



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA**

HAMEED ULLAH

**ESTUDO CALORIMÉTRICO DA INFLUÊNCIA DE XENOBIÓTICOS
NA ATIVIDADE MICROBIANA DE ALGUNS SOLOS CULTIVADOS
POR ALGODÃO**

**TESE DE DOUTORADO APRESENTADA AO
INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNICAMP PARA
OBTENÇÃO DO TÍTULO DE DOUTOR EM CIÊNCIAS.**

ORIENTADOR: PROF. DR. JOSÉ DE ALENCAR SIMONI

**ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA TESE DEFENDIDA
POR HAMEED ULLAH, E ORIENTADA PELO PROF.DR. JOSÉ DE ALENCAR SIMONI.**

Assinatura do Orientador

CAMPINAS, 2012

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR SIMONE LUCAS - CRB8/8144 -
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNICAMP**

UL4e	Ullah, Hameed (1983-). Estudo calorimétrico da influência de xenobióticos na atividade microbiana de alguns solos cultivados por algodão / Hameed Ullah. – Campinas, SP: [s.n.], 2012. Orientador: José de Alencar Simoni. Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química. 1. Solo. 2. Xenobióticos. 3. Calorimetria. 4. Algodão. I. Simoni, José de Alencar. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título.
------	--

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Calorimetric study of xenobiotic influence on the microbial activity of some cotton cultivated soils

Palavras-chave em inglês:

Soil
Xenobiotics
Calorimetry
Cotton

Área de concentração: Físico-Química

Titulação: Doutor em Ciências

Banca examinadora:

José de Alencar Simoni [Orientador]
Maria Lucia Caetano Pinto da Silva
Luis Henrique Mendes da Silva
Pedro Oliver Dunstan Lozano
René Alfonso Nome Silva

Data de defesa: 23/03/2012

Programa de pós-graduação: Química

Dedicatorio

para

DAJI GUL

and

**to all those fallen tears
of my Baybay and
sisters when i leaved
for Brazil**

AGRADECIMENTOS

Todos os louvores ao poderoso ALLAH, o mais beneficente, o mais misericordioso, Quem me concedeu força para trabalhar, a visão para observar e a mente para pensar e julgar.

Eu gostaria de agradecer em especial ao meu supervisor, prof. Dr. José de Alencar Simoni por sua orientação durante minha investigação e estudo no Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas. Sua energia e entusiasmo em pesquisa me motivaram para completar essa tarefa, sendo que com entusiasmo e alegria pude assistir às suas aulas e pude ser orientado por ele, cuja grande perícia em química é merecedora de destaque. Além disso, o professor representa um exemplo de grande investigador por seu rigor e paixão na área da análise térmica e calorimetria.

Eu gostaria de expressar minha profunda gratidão ao Prof. Dr. Pedro Luis Onofrio Volpe, do Instituto de Química da, Universidade Estadual de Campinas, por me aconselhar durante o trabalho.

Eu também sou grato ao Prof. Dr. Imtiaz Ahmad (orientador durante mestrado) por seus conselhos valiosos ao longo de meus estudos no Brasil.

Expresso meus profundos agradecimentos à minha família por seu incansável amor e apoio ao longo da minha vida, devendo ser destacado que a existência dessa tese seria simplesmente impossível sem o suporte de meus familiares. Também devo muito ao meu pai, por seu zelo. Como um típico pai paquistanês, ele trabalhou muito para suportar a família e se esforçou muito para propiciar o melhor ambiente possível para meu desenvolvimento e meus estudos, sendo que ele jamais se lamentou apesar de todas as dificuldades em sua vida. Para mim minha mãe é simplesmente perfeita, não podendo encontrar palavra adequada que possa descrever seu eterno amor por mim. Lembro-me e sinto falta de seus deliciosos pratos. Mãe, EU TE AMO, além de me sentir orgulhoso por minhas irmãs, por seus talentos. Elas têm constituído um modelo importante para que eu possa pautar minha vida, podendo tê-lo seguido inconscientemente quando eu era adolescente, sendo que minha família é uma importante fonte aconselhadora para mim.

Eu sou grato a minha namorada “S.A. Estevao (SU)” por seu briga, ciúme e por último, mas sem desmerecimento, por seu amor eterno por mim durante esse trabalho.

Eu também sou grato ao Gabriel Jeronimo Curti e à Amanda Carolina Covizzi Bertelli por seus valiosos conselhos e suporte durante o trabalho realizado, além de: meu tio paternal, Aurangzeb, Jehanzeb, Mohammad Ilyas e por último, mas sem desmerecimento, à Sardar Ghyyas Ud Din (GM, Linker Pharma) e aos meus primos: Sardar Islam Zeb, Sardar Kaleem Ullah, Sardar Amir Khan, Sardar Bilal Khan e aos meus cunhados: Zahid Khan, Fazal Kareem, Asfandyar Khan e Amirzeb, por seus conselhos.

Eu gostaria de agradecer a todos meus amigos: Ali Riaz, Abdul Haleem, Sabir Khan, Alamgir, Abdul Majeed Khan e especialmente ao Mahwash Hafeez, que conversou comigo em todos os momentos e me acalmou durante o período que estive no Brasil.

*Finalmente, mas sem desmercer, à **TWAS**, ao **CNPq** e ao **IQ-Unicamp** por propiciaram-me a oportunidade de realizar meu doutorado no Brasil.*

Hameed Ullah

Curriculum Vitae

Dados Pessoais

Nome: Hameed Ullah

Email: hameedchemist@yahoo.com

Formação Acadêmica/Titulação

2008-2012- Doutorado em Ciências, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brazil

Título: Estudo Calorimétrico da Influência de Xenobióticos na Atividade Microbiana de Alguns Solos Cultivados por Algodão.

Orientador: Prof.Dr José de Alencar Simoni

Bolsista: TWAS & CNPq

2006-2008 - M.Phil em Química, University of Peshawar, Peshawar, Pakistan

Título: Study on the Influence of Some Intercalating agents on Modification of Crude And Pre-Baked Clays

Orientador: Prof.Dr. Imtiaz Ahmad

2002-2005 Mestrado em Química, University of Peshawar, Peshawar, Pakistan

Título: Adsorption of Poly Aromatic Hydrocarbon on Coal.

Orientador: Prof.Dr. Mohammad Shakirullah

2000-2002- Bacharelado em Química, University of Peshawar, Peshawar, Pakistan

Artigos completos publicados em periódicos

M SHAKIRULLAH, I AHMAD, H REHMAN, M ISHAQ, U KHAN, H ULLAH.
Effective Chemical Leaching and Ash Depletion of Low Rank Coal with EDTA and Citric acid. J. Chem. Soc. Pak.28(1), 56-61, 2006.

H. Rahman, M.Shakirullah, I.Ahmad, S.Shah and Hameed.Ullah " J. Chin. Chem. Soc., 53(5), 1045-1052, 2006

Imtiaz Ahmada, M.Shakirullah, M.Ishaqa, M.Arsala Khanb, Habib ur Rehmana and Hameed Ullah. J.Chilian. Chemical.Society.52(2), 2007.

Imtiaz Ahmada, M. Arsala Khanb, M.Shakirullah, M.Ishaqa, Hameed Ullah, Mohammad Omer. J.Chilian. Chemical.Society 2009, 54(3), 222-227.

Sabir Khan, M. Ishaq, Imtiaz Ahmad, Sajjad Hussain and Hameed Ullah. Evaluation of coal as adsorbent for phosphate removal. Arabian Journal of Geosciences

DOI: 10.1007/s12517-011-0431-3

Imtiaz Ahmad, Hameed Ullah . Study on the Thermal Properties of Some Inorganically Modified Pre- Baked Clay Samples (Accepted in Journal of the chemical Society of Pakistan)

Imtiaz Ahmad, Hameed Ullah . Evaluation of Thermal Stability of Some Organically Modified Clays (accepted in Journal of the Chemical Society of Pakistan)

Apresentação de trabalhos em eventos científicos

Ullah,H.; Simoni, J. A.; Airoidi, C.; Souza de, Z. M, 32nd Annual Meeting of the Brazilian Society of Chemistry, May 30 to June 2, 2009, Fortaleza

Egyptian Second International Conference in Chemistry - Chemistry for Human Needs, 9/10/11/12 / November, 2009, Hurghada, Egypt, Africa

Ullah,H.; Simoni, J. A.; Airoidi, C.; Souza de, Z. M.; Riaz, A.; Curti, G. J. foi apresentado na forma de pôster durante a 34^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química.23-26 maio, 2011, Florianópolis, Brazil.

RESUMO

ESTUDO CALORIMÉTRICO DA INFLUÊNCIA DE XENOBIÓTICOS NA ATIVIDADE MICROBIANA DE ALGUNS SOLOS CULTIVADOS POR ALGODÃO

O presente estudo investiga a influência da adição de alguns xenobióticos comuns em práticas agrícolas, na atividade microbiana de três solos de diferentes regiões, utilizando a calorimetria isotérmica. Amostras de Latosolo vermelho do Brasil: **Unik** (Unicamp-Campinas) de mata original, **Lebra** (Leme-SP) cultivada por algodão, e **Pak** (Faisalabad, Paquistão) cultivada por algodão. Esses solos foram caracterizados por análise elementar de CHN, pH e acidez total, análise microbiológica e análises térmicas (TGA e DSC). A atividade microbiana foi acompanhada por calorimetria isotérmica, com o objetivo de se investigar a influência de fatores como: tempo de armazenamento, estação de coleta, adição de herbicidas do grupo das sulfoniluréias; clorimuron e metsulfurom, e arsênio. Utilizou-se a glicose como substrato principal, como fonte de carbono, nesse estudo. Os principais resultados evidenciam que o uso dos herbicidas conjuntamente com glicose aumentou a liberação de energia e, portanto, de CO₂, quando comparado à adição simples de glicose. A emissão de CO₂ (catabolismo) também foi maior para os solos com cultivo intensivo de monocultura de algodão, sendo que a ordem de emissão foi Pak>Lebra>Unik¹. Por outro lado a adição de As³⁺ provoca uma diminuição do catabolismo e, portanto, diminuindo a emissão de CO₂.

ABSTRACT

CALORIMETRIC STUDY OF XENOBIOTIC INFLUENCE ON THE MICROBIAL ACTIVITY OF SOME COTTON CULTIVATED SOILS

The present study investigates the influence of the addition of some xenobiotics, commonly used in agricultural practices, on the microbial activity of soils from three different regions, by using isothermal calorimetry. Samples of red Latosol from Brazil: **Unik** (Unicamp-Campinas) of the original forest, **Lebra** (Leme, São Paulo) cultivated with cotton, and **Pak** (Faisalabad, Pakistan) cultivated with cotton. These soils were characterized by CHN elemental analysis, pH, total acidity, microbiological analysis and thermal analysis (TGA and DSC). Microbial activity was monitored by isothermal calorimetry, in order to investigate the influence of factors such as time of storage, collection station, the addition of the sulfonylurea herbicides, chlorimuron and metsulfuron, and arsenic ion. Glucose was used as main substrate as carbon source in this study. The main results show that the use of the herbicides together with glucose increased the release of energy, so CO₂, compared to the simple addition of glucose. The CO₂ emissions (catabolism) was also higher for soils with intensive cultivation of cotton monoculture, and the order was Pak > Lebra > Unik¹. Moreover the addition of As³⁺ causes a decrease in catabolism and thus decreasing the CO₂ production to the environment.

SUMÁRIO

	Páginas
Lista de abreviaturas	xix
Índice de Tabelas	xxi
Índice de figuras	xxv

Índice Geral

Item	Página
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. O solo	3
1.2. Xenobióticos e contaminantes	15
1.2.1. Metais Pesados	16
1.2.2. Arsênio	17
1.2.3. Biocidas	17
1.2.3.1. Metsulfurom	18
1.2.3.2. clorimurom	19
1.3. Atividade microbiana	20
1.4. Calorimetria	21
2. OBJETIVO GERAL	29
2.1. Objetivos Específicos	29
3. EXPERIMENTAL	31

3. 1. Amostragem do solo e reagentes	33
3.2. Reagentes e soluções	34
3.3. Umidade e Matéria Orgânica (método da combustão)	35
3.4. Análise Elementar	35
3.5. Determinação de pH	35
3.6. Determinação da acidez total	36
3.7. Determinação da matéria orgânica total (MOT)	37
3.8. Análise microbiológica	37
3.9. Análises Térmicas	39
3.10. Microcalorimetria	39
3.10.1. Procedimento experimental e metodologia de cálculo	39
3.10.2. Estudo da influência do tempo de armazenamento	45
3.10.3. Estudo da influência da estação de coleta	45
3.10.4. Estudo do efeito de diferentes xenobióticos	45
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
4.1. Umidade do solo	49
4.2. Determinação do pH do solo	50
4.3. Determinação da acidez total	52
4.4. Análise elementar	53
4.5. Matéria Orgânica do solo- MOS (método da combustão)	55

4.6. Matéria Orgânica Total- MOT (titulação com dicromato)	57
4.7. Análises Térmicas: DSC e TGA.	59
4.7.1. Estudo comparativo por TGA e DSC entre as amostras de solo Unik1(primavera) e Pak.	59
4.7.2. Estudo comparativo por TGA e DSC entre as amostras de solo Unik, e efeito da variação sazonal.	64
4.8. Estudo microbiológico	67
4.9. Calorimetria Isotérmica	70
4.9.1. Estudo do efeito do tempo de armazenamento no metabolismo de glicose no solo Unik1(primavera)	71
4.9.2. Estudo do efeito do tempo de armazenamento no metabolismo de glicose no solo Pak	75
4.9.3. Estudo do efeito da estação de coleta do solo Unik1(primavera) no metabolismo de glicose	79
4.9.4. Estudo comparativo do metabolismo dos três solos: Unik1(primavera), Pak e Lebra	82
4.9.5. Estudo do efeito da adição de As^{3+} no solo Unik1(primavera)	85
4.9.6. Efeito da adição de clorimurom no solo Pak	87
4.9.7. Estudo do efeito da adição de methsulfuron no solo Pak	91
4.9.8. Estudo do efeito da adição de clorimurom no solo Unik1(primavera)	96
4.9.9. Estudo do efeito da adição de metsulfurom no solo Unik1(primavera)	99
4.9.10. Efeito da adição de clorimurom no solo Lebra	101

4.9.11. Efeito da adição do metsulfurom no solo Lebra	104
5. CONCLUSÕES	109
6.REFERÊNCIAS	113
7. APÊNDICE	127
7.1. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	127
7.2. Análise de EDX (Dispersão de raios-X)	128

Lista de abreviaturas

TGA, DSC = análise termogravimétrica, calorimetria diferencial de varredura.

DTA- análise térmica diferencial

ITC = calorimetria isotérmica

Pak = Solo Paquistão

CHN = análise elementar de carbono, hidrogênio e nitrogênio

Unik1(primavera)- Solo da Unicamp coletado na primavera

Unik2(verão)- Solo da Unicamp coletado no verão

Unik3(outono)- Solo da Unicamp coletado no outono

Unik4(inverno)- Solo da Unicamp coletado no inverno

ΔG - Variação da energia livre de Gibbs.

ATP- Trifosfato de adenosina

NADH- dinucleótido de nicotinamida-adenina reduzido

2,4-D- ácido 2,4-diclorofenóxiacético

MOT- matéria orgânica total do solo, determinada por titulação com dicromato em meio ácido

MOS- matéria orgânica do solo determinada por combustão a 600 °C

ϕ = fluxo de energia (valor de potência no registro calorimétrico)

ηH : Eficiência no processo (quanto de matéria foi assimilada pelo solo)

ΔX : Assimilação de biomassa viva (quanto de matéria orgânica na forma viva foi assimilada no metabolismo do substrato)

Y_{XS} : Rendimento de biomassa (representa a relação entre a quantidade de matéria orgânica viva assimilada e a quantidade de substrato adicionado)

$Y_{Q/X}$: Rendimento térmico (relação entre a energia liberada no processo e a quantidade de matéria orgânica viva assimilada)

$\Delta_{met}H$: Entalpia de molar degradação do substrato. (é a relação entre a energia liberada no metabolismo (registrarada pelo calorímetro) e a quantidade em mol de substrata adicionado.

P_T : “peak time” = tempo decorrido, a partir da adição do substrato ao solo, para se atingir o valor de máxima de potencia no registro calorimétrico)

$\Delta_R H_s$ – entalpia molar de degradação da glicose

$\Delta_{comb}H$ – entalpia molar de combustão

μL - microlitro 1×10^{-6} litro

(EDX)- Espectroscopia de energia dispersiva de raios-X

C:N e C/N- relação molar entre carbono e nitrogênio no solo.

C% - porcentagem em massa de carbono no solo

N%- porcentagem em massa de nitrogênio no solo

H% - porcentagem em massa de hidrogênio no solo

IC- intervalo de temperatura em que se atribui a combustão da matéria orgânica do solo, nas determinações por DSC

T- tonelada

ha- hectare – extensão de terra que corresponde a uma área de $1 \times 10^4 \text{ m}^2$.

ufc- unidades formadoras de colônia. No caso desse trabalho, por grama de solo seco, determinado por contagem em placas de crescimento biológico.

clorimuron- nome abreviado para o benzoato de etil 2 – (4-cloro-6-metóxipirimidina-2-ilcarbamoilsulfamoila

metsulfurom- nome abreviado para o benzoato de metil 2 – (4-metóxi-6-metil-1,3,5-triazin-2-ilcarbamoilsulfamoila

Índice de Tabelas

Tabela	Página
Tabela 1. Reagentes utilizados na preparação do meio para a contagem de bactérias e actinomicetos.	38
Tabela 2. Teores de umidade média para os diversos tipos de solo estudados.	49
Tabela 3. Valores de pH dos solos coletados no Brasil e no Paquistão.	51
Tabela 4. Valores de acidez total dos solos Pak e Unik1 (primavera).	53
Tabela 5. Valores de acidez total das diversas amostras dos solos Unik.	53
Tabela 6. Dados da Análise elementar, em porcentagem em massa para amostras de solo Unik1 (primavera) e Pak.	54
Tabela 7. Dados de análise elementar para as amostras do solo Unik, coletadas ao longo das diferentes estações climáticas.	55
Tabela 8. Teores percentuais de matéria orgânica do solo (MOS) em porcentagem para as diversas amostras de solo estudadas.	56
Tabela 9. Dados da análise elementar, em porcentagem em massa, dos vários solos.	57
Tabela 10. Dados de TGA obtidos para os solos Unik1 (primavera) e Pak.	62
Tabela 11. Dados de TGA obtidos para os solos Unik, coletados ao longo de diferentes estações.	66
Tabela 12. Resultados da determinação da quantidade de bactérias + actinomicetos + leveduras para os diferentes tipos de solo estudados, em unidades formadoras de colônias (ufc) (10^4 unidades g^{-1} de solo seco)	69

Tabela 13. Resultados da calorimetria para a adição de 1 miligrama de glicose aplicada ao solo Unik1(primavera) de 2 a 32 meses de armazenamento.	73
Tabela 14. Resultados do balanço de massa das equações macroquímicas, para a adição de 1 miligrama de glicose aplicada ao solo Unik1(primavera) de 2 a 32 meses de armazenamento.	74
Tabela 15. Resultados da calorimetria para a adição de 1 miligrama de glicose aplicada ao solo Pak após 2 e 16 meses de armazenamento.	77
Tabela 16. Resultados do balanço de massa das equações macroquímicas, para a adição de 1 miligrama de glicose aplicada ao solo Pak após 2 e 16 meses de armazenamento.	79
Tabela 17. Resultados da calorimetria para a adição de 1 miligrama de glicose aplicada aos solos Unik, coletados em diferentes estações do ano.	81
Tabela 18. Resultados do balanço de massa das equações macroquímicas, para a adição de 1 miligrama de glicose aplicada ao solo Unik coletados em diferentes estações do ano.	81
Tabela 19. Resultados da calorimetria para a adição de 1 miligrama de glicose aplicada às diferentes amostras de solo.	84
Tabela 20. Resultados do balanço de massa das equações macroquímicas, para a adição de 1 miligrama de glicose aplicada às diferentes amostras de solo.	85
Tabela 21. Resultados calorimétricos do metabolismo de diferentes quantidades de clorimurom adicionado a 1 grama do solo Lebra.	102
Tabela 22. Resultados de calorimetria do metabolismo de 1 miligrama de glicose adicionada a 1 grama do solo Lebra, com adição prévia de	104

clorimurom puro em diferentes quantidades (mg g^{-1} de solo).	
Tabela 23. Resultados calorimétricos do metabolismo de diferentes quantidades de metsulfurom adicionado a 1 grama do solo Lebra.	106
Tabela 24. Resultados de calorimetria do metabolismo de 1 miligrama de glicose adicionada a 1 grama do solo Lebra, com adição prévia de metsulfurom puro em diferentes quantidades (mg g^{-1} de solo).	107
Tabela A1. Resultados de EDX para a amostra de solos Unik1 (primavera).	129
Tabela A2. Resultados de EDX para a amostra de solo Pak.	130

Índice de Figuras

Figura	Página
Figura 1. Camadas típicas (horizontes) encontradas no perfil de um solo.	4
Figura 2. Diagrama de fases tridimensional indicando as diferentes classificações baseadas na textura do solo. (LEMOS E SANTOS, 1984) .	7
Figura 3. Tamanhos das partículas, textura e a porosidade.	8
Figura 4. Diagrama esquemático de um processo metabólico.	13
Figura 5. Fórmula estrutural plana do herbicida metsulfurom.	19
Figura 6. Fórmula estrutural plana do clorimurom.	19
Figura 7. Imagem representando o primeiro calorímetro de gelo, desenvolvido por Lavoiseur e Laplace (LAVOISER, 1783).	22
Figura 8. Localização da amostragem do solo Unik. Na Unicamp, lado esquerdo, localização no Brasil , lado direito ($22^{\circ}9'05,86''$ S ; $47^{\circ}03'53,03''$ O). Google Earth, acessado em 25/03/2010.	33
Figura 9- Localização da amostragem do solo Lebra, em Leme, Brasil , localização ($22^{\circ}9'05,86''$ S ; $47^{\circ}03'53,03''$ O). Google Earth, acessado em 25/3/2010.	34
Figura 10. Localização da amostragem do solo do Paquistão, Pak, lado esquerdo, e em Faisalabad, lado direito ($31^{\circ}26'10,56''$ N $73^{\circ}03'56,10''$ L). Google Earth, acessado em 25/3/2010.	34
Figura 11. Representação simplificada da célula calorimétrica.	40
Figura 12. Curva de crescimento microbiano ou curva calorimétrica.	41
Figura 13. Correlação entre carbono elementar matéria orgânica total para os solos Unik e Pak.	58

Figura 14. Registro gráfico da Análise Termogravimétrica do solo Unik1(primavera) e Pak.	60
Figura 15. Registro gráfico da Calorimetria Diferencial de Varredura do solo Unik1(primavera) e Pak.	61
Figura 16. Registro gráfico da Análise Termogravimétrica dos solos Unik em função das estações de coleta.	64
Figura 17. Registro gráfico da Calorimetria Diferencial de Varredura dos solos Unik em função das estações de coleta.	65
Figura 18. Registros calorimétricos e resultados do estudo da influência do tempo de estocagem no metabolismo de 1 mg de glicose pelo solo Unik1(primavera).	72
Figura 19. Influência do tempo de armazenamento na constante de crescimento e energia metabólica de 1 mg de glicose no solo Unik1(primavera).67	73
Figura 20. Registros calorimétricos e resultados do estudo da influência do tempo de estocagem no metabolismo de 1 mg de glicose pelo solo Pak.	76
Figura 21. Dependência da energia metabólica e a constante de crescimento microbiano para o solo Pak, em função do tempo de coleta.	77
Figura 22. Relação entre a quantidade de microorganismos e a energia metabólica para os solos Unik1(primavera) e Pak.	78
Figura 23. Influência da estação de coleta na quantidade de microorganismos e constante de crescimento solo Unik.	79
Figura 24. Influência da estação de coleta no metabolismo de 1 mg de glicose pelos solos Unik.	80

Figura 25. Influência da estação de coleta na quantidade de microorganismos e na energia metabólica para o solo Unik.	80
Figura 26. Registros e resultados calorimétricos do metabolismo de glicose para os diferentes solos: Unik1 (primavera), Pak e Lebra.	83
Figura 27. Valores de constante de crescimento microbiano e energia metabólica para os solos Unik1 (primavera), Lebra e Pak.	83
Figura 28. Registros calorimétricos do metabolismo de 1 mg de glicose adicionada 1 mês após a adição de As^{3+} , em diferentes concentrações no solo Unik1 (primavera).	85
Figura 29. Efeito da concentração de As^{3+} na energia metabólica de 1 mg de glicose para o solo Unik1 (primavera).	86
Figura 30. Registros e resultados calorimétricos do metabolismo de diferentes quantidades de clorimurom adicionado a 1 grama do solo Pak.	88
Figura 31. Energia metabólica de clorimurom em função de sua concentração no solo Pak.	88
Figura 32. Relação entre “peak time” e a concentração de clorimurom do solo Pak.	89
Figura 33. Registros calorimétricos do metabolismo de 1 mg glicose adicionada a 1 grama do solo do Paquistão, Pak, com adição prévia de clorimurom puro em diferentes quantidades.	89
Figura 34. Concentração de clorimurom versus energia metabólica de glicose no solo Pak.	90
Figura 35. Relação entre a 1ª e 2ª constantes crescimentos no metabolismo de glicose e clorimurom para o solo Pak.	91
Figura 36. Registros calorimétricos do metabolismo de diferentes	92

quantidades de metsulfurom adicionado a 1 grama do solo Pak.	
Figura 37. Efeito da concentração de metsulfurom na energia metabólica e na constante de crescimento microbiano no solo Pak.	93
Figura 38. Registros calorimétricos do metabolismo de 1 miligrama de glicose adicionada a 1 grama do solo Pak, com adição prévia de diferentes quantidades metsulfurom.	94
Figura 39. Efeito de metsulfurom no metabolismo de glicose no solo Pak.	95
Figura 40. Efeito da concentração de metsulfurom na constante de crescimento e na energia metabólica na degradação de 1 miligrama de glicose, após adição de diferentes quantidades de metsulfurom ao solo Pak.	95
Figura 41. Metabolismo de metsulfurom e clorimuron no solo Pak.	96
Figura 42. Registros e resultados calorimétricos do metabolismo de 1 miligrama de glicose em presença de diferentes quantidades de clorimurom para o solo Unik1(primavera).	97
Figura 43. Energia e constante de crescimento microbiano em função da concentração de clorimurom no solo Unik1(primavera).	98
Figura 44. Registros e resultados calorimétricos do metabolismo de 1 mg glicose adicionada a 1 grama do solo Unik1(primavera), com adição prévia de clorimurom puro em diferentes quantidades.	99
Figura 45. Registros e resultados calorimétricos do metabolismo 1 miligrama de glicose após aplicação de diferentes quantidades de metsulfurom no solo Unik1(primavera).	100
Figura 46. Registros e resultados calorimétricos do metabolismo de 1 miligrama de glicose adicionada a 1 grama do solo Unik1(primavera),	101

com adição prévia de metsulfurom puro em diferentes quantidades.	
Figura 47. Registros calorimétricos do metabolismo de diferentes quantidades de clorimurom adicionado a 1 grama do solo Lebra.	102
Figura 48. Registros calorimétricos do metabolismo de 1 miligrama de glicose adicionada a 1 grama do solo Lebra, com adição prévia de clorimurom puro em diferentes quantidades.	104
Figura 49. Registros calorimétricos do metabolismo de diferentes quantidades de metsulfurom adicionado a 1 grama do solo Lebra.	105
Figura 50. Registros calorimétricos do metabolismo de 1 mg glicose adicionada a 1 grama do solo Lebra, com adição prévia de metsulfurom puro em diferentes quantidades.	107
Figura A1. Imagem de MEV para o solo Unik1 (primavera).	127
Figura A2. Imagem de MEV para o solo Pak.	127
Figura A3. Análise de EDX da amostra de solo Unik1 (primavera).	128
Figura A4. Análise de EDX para a amostra de solo Pak.	129

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1. O solo

O solo é um meio em que as plantas podem se desenvolver, a partir dos nutrientes presentes, e por onde começa a se estabelecer importantes cadeias alimentares. O solo é constituído por material resultante de processos físicos, químicos e biológicos atuando numa rocha, e também por matéria orgânica animal e vegetal. O papel desempenhado pelo solo é muito importante, no estabelecimento de espécies vegetais, fornecendo nutrientes aos vegetais e aos animais, e atuando como reservatório de água, nutrientes, poluentes, etc. O solo, de forma geral, vem sofrendo impactos significativos graças às atividades antropogênicas, principalmente a partir da revolução industrial.

Na avaliação das características do solo mencionadas anteriormente, é imperativo um conhecimento básico de seus atributos físicos, químicos e biológicos, de forma a se ter uma visão mais abrangente sobre esse substrato.

O solo é um material único e de difícil definição. Em química, por exemplo, define-se o solo com um meio em que ocorrem diferentes reações químicas de todas as espécies, enquanto que em biologia, o solo é considerado como um meio habitado por diferentes tipos de organismos, como plantas, bactérias, fungos e pequenos animais, formando uma sociedade que funciona como “um todo”.

Fisicamente o solo pode ser visualizado como um corpo natural constituído por camadas (horizontes) em que há presença de minerais, sendo que essas camadas apresentam espessuras variáveis, que diferem dos materiais de origem, morfológica, química, física e mineralogicamente (BIRKELAND, 1999). De acordo com Soil Science Society of America, o solo é constituído por: minerais não-consolidados ou material orgânico que atuam como meios naturais para o crescimento de plantas terrestres e de organismos vivos, e que foi submetido à ação de certos fatores ambientais ao longo do tempo.

De acordo com esses pressupostos, infere-se que o solo corresponde a um sistema complexo, que apresenta propriedades diversas, podendo considerar-se que, para um solo estar definido, todos os seus atributos devem se encontrar devidamente conhecidos.

A formação do solo começa através de uma rocha-mãe que vai se modificando ao longo do tempo, seguida da deposição e acúmulo de materiais orgânicos ao longo da superfície. As espécies vivas pioneiras na ocupação do solo são, na maioria das vezes, gramíneas e algas, as quais permitem o posterior acúmulo de matéria orgânica.

O perfil de um solo (Figura 1) se refere às camadas do solo (horizontes) que, na maioria das vezes, apresenta um perfil distinto ou uma seqüência de horizontes que é característica. O horizonte é uma camada específica paralela à superfície do solo e que apresenta atributos físico-químicos que diferem das camadas presentes acima e abaixo de si. A formação de um horizonte depende de processos químicos, geológicos e biológicos, que ocorrem durante longos períodos de tempo. A continuidade dos processos intempéricos em solos e os relacionados com os desenvolvimentos dos horizontes resulta no desenvolvimento do perfil do solo.

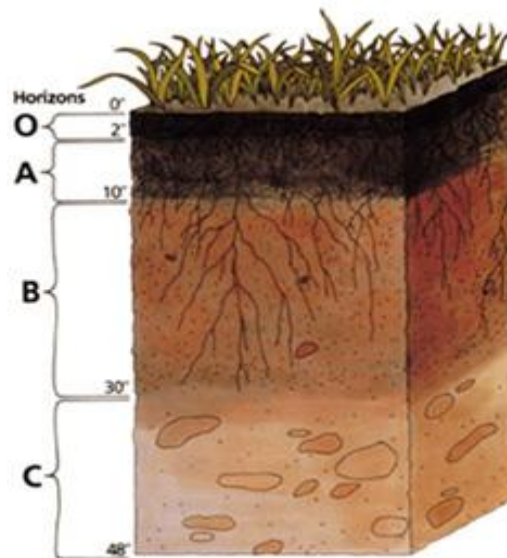


Figura 1. Camadas típicas (horizontes) encontradas no perfil de um solo.

O horizonte "O" (orgânico) é uma camada superficial, dominada pela presença de grandes quantidades de material orgânico em diferentes estágios de decomposição. Ele pode ser dividido em "O1" e "O2", sendo que o horizonte "O1" contém material decomposto, identificado visualmente por fragmentos de folhas em decomposição, enquanto que o horizonte "O2" contém apenas matéria orgânica em estágio de decomposição mais adiantado, tendo uma coloração mais escura que "O1".

O horizonte "A" corresponde à camada do solo de natureza mineral, em que há maior acúmulo da matéria orgânica e a presença de maior quantidade de diferentes formas de vida. Esta camada sofre eluviação de espécies contendo íons ferro e/ou alumínio, argilas, compostos orgânicos e outros componentes solúveis. Quando o processo de eluviação é significativo, há formação de um horizonte "E", que apresenta coloração mais clara, estando localizado abaixo da base do horizonte A. A formação do horizonte "A" também pode resultar de uma combinação da bioturvação do solo e de processos relacionados com as partículas finas do solo, que ocorrem ao longo da superfície desse corpo natural. Neste caso, o horizonte é considerado como um "biomanto".

O horizonte "B" é comumente referido como "subsolo", sendo constituído por camadas de minerais que podem conter elevadas concentrações de argila ou minerais, como: os óxidos de ferro ou de alumínio ou o material orgânico que foi depositado através do processo de lixiviação. Sendo assim, esta camada é também referida como o horizonte "iluvado" ou a "zona de acumulação". Ele apresenta uma estrutura ou consistência distinta com relação aos seus vizinhos e pode apresentar uma coloração mais intensa que o horizonte "A".

O horizonte "C" é pouco afetado por processos erosivos, podendo se destacar, aí, a inexistência de desenvolvimento pedológico, o que corresponde a um dos seus atributos definidores. Esse horizonte pode conter grandes pedaços ou fragmentos rochosos não-intemperizados, servindo como um indicador estrutural de rochas presentes, podendo conter, ainda, o material parental.

O horizonte “R” ou “rocha-mãe”, que não aparece na Figura 1 é basicamente uma camada rochosa que resistiu parcialmente aos processos intempéricos, estando presente na base do perfil de um solo. Ao contrário das camadas localizadas acima, o horizonte “R” constitui massas contínuas da rocha-mãe, que não podem ser escavadas manualmente.

Como os solos se desenvolvem sob uma diversidade de condições, estes podem variar espacialmente. Processos tais como: a movimentação d'água, a fertilidade, o transporte de solutos, a sorção de solutos e o acúmulo e a decomposição da matéria orgânica, são afetados pelas propriedades dos solos.

De uma maneira geral, os solos apresentam três atributos principais, na sua caracterização: cor, textura e estrutura.

