



**Universidade Estadual de Campinas  
Instituto de Química**



**Dissertação de Mestrado**

**Estudo Calorimétrico da Atividade  
Microbiana de Solo Canavieiro,  
Manejado Sob Diferentes  
Condições**

**Orientando: Gabriel Jeronimo Curti**

**Orientador: prof. Dr. José de Alencar Simoni**

**Julho / 2009**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE  
QUÍMICA DA UNICAMP**

C94e	<p>Curti, Gabriel Jeronymo. Estudo calorimétrico da atividade microbiana de solo canavieiro, manejado sob diferentes condições / Gabriel Jeronymo Curti. -- Campinas, SP: [s.n], 2009.</p> <p style="text-align: center;">Orientador: José de Alencar Simoni.</p> <p style="text-align: center;">Dissertação - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.</p> <p style="text-align: center;">1. Solo. 2. Cana-de-açúcar. 3. Calorimetria. 4. Atividade microbiana. I. Simoni, José de Alencar. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título.</p>
------	--

**Título em inglês:** Calorimetric study of the soil microbial activity from sugarcane plant region, tilled under different condititons

**Palavras-chaves em inglês:** Soil, Sugarcane, Calorimetry, Microbial activity

**Área de concentração:** Físico-Química

**Titulação:** Mestre em Química na área de Físico-Química

**Banca examinadora:** José de Alencar Simoni (orientador), Sueli dos Santos Freitas (IAC), Zigomar Menezes de Souza (FEAGRI-UNICAMP)

**Data de defesa:** 31/07/2009



*“Há cinco degraus para se alcançar a sabedoria: calar, ouvir, lembrar, agir, e estudar”.*

**Provérbio Árabe**

## Dedicatória

Antes do início de meu trabalho no campo da ciência do solo passei a enfrentar um grande dilema: como químico passei a perceber que, numa área tão complexa e vasta como esta não poderia depender somente dos conhecimentos químicos que ao longo de minha formação fui assimilando.

Em verdade, a ciência do solo, uma área extremamente fascinante e de grande importância, tendo em vista que dependemos do solo para nossa sobrevivência, abarca muitas áreas de conhecimento, como: física, biologia, química e geologia.

Por esta razão, neste espaço, reservo-me no dever de incentivar aos químicos que se interessam por tão importante ciência a explorar estas diferentes áreas, de modo que os estudos possam revelar idéias mais claras sobre diferentes processos que ocorrem na pedosfera.

Sendo assim, dedico este singelo trabalho a todos estudiosos de solos, sejam físicos, químicos, biólogos, engenheiros etc.

É preciso integrar esforços e conhecimento, deixando de lado a segregação velada entre diferentes departamentos e áreas de trabalho, de forma que a sociedade possa ser beneficiada de maneira mais significativa.

A integração de conhecimentos faz uma sociedade se desenvolver. Uma sociedade que se desenvolve pode estar mais bem preparada para enfrentar problemas de toda ordem, sendo que a união dos esforços, imprescindível para tal desenvolvimento, inicia-se pela boa vontade de cada um de nós.

## **Agradecimentos**

Primeiramente, gostaria de expressar minha mais expressiva gratidão a Deus, por me conceder esta existência e tão belos momentos que venho tendo em minha vida.

Aos meus pais, Mauro Curti, e Maria de Lourdes J. Curti pela resignação que vêm tendo, e por tudo que fizeram e fazem por mim, e a meus familiares, pela atenção e apoio que recebi.

À professora Águeda Thormann de Curitiba, bióloga com grande amor pela vida. Graças às suas aulas, cresceu em mim o amor que tenho pela natureza. Ela foi, e continua sendo um grande exemplo em minha vida.

Ao meu orientador, prof. Dr. José de Alencar Simoni, gostaria de agradecer pela confiança, paciência e conselhos que recebi ao longo deste período. Aprendi muito com seu exemplo humanista, e seus conselhos.

Ao professor Dr. Zigomar Menezes de Souza da Faculdade de Engenharia Agrícola da Unicamp, pelo apoio durante o trabalho e por ter me apresentado o mundo fascinante da ciência dos solos. Sem seu apoio meu trabalho seria muito mais difícil.

Ao professor Dr. Pedro Luis Onofre Volpe pela acolhida e pelo apoio ao longo desse trabalho, sendo seu exemplo de caráter, difícil de se encontrar nos tempos correntes.

Agradeço ao prof. Dr. Cláudio Airoidi pelas valorosas discussões sobre solos. Graças a ele pude ter contato com a professora Dra. Sueli Freitas do Instituto Agrônomo de Campinas – IAC, a quem sou muito grato pelas discussões e acesso aos laboratórios do Instituto Agrônomo, onde pude aprender muito.

Aos meus amigos de laboratório, dedico meus mais expressivos agradecimentos. Ao Hameed Ullah, que tantas vezes me fez sorrir e a aprender sobre a vida, ao amigo Ziarat Shah, pelos ensinamentos morais e culturais, e aos amigos Adnan Khan, Syed, e Flávio pelos momentos que compartilhamos. Às amigas, e também entusiastas do estudo de solos, Amanda, e Karina pela troca de conhecimentos que tivemos.

Gostaria de agradecer à microbiologista Júlia Talazzo do IAC, meus agradecimentos à Célia, e ao Junior do laboratório de Física do Solo da Feagri, pelo apoio na realização dos experimentos.

Por fim, agradeço ao Instituto de Química da Unicamp, por ser o local onde tive minha formação como químico, e onde aprendi a refletir mais sobre sociedade.

## Ilustres cientistas ligados à Ciência do Solo



Louis Pasteur (1822 – 1895)



Sergei Winogradsky (1856 – 1953)



Vasily Dokuchaev (1846 – 1903)



Martinus Willem Beijerinck (1851 - 1931)

## **Curriculum Vitae**

### Dados pessoais

---

#### **Gabriel Jeronymo Curti**

Brasileiro, solteiro, 24 anos  
Rua Engenheiro Humberto Soares de Camargo, 1079  
Cidade Universitária, Barão Geraldo, Campinas – SP  
Telefone: (19) 3289-2300 / e-mail: gcurti@iqm.unicamp.br

### Formação Acadêmica (Graduação e Pós-Graduação)

---

Bacharel em Química – Universidade Estadual de Campinas - 2007  
Licenciado em Química – Universidade Estadual de Campinas - 2009

### Produção científica

---

#### Iniciação científica

**Calorímetro de Combustão para Uso no Ensino de Química.** Orientador: prof. Dr. José de Alencar Simoni, Universidade Estadual de Campinas, 2006-2007.

#### Participação em Congressos

**32ª. Reunião da Sociedade Brasileira de Química – Fortaleza-CE - 2009.**

Submissão e admissão de 2 trabalhos (vide anexos):

**(i) Estudo da Atividade Microbiana de um Solo Cultivado com Cana-de-Açúcar, Sob Diversas Condições, Utilizando-se a Calorimetria.** / Divisão de Química Ambiental.

Autores: Gabriel J. Curti, José de Alencar Simoni, Cláudio Airoldi, Zigomar Meneses de Souza (FEAGRI).

**(ii) Comparação entre parâmetros pedológicos e anabolismo microbiano em solos de região canavieira.** / Divisão de Química Ambiental.

Autores: Gabriel J. Curti, José de Alencar Simoni, Cláudio Airoldi, Zigomar Meneses de Souza (FEAGRI).

### Estágios

---

1. Laboratório de Espectroscopia de Fluorescência de Raios-X, Química Analítica, Universidade Estadual de Campinas, 1º semestre de 2004.

2. Laboratório de Microbiologia do Solo, Instituto Agrônomo de Campinas, IAC, fevereiro-abril de 2009.

3. Estágio docente no PRODECAD – UNICAMP (Ensino de ciências a jovens). Período: 1º e 2º semestres de 2008.

## Resumo

Esse estudo investiga a influência de práticas agrícolas na atividade microbiana de solos, utilizando-se a calorimetria. Quatro amostras de solo foram coletadas no município de Pradópolis, São Paulo, Brasil (21°19'8" S 48°7'16" W), onde se praticavam dois diferentes tipos de manejo: solo sujeito à queima periódica, e solos não sujeitos à queima, em que, 2, 4, e 7 cortes consecutivos da cultura de cana foram observados. Nesses solos também houve contínuo incremento de cobertura vegetal. O estudo calorimétrico corresponde ao registro da energia dissipada em função do tempo, utilizando-se glicose como substrato. As amostras foram também caracterizadas por diversas análises químicas (teor de carbono total e acidez), físicas (porosidade, densidade, argila dispersa), biológica (número de microorganismos), e por técnicas de análise térmica como TGA, e DSC. Os resultados de calorimetria evidenciam diferenças entre os diferentes manejos em relação a parâmetros como: eficiência de assimilação da matéria orgânica ( $\eta_H$ ), constante de crescimento microbiano ( $k$ ), e a quantidade biomassa viva formada ( $\Delta X$ ). O solo associado a práticas de queimada apresentou uma baixa eficiência percentual de assimilação de matéria orgânica ( $\eta_H = 53\%$ ), um valor só comparável ao solo com 4 cortes. Também foi o solo que apresentou a menor constante de crescimento ( $k = 2,09 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ ) e um dos maiores valores de peak time (598 minutos). Embora o crescimento microbiano tenha sido mais lento para o solo com queima, o valor de energia anabolizada ficou em torno de 50%. Por outro lado, a anabolização como matéria orgânica viva ( $\Delta X$ ) foi a mais baixa de todas (181  $\mu\text{g}$  ou 34% de  $\eta_H$ ), enquanto que para os outros solos  $\Delta X$  foi praticamente igual a  $\eta_H$ .

## Abstract

This study investigates the influence of tilling practices on the soil microbial activity, through the use of calorimetric techniques. Four soil samples were collected at the municipality of Pradópolis, São Paulo, Brazil (21° 9'8"S 48°7'16"W), where two kinds of different agricultural managements were used: a soil subjected to periodical burning, and soils do not subject to burning, where subsequent 2, 4, and 7 cuts of the sugarcane plantation were done, with continuous increase of the vegetal covering. The calorimetric study corresponds to follow the heat flow versus time curves, for a mass of glucose amended to the soil. The sample soils were characterized through chemical analysis (total carbon and acidity), physical analysis (porosity, density, disperse clay), biological analysis (microorganism numbers) and more specifically by TGA, DSC and microcalorimetry. The calorimetric results show differences depending on the tilling practice, respect to some parameters evaluated: efficiency of organic material assimilation ( $\eta_H$ ), specific microbial growth constant ( $k$ ), and the amount of live biomass formed ( $\Delta X$ ). The soil where the burning is used showed a low percentual efficiency of organic material ( $\eta_H = 53\%$ ), a value close to the soil with 4 cuts. It was verified to the burning condition the smallest value of growing rate ( $k = 2.09 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ ) and a relatively great value of peak time (598 minutes) for this sample. For the burning soil the microbial growth constant was the lowest one but the percentual of assimilated energy stayed close to 50% to this sample. Similarly, the live organic material anabolism ( $\Delta X$ ) was the lowest value registered (181  $\mu\text{g}$  ou 34% of  $\eta_H$ ), while this parameter was practically equal to  $\eta_H$  for the other soil samples.

# Sumário

## Lista de figuras

<b>Figura 1.</b> (a) Egípcio realizando a aragem do solo, após a cheia do Nilo. (b) Imagem em que indivíduos ocupam áreas inundadas adjacentes ao rio Nilo .....	1
<b>Figura 2.</b> Desenho representativo da presença de horizontes em solos, cada qual apresentando diferentes propriedades .....	6
<b>Figura 3.</b> Representação geral das estruturas do solo .....	7
<b>Figura 4.</b> Representação esquemática do ciclo do carbono .....	10
<b>Figura 5.</b> Estrutura da molécula de ATP .....	13
<b>Figura 6.</b> (a) Canavial em estágio inicial de crescimento; (b) Canavial em estágio mais avançado de crescimento ao longo de um carreador .....	15
<b>Figura 7.</b> (a) Prática da queima de canaviais (b) Cortador de cana .....	17
<b>Figura 8.</b> Exemplo de colheita mecanizada .....	17
<b>Figura 9.</b> Representação gráfica das quatro fases de crescimento microbiano .....	18
<b>Figura 10.</b> Representação simplificada da célula calorimétrica .....	19
<b>Figura 11.</b> Curva calorimétrica típica de crescimento microbiano .....	20
<b>Figura 12.</b> Foto de porção de terra cultivada com cana-de-açúcar onde não se praticou a queima. Nota-se a presença de restos do mesmo cultivar sobre o solo .....	24
<b>Figura 13.</b> Exemplo de curva microcalorimétrica em que foi realizado o procedimento de integração .....	30
<b>Figura 14.</b> Amostra de aproximadamente 10 gramas de solo, pronta para ser adicionada à solução de diluição $10^{-1}$ .....	32
<b>Figura 15.</b> Diluições de solo empregadas. Nesta foto aparecem soluções diluídas de solo de concentrações: $10^{-2}$ , $10^{-3}$ , $10^{-4}$ , e $10^{-5}$ .....	32
<b>Figura 16.</b> Momento do espalhamento de uma alíquota de 0,1 mL de suspensão de solo ao longo da superfície da placa .....	33
<b>Figura 17.</b> Foto de placa de Petri contendo meio nutritivo para cultivo de bactérias + actinomicetos .....	33

<b>Figura 18.</b> Registros de TGA obtidos para as quatro amostras .....	42
<b>Figura 19.</b> Registros de DSC obtidos para as quatro amostras .....	43
<b>Figura 20.</b> Padrões de curvas calorimétricas obtidas para as quatro condições estudadas .....	45
<b>Figura 21.</b> Curvas calorimétricas obtidas com a adição de glicose para quatro solos manejados sob diferentes condições, mostradas separadamente e em conjunto .....	46
<b>Figura 22.</b> Curvas calorimétricas onde se evidenciam as determinações das constantes de tempo da primeira fase de crescimento microbiano para as diversas amostras de solo .....	49
<b>Figura 23.</b> Correlação entre o número de bactérias e o peak time.....	52

### Lista de tabelas

<b>Tabela 1.</b> Análise Granulométrica para diferentes condições de manejo .....	35
<b>Tabela 2 .</b> Resultados comparativos da quantidade de argila, grau de floculação e dispersão de algumas amostras de solo .....	36
<b>Tabela 3.</b> Valores de densidade do solo para diferentes tratamentos, e respectivo teor percentual de areia .....	37
<b>Tabela 4.</b> Valores de porosidade ( $m^3/m^3$ ) das diferentes amostras de solo .....	37
<b>Tabela 5.</b> Valores percentuais de carbono corrigido, e respectivos manejos do solo .....	39
<b>Tabela 6.</b> Valores de pH para diferentes condições de solos, obtidos em diferentes tempos de estocagem das amostras: <b>(1)</b> 5 meses, <b>(2)</b> 7 meses .....	40
<b>Tabela 7.</b> Teores de matéria orgânica obtidos com o emprego de análise termogravimétrica (TGA), considerando-se a faixa de temperatura entre 200 e 470 °C ..	41
<b>Tabela 8 .</b> Condições de cultivo, e respectivos valores percentuais da energia metabólica que permanece no solo ( $\eta_H$ ), para adição de glicose .....	45
<b>Tabela 9.</b> Condições de cultivo, e respectivos valores percentuais da energia metabólica que permanece no solo ( $\eta_H$ ) e biomassa $\Delta X$ para adição de glicose .....	47
<b>Tabela 10.</b> Valores da constante de crescimento (k), para as diversas amostras de solo.....	49
<b>Tabela 11.</b> Número de bactérias + actinomicetos, após 2 dias de incubação, para os diversos tipos de solo .....	51
<b>Tabela 12.</b> Número de fungos, após três dias de incubação, para os diversos tipos de solo .....	51

## **1. Introdução**

---

1.1. Preâmbulo .....	1
1.2. Breve Histórico da Ciência dos solos .....	3
1.3. O solo como um meio físico-químico .....	5
1.4. O solo como um sistema vivo – aspectos ecológicos .....	8
1.5. Aspectos bioquímicos, fisiológicos e energéticos de microorganismos .....	11
1.6. Cana-de-açúcar: história, características fisiológicas, cultivo e sociedade... ..	15
1.7. Princípios de calorimetria aplicados ao estudo de solos .....	18

## **2. Trabalho**

---

2.1. Objetivos .....	22
2.2. Parte experimental .....	23
2.2.1. Amostragem do solo .....	23
2.2.2. Análises físicas .....	24
2.2.2.1. Análise granulométrica .....	24
2.2.2.2. Análise de argila dispersa em água .....	25
2.2.2.3. Densidade e porosidade do solo .....	26
2.2.3. Análises químicas .....	27
2.2.3.1. Teor de carbono total .....	27
2.2.3.2. Acidez .....	27
2.2.4. Análises térmicas .....	28
2.2.4.1. DSC e TGA .....	28
2.2.4.2. Calorimetria .....	28
2.2.5. Análises microbiológicas .....	31
2.3. Resultados e discussão .....	35
2.3.1. Análises físicas .....	35
2.3.2. Análises químicas .....	38
2.3.3. Análises térmicas .....	40
2.3.4. Calorimetria .....	44
2.3.5. Análises microbiológicas .....	50
2.4. Conclusões .....	53
2.5. Referências bibliográficas .....	54

# 1. Introdução

## 1.1. Preâmbulo

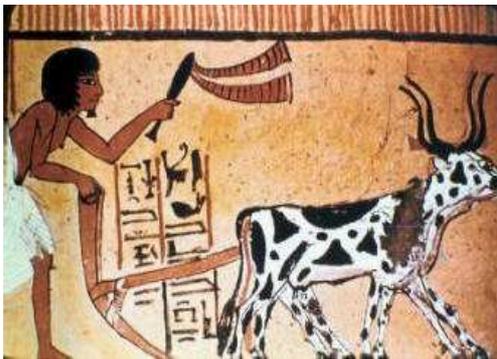
*“ E formou o Senhor Deus o homem do pó da terra, e soprou em seus narizes o fôlego da vida; e o homem foi feito alma vivente”.*

**Gênesis, 2:7.**

O trecho bíblico acima, também presente na Torá, livro religioso judaico, é um dos exemplos da importância que a terra tem exercido na sociedade.

