, R. **Avaliação florística e estrutural de uma Floresta Ombrófila Mista e de uma vegetação arbórea estabelecida sob um povoamento de *Araucaria angustifolia* de 60 anos**. Curitiba, 2008. 153f. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

RUIVO, M.L.P.; AMARAL, I.G.; FARO, M.P.S.; RIBEIRO, E.L.C; GUEDES, A.L.S.; SANTOS, M.M.L.S. Caracterização da Manta Orgânica e da Matéria Orgânica Leve em Diferentes Tipos de Solo em uma Toposseqüência na Ilha de Algodoal/Maiandeuá, PA. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Série Ciências Naturais**, Belém, v. 1, n. 1, p. 227-234, jan./abr. 2005.

SAAB, S.C. **Caracterização da matéria orgânica em gleissolos por espectroscopias de EPR, RMN, IV E UV-Visível.** São Carlos, 1999. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química de São Carlos, USP.

SAAB, S.C.; MARTIN-NETO, L. Anéis aromáticos condensados condensados e relação E₄/E₆: estudo de ácidos húmicos de gleissolos por RMN de ¹³C no estado sólido utilizando a técnica CP/MAS desacoplamento defasado. **Quim. Nova**, vol. 30, nº.2. São Paulo. Mar/Abr. 2007.

SCHLESINGER, W.H. Changes in soil carbon storage and associated properties with disturbance and recovery. In: TRABALKA, J.R.; REICHLER (eds) The changing carbon cycle. **Springer**, New York, 1986. p.194-220, 592p.

SCHULTEN, H, R. The three-dimensional structure of humic substances and soil organic matter studied by computational analytical chemistry. **Fresenius J. Anal. Chem.**, 351, p62-73, 1995.

SENESI, N.; SCHNITZER, M. Effects of pH, reaction time, chemical reduction and irradiation on ESR spectra of fulvic acid. 1977, **Soil Sci.** 123, p224-234.

SENESI, N. Molecular and quantitative aspects of the chemistry of fulvic acids and its interactions with metals ions and organic chemicals. Part I. The electron spin resonance approach. **Anal. Chim. Acta** 232, 51-75. 1990.

SILVA, L.S.; CAMARGO, F.A.O.; CERETTA, C.A. Composição da fase sólida orgânica do solo. In: MEURER, E.J. Fundamentos de química do solo, 2 ed. Porto Alegre, **Genesis**, p. 73-99, 2004.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J.; **Identificação Espectroscópica de Compostos Orgânicos.** 7ª Edição. Rio de Janeiro: LTC, 490p. 2007.

SIMÕES, M.L.; SILVA, W.T.L.; SAAB, S.C.; FIALHO, L.L.; MARTIN-NETO, L. Utilização da Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica para Avaliar a Presença de Impurezas em Adubos Orgânicos. **EMBRAPA**, São Carlos-SP, 6p. 2005. (Comunicado Técnico 67).

SOCIEDADE DE PESQUISA EM VIDA SELVAGEM E EDUCAÇÃO AMBIENTAL. Manual para recuperação da reserva florestal legal. Curitiba: FNMA, 1996. 84p. In: FIGUEIREDO FILHO, A.; DIAS, A.N.; WATZLAWICK, L.F. **Inventário das florestas plantadas na Floresta Nacional de Irati, Estado do Paraná.** Irati: UNICENTRO, p.15, 2006.

SPACCINI, R.; MBAGWU, J.S.C.; CONTE, P.; PICCOLO, A. Changes of humic substances characteristics from forested to cultivated soils in Ethiopia. **Geoderma**, Elsevier. v.132, p. 9-19, 2006.

STEVENSON, F. J. Biochemistry of the formation of humic substances. In: Humus Chemistry. **John Wiley**, New York, 1982, p. 195-219.

STEVENSON, F. J. Humus chemistry: genesis, composition e reaction. 2ª Ed.: **John Wiley e Sons**, New York., 1994.

TATZBER, M.; STEMMER, M.; SPIEGEL, H.; KATZLBERGER, C.; HABERHAUER, G.; GERZABEK, M.H. Impact of different tillage practices on molecular characteristics of humic acids in a long-term field experiment – An application of three different spectroscopic methods. **Science of the Total Environment**, Elsevier, vol.406. 2008, p. 256-268.

THENG, B.K.G.; TATE, K.R.; SOLLINS, P. Constituents of organic matter in temperate and tropical soils. In: COLEMAN, D.C.; OADE, J.M.; UEHARA, G. (Ed.) **Dynamics of soil organic matter in tropical ecosystems**. Honolulu, University of Hawaii. 1989, p. 5-32.

TREVISAN, E. **Classificação e caracterização de horizontes orgânicos sob povoamentos de *Pinus taeda* L. na região de Ponta Grossa – PR – 1ª aproximação**. Curitiba, 1992. 111 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

VELOSO, H.P.; RANGEL FILHO, A.L.R.; LIMA, J.C. Classificação da vegetação brasileira, adaptada a um sistema universal. Rio de Janeiro: **IBGE-DERNA**, 1991. 123p.