A cor pode variar de avermelhada a acinzentada, todavia as Geociências reconhecem oficialmente 170 cores diferentes. De um modo geral, quanto mais rico em nutrientes for um solo, mais escura é sua coloração, o que indica que há um maior teor de matéria orgânica decomposta (húmus). Os solos acinzentados se relacionam com ambientes em que há drenagem insuficiente, enquanto que no caso dos solos avermelhados são mais deficientes em nutrientes. No entanto, essa interpretação não é tão simples assim e, não raro, pode resultar em erros.

A textura de um solo é um atributo físico importante, já que ele pode afetar muitas outras propriedades. A textura diz respeito à proporção de partículas classificadas de acordo com o seu diâmetro, que são: o silte, a argila e a areia. As partículas com diâmetros maiores do que 2 mm (“fração mineral grosseira”) não entram nessa classificação, mesmo que possam afetar algumas propriedades, tais como a retenção de água. A textura do solo é definida pela porcentagem em massa das partículas, é o resultado do intemperismo sofrido pelos minerais da rocha-mãe, podendo haver interferência de organismos vivos nesse processo. Uma vez que o intemperismo é um processo relativamente lento, a textura é uma propriedade que permanece razoavelmente constante, não sendo alterada pelas

práticas de manejo. A Figura 2 esquematiza as diversas classificações do solo, baseadas na textura.

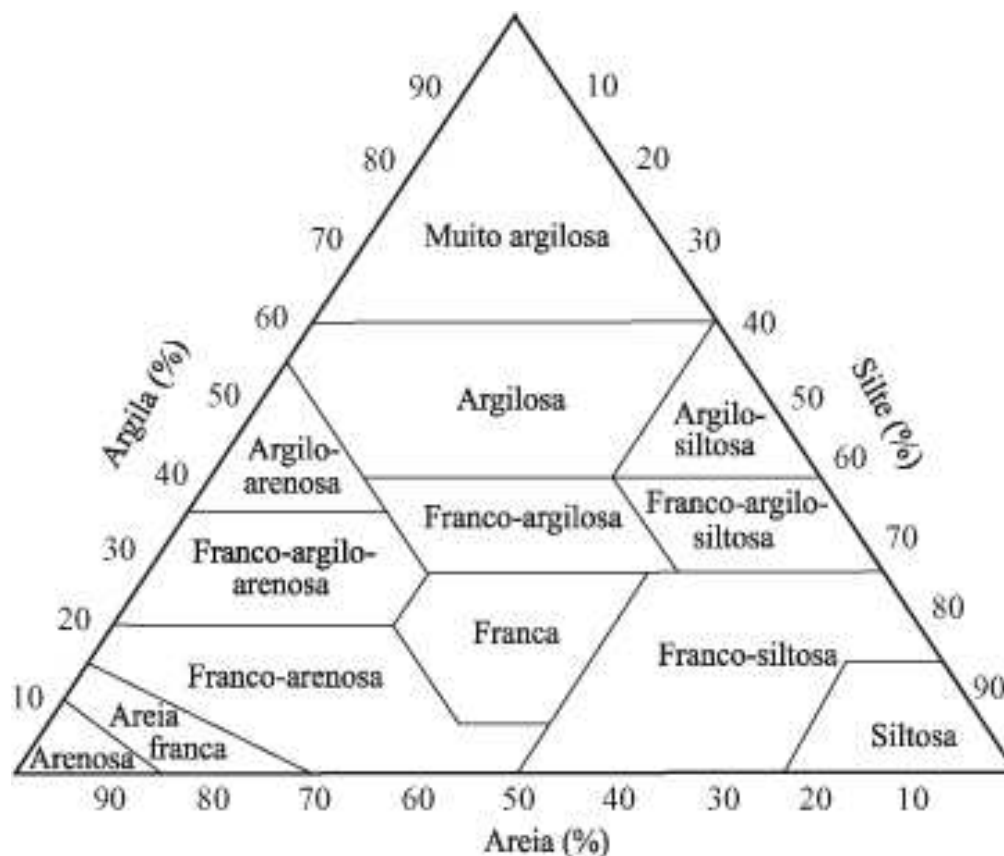


Figura 2. Diagrama de fases tridimensional indicando as diferentes classificações baseadas na textura do solo. (LEMOS E SANTOS, 1984) .

A estrutura do solo corresponde ao arranjo macroscópico das partículas que o constituem, resultando em agregados. A agregação é importante, pois leva a um aumento da estabilidade das partículas contra os processos erosivos, garantindo a manutenção da porosidade e a movimentação de água no solo, melhorando a fertilidade e o sequestro de carbono pelo solo (NICHOLSET e colaboradores, 2004). Os solos apresentam estruturas granulares e agregados de maiores dimensões, similares a placas, blocos, ou prismas, comumente constituindo o horizonte “B” (GARDINER e MILLER, 2004).

Outro atributo físico importante do solo é a sua porosidade. Muitos

processos importantes em solos ocorrem ao nível dos poros (presença de ar e de água nos espaços entre as partículas). A estrutura do solo e sua textura influenciam a porosidade, determinando o tamanho, a quantidade de poros e sua interconexão. Partículas maiores e agregados formam poros de grandes dimensões, denominados de macroporos, enquanto que partículas menores formam os microporos. Ao contrário da textura, a porosidade e a estrutura de um solo não são constantes, podendo ser alterados graças à ação da água, do tipo de manejo empregado e devido aos processos químicos (BRADY e WEIL, 2002). A Figura 3 esquematiza essa classificação de macro e microporos.

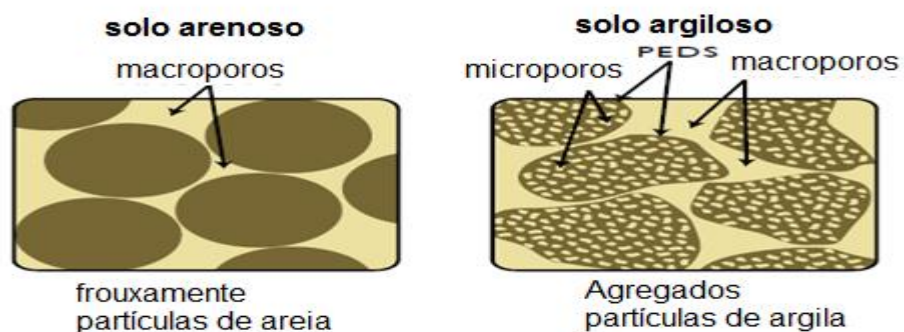


Figura 3. Tamanhos das partículas, textura e a porosidade.

Há alguns atributos químicos do solo que também são importantes. O pH, uma medida da concentração de prótons (H^+) presentes, influencia na eficiência do crescimento de uma cultura, afetando a disponibilidade dos nutrientes e a toxicidade relativa, a atividade dos microrganismos e flora (natural ou de cultivo). A maioria das culturas cresce melhor em solos que apresentam um valor de pH, variando de 6,0 a 8,0.

A capacidade de troca-catiônica diz respeito à capacidade que solo apresenta em reter nutrientes, sendo que seu papel é importante em termos da fertilidade dos solos. A superfície da matéria orgânica e dos argilominerais é responsável por essa sorção de cátions, os quais estão envolvidos em equilíbrio químico com a solução do solo, e são de suma importância para a nutrição

vegetal. Uma capacidade de troca-catiônica elevada indica um solo fértil e resistente, e está associada a elevados teores de argila e matéria orgânica.

A matéria orgânica presente nos solos atua como reservatório de muitos nutrientes essenciais às plantas, como íons inorgânicos (troca iônica) e favorece a liberação do nitrogênio a partir de sua decomposição. Além disso, participa ativamente na formação da estrutura do solo, o que contribui para o incremento na liberação de nutrientes. O sistema de plantio direto resulta num aumento da decomposição da matéria orgânica, levando a uma agricultura sustentável.

Um metro quadrado de solo pode conter até 1000 espécies de grande importância biológica (SCHAEFER e SCHAUERMANN, 1990). Como uma sociedade saudável, a “sociedade do solo”, constituída de vegetais e animais, ao mesmo tempo em que usufrui do solo, também contribui para a sua saúde.

As plantas, por exemplo, no solo se fixam para sobreviver e dele tiram seus nutrientes, ao mesmo tempo em que auxilia na estruturação e na constituição de poros e formação de agregados. As raízes desempenham um papel importante relacionado com a agregação. A rizosfera corresponde a uma zona estreita da terra que se encontra ao redor das raízes das plantas, sendo a região biologicamente mais ativa. Essa região contém células de raízes e substâncias químicas secretadas (açúcares e ácidos orgânicos), que os microrganismos empregam como alimento.

A fauna do solo atua favorecendo a decomposição de restos vegetais e animais, processando grandes quantidades do solo, o que resulta na formação de poros, que favorecem a movimentação de água e a circulação do ar. Essa intensa atividade também resulta na mistura de camadas dos solos, além de favorecer agregação. A fauna de um solo é subdividida em: macrofauna (minhocas, insetos, nematóides, artrópodes etc.), mesofauna e microfauna, sendo, essa última, a de interesse direto nesse trabalho.

A microfauna é composta por microrganismos como bactérias, fungos e actinomicetos, que desempenham papéis vitais no ecossistema solo. De um modo geral, os microrganismos (diferentemente da maioria dos invertebrados), têm a capacidade de digerir qualquer substrato presente no solo. No entanto, por apresentarem relativa incapacidade de se movimentarem (que é mais crítica no caso das bactérias, do que no caso dos fungos) e por ocorrer uma distribuição descontínua dos materiais orgânicos, em que podem atuar, essas formas de vida podem se tornar inativas ao longo do tempo, ou seja, durante as fases de latência, as quais podem durar de meses a anos. As comunidades microbianas surgem como grandes populações dominantes, apresentando diversidades de espécies e possuindo a capacidade de sobreviver sob condições adversas (JENKINSON e LADD, 1981). Uma pequena amostra de solo pode conter de bilhões a centenas de bilhões de microrganismos, constituídas de milhares de espécies de bactérias, além de centenas de espécies diferentes de fungos e de protozoários. A infinidade de espécies de microrganismos que existem nos solos pode ser dividida em diferentes grupos, dependendo: do tipo celular considerado, da forma do organismo, da composição da parede celular, do hábito nutricional e do sistema nervoso. Os microrganismos que compõem o segundo nível trófico ou os níveis tróficos maiores, podem ser divididos em cinco grupos: a) bactérias; (b) actinomicetos; (c) fungos; (d) algas e (e) protozoários. (ALEXANDER, 1961)

As bactérias são as mais abundantes, não obstante contribuam com menos da metade do tecido microbiano total (Alexander, M. 1961). Elas se destacam em razão da rápida capacidade de crescimento e da variedade de substratos naturais que podem decompor, atuando assim como organismos recicladores da matéria de grande importância nos solos (ALEXANDER, 1961).

Os actinomicetos apresentam estrutura filamentosa semelhante às dos fungos, e seus filamentos apresentam diâmetro na faixa de 0,5 a 1,0 μm , menor que a faixa relacionada com os fungos (2,0 a 10 μm) (HATTORI, 1973). Os actinomicetos se desenvolvem mais lentamente que bactérias e fungos, sendo

heterotróficos e dependentes da presença dos substratos orgânicos (ALEXANDER, 1961).

Os fungos, por outro lado, são organismos que não realizam processos fotossintéticos, podendo apresentar estruturas vegetativas conhecidas por micélios (HATTORI, 1973), com a exceção das leveduras. Os fungos podem atuar como decompositores de material orgânico, como proteínas, açúcares, compostos mais complexos e de maior dificuldade de metabolização, como celulose, amido, gomas, lignina etc. (BRADY, 2002). Além disso, esses organismos são os responsáveis, em grande parte, pelo processo de humificação e de estabilização dos agregados, vivendo nos horizontes mais superficiais dos solos e das florestas, assim como em solos ácidos e arenosos (BRADY, 2002).

As algas são organismos fotossintetizantes (produtores primários - primeiro nível trófico). Em razão da necessidade de luz solar, habitam as regiões mais superficiais do solo, sendo os organismos mais independentes com relação à matéria orgânica e em termos de fontes energéticas. No entanto, torna-se imprescindível para sua sobrevivência, aportes adequados de água, dióxido de carbono, nitrogênio, potássio, fósforo, magnésio, enxofre, ferro e de outros micronutrientes, em suas respectivas formas inorgânicas (ALEXANDER, 1961).

Os protozoários correspondem aos organismos eucarióticos encontrados nas proximidades da superfície do solo (NÚÑEZ-FERNÁNDEZ, 2005), sendo mais abundantes onde as bactérias se destacam, uma vez que algumas espécies de protozoários vivem graças à predação de bactérias, podendo contribuir nesse caso para o controle da dinâmica populacional destas (ALEXANDER, 1961).

O modo de atuação no solo, de todas essas formas de vida, é extremamente complexa. A comunidade de bactérias e de fungos pode atuar em resíduos de vegetais e de animais, sendo de suma importância aos solos ao possibilitar a reciclagem de nutrientes e ao favorecer a oferta destes aos vegetais. As bactérias e os fungos nos solos também possibilitam o controle de doenças dos

vegetais, devendo ser destacado que nem todos os microrganismos são benéficos às plantas. A partir da discussão acima, torna-se evidente que uma das características mais importantes dos microrganismos nos solos se relaciona com a capacidade destes em permitir a ciclagem de elementos químicos (especialmente: o carbono, o oxigênio e o nitrogênio) para outras formas biodisponíveis a outros seres.

Com base no que foi discutido, pode-se depreender a importância de estudos que visem à avaliação do metabolismo microbiano. O metabolismo compreende um dos processos gerais mais importantes relacionados com todos os organismos vivos, correspondendo ao conjunto das reações químicas que ocorrem nas células dos diferentes organismos vivos, sendo responsável pela manutenção da vida. Tais reações químicas ocorrem de maneira organizada por vias metabólicas interligadas, em que cada substância química envolvida (que não seja facilmente biodisponível) é transformada em outra substância química que se encontra mais biodisponível. Através da análise dos processos metabólicos, pode-se inferir que substâncias podem ser importantes para a manutenção da vida, ou eventualmente prejudiciais.

O metabolismo pode ser dividido em duas partes: catabolismo (desconstrução). No catabolismo, os substratos energéticos são degradados, havendo liberação de energia ($\Delta G < 0$) e formação de espécies químicas de menores dimensões, podendo se denominar tais processos como exergônicos. No anabolismo (construção), monômeros e pequenas espécies químicas se organizam constituindo novas ligações químicas, de modo que há biossíntese de novas moléculas de maiores dimensões, devendo ser salientado que em tais processos há necessidade do fornecimento de energia para que os processos biossintéticos possam se tornar factíveis. Portanto, nos processos anabólicos ocorrem reações endergônicas ($\Delta G > 0$). Tanto os processos catabólicos, quanto os anabólicos ocorrem de maneira complementar, de forma que se pode afirmar que tais processos estão acoplados.

Os processos metabólicos permitem que os organismos possam crescer e

se reproduzir, além de permitir a manutenção da vida e as respostas frente aos diferentes ambientes. Uma visão geral do processo metabólico está representada na Figura 4. A equação 1 corresponde a uma maneira sucinta e simples para se representar um processo catabólico, envolvendo a glicose.

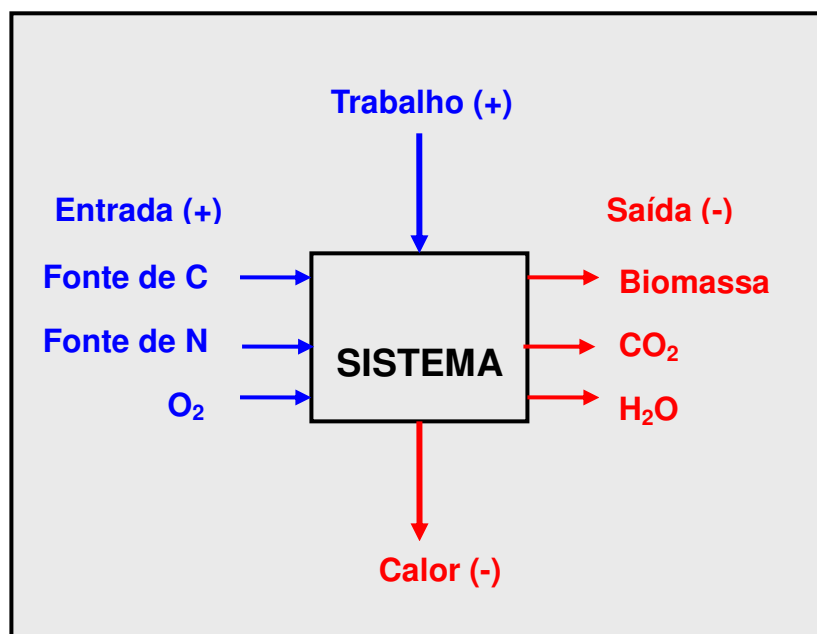
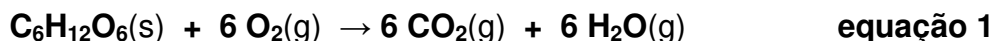


Figura 4. Diagrama esquemático de um processo metabólico.



A equação 1, apesar da simplicidade, não ilustra detalhadamente a complexidade dos processos catabólicos, embora seja comumente considerada em estudos quantitativos empregando-se a calorimetria isotérmica.

O catabolismo corresponde ao conjunto das vias metabólicas oxidativas, em que há: degradação de substratos energéticos, formação de moléculas de menores dimensões e liberação de energia (BOLSTER, 1997). No catabolismo, moléculas grandes e complexas, tais como: polissacarídeos, lipídios, ácidos nucléicos e proteínas, são degradadas em espécies químicas menores, tais como: monossacarídeos, ácidos graxos, nucleotídeos e aminoácidos, respectivamente. A liberação de energia livre que ocorre em tais processos permite a biossíntese de

novas moléculas mais complexas. Deve ser destacado que apesar de se considerar que há aproveitamento energético a partir dos processos catabólicos, de forma a favorecer os biossintéticos (anabólicos), há perdas energéticas (calor) ao longo das vias metabólicas, sendo que a energia pode ser empregada na realização de trabalho ou ser transferida a partir de intermediários-chave no metabolismo, como no caso das moléculas do trifosfato de adenosina (ATP). Alguns exemplos de processos catabólicos gerais que ocorrem em seres vivos são: glicólise, ciclo do ácido cítrico e a respiração celular.

Outra parte importante do metabolismo é o anabolismo ou biossíntese. Ele corresponde aos processos pelos quais os organismos vivos são capazes de sintetizar moléculas de maior complexidade, a partir de espécies químicas mais simples. Uma característica das reações anabólicas é que poucos tipos de moléculas precursoras são empregadas para se sintetizar uma grande variedade de produtos finais como peptídeos, proteínas, polissacarídeos, lipídios e ácidos nucléicos. Tais moléculas correspondem a uma grande quantidade dos materiais constituintes das células vivas, constituindo estruturas tais como: membranas e cromossomos, assim como alguns produtos funcionais de tipos celulares específicos, tais como: enzimas, anticorpos, hormônios e neurotransmissores. A energia necessária para a ocorrência do anabolismo é fornecida pela molécula do ATP, a qual apresenta algumas ligações químicas ricas em energia. A energia presente na forma de uma ligação química pode ser transferida a um substrato, de modo a ativar essa molécula e possibilitar a biossíntese de uma molécula maior. Além da presença do ATP, alguns processos anabólicos também requerem a presença de átomos de hidrogênio de elevada energia, que são fornecidos através molécula de intermediários, como o NADPH. Embora o anabolismo e o catabolismo ocorram simultaneamente, as velocidades das reações químicas associadas com esses processos são controladas separadamente. Há duas razões importantes para que os processos metabólicos sejam separados em vias complementares: primeiramente, o catabolismo corresponde a processos que

ocorrem com liberação de menor energia enquanto que o anabolismo requer o fornecimento de energia.

As atividades metabólicas que ocorrem nos solo vêm recebendo atenção considerável, pois podem ser consideradas como indicadoras da qualidade do solo (BRENDKE, 1993), já que essa qualidade influencia diretamente as transformações dos nutrientes (KISS *e colaboradores*, 1975; NAKAS *e colaboradores*, 1987; MARTENS *e colaboradores*, 1992; ROSS & CAIRNS, 1982; ELLIOTT *e colaboradores*, 1993). A qualidade de um solo é definida como a capacidade deste corpo natural em manter algumas funções ecológicas de grande importância, tais como: a decomposição e a formação de componentes como a matéria orgânica, a mineralização etc. (ALEF, 1995; DORAN, 1996).

A produtividade e a estabilidade de um solo dependem muito do equilíbrio entre os fatores bióticos e abióticos (JORDAN, 1995). Os fatores abióticos podem afetar a atividade microbiana e, dessa forma, mudar a relação quantitativa entre o anabolismo e o catabolismo. Isso, de forma simplificada, significa maior ou menor incorporação de matéria orgânica disponível no solo. Os fatores que podem afetar direta ou indiretamente a atividade microbiana do solo e por consequência a sua fertilidade podem ser: físicos (ADU, 1978), químicos (Xenobióticos e contaminantes) (AITA *e colaboradores*, 2007; GIACOMINI *e colaboradores*, 2009, MARTENS, 2000; ROS *e colaboradores*, 2003; TEJADA *e colaboradores*, 2006), biológicos e ambientais (práticas culturais).

1.2. Xenobióticos e contaminantes

O progresso científico afeta a vida das pessoas, gerando situações extremas de conforto, ou desconforto. Por exemplo, graças a avanços científicos, foram descobertas drogas capazes de tratar diversas doenças, mas, que, quando devolvidas ao meio ambiente, tornam-se perigosos ou prejudiciais. Tais compostos, também podem prejudicar o desenvolvimento das plantas e animais, podendo ser considerados como contaminantes e sendo chamados de xenobióticos. Um xenobiótico é um composto químico que exerce efeito positivo

ou negativo sobre o meio ambiente; podendo ser encontrado no solo, mas que não é normalmente produzido aí. Ele, algumas vezes, pode corresponder a uma substância normalmente presente no meio ambiente, mas que no momento está em concentração muito mais elevada que o normal.

Os xenobióticos vêm recebendo muita atenção ao longo das últimas décadas, devido à ameaça que representam aos seres humanos, assim como ao meio ambiente. Alguns xenobióticos mais importantes em termos ambientais foram investigados no presente trabalho.

1.2.1. Metais Pesados

A definição do que é “íons de metais pesados” é altamente controversa na literatura científica recente. Alguns exemplos consagrados de metais pesados incluem: o mercúrio (Hg), o cádmio (Cd) (BOND *e colaboradores*, 1976), o arsênio (As), o cromo (Cr), o tálio (Tl) e o chumbo (Pb) (AUSMUS *e colaboradores*, 1978).

Em pequenas quantidades, alguns desses íons também podem ser essenciais ao metabolismo, referidos como oligoelementos (ex.: ferro, cobre, manganês e zinco), sendo essenciais ao organismo humano para executar suas diferentes funções e para permitir o crescimento dos órgãos (CHANEY *e colaboradores*, 1978). No entanto, sua bioacumulação pode ser prejudicial aos organismos, alterando seu metabolismo e podendo ser letal, como mostram os estudos do efeito colateral dos íons Zn^{2+} e Cu^{2+} na atividade microbiana realizados por FRIEDLAND *e colaboradores* em 1986. A taxa de respiração no solo tem sido a variável mais estudada em conexão com a poluição por metais pesados. Alguns investigadores observaram que a velocidade de decomposição da celulose e do amido tende a ser menor em solos contaminados com metais (TYLER, 1975b). Todavia, os metais pesados influenciam significativamente nas propriedades enzimáticas dos microrganismos (DOELMAN, 1986). Nos últimos anos, vários **relatos** discutem os efeitos nocivos sobre microrganismos dos solos e sobre as atividades microbianas em solos agrícolas contaminados com metais pesados,

durante um longo intervalo de tempo (REBER, 1992; BARKER, 2002).

1.2.2. Arsênio

O arsênio ocorre em muitos minerais, geralmente em conjunto com o enxofre e com metais, também podendo ocorrer na forma de um cristal puro elementar. Os compostos que apresentam o arsênio podem ser empregados na produção de vidro, na conservação da madeira e, mais recentemente, na produção de materiais semicondutores. O arsênio é um dos elementos mais tóxicos e perigosos; a exposição ao arsênio exerce efeitos deletérios à saúde humana, podendo causar problemas dermatológicos, distúrbios cardíacos e danos cerebrais, além de sua interação com o DNA. Geralmente, a toxicidade do arsênio está relacionada com o seu estado de oxidação 3+, que é aproximadamente 100 vezes mais tóxico do que os derivados com o As^{5+} (CERVANTES, 1994). O íon As^{3+} é mais tóxico em razão de sua facilidade em formar ligações com os grupos sulfidril das proteínas (GEBEL, 2000), inibindo reações enzimáticas que requerem grupos sulfidril, o que pode resultar na degradação das membranas e a morte celular. O íon As^{5+} compete com o grupo fosfato, culminando com o desacoplamento da fosforilação oxidativa, o que implica num fornecimento energético inadequado para a realização das funções celulares. No caso das plantas, os compostos orgânicos que contêm o arsênio são muito tóxicos quando aplicado via foliar (MARIN e colaboradores, 1992, 1993). As arsinas gasosas correspondem às formas mais tóxicas do arsênio (BUCHET e LAUWERYS, 1981; LEONARD, 1991), devido à capacidade que apresentam em se combinar com a hemoglobina no interior das células vermelhas do sangue (eritrócitos), resultando na lise celular ou num severo inchaço das células, o que faz com que estas tenham suas funções prejudicadas (BLAIR e colaboradores, 1990).

1.2.3. Biocidas

Os compostos que são empregados para parar o crescimento de algum tipo de organismo vivo são chamados de biocidas. Um biocida típico é definido como

qualquer espécie química ou biológica que pode controlar um organismo não desejável. Um biocida pode ser um pesticida (fungicidas, herbicidas, inseticidas, algicidas, moluscicidas, acaricidas e rodenticidas), ou podem ser espécies químicas antimicrobianas com funções antibiótica e antivirótica. Os compostos com amônio quaternário (“Quats”), por exemplo, são substâncias que são adicionadas à água de piscinas, atuando como algicidas (evitam a proliferação de algas).

No presente trabalho, um alvo de estudo foram os efeitos de alguns herbicidas nas comunidades microbianas de diferentes amostras de solo. Foram avaliados herbicidas da classe das sulfoniluréias. O grupo das sulfoniluréias tem tido uma crescente utilização, a partir de 1980, quando foi descoberto. São herbicidas altamente seletivos, atuantes na pré e na pós-emergência. Os compostos pertencentes a essa classe vêm sendo cada vez mais aplicados no controle de folhas largas e de algumas gramíneas, em muitas culturas agrícolas (ZHANG, 2011). As sulfoniluréias apresentam baixo custo, doses bem pequenas e boa segurança na aplicação, já que apresentam atividade em baixas concentrações.

Esta classe de herbicidas atua através da inibição da enzima acetolactato sintase, bloqueando a biossíntese dos aminoácidos de cadeia ramificada: valina, leucina e a isoleucina. Esses compostos são facilmente degradados no solo, tanto por processos biológicos, quanto por meio de processos químicos, não sendo persistentes no meio ambiente (BROWN, 1990). Deve ser destacado que as sulfoniluréias podem ser degradadas tanto quimicamente quanto biologicamente, sendo que a avaliação da biodegradabilidade que alguns desses compostos podem sofrer, foi avaliada no presente trabalho.

1.2.3.1. Metsulfurom

O metsulfurom-metil, referido apenas como metsulfurom daqui para frente, (benzoato de metil 2 – (4-metóxi-6-metil-1,3,5-triazin-2-ilcarbamoilsulfamoila) é

uma sulfoniluréia residual, que atua em ervas daninhas de folhas largas e em algumas gramíneas anuais (Figura 5). É um composto sistêmico com atividade foliar e no solo, inibindo a divisão celular nas porções aéreas e nas raízes das plantas, além de inibir as atividades de microrganismos presentes em solos.

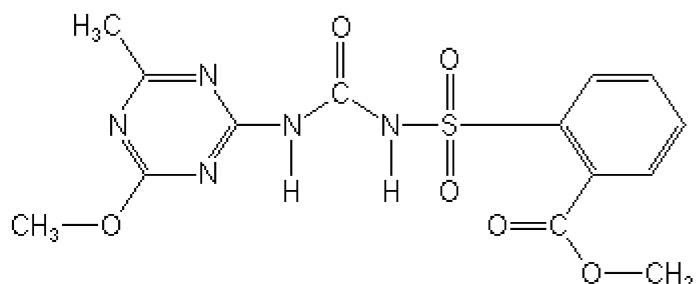


Figura 5. Fórmula estrutural plana do herbicida metsulfurom.

1.2.3.2. Clorimurom

O chlormuron-ethyl, referido daqui para frente como clorimurom, (benzoato de etil 2 - (4-cloro-6-metóxipirimidina-2-ilcarbamoilsulfamoila), vêm sendo empregado com um herbicida que atua na pós-emergência, visando o controle de ervas-daninhas de folhas largas, como: o carrapicho, o caruru e o “girassol” (Figura 6). Esse composto atua inibindo a biossíntese dos aminoácidos essenciais: valina e isoleucina, parando a divisão celular e o crescimento das plantas. Isso mostra que os herbicidas clorimurom e o metsulfurom são empregados com o intuito de se controlar o crescimento de ervas daninhas. No entanto, as presenças desses compostos nos solos resultam numa ameaça para a próxima safra, o que torna os estudos das degradações desses compostos de grande interesse em ciências dos solos.

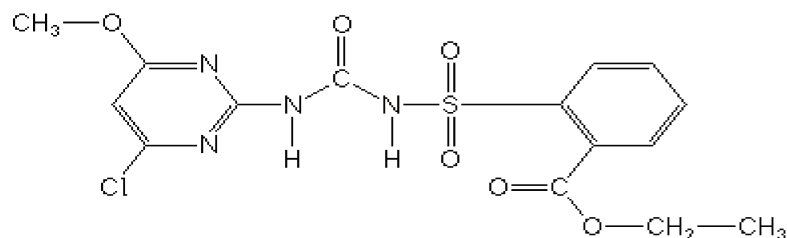


Figura 6. Fórmula estrutural plana do clorimurom.

Esses compostos são empregados como herbicidas, sendo que seus efeitos em microrganismos dos solos (ZAWOZNIK e TOMARO, 2005; TENG e TAO 2008; ZHANG, 2011) e seus potenciais efeitos deletérios aos seres humanos, vêm atraindo a atenção de investigadores, pois podem ser encontrados em regiões subterrâneas do solo.

1.3. Atividade microbiana.

Um fato importante a ser considerado é que a atividade microbiana é muito sensível a fatores bióticos e abióticos.

Essa atividade pode ser avaliada por diferentes técnicas. Dentre essas, destaca-se a hidrólise do diacetato de fluoresceína pela comunidade bacteriana (empregado pelo FDA (Food and Drug Administration), que é empregada para se avaliar os efeitos de substâncias na atividade microbiana presente nos solos (HAIGH, 1994). Esse método é rápido e permite avaliar a atividade microbiana nos solos e na serrapilheira (SCHNURER, 1982). Alguns investigadores vêm empregando essa técnica para determinar a quantidade da biomassa microbiana (SWISHER, 1980). Em outra investigação, desinfetantes como o formaldeído, dentre outros comercialmente disponíveis, foram adicionados a um solo para se avaliar os efeitos tóxicos desempenhados por estes sobre bactérias geneticamente modificadas (WEIR, 1995). Outro exemplo foi o estudo envolvendo sedimentos tratados com substâncias tais como formaldeído, HgCl, ou submetidos à autoclavagem e também expostos à radiação, em que foram avaliados os efeitos inibitórios desses parâmetros sobre as comunidades bacterianas (TUOMINEN, 1994).

Em alguns trabalhos, foram empregados métodos biológicos para se avaliar a atividade microbiana, como no caso em que se utilizaram linhagens selvagens recombinantes de *Pseudomonas aureofaciens*, presentes em solos, sendo avaliada a sua sobrevivência, enquanto que em outro estudo foi avaliada a atividade metabólica de microrganismos do gênero *Rhizobium*, envolvidos em processos de nodulação no feijão-branco (ENGLAND, 1993).

Outro exemplo, é a investigação dos efeitos da radiação de microondas sobre a biomassa microbiana, a partir da atividade da fosfatase e dos níveis de N e P que podem ser extraídos a partir de um solo com baixa fertilidade, presente em área de pastagem (SPEIR,1986). O efeito do herbicida glifosato, com relação à estimulação da atividade microbiana em solos, levando-se em conta a mineralização de espécies químicas contendo carbono e o nitrogênio (HANEY, 2000). No entanto, todos esses métodos e técnicas envolvem certas dificuldades experimentais: alguns métodos são caros, geram muitos resíduos, enquanto outros são trabalhosos e implicam num grande dispêndio de tempo. A calorimetria é uma das técnicas mais fascinantes para se investigar a atividade microbiana nos solos, por ser simples, direta e de não necessitar de qualquer análise química posterior.

1.4. Calorimetria

A calorimetria é definida como: "a área da ciência relacionada com a medição da energia térmica associada a processos químicos, físicos ou biológicos" (BARROS, 2007). Considera-se o médico e cientista escocês Joseph Black (primeiro indivíduo a reconhecer a distinção entre calor e temperatura), como o fundador da calorimetria. Nos tempos atuais, emprega-se a calorimetria por duas razões distintas: a calorimetria pode ser empregada tanto na determinação de dados termodinâmicos, como pode ser empregada como uma ferramenta analítica geral. A calorimetria isotérmica corresponde a uma das técnicas mais importantes da calorimetria, em que um fluxo de energia térmica associada a processos químicos, físicos e biológicos, é monitorado ao longo do tempo, continuamente, enquanto a amostra que está sofrendo o processo é mantida sob temperatura constante. A potência elétrica registrada pelo instrumento no caso desse trabalho, está associada a um fluxo de calor produzido ou consumido pela amostra sob investigação inserida no vaso calorimétrico.

Historicamente, a explicação relacionada com o calor latente serviu de subsídio para a invenção da máquina a vapor, estimulando a primeira investigação

relacionada com uma teoria que tratava da termoquímica, culminando com a criação da área da calorimetria. Em 28 de junho de 1783, Laplace apresentou junto à “Academia Real de Ciências” (“Academie Royale des Sciences”) resultados de medições calorimétricas que ele e Lavoisier haviam realizado durante o inverno anterior. Sua obra intitulada: “Memoire sur la chaleur” apareceu na forma de um panfleto, após aproximadamente 1 mês, cujos resultados estavam em outra obra: *Memories of the Academie de 1780*, que foi publicada em 1784 (LAVOISIER, 1783) . Neste trabalho Lavoisier e Laplace descreveram o calorímetro de gelo construído por eles (Figura 7) e sua aplicação numa variedade de estudos. Em essência, o calorímetro funciona à base da fusão do gelo: quando um animal é colocado no interior do calorímetro, ele libera energia que é usada na fusão do gelo, a quantidade de gelo que funde permite avaliar, a partir de comparações, a energia metabólica do animal.