O termo terra, de certa forma sempre esteve associado ao poderio e, assim, ao grau de influência de um país. Um exemplo interessante disso é em relação ao povo egípcio, o qual logrou grande desenvolvimento ao cultivar em solos às margens do rio Nilo, sítios sobre os quais ocorrem inundações periódicas.

Os sedimentos ali acumulados resultam num aumento da fertilidade das áreas próximas à margem do rio após a diminuição do nível das águas, o que possibilitou a esse povo o prestígio e a expressiva influência em relação a outros povos da antiguidade.



(a)



(b)

**Figura 1. (a)** Egípcio realizando a aragem do solo, após a cheia do Nilo. **(b)** Imagem em que indivíduos ocupam áreas inundadas adjacentes ao rio Nilo. Fonte: Google images.

O solo não é somente um meio físico sobre o qual se constroem casas, mas também a origem direta ou indireta da maior parte dos produtos de nossa alimentação, sendo também um sistema altamente complexo para armazenamento e purificação de

água<sup>1</sup>. Considera-se hoje, que o solo não é simplesmente um pó ou algo estéril, mas sim, um sistema vivo e dinâmico, multifacetado, de natureza química complexa e fascinante, constituindo-se, ainda, uma fronteira com muitos mistérios a serem solucionados.

O simples caso do CO<sub>2</sub> pode mostrar essa complexidade. Uma das vias de liberação deste gás para a atmosfera é a partir de solos, sendo esta emissão natural em razão de processos climáticos, ou estimulada por processos antropogênicos. Estima-se que os solos armazenam cerca de  $2,4 \times 10^{18}$  g de carbono<sup>2</sup>, um valor extremamente elevado, que dá uma idéia da responsabilidade que se deve ter com o uso do solo. Tudo isso sem contar com aspectos relativos à erosão e à contaminação de corpos d'água.

Para se poder realmente compreender a importância dos solos, é preciso refletir sobre a formação desse corpo natural, seus habitantes vivos, os processos que ocorrem na pedosfera, e seus atributos.

## 1.2. Breve histórico da ciência dos solos

Houve um momento em que o ser humano passou a cultivar seus alimentos ao invés de se limitar ao papel de mero coletor; passando a questionar e a se preocupar com o solo e sua natureza. A esse momento de transição dá-se o nome de “revolução agrícola”<sup>3</sup>.

A busca pelo aumento da eficiência da produção agrícola passou a ser uma das preocupações da sociedade, uma vez que as populações cresciam e a nova demanda por alimentos acabava por impulsionar a produção no campo.

Uma possível primeira conceituação de solos surgiu em fins do século XVIII, começo do século XIX, acompanhando o desenvolvimento da Geologia como uma ciência<sup>3</sup>. Os geólogos desse período consideravam o solo como um produto do intemperismo, ou seja, do desgaste de rochas, baseando-se em estudos de formações rochosas que até então eram realizados.

Em 1880 Vasily Dokuchaiev sugere uma nova conceituação de solos, tratando-os como corpos naturais organizados, os quais apresentam distintas naturezas, além de evoluírem através de diferentes estágios genéticos<sup>3</sup>. Ele pôde constatar que na gênese de solos, além da rocha original, há uma complexa interação de inúmeros fatores incluindo-se o clima, os organismos, a topografia e o tempo de ação destes<sup>3</sup>.

As idéias de Dokuchaev tiveram um enorme impacto na ciência e passam a estabelecer as bases da nova disciplina que florescia – a Ciência do Solo.

Todavia, muitas outras definições apareceram. Hans Jenny em seu livro: “*Factors of Soil Formation*”, registra algumas definições contemporâneas à de Dokuchaev<sup>4</sup>, enfatizando a existência de diferentes formas de definição de solos, de acordo com diferentes pontos de vista.

Segundo um viés agrícola, Hilgard<sup>5</sup>, por exemplo, pontua o solo como um material onde as raízes das plantas podem encontrar um ponto de fixação. Por outro lado, Ramann<sup>6,7</sup> segue um viés geológico, definindo o solo como a camada de intemperização mais externa da crosta sólida da terra.

Dentre os seguidores do viés químico, em 1840 Justus Von Liebig defende a idéia de que a cultura no campo diminui ou aumenta segundo proporção exata à diminuição ou ao aumento das substâncias minerais retiradas como adubo<sup>3</sup>, e também estabelece o conceito da “Lei do Mínimo”, sendo considerado o iniciador da química agrícola.

Os fisiologistas do século XIX, por sua vez, reconheciam a importância de

organismos vivos como agentes integrantes de ciclos de reciclagem de nutrientes, mas não consideravam os microrganismos como elementos constituintes de tais ciclos; “animais e plantas eram as únicas formas de vida que participavam em ciclos da matéria”<sup>8</sup>.

Uma das descobertas mais impactantes do século XIX, que influenciaria substancialmente a ciência dos solos, foi conduzida por Louis Pasteur, ao reconhecer que os processos fermentativos são realizados por microrganismos.

Contemporaneamente a Pasteur, o alemão Robert Koch deu grande contribuição aos estudos microbiológicos, iniciando procedimentos de isolamento de diferentes cepas de microrganismos, o que veio a ser fundamental para estudos posteriores de formas de vida microscópicas dos solos.

Em fins do século XIX, o russo Sergei Winogradsky e o holandês Martinus Willem Beijerinck estimularam investigações microbiológicas de solos, que permitiram, pela primeira vez na história, o reconhecimento de microrganismos como formas de vida responsáveis por transformações da matéria em solos<sup>9</sup>.

Os feitos de Winogradsky foram fantásticos, pois se sabe atualmente que os organismos nitrificantes não obtêm sua energia de compostos orgânicos, mas sim a partir de processos redox empregando formas inorgânicas em que há presença do elemento nitrogênio.

Graças a esses dois cientistas, houve um reconhecimento da importância de microrganismos como agentes biogeoquímicos, enquanto a microbiologia pôde ascender a um estado de maior credibilidade, e importância prática, numa sociedade ávida por melhorias básicas.

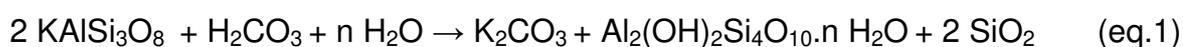
### 1.3. O solo como um meio físico-químico

Para se entender um pouco sobre a natureza física e química dos solos deve-se observar o que os constituem, como se diferenciam, e o que os tornam tão importantes ao sustentar diferentes formas de vida.

Originalmente o solo é uma rocha, a qual por sua vez corresponde a um corpo natural sólido constituído por minerais. Ao sofrer processos de intemperismo físico, químico e biológico, as rochas originam o que se denomina solo, ou segundo os geólogos, manto de intemperismo ou regolito<sup>11</sup>.

A água da chuva e o gás carbônico nela dissolvido, por exemplo, interagem com os minerais primários das rochas, causando mudanças estruturais profundas de forma gradativa, dando origem aos minerais secundários, como as argilas<sup>11,12</sup>.

Como exemplo da ação conjunta da água e do gás carbônico sobre minerais primários, pode-se citar o ataque químico sofrido por um tipo de feldspato conhecido como ortoclásio<sup>11</sup>,



sendo este um importante processo de intemperismo químico, que leva à solubilização de íons, fundamentais à nutrição de várias formas de vida.

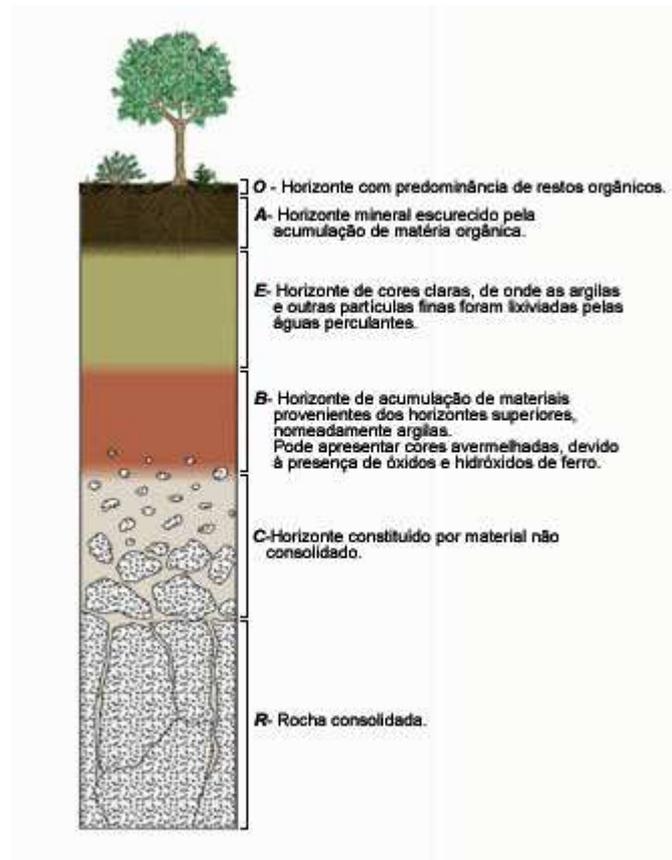
O intemperismo físico, no entanto, torna a rocha mais reativa para ulteriores ataques químicos. Variações bruscas de temperatura são exemplos desse tipo de intemperismo<sup>11</sup>. Nesse processo as rochas se tornam mais frágeis, sofrendo fraturas, gerando partículas de menores dimensões.

O intemperismo biológico ocorre inicialmente quando a rocha é exposta a um novo ambiente, sendo que uma das primeiras formas de vida que se desenvolve sobre substratos rochosos são os líquens<sup>11</sup>. Ao se desenvolverem, os líquens passam a liberar compostos que podem reagir com os minerais das rochas e assim contribuir para a degradação química desses corpos minerais, originando assim um substrato de grande importância agrícola. Com a liberação de metabólitos, líquens acabam por favorecer o estabelecimento de outras formas de vida, como as plantas, as quais também podem liberar compostos orgânicos ao solo em vias de formação e dessa forma também contribuindo com o intemperismo de rochas, fato esse que leva à formação dos solos.

Por conta desses processos de degradação os solos acabam se tornando

anisotrópicos, diferentemente dos minerais primários, os quais apresentam isotropia<sup>4</sup>.

Além dessa anisotropia, o intemperismo leva o solo a apresentar diferentes horizontes, em função da profundidade. Esses horizontes diferem entre si em vários atributos, inclusive mecânicos, conforme mostra a Figura 2.



**Figura 2.** Desenho representativo da presença de horizontes em solos, cada qual apresentando diferentes propriedades.

No tocante ao intemperismo biológico, a atividade de macro e de microrganismos presentes nos solos pode levar à formação do húmus, o qual apresenta uma composição química heterogênea, complexa e variável, de natureza coloidal, orgânica e ácida<sup>12</sup>.

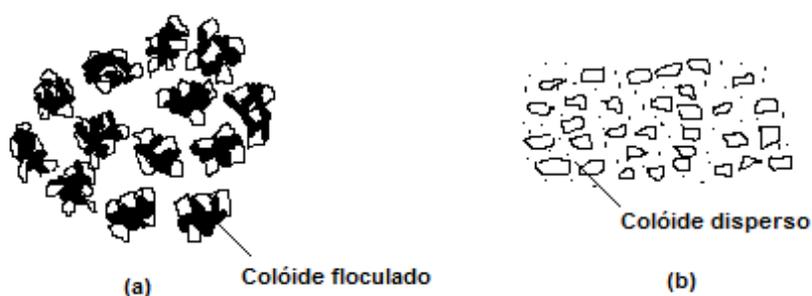
Tal fração do solo é responsável pelo aumento das interações entre partículas minerais (argilas e óxidos), atuando desse modo como agentes cimentantes de agregados, sofrendo ao longo do tempo processos de mineralização mais lentos que no caso da matéria orgânica de estrutura mais simples (mineralização secundária)<sup>12</sup>.

A presença de agregados leva à porosidade do solo, característica esta de vital importância para a manutenção da vida. Assim o solo apresenta uma estrutura formada pela matéria sólida e espaços vazios, ou poros<sup>12</sup>.

Os poros menores são ocupados por água, enquanto que os poros maiores são preenchidos por gases<sup>12</sup>, sendo que a distribuição relativa desses dois tipos de poros

confere um conjunto de propriedades físicas fundamentais do solo: a aeração, retenção de água, dispersão e floculação, etc.

Quando as partículas coloidais se aglomeram umas às outras, floculação, a formação de uma estrutura porosa é favorecida. Caso contrário, haverá menor grau de porosidade no solo (Figura 3).



**Figura 3.** Representação geral das estruturas do solo: com boa porosidade (a), com pouca porosidade (b). No caso (a), graças à presença de agentes cimentantes floculados há coesão entre partículas minerais do solo. No caso (b) tais agentes se encontram em estado disperso graças à presença de íons como  $\text{Na}^+$ , situação essa corrente em solos alcalinos.

A mineralização corresponde a um tipo de degradação microbiana que acarreta a liberação de compostos minerais solúveis, como os íons  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{SO}_4^{2-}$ , e espécies gasosas como, por exemplo, o  $\text{CO}_2$ . Uma característica desse processo é a rápida cinética associada aos meios biologicamente ativos<sup>12</sup>.

## 1.4. O solo como um sistema vivo – aspectos ecológicos

O solo é o extraordinário habitat de diferentes formas de vida, cada qual com suas peculiaridades, exigências nutricionais e ambientais específicas.

Nesse ambiente coexistem diferentes organismos, que estabelecem diferentes formas de interrelação, sejam entre diferentes espécies, sejam entre células da mesma espécie<sup>13</sup>. Essas interrelações são dinâmicas e mudam ao longo do tempo, já que as condições ambientais variam largamente, não só pela atividade dessas formas de vida e suas interrelações, como também por outros fatores<sup>13</sup>.

Na relação meio ambiente-formas de vida do solo, pode-se dizer que os microrganismos são agentes geoquímicos, sendo que a relação abiótica/biótica promove um incessante fluxo de matéria e de energia entre esses dois sistemas, fluxo este favorecido pela luz solar.

Inicialmente, esse fluxo de energia se processa pela produção primária de moléculas reduzidas, na forma de carboidratos<sup>14</sup>, sendo que essa primeira etapa está a cargo dos produtores primários, como os vegetais superiores, as algas, e algumas bactérias como as cianobactérias<sup>11</sup>.

Essa energia transformada pode ser usada sucessivamente por muitos organismos, de modo que se estabelece uma cadeia alimentar, havendo assim fluxos energéticos e de matéria ao longo de diferentes ecossistemas<sup>15</sup>.

Além de energia oriunda do sol, os produtores primários necessitam do CO<sub>2</sub> presente no ambiente, o qual atua como fonte de carbono na construção das moléculas.

Fundamentalmente, as cadeias alimentares que se estabelecem nos solos quando se consideram os fluxos de energia de matéria existentes são constituídas por quatro níveis tróficos<sup>2</sup>.

Os microrganismos que compõem o segundo nível trófico ou maiores níveis podem ser divididos no caso especial de solos, em cinco grupos<sup>13</sup>: bactérias, actinomicetos, fungos, algas e protozoários.

As bactérias estão presentes em maior número nos solos, não obstante aportarem com menos da metade do tecido microbiano total presente<sup>13</sup>.

Esse grupo se destaca frente aos outros em razão da rápida capacidade de crescimento e da variedade de substratos naturais que decompõem, atuando assim como vorazes recicladoras da matéria<sup>13</sup>.

Os actinomicetos apresentam estrutura filamentosa semelhante à dos fungos,

sendo que seus filamentos apresentam diâmetro na faixa de 0,5 a 1,0  $\mu\text{m}$ , menor que a correspondente faixa para fungos (2,0 a 10  $\mu\text{m}$ )<sup>16</sup>. No ambiente se desenvolvem mais lentamente que bactérias e fungos, sendo heterotróficos, e desse modo, condicionados pela presença de substratos orgânicos<sup>13</sup>.

