

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO

**IMPACTO DA ADIÇÃO DE CARBONO PIROGÊNICO NAS PROPRIEDADES
QUÍMICAS DO SOLO E NA QUALIDADE E QUANTIDADE DE MATÉRIA
ORGÂNICA DE UM CAMBISSOLO SUBTROPICAL E DE UM
ARGISSOLO TROPICAL**

**Otávio dos Anjos Leal
(TESE)**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO

**IMPACTO DA ADIÇÃO DE CARBONO PIROGÊNICO NAS PROPRIEDADES
QUÍMICAS DO SOLO E NA QUALIDADE E QUANTIDADE DE MATÉRIA
ORGÂNICA DE UM CAMBISSOLO SUBTROPICAL E DE UM
ARGISSOLO TROPICAL**

OTÁVIO DOS ANJOS LEAL
Engenheiro Agrônomo (UFPEL)
Mestre em Ciências - Solos (UFPEL)

Tese apresentada como
um dos requisitos para obtenção do
Grau de Doutor em Ciência do Solo

Porto Alegre (RS) Brasil
Abril de 2015

CIP - Catalogação na Publicação

Leal, Otavio dos Anjos
IMPACTO DA ADIÇÃO DE CARBONO PIROGÊNICO NAS
PROPRIEDADES QUÍMICAS DO SOLO E NA QUALIDADE E
QUANTIDADE DE MATÉRIA ORGÂNICA DE UM CAMBISSOLO
SUBTROPICAL E DE UM ARGISSOLO TROPICAL / Otavio dos
Anjos Leal. -- 2015.
132 f.

Orientadora: Deborah Pinheiro Dick.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de
Pós-Graduação em Ciência do Solo, Porto Alegre, BR-RS,
2015.

1. Biocarvão (biochar). 2. Floresta Amazônica. 3.
Fertilidade. 4. Composição química. 5. Degradação. I.
Dick, Deborah Pinheiro, orient. II. Título.

OTÁVIO DOS ANJOS LEAL

IMPACTO DA ADIÇÃO DE CARBONO PIROGÊNICO NAS PROPRIEDADES QUÍMICAS DO SOLO E NA QUALIDADE E QUANTIDADE DE MATÉRIA ORGÂNICA DE UM CAMBISSOLO SUBTROPICAL E DE UM ARGISSOLO TROPICAL

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo da Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciência do Solo.

Aprovada em 10 de abril de 2015
Homologada em 22 de abril de 2015.

BANCA EXAMINADORA:

Dra. Cláudia Maria Branco de Freitas Maia
Embrapa Florestas

Dra. Heike Knicker
IRNAS-CSIC (Sevilha, Espanha)

Dr. Falberni de Souza Costa
Embrapa Acre

Orientadora - Profa. Deborah Pinheiro Dick
UFRGS

Dedico aos meus pais Ubirajara e Liliane,
à minha esposa Daniela e
aos meus irmãos Lucas e Laura.
Minha fonte de paz e segurança.
Obrigado pela educação e amor.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo pela oportunidade de realizar o curso de doutorado;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pelas bolsas de estudo durante o curso de doutorado e à CAPES-PDSE pela bolsa de estudo durante o período de doutorado sanduíche;

À minha orientadora Dr^a. Deborah Pinheiro Dick pelos ensinamentos transmitidos, reuniões produtivas, incentivo na busca de novos desafios, entusiasmo, confiança, amizade e pela excelente orientação;

À Dr^a. Heike Knicker por me receber agradavelmente no Instituto de Recursos Naturales e Agrobiología de Sevilla (IRNAS), onde realizei o doutorado sanduíche, pela orientação, atenção e pelas valiosas oportunidades proporcionadas;

À banca examinadora da qualificação e da defesa de doutorado pelas contribuições;

À todos os professores da UFRGS que contribuíram para a minha formação;

À Dr^a. Kátia Cyrene Lombardi (Unicentro) e ao pesquisador Falberni de Souza Costa (Embrapa Acre) por terem disponibilizado suas áreas experimentais para realização dos estudos que compuseram a presente tese;

Ao IRNAS por disponibilizar sua infraestrutura durante o período de doutorado sanduíche, em especial ao pesquisador José António González-Pérez pela troca de ideias, as quais acrescentaram muito à tese. Agradeço também a todos os demais pesquisadores e colegas do IRNAS, Francisco Javier González-Vila, José Maria de la Rosa, Nicasio T. Jiménez-Morillo, María López-Martín, Marina Carmona e Marta Molina pelo agradável convívio, amizade e ajuda dentro e fora do IRNAS. Aos colegas de apartamento em Sevilha, Sérgio Sasso e Rungroch Suwattanakul pelas experiências partilhadas, apoio, harmonia e amizade.

À todos os colegas do PPG-Ciência do Solo, em especial aos colegas da área de Manejo de Solos: Ana Cristina Lüdtke, Carla Rosa, Cecília Sacramento, Daiane dos Santos, Daniel Hanke, Daniela Leal, Diego Bastos, Douglas Weiler,

Estefânia Camargo, Fernando Vieiro, Genuir Denega, Graciele Santana, Janquieli Schirmann, Laisa Pimentel, Lucia Salvo, Renan Vieira e Tiago Zschornack pelo apoio, confraternizações e amizade;

Aos colegas do laboratório K 104-B do Instituto de Química, Anderson Leite e Mauro Hirsch pela amizade e pelo auxílio no laboratório e durante minha ausência devido ao período de doutorado sanduíche;

A todos os bolsistas que ajudaram a realizar esse trabalho, em especial à bolsista Vanessa Gonçalves Maciel;

Aos funcionários e técnicos laboratoristas da UFRGS, Jader Amaro e Luis Antonio da Silveira pela atenção, eficiência e amizade;

Aos meus pais: Ubirajara Garcia Leal e Liliane Munhoz dos Anjos Leal, e irmãos: Lucas dos Anjos Leal e Laura dos Anjos Leal pela educação, segurança, amor e incentivo transmitidos desde sempre. São meu porto seguro;

À minha esposa, meu amor, Daniela Piaz Barbosa Leal, pela ajuda, dedicação, esforço e incentivo nos momentos de maior exigência ao longo do doutorado, por compartilhar os momentos de maior angústia tornando-os mais calmos e simples, e principalmente por dar um sentido especial e verdadeiro à vida;

À todos os demais familiares, especialmente à Cynthia Munhoz dos Anjos Leal, Fernanda Munhoz dos Anjos Leal, Yolanda Munhoz dos Anjos e Martha Leal por partilharem diretamente as aflições e preocupações ao longo do curso e pelo seu carinho e amor que sempre me fortaleceram;

Aos meus grandes amigos/irmãos Tiago Nunes, Sérgio Nunes, Artur Carriconde, Mateus de Freitas, Gabriel Campos, Cristiano Zimmer e Miguel guerra pela amizade e incentivo;

À todas as pessoas, amigos, familiares e colegas que de alguma forma contribuíram para que eu atingisse o objetivo de concluir o curso de Doutorado em Ciência do Solo.

IMPACTO DA ADIÇÃO DE CARBONO PIROGÊNICO NAS PROPRIEDADES QUÍMICAS DO SOLO E NA QUALIDADE E QUANTIDADE DE MATÉRIA ORGÂNICA DE UM CAMBISSOLO SUBTROPICAL E DE UM ARGISSOLO TROPICAL¹

AUTOR: Otávio dos Anjos Leal

ORIENTADOR: Prof^ª. Dr^ª. Deborah Pinheiro Dick

RESUMO

O carbono pirogênico (CPi) pode entrar no solo via adição de carvão vegetal ou via queima de vegetação, e sua recalitrância bioquímica sugere que o mesmo pode elevar o sequestro de carbono (C) no solo. No Brasil, existem 2 contextos relacionados ao CPi: altas quantidades de carvão vegetal são descartadas e a frequente queima de Floresta Amazônica (FA). Objetivando avaliar o efeito do CPi sobre a matéria orgânica do solo (MOS) de um Cambissolo e de um Argissolo no Brasil, 3 estudos foram realizados. Os Estudos 1 e 2 objetivaram avaliar o efeito de doses (T1=0, T2=10, T3=20, T4=40 Mg ha⁻¹) de finos de carvão vegetal sobre a composição e a biodegradabilidade da MOS de um Cambissolo. Após 20 meses da aplicação do carvão, amostras de solo foram coletadas nas camadas de 0-5, 5-10, 10-20 e 20-30 cm. Na camada de 0-5, o T4 aumentou o teor de C total (CT) e o teor de C na fração particulada da MOS em 38 e 127%, respectivamente. Na camada de 10-20 cm, o T4 aumentou os teores de CT e de C na fração silte+argila em 23 e 26%, respectivamente, comparado ao T1. Os dados de $\delta^{13}\text{C}$ e de microscopia eletrônica confirmaram que fragmentos coloidais de carvão foram lixiviados para a camada de 10-20 cm e que fragmentos maiores permaneceram na camada de 0-5 cm. Maior teor de C nas frações ácido húmico (C_{AH}) e ácido fúlvico (C_{AF}) foram observados na camada de 20-30 cm em T4, o que aparentemente está relacionado ao estímulo da humificação da MOS endógena, uma vez que não foi observada presença de carvão nessa camada. O T4 aumentou os teores de C_{AH} nas camadas de 0-5 e 10-20 cm e os teores de C_{AF} na camada de 10-20 cm, provavelmente devido à presença de carvão humificado nessas camadas. O T4 aumentou o teor de C na humina e tornou a MOS mais aromática na camada de 0-5 cm, explicando o maior (11%) tempo médio de residência da MOS de lenta ciclagem em comparação ao T1. O fracionamento virtual dos espectros de ¹³C RMN confirmou que estruturas aromáticas do carvão foram preferencialmente preservadas durante 5 meses e meio de experimento de incubação. O estudo 3 investigou o efeito da queima de FA na composição da MOS e na retenção de C nas frações minerais de um Argissolo. Neste estudo, 4 ha de FA nativa foram queimados de forma controlada. Após 2 anos, amostras de solo foram coletadas em 11 camadas (0-200 cm) em 3 áreas: FA nativa (FAN), FA queimada (FAQ) e pastagem (PT) (FAN queimada há 23 anos). A FAQ apresentou maior teor de CT em relação à FAN e PT na camada de 0-5 cm. Isto foi atribuído à entrada de CPi em FAQ e à perda de C do solo após a conversão FAN-PT. Em FAQ, a argila apresentou limite de saturação (81 g kg⁻¹), parcialmente atribuído ao aquecimento da superfície do solo pela queimada. Possivelmente, a queima diminuiu a área superficial e os sítios de interação organo-mineral da argila, facilitando sua saturação.

¹ Tese de Doutorado em Ciência do Solo. Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. (114 p.) Abril, 2014. Trabalho realizado com apoio da CAPES, CAPES-PDSE e CNPq.

IMPACT OF PYROGENIC CARBON ADDITION ON SOIL CHEMICAL PROPERTIES AND ON ORGANIC MATTER QUALITY AND CONTENT OF A SUBTROPICAL CAMBISOL AND OF A TROPICAL ACRISOL¹

AUTHOR: Otávio dos Anjos Leal

ADVISER: Prof. Dr. Deborah Pinheiro Dick

ABSTRACT

Pyrogenic carbon (PyC) usually enters the soil via charcoal addition or via vegetation burning, and its biochemical recalcitrance suggests that this material has potential to enhance carbon (C) sequestration into the soil. In Brazil there are 2 important scenarios related to PyC: great amounts of fine charcoal residues are usually discarded and Amazon Forest (AF) burning is frequent. In order to evaluate the effects of PyC on soil organic matter (SOM) of Brazilian Cambisol and Acrisol, 3 studies were performed. Study 1 and Study 2 aimed to evaluate the effect of doses (T1=0, T2=10, T3=20 and T4=40 Mg ha⁻¹) of charcoal fines on SOM composition and biodegradability of a Cambisol. Twenty months after the charcoal application, soil samples were collected at 0-5, 5-10, 10-20 and 20-30 cm depths. At 0-5 cm depth, T4 increased the total C (TC) content and the C content in the particulate SOM fraction by 38 and 127%, respectively. At 10-20 cm depth, T4 increased TC and the C content in the silt+clay fraction by 23 and 26%, respectively, in comparison to T1. The $\delta^{13}\text{C}$ and the scanning electron microscopy data confirmed that colloidal charcoal fragments were leached to 10-20 cm depth and that coarser fragments remained at 0-5 cm depth. Higher C content in the humic acid (C_{HA}) and in the fulvic acid (C_{FA}) was observed at 20-30 cm depth in T4. It is apparently related to the stimulation of the endogenous SOM humification, since charcoal presence was not observed at this depth. The T4 increased the C_{HA} at 0-5 and 10-20 cm depths, and the C_{FA} content at 10-20 cm depth, probably due to the presence of humified charcoal at these depths. The T4 increased the C content in the humin and shifted SOM composition toward higher aromaticity at 0-5 cm depth, explaining the higher (11%) mean residence time of the slow SOM pool in comparison to T1. The virtual ¹³C NMR spectra fractionation confirmed that charcoal aromatic structures were preferably preserved during a 5.5 month incubation experiment. Study 3 aimed to investigate the effect of AF burning on SOM composition and C retention in mineral fractions of an Acrisol. In this study, 4 ha of native AF were burned under controlled conditions. After 2 years, soil samples were collected at 11 depths (0-200 cm) in 3 areas: native AF (NAF), burned AF (BAF) and grassland (GA) (OAF burned 23 earlier). The BAF presented higher TC content than OAF and GA at 0-5 cm depth. It was attributed to the input of PyC in BAF and also to the soil C loss after the conversion AF-GA. The clay fraction of BAF presented a C saturation limit (81 g kg⁻¹), partially attributed to the soil surface heating due to the burning. Possibly, it decreased the surface area of the clay and its available sites for organo-mineral interactions, facilitating its saturation.

¹ Doctoral thesis in Soil Science - Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. (114 p.) April, 2014. Research supported by CAPES, CAPES-PDSE and CNPq.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2.	CAPÍTULO I - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
2.1	Carbono pirogênico e Terra preta de Índio (TPI).....	5
2.2	Biochar (biocarvão).....	7
2.3	Efeito das queimadas sobre a matéria orgânica do solo.....	11
2.4	Técnicas para análise da composição química da matéria orgânica.....	15
3.	HIPÓTESES.....	20
4.	OBJETIVOS.....	21
5.	CAPÍTULO II - ESTUDO 1: SOIL CHEMICAL PROPERTIES AND ORGANIC MATTER COMPOSITION OF A SUBTROPICAL CAMBISOL AFTER CHARCOAL FINE RESIDUES INCORPORATION.....	22
5.1	Introduction.....	22
5.2	Materials and methods.....	24
5.2.1	Site description, experimental design and soil sampling.....	24
5.2.2	Soil chemical and elemental analysis.....	26
5.2.3	SOM fractionation.....	27
5.2.4	Isotope ratio mass spectrometry (IRMS) - stable isotope signature $\delta^{13}\text{C}$	27
5.2.5	10% HF solution treatment.....	28
5.2.6	Infrared spectroscopy, thermogravimetric analysis and scanning electron microscopy.....	28
5.2.7	Statistical analysis.....	29
5.3	Results and discussion.....	30
5.3.1	Effect of charcoal application on soil chemical properties.....	30
5.3.2	Effect of charcoal application on C and N contents, SOM $\delta^{13}\text{C}$ signature and aromaticity.....	32
5.3.3	Effect of charcoal application on SOM thermostability.....	39
5.4	Conclusions.....	41
6.	CAPÍTULO III - Estudo 2: HUMIC SUBSTANCES DISTRIBUTION AND ORGANIC MATTER BIODEGRADABILITY ALONG A CAMBISOL PROFILE AFTER CHARCOAL APPLICATION.....	43
6.1	Introduction.....	43
6.2	Materials and methods.....	45
6.2.1	Site description, experimental design and soil sampling.....	45
6.2.2	Total carbon content and SOM fractionation.....	46
6.2.3	Incubation experiment.....	47
6.2.4	Solid-state ^{13}C nuclear magnetic resonance spectroscopy cross-polarization magic-angle spinning (^{13}C NMR CPMAS).....	49
6.2.5	Estimation of charcoal selective preservation by virtual ^{13}C NMR spectra fractionation.....	50

6.2.6	Pyrolysis-Gas Chromatography-Mass Spectroscopy (Py-GC/MS).....	51
6.2.7	Statistical analysis.....	52
6.3	Results and discussion.....	52
6.3.1	Total C content and humic substances.....	52
6.3.2	SOM and charcoal biodegradability.....	56
6.3.3	Alteration of SOM and charcoal chemical composition during incubation and estimation of charcoal contribution.....	61
6.3.4	Changes on the chemical composition of charcoal during incubation as assessed by Py-GC/MS.....	65
6.4	Conclusions.....	70
7.	CAPÍTULO IV - Estudo 3: EFEITO DA QUEIMA DE FLORESTA AMAZÔNICA NATIVA SOBRE A RETENÇÃO DE CARBONO NAS FRAÇÕES SILTE E ARGILA E NA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA MATÉRIA ORGÂNICA AO LONGO DO PERFIL DE UM ARGISSOLO.....	71
7.1	Introdução.....	71
7.2	Material e métodos.....	74
7.2.1	Descrição da área de estudo e amostragem do solo.....	74
7.2.2	Análise de fertilidade do solo, determinação dos teores de C e N e fracionamento físico da matéria orgânica.....	76
7.2.3	Estimativa da capacidade de retenção e do déficit de saturação de C nas frações silte e argila.....	78
7.2.4	Ressonância Magnética Nuclear de ¹³ C no estado sólido com polarização cruzada e ângulo mágico de spinning (RMN ¹³ C CPMAS).....	78
7.2.5	Tratamento dos dados.....	79
7.3	Resultados e discussão.....	80
7.3.1	Propriedades químicas e teores de COT e NT do solo.....	80
7.3.2	Composição química da MOS avaliada por RMN ¹³ C CPMAS....	84
7.3.3	Distribuição do C nas frações granulométricas da MOS.....	87
7.3.4	Capacidade de retenção de C nas frações silte e argila.....	90
7.4	Conclusões.....	93
8.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	94
8.1	Estudos 1 e 2.....	94
8.2	Estudo 3.....	95
9.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	96
10.	APÊNDICES.....	108

RELAÇÃO DE TABELAS

1.	Characteristics of the charcoal used in this study.....	25
2.	Soil pH (H ₂ O), available P, exchangeable K, Ca, Mg and Al, potential acidity (Al+H) and effective cation exchange capacity (ECEC) along a Cambisol profile after different doses of charcoal application.....	31
3.	Soil total carbon (TC), total nitrogen (TN), C and N contents in the particulate fraction (C _{particulate f.} , N _{particulate f.}), C and N contents in the silt+clay size fraction (C _{silt+clay f.} , N _{silt+clay f.}), respective C/N ratios and aromaticity index (I _{C=C} /I _{C-H}) along a Cambisol profile after different doses of charcoal application.....	33
4.	Soil total carbon δ ¹³ C signature and contribution of the <i>Eucalyptus</i> and of the charcoal to the total soil carbon content along a Cambisol profile after 40 Mg ha ⁻¹ of charcoal application.....	36
5.	Mass loss in different temperature intervals, mass residue for T > 800 °C and thermogravimetric index (TGI) of the pure charcoal and of the SOM along a Cambisol profile after different doses of charcoal application.....	40
6.	Total carbon content (TC), carbon content allocated in each chemical fraction and C _{HA} /C _{FA} and (C _{FA} +C _{HA})/C _{HU} ratios of SOM of a Cambisol after charcoal application. C content in the acid extract (C _{HCl}), fulvic acid (C _{FA}), humic acid (C _{HA}) and humin (C _{HU}).....	53
7.	Carbon (C) loss during the incubation experiment, proportion of the fast (A ₁) and slow (A ₂) SOM pools, their respective constant mineralization rates (k ₁ and k ₂) and mean residence times (MRT ₁ and MRT ₂) and half life time of the slow SOM pool (t _{1/2 long}) of the pure charcoal and of a Cambisol after charcoal application.....	58
8.	Comparison of the relative intensity distribution (%) of solid-state ¹³ C NMR spectra, before and after 165 days of incubation, of the charcoal and of the Cambisol samples collected at 0 - 5 and 10 - 20 cm depth after charcoal application.....	63
9.	Compounds released by Pyrolysis-Gas Chromatography-Mass Spectroscopy at 700 °C from charcoal samples, before and after the incubation experiment.....	67

10.	Distribuição granulométrica, pH em água (pH H ₂ O), teor de P disponível, K, Na, Al, Ca e Mg trocáveis, acidez potencial (Al+H), capacidade de troca de cátions efetiva (CTCe), teor de carbono orgânico total (COT) e de nitrogênio total (NT) no perfil de um Argissolo sob Floresta Amazônica queimada (FAQ), Floresta Amazônica nativa (FAN) e pastagem (PT).....	81
11.	Distribuição proporcional dos grupos funcionais de carbono obtidos por RMN ¹³ C CPMAS e índice de hidrofobicidade (IH) nas camadas de 0 - 5 e 5 - 10 cm de um Argissolo Vermelho sob Floresta Amazônica queimada (FAQ), Floresta Amazônica nativa (FAN) e pastagem (PT).....	85
12.	Teor de C e N das frações areia, silte e argila e contribuição do C das frações para o teor de COT (C _{areia} /COT, C _{silte} /COT, C _{argila} /COT) no perfil de um Argissolo sob Floresta Amazônica queimada (FAQ), Floresta Amazônica nativa (FAN) e pastagem (PT).....	88

RELAÇÃO DE FIGURAS

1.	Scanning electron microscopy of the pure charcoal (1a) and of the particulate (1b) (0-5 cm) and sil+clay size (c) (10-20 cm) fractions of SOM in treatment T4 (40 Mg ha ⁻¹). The charcoal fragments (arrows in the figures 1b and 1c) could be identified by energy dispersive X-ray spectroscopy, with a dominant C peak.....	35
2.	FTIR spectra of the charcoal and of SOM along a Cambisol profile in treatments T1 and T4. Spectra of T1 (Figure 2a) and spectra of charcoal and T4 (Figure 2b) . T1 = 0 Mg ha ⁻¹ (control); T4 = 40 Mg ha ⁻¹	38
3.	Contribution of the chemical fractions of SOM to the total carbon content along a Cambisol profile after charcoal application. C in the acid extract (C _{HCl}), fulvic acid (C _{FA}), humic acid (C _{HA}) and humin (C _{HU}). T1 = 0 Mg ha ⁻¹ (control); T4 = 40 Mg ha ⁻¹	54
4.	Remaining carbon (C) (mean of 4 replicates) as a function of incubation time for T1 and T4 samples collected at 0 - 5, 5 - 10, 10 - 20 and 20 - 30 cm depths and for pure charcoal. T1 = 0 Mg ha ⁻¹ (control); T4 = 40 Mg ha ⁻¹	57
5.	Solid-state ¹³ C NMR spectra of the pure charcoal and of HF-treated T1 and T4 samples for 0 - 5 and 10 - 20 cm depths, before and after 165 incubation days. T1 = 0 Mg ha ⁻¹ (control); T4 = 40 Mg ha ⁻¹	62
6.	Specific contribution of the charcoal in T4 at 0 - 5 and 10 - 20 cm depths, before and after the incubation experiment, to the different chemical shift regions of the ¹³ C NMR spectra. Black bars indicate the total organic matter (native organic matter + charcoal). Gray bars indicate the contribution of the native organic matter and white bars indicate the contribution of the charcoal to the total signal intensities.....	65
7.	Pyrolysis-Gas Chromatography-Mass Spectroscopy chromatogram at 700 °C of the pure charcoal, before and after the incubation experiment. The labels over the peaks refer to the identified compounds, which are listed in table 9. Since all compounds were released before 14 min, the chromatogram comprises from 1 to 14 min in order to facilitate the peaks visualization.....	66
8.	Queima da vegetação (Figura 8a), área de Floresta Amazônica nativa (Figura 8b), área de Floresta Amazônica queimada em regeneração (Figura 8c) e área de pastagem (d). Fotos: Falberni de Souza Costa.....	75

9.	Espectros de RMN ^{13}C CPMAS da matéria orgânica nas camadas de 0 - 5 e 5 - 10 cm de um Argissolo Vermelho sob Floresta Amazônica queimada, Floresta Amazônica nativa e pastagem.....	84
10.	Relação entre o teor de carbono nas frações silte e argila (C_{silte} , C_{argila}) e o teor de carbono orgânico total do solo (C_{solo}) em Argissolo Vermelho sob Floresta Amazônica queimada (Figura 10a), Floresta Amazônica nativa (Figura 10b) e pastagem (Figura 10c).....	91

RELAÇÃO DE APÊNDICES

1.	Média e desvio padrão de três repetições do teor de elementos extraíveis do carvão vegetal puro. Metodologia de extração descrita no capítulo 2. Somente para fins são anexados também os teores máximos de alguns elementos permitidos pela International Biochar Initiative (IBI) na composição do biochar e os teores máximos permitidos pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente do Brasil na composição do lodo de esgoto e seus derivados para aplicação agrícola.....	109
2.	Espectros de infravermelho de amostras de solo (tratadas com HF) coletadas nas camadas de 0 - 5, 5 - 10, 10 - 20 e 20 - 30 cm nos tratamentos T2 e T3. T2 = 10 Mg ha ⁻¹ ; T3 = 20 Mg ha ⁻¹ de carvão vegetal.....	110
3.	Média e desvio padrão de quatro repetições dos valores de capacidade de retenção de água do solo nos tratamentos T1 e T4 e do carvão vegetal puro. T1 = 0 Mg ha ⁻¹ ; T4 = 40 Mg ha ⁻¹ de carvão vegetal. Médias seguidas de mesma letra em cada profundidade não diferem entre si pelo teste de Tukey a 10%.....	111
4.	Cromatogramas dos produtos de pirólise analítica (Pi-CG/EM) do carvão vegetal puro realizada a diferentes temperaturas.....	112
5.	Modelo zonal de interação organo-mineral proposto por Kleber et al. (2007).....	113
6.	Curvas de dispersão da fração argila para as camadas de 0 - 5 e 5 - 10 cm (curva 1), 20 - 30 cm (curva 2), 40 - 50 cm (curva 3) e para as camadas de 75 - 100 e 100 - 150 cm (curva 4).....	114