Figura 7. Imagem representando o primeiro calorímetro de gelo, desenvolvido por Lavoisier e Laplace (LAVOISIER, 1783).

Após os experimentos de Lavoisier-Laplace sobre os processos aeróbios, o próximo marco na calorimetria aplicada aos estudos com organismos vivos se relaciona com a importante experiência de Dubrunfaut (DUBRUNFAUT, 1856), que estudou a termodinâmica do processo fermentativo. Somente dez anos após Rubner (quem primeiro mostrou que a lei da conservação da energia poderia se aplicar à biologia, além de ter considerado a entalpia em estudos calorimétricos)

(RUBNER, 1902), Hill publicou seu trabalho clássico sobre a termogênese muscular, usando um calorímetro funcionando no modo diferencial (HILL, 1912).

Estudos relacionados com a produção de calor pelas células musculares e nervosas, empregando-se o calorímetro de condução de fluxo de calor, foi realizado nos anos 60 (MONK, 1968), sendo que o calorímetro foi comercializado e utilizado para se investigar a energia térmica produzida pelas células do sangue no começo dos anos 70 (LEVIN, 1971).

A calorimetria isotérmica também vem sendo aplicada com sucesso, como ferramenta analítica, em determinações de atividades enzimáticas (KITZINGER & BENZINGER, 1960; MONK & WADSO, 1969). O emprego da calorimetria em estudos com fármacos e outros agentes bioativos em células aumentou nos anos 80 e 90 (KEMP, 1991). Com base em tais aplicações calorimétricas, foi desenvolvido um teste confiável para se avaliar a ação da anthaline (droga empregada para se combater a psoríase, uma doença de pele genética auto-imune) e de seus derivados em queratinócitos humanos (PATEL, 1981).

A primeira aplicação da calorimetria em estudos com solos ocorreu no final de 1920, em que Hesselink van Suchtelen realizou uma série de estudos para se avaliar a atividade microbiana presente nesses corpos naturais [HESSELINK VAN SUCHTELEN, 1931]. Os experimentos foram realizados em um calorímetro tipo vaso Dewar, sendo que os resultados foram discutidos em termos termoquímicos. Após algumas décadas, em 1970, um grupo de pesquisadores realizou uma série de estudos exploratórios empregando instrumentos precursores aos calorímetros da LKB-Thermometric (MORTENSEN, 1973; LJUNGHOLM, 1979).

No início de 1980, Sparling publicou os resultados obtidos numa série de estudos calorimétricos, em que foram empregados muitos tipos de culturas bem caracterizadas, sendo que os estudos tratavam da determinação da biomassa viva utilizando a calorimetria isotérmica (SPARLING, 1981). Takahashi e *colaboradores* realizaram estudos em solos, empregando-se a calorimetria isotérmica

(KAWABATA, 1983), avaliando os efeitos de fertilizantes (KOGA, 1983). Esse grupo também estudou a relação quantitativa entre a liberação de energia (biodegradação da glicose) e as mudanças na atividade microbiana nos solos (KIMURA, 1989).

A calorimetria isotérmica também foi muito empregada para se estudar o efeito das concentrações nocivas de O_2 / CO_2 na atividade microbiana, em experimentos de longa duração (LJUNGHOLM, 1979). O emprego da calorimetria isotérmica para se investigar a influência do teor de água em amostras de solo na atividade microbiana foi realizado por Barros e colaboradores (BARROS, 1995) e por Airoidi e colaboradores (AIROLDI e colaboradores, 1999). Nesse aspecto, deve-se ressaltar que o teor de água está relacionado com alterações na atividade microbiana e com alterações no equilíbrio de hidratação da matéria orgânica de origem não-biológica, presente nos solos (LJUNGHOLM, 1979). Barros e colaboradores também demonstraram que, tanto a quantidade de energia desprendida pelo solo, como a taxa de crescimento microbiana se correlacionam significativamente com a umidade do solo. (BARROS e colaboradores, 1995)

A microcalorimetria isotérmica utilizada para estudar o efeito de fatores abióticos como a temperatura na atividade microbiana de microrganismos do solo tem sido relatada na literatura (BARJA, 1997). Esse autor também afirma que a microcalorimetria isotérmica é muito útil na avaliação das propriedades termodinâmicas relativas ao crescimento bacteriano no solo, e que o padrão de crescimento bacteriano é similar à teoria do estado de transição para um processo químico qualquer (Barja, 1997). O autor também observa que as mudanças na ΔG de crescimento microbiano aumentam com a temperatura, o que denota a crescente instabilidade dos diferentes estados de transição, tornando mais fácil a divisão celular e, portanto, o aumento da atividade microbiana.

Recentemente, um grupo espanhol de pesquisa estudou a evolução sazonal na atividade microbiana em um solo em função de sua cobertura florestal utilizando microcalorimetria isotérmica (REGUEIRA, 2006). A relação entre os

teores de matéria orgânica e as atividades microbianas foi bem estudada, utilizando-se microcalorimetria isotérmica, por BARROS e colaboradores (1997). Esses autores observaram que o solo com o maior percentual de matéria orgânica mostrou maior produção de calor.

Os resultados das investigações microcalorimétricas em sistemas microbianos no solo mostra sua importância, quando trata da adição de pesticidas como o ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) usando o método calorimétrico, conforme relatam PRADO e AIROLDI (2000; 2001), ao observar um aumento na produção de calor e na taxa de crescimento de microorganismos do solo com o aumento da concentração de 2, 4-D.

Uma infinidade de outras aplicações da calorimetria ao estudo do solo vem sendo relatada na literatura, evidenciando as potencialidades dessa técnica, de fácil operação, sem interferir na amostra, a não ser por aquelas de desejo do trabalho, e que tem se mostrado promissora do ponto de vista de aplicabilidade e da simplicidade na obtenção e interpretação dos resultados. Nesse trabalho, estamos preocupados em estudar comparativamente a atividade microbiana de solos de diferentes origens e práticas agrícolas e, principalmente, aspectos relativos à assimilação e mineralização da matéria orgânica com a adição de alguns xenobióticos, propositadamente adicionados ou não, e, com, seu reflexo no desprendimento de CO₂ e sua contribuição para o efeito estufa.

Em essência, a principal pergunta que esse trabalho deseja responder é: ***Quando se faz a adição de algum xenobiótico no solo, devido ou a uma prática agrícola, o que (quanto) isso pode significar para o ambiente em termos de desprendimento de CO₂?***

OBJETIVO

2. OBJETIVO GERAL

Utilizar a calorimetria para investigar, em nível de bancada, como as práticas agrícolas podem contribuir para modificar a atividade microbiana do solo e com isso alterar a contribuição desse solo na emissão de CO₂.

2.1. Objetivos Específicos

- Investigar como o tempo de armazenamento de solo coletado influi na sua atividade microbiana.
- Investigar como se modifica a atividade microbiana de um solo, em função da estação de coleta desse solo.
- Investigar como uma prática agrícola (cultura de algodão) modifica a atividade microbiana de um solo.
- Investigar, comparativamente, a atividade microbiana de solos coletados em diferentes regiões.
- Investigar a influência da contaminação do solo por As³⁺ na atividade microbiana.
- Investigar, comparativamente, a influência dos herbicidas clorimurom e metsulfurom na atividade microbiana de solos do Brasil e do Paquistão.

EXPERIMENTAL

3. EXPERIMENTAL.

3. 1. Amostragem do solo e reagentes.

As amostras de solo foram coletadas a uma profundidade entre 5 e 10 cm, peneiradas em malha de 2 mm e conservadas em sacos de polietileno em ambiente refrigerado a 5 °C. Um dos solos foi coletado na região de Campinas, em diferentes estações do ano: (amostras Unik1(primavera), Unik2(verão), Unik3(outono) e Unik4(inverno)) e o outro na região de Leme, Estado de São Paulo, Brasil (Lebra). As amostras de Campinas foram obtidas de um local em que se preserva uma pequena gleba de mata original (Figura 8), enquanto que o de Leme (Figura 9) foi obtido numa região em que se cultiva algodão.



Figura 8. Localização da amostragem do solo Unik. Na Unicamp, lado esquerdo, localização no Brasil , lado direito ($22^{\circ}9'05,86''$ S ; $47^{\circ}03'53,03''$ O). Google Earth, acessado em 25/03/2010.

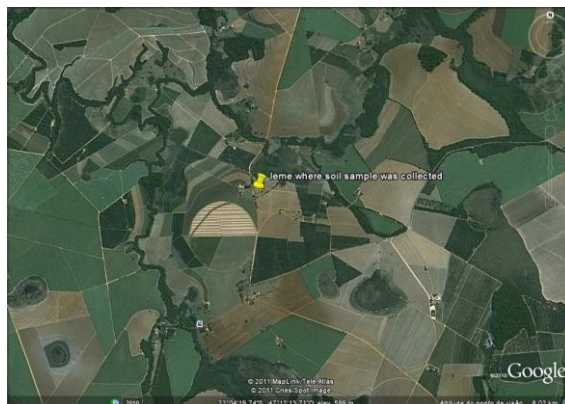


Figura 9- Localização da amostragem do solo Lebra, em Leme, Brasil , localização (22°9'05,86" S ; 47°03'53,03" O). Google Earth, acessado em 25/3/2010.

O outro solo foi retirado da região de Faisalabad (Figura 10), Estado de Punjab, Paquistão em uma região cultivada por algodão, e foi denominado de Pak.

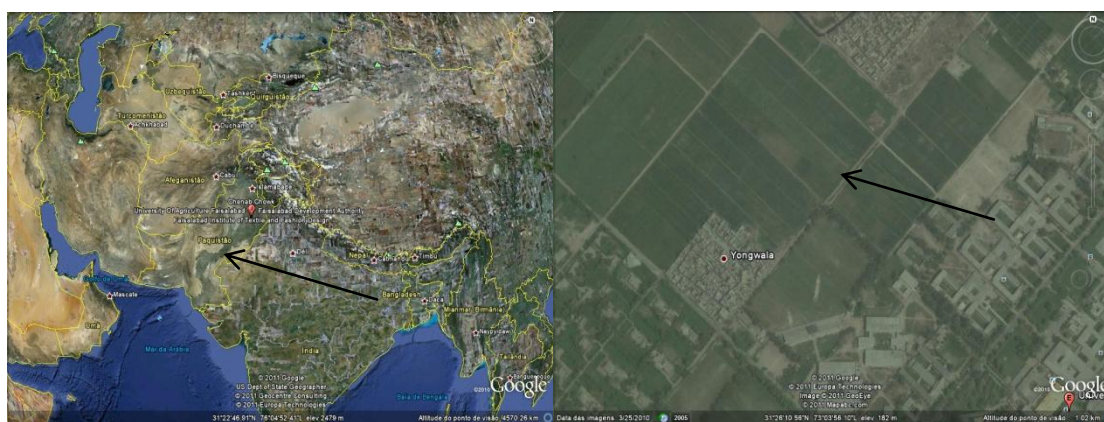


Figura 10. Localização da amostragem do solo do Paquistão, Pak, lado esquerdo, e em Faisalabad, lado direito (31°26'10,56"N 73°03'56,10"L). Google Earth, acessado em 25/3/2010.

3.2. Reagentes e soluções

Os reagentes utilizados nesse trabalho foram: água [®]Miliq, glicose PA (synth, analytical grade) acetonitrila PA (Aldrich, analytical grade) As(NO₃)₃(Sigma

Aldrich) , clorimuirom comercial (DuPont), metsulfurom comercial (DuPont). Todas as soluções empregadas (glicose, arsênio e herbicidas comerciais e puros) foram preparadas de acordo com procedimentos padrões. Com o intuito de se obter o herbicida puro, primeiramente foi realizada a lavagem do herbicida comercial com alíquotas d'água, sendo que a fração aquosa superior foi descartada, enquanto que a pasta (herbicida + água) foi separada posteriormente ao se empregar centrifugação (centrífuga modelo Rotina 38). Este procedimento de centrifugação e de lavagem foi repetido mais de 20 vezes. Após a realização da centrifugação, realizou-se a secagem da pasta e a dissolução desta em acetonitrila de modo a se preparar a solução com concentração específica, que seria empregada posteriormente.

3.3. Umidade e Matéria Orgânica (método da combustão)

A umidade residual do solo foi determinada para as amostras estocadas durante 2 meses a 5 °C, por aquecimento a 120 °C durante 2 horas. Em seguida, a mesma amostra foi aquecida a 600 °C durante 4 horas para a determinação da matéria orgânica, cuja denominação é “determinação de matéria orgânica por combustão” ou simplesmente “método da combustão”. As análises foram feitas em triplicata.

3.4. Análise Elementar.

A análise elementar foi realizada num aparelho “Perkin Elmer Series II CHNS/O Analyzer 2400”, utilizando-se massas de solos menores que 5 mg. Diferentes porções da amostra de solo foram misturadas e trituradas, de modo a garantir uma boa amostragem. Apesar desse cuidado, os resultados obtidos devem ser analisados com muito cuidado para o caso do solo. Trata-se de uma técnica que utiliza uma amostra muito pequena e a incerteza pode ser grande.

3.5. Determinação de pH.

O pH, representado pela atividade do íon H^+ na solução do solo,

corresponde ao hidrogênio dissociado em solução, em equilíbrio com a fase sólida do solo (Topp e colaboradores, 2006). Sua determinação foi feita por potenciometria direta, utilizando-se de um eletrodo de hidrogênio para suspensões de solo em água e em solução de cloreto de cálcio $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, de pH inicial igual a 5,19, na temperatura de 298 K.

Para tanto, transferiu-se uma massa conhecida do solo para um erlenmeyer 50 mL e em seguida foram adicionados 25 mL da solução de CaCl_2 . A mistura foi agitada durante trinta minutos, em ambiente fechado e em temperatura de 298 K, e depois deixada para decantar durante uma hora. Realizaram-se, então, as medidas de pH, mergulhando-se levemente a ponta do eletrodo, o suficiente para cobrir sua parte sensível, no sobrenadante da suspensão. Esse processo foi realizado em duplicata para cada amostra de solo.

3.6. Determinação da acidez total.

A acidez total constitui-se de duas partes distintas: a acidez trocável, representada por íons Al^{3+} , e a residual, representada por H^+ não dissociado. A acidez total do solo é determinada usando-se uma solução de acetato de cálcio 1 mol L^{-1} em $\text{pH} = 7$, a qual remove o Al^{3+} e o H^+ não dissociados do solo (Topp e colaboradores, 2006).

Para tanto, transferiu-se uma massa conhecida do solo para um erlenmeyer de 250 mL. Adicionaram-se 100 mL da solução de acetato de cálcio ao sólido, o frasco foi fechado e a suspensão agitada durante alguns minutos. Os frascos foram deixados em repouso durante toda uma noite para que os solos decantassem. Alíquotas do sobrenadante foram tituladas com uma solução padronizada de hidróxido de sódio, utilizando-se fenolftaleína como indicador. Este procedimento foi realizado em triplicata para cada amostra de solo, sendo também realizada uma determinação em branco (solução de acetato de cálcio e o indicador).

3.7. Determinação da matéria orgânica total (MOT)

A determinação da quantidade de matéria orgânica baseou-se na oxidação dessa matéria orgânica por íons dicromato, em excesso, em meio fortemente ácido (Miller, 1982).

A equação 2 ilustra essa reação:



O excesso de dicromato foi determinado por titulação com íons Fe^{2+} . A equação 3 ilustra essa reação:



Uma massa conhecida de cada amostra de solo foi transferida para um balão volumétrico de 250 mL e em seguida adicionou-se, com uma pipeta volumétrica calibrada, 10 mL da solução de dicromato de potássio de concentração conhecida (em torno de $0,17 \text{ mol L}^{-1}$) e, em seguida, 20 mL de ácido sulfúrico concentrado. Agitou-se manualmente a mistura por um minuto e deixou-se resfriar por uma hora. Completou-se o volume do balão com água desionizada. A mistura foi deixada em repouso durante 24 horas para que o solo decantasse. Alíquotas de 50 mL do sobrenadante foram transferidas para um erlenmeyer de 250 mL, utilizando-se uma pipeta volumétrica calibrada. Acrescentaram-se 10 mL de ácido fosfórico concentrado e 4 gotas da solução indicadora de difenilamina. Titulou-se com solução de sulfato ferroso amoniacal. Por diferença em relação à titulação do branco (ausência de solo), determinou-se a quantidade de dicromato consumido na oxidação da matéria orgânica. O procedimento foi realizado em triplicata, cada solo foi amostrado três vezes e para cada amostra titularam-se três alíquotas de sobrenadante.

3.8. Análise microbiológica.

Foi empregado um meio de cultura específico para bactérias e

actinomicetos, preparado a partir de um extrato de solo rico em matéria orgânica (Tabela 1).

O meio preparado, conforme quantidades da Tabela 1, carregado em autoclave a 120 °C durante meia hora. Depois de resfriado, de forma a permitir o manuseio, foi vertido em placas de Petri previamente esterilizadas em estufa a 170 °C. Esse procedimento foi realizado em uma sala asséptica em bancada com fluxo, previamente limpa com etanol. Depois que o meio atingiu a temperatura e a viscosidade adequadas, as placas foram deixadas em repouso em estufa à temperatura de aproximadamente 28 °C até o momento de serem analisadas.

Tabela 1. Reagentes utilizados na preparação do meio para a contagem de bactérias e actinomicetos.

Reagente	Quantidade
água	450 mL
extrato de solo	50 mL
agar	7,5 g
glicose	7,5 g
K ₂ HPO ₄	0,25 g

O método empregado consistiu em suspender amostras do solo em solução aquosa de MgSO₄.7H₂O na concentração de 2,46 g L⁻¹. Suspenderam-se 10 g de solo em 90 mL da solução de MgSO₄.7H₂O, e adicionou-se 0,1 mL dessa suspensão na placa de Petri, usando-se uma pequena alça de vidro no espalhamento da suspensão ao longo da placa. A placa foi fechada e posta de maneira invertida em uma incubadora, e mantida a 28 °C para o crescimento das colônias. A contagem de colônias foi feita 48 horas após o plaqueamento. O processo foi feito em quadruplicata, e foram feitas várias diluições de 10 vezes da suspensão inicial (10 g solo /90 mL de solução de sulfato de magnésio) para a obtenção dos melhores resultados, já que, a priori, não se sabia qual diluição

permitiria a melhor leitura de colônias.

3.9. Análises Térmicas.

A análise térmica diferencial (DSC) foi realizada num DSC da Dupont, modelo “Differential Scanning Calorimeter 910” e a análise termogravimétrica (TGA) em um instrumento da TA Instruments, modelo “Thermogravimetric Analyzer 2050” no IQ, Unicamp. As condições de análise foram de aquecimentos entre 25 e 600 °C, e taxa de aquecimento de 10° C / min, em atmosfera de ar sintético na vazão de 10 cm³ min⁻¹. Nas análises de DSC utilizaram-se massas em torno de 8,5 mg e na TGA em torno de 30 mg. As amostras foram previamente secas em bancada, em ambiente aberto a aproximadamente 25 °C, durante 48 horas, e trituras antes da pesagem.

3.10. Microcalorimetria

3.10.1. Procedimento experimental e metodologia de cálculo.

A microcalorímetro isotérmico modelo LKB 2277 Bioatividade Monitor (IQ, UNICAMP) foi utilizado no estudo. Inicialmente a amostra de solo a ser usada foi retirada do ambiente de estocagem a 278 K, 24 horas antes do experimento calorimétrico. Amostras de 1 grama do solo foram colocadas em uma cela de aço inox e mantidas 24 horas à temperatura de 298 K. Após esse tempo adicionou-se à amostra 200 µL da solução aquosa contendo o substrato cujo metabolismo seria estudado.

Utilizou-se ampolas de aço com um volume interno de 4 cm³, sendo a amostra em seu interior separada do ambiente calorimétrico por uma membrana de polietileno permeável a CO₂ e não permeável à água. Logo que a amostra de solo recebia a solução contendo o substrato a ampola era fechada e inserida no canal de medida do calorímetro, num ambiente pré-termostatizado durante 30 minutos. Decorrido esse tempo a ampola era colocada na posição de leitura do instrumento.

Em essência, a cela calorimétrica (Figura 11), onde se coloca a amostra de solo, encontra-se entre duas termopilhas e todo o conjunto permanece inserido em um termostato cuja temperatura se mantém constante em 1×10^{-4} K.

Conforme o processo biológico ocorre, a energia envolvida passa pelas termopilhas, e esse fluxo é registrado como um sinal elétrico de potência por tempo ($\mu\text{W s}^{-1}$). Como o processo de crescimento microbiano geralmente é lento; a duração pode variar de horas a meses, o calorímetro deve ser adequado para esse tipo de cinética. Calorímetros de condução ou de compensação térmica são os que se prestam a esse tipo de estudo. No caso desse trabalho, o microcalorímetro empregado é do tipo condução térmica e ele é capaz de monitorar eventos térmicos de curta e longa duração, este último, o caso presente.

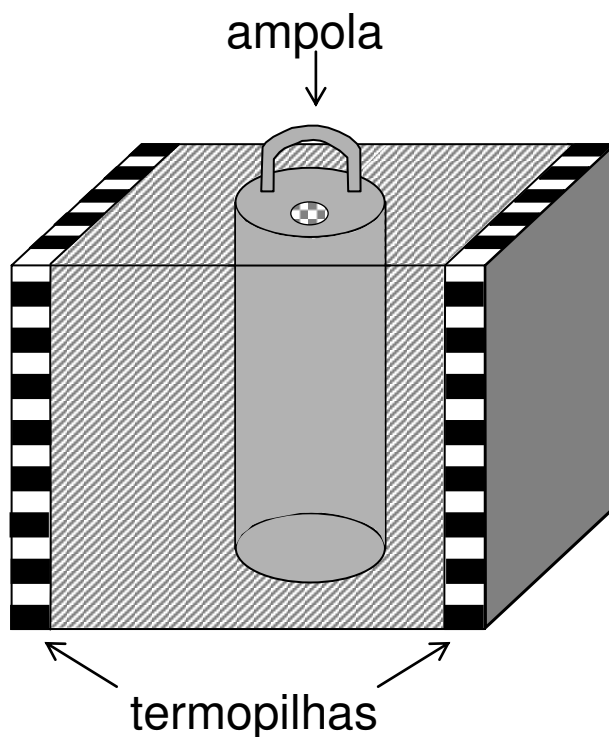


Figura 11. Representação simplificada da célula calorimétrica.

O registro calorimétrico, para o sistema utilizado (calorímetro Thermometric modelo 2277), é um gráfico de potência dissipada em função do tempo (Figura12). A análise e tratamento desse registro é que permitem a obtenção dos resultados necessários para se estabelecer a discussão.

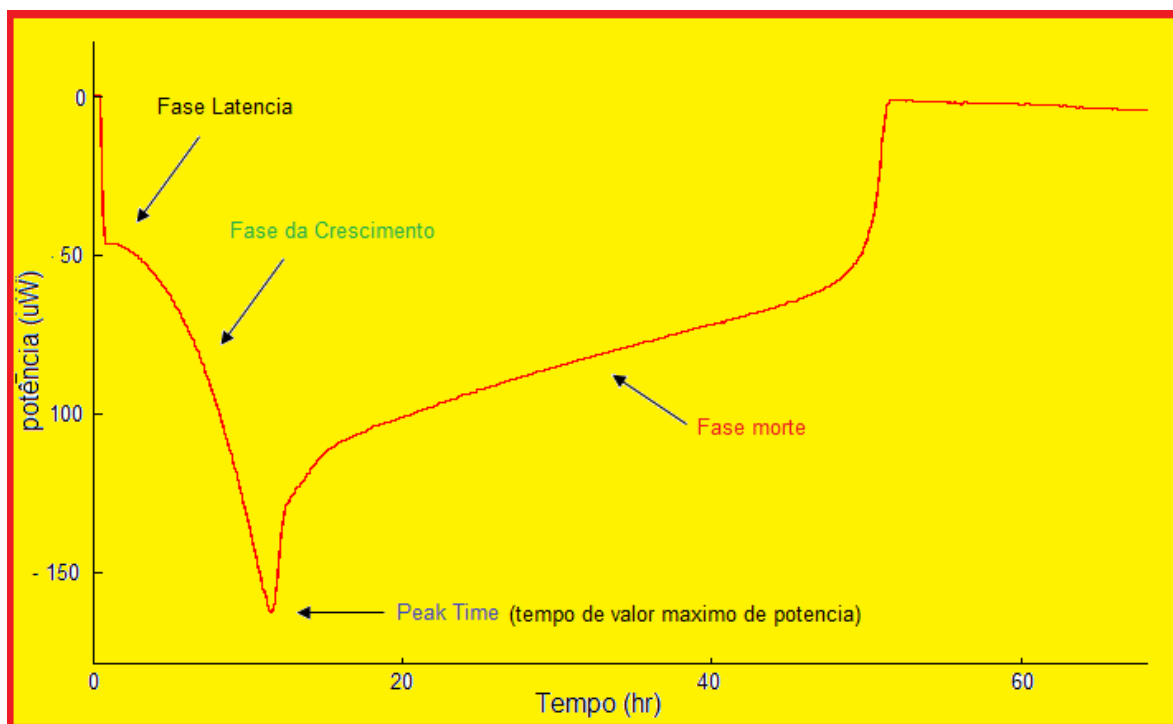


Figura 12. Curva de crescimento microbiano ou curva calorimétrica.

No caso desse trabalho, resumidamente, as condições de operação do calorímetro foram: sensibilidade 1000 μW e coleta de dados a cada 300 segundos. Para a calibração do aparelho foi realizada uma calibração elétrica conforme protocolo do fabricante. Nessa calibração, inicialmente se ajusta a sensibilidade de medida em que se deseja realizar o experimento. Ajusta-se a leitura de fluxo para zero μW e deixa-se nessa posição durante um tempo de 15 minutos. A partir do software do instrumento, aciona-se uma calibração elétrica com potência igual ao fundo de escala em que se quer trabalhar, para o canal de medida em que se pretende inserir a amostra. O tempo de calibração deve ser suficiente, cerca de 30 minutos, para se atingir um estado estacionário de sinal. Após atingir o estado estacionário, com o botão “fine”, ajusta-se o sinal para que ele atinja o valor do

fundo de escala selecionado (sensibilidade). Obtido esse ajuste, a calibração elétrica é interrompida, esperando-se o sinal voltar à posição zero. Conforme sugestão do fabricante, o procedimento de calibração é, então, repetido. Esse procedimento de calibração deve ser realizado toda vez que a escala de medida for mudada ou a cada 3 meses sem mudança de sensibilidade, conforme recomendação do fabricante. De tempos em tempos (cerca de 6 meses), recomenda-se uma calibração química do instrumento. Essa calibração pode ser feita por diluição de soluções de KCl ou de álcool isopropílico ou então por titulação de tris hidroxiamino metano (TRIS) com solução de HCl.

O tratamento dos dados experimentais, aqui apresentado, é objeto de extensivos estudos sobre reações de crescimento microbiano, especialmente realizados por Sparling (SPARLING, 1983), Battley (BATTLEY, 1999), DUBOC (1999) e Barros (BARROS *e colaboradores*, 2007)

A essência desse tratamento matemático é efetuar o balanço de massa e energia a partir do registro calorimétrico, já que a determinação desses parâmetros por outras técnicas é muito demorada, cara e complexa, o que não ocorre no caso da calorimetria. O registro calorimétrico é uma representação do fluxo de energia (potência) em função do tempo, t . A integração dessa curva fornece a energia gerada (Q) que acompanha a atividade microbiana.

O fluxo de energia (ϕ) em cada instante é uma medida da atividade microbiana metabólica, quanto maior essa atividade maior o fluxo de energia (potência). Um resultado da atividade microbiana, obtido pela análise da curva calorimétrica, pode ser representado especificamente pela quantidade de biomassa viva formada (ΔX).

Estudos envolvendo uma infinidade de diferentes microrganismos, levaram Sparling elaborar uma equação matemática que permite calcular a quantidade de biomassa viva formada, a partir do registro calorimétrico (SPARLING, 1983). Essa é uma equação geral que, quando aplicada reproduz resultados de crescimento de

biomassa bastante concordantes com valores determinados por outras técnicas. A calorimetria, porém, parece ser uma forma bem mais segura e fácil de fazer isso, desconsiderando-se o valor de custo de um microcalorímetro. Assim, a biomassa viva do solo pode ser estimada de acordo com a equação 3:

$$\log X = 1,025 + 0,856 \log \varphi \quad \text{equação 3}$$

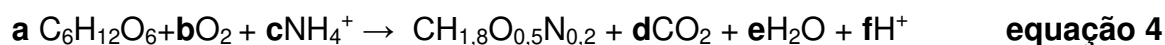
Se φ é dado em microwatts, o valor de X é dado em microgramas de biomassa.

A aplicação dessa equação no momento anterior ao crescimento exponencial, denominado “fase de latência”, dá o valor da biomassa viva pré-existente. A sua aplicação no final do crescimento exponencial (“peak time”) dá o valor da biomassa viva final. A diferença entre esses valores resulta em ΔX que representa o crescimento da biomassa viva devido à adição do substrato (S). O final do crescimento da biomassa viva, a que se refere à frase anterior, é tomado quando o registro calorimétrico atinge o valor máximo de potência (denominado “peak time”, P_T).

O quociente entre Q (valor de energia obtido pela integração da curva calorimétrica) e ΔX dá o valor do rendimento térmico, $Y_{Q/X}$, da reação do crescimento microbiano.

Aplicando-se as equações desenvolvidas por Von Stockar (STOCKAR, 1993) pode-se calcular o rendimento da biomassa, $Y_{X/S}$, e a entalpia molar de degradação do substrato (glicose), $\Delta_R H_S$.

A equação macroquímica que representa a reação que está ocorrendo no solo pode ser escrita na forma geral da equação 4:



em que, $CH_{1,8}O_{0,5}N_{0,2}$ é a fórmula mínima para a biomassa (AIROLDI, 2001)

As equações de conservação são:

Carbono $\rightarrow 6a = 1 + d$ equação 5

Hidrogênio $\rightarrow 12a + 4c = 1,8 + 2e + f$ equação 6

Oxigênio $\rightarrow 6a + 2b = 0,5 + 2d + e$ equação 7

Nitrogênio $\rightarrow c = 0,2$ equação 8

Para a carga $\rightarrow c = f$ equação 9

A partir do valor de Q , obtido da integração da curva calorimétrica e do valor de entalpia molar de combustão da glicose, determina-se a quantidade (em mol) emitida de CO_2 , para a quantidade adicionada de glicose, portanto o que não foi consumido de glicose transformou-se em biomassa. Esses dois valores podem ser re-escalados para a produção de 1 mol de biomassa, o que permite saber o valor do coeficiente **d** na equação e portanto o valor do coeficiente **a**, a partir da equação 5.

A partir do conhecimento de **a** e **d**, e, como se sabe **c** e **f**, aplicam-se esses valores na equação 6 e obtém-se **e**. Com todos esses coeficientes já conhecidos, obtém-se o coeficiente **b** por aplicação da equação 7.

O tratamento dos registros calorimétricos permite, portanto, encontrar a biomassa incorporada ao solo, o consumo de oxigênio e a liberação de CO_2 , entre outros parâmetros, os quais permitem uma análise comparativa entre os solos aqui investigados.

Finalmente, a relação entre a energia não consumida (conservada) e aquela prevista para ser totalmente consumida (entalpia de combustão completa da glicose; $\Delta_{comb}H = -2803$ kJ/mol (Barros, 2007), permite calcular o rendimento, η_H , em porcentagem,

$$\eta_H = 100(\Delta_{comb}H - \Delta_R H_S) / \Delta_{comb}H$$
 equação 10

Esse rendimento representa o quanto do substrato adicionado foi

incorporado ao solo, um parâmetro extremamente importante na discussão da atividade microbiana.

3.10.2. Estudo da influência do tempo de armazenamento.

Nessa etapa do trabalho, 1 grama de solo da Unicamp, armazenado por diferentes intervalos de tempo, no período de 2 meses a 3 anos, recebeu uma dose de 200 µL de solução aquosa de glicose na concentração 5 g L⁻¹, a fim de se estudar o efeito do armazenamento na sua atividade microbiana.

3.10.3. Estudo da influência da estação de coleta.

Nessa etapa do trabalho, 1 grama do solo da Unicamp, que foi recolhida a partir do local de amostragem mesmo sob condições sazonais diferentes, como verão, outono, inverno e primavera recebeu uma dose de 200 µL de solução aquosa de glicose na concentração 5 g L⁻¹ a fim de se estudar o efeito das estações na sua atividade microbiana.

3.10.4. Estudo do efeito de diferentes xenobióticos

Neste trabalho foram estudados o metabolismo da glicose e o efeito da contaminação por Arsênio (As⁺³).

No caso do arsênio, em amostras de 1 grama de solo da Unicamp foram adicionados 100 µL de uma solução aquosa de As(NO₃)₃, na concentração de 50 ppm, 100 ppm e 500 ppm. Após essa adição, a amostra recebeu 100 µL de uma solução aquosa de glicose, na concentração de 10 g L⁻¹, registrando-se o metabolismo da glicose pelos microrganismos do solo. Nesse estudo, a adição de glicose foi realizada de duas formas diferentes. Numa delas, a amostra recebeu a solução de As³⁺ e logo em seguida recebeu a solução de glicose. Na outra, a adição de solução de glicose foi realizada após 30 dias da adição de As³⁺.

Cada experimento de calorimetria foi repetido, pelo menos, 3 vezes nas mesmas condições. Os resultados Tabelados são uma média de três experimentos

repetidos, exceto para alguns casos onde se têm dois experimentos.

Outro estudo envolveu a influência de dois herbicidas, o metsulfuron e o clorimuron, na atividade microbiana do solo. Em amostras de 1 grama de solo da Unicamp, foram adicionados 200 μL de uma solução em acetonitrila do herbicida sob estudo, na concentração de 2,5 g L^{-1} , 5 g L^{-1} e 10 g L^{-1} . Após a adição da solução do herbicida, a amostra foi mantida por 24 horas, exposta ao ambiente, para a evaporação da acetonitrila residual. A seguir a amostra recebeu 200 μL de água, acrescida de um volume correspondente à perda provada pela eliminação da acetonitrila, sendo inserida no calorímetro para análise da atividade microbiana. Em experimentos semelhantes, no lugar da água, adicionou-se solução de glicose, para se avaliar a atividade microbiana relativa aos dois substratos concomitantemente. Deve-se ressaltar que a determinação da perda de água que ocorreu durante a eliminação da acetonitrila, foi realizada considerando-se a eliminação completa da acetonitrila e a diferença de massa da amostra de solo antes e após o processo de eliminação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4. RESULTADOS e DISCUSSÃO

Como foi mencionado na introdução, em termos da importância do solo, neste projeto estudamos alguns atributos físicos de diferentes amostras de solo, uma breve análise biológica e um estudo calorimétrico que podem nos ajudar a compreender as propriedades dos solos, e também, como fatores de sazonalidade de coleta, envelhecimento, e uso de xenobióticos podem influenciar sua atividade microbiana, na assimilação ou decomposição de substratos orgânicos.