Os fungos, no entanto são organismos não fotossintéticos, podem apresentar estruturas vegetativas conhecidas por micélios<sup>16</sup>, com a exceção das leveduras, atuando como decompositores de materiais orgânicos, logrando atacar além de proteínas e açúcares, compostos mais complexos e de maior dificuldade de metabolização como a celulose, o amido, as gomas, a lignina etc<sup>2</sup>.

Os fungos são os grandes responsáveis pelo processo de humificação e estabilização de agregados, vivendo em horizontes mais superficiais dos solos de florestas, bem como em solos ácidos e arenosos<sup>2</sup>.

As algas são organismos fotossintetizantes pertencentes aos produtores primários, presentes dessa forma no primeiro nível trófico das cadeias alimentares do solo. Em razão da necessidade de luz solar, habitam regiões mais superficiais do solo, sendo organismos mais independentes relativamente à matéria orgânica e fontes energéticas que não sejam o sol. No entanto, torna-se imprescindível para a sobrevivência de tais organismos o aporte de água,  $\text{CO}_2$ , nitrogênio, potássio, fósforo, magnésio, enxofre, ferro e outros micronutrientes em formas inorgânicas<sup>13</sup>.

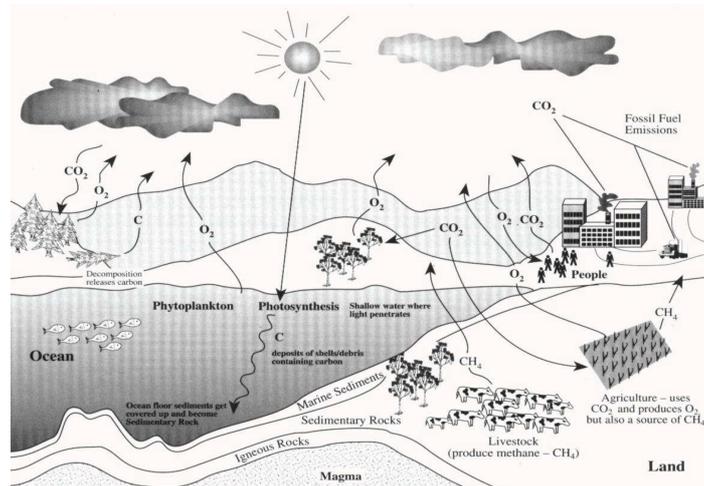
Os protozoários são organismos eucarióticos encontrados proximamente à superfície do solo<sup>1</sup>. Sua comunidade é maior onde as bactérias se destacam, uma vez que algumas espécies de protozoários vivem graças à predação de bactérias, podendo contribuir nesse caso para o controle da dinâmica populacional deste grupo de microrganismos<sup>13</sup>.

Nos solos há diferentes ciclos associados à reciclagem de nutrientes em que se tornam evidentes as interações de troca entre o fator biótico e o fator abiótico, ou seja, o ambiente<sup>17</sup>.

Durante o processo de reciclagem de nutrientes dois processos ocorrem simultaneamente: mineralização, e imobilização<sup>17</sup>.

A imobilização corresponde à absorção e à incorporação à biomassa de certos organismos, de nutrientes inorgânicos presentes no solo, enquanto que a mineralização diz respeito à absorção da parte orgânica do substrato do solo. Na mineralização, parte do substrato orgânico é perdida como  $\text{CO}_2$ , com a conseqüente liberação de energia na forma de calor, além de outros elementos como nitrogênio retornarem ao ambiente na forma de íons.

O ciclo do carbono (figura 4) é um fenômeno extremamente importantes, e a ele está atrelada boa parte da vida no planeta. Nesse ciclo, os produtores primários fixam o carbono em seus tecidos a partir dos processos fotossintéticos que executam. A matéria orgânica então produzida flui aos outros níveis, de forma a satisfazer as necessidades das diferentes formas de vida presentes.



**Figura 4.** Representação esquemática do ciclo do carbono, onde diferentes níveis tróficos estão intimamente relacionados.

Calcula-se que a matéria orgânica presente em solos do mundo contém aproximadamente três vezes mais carbono que toda a vegetação mundial, e que a cada instante aproximadamente  $2,4 \times 10^{15}$  gramas de carbono são armazenados em perfis de solos como matéria orgânica<sup>2</sup>.

A mineralização da matéria orgânica leva a emissões de CO<sub>2</sub> à atmosfera, espécie que poderá novamente ser absorvida por produtores primários, sendo que, todavia, a contribuição antrópica, fomentada pelo aumento da demanda da sociedade moderna, ou através de práticas agrícola como as queimadas, reduzem a quantidade de matéria orgânica em solos de campos, também contribuindo desse modo com emissões de carbono, o que em conjunção com as outras práticas têm levado ao aquecimento global verificado nos últimos tempos<sup>2</sup>.

Dessa forma, a integração entre fatores bióticos e abióticos presente nesse magnífico ciclo não pode ser desconsiderada e deixada em segundo plano conforme agimos sobre o meio-ambiente.

## 1.5. Aspectos bioquímicos, fisiológicos, e energéticos de microorganismos

“... Em geral, respiração é nada mais que uma lenta combustão de carbono e hidrogênio que é inteiramente similar ao que ocorre em um candeeiro aceso ou a uma vela...”

Memória escrita por Armand Seguin e Antoine Lavoisier em 1789, citada em: *Oeuvres de Lavoisier*, Imprimerie Impériale, Paris, 1862.

Com um pouco de reflexão pode-se inferir que a vida, segundo um ponto de vista puramente biológico, se resume a dois objetivos: crescimento, e reprodução, sendo que para se cumprir esses dois objetivos os microrganismos desenvolveram diferentes capacidades nutricionais e táticas biológicas.

As células para crescerem necessitam de energia, sendo parte dessa direcionada aos processos de biossíntese. A energia útil para se realizar diferentes tipos de trabalho em um organismo (energia livre, G) se origina dos processos oxidativos que ocorrem em organismos vivos.

Tanto os processos oxidativos, quanto os de síntese de macromoléculas (reduativos) se inserem no conjunto de reações químicas que ocorrem em sistemas vivos, conjunto este denominado metabolismo<sup>19</sup>.

Os processos metabólicos são divididos em duas categorias: aqueles em que a energia química é liberada, que são denominados catabólicos, os quais apresentam natureza oxidativa, e aqueles que requerem investimento energético para ocorrer e que são denominados anabólicos<sup>17</sup>.

Essencialmente, a energia pode ser derivada da atuação de mitocôndrias ou devido à presença de enzimas específicas presentes ao longo da membrana celular<sup>19</sup>.

Algumas bactérias, as algas e todos os vegetais superiores derivam a energia de que necessitam para crescer a partir de uma certa faixa de comprimentos de onda da radiação eletromagnética proveniente do Sol. Tais organismos são chamados de fototróficos. Exemplos de microrganismos fototróficos são as cianobactérias, ou cianofíceas, e bactérias da família *Rhodospirillaceae* (bactérias púrpuras sem enxofre)<sup>20</sup>.

No entanto, há microrganismos que derivam sua energia de íons presentes no meio, através de processos de oxidação e redução. Tais organismos são denominados quimilitotróficos<sup>16</sup>. Exemplos interessantes desse grupo são as bactérias nitrificadoras dos gêneros *Nitrosomonas*, e *Nitrobacter*<sup>21</sup>.

Um outro grupo de microrganismos, no entanto, deriva a energia de que

necessitam a partir da oxidação de matéria orgânica, sendo estes chamados de quimiorganotróficos<sup>16</sup>.

Em relação aos substratos passíveis de oxidação, algumas formas de vida, como os vegetais superiores e certos microrganismos conseguem sintetizar seus componentes celulares a partir do CO<sub>2</sub>, sendo essa a principal fonte de carbono de que necessitam. Tais organismos são chamados autotróficos, ou litotróficos<sup>21,16</sup>.

Todavia, os organismos que dependem de substratos orgânicos como fonte de carbono podem ser chamados de heterotróficos, ou organotróficos<sup>21,16</sup>.

Existem desse modo quatro combinações possíveis das categorias de organismos segundo uma classificação nutricional, englobando a energia e a fonte material<sup>16</sup>:

- Tróficos – Incluem os vegetais superiores, algas eucarióticas, cianobactérias e certas bactérias (sulfobactérias púrpuras e verdes).
- Fotoorganotróficos – Abrange um grupo de bactérias conhecidas como bactérias púrpuras não associadas ao metabolismo do enxofre e algumas algas eucarióticas.
- Quimiolitotróficos – Organismos que empregam compostos inorgânicos como fontes de energia, doadores de elétrons. Além disto, empregam o CO<sub>2</sub> como sua principal fonte de carbono e abarcam os organismos que empregam formas reduzidas do nitrogênio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>), Fe<sup>2+</sup>, compostos reduzidos de enxofre (S<sup>2-</sup>, S<sup>0</sup>, S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup>), ou H<sub>2</sub> como fontes oxidáveis de energia. Exemplos: bactérias nitrificadoras dos gêneros *Nitrosomonas* e *Nitrobacter*.
- Quimiorganotróficos – Organismos que dependem de fontes de energia, vindas de transformações de compostos orgânicos.

No solo existem muitos desses tipos de organismos, os quais estabelecem uma complexa rede de relações. Além de carbono, hidrogênio, nitrogênio, oxigênio e de energia, o metabolismo de todos os organismos depende de certos íons inorgânicos, os quais são considerados como nutrientes. Estes incluem potássio, magnésio, manganês, cálcio, ferro, cobalto, cobre, zinco e molibdênio, dentre outros específicos a cada espécie<sup>10</sup>. Alguns dos elementos essenciais como o zinco, cobre, e molibdênio são imprescindíveis à atividade de enzimas específicas<sup>10</sup>.

Outro tipo de classificação dos organismos leva em conta o metabolismo energético; nesse caso, as diferentes formas de vida são classificadas em aeróbias, ou anaeróbias.

- Organismos aeróbios – O oxigênio molecular, O<sub>2</sub>, atua como aceptor de elétrons.

- Organismos anaeróbios – Outra espécie química, diferente do O<sub>2</sub>, atua como aceptora de elétrons. Tais organismos devem viver na ausência desse gás<sup>13</sup>.

No entanto, existem organismos que podem se desenvolver tanto na ausência quanto na presença de oxigênio, sendo conhecidos como anaeróbios facultativos<sup>13</sup>.

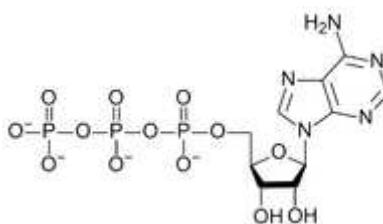
Em relação aos processos que culminam com a transformação de energia de sua forma química, em uma forma útil (energia livre, G), os substratos orgânicos ou inorgânicos passíveis de sofrerem processos oxidativos são os principais responsáveis pelos aportes energéticos associados ao catabolismo.

Havendo liberação de energia através de processos catabólicos, torna-se imprescindível a existência de mecanismos que controlem o fluxo energético, como aqueles associados a diferentes moléculas enzimáticas presentes nas membranas celulares<sup>22</sup>.

O fato de existirem tais mecanismos implica na existência de uma organização mais ou menos complexa nos organismos vivos, sendo esta uma característica intrínseca de todas as formas de vida.

Para se manter essa organização é necessário o aporte de energia em um sistema biológico, havendo, destarte, necessidade de fornecimento de energia através de algum mecanismo que seja econômico por parte das células.

Um exemplo de estrutura controladora do fluxo energético é uma molécula ímpar no metabolismo, conhecida por ATP (trifosfato de adenosina).



**Figura 5.** Estrutura da molécula de ATP.

Caso não houvesse estruturas controladoras do fluxo energético como essa, as células literalmente sofreriam processo descontrolado de combustão, uma vez que grande quantidade de energia de uma só vez seria liberada.

A molécula de ATP pode ser considerada como uma das principais estruturas repositórias de energia das células. Ela é continuamente formada e, em alguns processos como nas mudanças conformacionais de algumas proteínas, sofre hidrólise liberando

energia, e um grupo fosforila,  $P_i$ :



Em seres fototróficos o ATP é formado a partir de energia solar, enquanto que nos organismos restantes passa a ser sintetizado a partir da oxidação de moléculas orgânicas.

De um modo geral, os processos oxidativos levam à degradação de substratos orgânicos, o que implica em uma transformação energética, de modo que a energia esteja em uma forma mais disponível para as células, possibilitando seu aproveitamento para processos biossintéticos, os quais são imprescindíveis para o crescimento celular.

Deve-se acrescentar que nem toda energia é convertida em trabalho ao nível celular graças ao catabolismo.

Com base no Segundo Princípio da Termodinâmica, parte da energia associada a diferentes processos é perdida em uma forma não-útil, culminando desse modo com a geração de entropia, fato que se reflete na liberação de energia para o meio ambiente, na forma de calor. Essa liberação é o objeto de medição do calorímetro.

## 1.6. Cana-de-açúcar: história, características fisiológicas, cultivo e sociedade.

A cana-de-açúcar vem sendo cultivada há muito tempo em nosso planeta e, em razão dos múltiplos cruzamentos entre diferentes espécies dessa gramínea perene, torna-se muito difícil estabelecer suas origens<sup>22</sup>. Todavia, investigadores consideram que a espécie original foi *Saccharum robustum*, sendo os sítios de origem considerados como a Nova Guiné e ilhas vizinhas<sup>22</sup>.

Como em muitas espécies vegetais presentes em nosso planeta, a tendência inicial foi de dispersão, tarefa executada por horticultores neolíticos que levaram a cana-de-açúcar para o oeste (Célebes, Filipinas, Borneu, Sumatra, Malásia e Índia), e ao noroeste (Filipinas, Indochina, e China). Foi na Índia e na China que o açúcar passou a ser extraído pela primeira vez a partir da cana-de-açúcar com fins comerciais<sup>26</sup>.

A introdução da cana-de-açúcar na América ocorreu a partir da segunda viagem de Cristóvão Colombo, quando foram levadas estacas de cana das Ilhas Canárias até a ilha atualmente chamada de República Dominicana.

Graças ao grande número de viagens ao longo de nosso continente, a cana-de-açúcar foi introduzida na maioria dos países tropicais da América e durante muito tempo passou a ser a principal riqueza agrícola dessas nações.

Na Europa, por muito tempo o açúcar foi um artigo de luxo até que a partir da introdução do cultivo da cana na América, devido às grandes quantidades produzidas, seus preços diminuíram a ponto de o açúcar se tornar um produto mais acessível à população.



**Figura 6. (a)** Canavial em estágio inicial de crescimento; **(b)** Canavial em estágio mais

avançado de crescimento ao longo de um carreador.

A cana-de-açúcar é constituída por aproximadamente 99% de átomos de carbono, hidrogênio e oxigênio, sendo que de 65 a 75% de sua massa total corresponde à água, enquanto que 20 a 30% a matéria seca<sup>22</sup>.

Graças ao processo de fotossíntese, a assimilação de carbono pela planta é máxima durante as manhãs, sendo que primeiramente ocorrem sínteses de hexoses como a glicose e a frutose, havendo grande aproveitamento energético<sup>22</sup>.

No entanto, o processo de síntese de carboidratos,  $(CH_2O)_n$ , não necessita totalmente de luz solar, uma vez que na ausência desta as hexoses podem ser transformadas por meio de processos anabólicos em compostos de doze átomos de carbono, como a sacarose (açúcar comum) e polissacarídeos (amido e celulose)<sup>22</sup>.

A absorção de água e de elementos minerais ocorre principalmente nas raízes, podendo ser também destacado o papel da absorção foliar, que se manifesta em determinados momentos na presença de orvalho nos períodos de seca e quando há adubação foliar<sup>22</sup>.

Em nosso país são realizadas três tipos de colheita da cana<sup>24</sup>:

- (i) Semi-mecanizada – Há limpeza do canavial após processo de queima, com posterior corte manual, e transporte mecanizado feito por meio de guias transportadoras.
- (ii) Mecanizada com queima – Há limpeza da cana queimada, corte e transporte mecanizados, realizados com o emprego de colheitadeiras de cana picada.
- (iii) Mecanizada com colheita de cana crua – Há corte, limpeza e carregamento mecanizados, feitos com colheitadeiras de cana picada.

Por que motivo se queima um canavial? Quando há ingresso de mão-de-obra no canavial para se realizar o trabalho manual de corte da cana, há inevitável contato das folhas cortantes com o corpo dos trabalhadores, o que pode favorecer acidentes; além do mais, há presença de animais peçonhentos nas lavouras, e o fogo seria um modo fácil de afugentar tais animais, além de possibilitar a destruição de folhas mesmo que de forma incompleta (Figura 7).

Além do mais, algumas lavouras não adotam o sistema de mecanização em razão dos terrenos serem irregulares, havendo assim presença de declividades que poderiam causar acidentes com o maquinário necessário ao labor da colheita.