RELAÇÃO DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

- ^{13}C NMR - Solid-state ^{13}C nuclear magnetic resonance spectroscopy
 $\delta^{13}\text{C}$ - stable carbon isotope signature
 δA1 - original soil $\delta^{13}\text{C}$ signature before Eucalyptus cultivation
 δA2 - original soil $\delta^{13}\text{C}$ signature before Eucalyptus cultivation (T4 20–30 cm)
 δB1 - Eucalyptus $\delta^{13}\text{C}$ signature
 δB2 - charcoal $\delta^{13}\text{C}$ signature
 δt1 - soil $\delta^{13}\text{C}$ signature after Eucalyptus cultivation
 δt2 - soil $\delta^{13}\text{C}$ signature after Eucalyptus cultivation and charcoal addition (T4)
A - aromatics
 A_1 - proportion of the soil organic matter fast pool
 A_2 - proportion of the soil organic matter slow pool
Al - alkane/alkenes
Al+H - potential acidity, acidez potencial
ASE - área superficial específica
BAF - burned Amazon Forest
 C_{AF} - carbono na fração ácido fúlvico
 C_{AH} - carbono na fração ácido húmico
 C_{areia} - teor de carbono na fração areia
 C_{argila} - teor de carbono na fração argila
 C_{ds} - déficit de saturação de carbono
 C_{FA} - carbon content in the fulvic acid
 C_{HA} - carbon content in the humic acid
 C_{HCl} - carbon content in the acid extract
 C_{HU} - carbono na fração humina, carbon content in the humin
 $\text{C}_{\text{máx}}$ - retenção máxima de carbono
CT - carbono total
COT - carbono orgânico total
 $\text{C}_{\text{particulate f.}}$ - carbon content of the particulate fraction
 C_{pi} - carbono pirogênico
CPMAS - cross-polarization magic-angle spinning
 C_{SHS} - carbon content in the soluble humic substances
 C_{silte} - teor de carbono na fração silte
 $\text{C}_{\text{silt+clay f.}}$ - carbon content of the silt+clay size fraction
 C_{solo} - carbono total do solo
CTC - capacidade de troca de cátions
CTCe - capacidade de troca de cátions efetiva
ECEC - Effective cation exchange capacity
EC - electrical conductivity
EDX - dispersive energy detector of X-ray
FA - fulvic acids
FAN - Floresta Amazônica nativa
FAQ - Floresta Amazônica queimada
FTIR - Fourier transform infrared spectroscopy
 $\text{Ft}_{\text{charcoal}}$ - proportion of the total carbon derived from the charcoal
 $\text{Ft}_{\text{eucalyptus}}$ - proportion of the total carbon derived from Eucalyptus plants
 $\text{Ft}_{\text{charcoal+eucalyptus}}$ - proportion of the total carbon derived from charcoal + Eucalyptus
GA - grassland

HA - humic acids
 HF - hydrofluoric acid
 HU - humin
 IBI - International Biochar Initiative
 $I_{C=C}/I_{C-H}$ - aromaticity index
 I_{charcoal} - intensities attributed specifically to the charcoal
 IH - índice de hidrofobicidade
 I_{NOM} - native soil organic matter intensity
 IRMS - Isotope ratio mass spectrometry
 I_{T1} - intensities attributed specifically to T1 samples
 k_1 - constant mineralization rate of the soil organic matter fast pool
 k_2 - constant mineralization rate of the soil organic matter slow pool
 MO-MO - interações matéria orgânica-matéria orgânica
 MOS - matéria orgânica do solo
 MRT_1 - mean residence time of the soil organic matter fast pool
 MRT_2 - mean residence time of the soil organic matter slow pool
 NAF - native Amazon Forest
 N_{areia} - teor de nitrogênio na fração areia
 N_{argila} - teor de nitrogênio na fração argila
 $N_{\text{particulate f.}}$ - nitrogen content of the particulate fraction
 N_{silte} - teor de nitrogênio na fração silte
 $N_{\text{silt+clay f.}}$ - nitrogen content of the silt+clay size fraction
 NT - teor de nitrogênio total
 Pa - polyaromatics
 PDB - Pee Dee Belemite
 Ph - phenols
 Pi-CG/EM - pirólise analítica associada à cromatografia gasosa e espectrometria de massa
 PR - Paraná state
 Ps - polysaccharides
 PT - pastagem
 PyC - pyrogenic carbon
 Py-GC/MS - Pyrolysis-Gas Chromatography-Mass Spectroscopy
 RMN^{13C} - Ressonância Magnética Nuclear de ^{13}C
 SEM - scanning electron microscopy
 SHS - soluble humic substances
 SOM - soil organic matter
 $t_{1/2 \text{ long}}$ - half life time of the soil organic matter slow pool
 $T1 - 0 \text{ Mg ha}^{-1}$
 $T2 - 10 \text{ Mg ha}^{-1}$
 $T3 - 20 \text{ Mg ha}^{-1}$
 $T4 - 40 \text{ Mg ha}^{-1}$
 TC - total carbon
 TGA - thermogravimetric analysis
 TGI - thermogravimetric index
 TFSA - terra fina seca ao ar
 TIC - total ion chromatogram
 TN - total nitrogen
 TPI - Terras Pretas de Índio

1. INTRODUÇÃO GERAL

A preocupação com o aquecimento global tem despertado o interesse de pesquisadores quanto à busca por alternativas que minimizem tal processo. Na última década, a aplicação de biocarvão (biochar) ao solo tem sido mundialmente proposta como forma de sequestrar carbono no solo, retardando o seu retorno para a atmosfera (Lehmann et al., 2006; Cross & Sohi, 2011).

A base conceitual para este interesse está diretamente relacionada às Terras Pretas de Índio (TPI) da região Amazônica, faixas de terra que apresentam fertilidade e teor de carbono elevados em comparação às áreas de solo adjacentes. Cientistas que percorriam a Amazônia em 1870 observaram a existência dessas manchas de solo escuro e fértil, as quais foram posteriormente atribuídas à presença de comunidades indígenas (Hartt, 1874; Katzer, 1903). Os índios queimavam os restos de alimentos e animais e esse material era enterrado e acumulado no solo ao longo dos anos, dando origem às TPI (Novotny et al., 2009; Kwapinski et al., 2010). Este processo, além de conferir elevada fertilidade ao solo, conferia principalmente elevada estabilidade ao carbono, atual objeto de estudo de pesquisadores de diversas partes do mundo. Tal estabilidade é atribuída principalmente à elevada aromaticidade do material orgânico em decorrência do processo de queima, a qual supostamente confere alta recalcitrância bioquímica a esse material quando dentro do solo (Verheijen et al., 2012).

Na tentativa de reproduzir estes efeitos, a produção de biochar a partir da pirólise de diferentes fontes de biomassa e o estudo da sua aplicação no solo tem se destacado na última década. O processo consiste no aquecimento em ausência/baixa concentração de oxigênio e sob temperatura

controlada, dando origem a um material rico em carbono pirogênico (Cpi), o qual apresenta elevada aromaticidade. Sendo assim, uma vez incorporado ao solo, o biochar teoricamente apresenta elevado potencial em aumentar o compartimento de matéria orgânica de lenta ciclagem (Lehmann, 2007; Mangrich et al., 2011). Além disso, a literatura relata diversas outras vantagens da aplicação de biochar ao solo, tais como: melhoria da fertilidade, aumento da retenção de água, agregação do solo e produtividade de culturas agrícolas e diminuição da disponibilidade de metais pesados e da emissão de gases de efeito estufa (Park et al., 2011; Petter et al., 2012; Wang et al., 2012; Basso et al., 2013).

O uso do biochar para tais propósitos tem entusiasmado muitos pesquisadores, apesar de ser uma técnica relativamente nova e que necessita de estudos mais avançados para confirmação destes efeitos benéficos, uma vez que efeitos negativos da aplicação de biochar também são reportados na literatura (Verheijen et al., 2010, 2012).

O Brasil se destaca como maior produtor mundial de carvão vegetal, produzindo anualmente 10 milhões de toneladas, suprindo principalmente a indústria siderúrgica. Entretanto, cerca de 15% dessa produção é perdida na forma de finos de carvão, os quais são muitas vezes incorretamente descartados (Pennise et al., 2001; Maia et al., 2011). Considerando-se que esse material apresenta composição similar ao biochar (especificamente produzido para aplicação no solo), como por exemplo, elevado teor de carbono e elevada aromaticidade, uma vez incorporado ao solo esse resíduo pode apresentar benefícios semelhantes aos do biochar, principalmente em relação à retenção de carbono no solo (Novotny et al., 2009).

Além da incorporação antrópica de Cpi ao solo via aplicação de biochar e carvão vegetal, o mesmo pode ser encontrado naturalmente no solo em decorrência da queima da vegetação (Knicker et al., 2013). As queimadas ocorrem em quase todo o território brasileiro. No Pantanal e no sul do país as queimadas são frequentemente utilizadas com o objetivo de controlar plantas invasoras e renovar as pastagens, estimulando o seu rebrote. No Nordeste as queimadas são utilizadas para limpar os solos nas áreas de agricultura de subsistência. Já no Sudeste as queimadas são utilizadas em áreas de cana-de-açúcar. Enquanto que na Amazônia, além de ser uma prática agrícola, as

queimadas objetivam a expansão da fronteira agropecuária (Behling & Pillar, 2007; Kazmierczak, 2011).

No período de 2000 a 2009, foram registrados 1.653.482 focos de queimadas no Brasil, variando desde 757 focos no estado de Sergipe até 392.679 focos no estado do Mato Grosso. A região Norte foi a que mais contribuiu para o total de focos (33,1%), seguida da região Nordeste (29,8%), Centro-Oeste (29,7%), Sudeste (5,7%) e Sul (1,6%). Do total de focos de queimadas ocorridos nestes 10 anos, 63% dos focos ocorreram em áreas de florestas. Dentre os biomas brasileiros mais atingidos estão o bioma Cerrado com um foco a cada 4 km² e o bioma Amazônia com um foco a cada 5,26 km², registrando juntos 80% dos focos de queimadas neste período (Kazmierczak, 2011).

Atualmente as áreas de florestas naturais da região Amazônica têm sido substituídas tanto por pastagens como pelo cultivo de espécies anuais e, muitas vezes, as próprias áreas de pastagens são substituídas pelo plantio de culturas como soja, milho e arroz (Galford et al., 2008). Nesta região, a implantação de espécies cultivadas normalmente envolve a derrubada da floresta, a retirada da madeira economicamente interessante, a queima da biomassa vegetal e por fim a semeadura da pastagem ou das culturas anuais. Apesar do aparente ganho de fertilidade do solo após a queima da vegetação em decorrência da adição de cinzas ao solo, com o passar dos anos é verificado o declínio dessa fertilidade. Como consequência, novas áreas são desmatadas em busca de áreas mais férteis, o que contribui para a queimada de novas áreas e para a emissão de gases de efeito estufa (Perón & Evangelista, 2004).

As pesquisas trazem resultados conflitantes quanto aos efeitos tanto da utilização de biochar como das queimadas, sobre o teor e a composição da matéria orgânica do solo (MOS) e muitas vezes as pesquisas são limitadas às camadas superficiais do solo. Neste contexto, a proposta do presente trabalho foi avaliar o efeito da aplicação de resíduos finos de carvão vegetal sobre atributos de fertilidade e sobre as frações e a composição química da matéria orgânica ao longo do perfil do solo. Além disso, objetivou-se avaliar o impacto da adição desses resíduos sobre os compartimentos de rápida e lenta ciclagem da matéria orgânica através de experimento de incubação. Por fim, este

trabalho investigou o efeito da queima de Floresta Amazônica nativa sobre a composição da MOS e sobre o teor e a retenção de carbono em compartimentos físicos da matéria orgânica ao longo do perfil do solo.

2. CAPÍTULO I - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Carbono pirogênico e Terra preta de Índio (TPI)

O carbono pirogênico (Cpi) é originado através de um processo denominado pirólise, o qual consiste no aquecimento de um material na ausência ou em baixa concentração de oxigênio. Ao final do processo de pirólise é obtido um material carbonizado, rico em carbono (C) e composto principalmente por estruturas aromáticas e poliaromáticas. O material gerado por pirólise apresenta cerca de 50% do C contido na biomassa original, enquanto que no material gerado por combustão (presença de ar-O₂) esse valor é de aproximadamente 2 - 3% (Mangrich et al., 2011).

Na literatura são encontradas várias denominações referentes ao material de origem pirogênica, como C negro (black carbon), carvão (char), carvão vegetal (charcoal), fuligem (soot) e C grafitico (graphitic C), não havendo um consenso a respeito de um ponto divisório entre as propriedades físicas e químicas dos diferentes subprodutos de pirólise (Schmidt & Noack, 2000; Spokas, 2010).

Em decorrência da combustão parcial de vegetação, devido a incêndios naturais ou propositais, o Cpi é encontrado no solo na forma de carvão vegetal (charcoal em inglês). De acordo com González-Pérez et al. (2004) o Cpi representa em média de 1 a 6% do teor de C orgânico total do solo, podendo atingir valores bem maiores em locais onde há histórico de queimadas frequentes. Neste contexto, a presença do Cpi no solo já foi observada em diversos ambientes, como em savanas tropicais, solos agrícolas dos Estados Unidos, solos australianos devido ao manejo do fogo por povos aborígenes e em solos antrópicos da Europa (Bird et al., 1999; Schmidt et al.,

2001; Skjemstad et al., 2002; Krull et al., 2006; Kaal et al., 2008). No Brasil, quantidades significativas de Cpi são encontradas em solos com histórico de incêndios naturais ou provocados (Roscoe et al., 2001; Benites et al., 2005). Além disso, o Cpi também é encontrado em solos antrópicos da região Amazônica, conhecidos como "Terra Preta de Índio" (TPI), os quais tem despertado grande interesse dos pesquisadores por sua alta fertilidade (Cunha et al., 2009).

Naturalistas e geólogos que estudavam a região Amazônica na década de 1870 observaram manchas escuras de solo que apresentavam fertilidade elevada em comparação a solos de áreas adjacentes (Hartt, 1874; Katzer, 1903). Os pesquisadores encontraram nesses solos, diversos vestígios e sinais de ocupação indígena, como fragmentos de cerâmica, ossos de animais e outros resíduos. Por este motivo estas manchas de solo foram denominadas de TPI (Mangrich et al., 2011). Entretanto, ainda não é claro se este foi um processo intencional, com o objetivo de melhorar a fertilidade do solo ou se foi uma consequência das atividades agrícolas e domésticas dos povos indígenas (Novotny et al., 2009).

As TPIs são caracterizadas por apresentarem um horizonte A antrópico (Au), o qual é definido como: horizonte formado ou modificado pelo uso contínuo do solo, pelo homem, como lugar de residência ou cultivo, por períodos prolongados, com adições de material orgânico em mistura ou não com material mineral, ocorrendo, às vezes, fragmentos de cerâmica e restos de ossos e conchas. O horizonte Au assemelha-se aos horizontes A chernozêmico ou A húmico e difere destes por apresentar teor de P_2O_5 solúvel em ácido cítrico mais elevado que na parte inferior do *solum*, ou a presença no horizonte A de artefatos líticos e, ou, cerâmicas, características de ação antrópica (Embrapa, 2006).

Quando comparados a solos de áreas adjacentes (não antrópicos) da região Amazônica, as TPIs tendem a apresentar maiores teores de C orgânico, cálcio (Ca) e magnésio (Mg) trocáveis, pH mais elevado, maior saturação por bases e menor teor de alumínio trocável (Al). De acordo com Madari et al. (2010) a capacidade do solo de adsorver nutrientes, a diminuição da toxidez por Al e a estabilização do pH são propriedades e processos que estão associados à MOS.

Neste sentido, a elevada fertilidade e a sustentabilidade das TPIs são atribuídas ao elevado teor de matéria orgânica e principalmente às suas propriedades físico-químicas. Esses solos contém cerca de 150 g de C kg⁻¹ de solo, enquanto que solos de áreas adjacentes contém apenas de 20 - 30 g kg⁻¹. O horizonte Au encontrado nas TPIs pode apresentar uma espessura de 40 - 50 cm, podendo chegar a até 200 cm. Já nos solos comuns da Amazônia, o C é limitado principalmente às camadas superficiais do solo (Cunha et al., 2007). Boa parte do C nas TPIs (35 - 45%) é encontrado na forma de Cpi, enquanto que em solos circunvizinhos, sem horizonte Au, o Cpi representa somente 14% (Glaser, 2000; Novotny et al., 2009).

A carbonização parcial dos resíduos de animais e vegetais origina um material orgânico composto basicamente por estruturas aromáticas e poliaromáticas. Uma vez incorporado ao solo, este material passa a sofrer processos de oxidação. A oxidação parcial das unidades aromáticas periféricas produz grupos carboxílicos ligados diretamente às estruturas aromáticas, o que contribui não só para elevar a capacidade de troca de cátions (CTC) do solo, mas também para a manutenção da mesma ao longo dos anos. Em estudo realizado na região Amazônica foi observada CTC de 9,5 cmol_c kg⁻¹ para solo não antropogênico, enquanto a CTC do solo com horizonte Au (TPI) foi de 17,5 cmol_c kg⁻¹ (Novotny et al., 2009). A elevada aromaticidade dos compostos de origem pirogênica confere à MOS das TPIs maior resistência à degradação e maior tempo de residência no solo do que a MOS de áreas adjacentes. Técnicas de datação de ¹⁴C confirmam a elevada persistência destas estruturas nas TPI, com datações de C que chegam a 3.000 anos (Novotny et al., 2009).

Na última década, a elevada fertilidade do solo e principalmente a quantidade de C sequestrado nas TPIs na forma de Cpi tem despertado o interesse de pesquisadores, os quais buscam reproduzir tais benefícios adicionando propositalmente material pirogênico ao solo.

2.2 Biochar (biocarvão)

O biochar (biocarvão) é produzido a partir da pirólise da biomassa com o objetivo de aplicar esse material ao solo buscando a melhoria das suas

propriedades e o sequestro de C (Verheijen et al., 2010; Brewer et al., 2014). O Cpi presente no biochar é semelhante ao Cpi oriundo de queimadas quanto ao elevado teor de estruturas C aromáticas e poliaromáticas na sua composição em comparação com a matéria orgânica endógena do solo. Entretanto, o biochar normalmente é produzido a partir de biomassa homogênea e sob condições controladas de temperatura e oxigênio (baixa disponibilidade), enquanto que a diversidade de espécies vegetais, as diferentes temperaturas atingidas durante a queimada e a variação na disponibilidade de oxigênio podem conferir maior heterogeneidade ao material pirogênico oriundo de queimadas (Spokas, 2010).

Os materiais utilizados para a produção do biochar variam desde restos de podas de árvores até ossos e esterco de animais, sendo interessante a produção de biochar a partir de resíduos sem destinação (Mangrich et al., 2011). As características do biochar variam de acordo com o tipo de biomassa pirolisada, a duração do processo de pirólise e principalmente em função da temperatura final de pirólise. O biochar formado em altas temperaturas (700°C) apresenta maior proporção de estruturas aromáticas condensadas, as quais conferem ao biochar elevada resistência à degradação. Portanto, a aplicação de biochar pirolisado a altas temperaturas é vantajosa quando o objetivo principal é o sequestro de C. Por outro lado, o biochar pirolisado em baixas temperaturas (< 500°C) não é tão eficiente quanto ao sequestro de C, mas tende a apresentar um impacto mais relevante na fertilidade do solo, devido à maior preservação de grupos funcionais, resultando em aumento na CTC do solo. (Antal & Gronli, 2003; Steinbeiss et al., 2009; Keiluweit et al., 2010). Sendo assim, quando o objetivo é utilizar o biochar como recurso alternativo para incrementar a fertilidade do solo, o mesmo deve ser produzido a baixas temperaturas (Gaskin et al., 2008; Novak et al., 2009).

Investigando diferentes temperaturas (350 a 700°C) e diferentes tempos de pirólise (10 a 300 min) para a produção de biochar de *Pinus*, Zhou et al. (2010) concluíram que a temperatura final de pirólise exerceu maior importância nas características do biochar do que o tempo de pirólise. Elevando a temperatura final de pirólise (100, 200, 350 e 500 °C) para a produção de biochar de esterco bovino e resíduos de laticínios, Cao & Harris

(2010) observaram aumento na área superficial específica (ASE) do biochar, no conteúdo de cinzas, no pH e na concentração de P, Ca e Mg nas cinzas.

Nos últimos anos, diversos estudos tem demonstrado efeito positivo da aplicação de biochar ao solo, como melhoria da fertilidade e consequente diminuição da necessidade de outros fertilizantes, aumento da retenção de água no solo, aumento na produtividade de culturas, diminuição na emissão de gases de efeito estufa e na disponibilidade de metais pesados, potencial para o sequestro de C, entre outros (Park et al., 2011; Petter et al., 2012; Wang et al., 2012; Basso et al., 2013). Portanto, o biochar tem se mostrado uma tecnologia promissora a nível mundial, especialmente devido ao seu potencial para o sequestro de C e mitigação do aquecimento global (Maia et al., 2011). Entretanto, evidências de efeitos negativos da aplicação de biochar ao solo também são encontradas na literatura, tais como a diminuição da produtividade de culturas e menor tempo de residência do biochar no solo do que era esperado. Além disso, os efeitos positivos de um biochar aplicado em um determinado solo podem não ser obtidos quando aplicado em outro tipo de solo (Verheijen et al., 2010, 2012).

É importante ressaltar que a produção e a aplicação de biochar devem levar em conta o contexto socioeconômico e os riscos ambientais (presença de metais pesados e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos na sua composição) envolvidos na incorporação desse material ao solo. Neste sentido, até mesmo o potencial de mitigação do aquecimento global (tido como um de seus aspectos ambientais mais relevante) tem sido questionado, uma vez que a aplicação do biochar pode diminuir o albedo na superfície do solo, o que contribuiria para o aquecimento do planeta (Verheijen et al., 2012). Somado a isso, a adição do biochar ao solo é um processo irreversível, não será possível removê-lo caso sua presença no solo se torne indesejável.

Frente às opiniões controversas de pesquisadores e órgãos oficiais competentes quanto aos reais efeitos da aplicação de biochar ao solo, principalmente efeitos a longo prazo, a certificação e a regulamentação para o comércio desse material encontra diversos entraves. Todavia, em abril de 2013 a Suíça foi o primeiro país europeu a obter a permissão oficial do Ministério Federal da Agricultura para o uso de biochar certificado na agricultura, sendo permitida única e exclusivamente a utilização de madeira não tratada como

biomassa para produção do biochar (IBI, 2015). Tal certificação foi realizada pela organização International Biochar Initiative (IBI), a qual propõe diretrizes para definir as características que o material deve apresentar para ser denominado biochar, bem como busca padronizar a caracterização do produto. Entretanto, tal certificação se limita basicamente à descrição técnica e à rotulação dos produtos, sem considerar os efeitos ambientais a longo prazo da utilização desse material (Verheijen et al., 2010, 2012). Portanto, apesar da "certificação" a comercialização autorizada desses materiais parece bastante precipitada.

No Brasil a implantação de experimentos de campo com aplicação de charcoal/biochar no solo começou há cerca de 14 anos e a principal rede de pesquisa é liderada pela Embrapa, incluindo estudos com a pirólise de diferentes biomassas e áreas experimentais em diferentes biomas brasileiros: Amazônia (primeiros campos experimentais), Mata Atlântica, Cerrado e nas transições Cerrado-Amazônia e Cerrado-Pantanal (Maia et al., 2011). Entretanto, as etapas de certificação e legalização desse material no país ainda exigem mais estudos que comprovem os reais benefícios dessa tecnologia.

Neste contexto, o Brasil se destaca como um dos maiores produtores de alimentos no mundo, e devido à sua ampla diversidade em relação ao clima, solos e interesses econômicos, uma grande variedade de subprodutos/resíduos orgânicos são gerados, os quais podem ser utilizados e testados para a produção de biochar, como por exemplo: dejetos e restos de animais, resíduos da indústria madeireira e de papel e celulose, resíduos da indústria de biocombustíveis, lodo de esgoto, casca de arroz e outros resíduos que muitas vezes são descartados de forma incorreta (Novotny, 2008). Além disso, o Brasil é o maior produtor de carvão vegetal (charcoal) do mundo, produzindo anualmente cerca de 10 milhões de toneladas, abastecendo principalmente o setor da indústria siderúrgica. Entretanto, cerca de 15% dessa produção é perdida na forma de finos de carvão vegetal (Maia et al., 2011; Pennise et al., 2001).

Considerando-se que esse resíduo apresenta elevado teor de C, principalmente na forma de compostos aromáticos e poliaromáticos, o mesmo poderia ser aproveitado e aplicado ao solo com o objetivo de elevar a sua fertilidade e aumentar o teor de MOS, preferencialmente na sua porção mais

estável. Para tanto, o estudo dos impactos da aplicação desse material sobre o teor e principalmente sobre a composição da MOS é fundamental e várias técnicas podem ser utilizadas.

2.3 Efeito das queimadas sobre a matéria orgânica do solo

O aumento instantâneo da fertilidade do solo após a queima ocorre devido às cinzas que apresentam alta concentração de nutrientes e são oriundas da vegetação mineralizada pelo fogo. Porém, esse efeito positivo sobre a fertilidade tende a desaparecer com o tempo, devido à lixiviação dos nutrientes pela ação das chuvas, resultando em concentrações que podem ser inferiores às originais (Knicker, 2007).

Rheinheimer et al. (2003) investigaram o efeito do fogo sobre a fertilidade de um Cambissolo Húmico em uma área com pastejo e queima e outra somente com pastejo. A camada superficial (0 – 2 cm) foi a mais afetada, ocorrendo aumento nos valores de pH em água, nos teores de N-nitrato, K, Ca e Mg trocáveis e diminuição nos teores de N-amônio e Al trocável. No entanto, 90 dias após a queima todos os atributos químicos avaliados do solo tenderam aos valores originais.