4.1. Umidade do solo.

O teor de água ou umidade é a quantidade de água contida em um material, por unidade de massa ou volume. Esse é um parâmetro que influencia, sobremaneira, os processos químicos, físicos, biológicos e bioquímicos que ocorrem nos solos. A umidade do solo corresponde a uma variável fundamental para se realizar o controle da troca de água e de energia entre a superfície da Terra e a atmosfera, sendo que essas trocas ocorrem por meio da evaporação e da transpiração em plantas. O teor de umidade do solo afeta de maneira muito pronunciada o crescimento e o desenvolvimento das plantas (TU e colaboradores, 2003). A Tabela 2 mostra os resultados obtidos para a umidade das diversas amostras de solo. Os resultados apresentaram um desvio relativo de cerca de 5%, média de três análises.

Tabela 2. Teores de umidade média para os diversos tipos de solo estudados.

Amostra	Unik1 (primavera)	Unik2 (verão)	Unik3 (outono)	Unik4 (inverno)	Pak	Lebra
Umidade / %	16,3	14,6	9,5	14,9	3,7	13,5

Os dados da Tabela 2 mostram que o teor de umidade do solo Pak é igual a 3,7 %, o que representa um valor muito pequeno em comparação com o teor de

umidade de solo Unik2(verão), cujo valor é de 14,6%. Essa diferença de teores percentuais de umidade entre os dois solos se deve, em parte, à diferença climática entre as duas regiões. Estudos mostram que um aumento na temperatura climática global está associado a uma redução na umidade do solo no hemisfério norte, o que pode justificar, em parte, o baixo teor percentual registrado para o solo paquistanês (GREGORY *e colaboradores*, 1997). Entretanto, é bem provável que o fator mais importante seja a própria capacidade de retenção hídrica (água) do solo, por conta de sua composição e estrutura. O efeito das chuvas sobre a umidade do solo foi estudada por Laporte e colaboradores, que concluíram que quantidade mensal de eventos de precipitação pluviométrica modificam, drasticamente o teor de água no solo (LAPORTE *e colaboradores*, 2002).

O solo coletado em diferentes épocas (Unik1(primavera), Unik2(verão), Unik3(outono) e Unik4(inverno)) apresentam diferentes teores de água, o que, muito provavelmente, é um reflexo da variação de precipitação pluviométrica, que comumente ocorre ao longo das estações climáticas. Diferenças de temperatura na época da coleta também podem afetar esse atributo. O teor de água no solo identificado como Unik3(outono), que foi coletado no final da temporada de verão é o que apresentou o menor teor de água. Tal situação pode ser justificada graças às elevadas temperaturas registradas no verão, mesmo considerando a maior possibilidade de chuvas.

4.2. Determinação do pH do solo.

O pH é uma variável que afeta diversas propriedades do solo, tanto as químicas quanto as biológicas e as físicas (TOPP *e colaboradores*, 2006). Essa variável pode influenciar, por exemplo: a absorção de nutrientes pelas raízes das plantas e as atividades de microrganismos (MOREIRA, 2002). Os valores de pH dependem de vários fatores inerentes à constituição do solo, bem como das atividades desenvolvidas neste substrato. O pH controla: o tipo dominante de organismo, o estado de agregação do solo, a capacidade de troca-iônica, a

mobilidade da matéria orgânica e inorgânica e de herbicidas solúveis, a lixiviação, etc.

Os dados apresentados na Tabela 3 mostram que o pH do solo coletado no Paquistão apresenta o maior valor de pH, ou seja, igual a 8,1, em comparação com todos os solos estudados. O caráter básico do solo Pak se deve, principalmente, à presença de cátions que não sofrem hidrólise (K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} e Na^+). A presença destes cátions nesse solo foi determinada através da análise elementar empregando-se a técnica Espectroscopia de energia dispersiva de raios-X (EDX) (resultados no apêndice). Os solos coletados no Brasil apresentam menores quantidades desses cátions.

A diferença do pH entre o solo paquistanês e os solos brasileiros se deve à presença de maior quantidade de constituintes ferrosos e de alumínio no solo brasileiro, como indicado através dos resultados obtidos com a técnica de EDX. Também pode ser visto que o solo rico em matéria orgânica apresenta valor de pH mais baixo, pois a degradação dessa matéria orgânica favorece a formação de ácidos orgânicos, os quais reduzem o valor do pH do solo. (JONES, 2002)

Tabela 3. Valores de pH dos solos coletados no Brasil e no Paquistão.

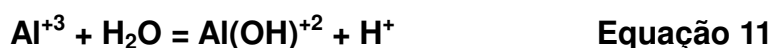
Amostra	Unik1 (primavera)	Unik2 (verão)	Unik3 (outono)	Unik4 (inverno)	Pak	Lebra
pH	6,75	6,67	6,65	6,45	8,05	6,00

As amostras de solo coletadas da Unicamp ao longo das diferentes estações apresentam valores de pH pouco diferentes, entre si. O menor valor de pH foi observado para a amostra de solo identificada como Unik4(inverno). Esses valores de pH, embora com pouca diferença, podem se justificar a partir da matéria orgânica presente e sua respectiva decomposição; diferentes estações levam a aportes diferentes de matéria orgânica, assim como, alteram a cinética de

decomposição desse material. No entanto, uma correlação direta entre esses parâmetros não é uma tarefa muito simples, que envolve, necessariamente uma quantificação mais elaborada dos compostos orgânicos presentes. A análise da matéria orgânica do solo (MOS), mostrada mais à frente, seria o primeiro passo para esse estudo, mas não poderia ser o único, já que essa determinação se baseia em uma equação química não específica para cada substância presente no solo.

4.3. Determinação da acidez total.

A acidez do solo é constituída por dois componentes: a acidez ativa e a acidez trocável (reserva). A acidez ativa corresponde à concentração do íon H^+ na solução do solo, sendo medida pelo pH, não correspondendo a uma medida da acidez total do solo (KAMPRATH, 1970). A acidez trocável se refere à quantidade dos íons H^+ que podem ser trocados por cátion sorvidos ao longo das superfícies das argilas e da matéria orgânica do solo. A acidez do solo pode ser afetada por vários fatores, sendo que a principal contribuição para a acidez dos solos se relaciona com os íons H^+ que são liberados quando níveis elevados de Al^{3+} no solo reagem com a água de acordo:



A acidez do solo também pode afetar diferentes propriedades dos solos, tais como: o crescimento das plantas, a atividade dos microrganismos e etc. (REEUWIJK, 2002).

A acidez total dos solos está indicada na Tabela 4, e os dados mostram que o solo paquistanês apresenta um valor menor que o solo brasileiro (Unik1(primavera)), o que pode ser justificado, como mencionado anteriormente, graças à composição química. O solo brasileiro possui maior teor de matéria orgânica e também de ferro, o que justifica essa alta acidez. Em termo de alumínio, os dois solos são muito parecidos.

Tabela 4. Valores de acidez total dos solos Pak e Unik1(primavera).

Amostra	Acidez total / mol kg ⁻¹
Pak	1,25
Unik1(primavera)	2,05

Os resultados da Tabela 5 indicam que a acidez total do solo também variou com a mudança na condição ambiental. O valor da acidez total na amostra identificada como Unik1(primavera) parecido ao da amostra Unik3(outono), enquanto que a do Unik2(verão) apresenta um valor semelhante ao da amostra Unik4(inverno). Esta variação quanto à acidez total se atribui principalmente às mudanças aos teores de matéria orgânica e umidade, e atividade microbiana.

Tabela 5. Valores de acidez total das diversas amostras dos solos Unik.

Amostra	Unik1 primavera	Unik2 verão	Unik3 outono	Unik4 inverno
Acidez/mol kg ⁻¹	2,05	2,85	2,25	2,75

4.4. Análise elementar.

A razão entre os teores percentuais de carbono (C%) e nitrogênio N%, representada por C:N, se relaciona com a matéria orgânica do solo (MOS) correspondendo ao principal indicador de sua qualidade, sendo estudada extensivamente (ACCOE e colaboradores, 2004, YAMAKURA e colaboradores, 1990). Por isso, a razão C:N se torna crítica em modelos biogeoquímicos, os quais são empregados para se poder prever os impactos da agricultura e de outras práticas em termos da decomposição da matéria orgânica e da ciclagem de N em ecossistemas terrestres (Chapin e colaboradores, 2002). Os dados obtidos no Laboratório de Análise Elementar são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6. Dados da Análise elementar, em porcentagem em massa para amostras de solo Unik1(primavera) e Pak.

Amostra do solo	C%	H%	N%	C/N
Pak	1,653	0,483	0,535	3,0
Unik1(primavera)	4,580	0,880	0,615	7,4

A Tabela 6 mostra que o solo Pak apresenta razão C:N muito baixa em comparação com o solo Unik1(primavera). Este solo apresenta teores de carbono e de nitrogênio iguais a 1,65 % e 0,53 %, respectivamente, o que leva a uma razão C:N igual a 3, enquanto que a amostra de solo Unik1(primavera) apresenta teores percentuais de carbono e de nitrogênio iguais a 4,6 e 0,620, respectivamente, sendo que a razão C:N é igual a 7,4.

Torna-se evidente, a partir dos dados, que o solo paquistanês é mais pobre em carbono, o que resulta em uma razão C:N mais baixa. O fato da razão C:N ser menor significa que há maior disponibilidade de nitrogênio para os microrganismos, o que favorece a decomposição da matéria orgânica no caso dos fungos, o que também justifica a presença de pouca matéria orgânica no solo paquistanês, em comparação com o solo brasileiro, o qual apresenta maior razão C:N. O trabalho de Swift, também mostrou que um valor médio menor para a razão C:N, implica que o solo foi submetido a uma forte fase de degradação (SWIFT e colaboradores 1979). MARRS e colaboradores, 1988 & YODA e KIRA 1969 mostraram que a razão C:N, também guarda uma relação com a altitude. A dependência da razão C:N do solo com relação à temperatura e o teor de umidade foi estudada por Jenny (JENNY e colaboradores, 1941).

Baseando-se nos dados na Tabela 7, pode-se afirmar que a variação sazonal não exerce um efeito marcante quanto ao teor de carbono, com a exceção da amostra identificada como Unik3(outono), cujo teor de carbono é o menor para os solos coletados, assim como teor de nitrogênio. Todavia, os valores para a

razão C:N também apresentam certa semelhança, e flutuaram em torno de 8% em relação a um valor médio de 7,5.

Tabela 7. Dados de análise elementar para as amostras do solo Unik, coletadas ao longo das diferentes estações climáticas.

Amostra de solo	C%	H%	N%	C:N
Unik1 (primavera)	4,580	0,880	0,615	7,4
Unik2(verão)	4,095	0,770	0,620	6,6
Unik3(outono)	3,760	0,890	0,480	7,8
Unik4(inverno)	4,750	0,820	0,580	8,1

4.5. Matéria Orgânica do solo- MOS (método da combustão)

A matéria orgânica do solo (MOS) e, especificamente o carbono orgânico do solo (COS), são conhecidos por desempenharem um papel importante na manutenção, bem como na melhoria das propriedades de muitos solos. A matéria orgânica do solo pode influenciar nas propriedades: físicas, químicas e biológicas, dos solos.

Com base nos resultados da Tabela 8 pode-se observar que os teores de matéria orgânica nas amostras do solo brasileiro são maiores em comparação com as amostras coletadas no Paquistão. O solo paquistanês apresentou teor de matéria orgânica igual a 3%, enquanto que o teor de matéria orgânica relacionado com os solos da Unicamp variou entre 9,5% e igual a 15,3%, enquanto que solo coletado em Leme, Lebra, o valor para o teor da matéria orgânica foi igual a 11%. Essa diferença de teores pode ser atribuída ao maior teor de ferro no caso do solo brasileiro. Uehara e colaboradores mostraram que a matéria orgânica pode

persistir na forma de complexos óxido-orgânicos, em solos ricos em ferro e óxidos de alumínio (UEHARA, 1981).

Tabela 8. Teores percentuais de matéria orgânica do solo (MOS) em porcentagem para as diversas amostras de solo estudadas.

Amostra	Unik1 (primavera)	Unik2 (verão)	Unik3 (outono)	Unik4 (inverno)	Pak	Lebra
*MOS%	10,5	15,3	9,5	11,0	3,0	11,0

* desvio médio em torno de 5% relativo.

Alguns autores indicam que a contribuição maior em termos do teor de carbono no solo brasileiro, em comparação com o solo paquistanês, provavelmente se deve à presença de uma maior quantidade de biomassa relacionada com as raízes, de modo que o solo pode ser enriquecido graças aos exsudados das raízes (GÁBORČÍK, 2007). Alguns pesquisadores mostram que o teor de matéria orgânica em solos de textura fina (argilosos) é de 2-4 vezes maior do que solos de textura grossa (arenosos) (PRASAD, 1997), o que também corrobora com o caráter ligeiramente mais arenoso no caso do solo paquistanês em comparação com o solo brasileiro estudado.

A condição de pH próxima à neutralidade (pH 7), no caso do solo brasileiro também favorece a existência de um maior teor de matéria orgânica (PRIMAVESI, 1984). Os solos que apresentam menores valores de pH geralmente contêm maiores quantidades de matéria orgânica, pois os microrganismos se tornam menos ativos à medida que a acidez do solo aumenta.

Outro motivo que justifica a existência de um menor teor de matéria orgânica na amostra do solo paquistanês se deve às práticas intensivas de cultivo, as quais acarretam efeitos negativos na matéria orgânica do solo (TILAHUN, 2009; NEEDELMAN, 1999; NEUFELDT 2002).

Em ambientes florestais, sabe-se que tais localidades exercem influência no teor de matéria orgânica do solo, como pode ser observado nos casos dos solos brasileiros. A temperatura no ambiente também desempenha um importante papel com relação ao teor da matéria orgânica no solo. O solo coletado na Unicamp está menos exposto à luz solar do que a amostra de solo coletada em Leme (Brasil), pois aquele estava localizado em uma área sombreada, povoada densamente por plantas, enquanto que na região da coleta em Leme havia maior exposição às condições climáticas, o que pode aumentar a atividade biológica da biota do solo e, conseqüentemente, aumentar o grau de mineralização da matéria orgânica a CO₂, resultando em uma diferença quanto ao teor da matéria orgânica presente no solo (LEVINE, 1996b).

4.6. Matéria Orgânica Total- MOT (titulação com dicromato)

A Tabela 9 mostra os resultados de % em massa de matéria orgânica total (MOT), determinada por titulação com dicromato. Os resultados, análise elementar e MOT, não são concordantes entre si.

Tabela 9. Dados da análise elementar, em porcentagem em massa, dos vários solos.

Amostra de solo	MOT
Pak	0,78
Unik1(primavera)	5,76
Unik2(verão)	4,92
Unik3(outono)	2,88
Unik4(inverno)	3,00
Lebra	4,63

Ambas as técnicas apresentam problemas: a análise elementar é feita com uma amostra muito pequena, menor que 5 miligramas, o que pode levar a uma

incerteza elevada no resultado, já que o solo é um material bem heterogêneo. Por outro lado, a determinação de MOT é feita com um oxidante muito forte, dicromato, que pode reagir com muitos redutores presentes no solo, entre os quais se encontra a matéria orgânica. Íons metálicos em estado de oxidação mais baixos, compostos nitrogenados etc., podem levar, também, a resultados incertos. Há um fator de correção aplicado nessa análise, entretanto ele representa uma correção média e que pode variar bastante, dependendo da amostra.

Um aspecto interessante é comparar a análise elementar de carbono com os valores de MOT. Os resultados mostram certa concordância, já que o aumento em um é acompanhado por um aumento no outro, mesmo considerando-se que na determinação da MOT há outros redutores que não o carbono, inclusive a relação C:N que contribui para o valor da MOT, conforme Figura 13.

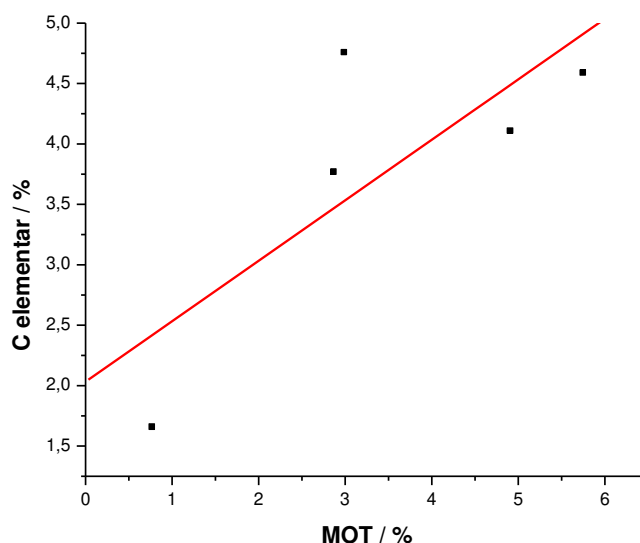


Figura 13. Correlação entre carbono elementar matéria orgânica total para os solos Unik e Pak.

A comparação entre os resultados também permite alguma inferência sobre o estado de oxidação da matéria orgânica. De forma genérica, e desconsiderando-se outros fatores, quanto maior a relação C% / MOT%, mais oxidada encontra-se

a matéria orgânica, o que ocorre com a amostra Pak, cuja relação vale 2,1, enquanto que a menos oxidada, Unik1(primavera), essa relação vale 0,80.

4.7. Análises Térmicas: DSC e TGA.

A matéria orgânica presente nos solos, MOS, consiste de uma mistura de resíduos de plantas e de animais em vários estágios de decomposição, de produtos químicos e substâncias biologicamente sintetizadas a partir de produtos de degradação e de microrganismos. A matéria orgânica dos solos pode ser considerada com o maior reservatório de carbono orgânico (C) em ambientes terrestres, contribuindo com a cor do solo graças à formação de complexos organo-minerais, afetando propriedades morfológicas, físico-químicas, biológicas e bioquímicas dos solos.

O emprego de técnicas térmicas para se estudar diferentes eventos térmicos e os respectivos parâmetros termoquímicos como a variação entálpica estão bem documentados na literatura (SCHNITZER, 1964, 1967; SCHNITZER e colaboradores, 1966, TAN e colaboradores, 1978).

As técnicas DTA e TG são utilizadas para se estudar a matéria orgânica do solo (MOS) e sua composição química sendo que seu estudo foi iniciado no começo da década de 70 (DODD,1987, HÖHNE, e colaboradores, 1996, GIOVANNINI, 1990. ROHELLA e colaboradores, 1996). Contudo, o emprego dessas técnicas era limitado devido à complexidade dos solos e à interpretação das curvas. Todavia, a utilização da técnica de DSC juntamente com a TG é uma prática bastante comum atualmente em análises térmicas (MELIS e colaboradores, 2004, LÓPEZ-CAPEL e colaboradores, 2005. SHU e colaboradores, 2002).

4.7.1. Estudo comparativo por TGA e DSC entre as amostras de solo Unik1(primavera) e Pak.

A quantidade de matéria orgânica presente nas amostras do solo

(Paquistão e Brasil) também pode ser avaliada por meio da análise termogravimétrica (TGA), e pela calorimetria diferencial de varredura (DSC).

As curvas de TGA, Figura 14 e a Tabela 10, indicam três intervalos de perdas de matéria característicos para os solos do Brasil. Na faixa de 50 a 80 °C, que ocorrem eventos de perda de massa (TGA) e com a absorção de energia, conforme mostram os resultados de DSC (Figura 15). Embora não tenham sido realizadas análises químicas do material liberado, essa perda corresponde à água presente nos macroporos, mesmo que as amostras tenham sido previamente secas ao ambiente.

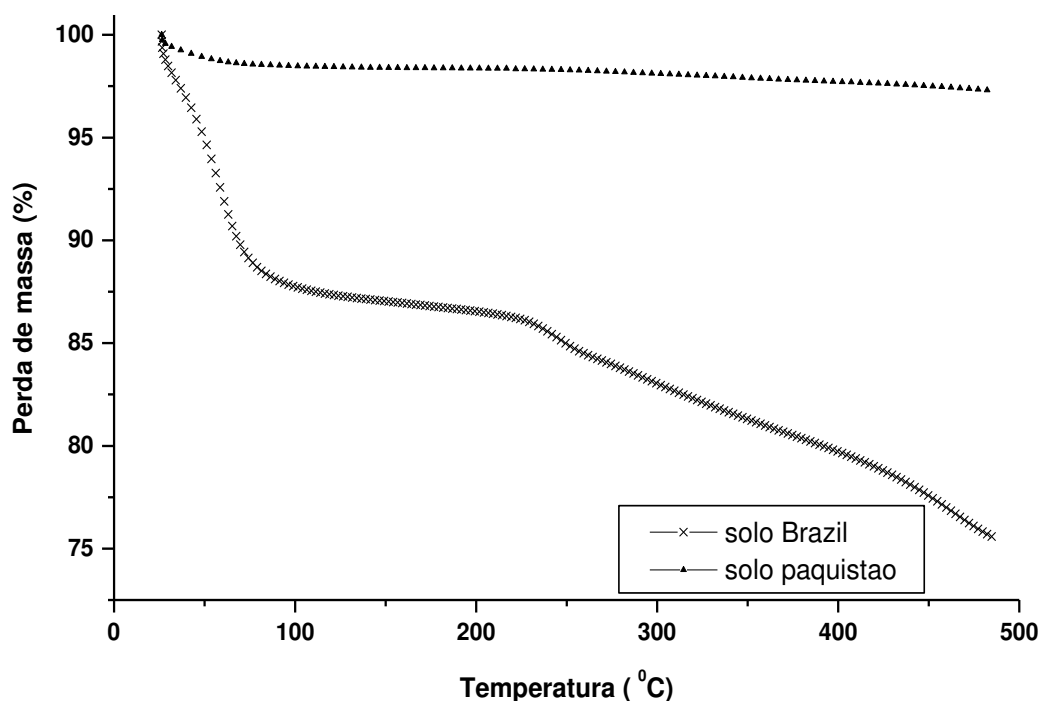


Figura 14. Registro gráfico da Análise Termogravimétrica do solo Unik1(primavera) e Pak.

No entanto, observa-se que os solos apresentam uma perda de massa significativa (~ 13%) no início do aquecimento (30 a 80 °C). Essa perda se deve à água presente nos macroporos, que não foi eliminada convenientemente na secagem. Essas perdas no início do aquecimento, foram registradas nas respectivas curvas de

DSC das amostras, evidenciadas por picos endotérmicos.

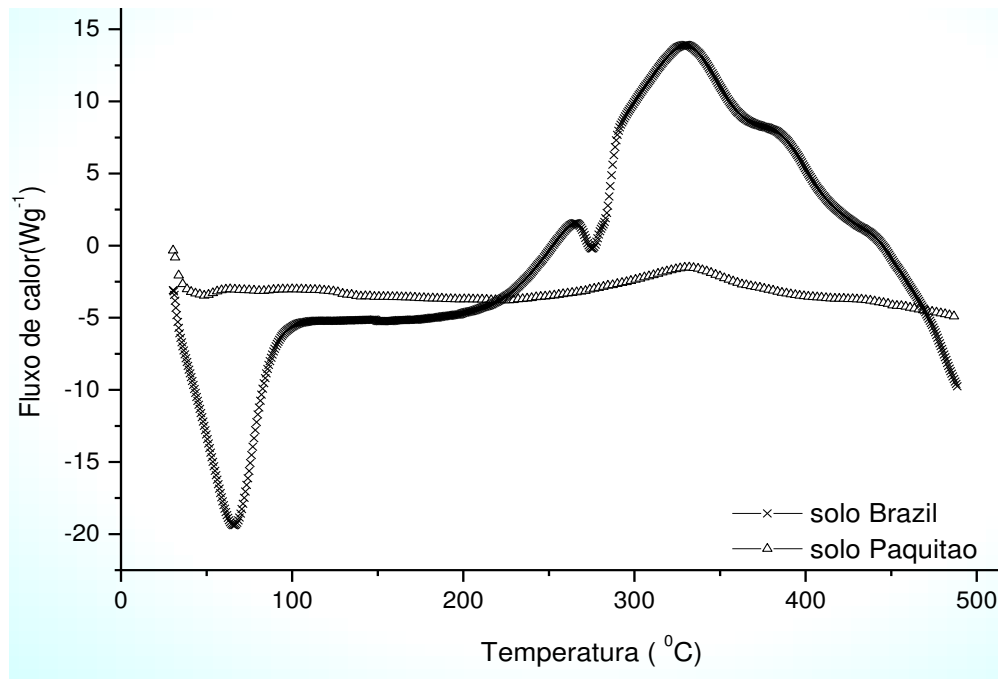


Figura 15. Registro gráfico da Calorimetria Diferencial de Varredura do solo Unik1(primavera) e Pak.

Esses resultados são coerentes com a análise elementar, a qual indicou a presença de um teor de hidrogênio mais elevado para a amostra de solo do Brasil, Unik1(primavera), sendo que na amostra identificada como Unik2(verão) há menor quantidade de hidrogênio. O solo do Paquistão, o qual apresenta menor teor de hidrogênio, não evidencia perda de massa ao longo dessa faixa de temperatura, assim como não apresenta pico no DSC, portanto, sem água de macroporos.

As perdas de massa na faixa de 220 a 250 °C correspondem à combustão da matéria orgânica simples, podendo ser citado: decomposição de carboidratos, desidratação de estruturas alifáticas, decomposição da celulose, hemicelulose, e de ácidos fúlvicos, descarboxilações e a decomposição de polissacarídeos (DELL'ABATE, 2003). Nos registros de DSC (Figura 15), essas perdas se apresentam como processos exotérmicos e, como para as perdas ao longo de faixas de temperatura mais baixas, no DSC os picos aparecem numa faixa de

temperatura ligeiramente mais elevada que no TGA.

O cálculo da variação de entalpia pelo DSC na região de 220 a 250 °C fica bastante comprometido, já que não há uma linha base bem definida após a ocorrência do evento térmico.

Como mostra a TGA, a partir de 250 °C ocorre uma perda de massa constante e mais suave até a temperatura de 500 °C. A perda de massa é atribuída à combustão de compostos orgânicos de maior massa molar e à combustão de compostos aromáticos, polifenólicos, da lignínica e da matéria húmica (Flaig e colaboradores, 1975, ROVIRA e colaboradores, 2008). Entretanto, nos registros de DSC, semelhantemente aos picos entre 220 e 250 °C, embora nessa faixa o pico seja mais bem definido, ainda assim é pouco aconselhável calcular a energia do evento.

No caso do solo Pak, observa-se apenas um pico exotérmico, muito discreto, nas proximidades de 320 °C, o que concorda com a perda de massa também muito discreta na curva de TGA desse solo.

Tabela 10. Dados de TGA obtidos para os solos Unik1 (primavera) e Pak.

Amostra	Faixa de Temp. (°C)	Intervalo combustão (IC)	Perda de massa (%)	Atribuição
Unik1 (primavera)	30-80	227-390	11,4	Água de macroporos
	230-260		1,3	orgânicos menores
	280-390		3,9	Aromáticos
Pak	30-80	261-415	1,4	Água de macroporos
	230-260		Nada	Nada
	280-450		0,7	Aromáticos

As diferenças discutidas acima nas formas das curvas e nas respectivas temperaturas de combustão podem ser justificadas graças à presença de diferentes

tipos de compostos orgânicos, húmus e compostos húmicos (DELL'ABATE, 2002).

O trabalho de dell'Abate e colaboradores mostra também que a turbação do solo pode afetar a composição química e estrutural das frações mais estabilizadas da matéria orgânica o que resulta em diferenças comportamentais nos solos. A evolução da matéria orgânica presentes nos solos também desempenhar um papel importante e, aparentemente, pode influenciar na estrutura e na composição da fração das substâncias húmicas, o que poderia justificar a diferença quanto aos perfis observados nas curvas de DSC de dois solos com relação à posição geográfica.(DELL'ABATE e colaboradores,2002)

Haider e colaboradores mostram que vários fatores, incluindo-se o clima, o teor de argila, a mineralogia, o manejo do solo, etc., podem afetar os processos de transformação da matéria orgânica e de evolução no solo (OADES, 1995, HAIDER, , 1992).

Outro parâmetro de grande importância, que pode ser deduzido a partir do estudo de curvas de DSC, é a temperatura de ignição (temperatura inicial em que passa a ocorrer a combustão contínua da matéria orgânica). Os resultados da Tabela 10 mostram que a decomposição da matéria orgânica da amostra do solo Pak começa em 261 °C enquanto que a da amostra Unik1(primavera) começa em 227 °C, com uma diferença de, aproximadamente, 34 °C. Esta diferença pode ser justificada graças a diferenças na matéria orgânica presente no solo. Os dados da Tabela 10 mostram que a amostra de solo brasileiro apresenta matéria orgânica com elevada quantidade de compostos com massa molar baixa em combinação com compostos de massa molar elevada, enquanto que o solo paquistanês é carente nesse aspecto. Estudos mostram que o solo que apresenta composto orgânico com maior massa molar apresenta uma maior estabilidade térmica desse material. A existência desses valores de temperatura de ignição que são baixos sugere que o solo brasileiro Unik1(primavera) é mais instável termicamente do que o solo paquistanês (DELL ABATE e colaboradores 2002).

Considerando-se o intervalo de combustão (IC) entre as temperaturas de ignição e as respectivas temperaturas finais pode-se observar que o IC é maior na amostra de solo Unik1(primavera) (227 - 390 °C) do que no solo Pak (261 - 415 °C). Isso indica que a matéria orgânica é mais complexa no solo brasileiro, havendo presença de matéria orgânica mais degradada ou recalcitrante, que se degrada a temperaturas elevadas (SALGADO e colaboradores, 2010).

4.7.2. Estudo comparativo por TGA e DSC entre as amostras de solo Unik, e efeito da variação sazonal.

A calorimetria diferencial de varredura (DSC) e a análise termogravimétrica (TGA) foram aplicadas para se investigar o efeito das variações climáticas sazonais em alguns atributos do solo. O solo foi coletado na Unicamp, SP, Brasil, ao longo das quatro estações climáticas. Os perfis das curvas de TGA e de DSC das quatro amostras coletadas estão indicados nas Figuras 16 e 17, respectivamente.

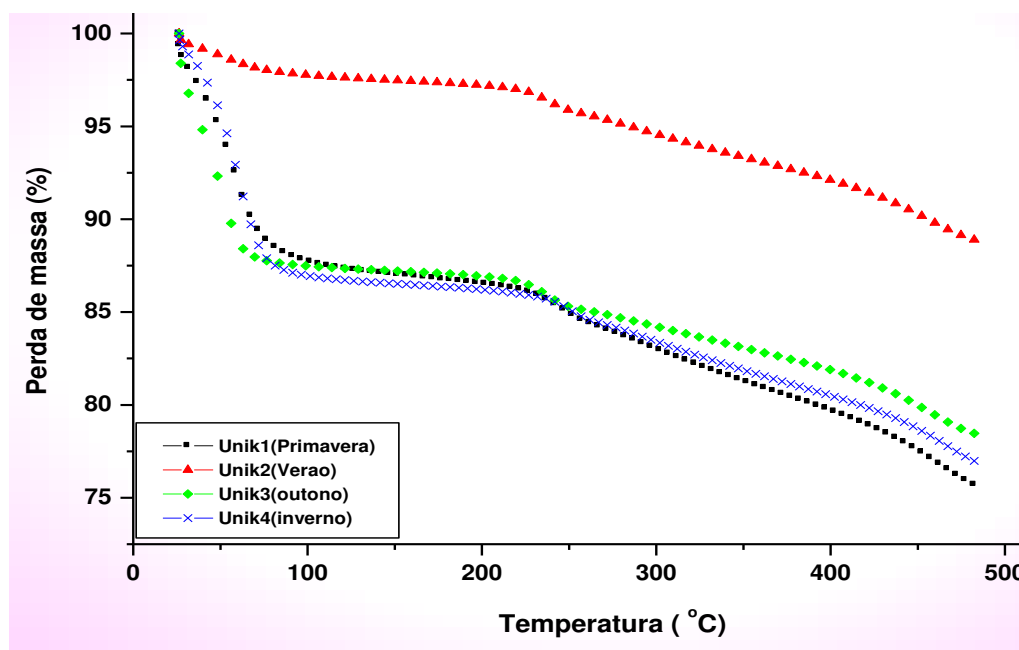


Figura 16. Registro gráfico da Análise Termogravimétrica dos solos Unik em função das estações de coleta.

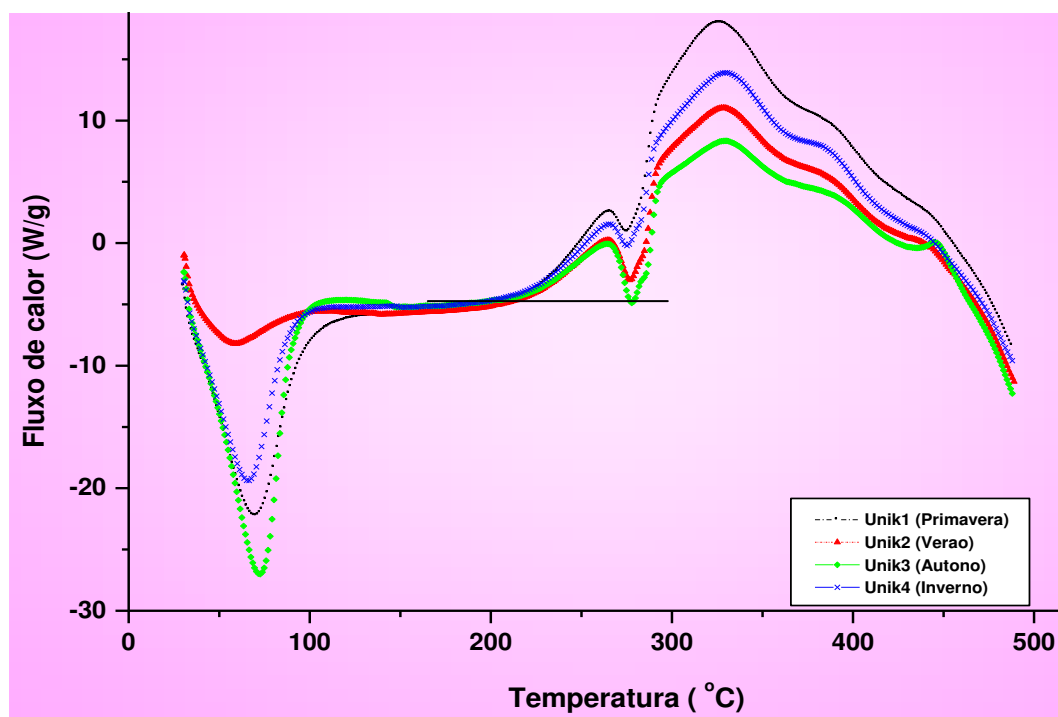


Figura 17. Registro gráfico da Calorimetria Diferencial de Varredura dos solos Unik em função das estações de coleta.