Sabe-se que a presença de tecnologia no campo, exemplificada pela mecanização

das lavouras, proporciona um incremento da produtividade e maior lucro. No entanto não podemos nos esquecer do impacto social causado pela mecanização, representado pelo ingresso dos trabalhadores rurais nas grandes cidades (Figura 8).



(a)



(b)

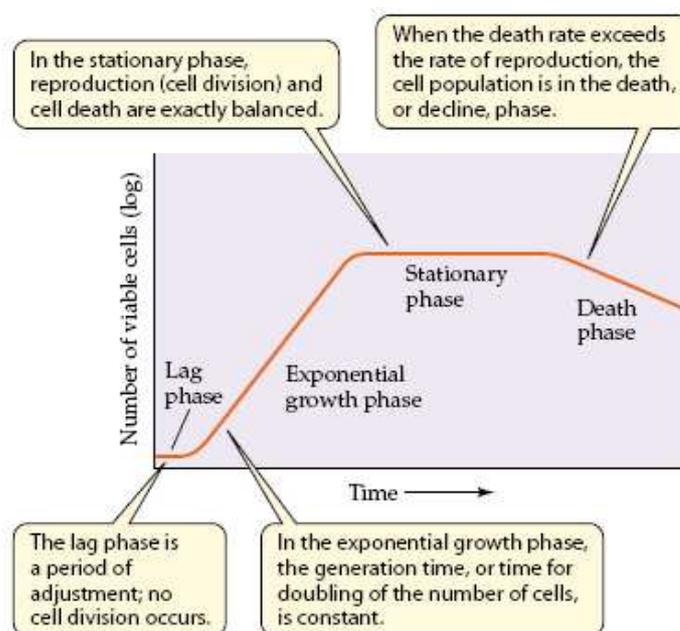
**Figura 7. (a)** Prática da queima de canaviais **(b)** Cortador de cana. Google images.



**Figura 8.** Exemplo de colheita mecanizada. Google images

## 1.7. Princípios de calorimetria aplicados ao estudo de solos.

O crescimento celular microbiano apresenta basicamente 4 fases de crescimento (Figura 9), cujas designações em língua inglesa são: lag phase, exponential phase, stationary phase, e death phase<sup>1,25</sup>, que poderiam ser traduzidas como: fase de latência, fase de crescimento exponencial, fase estacionária e fase de morte celular, respectivamente.



**Figura 9.** Representação gráfica das quatro fases de crescimento microbiano.

Na fase de latência as células estão inseridas em um novo ambiente. Essa é uma fase de adaptação, uma vez que novas enzimas, coenzimas e outros compostos têm que ser sintetizados para que os novos substratos presentes no meio possam ser metabolizados<sup>25</sup>.

Quando começa a fase exponencial, o crescimento celular é substancialmente favorecido, uma vez que as células se mostram adaptadas ao novo ambiente ao qual estão inseridas; o crescimento ocorre de uma forma logarítmica<sup>25</sup>.

A etapa seguinte corresponde à fase estacionária, quando há um acúmulo de metabólitos em níveis de toxicidade celular e o número de microrganismos que nascem é igual ao dos que morrem<sup>25</sup>.

A última etapa corresponde à fase de morte, em que se observa redução da atividade microbiana e/ou a morte de alguns microrganismos. Nessa fase, a taxa de morte de microrganismos excede à de geração de novas células<sup>25</sup>.

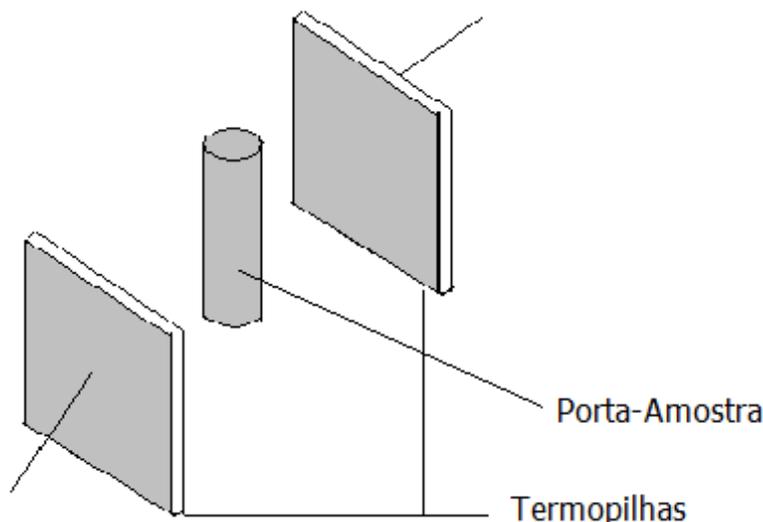
Dentre as diferentes técnicas que propiciam o monitoramento da atividade microbiana de solos e o estudo do crescimento de microrganismos, a calorimetria se mostra uma técnica analítica útil, pois possibilita estudos *in situ* por um tempo prolongado sem que haja qualquer distúrbio do sistema<sup>26,27</sup>.

Além disso, a calorimetria apresenta grande potencial para o entendimento do comportamento da biomassa, pois propicia uma informação mais quantitativa em comparação com outras técnicas conhecidas<sup>28,29</sup>.

Do ponto de vista calorimétrico, o processo de crescimento microbiano pode ser considerado lento, quando comparado com a maioria dos processos estudados. Dessa forma, os calorímetros mais apropriados para acompanhar esse processo são do tipo condução térmica ou de compensação. Os calorímetros isoperibólico e adiabático não são utilizados para esse propósito.

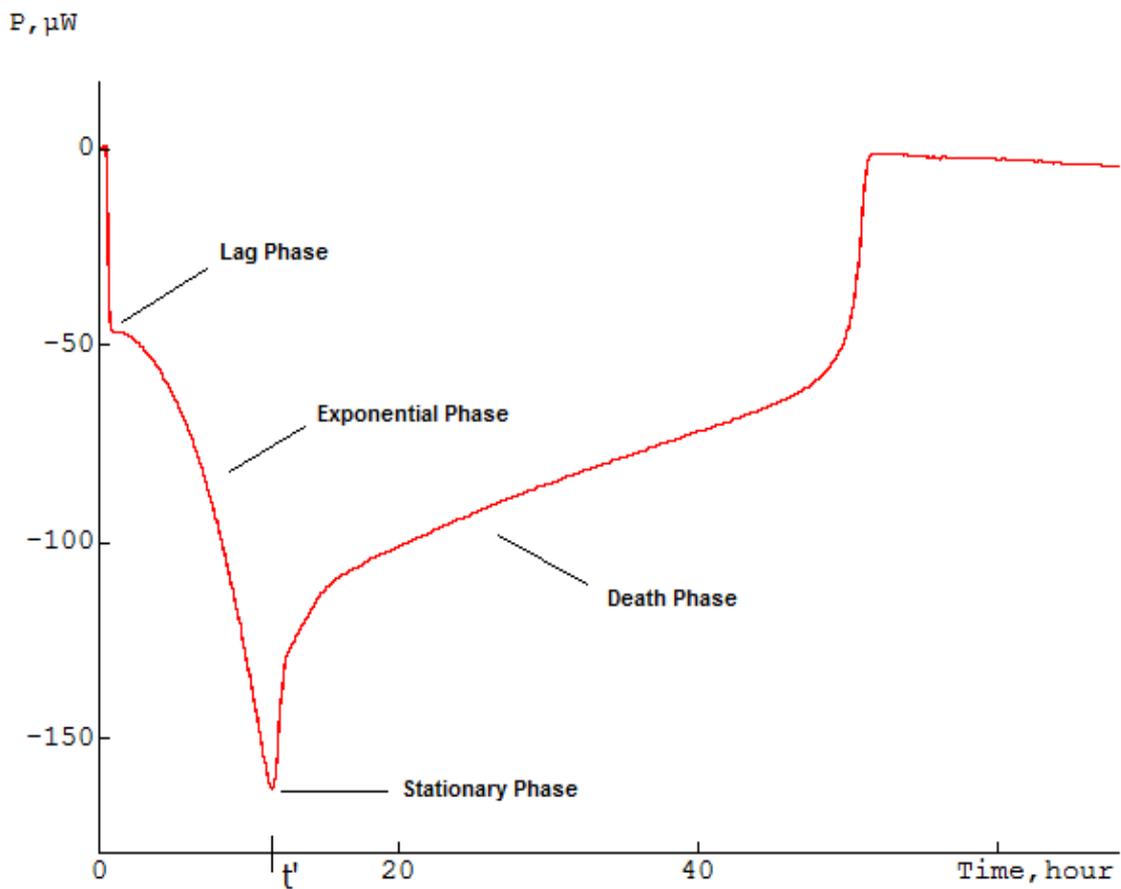
O microcalorímetro empregado no presente trabalho é do tipo condução térmica, sendo adequado para monitorar eventos térmicos de curta e longa duração, sendo esse último exemplificado pelo crescimento de microrganismos.

A cela calorimétrica, onde se coloca a amostra de solo, em essência, encontra-se entre duas termopilhas e todo o conjunto permanece inserido em um termostato cuja temperatura se mantém constante em 298 K. Conforme um processo biológico ocorre, a energia liberada passa pelas termopilhas, e esse fluxo é registrado como um sinal elétrico de potência ( $\mu\text{W}$ ) em função do tempo (s) (Figura 10).



**Figura 10.** Representação simplificada da célula calorimétrica.

É interessante observar o aspecto da curva na Figura 9. Vê-se que ela se assemelha, de certa forma, à Figura 11, sendo que esta ao invés de registrar a quantidade de células vivas no eixo das ordenadas, registra a energia dissipada por unidade de tempo. Ora, se cada microrganismo libera uma quantidade de energia, a curva calorimétrica é um reflexo fiel das diferentes fases do crescimento microbiano, como suportado pela literatura<sup>1</sup>.



**Figura 11.** Curva calorimétrica típica de crescimento microbiano.

## 2. Trabalho



## **2.1. Objetivos**

O presente trabalho visa à investigação de atributos físicos e químicos e biológicos de amostras de solo de uma região sob cultivo de cana, do município de Jaboticabal, do Estado de São Paulo, para se avaliar possíveis relações destes atributos e das condições de manejo da cultura da cana com a atividade microbiana, utilizando-se a calorimetria.

## 2.2. Parte Experimental

### 2.2.1. Amostragem de solo

As amostras de solo empregadas foram coletadas na Usina São Martinho, localizada no município de Pradópolis, Estado de São Paulo, no dia 3/4/2008. Estas consistiam em dois tipos: amostras deformadas e indeformadas.

As amostras indeformadas são aquelas onde não se realiza nenhum trabalho mecânico desde a coleta até o acondicionamento. Elas são coletadas em anéis volumétricos empregados em análises pedológicas, que consistem em pequenos cilindros metálicos ocos. Tais tipos de amostra são empregadas para o estudo de atributos como a porosidade e a densidade.

As amostras deformadas foram empregadas para se realizar os demais testes físicos: análise de argila dispersa em água, granulometria, e as análises químicas: carbono total, pH e determinação do teor de matéria orgânica através das técnicas de DSC e de TGA,.

Previamente às coletas foram removidas pequenas quantidades de serrapilheira relacionadas à camada superior do solo, sendo então retiradas amostras nos primeiros 5 centímetros de profundidade empregando-se pá e anéis volumétricos.

Quatro tipos de amostra foram estudados, sendo estes divididos em duas condições: solos de áreas não submetidas ao processo de queima de cana, em que há acúmulo de matéria vegetal e solo de área queimada.

Nas condições em que não houve queima foram estudados solos onde houve manejos de cana com 2, 4 e 7 cortes sucessivos. Após cada corte de cana em tais manejos mecanizados, os restos do vegetal não aproveitados pela usina (palhada), são mantidos sobre os respectivos solos (Figura 12). Onde houve queima do canavial, a colheita da cana foi realizada manualmente.



**Figura 12.** Foto de porção de terra cultivada com cana-de-açúcar onde não se praticou a queima. Nota-se a presença de restos da cultura sobre o solo.

Para cada amostra estudada, foram coletadas 5 amostras por meio de 5 anéis volumétricos. As amostras deformadas foram coletadas e divididas em duas parcelas, cada uma acondicionada em uma embalagem de polietileno, e armazenada a cerca de 4 °C.

As amostras foram coletadas em regiões distantes das fronteiras com estradas vicinais, evitando-se desse modo a interferência do tráfego com relação aos atributos físicos do solo.

### **2.2.2. Análises físicas**

As análises físicas foram realizadas no Laboratório de Solos, da Faculdade de Engenharia Agrícola – Feagri.

**Nota:** As descrições contidas neste tópico se baseiam no procedimento desenvolvido no Instituto Agrônomo de Campinas e tratado por Camargo et al., 1986<sup>30</sup>.

#### **2.2.2.1. Análise granulométrica**

A análise granulométrica foi realizada pelo método denominado “método da pipeta”. Tal procedimento se baseia na sedimentação das partículas que compõem o solo ao longo de uma proveta.

Primeiramente se prepara uma suspensão aquosa do solo a ser estudado, havendo em seguida adição de um dispersante químico (NaOH ou Calgon).

Agita-se a suspensão, deixando-a por fim em repouso por certo intervalo de tempo, o qual é dependente da temperatura do ambiente. Após esse intervalo de tempo coleta-se um volume da suspensão, que é colocado em estufa a 105° C, durante aproximadamente

12 horas para que haja eliminação da água presente. Ao final dessa etapa, a amostra sólida restante é pesada e a fração de argila determinada.

As frações de material de maior dimensão: areia grossa e areia fina são separadas por tamisagem do solo, utilizando-se peneiras apropriadas. As frações coletadas são secas em estufa e pesadas para obtenção dos teores de diferentes frações dos solos. A fração conhecida como silte é obtida por diferença entre as massas das frações areia e argila.

#### **2.2.2.2. Análise de argila dispersa em água**

O grau de floculação do solo foi avaliado através da análise de argila dispersa em água, o qual se refere à argila responsável pela formação de uma dispersão coloidal em água destilada na ausência de eletrólitos.

O grau de floculação e o grau de dispersão são atributos do solo que indicam aspectos da estabilidade da estrutura ou o grau de agregação existente. Quanto maior for a proporção de argila dispersa em água, maior é o grau de dispersão e, desse modo, menor é o grau de floculação do solo, indicando menor estabilidade da estrutura.

Solos com baixos teores de matéria orgânica e sesquióxidos de ferro e alumínio apresentam maiores proporções de argila dispersa, uma vez que esses são agentes responsáveis pela coesão em agregados dos solos.

Durante a realização dessa análise se pesam 10 g de terra fina seca ao ar (TFSA: solo peneirado em tamis de 2,00 mm de abertura de malha e seco por cerca de 24 horas no ambiente, sendo a amostra transferida para uma garrafa de Sthomann de 500 mL.

Em seguida, adicionam-se 100 mL de água destilada e se coloca o sistema em um agitador de Wiegner a 40 rpm, de 14 a 16 horas. A suspensão obtida é transferida para uma proveta graduada de 500 mL e o volume é completado com água. A suspensão é então agitada por 30 segundos com um bastão de vidro que apresenta um êmbolo de borracha em uma das extremidades.

Após as etapas prévias, espera-se um tempo determinado para sedimentação, de acordo com a temperatura da solução. Em seguida, pipetam-se 10 mL da suspensão a 5 cm do nível superior da coluna na proveta.

Transfere-se, então, essa alíquota para um béquer previamente tarado, sendo o conjunto colocado em estufa a 105 °C, por aproximadamente 12 horas, determinando-se então a massa do sólido obtido.

O grau de floculação (GF%) é obtido empregando a equação 3:

$$GF(\%) = [(argila\ total - argila\ dispersa) / argila\ total] \times 100 \quad (eq. 3)$$

em que **argila total** se refere ao teor de argila obtido a partir da análise granulométrica; a **argila dispersa** e o **teor de argila** calculado são obtidos a partir da pesagem realizada depois da secagem, com base no procedimento de argila dispersa; GF(%) refere-se ao grau de floculação percentual.

O grau de dispersão percentual [GD(%)] é calculado com base na equação 4:

$$GD(\%) = 100 - GF(\%) \quad (eq. 4)$$

### 2.2.2.3. Densidade e porosidade do solo

As determinações de porosidade e a densidade dos solos foram realizadas com amostras indeformadas, as quais foram obtidas com o emprego de anéis volumétricos.

As amostras inicialmente coletadas em anéis metálicos passam por um processo de hidratação em um recipiente onde há água. Após estarem saturadas com esse solvente, as amostras são dispostas em placas extratoras de Richards, as quais permitem a aplicação de diferentes valores de tensão nos anéis, simulando as tensões presentes nos solos. Conforme se aumenta a tensão na panela, as amostras nos anéis vão perdendo mais umidade.

Inicialmente é removida a água presente em macroporos, enquanto que em estágios mais avançados a água mais fortemente retida (presente nos microporos) passa a ser removida. Para cada valor de tensão aplicada, espera-se que o sistema alcance um estado de estabilização, tirando-se em seguida os anéis da panela e medindo-se suas massas.