Os impactos das queimadas sobre a MOS dependem de vários fatores, dentre eles: tipo de fogo (superficial ou subterrâneo), intensidade de queima, declividade do terreno, frequência de queima, composição química da vegetação queimada, propriedades químicas e físicas do solo, natureza das comunidades biológicas do solo, maior ou menor disponibilidade de oxigênio, entre outros (González-Pérez et al., 2004; Knicker, 2007). De acordo com Knicker (2007) o impacto de queimadas controladas e de menor severidade sobre os teores de C e N do solo são menos acentuados, podendo haver o aumento desses teores em decorrência da adição de material parcialmente carbonizado ao solo e devido à deposição de material orgânico oriundo da queda de folhas e árvores. Segundo estes autores, a menor severidade desses tipos de queimadas está associada aos maiores teores de umidade do solo e da vegetação. Por outro lado, quando as queimadas são espontâneas, a abundante presença de material "combustível" com baixa umidade, contribui para o alastramento do fogo e para a severidade da queimada. Neste sentido,

solos arenosos tendem a apresentar menor suprimento de água, aumentando a inflamabilidade e conseqüentemente a severidade da queimada. Entretanto, os solos arenosos tendem a ser melhores "isolantes" térmicos, devido ao maior conteúdo de macroporos preenchidos por ar, do que os solos argilosos, nos quais o calor penetra mais rapidamente e profundamente em função da maior umidade (Knicker, 2007).

A intensidade da queimada corresponde à taxa na qual o fogo produz energia térmica e, dependendo dos diversos fatores que afetam a intensidade da queimada, as temperaturas de queima podem atingir desde 50 até 1.500 °C, com liberação de calor variando de $2.1 \times 10^3 \text{ J kg}^{-1}$ a $2.1 \times 10^6 \text{ J Kg}^{-1}$ (Neary et al., 1999; Knicker, 2007). Em função das diferentes temperaturas atingidas durante a queimada, diferentes estruturas orgânicas são afetadas. De acordo com Knicker (2007), temperaturas entre 40 e 70 °C podem iniciar a desintegração de tecidos biológicos, temperaturas entre 48 e 54 °C são suficientes para dessecar ou matar raízes, temperaturas próximas a 460 °C (em condições aeróbicas) podem causar a combustão de quase toda a fração da MOS não protegida, a 200 °C o N começa a ser volatilizado e acima de 500 °C metade do N da MOS é perdido para a atmosfera. Devido a estes múltiplos fatores, a queima da vegetação pode levar à quase completa perda da MOS como também ao seu aumento, principalmente nas camadas superficiais do solo (González-Pérez et al., 2004; Knicker, 2007).

Por outro lado, o efeito das queimadas sobre a composição química da MOS normalmente apresenta um padrão de perda de compostos orgânicos mais lábeis (carboidratos), conversão de peptídeos em estruturas heteroaromáticas e principalmente aumento no conteúdo de compostos carbônicos aromáticos e poliaromáticos (Knicker et al., 2005a).

Santín et al. (2008) encontraram maiores conteúdos de matéria orgânica em solos onde havia histórico de queima de floresta no Mediterrâneo quando comparados com solos sem histórico de queimadas. Enquanto Roscoe et al. (2000) não identificaram alterações nos estoques de C em solos do Cerrado após 21 anos de queimadas frequentes. Johnson & Curtis (2001) analisaram um abrangente banco de dados de solos da América do Norte afetados ou não por queimadas espontâneas ou queimadas controladas. Após 10 anos da queimada, menores teores de C foram encontrados em solos

onde houve queima controlada e os maiores teores de C foram encontrados em solos onde ocorreu a queima espontânea da vegetação. Segundo os autores, a queima espontânea produz maior acúmulo de carvão vegetal e de matéria orgânica recalcitrante hidrofóbica, contribuindo para o aumento dos estoques de C. Adicionalmente, a invasão (pós-fogo) de vegetação fixadora de N, contribuiu para o aumento de C e N no solo.

Em geral, após o evento do fogo, há uma tendência do solo apresentar uma textura mais grosseira em relação à original, devido ao fato de o calor induzir a formação de agregados estáveis entre argila e silte. González-Villa et al. (2002), observaram um incremento nos teores de C em todas as frações minerais do solo após a passagem do fogo, sendo o maior incremento observado na fração silte-médio (20 – 63 μm) e o menor incremento observado na fração areia (2mm – 63 μm). O incremento do teor de C nas frações do solo pode ser explicado pelo fato da liteira (não contabilizada antes da queimada) ser transformada, após o fogo, em partículas pequenas (< 2mm), as quais se misturam com o solo no horizonte orgânico.

As queimadas são acompanhadas pela liberação de grandes quantidades de CO_2 , CH_4 e NO_x para a atmosfera e pela produção de material carbonizado, Cpi. Estudos simulando o efeito do fogo sobre os solos demonstraram que estes materiais piromórficos apresentam natureza altamente aromática quando gerados em altas temperaturas (> 500 °C) (Freitas et al., 1999; Baldock & Smernik, 2002). Entretanto, queimas de menor intensidade (< 350°C) apesar de produzirem maior quantidade de material carbonizado, geram resíduos com menor grau de aromaticidade em relação à queima mais intensa, o que afeta diretamente a taxa de decomposição destes materiais (Knicker et al., 2006; Knicker, 2007).

Knicker et al. (2012) avaliaram o efeito das queimadas sobre os estoques de C de solos sob pastagem da região do Planalto no RS/Brasil. Os autores avaliaram diferentes períodos após a última queimada: 0,75 anos (C1), 1,75 anos (C2), 4,75 anos (C5) e 21,75 anos (C22) e seis profundidades de solo (0 - 5, 5 - 10, 10 - 15, 15 - 30, 30 - 45 e > 45 cm). Os estoques de C aumentaram com a utilização de queimadas frequentes, porém, não necessariamente houve aumento do compartimento estável da MOS. Além disso, os autores observaram que pelo menos uma parte do carvão vegetal foi

mais vulnerável ao ataque da microbiota do que normalmente assumido, explicando o fato do Cpi poder ser translocado através da solução do solo e acumular-se em camadas subsuperficiais. Por ressonância magnética nuclear de ^{13}C (RMN ^{13}C) foi verificado que nos primeiros 5 cm os espectros de todos os tratamentos foram dominados por sinais na região de C-O-alquil, provenientes principalmente de carboidratos. Considerando cinco anos após a última queima, não foram mais observadas alterações aparentes na composição da MOS e 22 anos sem queima foram suficientes para aumentar a contribuição do C-alquil. Apesar do menor estoque de C aromático em C22 ($0,66 \text{ kg m}^{-2}$) em comparação ao C2 ($0,96 \text{ kg m}^{-2}$) e C1 ($0,88 \text{ kg m}^{-2}$), a contribuição do C aromático (16 - 17%) para o C total na camada de 0 - 5 cm foi independente da frequência das queimadas. Foi verificada degradação progressiva da MOS em profundidade (0 até > 45 cm) com decréscimo na concentração de C-O-alquil e aumento na concentração de C carboxílico. Apesar da diminuição nos estoques de C aromático em profundidade houve um enriquecimento deste grupo devido a uma diminuição mais acentuada no conteúdo de carboidratos.

Hilscher & Knicker (2011) avaliaram a recalcitrância microbiana do Cpi adicionado a um Cambissolo Háplico pela queima de azevém. O Cpi foi misturado com o solo e após 28 meses de incubação (30° C e 60% da capacidade máxima de retenção de água) foi verificado que a estrutura do Cpi remanescente foi claramente diferente da sua estrutura inicial. Após a incubação, a proporção de grupos oxigenados aumentou enquanto a de C aromático e a de estruturas heterocíclicas contendo N diminuíram. Com 20 meses de incubação a perda de C aromático chegou a até 40% da quantidade inicial e até 29% do Cpi remanescente foi atribuído a C carboxílico/carbonílico e C aromático. Estas alterações aumentaram a susceptibilidade do Cpi ao ataque microbiano e elevaram a reatividade desse material. De forma geral, o Cpi apresentou uma meia vida de 3 a 3,8 anos, indicando uma baixa a média recalcitrância.

Em estudo realizado por Potes et al. (2010) foi avaliada a composição química da matéria orgânica de um Neossolo Litólico sob três condições: campo nativo pastejado há menos de um ano sem queima (1SQ), campo nativo pastejado há 22 anos sem queima (22SQ) e mata nativa (MN)

em quatro profundidades: 0 – 5, 5 – 10, 10 – 15 e 15 – 30 cm. Os índices de aromaticidade obtidos através de espectroscopia de infravermelho e de RMN ^{13}C indicaram que a MOS sob MN apresentou maior recalcitrância química do que a MOS das áreas 1SQ e 22SQ, o que foi atribuído pelos autores à maior proporção de grupos aromáticos derivados de lignina na MOS sob MN.

O Brasil é um país historicamente afetado por queimadas, sendo registrados mais de 180.000 focos de incêndio no país no ano de 2014 (INPE, 2015). Portanto, o estudo dos impactos das queimadas sobre o teor e a composição química da MOS é extremamente relevante, uma vez que a mesma é um dos principais reservatórios de C do planeta.

2.4 Técnicas para análise da composição química da matéria orgânica

De acordo com Lal (2004) existem cinco reservatórios principais de C na terra, os quais estão conectados através dos fluxos de C: oceânico (38.000 Pg C), geológico (5.000 Pg C, sendo 4.000 Pg na forma de carvão, 500 Pg como óleo e 500 Pg como gás), pedológico (solo) (2.500 Pg C, incluindo C orgânico e inorgânico), atmosférico (760 Pg C) e biótico (biomassa vegetal e animal) (560 Pg C). Segundo o autor, o C orgânico é o terceiro maior reservatório global de C, contribuindo com 1.500 Pg de C.

Dada a importância que a MOS assume no ciclo global do C e baseando-se nas características de complexidade química e heterogeneidade da MOS, utilizar somente a informação quantitativa sobre o conteúdo de C no solo é uma avaliação limitada da MOS e técnicas qualitativas de análise são fundamentais para um melhor entendimento da sua composição química e dinâmica (Abreu et al., 2009).

Diversas técnicas têm sido utilizadas em estudos de MOS e suas frações em solos sob diferentes sistemas de cultivo agrícola, áreas sob floresta natural e plantada, solos com adição de resíduos orgânicos e solos afetados por queimadas (Dick et al., 2008a; Favoretto et al., 2008; Dias et al., 2009; Dobbss et al., 2009; De la Rosa et al., 2012; Knicker et al., 2013; Santana, 2014). Recentemente, essas técnicas também tem sido utilizadas para caracterização de diferentes tipos de charcoal/biochar, bem como para a

avaliação da composição química da matéria orgânica de solos onde houve adição desses materiais (Kaal et al., 2008; Keiluweit et al., 2010; Guiotoku et al., 2012; Dai et al., 2013; Riedel et al., 2014).

Dentre as técnicas utilizadas para estudo da MOS podem ser citadas a espectroscopia de infravermelho com transformada de fourier (FTIR), análise termogravimétrica (TGA), RMN ^{13}C CPMAS, análise de composição isotópica (^{13}C) e pirólise analítica.

A espectroscopia de FTIR é uma técnica de simples aplicação e vem sendo utilizada em estudos dos grupos funcionais e das características da MOS (carboxílicos, alifáticos e aromáticos, dentre outros). A região do infravermelho de maior utilidade para a análise de moléculas orgânicas corresponde ao intervalo entre 4000 e 400 cm^{-1} , onde a energia dos fótons provoca movimentos vibracionais de átomos e grupos ligados covalentemente, permitindo a identificação desses movimentos rotacionais (Abreu et al., 2009). Além das informações fornecidas diretamente pelos espectros de FTIR é possível calcular o índice de aromaticidade (I_{1630}/I_{2920}) da MOS, com base na área dos picos referentes à porção alifática (2920 cm^{-1}) e à porção aromática (1630 cm^{-1}) (Chefetz et al., 1996).

A análise de TGA é útil para se obter informações sobre a termoestabilidade da amostra, que por sua vez se relaciona com a estrutura química da mesma. Essa técnica monitora a perda de massa das amostras em função da variação na temperatura (Crittter & Airoid, 2006).

As curvas de termodecomposição podem ser divididas em diferentes faixas de temperatura de acordo com o comportamento das amostras. Normalmente, as faixas de termodecomposição correspondem à perda de água higroscópica (< 105 °C); decomposição de estruturas termolábeis como C-alquil, C-O-alquil, grupos carboxílicos e fenólicos e alguns grupos alquil-aromáticos (105 - 425°C); estruturas menos termolábeis como estruturas aromáticas (425 - 600°C); estruturas altamente termoestáveis como estruturas aromáticas condensadas (600 - 700°C) e por último, o resíduo correspondente à matriz inorgânica (> 700°C) (Crittter & Airoid, 2006). Além dessas informações é possível se obter o índice termogravimétrico (TGI), referente ao quociente entre a perda de peso na faixa de temperatura correspondente à perda de

compostos termoestáveis e a faixa de temperatura referente à perda de compostos mais termolábeis (Benites et al., 2005).

A técnica de RMN vem sendo desenvolvida e constantemente melhorada há cerca de 70 anos e é uma das técnicas mais relevantes na caracterização da MOS. A RMN ^{13}C fornece informações sobre a contribuição dos diferentes grupos orgânicos para a composição da MOS (Dieckow et al., 2005a; Berns & Knicker, 2014) e com base na contribuição desses grupos podem ser calculados índices que inferem sobre a decomposição, a hidrofobicidade e a aromaticidade da MOS.

O índice C-alquil (0 - 45 ppm) / C-O-alquil (45 - 110 ppm) (Baldock, 1997) relaciona a proporção de estruturas lábeis e a proporção de estruturas alifáticas, inferindo sobre a decomposição da MOS, ou seja, quanto maior o índice menor a proporção de C-O-alquil (estruturas lábeis) e maior o grau de decomposição da MOS. Outro índice calculado com base nas proporções dos grupos orgânicos é o índice C-alquil / C carboxílico o qual estima o tamanho médio das cadeias alquílicas, sendo valores mais baixos atribuídos aos ácidos de cadeias curtas e aminoácidos de estruturas proteicas (Knicker et al., 2000). Kögel-Knaber (1997) propôs o índice de hidrofobicidade da MOS, o qual é estimado pela relação entre os grupos de caráter mais hidrofóbico (C-alquil + C-aromático) e os grupos de caráter mais hidrofílico da MOS (C-O-alquil + C-carboxil), o qual pode ser utilizado para indicar alterações na MOS causadas pela ação do fogo, onde normalmente é verificado o aumento desse índice.

A pirólise analítica é uma técnica de caracterização de um material pelas reações de degradação química induzidas por energia térmica, na ausência de oxigênio, resultando em um conjunto de fragmentos moleculares, os quais são relacionadas à composição da amostra original. Devido ao fato de a degradação térmica produzir misturas complexas de moléculas menores, é necessário o uso associado de outras técnicas como a cromatografia gasosa, para promover a separação das espécies produzidas e a espectrometria de massas, para identificação das espécies. Dessa forma, é utilizado um pirolisador acoplado a um cromatógrafo gasoso, o qual por sua vez é acoplado a um espectrômetro de massas (Pi-CG/EM) (Silvério et al., 2008).

A Pi-CG/EM fornece informações detalhadas sobre a estrutura das moléculas orgânicas e gera uma grande quantidade de produtos que podem

ser relacionados com a sua origem, como por exemplo: metoxi-fenóis de lignina, furanos de polissacarídeos, moléculas contendo nitrogênio (N) de proteínas e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos oriundos de queimadas ou da eventual adição de charcoal/biochar (De la Rosa et al., 2012). As principais vantagens dessa técnica são a pouca quantidade de amostra necessária para análise e o detalhamento da composição química da amostra. Entretanto, durante o processo de pirólise pode haver a formação de compostos "artefatos" os quais não fazem parte da composição química da amostra (Silvério et al., 2008).

A análise da abundância natural do isótopo de C estável ^{13}C nos diferentes compostos orgânicos, quando expressa em unidade de delta ($\delta^{13}\text{C}$, ‰) reflete o teor de ^{13}C nas plantas e compara a razão $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de um determinado material com um padrão que apresenta razão $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ previamente conhecida, normalmente é utilizado o padrão Pee Dee Belemite (PDB), conforme segue:

$$\delta^{13}\text{C} \text{ ‰} = \left[\frac{(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_x - (^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{PDB}}}{(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{PDB}}} \right]$$

onde $(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_x$ é a razão isotópica de um determinado composto ou material orgânico e $(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{PDB}}$ é a razão isotópica do padrão conhecido (PDB).

A razão $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ dos compostos orgânicos está diretamente relacionada às diferentes rotas fotossintéticas das plantas C_3 e C_4 . De acordo com Mucio & Jackson (2009) as plantas C_4 utilizam o ciclo fotossintético Hatch–Slack e apresentam valores de $\delta^{13}\text{C}$ variando de -8 a -20‰, enquanto que as plantas do ciclo C_3 utilizam o ciclo fotossintético Calvin–Benson, apresentando valores de $\delta^{13}\text{C}$ variando de -22 a -35‰. O padrão PDB apresenta elevada razão $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ (0,01124) se comparado às plantas, conferindo valores de $\delta^{13}\text{C}$ normalmente negativos para as plantas C_3 e C_4 e para a MOS (Mucio & Jackson, 2009; Santana, 2014).

As diferenças nas assinaturas isotópicas de plantas C_3 e C_4 podem ser utilizadas como um marcador natural do C no solo, permitindo inferir sobre a origem e a dinâmica de decomposição do C presente nas diferentes frações

da matéria orgânica (Roscoe et al., 2001). Neste sentido, em solos onde ocorre por exemplo a mudança de vegetação ou a adição de charcoal/biochar com valor de $\delta^{13}\text{C}$ conhecido é possível monitorar a presença desse material ao longo do perfil do solo, bem como estimar a contribuição do mesmo para o C total do solo (Bernoux et al., 1998; Santana, 2014; Leal et al., 2015).

3. HIPÓTESES

A hipótese geral do presente trabalho é de que o carbono pirogênico adicionado ao solo, via aplicação de carvão vegetal ou via queima de vegetação, aumenta o teor de carbono total do solo e a estabilidade da matéria orgânica devido ao aumento na proporção de compostos aromáticos na sua composição.

A adição de carvão vegetal ao solo altera a distribuição das frações químicas e físicas da matéria orgânica, bem como a composição química da mesma, elevando a proporção de compostos químicos aromáticos e compostos mais resistentes à mineralização.

O carvão vegetal pode ser utilizado para fins de sequestro de carbono no solo, uma vez que a sua elevada aromaticidade confere maior resistência da matéria orgânica à decomposição, elevando o tempo médio de residência da mesma no solo.

A curto prazo, a queima de Floresta Amazônica aumenta o teor de carbono orgânico do solo e altera a composição química da matéria orgânica, havendo perda de compostos orgânicos mais lábeis e elevação na contribuição de compostos orgânicos aromáticos e hidrofóbicos. Conseqüentemente, a queima altera a retenção de carbono nas frações granulométricas da matéria orgânica.

4. OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho foi avaliar o impacto do carbono pirogênico, adicionado ao solo via aplicação de carvão vegetal ou via queima de vegetação, sobre a composição química e a estabilidade da matéria orgânica de um Cambissolo subtropical e de um Argissolo tropical.

Os efeitos da adição de carbono pirogênico, via doses de carvão vegetal, ao Cambissolo subtropical foi avaliado em dois estudos:

Estudo 1: Propriedades químicas do solo e composição da matéria orgânica de um Cambissolo subtropical após incorporação de resíduos finos de carvão vegetal (*Soil chemical properties and organic matter composition of a subtropical Cambisol after charcoal fine residues incorporation*).

Estudo 2: Distribuição de substâncias húmicas e biodegradabilidade da matéria orgânica ao longo do perfil de um Cambissolo após aplicação de finos de carvão vegetal (*Humic substances distribution and organic matter biodegradability along a Cambisol profile after charcoal application*).

Os efeitos causados pela adição de carbono pirogênico, produzido “in situ” pela queima de Floresta Amazônica, ao Argissolo tropical foi investigado no terceiro estudo:

Estudo 3: Efeito da queima de Floresta Amazônica nativa sobre a retenção de carbono nas frações silte e argila e na composição química da matéria orgânica ao longo do perfil de um Argissolo.

5. CAPÍTULO II - ESTUDO 1: SOIL CHEMICAL PROPERTIES AND ORGANIC MATTER COMPOSITION OF A SUBTROPICAL CAMBISOL AFTER CHARCOAL FINE RESIDUES INCORPORATION

(published in the Journal of Soils and Sediments, Leal et al., 2015)

5.1 Introduction

Brazil is the world's greatest charcoal producer contributing with approximately 38.5% of the global amount and supplying mainly the steel industry and the pig iron sector. The annual Brazilian production adds up to around 10 million tons of charcoal. However, 15% of this production is lost as charcoal fines (Maia et al., 2011; Pennise et al., 2001) which are not suitable for the steel industry due to clogging of the gas flow, which reduces the efficiency of the blast furnaces (Angelo et al., 2014).

During the last decade there is a raising interest in the application of charcoal (biochar) aiming to improve the soil properties. In addition, the charcoal seems to have a potential to increase the soil carbon (C) sink on a long-term scale (Kuzyakov et al., 2014). This charcoal characteristic is usually related to its high C content and aromaticity, which is believed to be associated to its inherent biochemical recalcitrance (Verheijen et al., 2012). This recalcitrance, in turn, is supposed to increase the slow-cycling soil organic matter (SOM) pool. Besides the impact on the global C cycle, charcoal application can also improve soil structure and soil fertility (Knicker et al., 2013; Novak et al., 2009).

Depending on pyrolysis conditions (temperature, time, source material and oxygen supply) the characteristics of the final pyrogenic C (PyC) can vary broadly (Cao & Harris, 2010; Keiluweit et al., 2010; Paz-Ferreiro et al.,

2014; Steinbeiss et al., 2009). And these, in turn, cause variations in their behavior into the soil and their effect on soil properties and SOM composition. Charcoal is usually assumed to be a highly condensed polyaromatic network. However, an alternative concept describes PyC as a heterogeneous mixture, composed mainly of partially degraded and heat altered biomacromolecules (Knicker et al., 2008).

Despite the long mean residence time commonly assumed for charcoal in soils, its contact with the soil components may promote chemical and biological changes in the original charcoal structure, and a functionalization of the charcoal may occur. This so called aging increases the amount of functional groups, mostly of carboxyl, leading to the increase of polar adsorption sites. In fact, this process can start very quickly after entering the soil (Hilscher & Knicker, 2011).

Several studies with charcoal fines application to soils have been developed in Brazil. However, these studies usually focus on soil fertility, crop yield, impact on soil microorganisms, greenhouse gas emissions and charcoal functionalization (Angelo et al., 2014; Steiner et al., 2007; Zanetti et al., 2003). Therefore, there is still scarce information about how SOM stability and quality are affected by charcoal application. This is in particular true with respect to charcoal fines, whose potential as soil fertilizer and as a relevant source of stable SOM pool still needs scientific support.

During aging of charcoal, larger pyrogenic condensed structures tend to be released into the soil, which can be leached along the soil profile (Abiven et al., 2011). The leaching of charcoal components has been verified by the increase of the SOM aromaticity degree, which may suggest that at least some pyrogenic structures can be transported to deeper soil depths (Dieckow et al., 2005a, Knicker et al., 2006, 2012).

Thermal analysis and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) have been used to evaluate the PyC characteristics and its contribution to the SOM composition in fire affected and charcoal/biochar amended soils (Dai et al., 2013; De La Rosa et al., 2008; Dick et al., 2008a; Leifeld, 2007; Potes et al., 2012). In this way, these techniques could also be of value for assessing changes in the stability and composition of the SOM after the application of charcoal fines. Studying alterations of the SOM as function of soil depths allows

monitoring of vertical charcoal movements. An additional tool to study such mobilization of charcoal in soils is the use of stable carbon isotope signature ($\delta^{13}\text{C}$), which provides representative data about the average isotopic signal of the entire sample. Thus, changes in the SOM ^{13}C signature after charcoal incorporation can be traced based on the different $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ isotope ratios of the natural SOM and of the charcoal (Muccio & Jackson, 2009).

In order to obtain more insights on the impact of charcoal fines on soil fertility and on the SOM dynamics, we determined some soil chemical properties and the SOM composition by means of TGA, FTIR and $\delta^{13}\text{C}$ analysis of the whole soil and of C physical pools of a subtropical Cambisol after 20 months of pyrogenic material incorporation.

5.2 Materials and methods

5.2.1 Site description, experimental design and soil sampling

The experimental area is located in Irati, Center-South of Paraná State (PR), Brazil, at approximately 855 m above sea level. The climate is humid subtropical mesothermic - Cfb (Köppen), with frequent and severe frosts occurrence during winter. The annual mean temperature is 17.2 °C, with an average rainfall of 193.97 mm month⁻¹ and a relative humidity of 79.58%. The study was carried out in the *Campus Irati*, at the State University of *Centro-Oeste* (25° 27' 56" S 50° 37' 51" W). The relief varies between undulated and strongly undulated, and the soil is classified as a Haplic Cambisol (FAO, 2006). The experimental area has an agricultural use history (Soybean - *Glycine max*, five years), but for the last three years, before the beginning of the experiment, the soil was under fallow.

The experiment was implemented in February 2010 when the area was manually and mechanically mowed. About 2.5 Mg ha⁻¹ of dolomitic limestone (85% of relative power of total neutralization) was firstly applied on the soil surface and subsequently incorporated at 10 cm using a light disk harrow.

The charcoal was originated from the pyrolysis of hardwood native Brazilian species, mainly *Mimosa Scabrella* Benth. The greatest part of the

charcoal was used to supply the steel industry, whilst the fine residues of the charcoal, which are unsuitable for such purpose, were collected to be used in this experiment. About 45% of the charcoal particles were smaller than 2 mm (Table 1).

Table 1. Characteristics of the charcoal used in this study.