As curvas de DSC relacionadas com as amostras de solo coletadas durante as diferentes estações evidenciam um pico endotérmico e dois picos exotérmicos. Estes dois picos, referidos como Exo 1 (exotérmico 1) ou LER (Lower exothermic reaction) (SATOH. 1984) e Exo 2 (exotérmico 2) ou HER (Higher exothermic reaction) (SATOH. 1984) foram bem discutidos na seção anterior. A fração lábil da matéria orgânica corresponde a uma porção importante em comparação com os compostos recalcitrantes. Os perfis são semelhantes em todos os solos, sendo que algumas diferenças podem ser encontrados no solo Unik2(verão) (verão), em que o pico HER ou EXO 2 é menor do que ao se considerar todas as outras estações. Esta amostra de solo, Unik2(verão) , foi coletada no verão, sendo que o pico relacionado com a combustão da matéria orgânica terminou a temperaturas menores em comparação com todas as outras amostras.

Tabela 11. Dados de TGA obtidos para os solos Unik, coletados ao longo de diferentes estações.

Amostra	Faixa de Temp/(°C)	Intervalo combustão (IC)	Perda de Massa / %	Atribuição
Unik1 (primavera)	30-80	227-390	11,4	Água de Macroporos
	230-260		1,3	orgânicos menores
	280-390		3,9	Aromáticos
Unik2 (verão)	30-80	222-435	2,1	Água de Macroporos
	230-260		1,7	orgânicos menores
	280-435		5,3	Aromáticos
Unik3 (outono)	30-80	223-450	11,6	Água de Macroporos
	230-260		1,2	orgânicos menores
	280-450		5,0	Aromáticos
Unik4 (inverno)	30-80	226-430	12,5	Água de Macroporos
	230-260		1,1	Orgânicos Menores
	280-450		5,0	Aromáticos

Conforme Tabela 11, o ponto de ignição de amostras de solo coletadas em épocas diferentes é praticamente semelhante, não se observando diferença marcante. Pode-se afirmar que a mudança sazonal não mostrou efeito na temperatura de ignição, o que pode evidenciar uma semelhança entre os constituintes orgânicos das amostras de solo.

As perdas de massa total, calculadas a partir das curvas de TGA, apresentam algumas diferenças. Os valores de perda de massa total foram os seguintes: Unik1(primavera)=16,6%, Unik2(verão)=9,1%, Unik3(outono)=17,8% e Unik4(inverno)=18,6%. A diferença na quantidade mencionada se deve à diferença

no teor de umidade das diferentes amostras de solos. Esta diferença se deve ao teor de umidade, que é controlada até certo ponto, secando-se o solo em estufa a 105 °C por 1 h, antes da análise de TGA. Entretanto, o processo de secagem utilizado foi deixar as amostras de solo em ambiente aberto por 48 horas. A melhor explicação para essa diferença no resultado do solo Unik2(verão), em relação aos outros, pode ser explicada pelo fato de essa amostra ter sido coletada no verão, o que confere uma baixa umidade do solo, já que, apesar de ser uma estação chuvosa, foi necessário esperar uma estiagem para se fazer a coleta. Como o verão é muito quente, o solo ficou com menor umidade.

As perdas de massa associadas à matéria orgânica, calculadas por TGA nas amostras de solo foram: Unik1(primavera)=5,2%, Unik2(verão)=7%, Unik3(outono)=6,2% e Unik4(inverno)=6,1%. O resultado mostra que a amostra de solo recolhida no verão, Unik2(verão), apresenta elevado teor de matéria orgânica, enquanto que a amostra de solo Unik1(primavera), que corresponde à primavera, apresenta menor teor de orgânica. O elevado percentual de matéria orgânica do solo na amostra relacionada com o verão, Unik 2, se deve à grande disponibilidade de material vegetal que caiu no chão durante o inverno e que pode ser justificado pelo desprendimento de materiais vegetais (SUMATHI e colaboradores 2008), passando a ser degradada em dezembro, com as primeiras chuvas (VAN DONSEL. e colaboradores 1967).

Por outro lado, baixa porcentagem de matéria orgânica do solo com relação à primavera, Unik1(primavera), se deve a pouca chuva nos meses do inverno e primavera, fazendo com que a matéria orgânica depositada no inverno, ainda permaneça sem degradação e seca, e, então, com baixa incorporação no solo coletado.

4.8. Estudo microbiológico

O solo representa um habitat para uma vasta e complexa comunidade de microrganismos que interagem entre si, cujas atividades determinam, em grande

parte, as propriedades químicas e físicas do solo. Em um solo fértil, a biota (micro e macroorganismos, vegetais e animais) pode ter uma biomassa superior a 20 T ha⁻¹, com formas de vida que vão desde bactérias microscópicas até minhocas que pode ter 1 metro de comprimento. Apenas uma pequena fração, provavelmente menos que 20%, da microflora e da microfauna do solo (incluindo-se: bactérias, fungos, algas, protozoários, nematóides, colêmbolos, ácaros) têm sido descrita. O papel dos organismos do solo no desenvolvimento e na manutenção da estrutura do solo, na ciclagem de nutrientes e em suas diferentes interações (incluindo-se as interações que sejam associativas, prejudiciais e benéficas), com as raízes das plantas está descrito (LEE e colaboradores, 1992), sendo que os microorganismos são amplamente utilizados como indicadores de qualidade do solo. O solo contém uma grande variedade de “taxa” microbiana, havendo grande diversidade de diferentes modalidades metabólicas (PARKINSON, 1991). Os microorganismos desempenham um papel fundamental na ciclagem de nutrientes e no fluxo de energia (LI e colaboradores, 2004), podendo-se constatar que as comunidades microbianas respondem ao estresse ambiental ou à perturbação do ecossistema, afetando a disponibilidade de compostos energéticos que possam suportar as populações microbianas (MARINARI e colaboradores, 2007).

A amostra de solo do Paquistão, Pak, apresenta unidades formadoras de colônias (ufc) igual a $8,55 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$, enquanto que o mesmo parâmetro avaliado para o solo Unik1(primavera) foi igual a $5,22 \times 10^4$, como mostra a Tabela 12.

Os resultados também mostram que o solo Unik2(verão) apresenta uma comunidade microbiana mais abundante em comparação com o solo paquistanês e também com as outras amostras. Essa diferença na quantificação de microrganismos presentes nos solos pode ocorrer por diferenças climáticas na região em que as amostras foram coletadas (SHEIK e colaboradores, 2011). Nesse mesmo trabalho, Sheik mostra que com o aquecimento e a provisão de água no solo houve forte influência com relação ao tamanho da população bacteriana e também à diversidade.

Tabela 12. Resultados da determinação da quantidade de bactérias + actinomicetos + leveduras para os diferentes tipos de solo estudados, em unidades formadoras de colônias (ufc) (10^4 unidades g^{-1} de solo seco)

Amostras de solo	ufc/ $10^4 g^{-1}$
Unik1(primavera)	5,22
Unik2(verão)	126
Unik3(outono)	5,94
Unik4(inverno)	13,6
Pak	8,55
Lebra	5,11

Um estudo conduzido por Fierer e colaboradores mostra que a diversidade bacteriana foi maior em solos com pH neutro do Brasil (6,7) do que em solo com valores elevados de pH (no caso do solo paquistanês, pH= 8,2) ou em condição de muita acidez. (FIERER e colaboradores, 2006)

Alguns estudos têm demonstrado que a estrutura da comunidade microbiana pode ser, também, dependente da disponibilidade da matéria orgânica, da qualidade da matéria orgânica, dos nutrientes e do estado do solo (GRIFFITHS, 1999; BOSSIO , 1998 e OVREAS e colaboradores, 1998). A diferença quanto à quantificação da comunidade microbiana também pode se correlacionada com o tipo de vegetação acima do solo. (BROUGHTON e colaboradores, 2000 e GRAYSTON e colaboradores, 1998).

O resultado mais surpreendente é o do solo Unik2(verão) que apresentou uma população de bactérias e actinomicetos 10 vezes maior que a dos outros solos. Vários fatores contribuem para a quantidade de microorganismos e também a sua variabilidade. Entre esses fatores destacam-se: a disponibilidade de água, a disponibilidade de matéria orgânica, a temperatura ambiente, o aporte de

serrapilheira e fatores exógenos como adubação, calação e o uso de xenobióticos. Todos os solos da Unicamp foram coletados no mesmo local e, portanto, sua população depende basicamente de algumas mudanças climáticas, já que se trata de um local não cultivado. O solo Unik2(verão) foi coletado em pleno verão, em que se têm elevadas temperaturas e umidade e, então, uma matéria orgânica mais oxidada, conforme mostrou a relação C%/MOT% (0,83), e disponível cineticamente ao crescimento microbiano. Além disso, observou-se que esse solo é o que apresentou maior teor de matéria orgânica: 15,3% (por combustão em mufla) e 7% (por TGA). Vale ressaltar que a comparação entre as técnicas na determinação de matéria orgânica fica comprometida, pois os parâmetros utilizados nessa determinação são completamente diferentes.

Como a relação C:N, por análise elementar é de 6,6, aproximando-se mais do valor 5 para a biomassa viva ($\text{CH}_{1,8}\text{O}_{0,5}\text{N}_{0,2}$), pode-se inferir que boa parte dessa matéria orgânica encontra-se na forma de microrganismos, principalmente bactérias, já que essa relação aumenta para fungos, o que corrobora com o resultado de contagem de microrganismos. Esses devem ter sido os principais fatores que contribuíram para esse maior número de bactérias e actinomicetos.

No caso desse estudo, a determinação dos atributos anteriormente relatados, no entanto, tem importância quando discutidos à luz dos resultados de calorimetria, que virão na sequência desse documento.

4.9. Calorimetria Isotérmica

A calorimetria isotérmica foi utilizada para se estudar a influência de diversos fatores na atividade microbiana de solos. Foram objetos de estudos e comparações, solos de três regiões distintas: Unicamp. Paquistão e da cidade de Leme, sendo os dois últimos, sob cultura intensa de algodão. Os solos da Unicamp foram coletados de local sem cultivo e em quatro estações diferentes. Vários parâmetros foram investigados comparativamente: estação de coleta (solos Unik1, 2, 3 e 4), tempo de armazenamento (Unik1, 2, 3 e 4), adição de arsênio

As³⁺ (Unik1), efeito de dois herbicidas do grupo das sulfoniluréias purificados (nos solos da Unicamp, Unik1(primavera); Paquistão, Pak e de Leme, Lebra). Todos os estudos foram baseados na calorimetria isotérmica, procurando investigar os diferentes parâmetros apontados, na degradação de 1 mg de glicose, adicionada a 1 grama de solo.

4.9.1. Estudo do efeito do tempo de armazenamento no metabolismo de glicose no solo Unik1(primavera).

Para avaliar o efeito do tempo de armazenamento no metabolismo microbiano, utilizou-se o solo da Unicamp, Unik1(primavera), coletado na primavera. Como em todos os experimentos de calorimetria, os resultados são uma média de triplicatas. Resumidamente a amostra de solo era mantida à temperatura ambiente por 24 horas, para depois receber 200 uL de solução contendo 1 miligrama de glicose. As Figuras 18 e 19, e as Tabelas 13 e 14, resumem os registros calorimétricos e os resultados obtidos, respectivamente.

O que se observa é uma liberação de energia, mais ou menos constante entre 2 meses e 20 meses, o que significa uma quantidade de CO₂ liberado, também constante. Nesse intervalo de tempo a eficiência do metabolismo microbiano (η_H), que representa uma mineralização de cerca de 65% da glicose. Com o envelhecimento, o catabolismo da glicose começa a dominar e para o intervalo entre 28 e 32 meses a eficiência do metabolismo (η_H) cai para cerca de 22 %. Isso pode significar que os microorganismos, nessa fase, encontram-se sob estresse por falta de nutrientes e, assim, as fontes de carbono (energia) são, preferencialmente, catabolizadas.

Entretanto, se observarmos a constante de crescimento, veremos que elas são maiores para esses solos mais envelhecidos. Isso significa que a anabolização da glicose nesses casos, foi principalmente na forma de matéria orgânica viva, maior taxa de crescimento da biota. Qualitativamente esse comportamento dos solos pode ser visualizado na Figura 18, observando-se que

as curvas a partir de 20 meses de armazenagem apresentam-se mais alongadas (maiores valores de potência) após o período de latência e também têm um perfil mais alongado e com um valor de “peak time” mais bem definido. Para tempos menores que 20 meses, observam-se curvas de formato menos “arredondadas” evidenciando que os microorganismos apresentam-se bem adaptados enzimaticamente ao nutriente adicionado. No entanto, esses microrganismos não transformam essa fonte de carbono em matéria orgânica viva, já que a velocidade de crescimento é muito pequena e a potência no “peak time” é bem parecida à potência da fase de latência.

Os mesmos resultados foram observados por um grupo de pesquisadores, onde as propriedades do solo não foram afetadas de forma significativa em curto intervalo de tempo. No entanto, para um longo período de armazenagem essas propriedades se alteram de alguma forma (STENBERG e colaboradores, 1998).

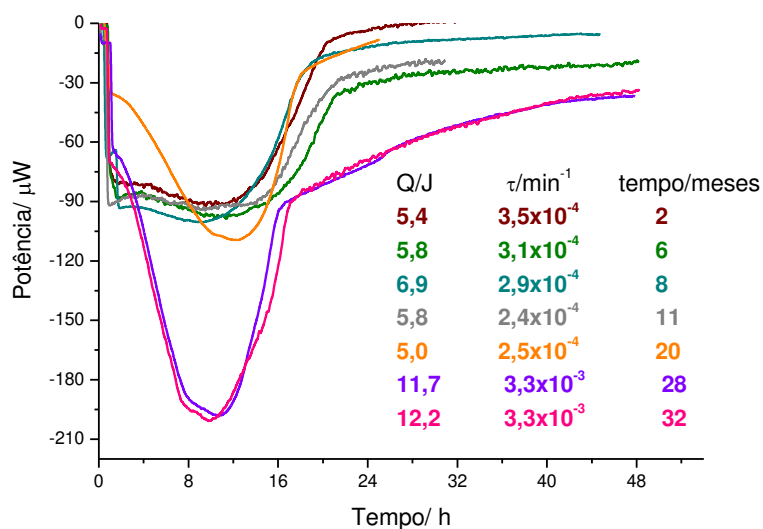


Figura 18. Registros calorimétricos e resultados do estudo da influência do tempo de estocagem no metabolismo de 1 mg de glicose pelo solo Unik1 (primavera).

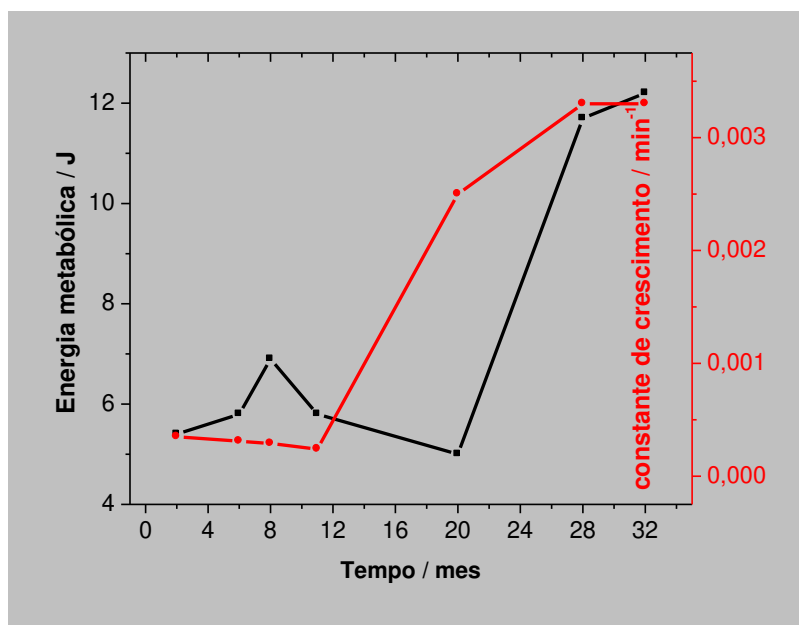


Figura 19. Influência do tempo de armazenamento na constante de crescimento e energia metabólica de 1 mg de glicose no solo Unik1(primavera).

Em relação ao rendimento de biomassa viva, ΔX , a Tabela 13 mostra que seus valores são sempre menores que os da eficiência, η_H , com exceção das amostras de 6, 28 e 32 meses onde o valor da ΔX é maior do que η_H .

Tabela 13. Resultados da calorimetria para a adição de 1 miligrama de glicose aplicada ao solo Unik1(primavera) de 2 a 32 meses de armazenamento.

Dado(meses)	2	6	8	11	20	28	32
$\eta_H/\%$	65	63	56	63	68	25	22
$Q / J g^{-1}$	5,4	5,8	6,9	5,8	5,0	11,7	12,2
P_T / h	11 ± 1	12 ± 1	10 ± 1	10 ± 1	13 ± 1	10 ± 1	10 ± 1
$\Delta X / mg (\%)$	0,51(51)	0,75(75)	0,45(45)	0,37(37)	0,25(25)	0,90 (90)	0,89 (89)
$Y_{Q/X} / kJ mol^{-1} X$	2608	1902	3772	3856	492	320	332
$Y_{X/S} / molX/mol S$	0,37	0,55	0,33	0,27	1,84	6,59	6,57
$-\Delta_R H_s / kJ mol^{-1}$	-957	-1042	-1239	-1042	-898,5	-2106	-2196
$k / 10^{-3} min^{-1}$	$3,5 \times 10^{-4}$	$3,1 \times 10^{-4}$	$2,9 \times 10^{-4}$	$2,4 \times 10^{-4}$	$2,5 \times 10^{-3}$	$3,3 \times 10^{-3}$	$3,3 \times 10^{-3}$

O esperado é que o valor de ΔX seja sempre menor ou, no máximo, igual ao valor de η_H , uma vez que esse último reflete toda a matéria mineralizada, enquanto que ΔX representa uma parte dessa mineralização, que se transforma em matéria viva.

O que ocorre com as amostras a partir de 28 meses, pode dever-se ao fato de que a adição de qualquer substrato pode levar os microrganismos a praticar o cometabolismo do substrato adicionado e aquele pré existente no solo, como, por exemplo, os microrganismos já mortos. Outro aspecto a comentar, é o fato de que a determinação da biomassa viva (ΔX) se baseia na equação de Sparling e seu valor é bastante dependente da determinação de potência na fase de latência. Entretanto, a determinação desse valor de potência, muitas vezes tem uma incerteza grande, o que leva a uma incerteza ainda maior em X , já que a dependência de X , em relação à potência (φ) é exponencial.

Tabela 14. Resultados do balanço de massa das equações macroquímicas, para a adição de 1 miligrama de glicose aplicada ao solo Unik1(primavera) de 2 a 32 meses de armazenamento.

Tempo/mês	$C_6H_{12}O_6$	O_2	NH_4^+	$CH_{1,8}O_{0,5}N_{0,2}$	CO_2	H_2O	H^+
2	0,51	2,0	0,2	1	2,04	2,44	0,2
6	0,54	2,2	0,2	1	2,23	2,63	0,2
8	0,61	2,6	0,2	1	2,65	3,05	0,2
11	0,54	2,2	0,2	1	2,23	2,63	0,2
20	0,49	1,9	0,2	1	1,92	2,32	0,2
28	0,92	4,5	0,2	1	4,51	4,92	0,2
32	0,95	4,7	0,2	1	4,70	5,10	0,2

A Tabela 14 mostra, também, que o desprendimento de CO_2 e o consumo de glicose para formar 1 mol de matéria viva aumentam muito quando o tempo de armazenamento atinge 28 meses, sendo que a relação molar O_2 /glicose, que gira em torno de 4 para baixos tempos de armazenamento, atinge 5 para o tempo de estocagem a partir de 28 meses. No entanto, o crescimento de biomassa viva, ΔX , também foi muito alto. Ora, se o valor da energia foi alto, assim como a formação

de biomassa viva, isso significa que os microrganismos usaram outra fonte de carbono na atividade metabólica, além da glicose. Observando-se as curvas da Figura 18, vê-se que nas curvas para 28 e 32 meses de estocagem, os valores de potência na fase de latência, são menores que para os outros tempos de estocagem, o que significa, de acordo com Sparling, uma menor quantidade de microrganismos vivos ou adaptados à glicose, o que justifica os comentários anteriores sobre a energia catabólica e assimilação de biomassa viva.

4.9.2. Estudo do efeito do tempo de armazenamento no metabolismo de glicose no solo Pak.

O solo do Paquistão, Pak, apresenta uma constante de crescimento microbiano ($5,0 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$) bem maior que o solo da Unicamp, Unik1(primavera) ($3,5 \times 10^{-4} \text{ min}^{-1}$). Trata-se de um solo bastante deficiente em água e mantido sob cultivo intenso de algodão. É um solo mais pobre em matéria orgânica, mas que tem uma grande capacidade de mineralização da matéria orgânica sob a forma viva, como mostra a Figura 20, em que, a diferença entre a potência na fase de latência (25 μW) e no “peak time” (250 μW) é bem pronunciada. O que também se observa na Figura 20 é que a potência na fase latência é bem menor ($\sim 10 \mu\text{W}$) contra 25 μW para o armazenamento de 2 meses, o que reflete alguma morte dos microrganismos presentes no solo Pak em função do tempo.

Diferentemente do solo Unik1(primavera), o solo Pak não apresentou diferenças significativas na constante de crescimento microbiano em relação ao tempo de estocagem, conforme mostra a Figura 21, sendo maior a constante de crescimento em relação ao solo da Unicamp. A eficiência do metabolismo microbiano (η_H) ficou em torno de 50%, sem se alterar significativamente com o tempo de armazenamento, conforme mostra a Tabela 15.

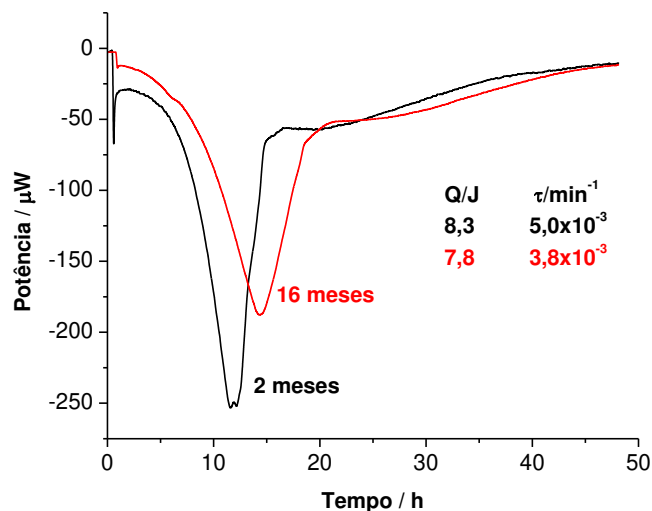


Figura 20. Registros calorimétricos e resultados do estudo da influência do tempo de estocagem no metabolismo de 1 mg de glicose pelo solo Pak.

No caso do solo Pak ocorre uma relação interessante entre η_H e ΔX , em que o valor de formação de biomassa viva ΔX , é maior que o da eficiência do metabolismo, η_H , mesmo para o solo com coleta recente (2 meses). Isso é mais ou menos previsível no caso de solo estressado, como é o caso do solo Pak, de uma região com pouco aporte de matéria orgânica e de agricultura intensa. Dessa forma, qualquer fonte de carbono é entendida como uma necessidade de sobrevivência e os microrganismos passam a se multiplicar. Embora o resultado de matéria orgânica total (MOT) para esse solo tenha sido baixo, é bastante provável que os microrganismos tenham passado a consumir essa matéria orgânica, a partir do “despertar” provocado pela adição de glicose.

Tabela 15. Resultados da calorimetria para a adição de 1 miligrama de glicose aplicada ao solo Pak após 2 e 16 meses de armazenamento.

Dado /meses	2	16
$\eta_H/\%$	46,7	49,8
$Q / J g^{-1}$	8,3	7,8
P_T / h	$12 \pm 0,5$	$15 \pm 0,9$
$\Delta X / mg (\%)$	0,94 (94)	0,84 (84)
$Y_{Q/X} / kJ mol^{-1} X$	141	169
$Y_{X/S} / mol X/mol S$	6,9	6,2
$-\Delta_R H_s / kJ mol^{-1}$	-1492	-1330
$k / 10^{-3} min^{-1}$	5,0	3,8

Conforme mostram a Figura 21 (escalas em y construídas de modo a evidenciar relações percentuais) e a Tabela 15, o solo Pak apresentou pouca diferença na energia metabólica, havendo uma diminuição de cerca de 6 % quando o tempo de estocagem passou de 2 meses para 16 meses, no entanto a constante de crescimento microbiano diminuiu cerca de 30 %.

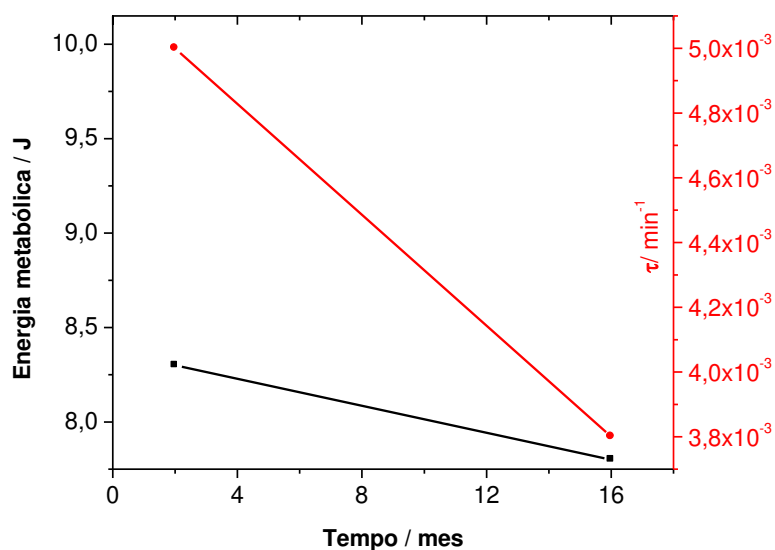


Figura 21. Dependência da energia metabólica e a constante de crescimento microbiano para o solo Pak, em função do tempo de coleta.

A partir dos dados da Tabela 15 infere-se que o valor do rendimento térmico, $Y_{Q/X}$, nesse caso é muito pequeno e o efeito do tempo de armazenamento não é tão significativo, ao contrário do solo Unik onde o tempo de armazenamento tem um efeito significativo sobre esse parâmetro.

Como mostra a Figura 22, a relação entre as quantidades de microrganismos na contagem microbiológica e a energia metabólica, guarda alguma proporcionalidade, quando se comparam os solos Unik1(primavera) e Pak.

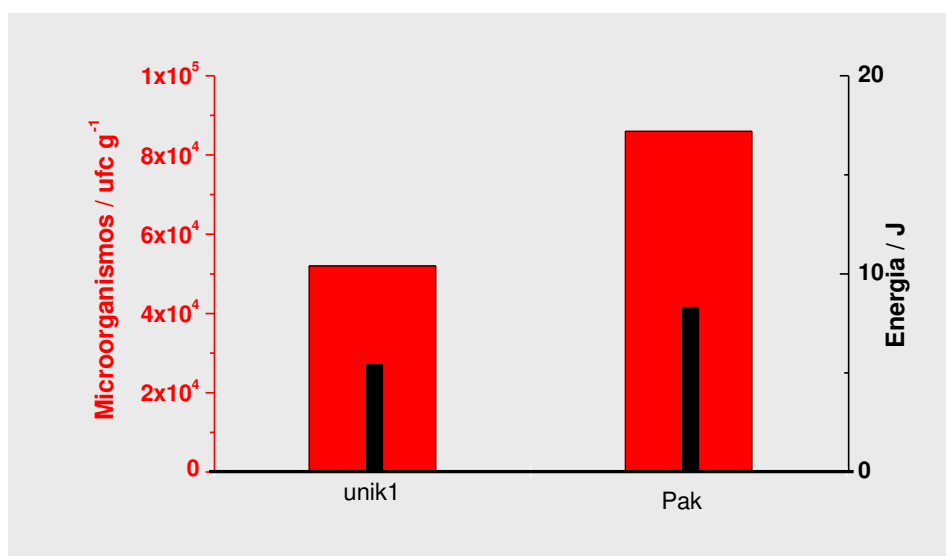


Figura 22. Relação entre a quantidade de microrganismos e a energia metabólica para os solos Unik1(primavera) e Pak.

Os resultados da Tabela 16 mostram que não houve mudanças significativas na produção de biomassa e na evolução de CO₂, considerando-se massas iguais de glicose utilizada. Em termos gerais, observou-se, então, que as diferenças mais significativas no envelhecimento desse solo entre 2 e 16 meses se restringiu ao menor número de microrganismos vivos inicialmente e algum retardo na depleção da glicose.

Tabela 16. Resultados do balanço de massa das equações macroquímicas, para a adição de 1 miligrama de glicose aplicada ao solo Pak após 2 e 16 meses de armazenamento.

Tempo /mês	C ₆ H ₁₂ O ₆	O ₂	NH ₄ ⁺	CH _{1,8} O _{0,5} N _{0,2}	CO ₂	H ₂ O	H ⁺
2	0,70	3,14	0,2	1	3,20	3,60	0,2
16	0,64	2,80	0,2	1	2,84	3,24	0,2

4.9.3. Estudo do efeito da estação de coleta do solo Unik1(primavera) no metabolismo de glicose.

Conforme mostram as Figuras 23, 24 e 25 e a Tabela 17, os solos coletados em diferentes estações do ano apresentam comportamentos distintos em alguns aspectos. A eficiência do metabolismo microbiano (η_H) parece não diferenciar muito entre esses solos, permanecendo entre 55 e 65 %.

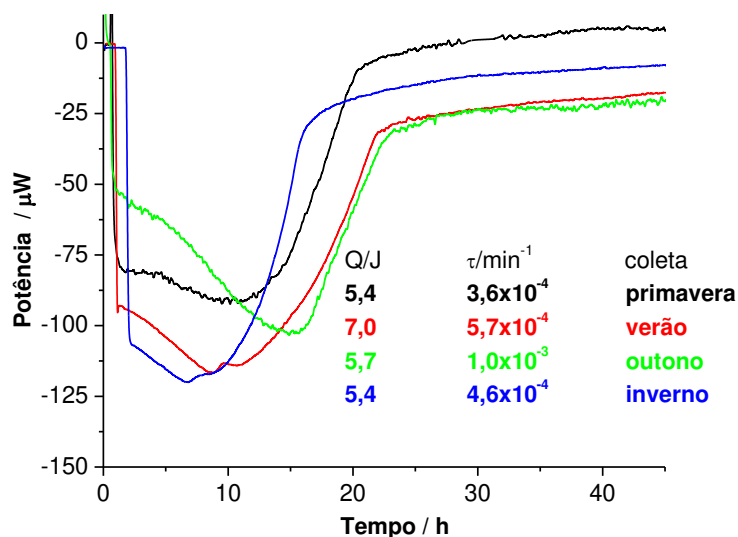


Figura 23. Influência da estação de coleta na quantidade de microorganismos e constante de crescimento solo Unik.

Os dados da Tabela 17 mostram que o crescimento de biomassa viva, ΔX , para diferentes amostras de solo é muito pequeno, principalmente no inverno e na

primavera. No entanto, como todos os valores são pequenos, isso pode significar que os microrganismos estão bem adaptados às condições ambiente e que o aporte de matéria orgânica (glicose) representa uma forma de catabolismo. Isso também fica claro pelo baixo valor da constante de crescimento microbiano, cerca de uma ordem de grandeza menor que para os outros solos.

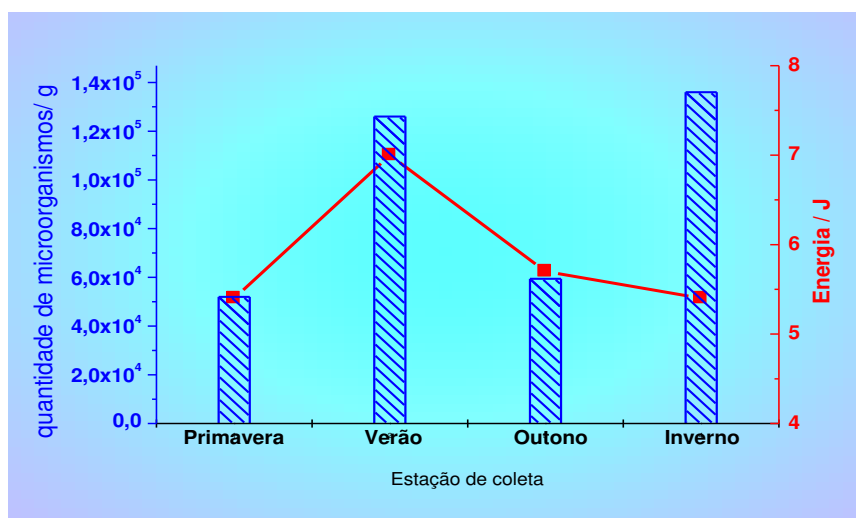


Figura 24. Influência da estação de coleta no metabolismo de 1 mg de glicose pelos solos Unik.

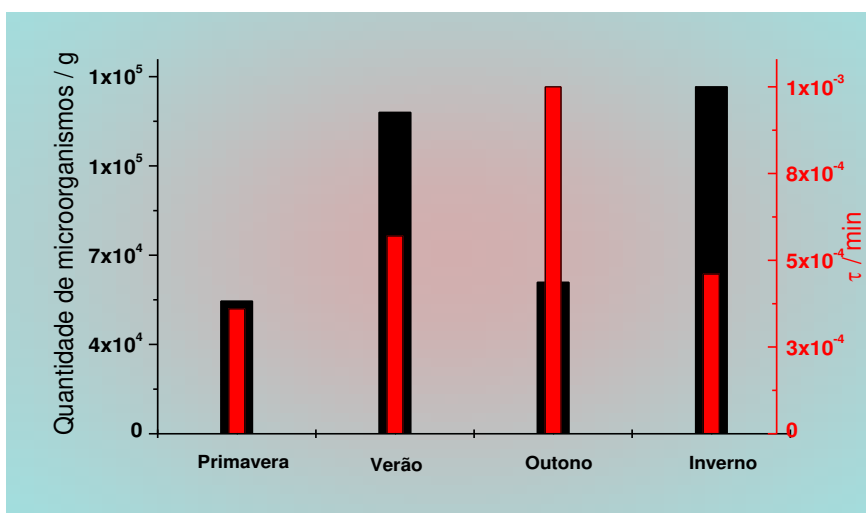


Figura 25. Influência da estação de coleta na quantidade de microrganismos e na energia metabólica para o solo Unik.