Ao final da análise, que em geral dura meses (para o presente trabalho, a análise durou cerca de 3 meses), obtém-se uma curva de retenção de água em função da tensão aplicada. O tratamento matemático dessa curva permite obter atributos como a porosidade total, macroporosidade, microporosidade e densidade de partículas.

No presente trabalho foram empregadas as tensões de: 0; 2; 6; 10; 20; 30; 50; 75; 100; e 300 KPa. Os valores de porosidade calculados costumam ser representados em unidade de metros cúbicos de espaço livre por metros cúbicos de solo.

A densidade do solo é o valor da razão entre a massa de solo seco e o volume.

## 2.2.3. Análises químicas

### 2.2.3.1. Teor de carbono total

Uma das formas de se avaliar a matéria orgânica presente no solo é por meio da determinação do teor de carbono total<sup>31</sup>. A técnica básica consiste na oxidação da matéria orgânica do solo em meio ácido, empregando-se solução de dicromato de potássio.

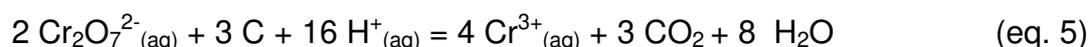
A uma pequena massa de solo (geralmente em torno de 0,1 g), devidamente peneirada em tamis de abertura de malha de 2,00 mm, adicionam-se 20 mL de solução concentrada de ácido sulfúrico e um volume conhecido de solução de dicromato, em excesso, para a oxidação da matéria orgânica.

Promove-se em seguida a agitação do sistema por aproximadamente 1 minuto, sendo que, *a posteriori*, o sistema é mantido em repouso por 30 minutos. Adicionam-se, então, 200 mL de água e filtra-se a suspensão.

Antes de se realizar a titulação, são adicionadas de 3 a 4 gotas do indicador ortofenantrolina, empregando-se uma solução de FeSO<sub>4</sub>, 0,5 mol L<sup>-1</sup> como titulante do dicromato que restou. A titulação de um branco sem a amostra de solo é utilizada para se determinar a quantidade total de dicromato adicionado.

Nessa análise considera-se que todos os átomos de carbono presente na amostra apresentam nox igual a zero.

A equação da reação utilizada nessa determinação é :



O teor de carbono total pode ser calculado se considerando a estequiometria da equação acima e a massa de solo empregada.

### 2.2.3.2. Acidez

As determinações de pH foram realizadas em água desionizada<sup>32</sup>, empregando pHmetro Quimis Q 400A.

No procedimento empregam-se 10 gramas de solo seco ao ar (diâmetro de partículas < 2 mm), aos quais são adicionados 20 mililitros de água deionizada. Agita-se a suspensão intermitentemente por 30 minutos, deixando-a então em repouso por

aproximadamente 1 hora. Por fim, submerge-se o eletrodo no sobrenadante, aguardando o tempo necessário para o valor de pH se estabilizar.

## **2.2.4. Análises térmicas**

### **2.2.4.1. DSC e TGA**

Essas duas técnicas são geralmente empregadas com propósitos de caracterização e quantificação de matéria orgânica, água e quartzo<sup>33</sup>.

Embora se utilizem condições de análise semelhantes nas técnicas TGA (análise termogravimétrica) e DSC (calorimetria diferencial de varredura), a correlação de informações envolve incertezas, já que se tratam de instrumentos diferentes e amostras diferentes em vários sentidos.

Foram empregados aparelho de DSC modelo 2050 TA Instruments, e aparelho de TGA modelo 2910 TA Instruments.

As condições de análise foram de aquecimentos entre 298 e 873 K e taxa de aquecimento de 10 K min<sup>-1</sup>, havendo fluxo de ar sintético na vazão de 10 cm<sup>3</sup> min<sup>-1</sup>.

### **2.2.4.2. Calorimetria**

Para se realizar as determinações calorimétricas foi empregado o microcalorímetro modelo Thermometric 2277.

Amostras de 1 grama do solo são colocadas em celas de aço inox, após terem sido retiradas do ambiente a 278 K. As amostras pesadas são mantidas fechadas na cela calorimétrica por 24 horas antes do experimento calorimétrico a temperatura de 298 K. Após esse tempo, a cada amostra se adiciona 200 µL de solução contendo o substrato, nesse caso correspondendo a soluções aquosas de glicose na concentração 5,3 g dm<sup>-3</sup>.

As ampolas de aço têm um volume interno de 4 cm<sup>3</sup>, sendo que a amostra presente em seu interior é separada do ambiente calorimétrico por uma membrana de polietileno permeável a CO<sub>2</sub> e não permeável à água.

Logo que a amostra de solo recebe a solução contendo o substrato, a ampola é fechada e inserida no canal de medida do calorímetro em um ambiente pré-termostatizado. Neste compartimento, a amostra é mantida por aproximadamente 30 minutos, sendo depois colocada na posição de leitura do instrumento.

O registro calorimétrico obtido é um gráfico de potência em função do tempo. A

análise e o tratamento matemático desse registro permitem a obtenção dos dados necessários para se estabelecer a discussão.

No caso do presente trabalho, as condições de operação do calorímetro foram: sensibilidade 1000  $\mu\text{W}$  e registros a cada 300 segundos. O procedimento de calibração elétrica do calorímetro foi realizado conforme o protocolo do fabricante e as determinações foram realizadas em triplicata.

Para se compreender a aplicabilidade da microcalorimetria com respeito ao estudo da atividade dos microrganismos, deve-se entender que o seu crescimento está relacionado a três conceitos importantes em bioquímica: metabolismo, catabolismo e anabolismo, como mencionado previamente na seção que trata dos aspectos bioquímicos dos microrganismos.

Para se avaliar a energia dissipada a partir de processos metabólicos deve-se considerar o balanço energético que se baseia na primeira lei da termodinâmica, uma lei conservativa com relação à energia (eq. 6):

$$\Delta_{met}H = \Delta_{cat}H + \Delta_{anab}H \quad (\text{eq. 6})$$

em que  $\Delta_{met}H$  corresponde à energia total liberada por mol de substrato;  $\Delta_{cat}H$  é a energia associada com a combustão total de um mol da fonte energética (glicose, no caso do presente trabalho), e  $\Delta_{anab}H$  é a variação de energia relacionada ao crescimento celular por mol de substrato adicionado<sup>27,34</sup>.

A equação 6 é uma lei conservativa e indica que a energia resultante liberada por meio de processos metabólicos apresenta um parte catabólica, e parte anabólica. Essa mesma equação também mostra que os processos anabólicos e catabólicos estão intimamente acoplados.

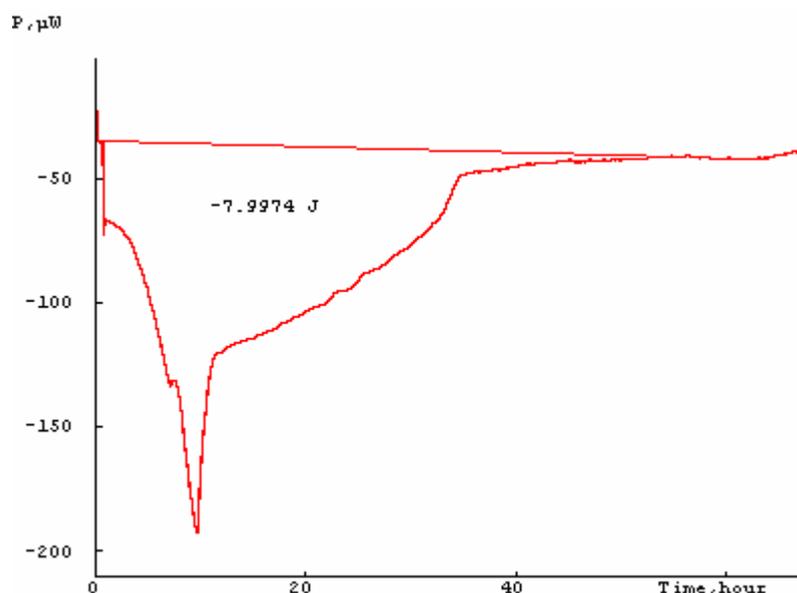
No caso do catabolismo, parte da energia livre liberada seja em mitocôndrias, seja ao nível de membranas celulares bacterianas, é investida em processos anabólicos através de intermediários como as moléculas de ATP, favorecendo deste modo a formação de moléculas maiores e conseqüentemente o crescimento e reprodução da espécies microbianas<sup>22</sup>.

Ao se integrar uma curva calorimétrica obtém-se um valor de energia associado ao processo metabólico,  $Q_T$ , o qual essencialmente está associado à atividade microbiana presente na amostra e que pode ser empregado para se calcular a variação de energia metabólica molar,  $\Delta_{met}H$ , conforme equação 7<sup>34</sup>:

$$\Delta_{met}H = Q_T / n \quad (\text{eq. 7})$$

A partir do valor do parâmetro  $\Delta_{met}H$  calculado,  $\Delta_{anab}H$  pode ser determinado por meio da equação 6.

A variação de energia catabólica ( $\Delta_{cat}H$ ) é calculada a partir da entalpia molar de combustão da glicose (eq. 8):



**Figura 13.** Exemplo de curva microcalorimétrica em que foi realizado o procedimento de integração.

A eficiência percentual de assimilação de matéria orgânica ( $\eta_H$ ) pode ser calculada por meio da equação 9, a qual relaciona a energia convertida em biomassa (anabolizada) com a energia associada a processos catabólicos<sup>34</sup>:

$$\eta_H = [(\Delta H_{cat} - \Delta H_{met}) / \Delta H_{cat}] \times 100\% \quad (\text{eq. 9})$$

Para se realizar o estudo cinético de curvas calorimétricas deve ser considerada a fase exponencial como indicado pela equação 10<sup>35</sup>:

$$\ln P_t = \ln P_1 + k t \quad (\text{eq. 10})$$

em que  $P_t$  representa a potência registrada a um  $t$ -ésimo instante, enquanto que  $P_1$  representa a potência inicial e  $k$  é a constante de crescimento.

A quantidade de biomassa viva formada associada a cada curva pode ser avaliada ao se considerar a equação 11, em que  $X$  representa uma quantidade particular de biomassa relacionada à respectiva potência  $\varphi$  obtida a partir da curva calorimétrica<sup>36</sup>. A equação 11 é uma equação genérica obtida a partir do estudo energético de uma grande variedade de espécies de microrganismos. É evidente que cada espécie tem uma equação pertinente, no entanto, essa equação tem sido amplamente aplicada de forma genérica em estudos calorimétricos envolvendo solos.

$$\log X = 1,025 + 0,856 \log \varphi \quad (\text{eq. 11})$$

Quando a equação 11 é aplicada a dois pontos limitantes da fase exponencial do crescimento microbiano, isto é, a um ponto no final da fase de latência (*lag phase*), e a um ponto correspondente ao valor máximo de potência da curva (*peak time*). A quantidade de biomassa formada,  $\Delta X$ , é obtida pela diferença entre os dois valores  $X$ . Tomando-se  $\varphi$  em  $\mu\text{W}$ ,  $\Delta X$  será dada em  $\mu\text{g}$ .

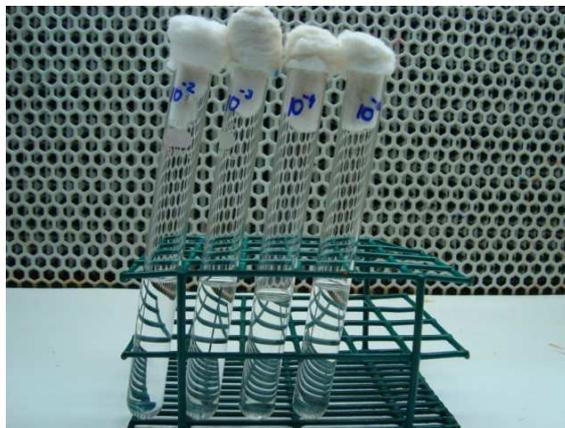
### 2.2.5. Análises microbiológicas

As análises microbiológicas possibilitaram o estudo de colônias de bactérias mais actinomicetos e, de fungos<sup>37</sup>. Elas foram realizadas no Instituto Agronômico de Campinas (IAC), no período de fevereiro a março de 2009. O método empregado consiste em suspensões de amostras do solo em soluções aquosas de sulfato de magnésio e posterior plaqueamento.

Foram empregadas cinco diferentes proporções solo:solução, que variam entre si por um fator de 10. O método empregado consiste em suspender amostras de 10 g de solo em solução aquosa de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  na concentração de 2,46 g/L. Foram empregadas cinco suspensões contendo 10 gramas de solo e diferentes volumes de solução (Figura 15). Para cada suspensão com diferente proporção solo:solução foram realizados dois emplacements distintos.



**Figura 14.** Amostra de aproximadamente 10 gramas de solo, pronta para ser adicionada à solução de diluição  $10^{-1}$ .



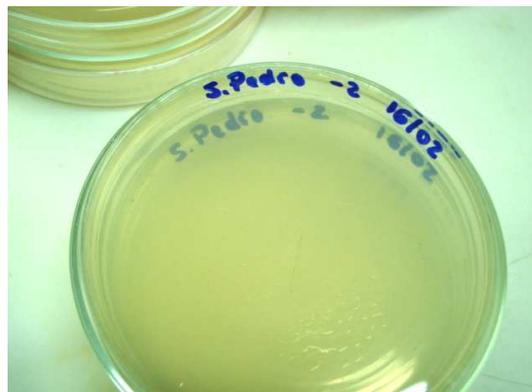
**Figura 15.** Suspensões de solo empregadas. Nesta foto aparecem suspensões de solo nas proporções:  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  e  $10^{-5}$ .

Foi realizado um total de quatro bateladas de determinações, sendo que em cada placa foi adicionado 0,1 mL da suspensão de cada diluição. Uma pequena alça de vidro é usada no espalhamento da suspensão ao longo da placa (Figura 16). As placas por fim são fechadas e postas de maneira invertida em uma incubadora.



**Figura 16.** Momento do espalhamento de uma alíquota de 0,1 mL de suspensão de solo ao longo da superfície da placa.

Foram empregados dois meios de cultura, sendo um deles conhecido por meio de Martin, empregado para o cultivo de fungos e outro específico para bactérias e actinomicetos (Figura 17), preparado a partir de um extrato de solo rico em matéria orgânica.



**Figura 17.** Foto de placa de Petri contendo meio nutritivo para cultivo de bactérias + actinomicetos.

Com base nas contagens de colônias de cada placa se pode determinar a quantidade de unidades formadoras de colônias, por meio da aplicação da equação 12:

$$ufc = \frac{\langle \text{colônias} \rangle}{g \text{ solo seco}} \frac{1}{10^{-4}} 0.1 \text{ mL} = \frac{\langle \text{colônias} \rangle 10^{-5}}{g \text{ solo seco}} \quad (\text{eq. 12})$$

em que “ufc” significa unidades formadoras de colônias, sendo esta variável diretamente proporcional à quantidade de células viáveis de microorganismos, por mL de solução de solo vertida nos meios de cultura; “g solo seco” se relaciona à massa final dos 10 gramas de solo iniciais que paralelamente foram mantidos em uma estufa a 105°C por aproximadamente 24 horas; <colônias> corresponde ao número médio de colônias observado.

## 2.3. Resultados e discussão

### 2.3.1. Análises físicas

A primeira análise realizada, assim que as amostras de solo foram coletadas, foi a granulométrica. Os resultados estão indicados na tabela 1.

**Tabela 1.** Análise Granulométrica para diferentes condições de manejo.

Condição	Areia			Silte	Argila
	Grossa	Fina	Total		
	g por kg de solo				
7º. corte	56	89	145	312	543
4º. corte	64	120	184	310	506
2º. corte	66	126	192	266	542
Queima	88	190	278	278	444

Em que,

**Areia Grossa** - fração fina do solo seco ao ar (TFSA), com diâmetro de partículas entre 2,0 mm e 0,25 mm (obtido através de tamisagem).

**Areia Fina** - fração fina do solo seco ao ar (TFSA), com diâmetro de partículas entre 0,25 e 0,053 mm (obtido através de tamisagem).

**Areia Total** - soma das contribuições da areia grossa e da areia fina.

**Silte** - fração fina do solo seco ao ar (TFSA), com diâmetro de partículas entre 0,053 e 0,002 mm.

**Argila** - fração fina do solo seco ao ar (TFSA), com diâmetro de partículas menor que 0,002 mm.

Os solos apresentam textura que corresponde à distribuição de partículas de acordo com o tamanho<sup>2</sup>. Em ciência do solo há vários sistemas de classificação de textura, sendo que no presente trabalho adotou-se a convenção da Sociedade Internacional de Ciência do Solo.

Uma forma simples de classificar o tamanho das partículas está indicado na tabela 1: areia, silte, e argila, em ordem decrescente de tamanho de partículas.

Os dados da tabela 1 mostram que na condição em que houve queima há um aporte menor das frações argila e silte, e uma maior contribuição da fração areia, em comparação com as outras condições.