Properties	
pH (H ₂ O)	7.59
EC ($\mu\text{S cm}^{-1}$) ^a	332
C (%)	46.56
N (%)	1.03
C/N	45.2
Fixed C (%)	7.62
Ash (%)	8.22
Volatile matter (%)	84.16
Ca (g kg^{-1}) ^b	21.2
Mg (g kg^{-1}) ^b	4.00
K (g kg^{-1}) ^b	5.20
P (g kg^{-1}) ^b	0.73
S (g kg^{-1}) ^b	0.53
Particles size distribution	
Sieve	Particles of charcoal retained
mm	%
6.30	17.0
4.00	13.5
2.00	24.0
0.212	42.0
0.053	3.5

^aElectrical conductivity

^bTotal content

The pyrolysis was performed under not controlled and artisanal conditions, which may have contributed to its low fixed C and high volatile matter contents (Table 1). These data characterize this material as a low condensed charcoal, produced at low temperature. High values for volatile

matter and low values for fixed C for biochars produced under controlled conditions were already observed for wood and grass feedstock pyrolyzed at low temperatures (300 to 400 °C) (Enders et al., 2012; Zimmerman et al., 2011).

The total content of the main nutrients from the charcoal (Table 1) was determined in a concentrated acid extract (12.5% HNO₃ and 37.5% HCl, digested for 24 h at 200 °C) by inductive coupled plasma (ICP). See further charcoal elemental composition in Apêndice 1.

Directly after soil liming, three different doses of charcoal fines, 10, 20 and 40 Mg ha⁻¹, were applied onto the soil surface and incorporated at 10 cm using a light disk harrow. In March 2010 seedlings of *Eucalyptus benthamii* were planted.

The study was performed in a randomized block design with four treatments, which were arranged in four blocks: T1 = 0 Mg ha⁻¹ (without charcoal - control); T2 = 10 Mg ha⁻¹; T3 = 20 Mg ha⁻¹ and T4 = 40 Mg ha⁻¹. Each field replicate collected in each block was composed by three subsamples, which were sampled within a 144 m² plot.

Soil sampling was performed in September 2012, 20 months after charcoal incorporation. Soil samples were collected at four soil depths: 0 - 5; 5 - 10; 10 - 20 and 20 - 30 cm. Before analysis all samples were air dried and passed through a 2.00 mm sieve.

5.2.2 Soil chemical and elemental analysis

Soil chemical properties (Tedesco et al., 1995) and granulometric distribution (Embrapa, 1997) were determined. Effective cation exchange capacity (ECEC) was calculated as the sum of the exchangeable cations (ECEC = K+Al+Ca+Mg). The average particle size distribution of T1 (control) (determined by the pipette method) was: 441 g kg⁻¹ of sand, 167 g kg⁻¹ of silt and 392 g kg⁻¹ of clay in the 0 - 5 cm soil depth; 492 g kg⁻¹ of sand, 170 g kg⁻¹ of silt and 338 g kg⁻¹ of clay in the 5 - 10 cm soil depth; 467 g kg⁻¹ of sand, 162 g kg⁻¹ of silt and 371 g kg⁻¹ of clay in the 10 - 20 cm soil depth and 437 g kg⁻¹ of sand, 182 g kg⁻¹ of silt and 381 g kg⁻¹ of clay in the 20 - 30 cm soil depth. Total soil C (TC) and total nitrogen (N) (TN) contents were determined by dry

combustion (975 °C) in an elemental analyzer (Thermo Fisher Scientific - Flash EA1112, detection limit = 0.01%). The C content was assigned exclusively to the SOM, as all soil samples were carbonate free.

5.2.3 SOM fractionation

The SOM granulometric fractionation was carried out according to Cambardella & Elliot (1992). Soil samples (20 g) were horizontally shaken (16 h) with 60 ml of sodium hexametaphosphate solution (5 g L⁻¹). Subsequently, the suspension was passed through a 0.053 mm sieve. The fraction retained on the sieve corresponds to the particulate organic matter, while the fraction that passed through the sieve corresponds to the silt+clay size organic matter fraction.

The C and N contents of the particulate fraction ($C_{\text{particulate f.}}$; $N_{\text{particulate f.}}$) were determined by dry combustion (975 °C) (Thermo Fisher Scientific - Flash EA1112, detection limit = 0.01%), whereas the C and N contents of the silt+clay size fraction were calculated by difference: $C_{\text{silt+clay f.}} = TC - C_{\text{particulate f.}}$; $N_{\text{silt+clay size f.}} = TN - N_{\text{particulate f.}}$.

5.2.4 Isotope ratio mass spectrometry (IRMS) - stable isotope signature $\delta^{13}\text{C}$

Charcoal and soil samples (T1 and T4) were analysed in quadruplicates with a Flash 2000 HT (N, C, S, H and O) elemental analyzer (Thermo Scientific) in combustion mode and coupled to a Delta V Advantage IRMS (Thermo Scientific). Stable carbon isotopic ratios are reported as part per thousand (‰) deviation from that of Pee Dee Belemnite (PDB) which is the standard recognized by the international atomic energy agency (IAEA).

The proportion of the TC derived from the charcoal ($F_{\text{tcharcoal}}$) was calculated based on Bernoux et al. (1998) and considering that the original isotopic signature before charcoal application and *Eucalyptus* plantation was that of the 20 - 30 cm depth. Firstly, the proportion of the TC derived from *Eucalyptus* plants ($F_{\text{teucalyptus}}$) was estimated, accordingly to the equation 1:

$$F_{t_{\text{eucalyptus}}} = (\delta t_1 - \delta A_1) / (\delta B_1 - \delta A_1) \quad (1)$$

where,

δt_1 = soil $\delta^{13}\text{C}$ signature after *Eucalyptus* cultivation (T1);

δA_1 = original soil $\delta^{13}\text{C}$ signature before *Eucalyptus* cultivation (T1 20 - 30 cm);

δB_1 = *Eucalyptus* $\delta^{13}\text{C}$ signature, assumed as -27‰ (Schulze et al., 2006).

Thereafter, the proportion of the TC derived from charcoal+*Eucalyptus*, ($F_{t_{\text{charcoal+eucalyptus}}}$) was estimated as follows:

$$F_{t_{\text{charcoal + eucalyptus}}} = (\delta t_2 - \delta A_2) / (\delta B_2 - \delta A_2) \quad (2)$$

where,

δt_2 = soil $\delta^{13}\text{C}$ signature after *Eucalyptus* cultivation and charcoal addition (T4);

δA_2 = original soil $\delta^{13}\text{C}$ signature before *Eucalyptus* cultivation (T4 20 - 30 cm);

δB_2 = charcoal $\delta^{13}\text{C}$ signature (-25.99‰).

Finally, the solely charcoal contribution was estimated by the difference $F_{t_{\text{charcoal}}} = F_{t_{\text{charcoal+eucalyptus}}} - F_{t_{\text{eucalyptus}}}$.

5.2.5 10% HF solution treatment

The soil samples were treated with 10% hydrofluoric acid (HF) solution to concentrate the SOM (Gonçalves et al., 2003). Using a plastic container, soil samples (1 g) were treated with 10 ml of a 10% (w/w) HF solution. After 2 h of mechanical agitation with subsequent centrifugation of the closed containers at 2000 g for 10 minutes, the supernatant was removed and discarded. This procedure was repeated eight times. The remaining sediment was washed five times with deionized water and dried at 50 °C in a vacuum oven.

5.2.6 Infrared spectroscopy, thermogravimetric analysis and scanning electron microscopy

The HF treated soil samples were analysed by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and by thermogravimetric analysis (TGA). For the

FTIR spectroscopy the samples were analysed in KBr pellets (1.0 mg sample:100 mg KBr) (Shimadzu FTIR 8300) using 32 scans and a resolution of 4.0 cm^{-1} within the range of $4,000$ to 400 cm^{-1} . The absorption band attributions were made according to Tan (2003) and the aromaticity index was calculated ($I_{\text{C=C}}/I_{\text{C-H}}$) (Chefetz et al., 1996), in which $I_{\text{C=C}}$ is the absorption intensity around $1,630 \text{ cm}^{-1}$ and $I_{\text{C-H}}$ is the absorption intensity around $2,920 \text{ cm}^{-1}$.

The TGA analyses were carried out in duplicate in a thermogravimetric analyzer (TGA Q5000IR - TA instruments) using approximately 5 to 10 mg of HF treated sample. Firstly, the initial weight was stabilized at $40 \text{ }^\circ\text{C}$ and thereafter a heating curve was obtained with a heating rate of $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ up to $105 \text{ }^\circ\text{C}$ (holding time of 10 min), followed by a heating rate of $5 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ up to $800 \text{ }^\circ\text{C}$. Six regions were identified in the thermo-decomposition curves, according to the samples decomposition behaviour along the heating. Such regions were separated as follows: $40 - 105 \text{ }^\circ\text{C}$; $105 - 240 \text{ }^\circ\text{C}$; $240 - 340 \text{ }^\circ\text{C}$; $340 - 440 \text{ }^\circ\text{C}$; $440 - 520 \text{ }^\circ\text{C}$ and $520 - 800 \text{ }^\circ\text{C}$. The thermogravimetric index (TGI) (adapted from Benites et al., 2005) was calculated as: $\text{TGI} = \text{mass loss}_{(5^{\text{a}}+6^{\text{a}}\text{regions})} / \text{mass loss}_{(2^{\text{a}}+3^{\text{a}}+4^{\text{a}}\text{regions})}$.

In addition to the soil samples, pure charcoal samples (before the application to the soil) were also analysed by FTIR and TGA. The charcoal presented different thermal decomposition behaviour compared to the soil samples and consequently different temperature intervals were used for the calculation of the TGI ($\text{TGI} = \text{mass loss}_{(3^{\text{a}}+4^{\text{a}}\text{regions})} / \text{mass loss}_{(2^{\text{a}}\text{region})}$).

The particulate fraction, silt+clay size fraction and the charcoal were analysed by scanning electron microscopy (SEM) (JSM 5800) with dispersive energy detector of X-ray (EDX). The samples were fixed on top of aluminum stubs with an aid of double-sided tape and metalized with gold (Au). The micrographs were obtained with a voltage of 10 kV .

5.2.7 Statistical analysis

The treatments were compared at the same soil depth by Tukey test ($p < 0.10$) and by standard deviation. All statistical analyses were performed using the software Statistical Analysis System 9.3.

5.3 Results and discussion

5.3.1 Effect of charcoal application on soil chemical properties

The main effect of charcoal application on soil chemical properties was observed in the upper depth (0 - 5 cm) with the application of 40 Mg ha⁻¹ of charcoal. This dose increased significantly the soil pH, available P, exchangeable K and Ca and the ECEC in comparison to the control (T1) (Table 2). Furthermore, the content of exchangeable Al at the 0 - 5 cm depth decreased in T4. The intermediate doses (10 and 20 Mg ha⁻¹) did not differ from the control regarding the soil pH and the exchangeable cations content.

The pH increase in the upper depth from 4.85 (T1) to 5.20 (T4) can be explained by the charcoal pH itself, which showed an alkaline pH level, 7.59 (Table 1). Also the increase of available P from 6.38 mg dm⁻³ (T1) to 11.78 mg dm⁻³ (T4) in the same depth was probably caused both by the input of P to the soil via charcoal (Table 1) and by the raise of the soil pH. Concerning the latter factor, the previously strongly sorbed P on the mineral surfaces is desorbed from the inner sphere complexes due to the raise of the negative charge of variable charge sites, forming a more labile sorbed form (Wang et al., 2013).

Biederman & Harpole (2013) evaluated ecosystem responses to biochar application with a meta-analysis of 371 independent studies culled from 114 publications and observed that despite the variability introduced by soil and climate, the addition of biochar to soil resulted, on average, in an increased of soil available P, which was related to P desorption. Furthermore, the observed decrease of 65% in the exchangeable Al (from 1.85 to 0.65 cmol_c dm⁻³) in T4 is also explained by the soil pH raise in T4.

The increase of exchangeable K and Ca contents at 0 - 5 cm depth in T4 can be attributed to the charcoal itself, whose ash usually contains a large amount of these elements (Table 1). The higher pH value observed in T4 compared to T1 (Table 2) promoted an increase of the amount of negative surface charges in this pH dependent charge soil, and consequently it increased the ECEC as well (Table 2). In Anthrosols from Brazil an increase of the ECEC due to PyC presence was also observed (Liang et al., 2006).

Table 2. Soil pH (H₂O), available P, exchangeable K, Ca, Mg and Al, potential acidity (Al+H) and effective cation exchange capacity (ECEC) along a Cambisol profile after different doses of charcoal application.

Soil depth	Treatments ^a	pH (H ₂ O)	P	K	Ca	Mg	Al	Al+H	ECEC
cm			-----mg dm ⁻³ -----		-----c molc dm ⁻³ -----				
0 - 5	T1	4.85 b	6.38 b	278.25 b	6.25 b	3.7 a	1.85 a	19.98 a	12.50 b
	T2	5.05 ab	8.33 b	298.25 b	6.93 ab	4.15 a	1.50 ab	15.05 a	13.32 ab
	T3	5.05 ab	7.28 b	338.00 ab	7.20 ab	4.43 a	1.05 ab	13.98 a	13.53 ab
	T4	5.20 a	11.78 a	391.25 a	9.08 a	4.85 a	0.65 b	12.10 a	15.56 a
5 - 10	T1	4.70 a	5.45 a	201.25 a	4.18 a	2.43 a	3.65 a	26.55 a	10.76 a
	T2	4.80 a	5.50 a	206.00 a	4.50 a	2.80 a	2.70 a	21.30 a	10.52 a
	T3	4.80 a	5.95 a	269.25 a	6.05 a	3.70 a	1.95 a	19.60 a	12.37 a
	T4	4.75 a	5.53 a	278.00 a	4.83 a	2.63 a	2.98 a	25.75 a	11.14 a
10 - 20	T1	4.50 a	4.30 a	149.50 a	2.73 a	1.30 a	5.30 a	35.18 a	9.70 a
	T2	4.63 a	4.43 a	150.75 a	2.85 a	1.60 a	4.40 a	32.65 a	9.22 a
	T3	4.63 a	5.20 a	177.50 a	3.63 a	2.08 a	4.00 a	33.00 a	10.15 a
	T4	4.60 a	4.50 a	174.00 a	3.23 a	1.58 a	4.98 a	35.18 a	10.23 a
20 - 30	T1	4.43 a	2.95 a	128.50 a	2.05 a	1.00 a	6.33 a	35.83 a	9.70 a
	T2	4.55 a	3.85 a	136.25 a	1.83 a	1.13 a	6.10 a	35.83 a	9.40 a
	T3	4.53 a	3.50 a	134.75 a	2.38 a	1.43 a	5.58 a	36.23 a	9.72 a
	T4	4.50 a	3.30 a	120.25 a	2.78 a	1.40 a	5.33 a	37.03 a	9.81 a

Means followed by the same letter do not differ between treatments at the same soil depth (Tukey test, $p < 0.10$)

^a T1 = 0 Mg ha⁻¹ (control); T2 = 10 Mg ha⁻¹; T3 = 20 Mg ha⁻¹; T4 = 40 Mg ha⁻¹

Increase in the soil pH, available P, exchangeable Ca and a decrease in the soil exchangeable Al were also found after the incorporation of 32 Mg ha⁻¹ of charcoal in a Plinthosol (Petter et al., 2012) and in loamy sand soil of South Carolina, US (Novak et al., 2009).

Despite the charcoal incorporation at 10 cm depth, the effects on the chemical properties were observed mainly in the top 5 cm depth. A possible explanation is that the ploughing was not efficient enough for an uniform incorporation of the charcoal and a greater amount of it still remained close to the soil surface.

5.3.2 Effect of charcoal application on C and N contents, SOM $\delta^{13}\text{C}$ signature and aromaticity

Compared to that of T1, TC of T4 increased 37.7% in the upper depth (0 - 5 cm) and 22.9% at the 10 - 20 cm depth. The TC contents of T2 and T3 did not differ from that determined for T1 (Table 3). The increase of TC content at 10 - 20 cm depth in T4 may be caused by the leaching of small charcoal particles (over 45% of the particles of the charcoal applied were smaller than 2 mm) after strong rains. In this region the average monthly rainfall comprises 194 mm and is well distributed within the year. The accumulation of leached particles at the 10 - 20 cm depth might be explained in light due the soil particle size distribution: at the 5 - 10 cm depth the content of sand (492 g kg⁻¹) is greater and that of clay (338 g kg⁻¹) is smaller than those in the above (441 g kg⁻¹ of sand, 392 g kg⁻¹ of clay) and in the beneath (467 g kg⁻¹ of sand, 371 g kg⁻¹ of clay) depths. Therefore the leached particles tended to percolate through the 5 - 10 cm depth and to accumulate in the 10 - 20 cm. Our data are consistent with those from Petter et al. (2012) who also observed an increase of TC content at the 10 - 20 cm soil depth during the second year after charcoal fines incorporation at 10 cm. Such results were attributed due to the leaching of small charcoal particles (≤ 2 mm).

Table 3. Soil total carbon (TC), total nitrogen (TN), C and N contents in the particulate fraction ($C_{\text{particulate f.}}$, $N_{\text{particulate f.}}$), C and N contents in the sil+clay size fraction ($C_{\text{silt+clay f.}}$, $N_{\text{silt+clay f.}}$), respective C/N ratios and aromaticity index ($I_{\text{C=C}}/I_{\text{C-H}}$) along a Cambisol profile after different doses of charcoal application.

Soil depth	Treatments ^a	TC	TN	C/N	$C_{\text{particulate f.}}$	$N_{\text{particulate f.}}$	C/N	$C_{\text{silt+clay f.}}$	$N_{\text{silt+clay f.}}$	C/N	$I_{\text{C=C}}/I_{\text{C-H}}$
cm		-----g kg ⁻¹ -----			-----g kg ⁻¹ -----			-----g kg ⁻¹ -----			
0 - 5	T1	41.1 b	3.30 a	12.5 b	12.3 b	0.57 a	22.5 b	28.7 a	2.74 a	10.6 a	2.2
	T2	45.0 b	3.00 a	15.1 ab	18.0 b	0.57 a	31.4 ab	27.0 a	2.43 a	11.3 a	2.4
	T3	46.0 b	3.10 a	15.3 ab	15.9 b	0.47 a	33.4 ab	30.0 a	2.63 a	12.0 a	2.3
	T4	56.6 a	3.48 a	16.5 a	28.0 a	0.75 a	39.7 a	28.6 a	2.73 a	10.6 a	2.6
5 - 10	T1	36.2 a	2.43 a	17.2 a	7.9 a	0.42 a	18.7 a	28.2 a	2.47 a	11.5 a	2.2
	T2	36.9 a	2.45 a	16.0 a	11.7 a	0.52 a	21.5 a	25.2 a	1.93 a	14.3 a	2.3
	T3	38.6 a	2.75 a	14.1 a	11.6 a	0.44 a	26.4 a	27.0 a	2.31 a	11.7 a	2.3
	T4	40.8 a	2.78 a	14.8 a	13.6 a	0.49 a	27.4 a	27.2 a	2.28 a	11.8 a	2.7
10 - 20	T1	29.3 b	2.13 ab	14.2 a	7.0 a	0.45 a	15.8 a	22.2 b	1.67 a	14.6 a	2.3
	T2	30.8 ab	2.13 ab	15.9 a	6.0 a	0.44 a	13.3 a	24.8 ab	1.68 a	17.4 a	2.6
	T3	31.4 ab	2.05 b	17.8 a	8.2 a	0.46 a	19.2 a	23.2 ab	1.60 a	17.8 a	2.6
	T4	36.0 a	2.35 a	16.2 a	8.0 a	0.51 a	15.5 a	28.0 a	1.84 a	16.4 a	2.6
20 - 30	T1	24.8 a	1.93 a	12.9 a	4.5 a	0.33 a	13.6 a	20.2 a	1.60 a	12.7 a	3.0
	T2	28.3 a	1.97 a	14.8 a	6.6 a	0.45 a	14.8 a	21.7 a	1.52 a	14.5 a	3.0
	T3	23.7 a	1.78 a	13.8 a	5.5 a	0.44 a	12.4 a	18.2 a	1.34 a	14.1 a	3.1
	T4	28.8 a	1.95 a	16.6 a	5.9 a	0.38 a	16.1 a	23.0 a	1.57 a	16.4 a	3.0

Means followed by the same letter do not differ between treatments at the same soil depth (Tukey test, $p < 0.10$)

^a T1 = 0 Mg ha⁻¹ (control); T2 = 10 Mg ha⁻¹; T3 = 20 Mg ha⁻¹; T4 = 40 Mg ha⁻¹

The partial oxidation of charcoal leading to the introduction of carboxylic groups on its surface during aging increases its hydrophilicity. Thus, it facilitates the translocation of pyrogenic compounds with the soil solution down to 20 cm. The transport of functionalized PyC along the soil profile by the soil solution was verified by Knicker et al. (2012) in Leptosols under grassland managed by biannual prescribed burning.

The highest C/N ratio observed at the 0 - 5 cm depth in T4 compared to T1 (Table 3) is in line with the presence and contribution of charcoal to the greater TC content observed in T4 at this soil depth. Regarding the 10 - 20 cm depth, the C/N ratio in T4 tended to be greater, but did not differ from that in T1. This behaviour is probably due to the fact that the N content did not change relevantly enough at this depth to affect the C/N ratio after charcoal incorporation.

The TN content of all treatments varied between 1.78 and 3.30 g kg⁻¹ and only a slight difference (0.30 g kg⁻¹) between T4 and T3 at 10 - 20 cm depth was observed (Table 3).

The results obtained from the physical SOM fractionation allowed to distinguish the physical pool that was preferably affected by the charcoal application. In the upper soil depth (0 - 5 cm) in T4, the $C_{\text{particulate f.}}$ increased significantly by 127, 55 and 76% compared to T1, T2 and T3, respectively. Considering that T4 increased the $C_{\text{particulate f.}}$ content in 15.7 g kg⁻¹ compared to T1, it follows that charcoal particles accumulated in this fraction and still remained in the topsoil after 20 months of its application. The increase of the C/N ratio of the particulate SOM from 22.5 (T1) to 39.7 (T4) (Table 3) supports this assumption. For the deeper depths, no difference concerning $C_{\text{particulate f.}}$ was observed in T4.

In contrast, at the 10 - 20 cm depth, the difference in C content between T1 and T4 was observed for the silt+clay fraction: $C_{\text{silt+clay f.}}$ in T4 was 26% greater than that found for T1 (Table 3). This result corroborates the assumption that small particles of charcoal were leached to this depth accumulating in the silt+clay size fraction.

The SEM-EDX image of the charcoal shows its characteristic morphology with internal pores and cracks which contribute to its high surface area and pore volume (Fig 1a) as described by Dai et al. (2013). The SEM

images and the high intensity of the C signal give a further evidence of the charcoal contribution to both $C_{\text{particulate f. (0 - 5 cm)}}$ and $C_{\text{silt+clay f. (10 - 20 cm)}}$ in T4 (Fig 1b, 1c). This technique was previously used by Glaser (2000) to identify the PyC contribution to SOM fractions in an anthropogenic soil from the Brazilian Amazon region. Using the SEM-EDX technique, Laird et al. (2008) could observe the presence of PyC compounds associated to different clay fractions of agricultural soils.

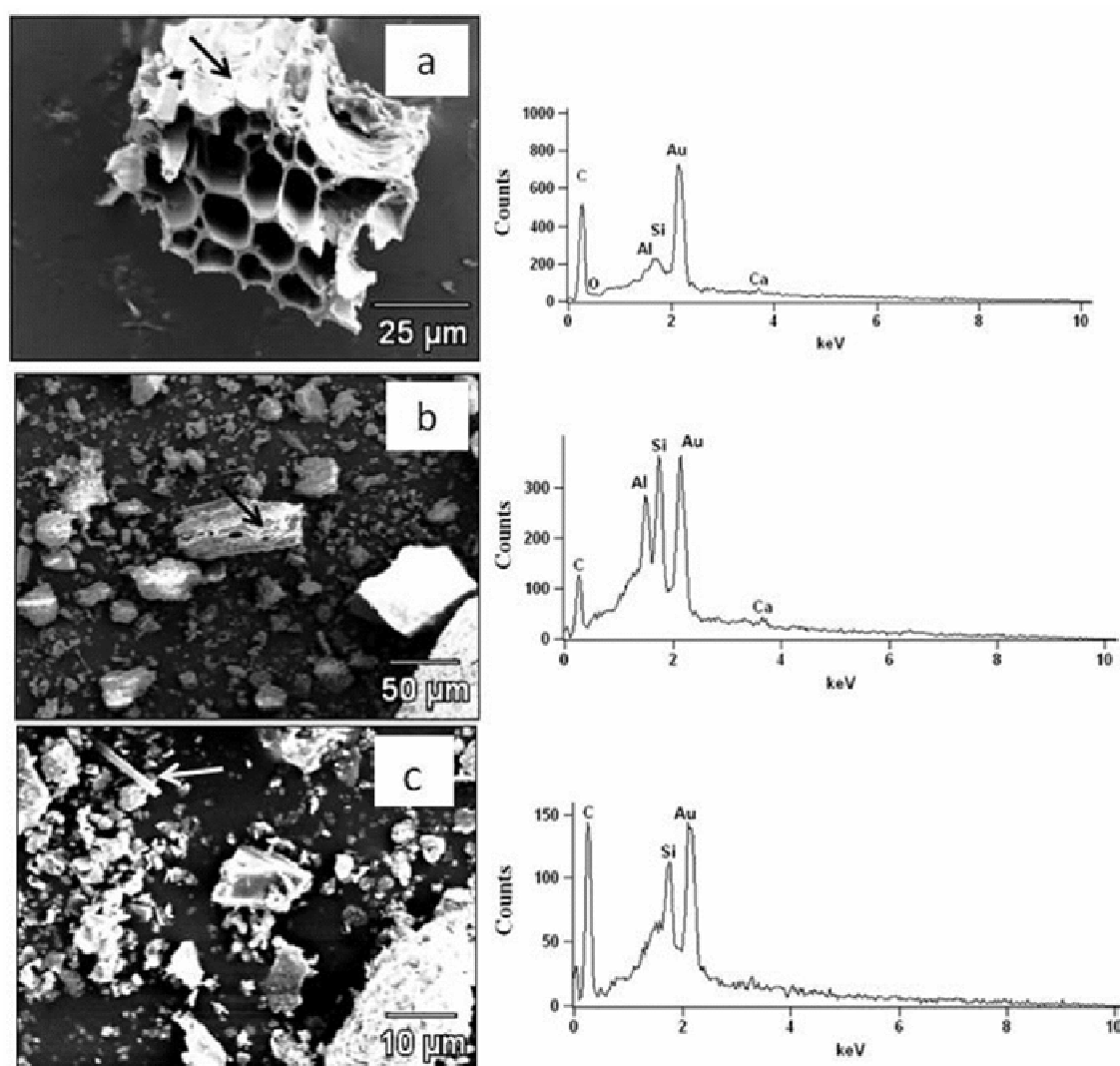


Figure 1. Scanning electron microscopy of the pure charcoal (a) and of the particulate (b) (0 - 5 cm) and sil+clay size (c) (10 - 20 cm) fractions of SOM in treatment T4 (40 Mg ha^{-1}). The charcoal fragments (arrows in the figures 1b and 1c) could be identified by energy dispersive X-ray spectroscopy, with a dominant C peak.