Tabela 17. Resultados da calorimetria para a adição de 1 miligrama de glicose aplicada aos solos Unik, coletados em diferentes estações do ano.

Dado	Unik1 Primavera	Unik2 Verão	Unik3 Outono	Unik4 Inverno
$\eta_H/\%$	65	55	63	65
$Q / J g^{-1}$	5,4	7,0	5,7	5,4
P_T / h	9	12	16	7
$\Delta X / mg (\%)$	0,05(5)	0,11(11)	0,24(24)	0,03(3)
$Y_{Q/X} / kJ mol^{-1} X$	2605	1309	716	5488
$Y_{X/S} / molX/molS$	0,37	0,80	1,75	0,19
$- \Delta_R H_s / kJ mol^{-1}$	-972	-1260	-1024	-970
k / min^{-1}	$3,6 \times 10^{-4}$	$5,7 \times 10^{-4}$	$1,0 \times 10^{-3}$	$4,6 \times 10^{-4}$

Os resultados de eficiência metabólica, η_H , estão em torno de 65%, sendo que, apenas para o solo do verão esse valor cai para 55%. Conforme mostram as macro equações da Tabela 18, vê-se que o solo do verão está contribuindo para uma emissão maior de CO_2 que os outros solos. Um resultado parecido tem sido relatado por Rigobelo e colaboradores, 2004. Uma razão para esse elevada energia metabólica, para o amostra coletada no verão, diz respeito às condições climáticas. O aumento da atividade respiratória com o aumento da umidade e temperatura, também tem sido relatada por CHEN e colaboradores, 2002.

Tabela 18. Resultados do balanço de massa das equações macroquímicas, para a adição de 1 miligrama de glicose aplicada ao solo Unik coletados em diferentes estações do ano.

Tempo de coleta	$C_6H_{12}O_6$	O_2	NH_4^+	$CH_{1,8}O_{0,5}N_{0,2}$	CO_2	H_2O	H^+
Primavera	0,51	2,03	0,2	1	2,1	2,5	0,2
Verão	0,62	2,64	0,2	1	2,7	3,1	0,2
Outono	0,53	2,14	0,2	1	2,2	2,6	0,2
Inverno	0,51	2,03	0,2	1	2,1	2,5	0,2

Outro aspecto a considerar seria uma possível correlação entre a atividade metabólica, representada pela energia metabólica ou pelo valor de potência na

fase de latência, com a análise microbiológica. No entanto, essa correlação não é simples, já que as unidades formadoras de colônia não representam diretamente o número de organismos vivos. Além disso, esse valor de contagem tem uma incerteza maior, colônias de tamanhos diferentes, erros de contagem e colapsamento de colônias vizinhas.

A constante de crescimento microbiano é mais acentuada para o solo coletado no outono, que apresenta a menor quantidade de unidades formadoras de colônias e também o maior valor de “peak time”, entretanto é o solo do verão que apresenta a menor eficiência de metabolismo (~55%). Uma característica marcante de todas as amostras é o intervalo de tempo curtíssimo que se estabelece entre o momento da adição da glicose e a fase de latência, em quase todos os casos em torno de 32 minutos, o que é uma característica bem marcante para solos não cultivados e de clima temperado.

4.9.4. Estudo comparativo do metabolismo dos três solos: Unik1(primavera), Pak e Lebra.

As Figuras 26 e 27, e a Tabela 19 mostram que os três solos: Unik1(primavera), Pak e Lebra, apresentam comportamentos distintos em vários aspectos. O solo do Paquistão apresenta a maior constante de crescimento microbiano ($\tau = 5,1 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$) e a maior assimilação de carbono como matéria orgânica viva (maior diferença de potência entre a fase de latência e a do “peak time”), mas apresenta a menor eficiência do metabolismo microbiano (η_H), 50%.

O solo Lebra apresenta uma curva de crescimento microbiano parecida com o Pak, no entanto apresenta a menor constante de crescimento, $2,2 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$, entre os três solos. Por outro lado, o solo Unik1(primavera), o único não cultivado, apresenta uma curva de crescimento totalmente diferenciada dos outros dois. Apresenta uma constante de crescimento da ordem 10 vezes menor ($\tau = 3,6 \times 10^{-4} \text{ min}^{-1}$), e um formato bastante diferente, com um intervalo de tempo da fase de crescimento microbiano bem longo e sem um aumento significativo da quantidade

de matéria viva (maior diferença de potência entre a fase de latência e a do “peak time”).

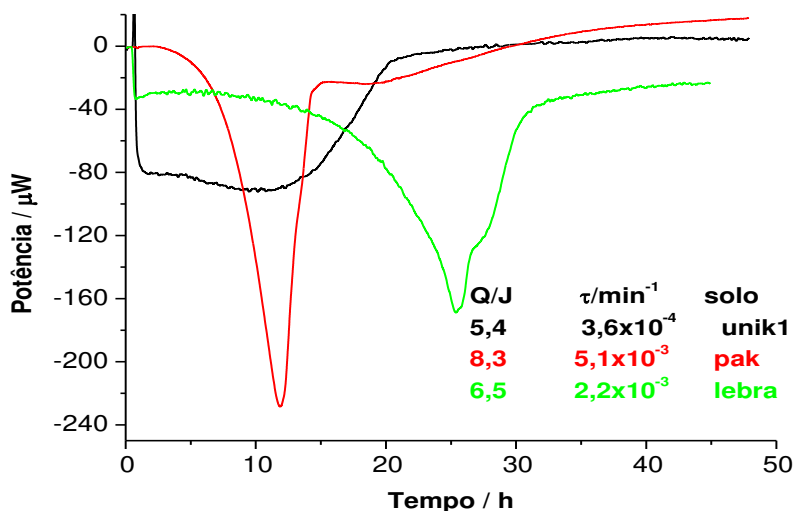


Figura 26. Registros e resultados calorimétricos do metabolismo de glicose para os diferentes solos: Unik1(primavera), Pak e Lebra.

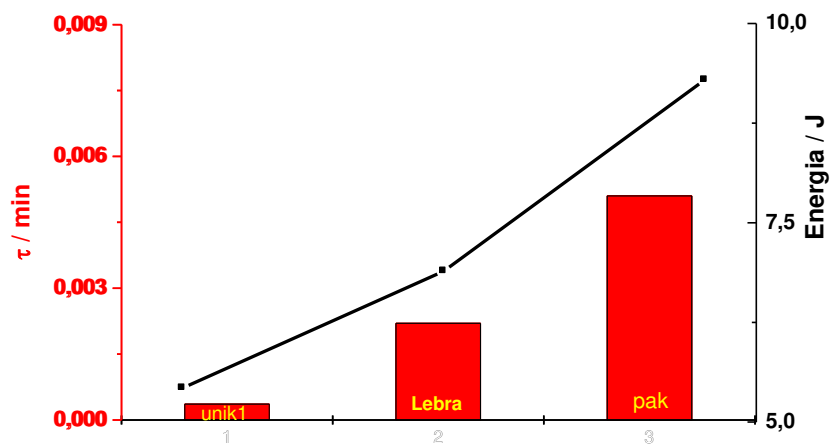


Figura 27. Valores de constante de crescimento microbiano e energia metabólica para os solos Unik1(primavera), Lebra e Pak.

Como se observa na Tabela 19, o crescimento de biomassa viva e o rendimento de biomassa são elevados para os solos cultivados, Pak e Lebra e

pequenos para o solo não cultivado, Unik1(primavera). Como comentado anteriormente para o solo Unik1(primavera), isso reflete certo estresse dos microrganismos dos solos cultivados, que interpretam esse aporte de matéria orgânica, como uma oportunidade de crescimento.

Tabela 19. Resultados da calorimetria para a adição de 1 miligrama de glicose aplicada às diferentes amostras de solo.

Dado	Unik1(primavera)	Lebra	Pak
$\eta_H/\%$	65	58	46
$Q / J g^{-1}$	5,4	6,5	8,3
P_T / h	11	26	13
$\Delta X / mg (\%)$	0,05 (5)	0,66 (66)	0,94 (94)
$Y_{Q/X} / kJ mol^{-1} X$	2657	216	141
$Y_{X/S} / molX/molS$	0,36	4,89	6,94
$-\Delta_R H_s / kJ mol^{-1}$	-971	-1171	-1492
$k / 10^{-3} min^{-1}$	$3,6 \times 10^{-4}$	$2,2 \times 10^{-4}$	$5,1 \times 10^{-4}$

Ao contrário, para o solo Unik1(primavera), os microrganismos não estão sob estresse, mas sim, em alta competição, o que significa que o aporte de substrato leva a uma atividade catabólica mais intensa. Isso também se reflete pelo alto valor de $Y_{Q/X}$ para o solo Unik1(primavera) e baixos valores para os solos Pak e Lebra.

Outro aspecto que pode ser comentado diz respeito à variedade de microrganismos no solo. No caso de solos cultivados, como o Pak e Lebra, é de se esperar que haja menor variedade, o que, de certa forma, evidencia menor competição e, portanto, maior facilidade de crescimento microbiano.

Os balanços de massa da macroequação, Tabela 20, mostram uma maior emissão de CO_2 para os solos sob cultivo do que para o solo Unik1(primavera), o que pode evidenciar uma maior contribuição da agricultura intensiva para a emissão desse poluente.

Tabela 20. Resultados do balanço de massa das equações macroquímicas, para a adição de 1 miligrama de glicose aplicada às diferentes amostras de solo.

Tipo da solo	$C_6H_{12}O_6$	O_2	NH_4^+	$CH_{1,8}O_{0,5}N_{0,2}$	CO_2	H_2O	H^+
Unik1 (primavera)	0,51	2,02	0,2	1	2,1	2,5	0,2
Lebra	0,60	2,45	0,2	1	2,5	2,9	0,2
Pak	0,70	3,14	0,2	1	3,2	3,6	0,2

4.9.5. Estudo do efeito da adição de As^{3+} no solo Unik1(primavera).

O efeito da adição de As^{3+} foi estudado variando-se a quantidade desse íon adicionado ao solo Unik1(primavera). O que se observa nas Figuras 28 e 29 é uma correlação inversa entre a quantidade adicionada de As^{3+} e o efeito térmico observado.

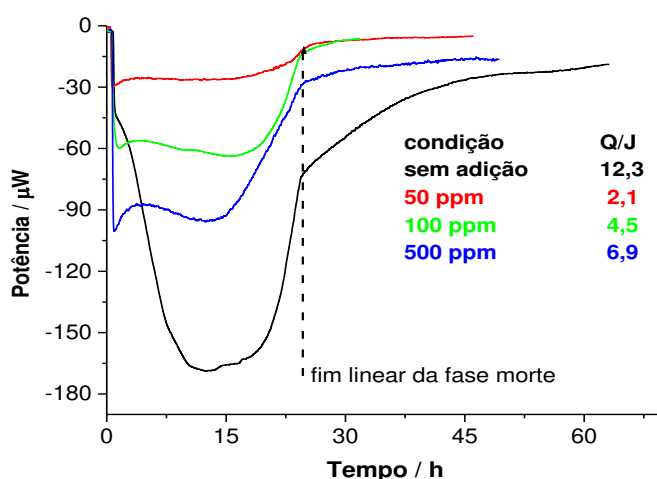


Figura 28. Registros calorimétricos do metabolismo de 1 mg de glicose adicionada 1 mês após a adição de As^{3+} , em diferentes concentrações no solo Unik1(primavera).

O valor de “peak time”, embora pouco claro para a quantidade de 50 ppm de As^{3+} , mostra valores parecidos para as outras condições. Entretanto, essa observação vale somente para os casos em que houve adição do íon, já que o solo em que não houve adição o efeito térmico foi muito mais elevado, 12,3 J.

Outro aspecto relevante é que as curvas apresentam-se com formatos bem parecidos e a fase de morte, que começa após o “peak time”, apresenta-se com uma inclinação quase linear, e essa tendência linear estende-se até um valor de tempo muito parecido. Embora as constantes de crescimento microbiano sejam bem pequenas na adição do arsênio, observa-se que a mesmas aumentam quando se aumenta a quantidade de arsênio adicionado.

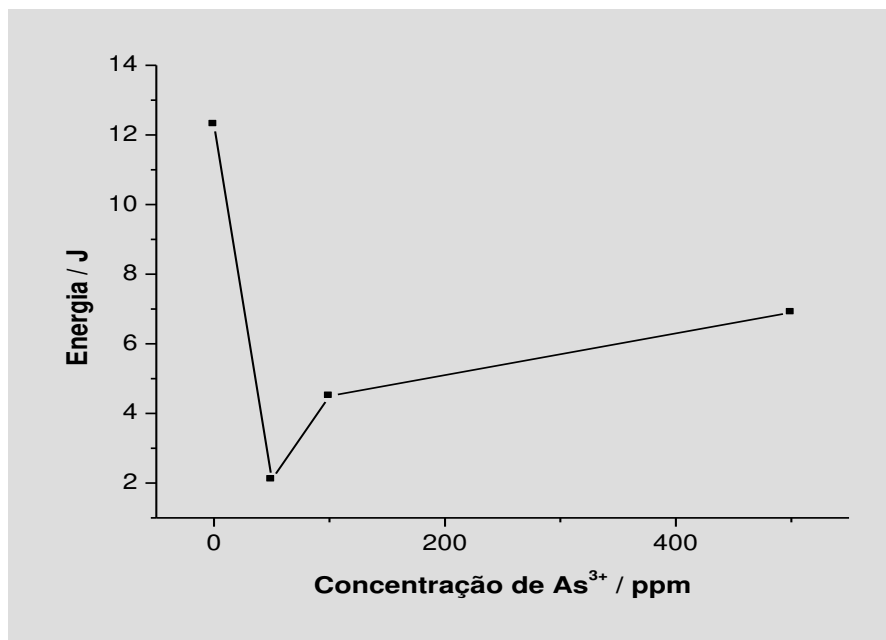


Figura 29. Efeito da concentração de As^{3+} na energia metabólica de 1 mg de glicose para o solo Unik1(primavera).

De acordo com Huang a ação de metais na biota do solo varia bastante. O aumento ou diminuição da biomassa viva depende de muitos fatores como a carga e o tipo de íon, assim como da faixa de concentração. (HUANG ., 2000, TOSZA, 2010, SALMINEN, 1999). Para o caso do arsênio, Zhao e Wang mostram que o As^{3+} pode diminuir a quantidade de microrganismos no solo por efeito tóxico, principalmente de bactérias, em que ocorre um processo de oxidação na bioacumulação. (WANG e ZHAO, 2009). Os autores também comentam que a oxidação do As^{3+} para As^{5+} , que ocorre num tipo de bioacumulação, fornece uma energia extra aos microrganismos, o que pode justificar o aumento da energia com

o aumento da concentração de As^{3+} .

Por outro lado, Nagumo e Ayoama mostram que a adição de Cu^{2+} e ou de Pb^{2+} apresentam um efeito tóxico na biomassa viva do solo, sendo que o Cu^{2+} é muito mais tóxico. Também observaram que o As^{3+} não modificou a biomassa. No entanto, esses dois metais tornaram a relação C:N maior, o que significa que esses íons foram mais tóxicos para bactérias do que para fungos. Um segundo resultado desse trabalho, mostra que a taxa de respiração diminuiu na presença de Cu^{2+} e Pb^{2+} , mas permaneceu inalterada para o caso do As^{3+} . (AYOAMA e NAGUMO, 1997b)

No caso desse nosso estudo, a partir da calorimetria, observamos que a adição de As^{3+} diminui a formação de CO_2 (menor valor de energia metabólica), quando comparado com a condição sem adição, entretanto a diminuição é inversamente proporcional à quantidade adicionada de As^{3+} . É importante observar os valores de energia nas Figuras 28 e 29, que aumentam com a concentração de As^{3+} , e, como mostrado anteriormente, quanto maior o valor de energia metabólica, maior a eliminação de CO_2 e menor a assimilação da matéria orgânica. WILKE (1987) encontrou que concentrações de arsênio de até 10 mg g^{-1} em diferentes solos e horizontes de areia, geralmente estimulam evolução de CO_2 nos três primeiros dias, como foi visto em nosso caso, mas um período de incubação mais longo mostrou inibição na evolução de CO_2 , como no nosso caso, em que a liberação de energia diminuiu com o aumento de pré-contato do arsênio com o solo.

4.9.6. Efeito da adição de clorimurom no solo Pak.

O herbicida clorimurom foi adicionado ao solo Pak a partir de uma solução em acetonitrila. Adicionaram-se 200 μL da solução contendo a quantidade desejada do herbicida purificado. Evaporou-se a acetonitrila deixando o solo sob uma corrente de ar saturada com vapor de água, durante 48 horas. Após esse tempo, adicionaram-se 200 μL de água ou de uma solução contendo 1 miligrama

de glicose e a amostra foi colocada na cela calorimétrica. Os resultados obtidos para a adição só do herbicida, apresentam-se nas Figuras 30, 31 e 32.

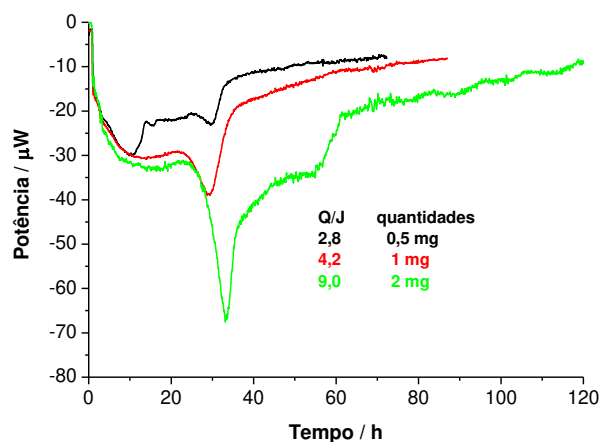


Figura 30. Registros e resultados calorimétricos do metabolismo de diferentes quantidades de clorimurom adicionado a 1 grama do solo Pak.

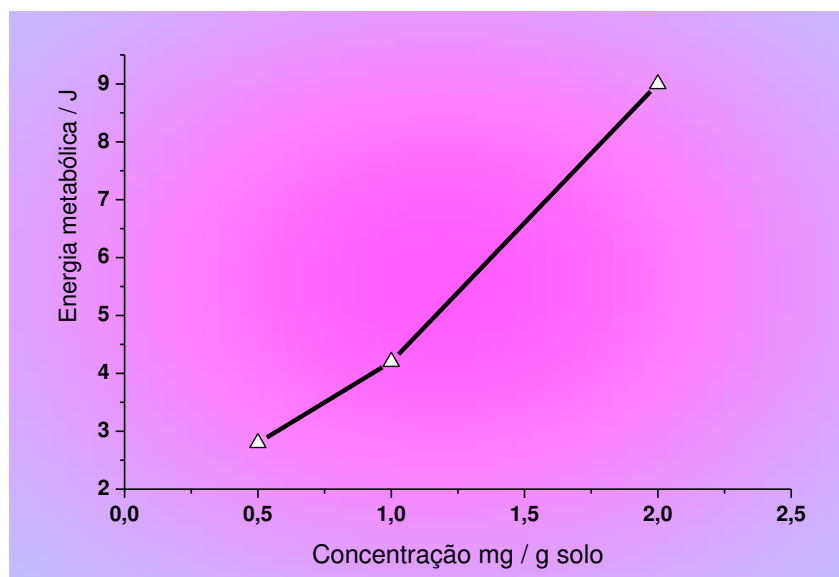


Figura 31. Energia metabólica de clorimurom em função de sua concentração no solo Pak.

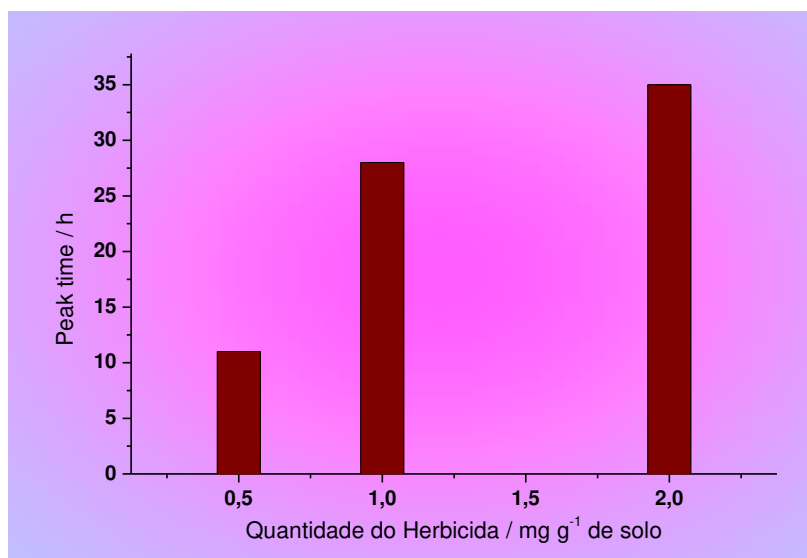


Figura 32. Relação entre “peak time” e a concentração de clorimurom do solo Pak.

Para a adição de glicose observa-se na Figura 33 e 34, um aumento da energia liberada (Q), em relação à glicose sozinha, mas os valores finais de energia liberada são aproximadamente constantes.

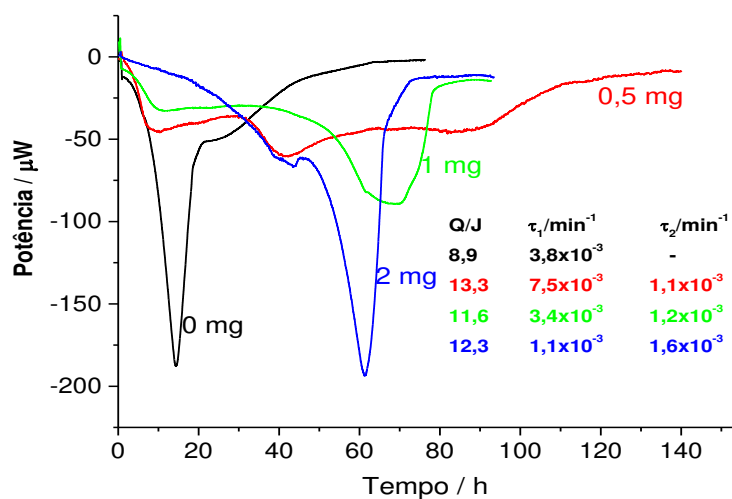


Figura 33. Registros calorimétricos do metabolismo de 1 mg glicose adicionada a 1 grama do solo do Paquistão, Pak, com adição prévia de clorimurom puro em diferentes quantidades.

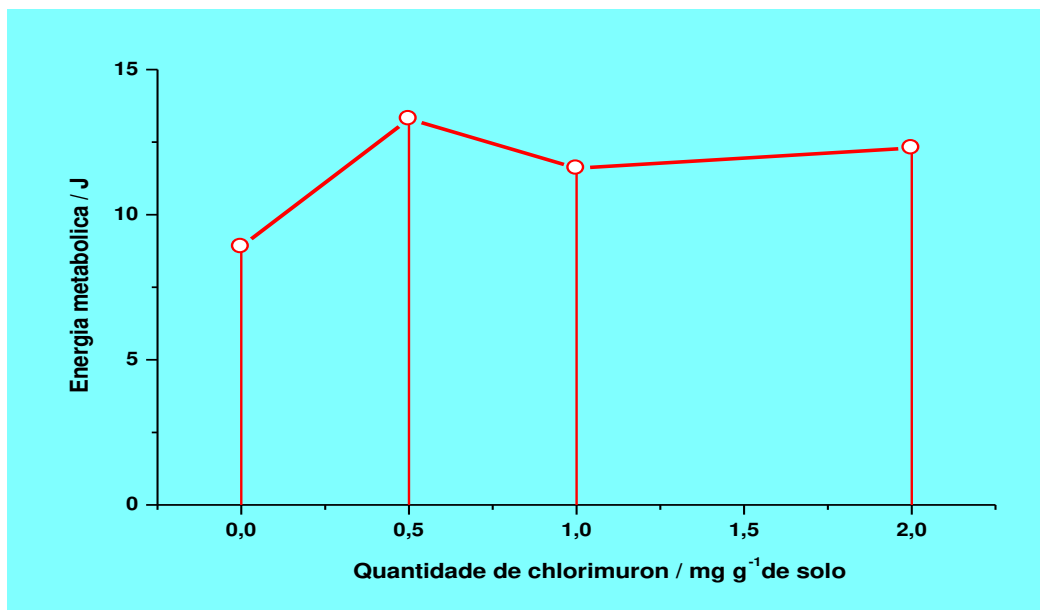


Figura 34. Quantidade de clorimuron versus energia metabólica de glicose no solo Pak.

As curvas com adição do clorimuron mostram-se diferentes da curva para a glicose sozinha. Podem-se distinguir dois crescimentos microbianos distintos. O primeiro deles começa ao mesmo tempo para todos os casos, dando a impressão de que se tratam da degradação de glicose; quanto maior a adição de herbicida, menor é a constante de crescimento microbiano (Figura 35). No entanto, todas as curvas, em que se adicionou o herbicida, apresentam um segundo crescimento que se inicia por volta de quarenta horas após a adição de glicose, e que apresentam constantes de crescimento microbiano que são maiores quanto maior é a adição de herbicida.

Uma possível interpretação para esses fatos pode indicar que a presença do herbicida estaria inibindo a degradação inicial da glicose, com uma diminuição do crescimento microbiano e após a adaptação, os microorganismos passam a consumir o herbicida e aí, quanto maior a disponibilidade desse herbicida, maior o crescimento microbiano em velocidade e também em número, já que o “peak time” atinge maiores valores de potência quanto maior a quantidade de herbicida. Nesse

caso não se pode discutir sobre os valores de eficiência do metabolismo microbiano, uma vez que há duas fontes distintas de carbono e isso dificulta a análise. No entanto, é importante ressaltar que a adição do herbicida 1 provocou um aumento da energia catabolizada e isso representa um aporte maior de CO_2 à atmosfera.

4.9.7. Estudo do efeito da adição de metsulfurom no solo Pak.

O herbicida metsulfurom purificado é metabolizado pelo solo, mas a energia liberada é bem pequena, o que significa que os metabólitos são muito complexos ou que somente parte foi metabolizada. A Figura 36 e 37 também mostram que quanto maior a quantidade de herbicida adicionado, menor é o efeito térmico, o que pode significar que essa substância, de alguma forma, elimina parte dos microorganismos do solo.

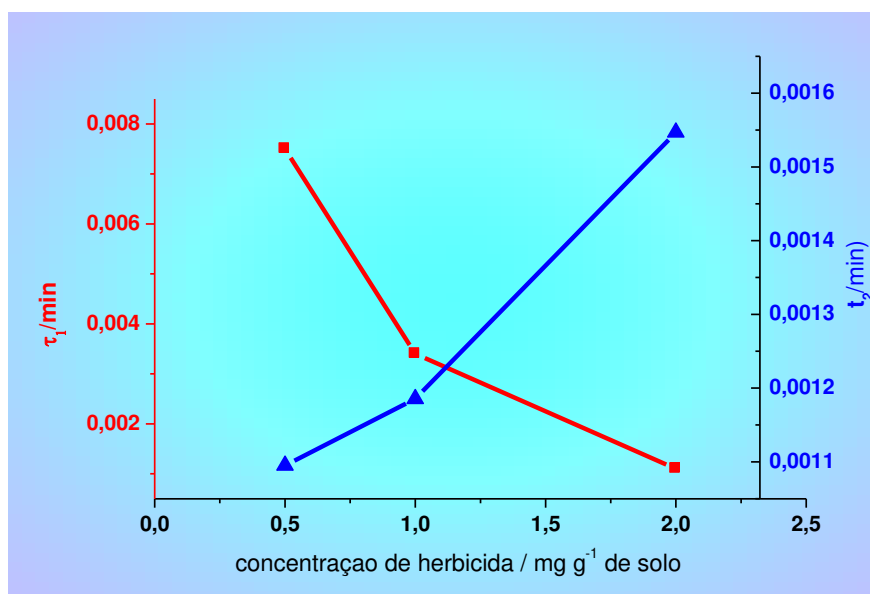


Figura 35. Relação entre a 1ª e 2ª constantes crescimentos no metabolismo de glicose e clorimurom para o solo Pak.

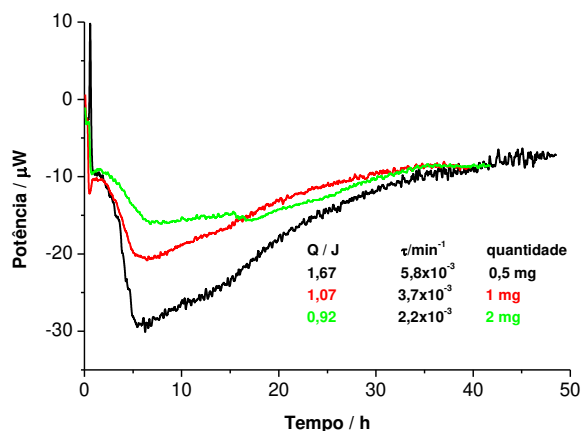


Figura 36. Registros calorimétricos do metabolismo de diferentes quantidades de metsulfurom adicionado a 1 grama do solo Pak.

A Figura 36 mostra que o “peak time” não muda para diferentes concentrações de metsulfurom, aproximadamente 5 horas, sendo que a constante de crescimento, assim como se observa para a energia metabólica, apresenta uma relação inversa com concentração do herbicida. O tempo de 50 horas para a curva calorimétrica voltar a registrar o valor de sinal inicial dá uma idéia da cinética de degradação desse herbicida no solo. Entretanto, essa análise deve ser cautelosa, pois há mecanismos de degradação cinética desse herbicida no solo e também, o baixo valor de energia registrado, em torno de 1 J, indica que a degradação não completa ou que somente uma parte do herbicida colocado sofreu essa decomposição.

Uma discussão mais criteriosa iria requerer uma análise química dos resíduos e também o conhecimento da energia de formação da substância, dado que não foi encontrado na literatura.

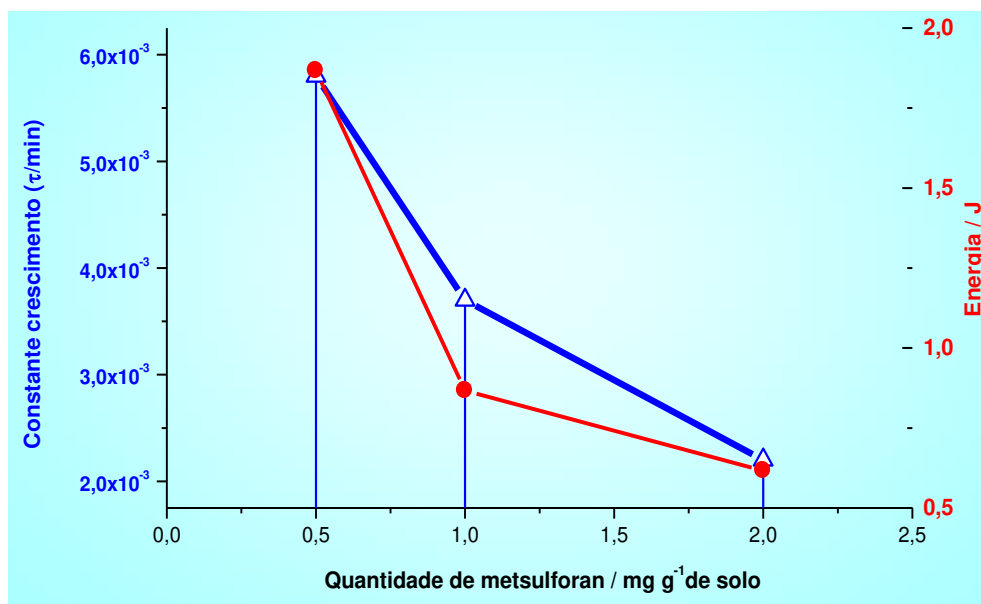


Figura 37. Efeito da quantidade de metsulfurom na energia metabólica e na constante de crescimento microbiano no solo Pak.

As Figuras 38 e 39 mostram que, quando se adiciona glicose após a adição do metsulfurom, ocorre um aumento do efeito térmico e, da mesma forma que na adição simples do metsulfurom, quanto maior a concentração do herbicida, menor é o efeito térmico total, entretanto esse efeito sempre é maior que no caso da glicose sozinha.

Também se observa na Figura 38 que aparecem dois picos distintos nos registros calorimétricos em que se adicionaram o herbicida. Os dois picos são muito semelhantes para os experimentos em que há herbicida e ocorrem com valores máximos muito semelhantes.

O primeiro “peak time” ocorre por volta de 28 horas, em contraste com o caso da glicose sozinha que ocorre por volta de 14 horas. O segundo pico apresenta um valor de “peak time” entre 62 e 68 horas. Como no caso do herbicida 2 com o mesmo solo, a parte inicial da fase de crescimento microbiano, que corresponde ao intervalo entre 30 minutos e quatro horas, apresenta uma cinética parecida ao crescimento somente com glicose, no entanto, após essas

quatro horas, aparece uma outra fase de latência e um novo crescimento microbiano, agora com uma constante de crescimento menor.

Além disso, observando-se as Figuras 36 e 38, vê-se que o período de fase de latência, antes do primeiro pico de degradação, fica muito mais demorado, quando comparado às adições separadas de glicose e metsulfurom.

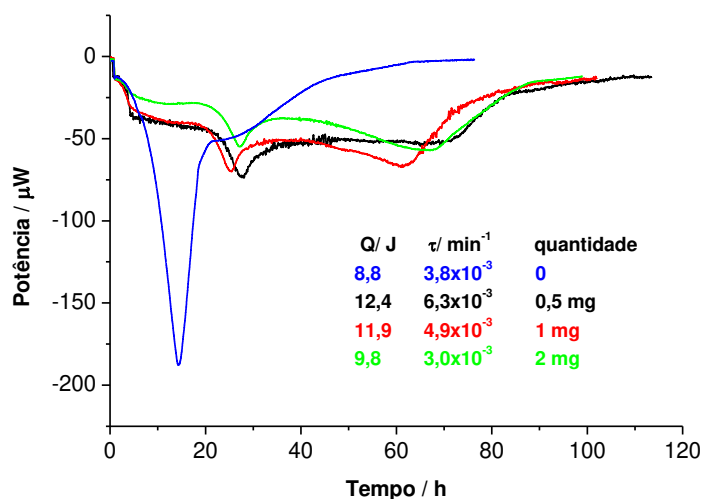


Figura 38. Registros calorimétricos do metabolismo de 1 miligrama de glicose adicionada a 1 grama do solo Pak, com adição prévia de diferentes quantidades de metsulfurom.