É importante destacar que se pode verificar uma diminuição significativa do aporte da fração de argila, fato que pode se configurar em uma menor adesão entre partículas, e deste modo, uma maior possibilidade de lixiviação desse solo em relação aos outros. Isso pode ser observado nos resultados da tabela 2, onde se verifica um menor grau de floculação desse solo e, assim, uma maior dispersão.

**Tabela 2.** Resultados comparativos da quantidade de argila, grau de floculação e dispersão de algumas amostras de solo.

Condição	Propriedade			
	Argila Total	Argila Natural	Grau de Floculação	Grau de Dispersão
	g por kg de solo		%	
7º. corte	543	329	39	61
4º. corte	506	294	42	58
2º. corte	541	325	40	60
Queima	444	279	37	63

Sabe-se que a matéria orgânica atua como agente agregador nos solos, ou seja, como um agente responsável pela formação de agregados<sup>37</sup>. Baseando-se nesse fato há indícios que para a condição em que houve queima há menor quantidade de matéria orgânica presente, sendo que as características da matéria orgânica também são determinantes da agregação e floculação.

Nota-se que, para os solos não submetidos a queimadas, o grau de floculação é ligeiramente maior que para solo em que houve queima. No entanto, a diferença não é significativa quando se considera as incertezas das medidas.

Na tabela 3 estão indicados valores de densidade para os diferentes solos. Como a fração areia é a mais densa do solo, o seu aumento leva a um consecutivo aumento da densidade do solo, o que ocorre com o solo onde se pratica a queimada.

Além disso, um acúmulo de restos de cana-de-açúcar (aumento do número de cortes) pode levar a uma menor densidade, e desse modo pode justificar a menor

participação da fração areia, como se observa na tabela 3. A matéria orgânica incorporada sofre modificações com o tempo, o que facilita a incorporação de mais matéria orgânica. Um aumento de areia pode significar um menor aporte de matéria orgânica e uma menor quantidade de espaços vazios em comparação com solos que apresentam estruturas em que a matéria orgânica desempenha papel crucial como agente agregador. Por isso, a análise desses fatores não é muito simples. No entanto, a tabela 3 mostra uma relação direta entre a densidade e a porcentagem de areia apresenta no solo.

**Tabela 3.** Valores de densidade do solo para diferentes tratamentos, e respectivos teores percentuais de areia.

Condição	densidade / kg m <sup>-3</sup>	% areia
7º. corte	1263 ± 45	14,5
4º. corte	1270 ± 35	18,4
2º. corte	1331 ± 23	19,2
Queima	1365 ± 22	27,8

Na tabela 4 estão indicados valores de porosidade para as diferentes condições.

Como destacado em tópicos introdutórios deste trabalho, sabe-se que nos solos há agentes cimentantes de partículas, sendo um exemplo, a matéria orgânica. Graças aos agentes cimentantes é que há formação de agregados, e deste modo, favorece-se a manutenção dos poros nos solos.

Um solo ideal deve apresentar mais que 17 % de macroporosidade, a qual está associada à presença de silicatos, já que o aporte de matéria orgânica se dá basicamente no material coloidal (silte e argila).

**Tabela 4.** Valores de porosidade\* (m<sup>3</sup>/m<sup>3</sup>) das diferentes amostras de solo.

Condição	Total	Micro	Macro	Argila/ g kg <sup>-1</sup>	% areia
7º. corte	0,51	0,45	0,06	543	14,5
4º. corte	0,53	0,45	0,08	506	18,4
2º. corte	0,46	0,38	0,08	542	19,2
Queima	0,48	0,37	0,11	444	27,8

\*a porosidade corresponde à razão entre o volume ocupado por gases ou a água e o

volume total da amostra. Os desvios em micro e macroporosidades são de  $\pm 0,02 \text{ m}^3/\text{m}^3$ .

Os macroporos permitem o rápido movimento de ar e a drenagem de água, sendo particularmente mantidos pelas estruturas formadas pelo material coloidal agregado. Os microporos estão normalmente preenchidos por água, dificultando desse modo a circulação do ar<sup>2</sup>.

A tabela 4 mostra que para manejos em que houve maior acúmulo de material vegetal, a porosidade total tende a ser maior, sendo que a areia é um fator determinante para a diminuição dessa grandeza.

Em razão de o teste ser realizado com aumento de pressão sobre a amostra contendo água, para solos ricos em areia, a saída da água pode ocorrer com facilidade logo no início do teste e assim, um solo contendo muita areia apresenta uma macroporosidade e uma microporosidade menor, esta sim tendo uma contribuição da matéria orgânica cimentante de pequenos agregados.

Por outro lado, a fração de argila tem um significado especial na microporosidade: seu tamanho menor favorece o melhor preenchimento dos espaços, mas sendo responsável pela maior presença de água superficial, conferindo uma maior funcionalidade do ponto de vista edafológico.

Embora não seja completamente verdadeiro para as amostras de solo aqui estudadas, é importante considerar que a porosidade está associada ao tamanho das diversas partículas, assim sendo, o solo com apenas dois cortes, tem uma porcentagem mais elevada de argila que o solo com 4 cortes, mas também tem uma porcentagem de areia muito maior.

Destarte a concorrência existente entre areia, argila e matéria orgânica cimentante seja importante na determinação da porosidade do solo, no caso desse trabalho observa-se uma correlação direta entre o teor de areia e a macroporosidade,

### **2.3.2. Análises químicas**

Uma das formas de se caracterizar a matéria orgânica é através da quantificação do teor de carbono, determinada por meio da titulação do solo com solução de dicromato em meio ácido.

Na tabela 5 estão indicados os teores percentuais de carbono obtidos para as diferentes amostras de solo. Ela mostra que com o acúmulo de restos vegetais no canalial (maior quantidade de cortes), o teor de carbono no solo tende a ser, em geral,

maior.

Há que se ressaltar que o fator de correção empregado é um valor médio que leva em conta as possíveis contribuições de diferentes moléculas no solo.

A complexidade desse universo orgânico do solo de certa forma dificulta a interpretação dos dados, já que a estequiometria da equação associada ao processo de titulação baseia-se no fato do carbono estar, em média, no estado de oxidação zero.

**Tabela 5.** Valores percentuais de carbono corrigido\*, e respectivos manejos do solo.

Condição	C %
7º. corte	2,82 ± 0,03
4º. corte	2,84 ± 0,05
2º. corte	2,41 ± 0,03
Queima	2,36 ± 0,08

\*fator de correção empregado no IAC ( $f = 1,725$ )

Um analisador elementar também funciona com base em um princípio semelhante, sendo que a grandeza que se obtém é o percentual de carbono na amostra, que não dá muitas informações sobre as propriedades da matéria orgânica presente no solo.

As técnicas térmicas que serão discutidas mais adiante, também dão informações incompletas sobre a matéria orgânica. Todavia, como se verá, também servem como ferramentas na avaliação quantitativa da matéria orgânica do solo. Também permitem análises qualitativas sobre o tipo de matéria orgânica presente no solo. Para materiais em estágios mais oxidados, uma menor energia de combustão está associada e vice-versa. Além disso, cada material pode sofrer combustão em faixas particulares de temperatura, o que permite certa diferenciação entre os mesmos.

A acidez é uma variável que pode afetar muitas propriedades químicas, biológicas, e até físicas do solo. Ela pode, por exemplo, facilitar ou dificultar a absorção de muitos elementos pelas raízes de plantas, além de influenciar a atividade dos microrganismos<sup>2</sup>.

A tabela 6 resume os resultados de acidez para as diferentes condições de manejo do solo. Pode-se perceber que estes solos são ácidos, o que é uma tônica para os solos brasileiros. Também se vê que os valores de pH não são muito diferentes uns dos outros para as quatro amostras, o que não permite uma análise mais aprofundada das diferenças entre eles, embora se saiba que o pH do solo dependa de suas frações orgânica e inorgânica, tanto da quantidade quanto da qualidade dessas.

Embora o pH tenha aumentado para todos os solos com o passar do tempo de coleta, essa tendência não pode ser discutida em profundidade, já que o estudo não foi realizado com controle experimental e objetivos orientados para tal finalidade.

**Tabela 6.** Valores de pH para diferentes condições de solos, em função do tempo de estocagem das amostras a 278 K: (1) 5 meses, (2) 7 meses.

<b>Condição</b>	<b>pH (1)</b>	<b>pH (2)</b>	<b>C %</b>
7º corte	5,68	5,87	2,82 ± 0,03
4º corte	5,79	5,91	2,84 ± 0,05
2º corte	5,43	5,94	2,41 ± 0,03

### **2.3.3. Análises térmicas**

Para se avaliar a quantidade de matéria orgânica nas amostras de solo foi empregada a análise termogravimétrica (TGA), e a calorimetria diferencial de varredura (DSC).

As curvas de TGA (Figura 18) mostram dois intervalos de perdas de matéria característicos para os solos onde não houve queima e uma única queda para o solo com queima. Levando-se em conta que as perdas na faixa de 483 a 510 K ocorrem com absorção de energia, conforme mostram os resultados de DSC (Figura 19), embora não tenha sido feitas análises químicas do material que sai, o mais provável é que essa perda corresponda à água mais fortemente ligada ao solo, já que as amostras foram previamente secas ao ambiente, e os resultados obtidos pelas duas técnicas suportam esse fato.

Observa-se que a TGA do solo com queima não apresenta essa perda de matéria de forma mais destacada como as outras amostras, sendo uma perda discreta na faixa entre 483 e 533 K (tabela 7), concomitantemente à perda que se inicia em 533 K. Esse fato também é observado no resultado de DSC, o qual apresenta um pico endotérmico muito pequeno em torno de 523 K, valor menor que os registrados para as outras amostras.

A perda de massa na faixa entre aproximadamente 533 e 763 K para todas as amostras foi atribuída à matéria orgânica (tabela 7). É importante observar que os valores percentuais obtidos pela TGA correspondem a aproximadamente 2,5 vezes o teor de

carbono encontrado por titulação.

A análise do material eliminado na TGA não foi realizada; no entanto, comparando-se os resultados, poder-se-ia inferir que essa matéria orgânica teria uma fórmula mínima aproximada a  $\text{CH}_2\text{O}$ , com massa molar de  $30 \text{ g mol}^{-1}$ .

A segunda perda é um processo mais lento, provavelmente envolvendo materiais com cinética de oxidação diferenciada, material celulósico queima em temperatura mais baixa e lignósico em temperatura mais elevada.

Dessa forma, cada material pode “queimar” em diferentes temperaturas (tempo), já que a técnica de DSC não acompanha o evento térmico no tempo ou temperatura real.

Os resultados obtidos indicam que para condições de maior corte, ou seja, em que há maior acúmulo de restos vegetais, os teores de matéria orgânica tendem a ser um pouco maiores, sendo esta observação coerente com os resultados obtidos através da determinação do teor de carbono total por titulação com dicromato de potássio (tabela 7).

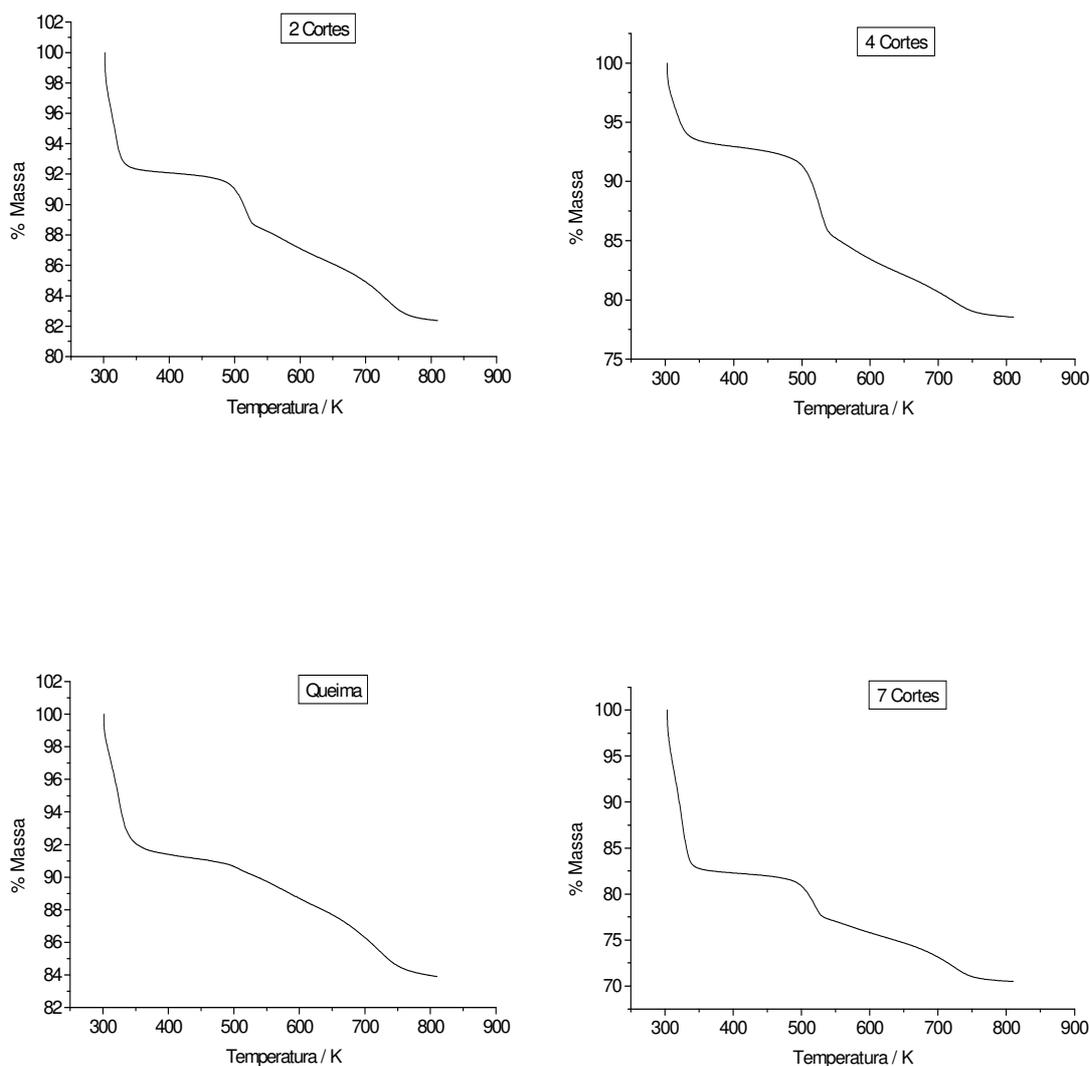
Os registros obtidos por TGA são apresentados na figura 18 e os resultados numéricos na tabela 7:

**Tabela 7.** Resultados de percentuais de perda de massa das amostras de solo em função da temperatura, obtidos com o emprego da análise termogravimétrica (TGA).

<b>Amostra</b>	<b>Faixa de temperatura / K</b>	<b>% eliminação</b>
7º. Corte	483 - 533	6,2
	533 - 763	6,7
4º. Corte	483 - 533	3,9
	533 - 763	6,8
2º. Corte	483 - 533	2,8
	533 - 763	5,9
Queima	483 - 533	0,8
	533 - 763	5,5

Não obstante, deve ser destacada a importância da realização paralela de análises de DSC, pois elas permitem a investigação de possíveis picos associados à combustão da matéria orgânica. Por meio da DSC pode-se avaliar a energia envolvida em processo de transição de fases ou reações químicas, além de medidas de capacidade calorífica.

No caso aqui presente, pretendia-se verificar o processo de combustão da matéria orgânica presente no solo.