The $\delta^{13}\text{C}$ signature of the charcoal (-25.99‰) and that of the *Eucalyptus* plant (-27‰) showed the relevant contribution of the ^{12}C isotope.

This is in line with the isotopic signature of plants that photosynthesise glucose via the C₃ mechanisms (O'Leary, 1981). The $\delta^{13}\text{C}$ determined for the SOM in T1 (control) increased from -19.12‰ to -16.62‰ along the soil profile (Table 4).

Table 4. Soil total carbon $\delta^{13}\text{C}$ signature and contribution of the *Eucalyptus* and of the charcoal to the total soil carbon content along a Cambisol profile after 40 Mg ha⁻¹ of charcoal application.

Treatments ^a	Soil depth	$\delta^{13}\text{C}$	Ft _{eucalyptus} ^c	Ft _{charcoal} ^e
	cm	‰	%	%
T1	0 - 5	-19.12 ± 0.27	24.09	-
T1	5 - 10	-19.28 ± 0.70	25.64	-
T1	10 - 20	-17.50 ± 0.32	8.48	-
T1	20 - 30	-16.62 ± 0.18	0.00	-
			Ft _{charcoal+eucalyptus} ^d	
			%	
T4	0 - 5	-23.42 ± 0.30	73.16	49.08
T4	5 - 10	-20.21 ± 0.27	39.67	14.03
T4	10 - 20	-18.68 ± 0.38	23.76	15.28
T4	20 - 30	-16.41 ± 0.96	0.00	0.00
Charcoal		-25.99 ± 0.36	-	-
<i>Eucalyptus</i>		-27.00 ^b	-	-

^a T1 = 0 Mg ha⁻¹ (control); T4 = 40 Mg ha⁻¹

^b Schulze et al. (2006)

^c Proportion of the total carbon derived from *Eucalyptus* plants

^d Proportion of the total carbon derived from charcoal + *Eucalyptus* plants

^e Proportion of the total carbon derived from charcoal

Considering that C₄ plants show a less negative isotopic signature, it follows that in the topsoil there is an input derived from C₃ photosystem plants (*Eucalyptus*). The change of the signature with soil depth in T1 indicates further that formerly a vegetation was present, which was predominantly composed of C₄ photosystem plants. According to the literature, the native vegetation in the experimental area was mainly composed by the local poaceae Brazilian satintail (*Imperata brasiliensis*) (Bauer et al., 2008). However, herein we have to bear in mind that liming (2.5 Mg ha⁻¹) occurred and dolomite represents an extra source of the heavy ¹³C isotope. Although, the carbonate will quickly be released and transformed at the low pH values of the soil, some of this C could be incorporated into newly growing biomass (Miltner et al., 2005). In T4, $\delta^{13}\text{C}$

values increased from -23.42‰ to -16.41‰ along the soil profile and the values at the depths 0 - 5 cm and 10 - 20 cm in T4 were more negative than those in T1 (Table 4). This results corroborate the relevant contribution of the charcoal ($\delta^{13}\text{C}$ of -25.99‰) to the SOM of these two depths.

Based on the soil isotopic signature of the T1 depths, and assuming that the value at the 20 - 30 cm depth was that from the original vegetation (before *Eucalyptus* plantation and charcoal application), the contribution of *Eucalyptus* plant to the SOM was estimated as ranging from around 25 to 8% within 20 cm soil depth (Table 4). Assuming that the effect of *Eucalyptus* plant to the SOM was similar in T4 and T1, the contribution solely of charcoal was estimated. At the 0 - 5 cm depth the contribution of charcoal to the SOM was 49% while in the 5 - 10 and 10 - 20 cm the contributions varied around 15% (Table 4). The increase of TC content at the 0 - 5 cm depth observed for T4 was around 38%, and thus lower than the estimated charcoal contribution. This difference in the values may suggest that some of the endogenous SOM was preferentially mineralized leading to a relative enrichment of charcoal derived SOM. In the 10 - 20 cm the increase in TC was around 23% and thus greater than the charcoal contribution. Possibly in this depth the increase of SOM occurred due to the increase of microbial products as shown by the Csilt+clay f. content (Table 3), which have a less negative $\delta^{13}\text{C}$ value than the source. It is reported in the literature that during the microbial decomposition of C_3 residues a selective enrichment of the heavy ^{13}C isotope occurs (Henn & Chapela, 2000). The contribution of charcoal for the 5 - 10 cm depth was around 14% and this value is coherent with the TC increase of 12%.

For all treatments and depths the SOM FTIR spectra were similar and the same pattern that is exemplified in figure 2 was observed. See FTIR spectra of T2 and T3 in Apêndice 2. The main identified absorption bands and their respective attributions were: a broad band at $3,405\text{ cm}^{-1}$ due to O-H stretching; two bands at $2,920\text{ cm}^{-1}$ and $2,850\text{ cm}^{-1}$ due the aliphatic C-H stretching; $1,730\text{ cm}^{-1}$ attributed to the C=O stretching of carboxylic groups; a band at $1,630\text{ cm}^{-1}$ resulting from the C=C vibration of the aromatic groups; band at $1,382\text{ cm}^{-1}$ due to alifatic C-H; band at $1,240\text{ cm}^{-1}$ due to C-O stretching and to OH deformation of carboxylic groups; a band of low intensity around $1,100\text{ cm}^{-1}$ due to C-OH stretching of carbohydrates; and a band at $1,034\text{ cm}^{-1}$

resulting from Si-O vibrations of inorganic material that was not removed by HF treatment.

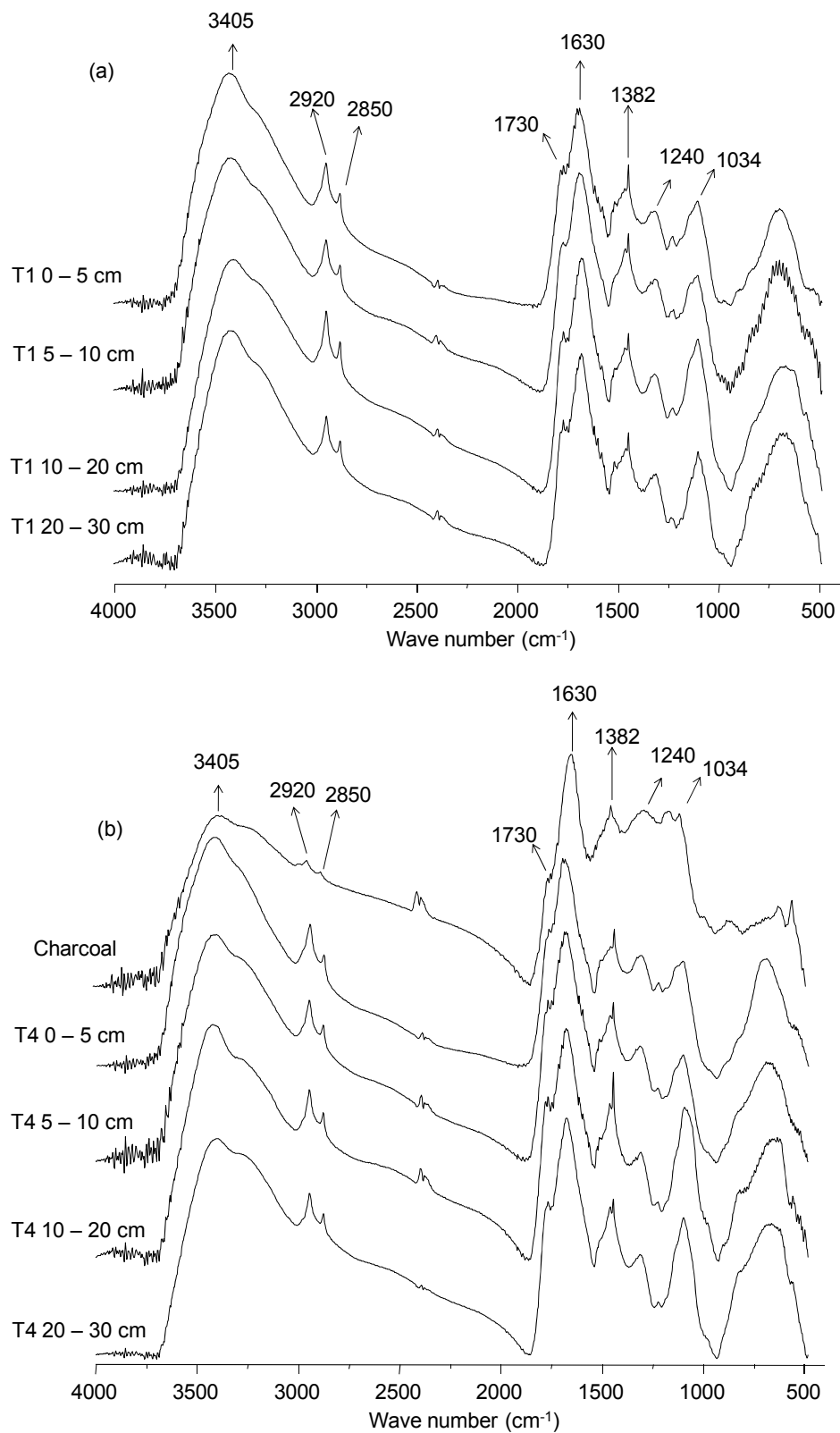


Figure 2. FTIR spectra of the charcoal and of SOM along a Cambisol profile in treatments T1 and T4. Spectra of T1 (Figure 2a) and spectra of charcoal and T4 (Figure 2b) . T1 = 0 Mg ha⁻¹ (control); T4 = 40 Mg ha⁻¹.

The pattern of the charcoal spectrum was similar to those from SOM, but with less intense bands in the aliphatic ($2,920\text{ cm}^{-1}$) and carboxylic ($1,730\text{ cm}^{-1}$) regions. Concerning this last band, it shows that the applied charcoal contains charged group which confers a hydrophilic character to the material, and that might explain its migration from the upper depth down to 20 cm depth. Furthermore, these carboxylic groups may have also contributed to increase the soil ECEC in T4, as discussed earlier. Lastly, our charcoal FTIR spectra confirms the assumption that the applied material showed a low condensation degree and is similar to that of a charcoal pyrolyzed at $300\text{ }^{\circ}\text{C}$ which was recently presented by Dai et al. (2013).

The aromaticity index ($I_{\text{C}=\text{C}}/I_{\text{C}-\text{H}}$) of the SOM in T1 varied from 2.2 to 2.3 within 0 - 20 cm depth. Higher $I_{\text{C}=\text{C}}/I_{\text{C}-\text{H}}$ values (from 2.3 to 2.7) were observed for the treatments with charcoal addition (T2, T3 and T4) at this soil depth (Table 3), indicating the contribution of the charcoal to the SOM aromaticity. For the pure charcoal, the $I_{\text{C}=\text{C}}/I_{\text{C}-\text{H}}$ was comparatively higher, 10.5 (Table 3), confirming the higher proportion of aromatic groups in the charcoal composition in comparison to that of the endogenous SOM (T1).

5.3.3 Effect of charcoal application on SOM thermostability

In general, the SOM of all treatments showed the same thermo-decomposition curve pattern (thermograms not shown) and six main temperature intervals were identified.

The weight loss for $T < 105\text{ }^{\circ}\text{C}$ varied between 4.5 and 6.8% (Table 5) corresponding to the loss of hygroscopic water from organic matter (Critter & Airoidi, 2006). Three temperature intervals were identified within the range of $105\text{ }^{\circ}\text{C} < T < 440\text{ }^{\circ}\text{C}$, in which preferentially the decomposition of more thermolabile structures occurs, such as alkyl and O-alkyl C structures, and phenolic and carboxylic groups (Critter & Airoidi, 2006). From 105 to $240\text{ }^{\circ}\text{C}$ the weight loss varied between 3.4 and 4.8%; from 240 to $340\text{ }^{\circ}\text{C}$ the weight loss varied between 14.4 to 20.5%, and from 340 to $440\text{ }^{\circ}\text{C}$ the weight loss varied between 11 and 17% (Table 5). In the fifth temperature interval ($440 - 520\text{ }^{\circ}\text{C}$) the mass loss corresponds to the decomposition of compounds with higher thermostability, such as aromatic structures (Potes et al., 2012). Here the

weight loss ranged between 21 and 34% (Table 5). The mass loss in the sixth temperature interval (520 - 800 °C) was low, varying between 3.3 and 6.6%, and corresponds to the decomposition of highly thermostable structures, even condensed aromatic structures (Crittter & Airoidi, 2006).

Table 5. Mass loss in different temperature intervals, mass residue for T > 800 °C and thermogravimetric index (TGI) of the pure charcoal and of the SOM along a Cambisol profile after different doses of charcoal application.

Soil depth cm	Treatments ^a	Temperature interval (°C)						Mass residue %	TGI ^b
		40-105	105-240	240-340	340-440	440-520	520-800		
		Mass loss (%)							
0 - 5	T1	5.2 ± 2.8	4.8 ± 0.2	20.5 ± 1.0	15.3 ± 1.4	25.3 ± 1.0	5.3 ± 0.5	23.6 ± 2.0	0.75
	T2	5.8 ± 3.2	4.8 ± 0.7	20.4 ± 1.2	13.7 ± 0.4	25.5 ± 2.4	6.6 ± 0.0	23.2 ± 0.9	0.82
	T3	6.3 ± 2.4	4.1 ± 0.6	21.4 ± 1.1	15.7 ± 0.9	25.7 ± 2.1	5.1 ± 0.2	21.8 ± 1.0	0.75
	T4	6.4 ± 3.1	4.7 ± 0.6	19.3 ± 0.5	14.4 ± 0.0	32.6 ± 0.3	5.7 ± 0.0	16.9 ± 2.7	1.00
5 - 10	T1	4.5 ± 0.5	4.5 ± 0.4	18.0 ± 0.3	14.0 ± 0.3	28.2 ± 0.5	4.5 ± 0.8	26.3 ± 1.7	0.90
	T2	6.2 ± 6.3	4.3 ± 0.1	20.4 ± 0.8	13.7 ± 0.6	28.7 ± 0.7	4.3 ± 0.5	22.3 ± 4.8	0.86
	T3	6.6 ± 2.7	4.0 ± 0.6	20.3 ± 0.5	15.3 ± 0.6	30.9 ± 2.4	5.8 ± 1.3	17.1 ± 8.0	0.93
	T4	5.4 ± 1.8	4.3 ± 0.8	17.3 ± 1.1	13.4 ± 1.2	33.4 ± 2.4	4.1 ± 0.6	22.0 ± 0.9	1.07
10 - 20	T1	5.9 ± 2.2	3.4 ± 0.2	19.1 ± 1.3	12.7 ± 0.3	25.0 ± 1.7	4.4 ± 0.3	29.5 ± 5.1	0.84
	T2	5.3 ± 2.2	4.5 ± 0.0	20.7 ± 0.9	12.7 ± 0.3	28.4 ± 2.2	5.9 ± 0.3	22.5 ± 5.2	0.90
	T3	6.8 ± 0.5	4.4 ± 0.8	18.0 ± 3.2	16.6 ± 0.1	33.3 ± 2.7	5.1 ± 1.3	15.7 ± 7.1	0.99
	T4	4.9 ± 4.0	4.2 ± 0.3	14.4 ± 1.1	16.4 ± 2.5	31.0 ± 3.0	3.3 ± 0.2	25.7 ± 1.0	0.98
20 - 30	T1	5.6 ± 2.5	3.4 ± 0.7	15.8 ± 0.8	12.4 ± 0.3	26.0 ± 1.5	4.2 ± 1.6	32.6 ± 2.8	0.96
	T2	5.3 ± 2.7	3.6 ± 0.3	17.6 ± 1.6	11.1 ± 0.7	21.9 ± 1.0	4.4 ± 0.3	36.1 ± 0.4	0.81
	T3	6.0 ± 3.8	3.7 ± 0.4	16.3 ± 0.6	12.5 ± 0.1	22.4 ± 1.0	5.0 ± 0.1	34.3 ± 3.9	0.84
	T4	5.6 ± 3.5	3.5 ± 0.2	14.7 ± 1.8	15.1 ± 4.4	26.4 ± 0.7	4.6 ± 1.4	30.2 ± 0.0	0.93
		Temperature Interval (°C)				Mass residue %	TGI ^c		
		40-105	105-350	350-535	535-800				
		Mass loss (%)							
-	Charcoal	4.1 ± 1.1	10.6 ± 0.7	70.3 ± 0.6	3.9 ± 0.3	11.2 ± 0.8	7.0		

^a T1 = 0 Mg ha⁻¹ (control); T2 = 10 Mg ha⁻¹; T3 = 20 Mg ha⁻¹; T4 = 40 Mg ha⁻¹

^b TGI = mass loss (5^a+6^aregions) / mass loss (2^a+3^a+4^a regions)

^c TGI = mass loss (3^a+4^a regions) / mass loss (2^aregion)

Despite the HF treatment of soil samples the residual mass for $T > 800\text{ }^{\circ}\text{C}$ was substantially high and varied between 15 and 36%. This result may be assigned to the presence of quartz, which is not dissolved by the HF treatment and due to neo-precipitated minerals possible formed during the HF treatment (Dick et al., 2008b).

Four temperature intervals were identified in the thermo-decomposition curve of the charcoal and in contrast to the soil samples the region between $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ and $350\text{ }^{\circ}\text{C}$ comprised only one general decomposition event (Table 5). In the third temperature interval ($350 - 535\text{ }^{\circ}\text{C}$) occurred the greater decomposition of the sample with 70.3% of weight loss. Such data indicate the predominance of thermostable structures, like aromatic structures, confirming the data obtained with the $I_{\text{C}=\text{C}}/I_{\text{C}-\text{H}}$ index (Table 3).

The TGI informs the proportion between the less thermolabile and more thermolabile structures and the larger the value the more thermostable is the analysed material. TGI varied from 0.75 to 1.07 for SOM, while the charcoal presented a higher TGI value of 7.0, as expected (Table 5). The greatest difference of the TGI values was observed between T1 and T4. At the depths 0 - 5, 5 - 10 and 10 - 20 cm, T4 showed values about 33, 18 and 16% greater than those observed in T1, respectively, indicating an increase of thermostable structures after the incorporation of 40 Mg ha^{-1} of charcoal. At the 20 - 30 cm depth no relevant difference of TGI was observed between T1 and T4. These results are in line with the results from $\delta^{13}\text{C}$, showing that contribution of charcoal to the SOM composition occurred only within 20 cm depth.

5.4 Conclusions

The application of charcoal fine residues at a rate of 40 Mg ha^{-1} improved the soil fertility and the effect was apparent mainly in the upper soil depth. This application increased the SOM content and shifted its composition toward a higher aromaticity degree and thermostability.

However, in the 20 months time span of the experiment, the effects of charcoal fines incorporation on the SOM content and composition were also observed at the 10 - 20 cm depth of the soil profile. This fact indicates that colloidal charcoal fragments can be efficiently transported through the soil

profile, most tentatively by leaching. Transport below 20 cm is not evidenced by our data. Either the time span of the experiment was not long enough or the soil chemical and physical parameters at that depth prevented further leaching.

Despite the limited time span of the experiment, the charcoal fines showed a great potential to be used as soil fertilizer and as a source of stable carbon into the soil. Therefore, it would be convenient to start further studies at longer-term scale to investigate the charcoal fines potential mainly as a source of stable carbon.

6. CAPÍTULO III - ESTUDO 2: HUMIC SUBSTANCES DISTRIBUTION AND ORGANIC MATTER BIODEGRADABILITY ALONG A CAMBISOL PROFILE AFTER CHARCOAL APPLICATION

6.1 Introduction

Biochar is increasingly proposed as a strategy to promote carbon (C) sequestration into the soil and thus mitigate the global climate warming. The biochar potential to improve the soil C pool is usually attributed to its high C content and aromaticity degree, which is supposed to confer a high biochemical recalcitrance to this matrix. The slower mineralization rate of biochar in comparison to that of endogenous soil organic matter (SOM) would slow down the transfer of C from the soil to the atmosphere, and consequently it would contribute to the net of C sequestration (Woolf et al., 2010; Verheijen et al., 2012).

Biochars have been frequently originated from the pyrolysis of different biomasses (including various plant species), whilst several alternative residues are available (sewage sludge, bagasse from the sugarcane industry, olive mill waste, chicken litter, dairy manure, paper sludge), which could be possibly tested for such purpose (Kwapinski et al., 2010). Moreover, the sustainability of the biochar production chain, which includes the generation of co-products (gas and oil), crops productivity response, economic return and global warming mitigation potential is usually not considered (Lugato et al., 2013).

In this context, Brazil is the world's greatest charcoal producer (10 million tons year⁻¹), supplying mainly the national steel industry. However, around 15% of this amount is discarded as charcoal fines, which are not

suitable for the steel industry due to clogging of the gas flow, reducing the efficiency of the blast furnaces (Angelo et al., 2014).

The chemical and molecular composition similarity of the charcoal to that of biochar confers to the charcoal residues a promising potential to be used as a promoter of C sequestration when applied to the soil. Besides this direct benefit, the agronomic use of this residue is environmentally friendly, because the energy and economic costs of the pyrolysis were previously accounted in the industrial stage and also because it avoids the improper destination of this residue.

The charcoal was commonly supposed to be an homogeneous structure composed mainly of highly condensed polyaromatic C chains. However, recent works have reported that at least part of the charcoal, specially charcoals produced at low temperatures (< 400 °C) and under greatest oxygen supply, is more vulnerable to the microbial mineralization and can be rapidly weathered (decadal/centennial timescale) once into the soil (Zimmermann et al., 2011; Knicker et al., 2013).

In fact, after an incubation experiment Knicker et al. (2013) estimated a mean residence time of the slow SOM pool to be only 3 to 4 times (40 years) longer for a soil with charcoal produced via wildfire than for the fire unaffected soil. Contrasting results were reported by Schneider et al. (2011) who did not observe changes in the charcoal (derived from vegetation burning) chemical composition and content even when exposed to an intense weathering during 100 years in a tropical Humic Nitosol. These findings are in line with data from Vasilyeva et al. (2011). The authors evaluated the total C and the pyrogenic C (PyC) (wildfire derived C) contents of a fire-affected Chernozem under fallow during 55 years. They observed smaller loss of PyC stock (6%) in comparison to soil organic C (33%) and changes in aromatic condensation degree of PyC were not observed.

The ambiguous results about the persistence of the charcoal into the soil along with the current concept of applying charcoal/biochar aiming to enhance C sequestration in the soil, suggest that further studies are strongly needed in order to elucidate the role of these materials as a stable C source into the soil.

In a previous work with a subtropical Cambisol amended with charcoal fine residues (Leal et al., 2015), we observed that the used charcoal presented a much higher aromaticity than the endogenous SOM, as expected. After 20 months of charcoal application (40 Mg ha^{-1}) to the soil, an increase of the aromaticity and thermostability degree of SOM was observed as well. These findings strongly suggest that charcoal fine residues may increase the slow SOM pool. Therefore, in order to elucidate this hypotheses, the main objectives of this study were to evaluate the impact of charcoal application on fast and slow SOM pools and on the distribution of the humified fractions along the soil profile.

6.2 Material and methods

6.2.1 Site description, experimental design and soil sampling

The experimental area is located in Irati, Center-South of Paraná State (PR), Brazil, at approximately 855 m above sea level. The climate is humid subtropical mesothermic - Cfb (Köppen), with frequent and severe frosts occurrence during winter. The annual mean temperature is $17.2 \text{ }^{\circ}\text{C}$, with an average rainfall of $193.97 \text{ mm month}^{-1}$ and a relative humidity of 79.58%. The study was carried out in the *Campus Irati*, at the State University of Centro-Oeste ($25^{\circ} 27' 56'' \text{ S } 50^{\circ} 37' 51'' \text{ W}$). The relief varies between undulated and strongly undulated, and the soil is classified as a Haplic Cambisol (FAO, 2006). The experimental area has an agricultural use history (soybean - *Glycine max*, five years), but for the last three years, before the beginning of the experiment, the soil was under fallow.

The experiment was established in February 2010 when the area was manually and mechanically mowed. About 2.5 Mg ha^{-1} of dolomitic limestone (85% of relative power of total neutralization) was firstly applied on the soil surface and subsequently incorporated at 10 cm depth using a light disk harrow.

The charcoal was originated from the pyrolysis of hardwood native Brazilian species, mainly *Mimosa scabrella* Benth. The greatest part of the charcoal was used to supply the steel industry, whilst the fine residues (≤ 6.3

mm) of the charcoal, which are unsuitable for such purpose, were collected to be used in this experiment. About 45% of the charcoal particles were smaller than 2 mm (Leal et al., 2015). The pyrolysis was performed under uncontrolled conditions, which may have contributed to its low fixed C (7.6%) and high volatile matter (84%) contents. These data characterize this material as a low condensed charcoal, produced at low temperature (Zimmerman et al., 2011).

The C (46.56%) and the N (1.03%) contents of the charcoal were determined by dry combustion and the ash content (8.22%) was determined after heating at 750 °C during 4 h. Additional charcoal characterization is described in Leal et al. (2015).