O primeiro pico que aparece tem uma energia bem pequena (não calculada nesse texto), que termina sem voltar à linha base inicial. Após esse primeiro pico, aparece um segundo pico, agora de “peak time” maior que o primeiro (mais demorado) em todos os aspectos, terminando com um retorno do sistema à linha base inicial, o que se caracterizaria como a verdadeira fase de morte no caso da adição do metsulfurom. A discussão mais profunda das curvas registradas poderá ser feita baseando-se em outros tipos de análise, talvez microbiológicas.

Considerando-se apenas as energias do metabolismo individual de glicose e do metsulfurom, é possível observar que a energia total foi maior no caso da

adição conjunta, quando comparado á soma dos valores de energia para adições separadas. Isso pode significar um maior catabolismo da glicose e uma consequente maior emissão de CO₂ ou um cometabolismo glicose/ metsulfurom.

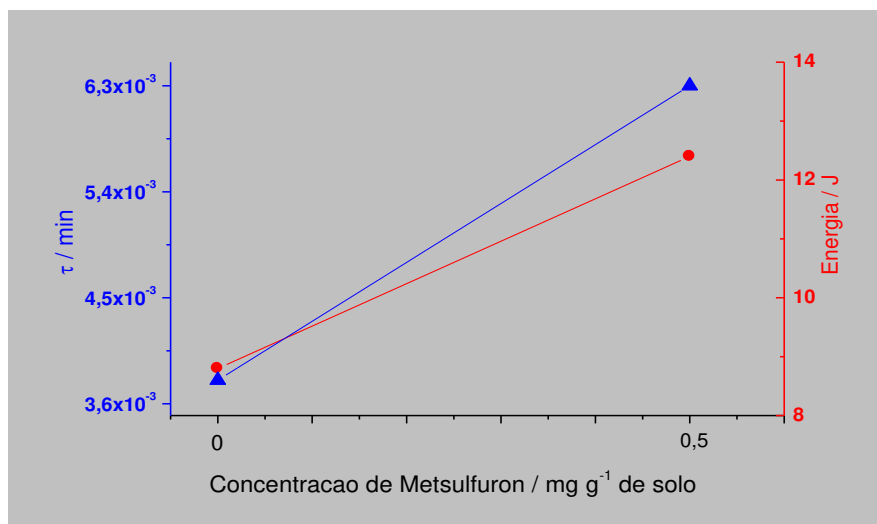


Figura 39. Efeito de metsulfurom no metabolismo de glicose no solo Pak.

As Figuras 39 e 40 também mostram uma correlação inversa entre os valores de constante de crescimento microbiano (τ) e energia metabólica com a concentração de metsulfurom.

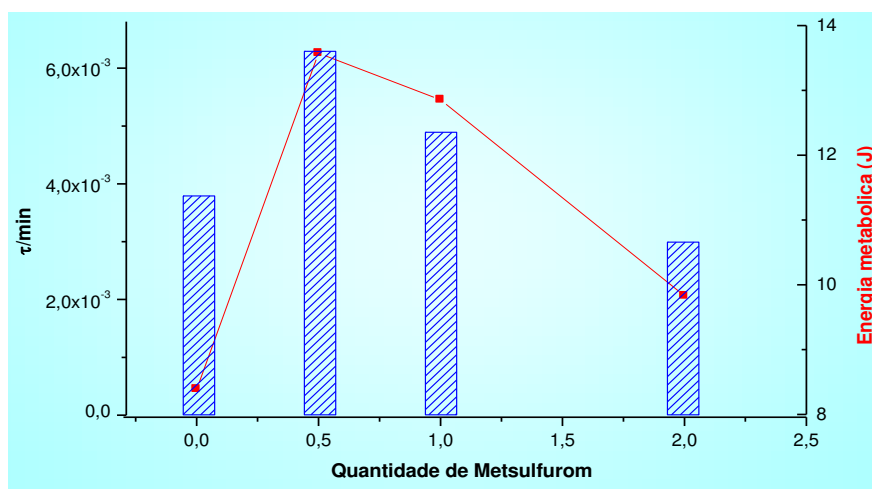


Figura 40. Efeito da concentração de metsulfurom na constante de crescimento e na energia metabólica na degradação de 1 miligrama de glicose, após adição de

diferentes quantidades de metsulfurom ao solo Pak.

Numa comparação mais clara (Figura 41), observa-se que a energia metabólica para clorimuirom aumenta com o aumento da quantidade adicionada de herbicida, enquanto que um comportamento inverso se observa no caso do metsulfurom. O tempo de meia vida desse tipo de herbicida no solo, em condições de laboratório gira em torno de 6 dias (Regitano e Koskinen, 2008), entretanto há diferenças nesse comportamento. Além do que se observa na Figura 41, quando se comparam a Figura 30 (clorimuirom) e a Figura 37 (metsulfurom), observa-se que a degradação do metsulfurom ocorre em aproximadamente 40 horas, enquanto que a do clorimuirom leva o dobro disso. No entanto, quando da adição concomitante de cada um dos herbicidas com a glicose, os eventos térmicos terminam, aproximadamente no mesmo tempo, 80 horas.

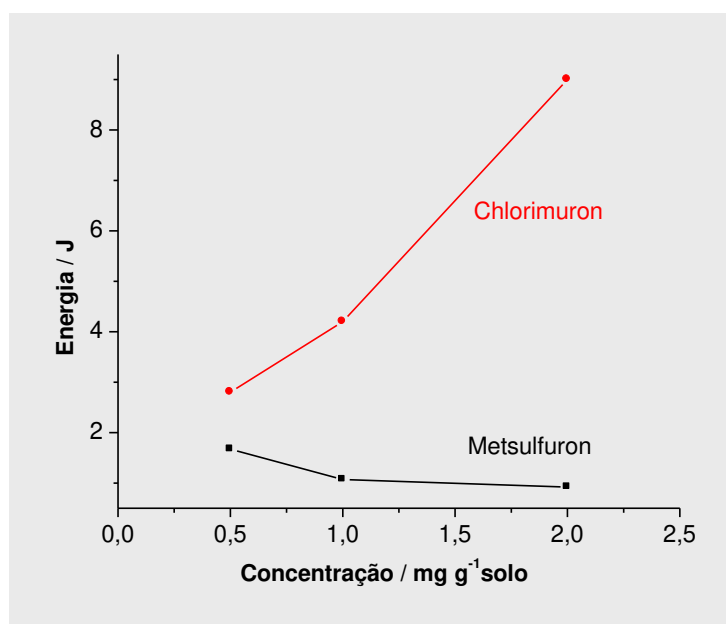


Figura 41. Metabolismo de metsulfurom e clorimuirom no solo Pak.

4.9.8. Estudo do efeito da adição de clorimuirom no solo Unik1(primavera).

A Figura 42 mostra o registro calorimétrico ou o crescimento microbiano do solo Unik1(primavera) na presença do clorimuirom purificado. As curvas para

diferentes quantidades de herbicida mostram-se com poucos aspectos semelhantes, exceto pela primeira parte do crescimento microbiano que começa por volta de 1 hora e se encerra por volta de 20 horas. Nessa fase as constantes de crescimento microbiano são bastante semelhantes numericamente e as curvas apresentam perfis, também muito semelhantes. Depois disso, a única semelhança entre as curvas diz respeito aos valores de efeito térmico, variando de 15,6 J para 0,5 mg do herbicida para 16,8 J para 2 mg. O aspecto bastante irregular das curvas pode indicar diferenças de adaptação dos diversos tipos de microorganismos presentes no solo ou as diversas fases de um metabolismo em várias etapas.

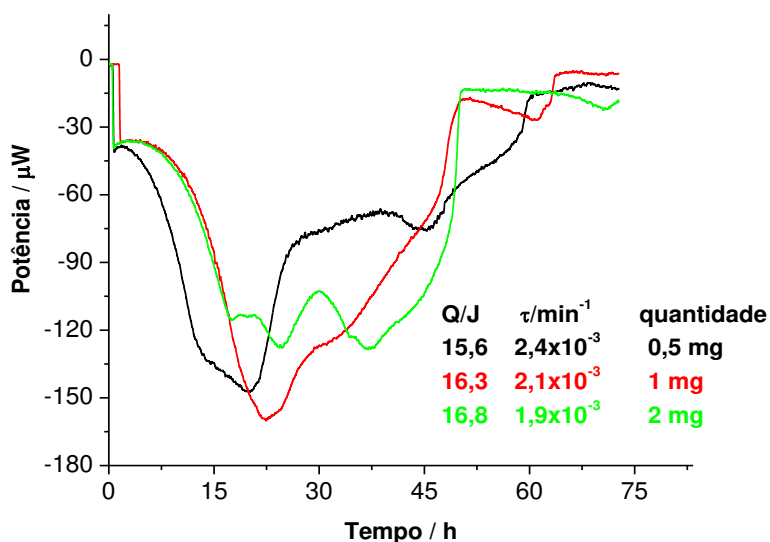


Figura 42. Registros e resultados calorimétricos do metabolismo de 1 miligrama de glicose em presença de diferentes quantidades de clorimuirom para o solo Unik1 (primavera).

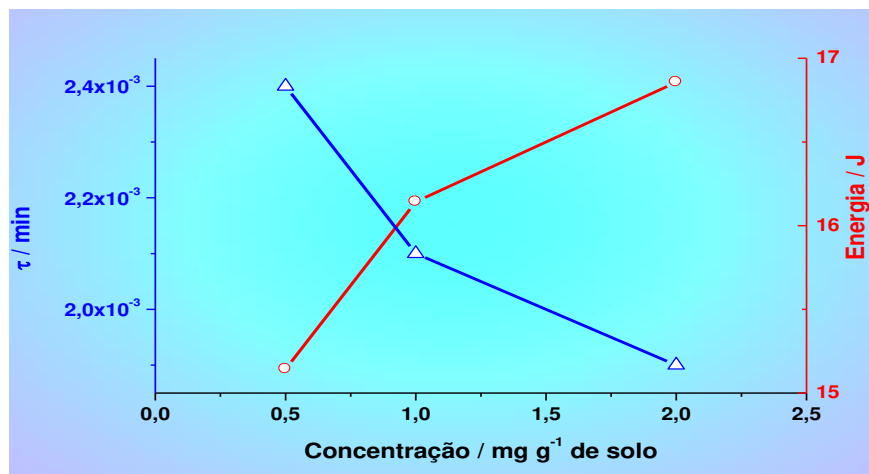


Figura 43. Energia e constante de crescimento microbiano em função da concentração de clorimurrom no solo Unik1 (primavera).

A Figura 44 mostra que a adição do clorimurrom faz aumentar o efeito térmico observado para a glicose sozinha, mas está longe de ser uma soma simples dos dois efeitos térmicos isoladamente. Em outras palavras, os microorganismos comportam-se de maneira distinta em relação a essas duas substâncias, quando separadas e em conjunto. Observa-se um efeito térmico em torno de 11 J para a glicose sozinha e em torno de 16 J com a presença do herbicida 2. O que também se observa, é um aumento do valor de “peak time”, que para a glicose sozinha era de cerca de 10 horas, passando para cerca de 26 horas, em média, quando há as duas substâncias. No caso desse herbicida não se pode discutir, com segurança, a sua influência no metabolismo da glicose, uma vez que o metabolismo do herbicida sozinho fornece uma energia comparável à do processo com as duas substâncias.

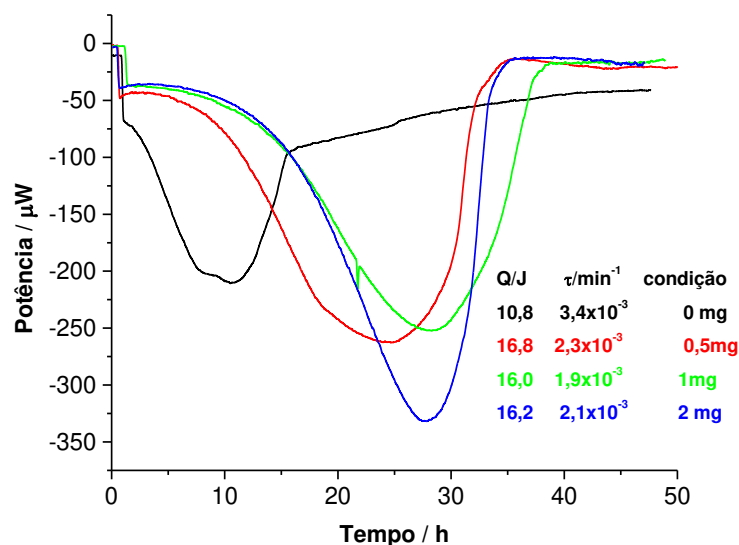


Figura 44. Registros e resultados calorimétricos do metabolismo de 1 mg glicose adicionada a 1 grama do solo Unik1(primavera), com adição prévia de clorimurômetro puro em diferentes quantidades.

4.9.9. Estudo do efeito da adição de metsulfurom no solo Unik1(primavera).

A Figura 45 mostra o registro calorimétrico e os resultados de energia metabólica e crescimento microbiano no solo Unik1(primavera) na presença de metsulfurom. Semelhante ao caso desse herbicida com o solo Pak, os efeitos térmicos observados guardam uma proporção inversa em relação às quantidades adicionadas; quanto maior a adição, menor o efeito térmico. Da mesma forma, isso pode significar algum mecanismo de adaptação dos microorganismos do solo, podendo corresponder à morte de alguns tipos de microorganismos e uma metabolização por parte dos restantes. A constante de crescimento microbiano também guarda uma relação inversa com a quantidade adicionada, assim como o valor de “peak time” e a assimilação de matéria orgânica como matéria viva.

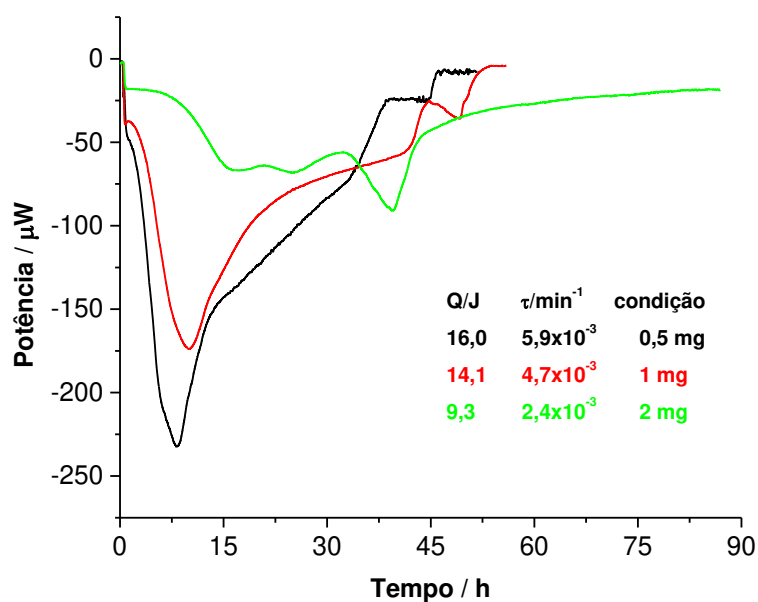


Figura 45. Registros e resultados calorimétricos do metabolismo 1 miligrama de glicose após aplicação de diferentes quantidades de metsulfurom no solo Unik1 (primavera).

Quando se adicionam conjuntamente a glicose e o herbicida (Figura 46), o comportamento se assemelha ao comportamento com o clorimuirom, no que diz respeito ao efeito térmico. Há um aumento do efeito térmico, no entanto o valor de energia não se parece com a soma simples dos efeitos energéticos isolados.

Por outro lado, como o crescimento microbiano foi muito rápido na presença do metsulfurom sozinho, o crescimento microbiano na presença das duas substâncias também foi rápido, sendo o “peak time” atingido em tempo semelhante ao da glicose sozinha.

O crescimento microbiano é acelerado na presença do metsulfurom em relação à glicose sozinha, no entanto, o aumento da concentração tem efeito inverso na constante, chegando-se ao ponto em que a adição de 2 miligramas do herbicida faz a constante de crescimento tornar-se igual ao da glicose sozinha. Há que se acrescentar que a adição de 2 mg do herbicida levou a um atraso do “peak

time” e também em uma mudança na curva calorimétrica registrada.

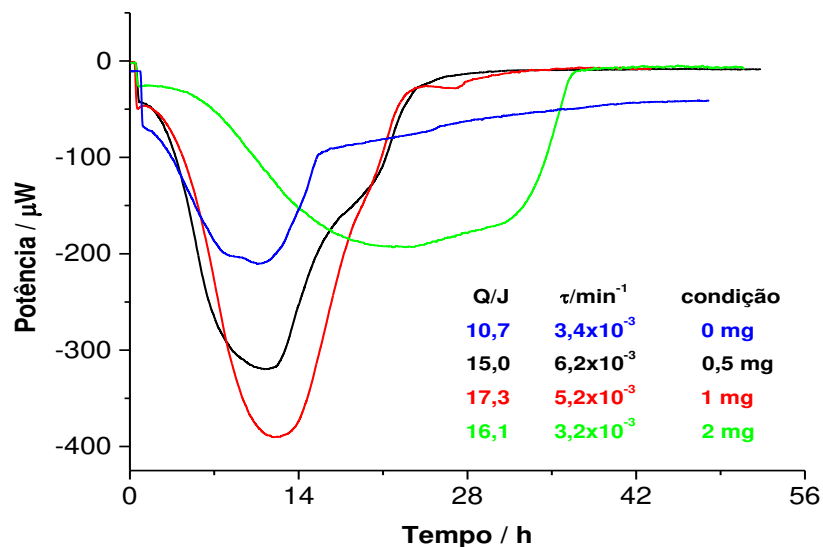


Figura 46. Registros e resultados calorimétricos do metabolismo de 1 miligrama de glicose adicionada a 1 grama do solo Unik1(primavera), com adição prévia de metsulfurom puro em diferentes quantidades.

4.9.10. Efeito da adição de clorimurom no solo Lebra.

Os resultados da adição de somente clorimurom puro, ao solo Lebra, conforme se vê na Figura 47 e a Tabela 21, mostram uma relação inversa entre energia metabólica e quantidade adicionada de herbicida, quanto maior a quantidade, menor o efeito térmico. Como para o solo Pak, os efeitos térmicos para a adição do clorimurom no solo Lebra, são muito pequenos evidenciando uma baixa metabolização ou então um alto anabolismo. Como não se trata de um substrato comum, seria arriscado falar em eficiência de metabolismo pois, além de não se conhecer, no momento, a entalpia de formação ou a de combustão do clorimurom, também não é prudente equacionar o metabolismo dessa substância no solo, como uma combustão total.

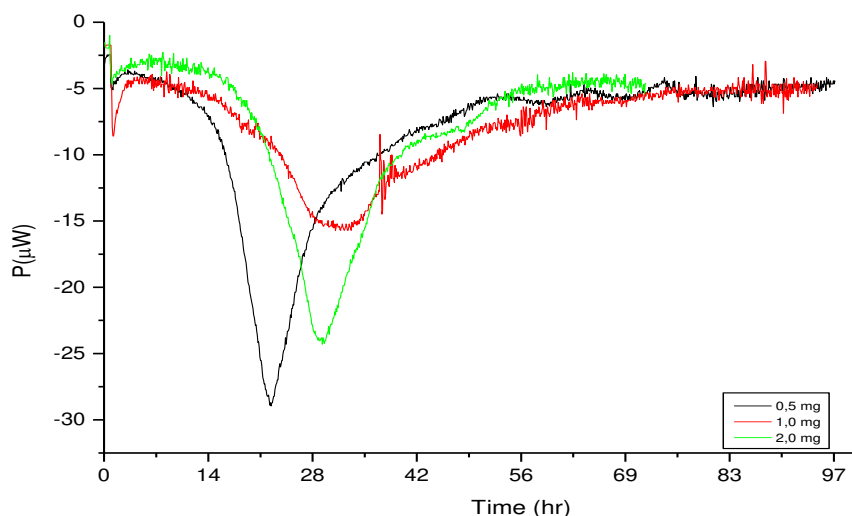


Figura 47. Registros calorimétricos do metabolismo de diferentes quantidades de clorimurum adicionado a 1 grama do solo Lebra.

Tabela 21. Resultados calorimétricos do metabolismo de diferentes quantidades de clorimurum adicionado a 1 grama do solo Lebra.

Dado	0,5mg	1,0mg	2,0mg
$Q / J g^{-1}$	1,6	1,4	1,2
P_T / h	22	27	26
$k / 10^{-3} min^{-1}$	4,1	1,1	2,3

A cinética do metabolismo mostra um valor de “peak time” em torno de 25 horas, valor parecido ao do solo Pak (30 horas) e bem parecido ao solo Unik1(primavera) (23 horas).

O formato das curvas nesse caso, no entanto, é diferente para esse mesmo herbicida, quando colocado nos solos Unik1(primavera) e Pak. Aqui as curvas são bem definidas, com apenas um “peak time”, mas com um patamar bem longo na fase de latência, um resultado que se parece mais com o do solo Pak, em termos de duração, do que com o solo Unik1(primavera), embora a potência na fase de latência, no caso do solo Lebra, seja muito pequena (5 μW), comparada às dos

solos Pak (35 μW) e Unik (40 μW).

Em relação às constantes de crescimento microbiano os valores são compatíveis com as dos solos Unik1(primavera) e Pak, ficando em torno de 10^{-3} min^{-1} .

Com a adição de glicose, após a adição do clorimurom (Figura 48), observa-se um grande aumento da energia metabólica (Tabela 22), atingindo valores em torno de 10 J, um valor bem mais alto que para a adição simples de glicose (6,5 J). Esse resultado de energia metabólica indica uma contribuição bem significativa na emissão de CO_2 com a adição do clorimurom nesse tipo de solo. Isso também ocorreu para os solos Pak e Unik1(primavera). Entretanto, como no caso dos outros solos, para o solo Lebra também não se pode afirmar se ocorre um cometabolismo: clorimurom/glicose, ou somente um aumento do catabolismo da glicose, provocado pelo clorimurom.

Os valores de “peak time” sofreram um aumento significativo, passando de 25 horas para a simples adição de glicose para cerca de 45 horas com a adição prévia de clorimurom. No entanto, a constante de crescimento microbiano na fase exponencial ficou na ordem de 10^{-3} min^{-1} , um valor parecido ao da adição simples de glicose.

Outro aspecto interessante é que o solo Lebra apresenta uma fase de latência de grande extensão, cerca de 12 horas, qualquer que seja a condição de análise, com ou sem clorimurom e, como os valores de “peak time” são parecidos, conclui-se que a fase de crescimento tornou-se mais longa. No entanto, esse alongamento da fase de crescimento não levou a uma menor constante de crescimento pois houve um metabolismo mais acentuado dos substratos adicionados, glicose e clorimurom.

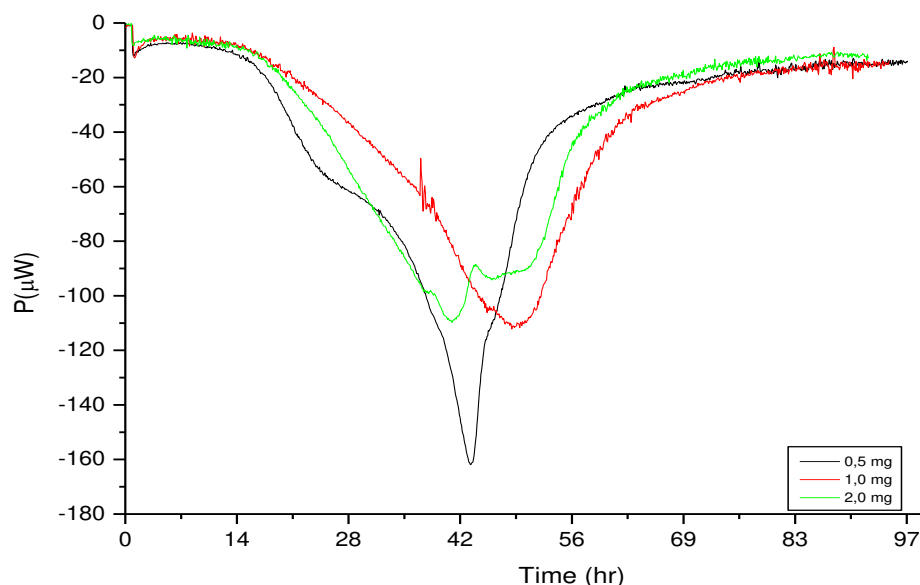


Figura 48. Registros calorimétricos do metabolismo de 1 miligrama de glicose adicionada a 1 grama do solo Lebra, com adição prévia de clorimurom puro em diferentes quantidades.

Tabela 22. Resultados de calorimetria do metabolismo de 1 miligrama de glicose adicionada a 1 grama do solo Lebra, com adição prévia de clorimurom puro em diferentes quantidades (mg g^{-1} de solo).

Dado	0 mg	0,5 mg	1 mg	2 mg
$Q / \text{J g}^{-1}$	6,5	8,5	10,0	10,4
P_T / h	25	43	48	42
$k / 10^{-3} \text{min}^{-1}$	2,2	3,3	1,5	1,9

6.9.11. Efeito da adição do metsulfurom no solo Lebra.

O registro calorimétrico da atividade microbiana do solo Lebra na adição de metsulfurom (Figura 49) mostra curvas com aspectos distintos, porém com resultados numéricos bem próximos. O valor de “peak time” fica entre 28 e 40 horas e a energia metabólica, em torno de 1,5 J, constante para as diferentes quantidades adicionadas de herbicida. O valor de “peak time” foi bem diferente (maior) que para os solos Unik1 (primavera) e Pak, porém a energia metabólica foi

baixa e parecida com a do solo Pak (~1,2 J) e muito diferente do que a do solo Unik (entre 9 e 16 J). Como os solos Pak e Lebra são de cultura de algodão, a população microbiana desses solos deve ser diferente, qualitativamente, da população do solo Unik que é de mata original. A análise microbiológica foi feita somente para fungos e bactérias e não mostram valores significativamente diferentes (entre 5 e 8 10^{-4} ufc g⁻¹), então é de se concluir que o solo Unik deva ter uma quantidade maior de fungos ou sua população bacteriana tenha um espectro diferente dos outros solos.

Outro aspecto a comentar é que os valores de “peak time” não se modificaram muito na presença do herbicida, mostrando valores entre 28 e 40 horas, enquanto que sem a adição esse valor foi de cerca de 28 horas.

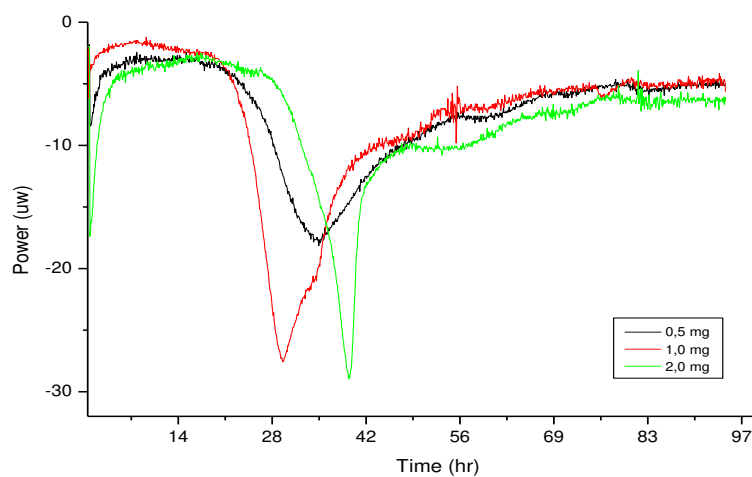


Figura 49. Registros calorimétricos do metabolismo de diferentes quantidades de metsulfurom adicionado a 1 grama do solo Lebra.

As constantes de crescimento microbiano do solo Lebra, no caso do herbicida metsulfurom (Tabela 23), mostram valores na ordem de grandeza de 10^{-3} min⁻¹, como para os solos Unik1(primavera) e Pak.

Tabela 23. Resultados calorimétricos do metabolismo de diferentes quantidades de metsulfurom adicionado a 1 grama do solo Lebra.

Dado	0,5 mg	1 mg	2 mg
$Q / J g^{-1}$	1,3	1,5	1,5
P_T / h	29	26	40
$k / 10^{-3} min^{-1}$	2,5	4,7	2,5

Com a adição de glicose, após a adição do metsulfurom (Figura 50), observa-se um grande aumento da energia metabólica (Tabela 24), atingindo valores em torno de 9 J, um valor bem mais alto que para a adição simples de glicose (6,5 J). Esse resultado de energia metabólica indica uma contribuição bem significativa na emissão de CO_2 com a adição do metsulfurom nesse tipo de solo. Isso também ocorreu para os solos Pak e Unik1(primavera), em que a adição concomitante de glicose com o metsulfurom acarretou num aumento de cerca de 30% na energia metabólica. Os valores de energia foram bem maiores que a soma das energias nas adições em separado, glicose e herbicida, entretanto, , para o solo Lebra, assim como para os outros solos, também não se pode afirmar se ocorre um cometabolismo: metsulfurom/glicose, ou somente um aumento do catabolismo da glicose, provocado pelo metsulfurom.

Os valores de “peak time” (Tabela 24, Figura 50) sofreram um aumento significativo, passando de 25 horas para a simples adição de glicose para cerca de 49 horas com a adição prévia de metsulfurom. Também se observa um ombro anterior ao “peak time” nas curvas calorimétricas com a adição do herbicida, mais pronunciado com a adição de 1 mg. Mas que também aparece discretamente nos outros registros para difere nets quantidades. Por outro lado, a constante de crescimento microbiano na fase exponencial ficou na ordem de $10^{-3} min^{-1}$, um valor parecido ao da adição simples de glicose.

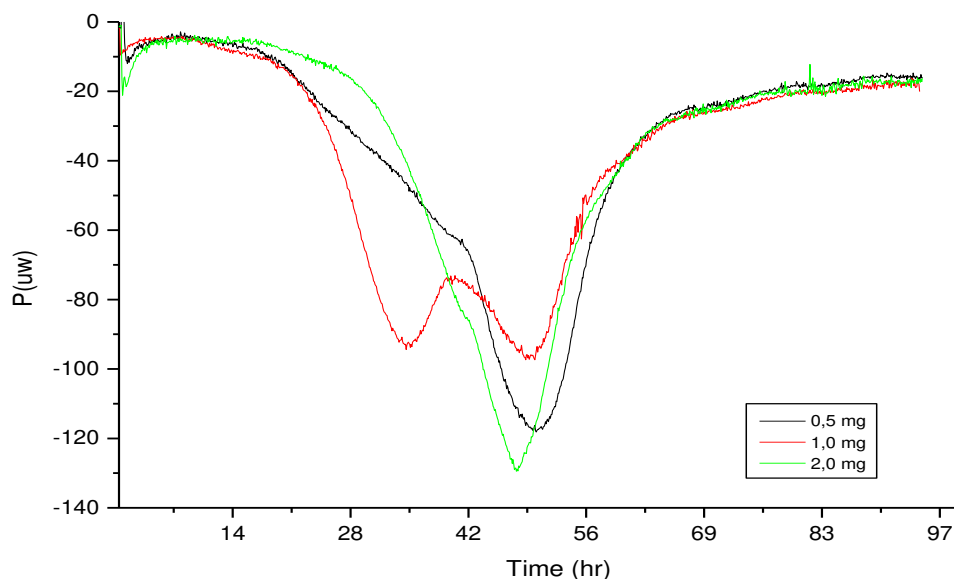


Figura 50. Registros calorimétricos do metabolismo de 1 mg glicose adicionada a 1 grama do solo Lebra, com adição prévia de metsulfurom puro em diferentes quantidades.

Outro aspecto interessante é que o solo Lebra apresenta uma fase de latência de grande extensão, cerca de 12 horas, qualquer que seja a condição de análise, com ou sem metsulfurom. Por outro lado, aparece uma quebra no ritmo do crescimento microbiano por volta de 35 a 40 horas que não existe na ausência do metsulfurom. Essa quebra coincide, aproximadamente, com o “peak time” do metabolismo do herbicida sozinho.

Tabela 24. Resultados de calorimetria do metabolismo de 1 miligrama de glicose adicionada a 1 grama do solo Lebra, com adição prévia de metsulfurom puro em diferentes quantidades (mg g^{-1} de solo).

Dado	0 mg	0,5 mg	1 mg	2 mg
$Q / \text{J g}^{-1}$	6,5	9,0	9,6	8,9
P_T / h	25	49,5	49	48
$k / 10^{-3} \text{min}^{-1}$	2,2	1,1	2,7	2,2

CONCLUSOES

5. CONCLUSÕES.

- ❖ O tempo de armazenamento provoca mudanças no crescimento microbiano do solo, mas parece que isso é mais significativo a partir de 20 meses. A mudança pareceu ser mais significativa para o solo não cultivado (Unik1(primavera)).
- ❖ A estação de coleta mostrou alguma influência no crescimento microbiano, mas os resultados apontam que a maior influência se deu na constante de velocidade de crescimento dos microorganismos e não na eficiência de metabolização da matéria orgânica.
- ❖ O solo não cultivado (Unik1(primavera)) apresentou uma adaptação muito mais rápida à glicose, mas os solos cultivados: Pak e Lebra foram os que apresentaram maior crescimento microbiano, mas apresentaram um anabolismo menor que o solo não cultivado (Unik1(primavera)).
- ❖ A adição de As^{3+} fez diminuir o efeito térmico associado ao metabolismo, o que significa maior assimilação de matéria orgânica. Entretanto esse aumento foi inversamente proporcional à quantidade adicionada de As^{3+} .
- ❖ O herbicida clorimurom foi mais catabolizado pelo solo Pak, observando-se uma relação direta entre as quantidades catabolizadas (maior efeito térmico) e a adicionadas. No entanto essa relação não se verificou quando da adição de glicose; os efeitos térmicos nesses casos foram sempre maiores que para a glicose sozinha, maior emissão de CO_2 , porém os aumentos não obedeceram a uma ordem específica. O metabolismo foi mais lento na presença de metsulfurom, mas a desaceleração foi inversa à quantidade adicionada.
- ❖ O clorimurom foi catabolizado em menor extensão pelo solo Pak que o methsulfuron, e a assimilação mostrou uma relação direta com a quantidade adicionada. A adição concomitante da glicose e do metsulfurom no solo Pak desacelerou o processo de crescimento microbiano em relação à glicose

sozinha, independentemente da quantidade adicionada. Por outro lado, o efeito térmico resultante da adição concomitante do herbicida e da glicose foi maior do que para a adição simples de glicose, porém, com a adição, há uma relação inversa entre a quantidade de metsulfurom adicionado e o valor do efeito térmico.