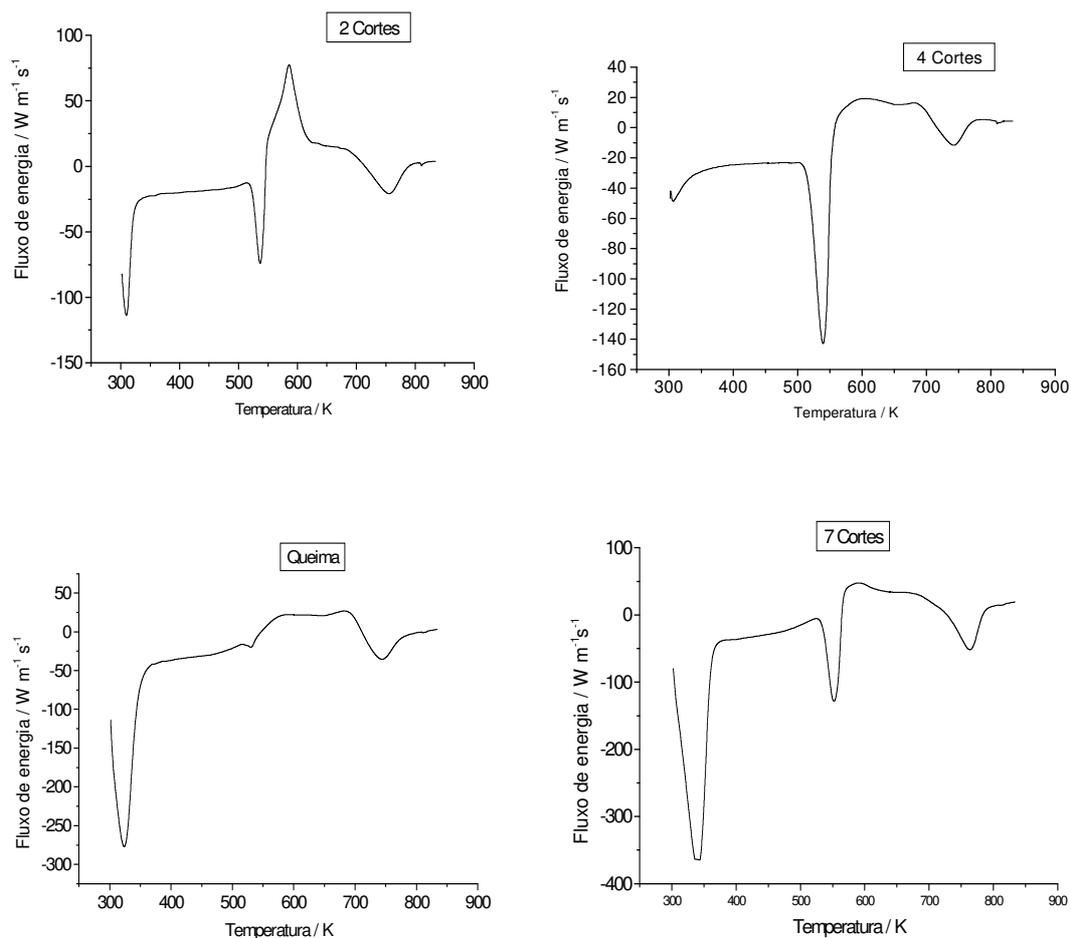


**Figura 18.** Registros de TGA obtidos para as quatro amostras.

A Figura 19 mostra um pico endotérmico por volta de 523 K, o qual pode corresponder à eliminação de água<sup>29</sup>. Para as amostras onde não houve queima, verificam-se picos endotérmicos bem destacados, enquanto que para o solo com queima, o pico respectivo é bem pequeno e discreto.

Os resultados de TGA (Figura 18) e de DSC (Figura 19) são coerentes em relação a esse resultado, já que a TGA mostra uma perda de água de forma bem gradual e concomitante à perda acima de 533 K (combustão) para a amostra de solo com queima, enquanto evidencia perdas significativas para as outras amostras, e um pico endotérmico correspondente, também destacado do resto da curva de DSC.

De acordo com a TGA, após 533 K deveria aparecer um pico exotérmico relativo à combustão de matéria orgânica.



**Figura 19.** Registros de DSC obtidos para as quatro amostras.

Esse pico aparece de forma destacada para o solo com dois cortes, mas pouco destacado para as outras amostras.

É muito difícil separar eventos dessa natureza e, nesses casos, a DSC deve ser conduzida de uma forma especial, utilizando-se rampas de aquecimento e também patamares discretos, um trabalho possível, porém bastante demorado de pesquisa.

A perda de água que ocorre entre 483 e 533 K leva a uma diminuição da capacidade calorífica da amostra. Isto resulta em uma subida da linha base como se vê após o pico endotérmico a partir de 533 K para todas as amostras. Entretanto, nesta faixa de temperatura, como mostra a TGA (Figura 18) há outra perda de massa, agora relativa à combustão. A combustão leva a uma perda de massa que acarreta uma diminuição da capacidade calorífica da amostra no forno de DSC. Dessa forma, o registro de DSC fica bastante complexo, o que dificulta a determinação da energia do pico.

Verifica-se que após 533 K o fluxo de energia diminui para todos os casos e, somente para a amostra de 2 cortes, um pico discreto aparece.

Somente neste caso seria possível estabelecer um valor de energia associado ao pico, porém com uma margem de segurança pequena no resultado. Nos outros casos, como afirmado anteriormente, seria necessário um trabalho exaustivo de mudanças de condições de análise no DSC.

Em torno de 773 K aparece um pico endotérmico para todas as amostras. Esse pico está associado a uma transição do quartzo presente na amostra<sup>29</sup>, um aspecto pouco relevante nesse estudo, a menos da possibilidade de determinação quantitativa desse material nas amostras.

Os picos que aparecem por volta de 323 K podem estar associados à perda de água não adsorvida, mas também podem ser devidos ao próprio instrumento, uma vez que o processo de aquecimento é muito impreciso no início.

### 2.3.4. Calorimetria

A avaliação da atividade microbiana por calorimetria repousa no balanço de energético envolvido nos processos metabólicos, segundo a equação 6:

$$\Delta H_{met.} = \Delta H_{cat.} + \Delta H_{anab.} \quad (\text{eq. 6})$$

em que,  $\Delta H_{met.}$  corresponde à energia determinada pela curva calorimétrica. Tal parâmetro pode ser calculado através da integração da curva calorimétrica;  $\Delta H_{cat.}$  corresponde à energia total que seria liberada admitindo-se uma reação completa de combustão do substrato adicionado ( $-2.862 \text{ kJ mol}^{-1}$  no caso da glicose);  $\Delta H_{anab.}$  corresponde à quantidade de energia estocada na forma de matéria orgânica viva, ou que restou. Dessa forma, pode-se generalizar que parte da energia adicionada na forma de substrato fica retida no solo ( $\Delta H_{anab.}$ ) e parte é perdida para o ambiente ( $\Delta H_{met.}$ ).

A eficiência de assimilação da matéria orgânica,  $\eta_H$ , pode ser calculada pela equação 9:

$$\eta_H = [(\Delta H_{cat.} - \Delta H_{met.}) / \Delta H_{cat.}] \times 100\% \quad (\text{eq. 9})$$

Após a adição de uma fonte de carbono, no caso a glicose, foram obtidas curvas calorimétricas, como as indicadas nas figuras 20, e 21.

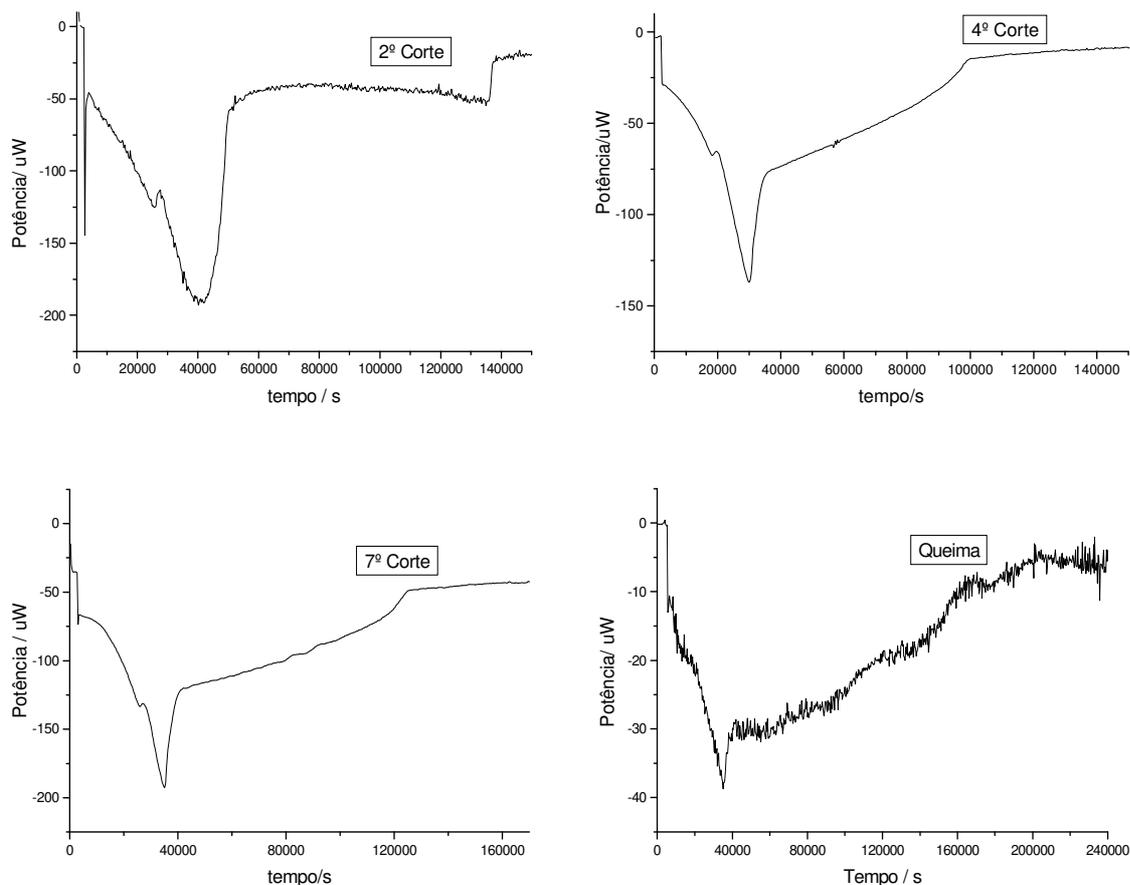
Os valores de eficiência de assimilação da matéria orgânica obtidos pela aplicação da equação 9 estão indicados na tabela 8.

**Tabela 8.** Condições de cultivo e os respectivos valores percentuais da energia que permanece no solo ( $\eta_H$ ), para adição de glicose.

Condição	-Q obs	$\eta_H$ / %
7º. corte	6,76	58
4º. corte	8,56	47
2º. corte	6,00	63
Queima	7,50	53

Embora as curvas calorimétricas sejam bastante reprodutíveis para uma mesma amostra, os valores de  $\eta_H$  não mostram isoladamente nenhuma tendência em relação ao número de cortes.

No entanto, percebe-se através dos registros calorimétricos que no solo onde houve queima o metabolismo é mais lento e que grande parte da matéria orgânica permanece no solo.



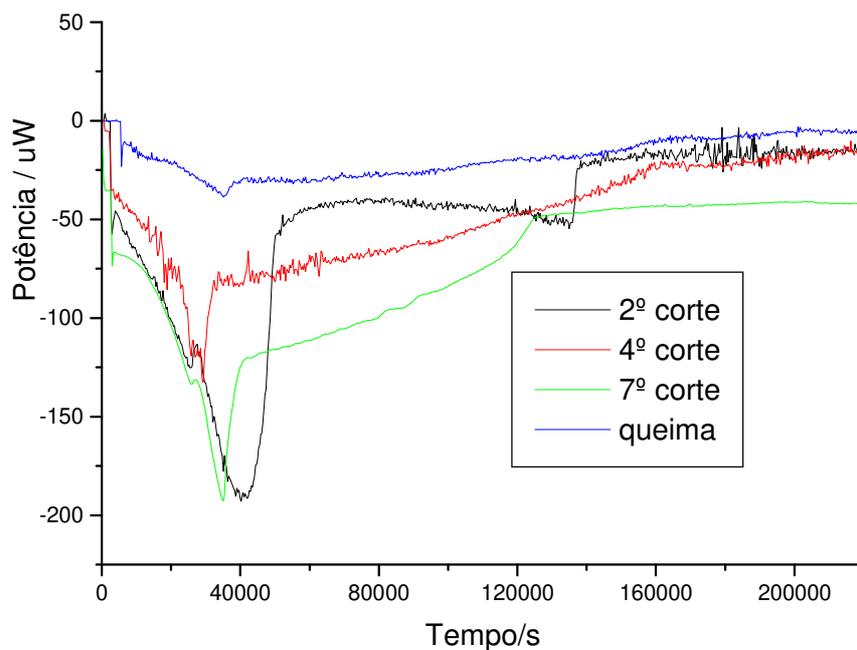
**Figura 20.** Padrões de curvas calorimétricas obtidas para as quatro condições estudadas.

As populações microbianas transformam enormes quantidades de matéria orgânica em outros tipos de moléculas<sup>38</sup>, sendo que desse modo há uma relação intrínseca entre tais formas de vida e a disponibilidade espacial e temporal de tal matéria.

A quantidade de matéria orgânica anabolizada na forma de biomassa viva pode ser calculada pela equação de Sparling<sup>36</sup> (equação 11) e o resultado pode ser comparado aquele obtido com base na equação 9.

$$\log X = 1,025 + 0,856 \log \varphi \quad (\text{eq. 11})$$

Em que  $X$  é uma quantidade particular de biomassa em uma dada potência  $\varphi$  registrada na curva calorimétrica. Tomando-se  $\varphi$  em  $\mu\text{W}$ ,  $\Delta X$  será dado em  $\mu\text{g}$ .



**Figura 21.** Curvas calorimétricas obtidas com a adição de glicose para quatro solos manejados sob diferentes condições, mostradas separadamente e em conjunto.

Ao se aplicar a equação 11 para dois pontos limitantes da fase exponencial do crescimento microbiano, isto é, a um ponto no final da fase de latência (*lag phase*), e um ponto correspondente ao valor máximo de potência da curva (*peak time*), obtém-se a quantidade de biomassa formada.

Isso se justifica pelo fato de a energia metabolizada por cada célula ter um valor constante, embora, para fungos e bactérias, esses valores possam ser ligeiramente

diferentes sendo que a quantidade de bactérias é muito maior que a de fungos, da ordem de  $10^3$ .

Os valores encontrados para a quantidade de biomassa viva formada, calculados a partir da equação 11, estão indicados na tabela 9, juntamente com os valores de fração de energia que permanece no solo, obtidos pela aplicação da equação 6.

Observa-se uma boa correspondência entre os valores calculados pelas duas equações distintas, para os solos onde não houve o processo de queima da cana antes do corte.

No caso específico do solo onde se praticou a queima, a biomassa acumulada de acordo com a equação 11 ( $\Delta X = 181 \mu\text{g}$ ) é bem menor que o calculado pela equação 8 ( $\eta_H = 530 \mu\text{g}$ ), o que significa que boa parte do substrato ficou no solo, não como matéria viva, ou seja, biomassa viva. No entanto, as curvas calorimétricas obtidas para esse solo, não têm qualidade boa para se definir com boa exatidão os valores de potência na *lag phase*, o que, de certa forma, prejudica uma determinação mais segura de  $\Delta X$  nesse caso.

**Tabela 9.** Condições de cultivo e respectivos valores percentuais da energia metabólica que permanece no solo ( $\eta_H$ ) e biomassa  $\Delta X$  para adição de glicose.

Condição	$\Delta X / \mu\text{g}$	$\eta_H / \mu\text{g}$
7º. corte	619	603
4º. corte	446	489
2º. corte	678	655
Queima	181	530

Como regra geral, a matéria orgânica acumulada na forma de biomassa viva ( $\Delta X$ ) não pode ser maior que aquela acumulada como anabolismo ( $\eta_H$ ). Elas podem ser iguais ou a biomassa viva pode ser menor, sendo o restante acumulado de outra forma. Dentro da incerteza experimental em  $\Delta X$  e  $\eta_H$ , todos os resultados da tabela 9 apresentam-se coerentes com essa afirmação, exceção à amostra com queima.

O resultado de  $\Delta X$  para o solo com queima, baseado no valor de potência térmica ( $\varphi$ ) aplicado à equação 11, é muito mal definido nos registros calorimétricos correspondentes. Somente para alguns registros calorimétricos para solo onde houve a queima foi possível se determinar o valor de potência no final da *lag phase*. Os registros

são muito alongados, ou seja, o metabolismo é muito lento, o que também dificulta a determinação da energia envolvida no processo, com boa segurança.

Com base nas curvas calorimétricas, foi também possível calcular as constantes de crescimento microbiano para as diferentes amostras de solo, além de cada “peak time” (intervalos de tempo necessários para se alcançar a fase estacionária).

As constantes de crescimento são obtidas pelo ajuste do registro calorimétrico à fase de crescimento exponencial (período entre a *lag phase* e o *peak time*, Figura 22) do registro calorimétrico, ao se empregar a equação 10,

$$\ln P_t = \ln P_1 + k t \quad (\text{eq. 10})$$

em que  $P_t$  é a potência registrada em um tempo  $t$ ,  $P_1$  a potência no tempo  $t_1$ , e  $k$  a constante de crescimento.

Para alguns solos, os registros apresentaram sobreposição de duas ou mais curvas, sendo que a constante de crescimento foi calculada somente para a primeira parte da curva (Figura 22).

Os resultados obtidos (tabela 10) indicam que a cinética de crescimento de microorganismos foi mais lenta na condição em que houve queima ( $k = 2,09 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ ), comparada com aquelas onde só houve cortes ( $k > 2,45 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ ).

Percebe-se que na condição em que houve queima o crescimento microbiano é mais lento que em condições de acúmulo de restos vegetais, sendo que esse resultado não se correlaciona com os aspectos quantitativos da comunidade inicial e sim com as espécies de microorganismos e a sua ativação por glicose.