Directly after soil liming, three different doses of charcoal fines (10, 20 and 40 Mg ha⁻¹) were applied onto the soil surface and incorporated up to 10 cm using a light disk harrow. In March 2010 seedlings of *Eucalyptus benthamii* were planted.

The study was performed in a complete randomized block design with four treatments, which were arranged in four blocks: T1 = 0 Mg ha⁻¹ (without charcoal - control); T2 = 10 Mg ha⁻¹; T3 = 20 Mg ha⁻¹ and T4 = 40 Mg ha⁻¹. Each field replicate collected in each block was composed by three subsamples, which were sampled within a 144 m² plot.

Soil sampling was performed 20 months after charcoal incorporation (September 2012) at four soil depths: 0 - 5; 5 - 10; 10 - 20 and 20 - 30 cm. Before analysis all soil samples were air dried and passed through a 2.00 mm sieve.

6.2.2 Total carbon content and SOM fractionation

The total soil carbon content (TC) of the samples was determined by dry combustion (975 °C) (Thermo Fisher Scientific - Flash EA1112, detection limit = 0.01%).

The chemical fractionation of the SOM was performed according to Swift (1996) and adapted by Dick et al. (1998). One gram of soil was shaken with 60 ml of 0.5 M HCl for 2 h. The acid extract was separated by centrifugation. This procedure was repeated three times and the final extraction volume was measured. Hereafter, the remaining soil was shaken with 60 ml of

0.5 M NaOH for 3 h to extract the soluble humic substances (SHS), namely humic acids (HA) and fulvic acids (FA). This procedure was repeated until the supernatant became colorless and the final SHS volume was measured. Aliquots (5 ml) of the acid and of the SHS extract were collected for further C determination. The pH of the remaining material was lowered to 2 with 4 M HCl and the suspension was allowed to settle overnight. The precipitated HA was separated from the supernatant soluble FA by centrifugation. The FA extract volume was measured and an aliquot (5 ml) was collected for C determination. The extraction soil residue containing the humin (HU) fraction was washed with distilled water and dried in a vacuum oven at 60 °C. The C content in the acid (C_{HCl}), SHS (C_{SHS}) and FA (C_{FA}) extracts was quantified by measuring the absorbance at 580 nm (Shimadzu - UV - 160A) after C oxidation with K dichromate in acidic medium at 60 °C during 4 h. The C content in the HA fraction (C_{HA}) was determined as follows: $C_{HA} = C_{SHS} - C_{FA}$, while the C content in the HU fraction (C_{HU}) was determined by the difference: $C_{HU} = TC - C_{HCl} - C_{SHS}$.

6.2.3 Incubation experiment

The previous study of Leal et al. (2015) reported that the most outstanding differences regarding SOM composition and C contents were observed between T1 (control) and T4 (highest charcoal dose). Therefore, only these two treatments were selected for SOM biodegradability study.

The incubation experiment was performed according to Knicker et al. (2013), employing 10 g of each field replicate (four) from all sampled depths. The soil samples were inoculated with 1 ml of a microbial suspension, which was extracted from a gardening soil after manual shaking with deionized water and subsequent filtering (5 µm pore size). The samples were placed into closed 250 ml incubation vessels and the water content of the samples was adjusted to ca. 60% of the maximum soil water holding capacity (soil and charcoal water holding capacity data can be assessed in Apêndice 3). In addition to the soil samples, four replicates of pure charcoal (10 g, milled to pass a 2 mm sieve) were also incubated following the same methodology described for the soil samples.

Soil and charcoal samples were incubated during 165 days at 20 °C under aerobic conditions in a Respicond Apparatus IV (Nordgren Innovations, Sweden). Considering that part of the charcoal is usually hydrophobic and that it can affect the water distribution within the sample and therefore its mineralization rates, the wetted samples were carefully mixed before the incubation as recommended by Knicker et al. (2013). The respiration was measured every three hours by determining changes in the electrical conductivity induced by absorption of CO₂ in 10 ml of a 0.6 M KOH solution, which was placed together with the incubation vessel (Nordgren, 1988). The cumulative C loss was calculated by normalizing the CO₂ production to the C content of each sample. The accumulated produced CO₂ was calculated from the decrease of the conductance by employing a calibration constant (given by the producer of the instrument). The calculation of accumulated CO₂ from the conductance experimental values also considers the temperature used during the incubation period. The proportion of remaining C (A(t)) at a given time (t) was calculated by subtracting the accumulated C loss from 100%. At the end of the incubation period, data were fitted to a double exponential decay model using Sigmaplot 11.0 according to equation 1. This model separates the decomposition curve in two different compartments, the fast turnover pool and the slow turnover pool. A triple exponential decay model was tested, but it did not pass the constant variance test.

$$A(t) = A_1 \times e^{-k_1 t} + A_2 \times e^{-k_2 t} \quad (\text{Eq. 1})$$

where, A(t) = remaining C (% of TC); A₁ = amount of C which is relatively labile against mineralization (% of TC); A₂ = amount of C which is more stable against mineralization (% of TC); t = incubation time; k₁ and k₂ = apparent first order mineralization rate constants for the labile and refractory pool (y⁻¹), respectively. Accordingly, the mean residence times (MRT₁ and MRT₂) of the first-order reactions are equal to 1/k₁ and 1/k₂, whereas the half-life time of A₂ was determined by $t_{1/2\text{long}} = 0.693/k_2$.

Besides the soil and the charcoal samples, one blank (without soil or charcoal) was prepared in order to monitor variations due to temperature

changes or background noise. The blank sample showed that no background CO₂ production occurred.

6.2.4 Solid-state ¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy cross-polarization magic-angle spinning (¹³C NMR CPMAS)

Soil samples of the 0 - 5 and of the 10 - 20 cm depths were selected for the ¹³C NMR analysis because differences in TC content between T1 and T4 were found only at these two depths (Table 6). Before ¹³C NMR analysis, the four replicates from each treatment and each depth, before and after incubation, were proportionally weighted in order to obtain a composite sample. Prior to the ¹³C NMR analysis, the composite samples were treated with 10% hydrofluoric acid (HF) solution in order to concentrate the SOM (Gonçalves et al., 2003). Using a plastic container, soil samples (4 g) were treated with 10 ml of a 10% (w/w) HF solution. After 2 h of mechanical shaking with subsequent centrifugation of the closed containers at 2000 g for 10 min, the supernatant was removed and discarded. This procedure was repeated eight times. The remaining sample was washed five times with deionized water and freeze dried.

The four replicates of the charcoal samples, before and after the incubation, were also proportionally weighted to form composite samples. Prior to the ¹³C NMR analysis, the charcoal composite samples (3 g) were treated with 75 ml of 2 M HCl solution for removing paramagnetic compounds. After 2 h of mechanical shaking with subsequent centrifugation of the closed containers at 2000 g for 10 min, the supernatant was removed and discarded. The remaining sample was washed four times with deionized water and freeze dried.

One solid-state ¹³C NMR spectrum was obtained from each treated composite charcoal/soil sample. The spectra were obtained with a Bruker Avance III 600 MHz spectrometer operating at a resonance frequency of 150.91 MHz and cross-polarization magic-angle spinning (CPMAS) approach (Schaefer & Stejskal, 1976) was applied with a spinning speed of 15 kHz. A ramped ¹H pulse was used during the contact time of 1 ms to circumvent spin modulation during the Hartmann-Hahn contact (Peersen et al., 1993; Cook et al., 1996). About 3000 to 28000 scans were accumulated with a pulse delay of 300 ms and

line broadenings between 50 and 100 Hz were applied. The ^{13}C chemical shifts were calibrated relative to tetramethylsilane (0 ppm) with glycine (COOH at 176.08 ppm). The contributions of the various C groups to the total C were calculated using the MestreNova 8.1 software. Firstly, the integration of the signal intensity of all C groups was performed. Subsequently, the area of each chemical shift region was divided by the total area, and this result was further multiplied by 100. The calculation was carried out taking into account the spinning side band disturbance according to Knicker et al. (2005b). The chemical shift assignments of the CPMAS ^{13}C NMR spectra were performed according to Knicker et al. (2013), as follows: 0 - 45 ppm, alkyl C; 45 - 60 ppm, N-alkyl C; 60 - 110 ppm, O-alkyl C; 110 - 160 ppm, aryl C; and 160 - 220 ppm, carboxyl C.

In order to calculate the specific loss of each C group as a function of the microbial activity during the incubation experiment, the intensities of each chemical region in the spectra of samples after incubation were multiplied by the percentage of remaining C (% of the initial TC) in the sample at the end of the incubation. Finally, these values were subtracted from the intensities obtained for the spectra of the samples before the incubation.

6.2.5 Estimation of charcoal selective preservation by virtual ^{13}C NMR spectra fractionation

In order to elucidate the charcoal selective preservation, the virtual fractionation of the ^{13}C NMR spectra of T4 samples, before and after the incubation experiment, was performed according the methodology proposed by Knicker et al. (2013). This methodology considers that the composition of SOM in T1 represents the native SOM. The authors also assume that previously to the charcoal addition the humification process was similar in T1 and T4, and if the priming effect occurred after charcoal application, it would possibly change the endogenous SOM turnover rate, but not its composition. Thus, the difference between the SOM in T1 and T4 is attributed to the charcoal input. Additionally, the O-alkyl C group is considered to be the most rapidly altered fraction by heating. Thus, the majority of the O-alkyl C intensity observed in T4 ^{13}C NMR spectra derives from the native SOM.

Finally, since some aromatic C can generate resonance lines in the 110 to 90 ppm region, for this calculation the O-alkyl C derived from the native SOM (I_{NOM}) in T4 chemical shift regions (X) is considered to be from 90 to 60 ppm region. Therefore, the I_{NOM} was obtained accordingly to equation 2.

$$I_{\text{NOM}} = A \times I_{\text{T1}}(X) \quad (\text{Eq. 2})$$

where, A is the ratio of the intensity of the region 90 to 60 ppm in T4 and in T1 [$A = (I_{\text{T4}} 90 - 60 \text{ ppm}) / (I_{\text{T1}} 90 - 60 \text{ ppm})$], whereas $I_{\text{T1}}(X)$ is the intensity of each chemical shift region in ^{13}C NMR spectra of T1 samples. The intensities attributed specifically to the charcoal in each chemical shift region, $I_{\text{charcoal}}(X)$ were obtained by subtracting the intensities attributed to the native SOM in each region [$I_{\text{NOM}}(X)$] from $I_{\text{T1}}(X)$.

This methodology was applied for both ^{13}C NMR spectra before and after the incubation experiment, and the results can indicate the preferential preservation/not preservation of the charcoal during the incubation experiment.

6.2.6 Pyrolysis-Gas Chromatography-Mass Spectroscopy (Py-GC/MS)

The pure charcoal was analysed by Pyrolysis-Gas Chromatography-Mass Spectroscopy (Py-GC/MS) before and after the incubation experiment in order to monitor the alterations in its composition as a result of the microbial activity. Soil samples (T1 and T4) were also analysed by Py-GC/MS before the incubation experiment. However, relevant differences between treatments were not detectable and consequently peak identification was not performed.

Analytical Pyrolysis was performed in microfurnace pyrolyzer (PY2020iD Frontier Laboratories, Fukushima, Japan) directly coupled to an Agilent 6890N gas-chromatography - mass spectrometry system. The gases evolved during the pyrolysis were separated using a fused HP-5MS-ui capillary column (30 m x 250 μm x 0.25 μm i.d.). The carrier gas used was He with a controlled flow rate of 0.9 mL min^{-1} . The mass detector used was an Agilent 5973 (electron impact at 70 eV). The GC/MS conditions were the same for all samples. Initial oven temperature was held at 50 $^{\circ}\text{C}$ for 1 min and then

increased up to 100 °C at 30 °C min⁻¹, from 100 to 300 °C at 10 °C min⁻¹ and isothermal at 300 °C for 10 min using a heating rate of 20 °C min⁻¹ in the scan modus.

Around 2 - 3 mg of charcoal samples, before and after the incubation experiment, were placed into the microfurnace and direct flash pyrolysis at 700 °C during 1 min was applied. Other temperatures (300, 400, 500, 600 and 800 °C) were tested for charcoal pyrolysis, but they did not provide appropriate pyrograms (Apêndice 4).

The pyrolysis compounds were identified by analysing the mass fragments, retention time and comparing the compounds to published and stored data (NIST and Wiley libraries). The relative abundance of compounds was calculated by normalizing individual peak area to the total peak area of all the assigned pyrolysis products, i.e., the sum of all assigned pyrolysis products was defined as 100%, from which the relative contribution of each peak was calculated.

6.2.7 Statistical analysis

The treatments were compared within the same soil depth by Tukey's test ($p < 0.10$ or $p < 0.15$). The statistical analyses were performed using the software Statistical Analysis System 9.3.

6.3 Results and discussion

6.3.1 Total C content and humic substances

The main differences regarding the TC content were observed at 0 - 5 and 10 - 20 cm depths (Table 6), where the addition of 40 Mg ha⁻¹ of charcoal increased in 38 and 23%, respectively, the TC content in comparison to T1. Briefly, at 0 - 5 cm depth, the higher concentration of C found in T4 was related to the considerable amount of charcoal that remained at this depth even after its incorporation up to 10 cm, as evidenced by scanning electron microscopy (SEM) and by the higher C content in the particulate SOM fraction (Leal et al., 2015). The higher TC content at 10 - 20 cm depth was assigned to the leaching

of colloidal charcoal fragments, as indicated by SEM and by the higher C content in the silt+clay size SOM fraction in T4. Detailed discussion about the effect of the charcoal doses application on the soil TC content in this experiment can be assessed in Leal et al. (2015).

The C_{HCl} content varied between 0.97 and 2.16 g kg⁻¹ (Table 6) and its contribution to the TC ranged from 2 to 9% (Figure 3). Although C_{HCl} content in T4 tended to be smaller than in T1 in all depths, only at 5 - 10 cm a significant difference was observed. The addition of charcoal decreased C_{HCl} content from 1.23 to 0.97 g kg⁻¹ at this depth (Table 6). The C_{HCl} fraction is mainly composed by organic compounds that are originated from the microbial activity and from the root exudation. Such structures are smaller and more labile than that of the HA and FA, and due to their fast turnover, C_{HCl} is usually found in lower proportions in soils (Santana et al., 2011).

Table 6. Total carbon content (TC), carbon content allocated in each chemical fraction and C_{HA}/C_{FA} and $(C_{FA}+C_{HA})/C_{HU}$ ratios of SOM of a Cambisol after charcoal application. C content in the acid extract (C_{HCl}), fulvic acid (C_{FA}), humic acid (C_{HA}) and humin (C_{HU}).

Soil depth	Treatments ^a	TC	C_{HCl}	C_{FA}	C_{HA}	C_{HU}	C_{HA}/C_{FA}	$(C_{FA}+C_{HA})/C_{HU}$
cm		g kg ⁻¹						
0 - 5	T1	41.1 b	1.41 a	7.60 a	9.23 b	22.81 b	1.33 a	0.76 a
	T4	56.6 a	1.38 a	8.12 a	11.49 a	35.61 a	1.41 a	0.55 b
5 - 10	T1	36.2 a	1.23 a	5.21 a	8.80 a	20.91 b	1.80 a	0.68 a
	T4	40.8 a	0.97 b	6.83 a	8.10 a	24.89 a	1.20 a	0.62 a
10 - 20	T1	29.3 b	1.78 a	4.29 b	5.40 b	17.78 a	1.26 b	0.55 b
	T4	36.0 a	1.61 a	6.65 a	8.83 a	18.87 a	1.33 a	0.83 a
20 - 30	T1	24.8 a	2.16 a	3.15 b	5.00 b	14.46 a	1.73 a	0.56 b
	T4	28.8 a	1.65 a	4.29 a	7.94 a	14.94 a	1.85 a	0.84 a

Means followed by the same letter do not differ between treatments at the same soil depth (Tukey test, $p < 0.10$).

^a T1 = 0 Mg ha⁻¹ (control); T4 = 40 Mg ha⁻¹

Differently from the C_{HCl} content, the distribution of other chemical fractions in the soil profile was greatly affected by charcoal application. The C_{FA} contents varied from 3.15 to 8.12 g kg⁻¹ (Table 6), and the C_{FA} contribution to

the TC ranged from 13 to 18% (Figure 3). No significant differences were observed at 0 - 5 and 5 - 10 cm depths whereas at 10 - 20 and 20 - 30 cm depths, C_{FA} content was respectively 55 and 36% higher in T4 than in T1. With the exception of the 5 - 10 cm depth, charcoal addition also increased the C_{HA} contents; it varied from 5.00 to 11.49 g kg⁻¹ (Table 6) and its contribution to the TC ranged from 18 to 28% (Figure 3). The T4 showed a C_{HA} content 24% higher than T1 at 0 - 5 cm depth, but the greatest increment was observed at 10 - 20 and 20 - 30 cm depths, with an increase of 64 and 59%, respectively. According to the $\delta^{13}C$ isotopic ratio data of the soil samples (Leal et al., 2015), after charcoal incorporation, most of the charcoal particles remained at the 0 - 5 cm depth, only a small amount of it was observed at 10 - 20 cm depth and no charcoal presence was observed at 20 - 30 cm depth. It follows that the higher C_{FA} and C_{HA} contents observed in T4 at 10 - 20 cm might be caused by the presence of humified charcoal compounds.

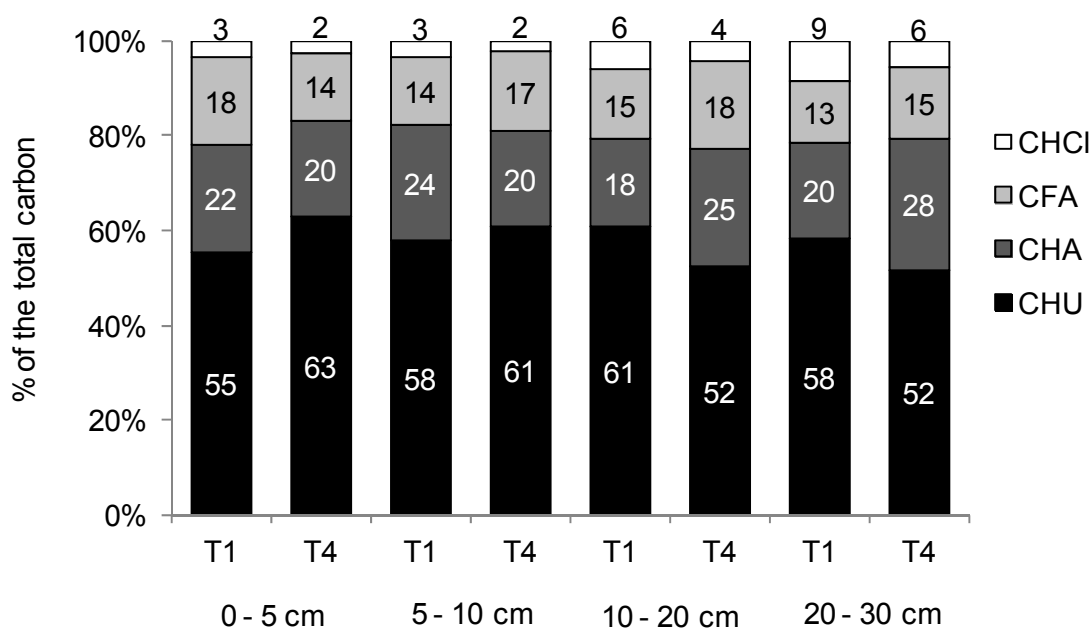


Figure 3. Contribution of the chemical fractions of SOM to the total carbon content along a Cambisol profile after charcoal application. C in the acid extract (C_{HCl}), fulvic acid (C_{FA}), humic acid (C_{HA}) and humin (C_{HU}). T1 = 0 Mg ha⁻¹ (control); T4 = 40 Mg ha⁻¹.

The mild conditions of the charcoal production along with the weathering of the charcoal that occurred during the time span of the field experiment (20 months) may have contributed to its partial oxidation.

Consequently, carboxylic groups directly linked to aromatic structures were probably formed. Possibly, these mobile organic compounds have migrated downward from the 0 - 5 cm depth with a preferential accumulation in alkaline extractable fraction (SHS). According to Hilscher & Knicker (2011) this so-called aging of the charcoal can start very quickly after entering the soil, which enhances the amount its functional groups (mostly carboxyl), leading to the increase of polar adsorption sites and facilitating the movement of these structures downward the soil profile (Abiven et al., 2011). The leaching of charcoal components has been also evidenced by the increase of SOM aromaticity degree in deeper soil depths (Dieckow et al., 2005a; Knicker et al. 2006, 2012). At 20 - 30 cm depth, the greater content of C_{HA} and C_{FA} in T4 may be assigned to an indirect effect of the charcoal on the endogenous SOM dynamics of the upper depths, promoting its functionalization and thus an increase of the SHS fraction.

Similarly to C_{FA} and C_{HA} contents, C_{HU} content increased after the charcoal application as well. C_{HU} content varied from 14.46 to 35.61 g kg⁻¹, and it always contributed to more than 50% to the TC (Figure 3). The C_{HU} content differences were observed at both 0 - 5 and 5 - 10 cm depths, where T4 increased C_{HU} content in 56 and 19%, respectively. This result is probably related to the concentration of charcoal particles in the soil surface even after its incorporation, and also due to the charcoal hydrophobic character and particulate size, which may have led to the accumulation of this material in the non-alkaline extractable fraction (HU).

The relative enrichment of HU at 0 - 5 cm depth after charcoal incorporation is evidenced by the smaller value of the ratio $(C_{FA}+C_{HA})/C_{HU}$ in T4 in comparison to T1 (Table 6). However, at 10 - 20 and 20 - 30 cm depths, where no difference in HU content was observed, greater values of this ratio were observed for T4 in comparison to T1. Therefore, the decrease of the C_{HU} contribution to TC occurred due to the increase of the C_{HA} and C_{FA} fractions at 10 - 20 and 20 - 30 cm depths. Furthermore, the formation of HA seems to have been more stimulated than that of FA, as indicated by the higher values of C_{HA}/C_{FA} in T4 at these two depths (Table 6). The enhancement of the humification process leading to the increase of HA content, as a result of the input of nutrients such as N, P and Ca via pyrogenic C addition, has been

reported by other authors for Brazilian soils (Lima et al., 2002; Cunha et al., 2007, 2009).

6.3.2 SOM and charcoal biodegradability

In order to elucidate the stability of the SOM from T1 and T4 and the stability of the charcoal alone, the experimental data of the remaining C (% of the initial C) versus the incubation time were fitted by a two pools model individually for each of the four replicates (curves not shown). The obtained determination coefficients (R^2) were greater than 0.96. Therefore curves of the mean values of remaining C for T1 and T4 samples at each soil depth and for pure charcoal after 165 days of incubation are presented in Figure 4. In order to facilitate the graphs visualization, only every tenth measured data is presented.

During the incubation experiment the data acquisition was interrupted for few days (gap in the graphs) due electric power cuts and consequent computer instabilities. However, such power cuts did not interfere in the amount of CO₂ accumulated in the KOH solution and thus the cumulative C loss measurement was not affected.

The C loss during the incubation of the soil samples ranged from 3.80 to 6.48% of the initial C and it tended to decrease with soil depth regardless of the treatment (Table 7). This behavior indicates that SOM at surface is biochemically more labile than that at deeper depths. Possibly, at deeper depths, where the C content is smaller than at the surface, the stabilization of SOM occurs mainly via organo-mineral interactions due to the higher abundance of mineral sorptive sites, thus hindering its biodegradability. In the present study, the chemical SOM composition seems to have had a minor role in the SOM stabilization, since the more easily degradable functional group, i.e., O-alkyl C, did not decrease with depth in both treatments (Table 8).

Differences between treatments regarding C loss were observed at 5 - 10 and 10 - 20 cm depths, where T4 slightly mitigated the C loss by 9.1 and 8.7%, respectively, in comparison to T1. Furthermore, there is a tendency (although not statistically significant), of smaller values of C loss in T4 at 0 - 5 and 20 - 30 cm as well (Table 7).

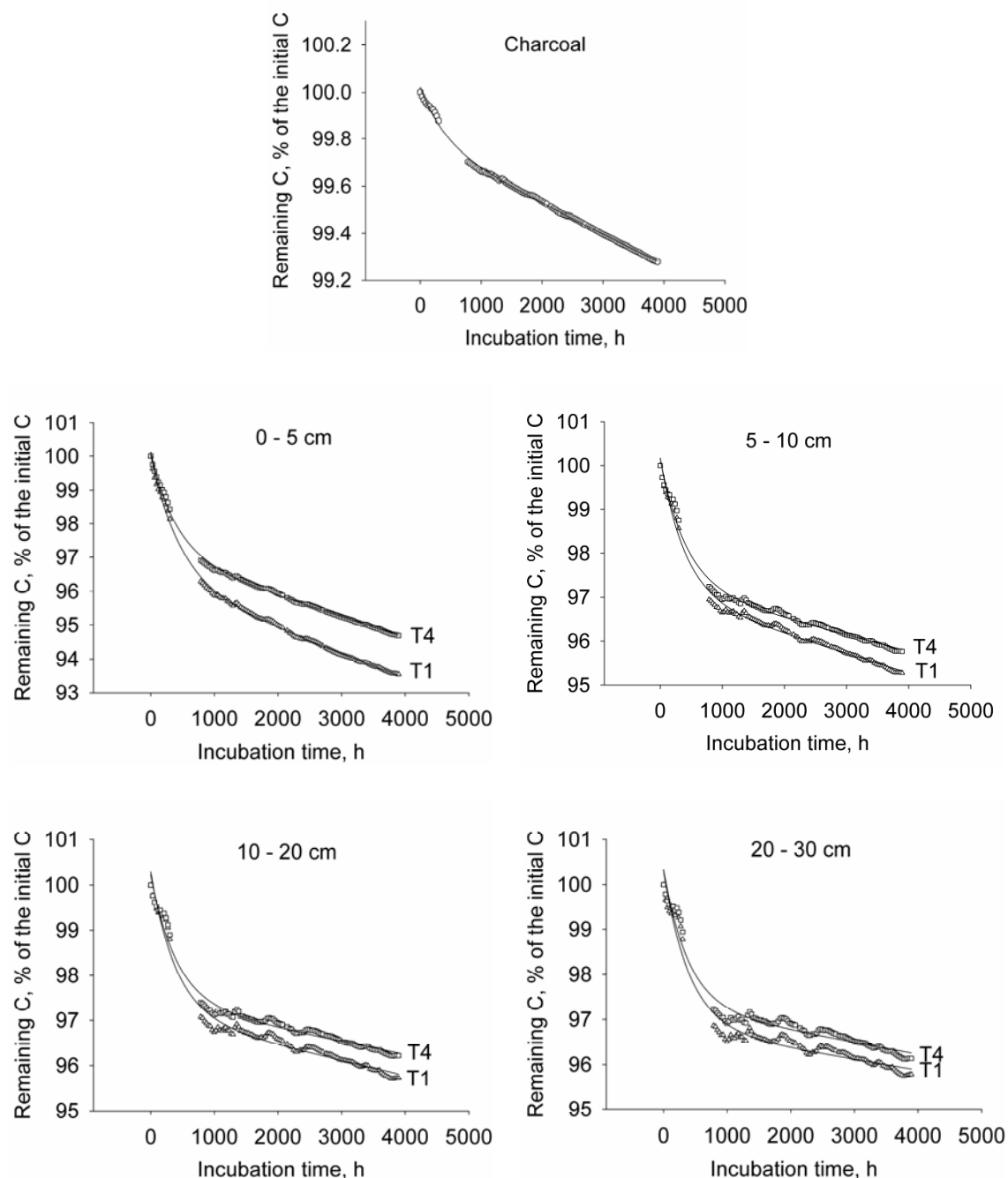


Figure 4. Remaining carbon (C) (mean of 4 replicates) as a function of incubation time for T1 and T4 samples collected at 0 - 5, 5 - 10, 10 - 20 and 20 - 30 cm depths and for pure charcoal. T1 = 0 Mg ha⁻¹ (control); T4 = 40 Mg ha⁻¹.