- ❖ Os dois herbicidas foram bem catabolizados pelo solo Unik1(primavera), sendo que o metsulfurom mostrou um efeito térmico menor com o aumento da quantidade adicionada de herbicida. Os efeitos térmicos com a adição concomitante de cada um dos herbicidas com glicose foram mais elevados que para a glicose sozinha, mas os valores não foram a soma simples dos efeitos térmicos individuais.
- ❖ De um modo geral a adição dos herbicidas provocou um aumento na produção de CO₂, mas a presença do nitrogênio nessas substâncias contribuiu para que houvesse uma maior assimilação da matéria orgânica.

REFERENCIAS

6. REFERÊNCIAS.

- ACCOE, F.; BOECKX, P.; BUSSCHAERT, J.; *Soil Biology and Biochemistry*, **2004**, 36, 2075-2087
- ADU, J.K.; OADES, J.M.; *Soil Biology and Biochemistry*. **1978**, 10, 109-115
- AITA, C.; GIACOMINI, S.J.; & HUBNER, A.P.; Nitrificação do nitrogênio amoniacal de dejetos líquidos de suínos em solo sob sistema de plantio direto. *Pesq. Agropec. Bras.* **2007**, 42, 95-102
- AIROLDI, C.; *Química Nova*. **1998**, 21, 635-641
- AIROLDI, C.; BARROS, N.; CRITTER, S. A. M.; FEIJÓO, S.; SIMONI, J. A.; *J. Therm. Anal. Cal.* **2001**, 63, 577.
- ALEF, K.; Estimation of soil respiration. In *Methods in Soil Microbiology and Biochemistry*, Academic Press: New York, NY, USA, , pp. 464-470, 1995.
- ALEXANDER, M.; "Soil Microbiology", John Wiley & Sons, New York, 1961
- AUSMUS, B. S.; DODSON, G. J.; AND JACKSON, D. R.; *Water, Air, and Soil Pollut.* **1978**, 10, 19
- AOYAMA, M.; AND NAGUMO, T.; Comparison of the effects of Cu, Pb, and As on plant residue decomposition, microbial biomass, and soil respiration. *Soil Sci. Plant Nutr.* **1997b**, 43, 613-622
- BARJA, M. I.; PROUPIN, J.; NUNEZ, L.; *Thermochimica Acta*. **1997**, 303, 155-159
- BARKER, A.V.; AND BRYSON, G.M.; Bioremediation of heavy metals and organic toxicants by composting. *The Scientific World Journal*, **2002**, 407-420.
- BARROS, N.; ORELLANA, I.G.; FEIJOO, S.; Balsa, R.; *Thermochemica Acta*. **1995**, 249, 161-168
- BARROS, S.; FEIJOO, S.; ARID Balsa, R.; Comparative study of the microbial activity in different soils by the microcalori metric method. *Thermochimica Acta*. **1997**, 296(1-2), 53-58.
- BARROS, N.; FEIJÓO, S.; SALGADO J.; *Thermochimica Acta*. **2007**, 458, 11-17.
- BARROS, N.; GALLEGU, M.; FEIJÓO, S.; *Thermochimica Acta*. **2007**, 458, 18-22.

BATTLE, E. H.; The thermodynamics of microbial growth, in Handbook of Thermal Analysis and Calorimetry, Vol. 4, From Macromolecules to Man, Kemp, R.B., Elsevier, pp. 219-266, 1999.

BIRKELAND.; PETER, W.; Soils and Geomorphology, 3rd Edition. New York: Oxford University Press, 1999

BLAIR, P.C.; THOMPSON, M.B.; BECHTOLD, M.; WILSON, R.E.; MOORMAN, FOWLER, B.A.; Evidence for oxidative damage to red blood cells in mice induced by arsine gas. *Toxicology*. **1990**, 63, 25-34

BOLSTER, M.W.G.; (1997). International Union of Pure and Applied Chemistry. Retrieved 2007-10-30

BOND, H.; LIGHTHART, R.; SHIMABUKU, R.; RUSSEL, L.: *Soil Sci*. **1976**, 121, 278

BOSSIO, D.A.; SCOW, K.M.; GUNAPALA, N.; GRAHAM, K.J.; *Microb Ecol*. **1998**, 36, 1

BRADY, N. C.; WEIL, R. R.; "The Nature and Properties of Soils", Prentice Hall, 13a.edição, Upper Saddle River, NJ, 2002

BRENDECKE, J.; ALEXSON, R.D.; PEPPER, I.L.; Soil microbial activity as an indicator of soil fertility: long-term effects of municipal sewage sludge on an arid soil. *Soil Biol. Biochem*. **1993**, 25, 751-758

BROWN, H.M.; Mode of action, crop selectivity, and soil relations of the sulfonylurea herbicides. *Pestic Sci*, **1990**, 29:263–281

BROWN, R. B.; "Soil Texture". Fact Sheet SL-29. University of Florida, Institute of Food and Agricultural Sciences. Retrieved 2008-07-08, 2003.

BROUGHTON, L.C.; GROSS, K.L.; *Oecologia*. **2000**, 125:420–42

BUCHET, J.P.; LAUWERYS, R.; Evaluation of exposure to inorganic arsenic in man. In: Analytical Techniques for Heavy Metals in Biological Fluids, pp. 75-89. Elsevier. Amsterdam, 1981.

CERVANTES, C.; JI, G.; RAMIREZ, J.L.; SILVER, S.; Resistance to arsenic compounds in micro organisms. *FEMS Microbiol Rev*. **1994**, 15, 355

CHANEY, W. R.; KELLY, J. M.; AND STRICKLAND, R. C.; *J. Environ. Qual.* **1978**, 7, 115

CHAPIN, F.S.; MATSON, P.A.; MOONEY, H.A.; Principles of Terrestrial Ecosystem Ecology. Springer, New York, 2002

CHEN, X.; EAMUS, D.; HUTLEY, L.B.; *Australian Journal of Botany*, **2002**, 50, 43-51

CHIBSA, T.; AND ASEFA A.; *World Applied Sciences Journal*, **2009**, 6 (11): 1506-1512

DELL'ABATE, M.T.; BENEDETTI, A.; TRINCERA, A.; AND DAZZI, C.; *Geoderma*, **2002**, 107, 281-296

DELL'ABATE, M. T.; BENEDETTI, A.; BROOKES, P.C.; *J Sep Sci.* **2003**, 26, 433-40.

DODD, J.W.; AND TONGUE, K.; Thermal Methods, Willey Interscience, London 1987.

DOELMAN, P.; AND HAANSTRA, L.; *Biol. Fert. Soils.* **1986**, 2, 231

DORAN, J.W.; SARRANTONIO, M.; LIEBIG, M.A.; Soil health and sustainability. In Advances in Agronomy. Academic Press: San Diego, CA, USA, 56, pp. 25-37, 1996.

DUBOC, P.; MARISON, I.; VON STOCKAR, U.; Quantitative Calorimetry and Biochemistry Engineering, in Handbook of Thermal Analysis and Calorimetry, Vol. 4, From Macromolecules to Man, Kemp, R.B., Elsevier, pp 267-364, 1999

DUBRUNFAUT, M.; HEBD C.R.; *Seances Acad. Sci.* **1856**, 42, 945-948 .

ELLIOTT, E.T.; CAMBARDELLA, C.A.; & COLE, C.V.; Modification of ecosystem processes by management and the mediation of soil organic matter dynamics. *Plant Soil.* **1993**, 22, 129-138

ENGLAND, L.; LEE, H.; AND TREVORS, J.T.; Recombinant and wildtype *Pseudomonas aureofaciens* strains in soils: survival. respiratory activity and effects on Rhizobium nodulation of whitebean. *Mol. Ecol.* **1993**, 2, 303-313

FIERER, N.; JACKSON, R.B.; *Proc Natl Acad Sci U S A.* **2006**, 103, 626-31

FLAIG, W.; BEUTELSPACHER, H.; RIETZ, E.; IN: GIESEKING, J.E. (Ed.), Soil Components, vol. 1. Springer-Verlag, Berlin, pp. 119 – 12, 1975

FRIEDLAND, A. J.; JOHNSON, A. H.; AND SICCAMA, T. G.; *Can. J. Bot.* **1986**, 64, 1349

GÁBORČÍK, N.; KOHOUTEK, D.; ILAVSKÁ, I.; *Agriculture (Poľnohospodárstvo)*. **2007**, 53, 1–10

GARDINER, D. T.; MILLER, R.W.; Soils in our environment, 10th Edition. Pearson Education, Inc. Upper Saddle River, New Jersey. pp. 641, 2004.

GEBEL, T.; Confounding variables in the environmental toxicology of arsenic. *Toxicology*. **2000**, 144, 155-162

GIACOMINI, S.J.; AITA, C.; MIOLA, E.C.C.; Mineralização do carbono da palha de aveia e dejetos de suínos aplicados na superfície ou incorporados ao solo. *R. Bras. Ci. Solo*, **2009**, 32, 2661-2668

GIOVANNINI, G.; LUCCHESI, S.; GIACHETTI, M.; *Soil Sci.* **1990**, 149, 344–350

GRAYSTON, S.J.; WANG, S.; CAMPBELL, C.D.; EDWARDS, A.C.; *Soil Biol Biochem.* 1998, 30, 369–37.

GREGORY, A.; e colaboradores Special Report on Emissions Scenarios: A Special Report of Working Group III of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, pp 600, 1997.

GRIFFITHS, B.; RITZ, K.; EBBLEWHITE, N.; DOBSON, G.; *Soil Biol Biochem.* **1999**, 31, 45–15

HAIDER, K.; Problems related to the humification processes in soils of temperate climates. In: Stotzky, G.; Bollag, J.M.; (Eds.), *Soil Biochemistry*, **1992**, 7, 55 – 94

HAIGH, S. D.; RENNIE A. F. K.; *Rapid methods to assess the effects of chemicals on microbial activity in soil. Environmental Toxicology and Water Quality.* **1994**, 9(4), 347–354

HANEY, R. L.; SENSEMAN, S. A.; HONS, F. M.; ZUBERER, D. A.; Effect of Glyphosate on Soil Microbial Activity and Biomass. *Weed Science*, **2000**, 48(1), 89-93

HATTORI, T.; “Microbial Life in the Soil”, Marcel Dekker, Inc., New York, 1973,

HESSELINK VAN SUCHTELEN, F. H.; *Arch. Pflanzenbau*, **1931**, 7, 51
 HILGARD, E. W.; "Soils," The Macmillan Company, New York, 1914
 HILL, A.V. J.; *Physiol.* **1912**, 44, 466-513.
 HÖHNE, G.; HEMMINGER, W.; AND FLAMMERSHEIM, H.J.; *Differential Scanning Calorimetry*, Springer-Verlag, Berlin (1996)
 HUANG, Q.; SHIND, H.; *Soil Biology & Biochemistry*, **2000**, 32, 1885–189
 JENKINSON, D.S.; LADD, J.N.; Microbial biomass in soil: measurement and turnover. In: Paul, E.A.; Ladd J.N (eds). *Soil biochemistry*. Marcel Dekker, p.425-471, 1981.
 JENNY, H.; *Factors of soil formation*. McGraw Hill, New York. pp 281, 1941
 JONES, C.A.; JACOBSEN, J.; AND LORBEER, S.; Metal concentrations in three Montana soils following 20 years of fertilization and cropping. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **2002**, 33 (9&10): 1401-1414
 JORDAN, D.; KREMER, R.J.; BERGFELD, W.A.; KIM, K.Y.; AND CACNIO, V.N.; Evaluation of microbial methods as potential indicators of soil quality in historical agricultural fields. *Biol. Fertil. Soil*, **1995**, 9, 297-302.
 KAMPRATH, E.J.; Exchangeable Al as a criterion for liming leached mineral soils. *Soil Sci Soc Am Proc.* **1970**, 34, 252-254.
 KAWABATA, T.; YAMANO T. H.; AND TAKAHASHI, K.; *Agric. Biol. Chem.* **1983**, 47, 128
 KEMP, R.B.; *Thermochim. Acta*, **1991**, 193, 253-267.
 KIMURA, T.; AND TAKAHASHI, K.; *Journal of General Microbiology*. **1989**, 131, 3083-3089
 KISS, S.; DRAGAN-BULARDA, M.; & RADULESCU, D.; Biological significance of enzymes accumulated in soil. *Adv. Agron.* **1975**, 27:25-87
 KITZINGER, C.; & BENZINGER, T. H.; Principle and method of heat-burst microcalorimetry and the determination of free energy, enthalpy and entropy changes. In *Methods of Biochemical Analysis* (ed. D. Glick), vol. viii, **1960**
 KOGA, K.; SUEHIRO, Y.; MATSUOKA S.H.; and TAKAHASHI, K. J.; *Biosci. Bioeng.*, **2003**, 95, 42.

LAPORTE, M.F.; DUCHESNE, L.C.; and WETZEL, S.; Effect of rainfall patterns on soil surface CO₂ efflux, soil moisture, soil temperature and plant growth in a grassland ecosystem of northern Ontario, Canada: implications for climate change. *BMC Ecology*, **2002**, **2**, 10

LAVOISIER, A.; AND LAPLACE, P.S.; *Mem. Acad. Sci.* **1783**, 3, 355-374.

LEE, K.E. and PANKHURST, C.E.; *Australian Journal of Soil Research*, **1992**, 30, 855 - 892

LEMOS, R.C. e SANTOS, R.D. Manual de descrição e coleta de solo no campo. 2.ed. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo; Embrapa-SNLCS, 1984. 46p.

LEONARD, A.; ARSENIC. IN: MERIAN, E. (Ed.) Metals and their compounds in the environment, 751-772. VCH, Weinheim, 1991

LEVINE, J.S.; editor. Biomass Burning and Global Change, vols. 1 and 2. Cambridge (MA): The MIT Press; 1996b

LEVIN, K.; AND BOYO, A.; *Scand. J. Clin. Lab. Invert. Suppl.* **1971**, 118, 55-65

LI, X.; CHEN, Z.; *Biology and Fertility of Soils.* **2004**, 39, 344 5

LJUNGHOLM, K.; NORÉN, B.; SKÖLD, R. and WADSÖ, I.; *Oikos*, **1979**, 33, 15

LJUNGHOLM, K.; NORÉN, B.; SKÖLD, R. and WADSÖ, I.; *Oikos*, **1979**, 33, 24

LÓPEZ-CAPEL, E.; SOHI, S.P.; GAUNT, J.L.; AND MANNING, D.A.C.; *Soil Sci. Soc. Am. J.* **2005**, 69, 136–140

MARINARI, S.; LIBURDI, K.; MASCIANDARO, G.; CECCANTI, B.; GREGO, S.; *Soil and Tillage Research.* **2007**, 92,10

MARIN, A.R.; MASSCHELEYN, P.H. and PATRICK JR, W.H.; The influence of chemical form and concentration of arsenic on rice growth and tissue arsenic concentration. *Plant and Soil.* **1992**, 139, 175-183.

MARIN, A.R.; MASSCHELEYN, P.H.; PATRICK JR., W.H.; Soil redox-pH stability of arsenic species and its influence on arsenic uptake by rice. *Plant and Soil*, **1993**, 152, 245-25

MARRS, R. H.; PROCTOR, J.; HEANEY, A.; & MOUNTFORD, M.; *Journal of Ecology*, **1988**, 76, 466-48

MARTENS, D.A.; JOHANSON, J.B.; & FRANKENBERGER JR, W.T.; Production and persistence of soil enzyme with repeated addition of organic residues. *Soil Sci.* **1992**, 153:53-61

MARTENS, D.A.; Plant residue biochemistry regulates soil carbon cycling and carbon sequestration. *Soil Biol. Biochem.* **2000**, 32:361-369

MELIS, P.; AND CASTALDI, P.; *Thermochim. Acta*, **2004**, 413, 209–214

MILLER, R. H.; Methods of Soil Analysis, Part 2 – Chemical and Microbiological Properties, Soil Science Society of America, Madison, 1982

MONK, P.; AND WADSAO, I.; *Acta Chem. Scand.* **1968**, 22, 1842-1852.

MONK, P.; & WADSO, I.; Flow microcalorimetry as an analytical tool in biochemistry and related areas. *Ada chem. scand.* **1969**, 23, 29.

MOREIRA, F.; SIQUEIRA, J. O.; Microbiologia e Bioquímica do Solo. Editora UFLA, pp 623, 2002.

MORTENSEN, U.; NORÉN, B.; AND WADSÖ, I.; *Bull. Ecol. Res. Comm. (Stockholm)*, **1973**, 17, 189.

NAKAS, J.P.; GOULD, W.D.; & KLEIN, D.A.; Origin and expression of phosphatase activity in semiarid grassland. *Soil Biol. Biochem.* **1987**, 19:13-18.

NEEDELMAN, B.A.; WANDER, M.M.; BOLLERO, G.A.; BOAST, C.W.; SIMS, G.K.; BULLOCK, D.G.; *Soil Sci. Soc. Am. J.* **1999**, 63,1326–133

NEUFELDT, H.; RESCK, D.V.S.; AYARZA, M.A.; *Geoderma*, **2002**, 107, 151–16

NICHOLS, K.A.; WRIGHT, S.F.; LIEBIG, M.A.; AND PIKUL JR, J.L.; Functional significance of glomalin to soil fertility. Proceedings from the Great Plains Soil Fertility Conference Proceedings. Denver, CO, March 2-4, 2004

NÚÑEZ-FERNÁNDEZ, O.; NÚÑEZ-REGUEIRA, L.; PROUPÍN-CASTIÑEIRAS. J.; RODRÍGUEZ-AÑÓN, J. A. J.; *Therm. Anal. Cal.* **2005**, 80, 35

OADES, J.M.; An overview of processes affecting the cycling of organic carbon in soils. In: Zepp, R.G., Sonntag, Ch. (Eds.), Role of Non Living Organic Matter in the Earth's Carbon Cycle. Wiley, pp. 55 – 94, 1995

OVREAS, L.; TORSVIK, V.; *Microb Ecol.* **1998**, 36, 303–31

PARKINSON, D.; COLEMAN, D.; *Agriculture Ecosystems and Environment.* **1991**, 34, 3 33.

PATEL, M.; *Thermochim. Acta*, **1981**, 2, 123-129

PRADO, A. G. S.; AND AIROLDI, C.; Effect of' the pesticide 2,4D on microbial activity of the soil monitored by microcalorimetry. *Themochzmzca Acta.* **2000**, 349(1-2): 17-22.

PRADO. A. G. S.; AND AIROLDI, C.; Mirrocalorirnrtty of the degradation of the herbicide 2,4-D via the microbial population on a typical Brazilian red Latosol soil. *Themochzmzca Acta.* **2001**, 371(1-2): 169-174.

PRASAD, R.; & POWER, J.F.; Soil fertility management for sustainable agriculture. New York,USA, Lewis Publishers. pp 356, 1997.

PRIMAVESI, A.; Manejo ecológico del suelo. La agricultura en regiones tropicales. 5ta Edición.El Ateneo. Rio de Janeiro, Brazil. pp 499, 1984.

REBER, H.H.; Simultaneous estimates of the diversity and the degradative capability of heavy-metal-affected soil bacterial communities. *Biol. Fertil. Soils*, **1992**, 13: 181-186

REEUWIJK, LP VAN.; Editor. Procedures for Soil Analysis. 6th edition. – Technical Paper/International Soil Reference and Information Centre,Wageningen, The Netherlands. 2002

REGUEIRA, L. N.; RODRÍGUEZ-ANÓN J. A.; CASTINEIRAS J. P.; LÓPEZ, M.V.; AND FERNÁNDEZ, O.N.; study of the influence of different forest species on the microbial activity in soils. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, **2006**, 84, 7–13.

RIGOBELLO, E.C.; NAHAS, E.; *Sci. agric*, **2004**, 61(1), 88-93

ROHELLA, R.S.; SAHOO, N.; PAUL, S.C.; CHOUDHURY, S.; AND. CHAKRAVORTTY, V.; *Thermochim. Acta*, **1996**, 287 , 131–138

ROS, M.; HERNÁNDEZ, M.T. & GARCÍA, C. Soil microbial activity after restoration of a semiarid soil by organic amendments. *Soil Biol. Biochem.*, 35:463-469, 2003

ROSS, D.J.; & CAIRNS, A.; Effects of earthworms and ryegrass on respiratory and enzyme activities of soil. *Soil Biol. Biochem.* **1982**, 14:583-587

ROVIRA, P.; KURZ-BESSON, C.; COUTEAUX, M. M.; VALLEJO, V.R.; *Soil Biol Biochem.* **2008**, 40, 172–8

RUBNER, M.; Die Gesetze des Energieverbrauchs bei der Ernährung, Deuticke, Leipzig (1902)

SALGADO, J.; PROUPIN, J.; VILLANUEVA, M.; RODRIGUEZ-ANON, J. A.; BARROS, N.; *J. Therm Anal Calorim*, **2010**, 99, 911–916

SALMINEN, J.; HAIMI, J.; Horizontal distribution of copper, nickel and enchytraeid worms in polluted soil. *Environmental Pollution*, **1999**, 104, 351–358

SATOH T.; *Sci. Plant Nutr.* **1984**, 30, 1–12

SATOH T.; *Sci. Plant Nutr.* **1984**, 30, 95–104

SCHAEFER, M.; & SCHAUERMANN, J.; The soil fauna of beech forests: comparison between a mull and a moder soil. *Pedobiologia.* **1990**, 34(5):299-314

SCHNITZER, M.; AND SKINNER, S.I.M.; *Soil Sci.* **1964**, 98, 197–203.

SCHNITZER, M.; AND HOFFMAN, I.; *Geochim. Cosmochim. Acta*, **1967**, 31, 7–15

SCHNITZER, M.; AND HOFFMAN, I.; *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* **1966**, 30, 63–66

SCHNURER, J.; AND ROSSWALL, T.; Fluorescein Diacetate Hydrolysis as a Measure of Total Microbial Activity in Soil and Litter . *Applied Environmental Microbiology*, **1982**, 43(6), 1256-1261

SHEIK, C. S.; BEASLEY, W.S.; ELSHAHED, M.S.; ZHOU, X.; LUO, Y.; AND KRUMHOLZ, L. R.; *The ISME Journal*, **2011**, 5, 1692-1700

SHU, X.; XU, X.; FAN, H.; WANG, S.; AND YAN, D.; *Thermochim. Acta*, **2002**, 381, 73–81

SPARLING, G.P.; *J. Soil Sci.* **1983**, 381-390

SPEIR, T.W.; COWHNG, J.C.; SPARLING, G.P.; WEST, A.W.; AND CORDEROY, D. M.; Effects of microwave radiation on the microbial biomass, phosphatase activity and levels of extractable N and P in a low fertility soil under pasture. *Soil Biol. Biochem.* **1986**, 18, 377-382.

STENBERG, B.; JOHANSSON, M.; PELL, M.; SJOÈ DAHL-SVENSSON, K.; STENSTROÈM, A. J.; AND TORSTENSSON, L.; Microbial Biomass and Activities in Soil as Affected by Frozen and Cold Storage. *Soil Biol. Biochem.* **1998**, 30(3), 393, 402

SUMATHI, C. S.; BALASUBRAMANIAN, V.; RAMESH, N.; AND KANNAN, R. V.; *Middle-East Journal of Scientific Research*, **2008**, 3, 171-178

SWIFT, M. J.; HEAL, O. W.; & ANDERSON, J. M.; Decomposition in terrestrial ecosystems . Black- well Scientific Publications, Oxford. 372, 1979

SWISHER, R.; AND CARROLL, G. C.; Fluorescein diacetate hydrolysis as an estimator of microbial biomass on coniferous needle surfaces. *Microb. Ecol.* **1980**, 6:217-226

TAN, K.H.; *Soil Biol. Biochem.* **1978**, 10, 123–129

TENG, C.H.; TAO, B.; Effects of clorimur-ethyl on soil microorganism population and soil respiration intensity. *Chin J Soil Sci.* **2008**, 39(2):384–387, in Chinese with English abstract

TEJADA, M.; HERNÁNDEZ, M.T.; & GARCÍA, C.; Application of two organic amendments on soil restoration: Effects on the soil biological properties. *Environ. Qual.* **2006**, 35:1010-1017

TOPP, G. C.; Soil Sampling and methods of Analysis Edited by Martin R. Carter for Canadian Society of soil Science; 141-143, 2006

TOSZA, E.; DUMNICKA, E.; NIKLIŃSKA, M.; ROŻEN, A.; Enchytraeid and earthworm communities along a pollution gradient near Olkusz (southern Poland). *European Journal of Soil Biology*, **2010**, 46, 218–224

TU, J. C.; TAN, C.S.; Effect of soil moisture on seed germination, plant growth and root rot severity of navy bean in *Fusarium solani* infested soil. *Commun Agric Appl Biol Sci.* **2003**, 68(4 Pt B):609-12

TUOMINEN, L.; KAIRESALO, T.; AND HARTIKAINEN, H.; Comparison of methods for inhibiting bacterial activity in sediment. *Appl. Environ. Microbial.* **1994**, 60, 3454-3457

TYLER, G.; International Conference on Heavy Metals in the Environment. Toronto, Canada, p. 217, 1975b

UEHARA, G.; & GILMAN, G.; The mineralogy, chemistry and physics of tropical soils with variable charge clays. Boulder, USA, Westview Press. pp 170, 1981.

VAN DONSEL, D. J.; GELDREICH, E. E.; AND CLARKE, N. A.; *Appl. Microbiology*, **1967** 1362-1370

WANG, S.; ZHAO, X.; On the potential of biological treatment for arsenic contaminated soils and groundwater. *Journal of Environmental Management*, **2009**, 90(8), 2367–2376

WEIR, S.C.; LEE, H.; AND TREVORS, J.T.; Survival of free and encapsulated *Pseudomonas aeruginosa* UG2Lr and *Pseudomonas* sp. UG14Lr in soil microcosms treated with disinfectants. *J. Appl. Bacteriol.* **1995**, 80, 19-25

WILKE, B.M.; Sorption und Wirkung von Arsen auf die mikrobielle Aktivität von Waldhumusformen. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde*, **1987**, 150, 273 - 278

YAMAKURA, T.; AND SAHUNALU, P.; *Journal of Tropical Ecology*, **1990**, 6:371-378

YODA, K.; KIRA, T.; *Nature & Life in Southeast Asia*, **1969**, 6, 83-112

ZAWOZNIK, M. S.; TOMARO, M. L.; Effect of chlorimuron-ethyl on *Bradyrhizobium japonicum* and its symbiosis with soybean. *Pest Manag Sci.* **2005**, 61, 1003–1008.

ZHANG, S.; YIN, X.; YANG, Q.; WANG, C.; WANG, Z.; *Anal Bioanal Chem.* **2011**, 401(3), 1071-8.

ZHANG, X.; LI, X.; ZHANG, C.; LI, X.; ZHANG, H.; *Environ Sci Pollut Res Int.* **2011**, 18(3), 407-15.

7. APÊNDICE.

7.1. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

Permitiu a avaliação ao nível microscópico de amostras dos solos (Unik1(primavera) e PaK). As imagens de MEV estão indicadas nas Figura A1 e A2, e mostram que em ambas as amostras de solo há presença de rugosidade e de vales ao longo superfícies dos materiais particulados, o que evidencia a natureza porosa dos solos. Os poros são numerosos, podendo ser identificados na forma de manchas pretas. Todavia, certas diferenças quanto aos tamanhos das partículas no caso dos dois solos, também foram observadas, o que afeta algumas propriedades superficiais do solo, sob investigação. As dimensões das partículas do solo Unik1(primavera) Figura1 estudado são menores que as observadas no solo Pak Figura A2.

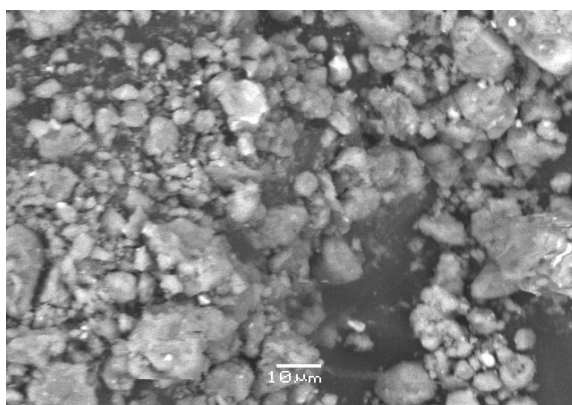


Figura A1. Imagem de MEV para o solo Unik1(primavera)

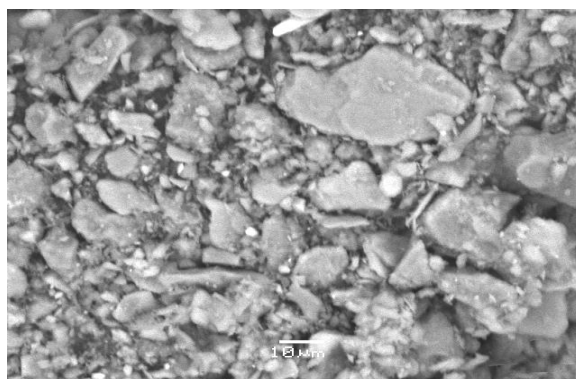


Figura A2. Imagem de MEV para o solo Pak.

7.2. Análise de EDX (Dispersão de raios-X)

Os dois tipos de solo estudados, também foram analisados por EDX. A composição química obtida está indicada nas Figuras A3 e A4, que mostram que os argilominerais analisados apresentam grandes quantidades de óxidos de silício e de alumínio, sendo que os elementos: potássio, cálcio e titânio correspondem aos constituintes minoritários. Pode ser observado que há diferenças quanto ao teor de carbono em ambos os tipos de solo, o que pode ser devido à diferença na vegetação presentes nesses ambientes. O solo Unik1(primavera) que foi estudado contém elevado teor de ferro em comparação com o solo coletado no Paquistão, Pak. O teor de silício no solo Pak é maior do que no solo brasileiro, o que é um indicativo que ele é mais arenoso maior. Com base nas Figuras A3 e A4 e Tabelas A1 e A2 pode ser inferido que o solo do Paquistão também contém certo teor de Mg e P, enquanto que o solo brasileiro é deficiente nesses elementos. Entretanto essa análise deve ser vista com muito cuidado, já que a técnica só faz uma análise superficial do material. No “bulk” a análise quantitativa dos solos pode ser bem diferente.

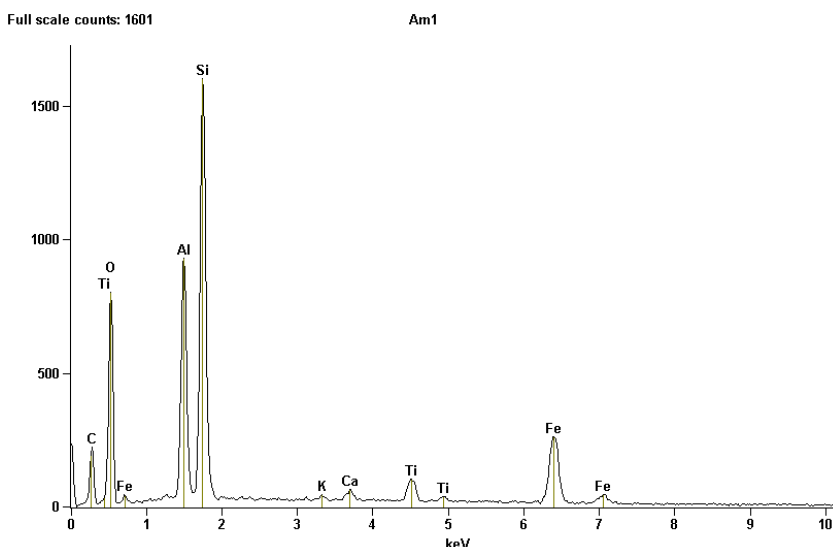


Figura A3. Análise de EDX da amostra de solo Unik1 (primavera).

Tabela A1. Resultados de EDX para a amostra de solos Unik1(primavera).

<i>Elemento</i>	<i>%massa</i>	<i>%atômica</i>
C	33,39	45,47
O	41,60	42,53
Al	5,53	3,35
Si	9,63	5,61
K	0,16	0,07
Ca	0,45	0,18
Ti	1,68	0,57
Fe	7,55	2,21
Total	100	100

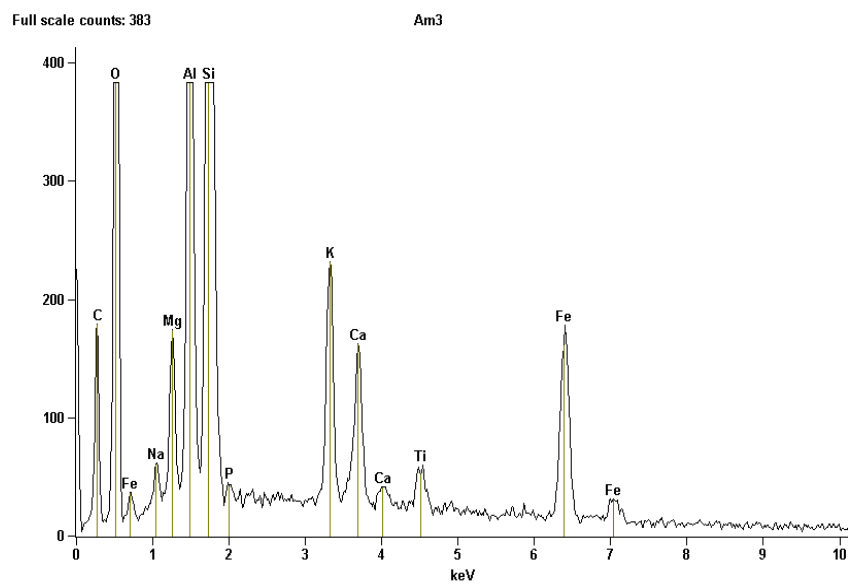


Figura A4. Análise de EDX para a amostra de solo Pak.

Tabela A2. Resultados de EDX para a amostra de solo Pak.

<i>Elemento</i>	<i>%massa</i>	<i>%atômica</i>
<i>C</i>	27,24	38,40
<i>O</i>	43,28	45,80
<i>Na</i>	0,52	0,38
<i>Mg</i>	0,78	0,55
<i>Al</i>	5,38	3,38
<i>Si</i>	13,57	8,18
<i>P</i>	0,13	0,07
<i>K</i>	2,05	0,89
<i>Ca</i>	1,56	0,66
<i>Ti</i>	0,70	0,25
<i>Fe</i>	4,79	1,45
<i>Total</i>	100	100