Os valores de *peak time* calculados mostram que para a condição em que houve queima este parâmetro apresenta valor relativamente alto em relação às outras condições. Esse fato reforça a idéia de que a queimada faz o crescimento microbiano ser mais lento, além de diminuir a quantidade inicial de microorganismos. Esse resultado, em parte, conflita com o observado na contagem de microorganismos, apesar de a incerteza verificada nesse último dado ter sido muito alta.

É importante observar que para as amostras de solo onde não houve queima, a constante de crescimento foi obtida para a primeira fase, enquanto que para o solo com queima, utilizou-se a curva toda.

A equação que trata da cinética do crescimento microbiano (equação 10) leva em conta o efeito térmico na *lag phase* e, como a energia é proporcional ao número células presentes, ao se atingir o *peak time* também nesse caso se observará proporcionalidade

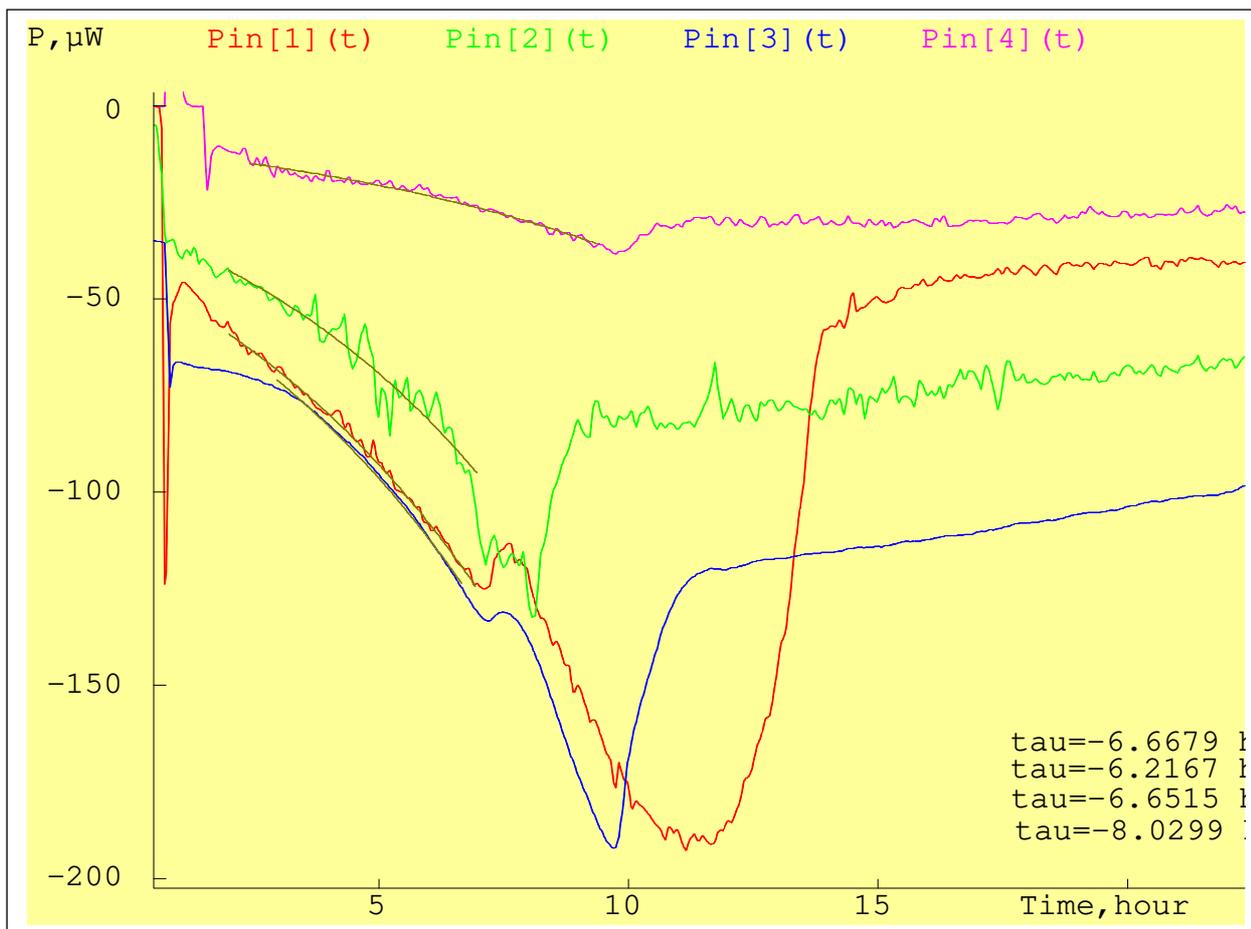
com relação à energia.

**Tabela 10.** Valores da constante de crescimento (k), para as diversas amostras de solo.

<b>Condição</b>	<b>k / min<sup>-1</sup></b>	<b>Peak Time / min</b>
7º. corte	2,61 x 10 <sup>-3</sup>	588
4º. corte	2,48 x 10 <sup>-3</sup>	476
2º. corte	2,51 x 10 <sup>-3</sup>	667
Queima	2,09 x 10 <sup>-3</sup>	598

Embora a amostragem de solo seja um procedimento crítico em qualquer tipo de medida, pois o solo é uma matriz muito complexa e heterogênea, quando se comparam os valores de potência na fase de latência e as quantidades de células obtidas pela análise microbiológica, os resultados não são coerentes.

Em geral, a reprodutibilidade nas curvas calorimétricas fica em torno de 10%, valor esse bem diferente do obtido nas análises microbiológicas.



**Figura 22.** Curvas calorimétricas onde se evidenciam as determinações das constantes de tempo da primeira fase de crescimento microbiano para as diversas amostras de solo.

### 2.3.5. Análises microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas de modo a se estudar colônias de bactérias + actinomicetos e colônias de fungos.

A comunidade microbiana de solos é constituída principalmente por cinco grupos: bactérias, actinomicetos, fungos, algas, e protozoários. Desses grupos, o mais abundante é o de bactérias, normalmente em maior número, mesmo somando-se todos os indivíduos dos outros quatro grupos. No entanto, relatar a atividade vital do solo à atividade microbiana pode ser arriscado, já que os fungos têm uma massa individual maior que as bactérias e no todo podem representar uma fração mássica maior.

A tabela 11 indica a quantidade média de células viáveis de bactérias + actinomicetos por mL de solução de solo adicionada às placas de meio de cultura.

**Tabela 11.** Número de bactérias + actinomicetos, após 2 dias de incubação, para os diversos tipos de solo.

<b>Condição</b>	<b>ufc g<sup>-1</sup> de solo seco (nº. células / mL)</b>
7º. Corte	$1,17 \times 10^6 \pm 0,74 \times 10^6$
4º. Corte	$1,56 \times 10^6 \pm 0,76 \times 10^6$
2º. corte	$0,93 \times 10^5 \pm 0,85 \times 10^6$
Queima	$1,05 \times 10^6 \pm 0,47 \times 10^6$

A tabela 11 mostra que, dentro da incerteza experimental, o número de bactérias e actinomicetos é igual para as diversas amostras de solo.

Na tabela 12 estão indicadas as quantidades de células viáveis de fungos por mL de solução de solo empregada nos plaqueamentos.

Primeiramente, é interessante comparar os resultados das tabelas 11, e 12. A tabela 11 mostra que o número de bactérias + actinomicetos é maior que o de fungos, na ordem de  $10^3$ .

**Tabela 12.** Número de fungos, após três dias de incubação, para os diversos tipos de solo.

<b>Condição</b>	<b>ufc g<sup>-1</sup> de solo seco (nº. células / mL)</b>
7º. Corte	$6,01 \times 10^3 \pm 0,30 \times 10^4$
4º. Corte	$4,26 \times 10^3 \pm 0,18 \times 10^4$
2º. corte	$1,82 \times 10^4 \pm 0,15 \times 10^5$
Queima	$1,27 \times 10^3 \pm 0,11 \times 10^4$

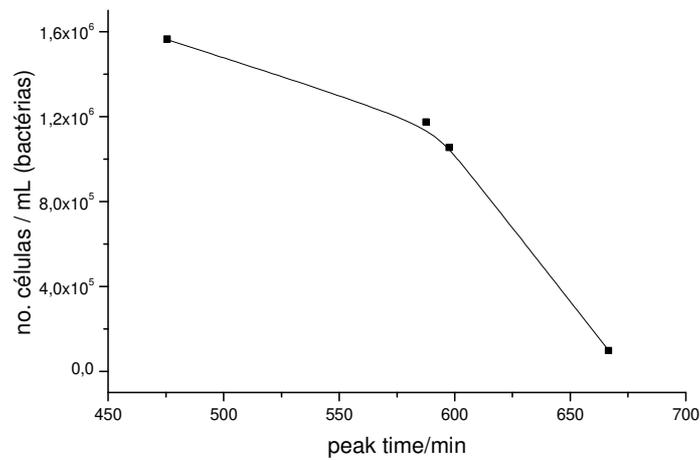
No caso da contagem de fungos, percebe-se que onde não houve queima há uma maior quantidade de fungos que a condição em que houve queima.

Um aspecto interessante a observar é o fato de que a comunidade de fungos para o segundo corte é a maior entre as amostras, enquanto que a de bactérias é a menor. Observando os registros calorimétricos, verifica-se que somente nesse caso aparece um “ombro” final por volta de 40 horas.

Esse fato se repete em todas as análises calorimétricas envolvendo essa amostra de solo, observação que poderia indicar uma eventual associação deste “ombro” com a

atividade de fungos.

Uma correlação importante se estabelece entre o número de bactérias e actinomicetos e o valor de *peak time*, evidenciado na figura 23:



**Figura 23.** Correlação entre o número de bactérias e o peak time.

Por essa figura, verifica-se uma correlação inversa entre o número de bactérias e actinomicetos e o valor de *peak time*. Entretanto isso não se verifica em relação ao número de fungos. Isso poderia ser uma indicação macroscópica de que a energia verificada diz respeito à atividade de bactérias e actinomicetos e não de fungos. Porém, como as análises microbiológicas apresentam uma grande margem de incerteza, seria prudente não inferir muito mais sobre esses aspectos, pelo menos à luz desses resultados.

## 2.4. Conclusões

1. As análises mostraram que o solo submetido à queima apresenta menor quantidade de fungos e matéria orgânica.
2. O crescimento microbiano também é mais lento e menor no solo que sofre a queima.
3. As quantidades assimiladas de matéria orgânica assimilada calculadas pela eficiência térmica ( $\eta_H$ ) e as acumuladas em forma viva ( $\Delta X$ ), calculadas pela equação de Sparling são muito próximas para os solos sem queima, mas  $\eta_H$  é cerca de 30% de  $\Delta X$  para o solo submetido à queima.
4. De acordo com os dados obtidos, não foi possível estabelecer uma boa correlação entre a quantidade de microrganismos obtida pela análise microbiológica e a quantidade avaliada pela calorimetria.
5. Os registros calorimétricos mostram curvas sobrepostas que não sofreram deconvolução, evidenciando processos metabólicos concomitantes.
6. Para o solo em que houve queima a constante de crescimento microbiano foi a menor. Isso permite inferir, mesmo tenuamente, que a prática de queimadas leva a uma diminuição de microrganismos presentes na parte mais superficial do solo em relação ao solo em que há acúmulo da cobertura vegetal.
7. O tempo transcorrido para o *peak time* obedece a uma ordem inversa ao número de bactérias e actinomicetos.
8. Não há uma correlação explícita entre a constante de crescimento e o valor de *peak time* devido à sistemática de cálculo de k: essa foi calculada apenas para a primeira parte do crescimento e o *peak time* leva em conta a fase toda de crescimento
9. Os resultados até agora obtidos pelo tratamento dos dados experimentais nesse trabalho, ainda não possibilitam estabelecer uma correlação entre a prática agrícola no solo e a emissão de CO<sub>2</sub>.

## 2.5. Referências bibliográficas

- [1] Núñez-Fernández, O., Núñez-Regueira, L., Proupín-Castiñeiras, J., Rodríguez-Añón, J. A. J.; *Therm. Anal. Cal.*, 80 (2005) 35.
- [2] Brady, N. C., Weil, R. R.; "The Nature and Properties of Soils", Prentice Hall, 13<sup>a</sup>. edição, Upper Saddle River, NJ, 2002.
- [3] Moniz, A. C.; "Elementos de Pedologia", Editora Polígono, São Paulo, 1972.
- [4] Jenny, H.; "Factors of Soil Formation: a system of quantitative pedology", McGraw-Hill Book Company, Inc., 1941.
- [5] Hilgard, E. W.; "Soils", The Macmillan Company, New York, 1914.
- [6] Ramann, E.; "Bodenkunde", Verlag Julius Springer, Berlin, 1911.
- [7] Ramann, E.; "The Evolution and Classification of Soils", W. Heffer & Sons, Ltd., London, 1928.
- [9] Waksman, S.; "Soil Microbiology", John Wiley & Sons, Inc., New York, 1952.
- [10] Adelberg, E. A., Doudoroff, M., Stanier, R. Y.; "Mundo dos Micróbios", Editora Edgard Blücher Ltda., São Paulo, 1976.
- [11] Do Amaral, S. E., Leinz, V.; "Geologia Geral", Editora Nacional, 8<sup>a</sup> edição, São Paulo, 1980.
- [12] Duchaufour, P.; "Pédologie: Sol, végétation, environnement", Masson, 3<sup>a</sup>. edição, Paris, 1991.
- [13] Alexander, M.; "Soil Microbiology", John Wiley & Sons, New York, 1961.
- [14] Coleman, D. C., Crossley, D., A., Hendrix, P., F.; "Fundamentals of Soil Ecology", Elsevier Academic Press, 2004.
- [15] Woodbury, A. M.; "Principles of General Ecology", The Blakiston Company Inc., New York, 1954.
- [16] Hattori, T.; "Microbial Life in the Soil", Marcel Dekker, Inc., New York, 1973.
- [17] Foth, H. D.; "Fundamentals of Soil Science", John Wiley & Sons, 8<sup>a</sup>. edição, New York, 1990.
- [18] Berg, J. M., Stryer, L., Tymoczko, J. L.; "Biochemistry", W. H Freeman and Company, 5<sup>a</sup>. edição, New York, 1995.
- [19] Schelegel, H. G.; "Microbiología General", Editora Omega, Barcelona, 1997.
- [20] Cardoso, E. J. B. N., Neves, M. C. P.; "Microbiologia do Solo", Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, 1992.
- [21] Haynie, D. T.; "Biological Thermodynamics", Cambridge University Press, 2<sup>a</sup>. edição, 2008.

- [22] Bassereau, D., Fauconnier, R.; “La caña de azúcar”, Editorial Blume, 1ª. edição, Barcelona, 1975.
- [23] James, G.; “Sugarcane”, Blackwell Science Ltda., 2ª. edição, Índia, 2004.
- [24] Braunbeck, O. A., Cortez, L. A. B.; “O cultivo da cana-de-açúcar e o uso de resíduos”, Editora da Unicamp, Campinas, 2002.
- [25] Lory, S., Perry, J. J., Staley, J. T.; “Microbial Life”, Sinauer Associates, Inc., 2ª. edição.
- [26] Ljunghlom, K., Norém, B., Sköld, Wadsö, *Oikos*, 33 (1979) 24.
- [27] Belaich, J. P.; “Biological Microcalorimetry”, Academic Press, London, 1980.
- [28] Sparling, G. P., *Soil Biol. Biochem.*, 13 (1981) 93.
- [29] Airoidi, C., Barros, N., Critter, S. A. M., Feijóo, S., Simoni, J. A. *J. Therm. Anal. Cal.*, 63 (2001) 577.
- [30] Camargo, O. A., Jorge, J. A., Moniz, A. C. , Valadares, J. M. A. S.; “Métodos de análise química, mineralógica e física de solos do Instituto Agronômico de Campinas.” Campinas, Instituto Agronômico de Campinas, 1986, p. 94 (IAC, Boletim Técnico, 106).
- [31] Miller, R. H.; “Methods of Soil Analysis, Part 2 – Chemical and Microbiological Properties”, Soil Science Society of America, Madison, 1982.
- [32] Carter, M. R.; “Soil Sampling and Methods of Analysis”, Canadian Society of Soil Science, Lewis Publishers, 1993.
- [33] Barros, N., Feijóo, S., Salgado J.; *Thermochimica Acta*. 458 (2007) 11.
- [34] Airoidi, C., Barros, N., Critter, S. A. M., Feijóo, S., Simoni, J. A. *J. Therm. Anal. Cal.*, 63 (2001) 577.
- [35] Zhao, B., Zheng, S., Yao, J., Yu, Z.; *Eur. J. Soil Bio.*, 43 (2007) 151.
- [36] Sparling, G. P. *J. Soil Sci.*, 34 (1983) 381.
- [37] Gerba, C. P., Pepper, I. L.; “Environmental Microbiology: A Laboratory Manual, 2ª. edição”, Elsevier, 2004.
- [38] Hillel, D.; “Environmental Soil Physics”, Academic Press, San Diego, 1998.
- [39] Krasil'nikov, N. A.; “Soil Microorganisms and Higher Plants”, The Israel program for scientific translations, 1961.