The mineralization of pure charcoal was quite low (0.73% of the initial C) in comparison to that of soil samples, and this is coherent with the low values observed for charred material (0.26 to 0.78% of the initial C) after 60 days incubation by Hamer et al. (2004). The lower C loss observed for charcoal can be assigned to its chemical composition: the charcoal used in our study

exhibited a much greater proportion of Aryl C (78%) than the native SOM (12 to 13%) (Table 8). Considering that this chemical structure is more resistant to biodegradation than O-alkyl and N-alkyl C groups (Knicker, 2007), the lower C loss values observed in T4 in comparison to T1 may be related to the presence of charcoal in the soil samples where it was added.

Table 7. Carbon (C) loss during the incubation experiment, proportion of the fast (A_1) and slow (A_2) SOM pools, their respective constant mineralization rates (k_1 and k_2) and mean residence times (MRT_1 and MRT_2) and half life time of the slow SOM pool ($t_{1/2 \text{ long}}$) of the pure charcoal and of a Cambisol after charcoal application.

Soil depth	Treatments. ^a	C loss	A_1	k_1	MRT_1	A_2	k_2	MRT_2	$t_{1/2 \text{ long}}$
cm		% of TC	% of TC	year ⁻¹	years	% of TC	year ⁻¹	years	years
0 - 5	T1	6.48 a	3.74 a	19.5 b	0.053 a	96.3 a	0.066 a	15.7 b	10.9 b
	T4	5.22 a	2.87 a	22.7 a	0.044 a	97.3 a	0.058 a	17.4 a	12.1 a
5 - 10	T1	4.74 a	3.13 a	22.6 a	0.045 a	97.1 a	0.041 a	25.2 a	17.5 a
	T4	4.31 b	2.98 a	21.2 a	0.047 a	97.2 a	0.034 a	29.7 a	20.6 a
10 - 20	T1	4.16 a	3.09 a	23.3 a	0.043 a	97.2 b	0.030 a	34.3 a	23.8 a
	T4	3.80 b	2.83 b	22.1 a	0.045 a	97.4 a	0.027 a	37.8 a	26.2 a
20 - 30	T1	4.31 a	3.55 a	21.5 a	0.047 a	96.9 a	0.025 a	42.1 a	29.2 a
	T4	3.88 a	3.09 a	20.6 a	0.050 a	97.3 a	0.024 a	41.9 a	29.1 a
-	Charcoal	0.73 (0.09) ^b	0.23 (0.04)	21.9 (0.00)	0.046 (0.00)	99.8 (0.05)	0.012 (0.00)	87.0 (8.19)	60.3 (5.68)

Means followed by the same letter do not differ between treatments at the same soil depth (Tukey test, $p < 0.15$).

^a Treatments: T1 = 0 Mg ha⁻¹ (control); T4 = 40 Mg ha⁻¹.

^b Values in parentheses refer to the standard deviation of the charcoal data.

The proportion of SOM fast pool (A_1) ranged from 3.09 to 3.74% of the TC in T1 and from 2.83 to 3.09% of the TC in T4 (Table 7). Despite the clear decrease in A_1 in all soil depths due to charcoal addition, only at 10 - 20 cm depth the difference was significant, where the charcoal addition decreased A_1 by 8.4%. A greater difference in A_1 values was expected since the contribution of charcoal to TC was about 49% at 0 - 5 cm depth and around 15% at 5 - 10 and 10 - 20 cm depths, as indicated by $\delta^{13}\text{C}$ analysis in a previous study (Leal

et al., 2015). Possibly, within the 20 months of the field experiment, the less recalcitrant portion of the added charcoal was partially weathered and, thus, relevant increase of the fast SOM pool in T4 samples was not detectable by the incubation experiment. In fact, the relatively rapid oxidation of charcoal after entering into the soil has been already reported, especially for those materials produced under less severe temperatures (Hilscher & Knicker, 2011; Knicker et al., 2013).

The mineralization rate of the fast SOM pool (k_1) ranged from 19.5 to 23.3 year⁻¹, including pure charcoal (21.9 year⁻¹) (Table 7). The only significant difference regarding the k_1 rate was observed at 0 - 5 cm depth, where the charcoal addition increased significantly k_1 from 19.5 (T1) to 22.7 year⁻¹ (T4) (Table 7). The lower k_1 rate in T1 can be explained by the mineralization of dead microbial compounds, which remained in the soil sample, that was stimulated by rewetting and mixing at the experiment implementation. In T4, besides this process, the CO₂ released from biochemically labile residues produced and accumulated in the charcoal particles may have contributed to the higher k_1 rate (Knicker et al., 2013). Nevertheless, such different k_1 did not affect significantly MRT₁ at 0 - 5 cm depth.

MRT₁ varied from 0.043 to 0.053 years, including pure charcoal (0.046 years) and did not differ between treatments (Table 7). Similar MRT₁ values (0.03 to 0.05 years) were reported by Knicker et al. (2013). The authors evaluated the biodegradability of SOM in fire-affected and unaffected soils from the Sierra de Aznalcóllar, Spain. The incubation of the soil samples was performed few years after soil sampling and the impact of the fire on the MRT₁ could not be distinguished.

In pure charcoal, the amount of C which is more stable against mineralization (A_2) corresponded to 99.8% of the TC (Table 7). In the soil samples, regardless of the treatment, the values were high as well, varying between 96 and 97% (Table 7). Similar A_2 values (91 to 96%) were observed by Knicker et al. (2013) after 206 days incubation of fire-affected and unaffected soil samples.

In opposite to k_1 , k_2 observed for pure charcoal (0.012 year⁻¹) was lower than the values obtained for the soil samples (from 0.024 to 0.066 year⁻¹), indicating that for this SOM pool the chemical composition was determinative

for the SOM biodegradability. Though not statistically different, samples from T4 tended to show lower k_2 values than T1 (Table 7), evidencing the contribution of added charcoal to the mineralization rate of the slow SOM pool in soil samples.

The MRT_2 of 87 years observed for the pure charcoal was substantially higher than the values observed for T1 and T4 (15 to 42 years) (Table 7), indicating that for this SOM pool the charcoal chemical composition played an important role in its biodegradability. The recalcitrant composition of the charcoal can explain the 11% higher MRT_2 observed for T4 at 0 - 5 cm depth in comparison to T1 (Table 7). However, based on the MRT_2 of the charcoal alone, a more relevant increase was expected. Possibly, it did not occur due to the availability of labile organic compounds from the SOM, which were probably used by the microorganisms for degrading the charcoal (Hamer et al., 2004). Although not statistically significant, MRT_2 at 5 - 10 and 10 - 20 cm depths tended to be higher in T4 than in T1, suggesting the influence of the added charcoal on the greater MRT_2 values. At 20 - 30 cm depth, where no charcoal presence was evidenced (Leal et al., 2015), MRT_2 values observed for T1 and T4 were quite similar (Table 7). Possibly, within the relative short time span of the incubation experiment (5.5 months) the more labile charcoal compounds were being still decomposed (Hamer et al., 2004) and the effect of the added charcoal that contributes with about 15% to the TC at 5 - 10 and 10 - 20 cm depths (Leal et al., 2015) to slow down the biodegradation was not noticeable. On the other hand, in a long-term experiment a gradual enrichment of biochemically recalcitrant structures from charcoal would occur, thus higher MRT_2 in T4 in deeper soil depths could be expected.

The $t_{1/2 \text{ long}}$ of the pure charcoal (60.3 years) was higher than those of the soil samples, which ranged from 10.9 to 29.2 years (Table 7). Despite k_2 did not vary significantly between T1 and T4 (Table 7), samples from T4 tended to show smaller k_2 values, as previously discussed, and this trend may have led to the slight higher values observed for $t_{1/2 \text{ long}}$ at 0 - 5 cm depth in T4 (Table 7). Similarly to the MRT_2 , $t_{1/2 \text{ long}}$ tended to be greater in T4 within 0 - 20 cm depth, due to the charcoal distribution along such depth. And at 20 - 30 cm, the $t_{1/2 \text{ long}}$ values were quite similar (around 29 years) in both treatments, corroborating that charcoal was not relevantly leached to depths > 20 cm (Leal et al., 2015).

The greater values obtained presently for MRT_2 and $t_{1/2 \text{ long}}$ at 0 - 5 cm depth from T4, suggest that the incorporation of charcoal fine residues into the soil has a potential to be used as a C sequestration source. Hypothetically, an efficient incorporation of charcoal in subsurface soil depths would possibly result in greater MRT_2 and $t_{1/2 \text{ long}}$ compared to that observed at 0 - 5 cm depth, once the microbial activity usually decrease downward the soil profile (Taylor et al., 2002).

6.3.3 Alteration of SOM and charcoal chemical composition during incubation and estimation of charcoal contribution

The ^{13}C NMR spectrum of the pure charcoal before the incubation experiment was greatly dominated by ^{13}C intensity in the aryl C region, as expected (Figure 5). This functional group accounted for 78% of the total ^{13}C intensity (Table 8) and this result corroborates the high charcoal aromaticity indexes previously observed by thermogravimetric and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) analyses (Leal et al., 2015).

The less intense chemical shift region was that of N-alkyl C, which represented only 3% of the total ^{13}C intensity (Table 8). The second less representative functional group was alkyl C (5% of the total ^{13}C intensity) which can be assigned to short alkyl chains from lignin that remained in the charcoal after the mild charring process (Knicker et al., 2005b). The proportion of carboxyl C group was 6% (Table 8) and this value is comparable to those observed for the soil samples (7 to 10%). The O-alkyl C proportion was small, around 8% (Table 8), as expected. The low signal in the 100 - 60 ppm region (O-alkyl C) can be assigned to aromatic C compounds, which may have caused resonance lines mainly in the 110 - 90 region or to the few easily decomposable structures, as carbohydrates from *Mimosa scabrella* trees, which may have resisted to the charring (Knicker et al., 2005b; Knicker, 2007).

The same ^{13}C NMR spectrum pattern was exhibited by the pure charcoal after 165 days of incubation (Figure 5). However, the ^{13}C intensity distribution was altered, despite the low mineralization of the pure charcoal during the incubation experiment (0.73% of C loss). The aryl C contribution after the incubation period decreased from 78 to 67% (Table 8), suggesting that

some microorganisms were able to use the aromatic compounds as a C source. Consequently, the contribution of the alkyl C increased from 5 to 11% as well as that of the O-alkyl C from 8 to 12% (Table 8).

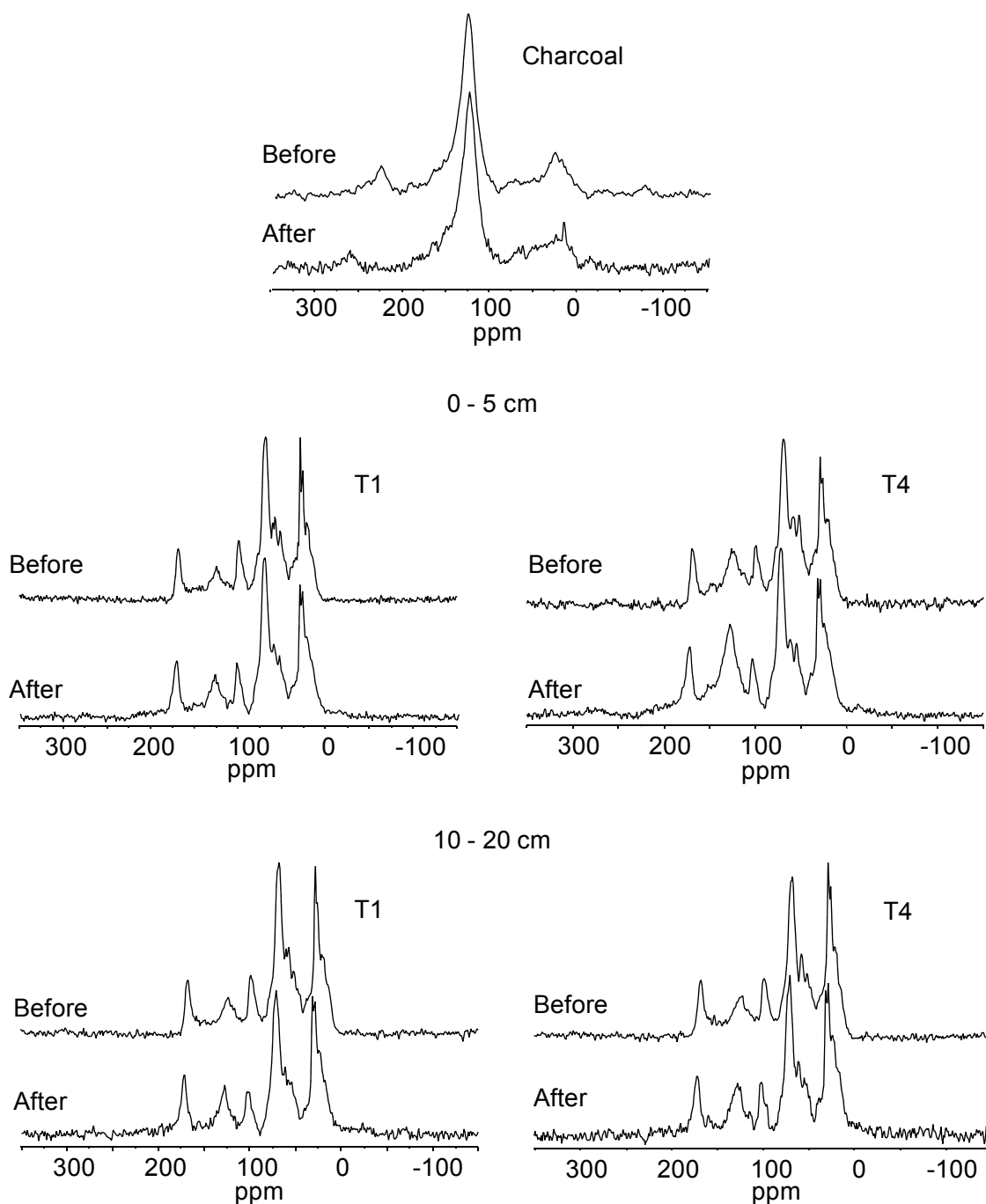


Figure 5. Solid-state ^{13}C NMR spectra of the pure charcoal and of HF-treated T1 and T4 samples for 0 - 5 and 10 - 20 cm depths, before and after 165 incubation days. T1 = 0 Mg ha $^{-1}$ (control); T4 = 40 Mg ha $^{-1}$.

Table 8. Comparison of the relative intensity distribution (%) of solid-state ^{13}C NMR spectra, before and after 165 days of incubation, of the charcoal and of the Cambisol samples collected at 0 - 5 and 10 - 20 cm depth after charcoal application.

Soil depth cm	Treatments ^a	Incubation	Carboxyl C	Aryl C	O-Alkyl C	N-Alkyl C	Alkyl C
			220-160 Ppm	160-110 ppm	110-60 ppm	60-45 ppm	45-0 ppm
					%		
0 - 5	T1	Before	6.5	12.3	38.3	12.9	30.0
		After	8.4	12.7	35.2	9.0	28.3
		Before - after	-2	0	3	4	2
0 - 5	T4	Before	6.8	17.9	34.3	12.4	28.6
		After	9.3	23.1	29.9	8.0	24.5
		Before - after	-3	-5	4	4	4
10 - 20	T1	Before	6.5	13.4	37.0	12.4	30.7
		After	9.5	13.4	33.8	8.7	30.5
		Before - after	-3	0	3	4	0
10 - 20	T4	Before	7.5	15.4	34.8	11.3	30.9
		After	9.2	15.5	32.0	8.4	31.1
		Before - after	-2	0	3	3	0
-	Charcoal	Before	6.1	78.3	8.0	2.7	4.9
		After	6.7	66.6	11.6	3.8	10.5
		Before - after	-1	12	-4	-1	-6

^a T1 = 0 Mg ha⁻¹ (control); T4 = 40 Mg ha⁻¹.

The ^{13}C NMR spectra of treatments T1 and T4, before and after the incubation experiment, presented the same pattern and differed markedly from that of charcoal (Figure 5). Soil samples spectra were dominated by ^{13}C intensity in the O-alkyl C chemical shift region (30 to 38% of the total ^{13}C intensity) as expected, and it is assigned mainly to carbohydrates from the microbial biomass and plant residues (Baldock et al., 1992; Knicker et al., 2013). The main difference between the ^{13}C NMR spectra of the soils, before the incubation experiment, was observed at 0 - 5 cm depth, where T4 presented a higher proportion of aryl C group (18%), in comparison to T1 (12%) and a smaller proportion of O-alkyl C (Table 8). These results confirm the greater

concentration of charcoal at this depth and corroborate the findings of Leal et al. (2015). At 10 - 20 cm depth, the difference in the ^{13}C NMR spectra between the treatments, before the incubation experiment, was less pronounced. The T4 samples tended to present a greater proportion of carboxyl C and of aryl C and a smaller proportion of O-alkyl C groups than that of T1 (Table 8).

After 165 days of incubation the SOM composition of T1 samples from both soil depths was slightly altered. In general, an increase of carboxyl C and a depletion of O-alkyl and N-alkyl C occurred in both soil depths (Table 8). These results suggest that the microorganisms decomposed mainly carbohydrates and protein structures and increased the SOM functionalization, as expected (Baldock et al., 1992).

In comparison to T1, the changes on the SOM chemical composition at 0 - 5 cm depth in T4 due to the incubation were more pronounced. After 165 days of incubation the aryl C contribution increased from 18 to 23%, and that of the carboxyl C increased from 6.8 to 9.3% (Table 8). On the other hand, the proportions of O-alkyl C decreased from 34 to 30%, that of N-alkyl C from 12 to 8% and that of alkyl C from 29 to 25%. It seems that the carbohydrates and N-containing groups and part of alkyl structures derived from endogenous SOM were preferentially decomposed and mineralized, leading to a relative enrichment of aromatic structures (mainly from added charcoal) that were functionalized as a result of the microbial activity. This explanation is supported by the results obtained from the ^{13}C NMR virtual fractionation that enable to estimate the specific charcoal contribution for each chemical shift region, before and after the incubation experiment (Figure 6).

According to these estimations, at 0 - 5 cm depth in T4, the specific charcoal contribution to the carboxyl C (220 - 160 ppm) slightly increased from 1 to 2% after the incubation, whereas the contribution to the aryl C (160 - 90 ppm) greatly increased from 8 to 13% (Figure 6). This clearly points to the preferential preservation of the charcoal during the SOM mineralization as well as to its initial functionalization.

Contrary to the 0 - 5 cm depth, the charcoal specific contribution to the ^{13}C NMR spectra of the 10 - 20 cm depth remained virtually constant before and after the incubation experiment. Only a slight decrease of the charcoal contribution to the carboxyl intensity, from 1.5 to 0.3% (Figure 6), was observed

at the end of the incubation time. This result suggests that the increase in the carboxyl C intensity on the SOM composition from 7.5 to 9.2% (Table 8) after the incubation can be partially attributed to the functionalization of the endogenous SOM.

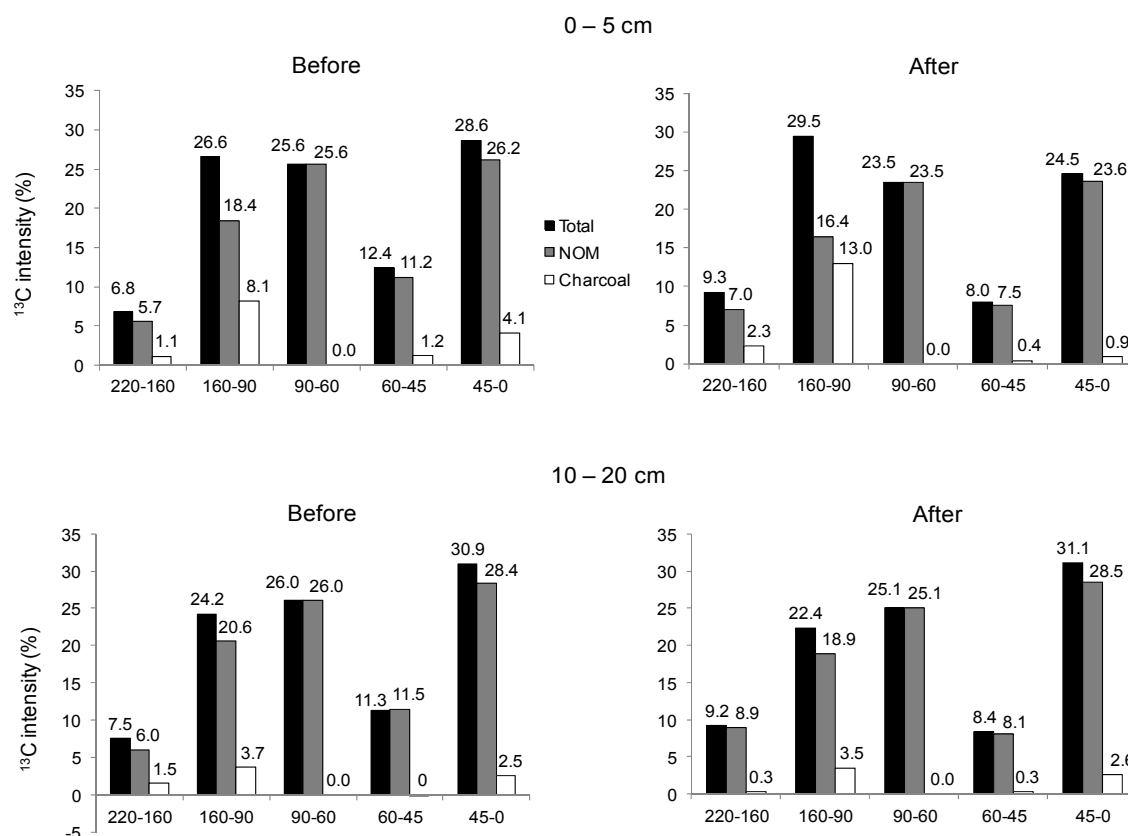


Figure 6. Specific contribution of the charcoal in T4 at 0 - 5 and 10 - 20 cm depths, before and after the incubation experiment, to the different chemical shift regions of the ^{13}C NMR spectra. Black bars indicate the total organic matter (native organic matter + charcoal). Gray bars indicate the contribution of the native organic matter and white bars indicate the contribution of the charcoal to the total signal intensities.

6.3.4 Changes on the chemical composition of charcoal during incubation as assessed by Py-GC/MS

Despite the low C loss of the charcoal (0.73% of the initial C), during 165 days of incubation (Table 7), relevant changes in the charcoal chemical composition were observed when comparing the total ion chromatogram (TIC) of the charcoal obtained after and before incubation experiment (Figure 7).

The compounds identified in the pyrograms from charcoal were grouped according to their probable precursors and chemical similarity, as follows: polysaccharides (Ps), alkane/alkenes (Al), aromatics (A), N-containing compounds (N), polyaromatics (Pa) and phenols (Ph) (Table 9).

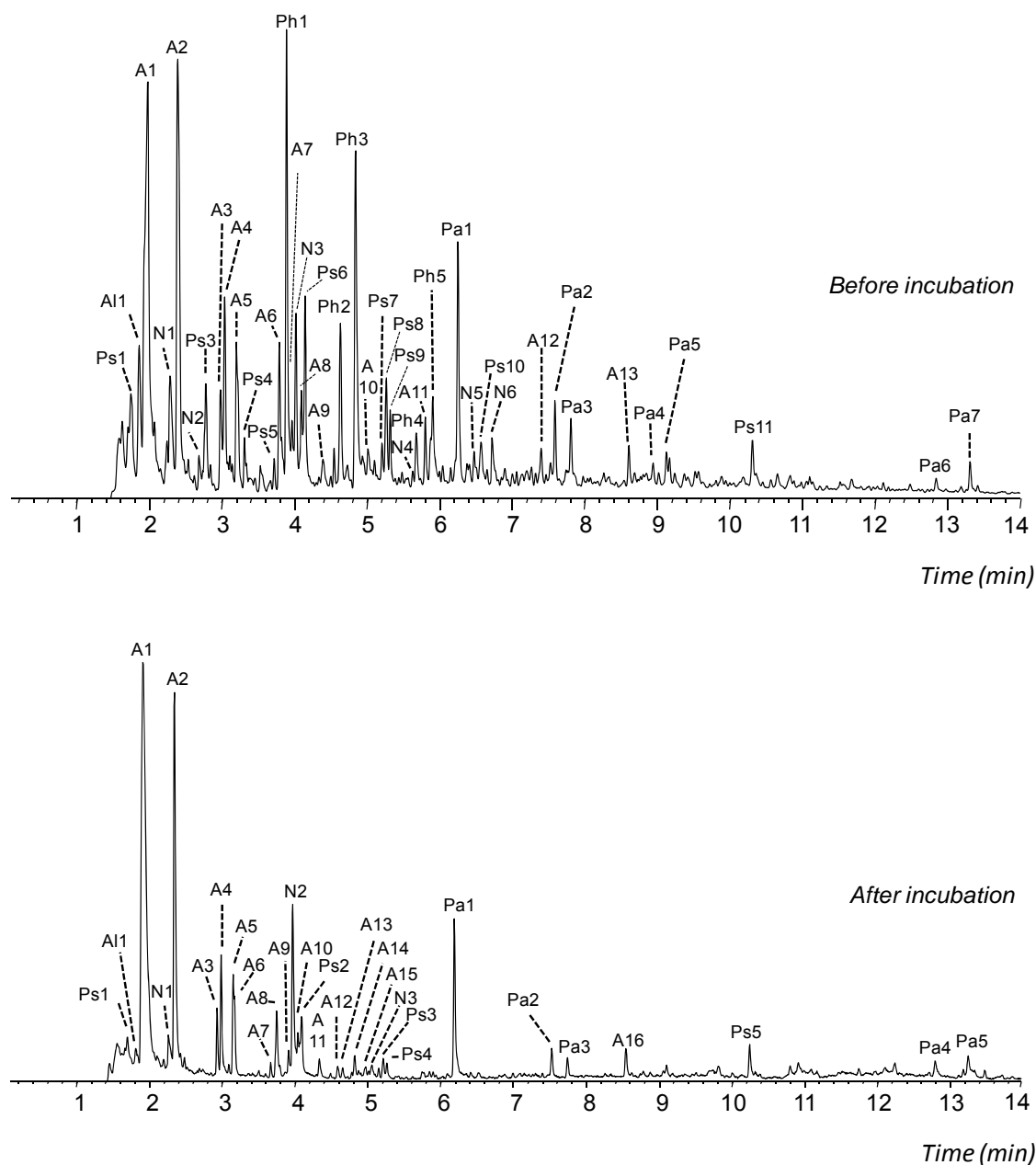


Figure 7. Pyrolysis-Gas Chromatography-Mass Spectroscopy chromatogram at 700 °C of the pure charcoal, before and after the incubation experiment. The labels over the peaks refer to the identified compounds, which are listed in table 9. Since all compounds were released before 14 min, the chromatogram comprises from 1 to 14 min in order to facilitate the peaks visualization.

Table 9. Compounds released by Pyrolysis-Gas Chromatography-Mass Spectroscopy at 700 °C from charcoal samples, before and after the incubation experiment.

Before incubation			After incubation		
Compounds	Peak label	%	Compounds	Peak label	%
Polysaccharides			Polysaccharides		
Furan, x – methyl	Ps1	1.5	Furan, x – methyl	Ps1	0.5
Furan, 2,5 dimethyl	Ps2	0.3	Benzofuran	Ps2	1.3
Furan, 2 methyl	Ps3	2.3	Benzofuran, 7-methyl	Ps3	0.7
2 - cyclopenten - 1 - one, 2 – methyl	Ps4	0.5	Bezofuran, 2-methyl	Ps4	0.4
2-Cyclopenten - 1 one, 3 methyl	Ps5	0.5	Dibenzofuran	Ps5	1.2
Benzofuran	Ps6	2.7			
Benzofuran, x - methyl	Ps7	0.6			
Benzofuran, x - methyl	Ps8	2.1			
Benzofuran, x - methyl	Ps9	1.0			
Benzofuran, 4,7 - dimethyl	Ps10	0.9			
Dibenzofuran	Ps11	0.9			
Subtotal		13.3	Subtotal		4.0
Alkane/Alkenes			Alkane/Alkenes		
x,x – cyclohexadiene	Al1	3.2	x,x – cyclohexadiene	Al1	0.3
1,4 cyclohexadiene, 1 - methyl	Al2	0.4			
Subtotal		3.7	Subtotal		0.3
Aromatics			Aromatics		
Benzene	A1	16.3	Benzene	A1	45.6
Benzene, methyl	A2	13.9	Benzene, methyl	A2	17.7
Benzene, ethyl	A3	1.7	Benzene, ethyl	A3	2.1
Benzene, 1,4 dimethyl	A4	3.3	Benzene, 1,4 dimethyl	A4	3.9
Styrene	A5	0.8	Styrene	A5	1.2
Benzaldehyde	A6	2.0	P – xylene	A6	0.4
Benzene, 1 - ethyl - 2 - methyl	A7	0.4	Benzene, propyl	A7	0.4
Benzene, 1,2,3 trimethyl	A8	0.7	Benzaldehyde	A8	2.7
Benzene, 1,2,4 trimethyl	A9	0.6	Benzene, 1-ethyl-2-methyl	A9	0.5
Benzaldehyde, x - methyl	A10	0.5	Benzene, 1,2,3 trimethyl	A10	0.4
Benzene, 1 - methyl - 2 - cyclopropen - 1yl	A11	1.1	Benzene, 1,2,4-trimethyl	A11	0.8
1H - inden - 1 - one, 2,2 dihydro	A12	0.5	Benzene, 1-propynyl	A12	0.4
1,1' – biphenyl	A13	0.9	Benzene, butyl	A13	0.4
			Benzaldehyde, 4-methyl	A14	0.7

Tabela 9. Continuação...

			Benzene, 1-methyl	A15	0.3		
			1,1' – biphenyl	A16	1.3		
Subtotal		42.6	Subtotal		78.8		
N compounds			N compounds				
Pyridine	N1	3.0	Pyridine	N1	1.4		
Pyridine, 2 – methyl	N2	0.6	Benzonitrile	N2	6.5		
Benzonitrile	N3	2.8	Benzonitrile, 4-methyl	N3	0.4		
Benzyl nitrile	N4	0.2					
1H - benzimidazole, 5,6 – dimethyl	N5	0.3					
Methenamine	N6	0.7					
Subtotal		7.6	Subtotal		8.3		
Polyaromatics			Polyaromatics				
Naphthalene	Pa1	5.0	Naphtalene	Pa1	5.4		
Naphthalene, 1 - methyl	Pa2	1.6	Naphtalene, 1-methyl	Pa2	1.1		
Naphthalene, 1 - methyl	Pa3	1.1	Naphtalene, 1-methyl	Pa3	0.8		
Naphthalene, x,x dimethyl	Pa4	0.4	9H - Fluoren - 9 – one	Pa4	0.4		
Naphthalene, x,x dimethyl	Pa5	0.4	Phenanthrene	Pa5	0.8		
9H - Fluoren - 9 - one	Pa6	0.3					
Phenanthrene	Pa7	0.6					
Subtotal		9.4	Subtotal		8.6		
Phenols			Phenols				
Phenol	Ph1	9.0					
Phenol, 2-methyl	Ph2	3.7					
Phenol, 4 – methyl	Ph3	8.8					
Phenol, x,x - dimethyl	Ph4	1.0					
Phenol, 3,5 dimethyl	Ph5	0.8					
Subtotal		23.4	Subtotal		0		
Total		100.0	Total		100.0		

Before the incubation the TIC of the charcoal was dominated by Aromatics (mainly benzene and substituted benzenes), Phenols (phenol and substituted phenols) and Polyaromatics (naphtalene, substituted naphtalenes and phenanthrene) groups, which represented 43, 23 and 9% of the total peak area, respectively (Table 9). These data are in line with the high charcoal aromaticity degree observed earlier by ^{13}C NMR spectroscopy.

Although Polysaccharides and Alkane/Alkene compounds are considered as thermally labile, some of these structures resisted to the charring process and were detected in the charcoal. These groups accounted for 13% and 4% of the total peak area, respectively (Table 9), and their presence confirms that the used charcoal was produced under gentle charring conditions (De la Rosa et al., 2012). The N-containing compounds accounted for 8% of the total peak area (Table 9) and were detected mainly in the aromatic form (pyridine and benzonitrile), as a result of the charring process.

The main alterations in the charcoal chemical composition due to the incubation were observed in Aromatic and Phenol groups, whereas slight changes were detected in the Polysaccharide and Alkane/Alkene groups. After the incubation, the proportion of Aromatics greatly increased from 43% to 79% (Table 9), whereas Phenols, which represented 23% before the incubation, completely disappeared. Furthermore, the proportion of Polysaccharides and Alkane/Alkenes decreased from 13% to 4% and from 4% to 0.3% (Table 9), respectively, after the incubation.

These data sets demonstrate that the more easily degradable compounds (Ps and Al) were preferentially consumed by the microorganisms during the incubation time, confirming the findings of the ^{13}C NMR data discussed earlier. The absence of Phenols together with the increase in the Aromatics group suggest COOH groups were possibly created in the phenols structure during the incubation, as a result of the oxidation process, and these COOH groups were subsequently released during the analytical pyrolysis. Consequently, the proportion of benzene and substituted benzenes increased after incubation. In addition, some highly condensed structures that composed the charcoal sample, which were not visible by Py-GC/MS, could have possibly been fragmented in smaller compounds (benzenes and substituted benzenes) during the incubation, permitting their detection in the pyrogram, and increasing therefore the Aromatics proportion. In fact, a slight decrease in Pa proportion (from 9.4 to 8.6%) was observed after the incubation. However, further studies are needed for consolidating both hypothesis.

The amount of identified N-containing compounds decreased after the incubation, confirming that some N-containing compounds were consumed by the microorganisms during the incubation. On the other hand, their

proportion slightly increased (from 7.6 to 8.3%) after incubation. Since most of the N-containing compounds before the incubation were aromatic, this result indicates that they were relatively enriched during the incubation.

6.4 Conclusions

The charcoal fragments located at 0 - 5 cm depth were preferentially accumulated in the humin fraction, most probably due to the charcoal hydrophobic character. The higher humic acids and fulvic acids contents within 0 - 20 cm depth after the charcoal application seems to be related to the humified charcoal presence. Contrary, such increase at 20 - 30 cm depth is apparently an indirect effect of the charcoal on the endogenous SOM humification dynamics, since charcoal presence at 20 - 30 cm was not evidenced by our work. Nevertheless, further research is needed to elucidate this process.

The gentle charring conditions promoted the preservation of some relatively labile compounds in the charcoal composition, such as polysaccharides, alkane/alkenes and phenols as well. These compounds were preferably mineralized instead of less labile compounds (aromatic and polyaromatic) within 165 days of incubation when the charcoal was the solely carbon source to the microorganisms.

The greater accumulation of charcoal fragments at 0 - 5 cm depth slightly augmented the slow SOM pool. According to the virtual ^{13}C NMR fractionation, it can be assigned to the preferential preservation of aromatic structures from the charcoal during soil organic matter microbial mineralization. This finding reinforces the potential of charcoal fine residues to enhance the carbon sequestration into the soil. Therefore, such residue could be alternatively used instead of some biochars, which are frequently produced under more expensive pyrolysis conditions and using primary biomasses. However, further experiments mainly at a long-term scale are strongly recommended to consolidate the potential use of the charcoal fine residues as a mean to increase the slow soil organic matter pool.

7. CAPÍTULO IV - ESTUDO 3: EFEITO DA QUEIMA DE FLORESTA AMAZÔNICA NATIVA SOBRE A RETENÇÃO DE CARBONO NAS FRAÇÕES SILTE E ARGILA E NA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA MATÉRIA ORGÂNICA AO LONGO DO PERFIL DE UM ARGISSOLO

7.1 Introdução

Na última década o Brasil registrou uma diminuição no número de focos de incêndio. Em 2013 foram registrados 115.484 focos no país, sendo este o menor registro desde o ano 2000 (101.537 focos). Entretanto, em 2014 o número de focos de incêndio subiu para 183.693 e nos meses de janeiro e fevereiro de 2015 já foi 66% superior ao registrado no mesmo período no ano anterior (INPE, 2015). Os biomas brasileiros normalmente mais afetados pelas queimadas são o Cerrado e a Amazônia. Anualmente, estima-se que são devastados pelo fogo em torno de 15 mil km² de florestas naturais no Brasil (INPE, 2015). A pastagem é o principal uso da terra na Amazônia legal Brasileira e estima-se que cerca de 75% das áreas de floresta desmatada foram ou estão ocupadas por pastagens (Cerri et al., 2008).

Após a queimada é observado um aumento instantâneo da fertilidade do solo devido às cinzas oriundas da vegetação mineralizada, as quais apresentam alta concentração de nutrientes (Rheinheimer et al., 2003). Porém, esse efeito da queima tende a desaparecer com o tempo devido à lixiviação dos nutrientes pela ação das chuvas, resultando em concentrações que podem ser inferiores às originais (Knicker, 2007). Frente à queda da fertilidade da área queimada, os agricultores optam por queimar novas áreas de floresta buscando o rápido efeito fertilizante.

Em relação à MOS o efeito das queimadas é variável e depende de diversos fatores tais como: tipo de fogo, intensidade de queima, declividade do terreno, frequência de queima, composição química da vegetação queimada, disponibilidade de oxigênio durante a queimada, entre outros (González-Pérez et al., 2004). A ação diferenciada desses múltiplos fatores resulta em dados divergentes na literatura quanto ao efeito das queimadas sobre o teor de MOS (Knicker, 2007). Enquanto alguns estudos reportaram a perda quase completa da MOS a curto e médio prazo, outros observaram o seu aumento nas camadas superficiais do solo (Roscoe et al., 2000; Johnson & Curtis, 2001; Santín et al., 2008; Potes et al., 2010).

Porém é de consenso na literatura, que o efeito imediato das queimadas sobre a composição química da MOS normalmente inclui perda de compostos orgânicos mais lábeis (carboidratos), conversão de peptídeos em estruturas heteroaromáticas e principalmente aumento no conteúdo de compostos aromáticos e poliaromáticos (Knicker et al., 2005a). Conseqüentemente, a MOS passa a apresentar um caráter mais hidrofóbico, principalmente nas camadas superficiais do solo.

Estes compostos aromáticos normalmente apresentam maior resistência à biodegradação do que a MOS endógena. Entretanto, uma porção do material pirogênico pode apresentar maior susceptibilidade ao ataque da microbiota devido à queima não homogênea, resultando na funcionalização deste material. Conseqüentemente, o teor de grupos carboxílicos nessas estruturas aumenta, diminuindo a sua hidrofobicidade. Com isso, a solubilidade desses compostos aumenta, facilitando a sua translocação e/ou acúmulo ao longo do perfil do solo (Knicker, 2007; Knicker et al., 2012). Partículas coloidais de origem pirogênica também podem ser translocadas para camadas mais profundas no perfil, alterando o teor e a composição da MOS em profundidade (Dieckow et al., 2005a; Knicker et al., 2012). De acordo com Knicker (2007), a entrada destes compostos pirogênicos de menor ou maior hidrofobicidade no solo podem afetar a capacidade de sorção dos solos, aumentando ou diminuindo a lixiviação de nutrientes, afetando as interações entre a MOS e os minerais de argila e óxidos e conseqüentemente alterando a estabilidade dos agregados e o acúmulo de MOS.

O modelo de retenção de C no solo proposto por Six et al. (2002) estabelece que o solo apresenta uma capacidade limitada de reter C. Os modelos anteriormente propostos afirmam que o teor de C no solo responde linearmente às diferentes quantidades de C aportado, sem limitação de armazenamento de C. Nesses modelos de resposta linear, o acúmulo de C no solo ocorre basicamente em função das interações químicas entre a MOS e os minerais e assume cinética de primeira ordem para a decomposição dos diferentes compartimentos da MOS. Segundo Six et al. (2002), estes modelos ajustam-se satisfatoriamente em solos com teor de C de baixo a moderado (< 5%), mas não respondem da mesma forma para solos com teores de C elevados. De acordo com o conceito de saturação, o teor de C do solo varia segundo uma curva assintótica às adições de C, isto é, a capacidade do solo em armazenar C diminui conforme o nível de saturação aproxima-se do máximo (Six et al., 2002). Neste modelo, a capacidade de retenção de C depende dos mecanismos químico, físico e bioquímico de estabilização do C no solo. O mecanismo químico é o resultado da ligação entre a MOS e a fração mineral; o mecanismo físico está relacionado ao teor e tipo de argila e à proteção da MOS no interior de agregados e microagregados; e a estabilidade bioquímica varia de acordo com a maior ou menor resistência dos compostos orgânicos à decomposição, em razão da sua composição química.

Neste contexto, Stewart et al. (2009) aportando diferentes quantidades de C marcado (^{13}C) avaliaram o potencial e a eficiência no armazenamento de C em amostras de solo próximas (horizontes A) e distantes (horizontes C) do seu limite de saturação de C. O maior potencial e eficiência em armazenar o C aportado foram observados nos solos com maior déficit de saturação de C, ou seja, os solos mais distantes do nível máximo de saturação.

As partículas minerais do solo apresentam um número limitado de sítios de sorção, e uma vez preenchidos estes sítios, outros mecanismos de retenção de C no solo podem surgir (Reis, 2012). Kleber et al. (2007) propuseram um modelo conceitual de interação organo-mineral (Apêndice 5), no qual a composição química da MOS assume caráter decisivo na retenção de C no solo. De acordo com este modelo, primeiramente há a ligação da MOS com a fração mineral (por troca de ligantes, ligação eletrostática ou interação hidrofóbica em solos de baixa ou nenhuma carga), chamada de zona de

contato. Os compostos orgânicos ligados diretamente aos sítios da fração mineral tem a sua porção hidrofóbica exposta, dando origem a uma zona de interação hidrofóbica entre estes compostos e a porção hidrofóbica de outros compostos orgânicos. Conseqüentemente, há a exposição da parte hidrofílica destes últimos compostos na extremidade do complexo organo-mineral, dando origem à zona cinética, onde ocorre a retenção de cátions, ligações de hidrogênio e outros tipos de interação com a solução do solo.

Sabendo-se que as queimadas podem aumentar ou diminuir os teores de C e tornar a composição química da MOS mais aromática e hidrofóbica, espera-se que a queima afete diretamente o potencial de retenção de C do solo. Os estudos de saturação tem sido em grande parte desenvolvidos em solos sob cultivo agrícola (Stewart et al., 2009; Reis et al., 2014; Santana, 2014) e poucos são os estudos que avaliam o potencial de retenção de C de solos sob floresta nativa submetidas a queimadas e de solos sob floresta convertida em pastagem. Portanto, o objetivo deste trabalho foi investigar o efeito da queima de Floresta Amazônica nativa e da conversão floresta-pastagem sobre a composição química da MOS e sobre o potencial de retenção de C nas frações silte e argila.

7.2 Material e métodos

7.2.1 Descrição da área de estudo e amostragem do solo

A área experimental está localizada no município de Cruzeiro do Sul - AC, em propriedade do Sr. Ramilde dos Santos Oliveira. O clima da região é do tipo equatorial quente e úmido, com temperatura anual média de 24,5 °C e precipitação anual média de 2.580 mm (Acre, 2010). O solo foi classificado como Argissolo Vermelho distrófico plíntico segundo o sistema brasileiro de classificação de solos (Embrapa, 2006).

Em setembro de 2010 foi realizada na área experimental de Cruzeiro do Sul uma queima controlada em quatro hectares de Floresta Amazônica nativa (Floresta Ombrófila Aberta com Palmeiras). O procedimento para a queimada controlada consistiu em inicialmente construir aceros de 25 m no entorno da área a ser queimada, com o objetivo de evitar o alastramento do

fogo para áreas adjacentes. A seguir, foi realizado o corte da vegetação e após três meses, para permitir a secagem do material cortado, foi realizada a queima desse material (Figura 8a). Essas atividades foram desenvolvidas com recursos da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp – Projeto Temático número 08/04490-4) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Projeto CT-Amazônia número 575795/2008-5).

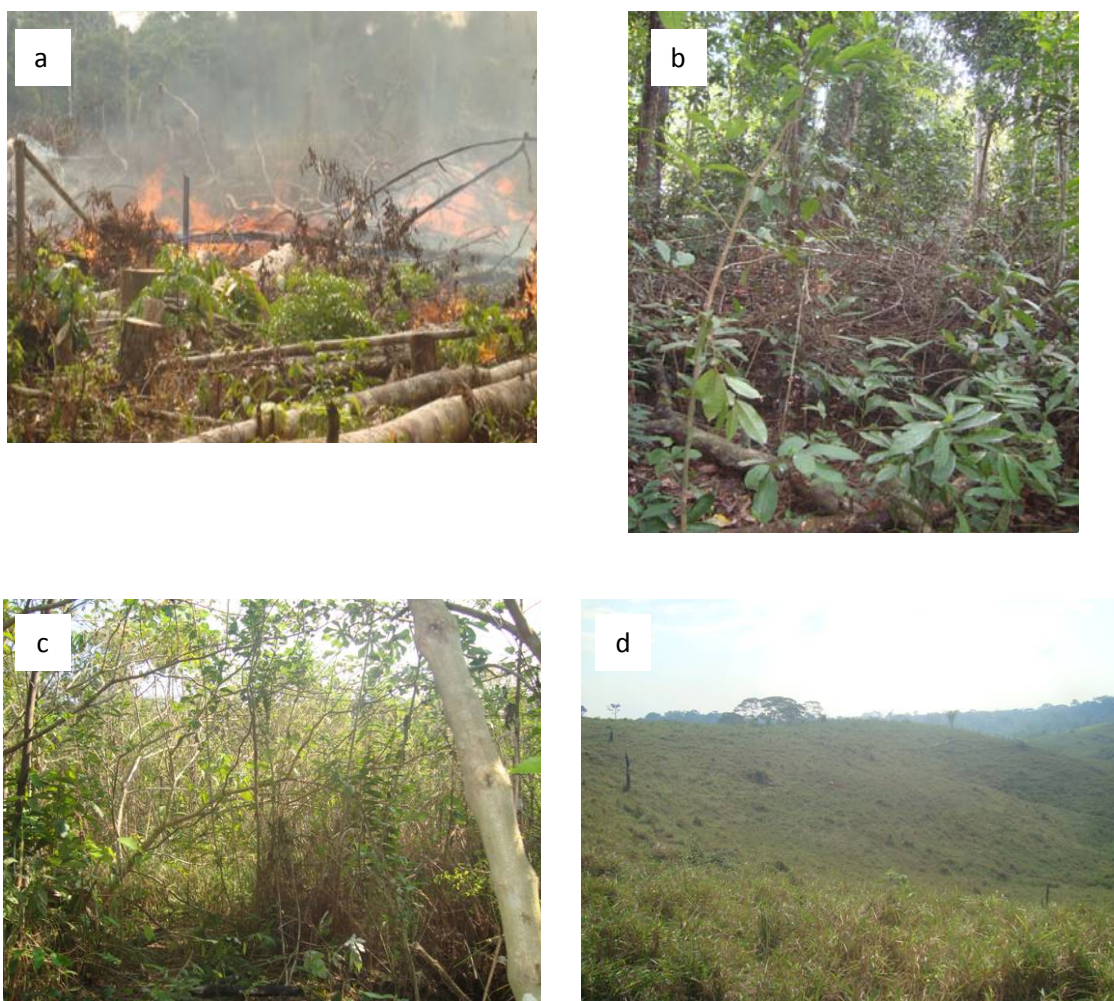


Figura 8. Queima da vegetação (Figura 8a), área de Floresta Amazônica nativa (Figura 8b), área de Floresta Amazônica queimada em regeneração (Figura 8c) e área de pastagem (d). Fotos: Falberni de Souza Costa.

Essa pesquisa conta com a autorização da Justiça Federal e Estadual e dos Ministérios Públicos Federal e Estadual e as ações obedecem as exigências legais estabelecidas pelos órgãos de controle ambiental. O corte da vegetação foi autorizada pelo Instituto de Meio Ambiente do Acre e pela Secretaria de Meio Ambiente do estado.

Dois anos após a queima, em setembro de 2012, foi realizada coleta de amostras simples de solo em área de Floresta Amazônica nativa - não queimada (FAN) (Figura 8b), em área de Floresta Amazônica queimada em regeneração natural (FAQ) (Figura 8c) e em área de pastagem (PT) cultivada com braquiária brizanta (Figura 8d), sendo as áreas FAN e PT adjacentes à área FAQ. A área de PT apresenta histórico de lotação de aproximadamente 1 cabeça ha⁻¹.

A área PT foi ocupada por Floresta Amazônica nativa até 1989, a qual foi cortada e queimada neste ano, estabelecendo-se em seguida a pastagem. Segundo o proprietário da área, o fogo foi utilizado somente em 1989 e não mais até o momento da coleta de solo para este estudo, em setembro de 2012.

As amostras de solo foram coletadas em 11 camadas de perfil modal em cada área: 0 - 5; 5 - 10; 10 - 15; 15 - 20; 20 - 30; 30 - 40; 40 - 50; 50 - 75; 75 - 100; 100 - 150 e 150 - 200 cm.

7.2.2 Análise de fertilidade do solo, determinação dos teores de C e N e fracionamento físico da matéria orgânica

As amostras de solo foram submetidas à análise de fertilidade em todas as profundidades coletadas (Tedesco et al., 1995). A capacidade de troca de cátions efetiva (CTCe) foi calculada como: $CTCe = Ca^{2+} + Mg^{2+} + K^{1+} + Al^{3+} + Na^{1+}$.

O fracionamento granulométrico foi realizado (em duplicata) em seis camadas de solo: 0 - 5; 5 - 10; 20 - 30; 40 - 50; 75 - 100 e 100 - 150 cm, e as frações areia (> 53 µm), silte (53 a 2 µm) e argila (< 2 µm), foram separadas conforme procedimento descrito em Reis et al. (2014).

Em frascos de vidro de 100 mL foram adicionadas 15 g de solo (terra fina seca ao ar - TFSA) e 50 mL de água destilada. Para dispersão das partículas do solo essa suspensão foi agitada horizontalmente por 16 h em agitador mecânico. Em seguida, a suspensão foi passada em peneira de malha igual a 53 µm com o objetivo de separar a fração areia, a qual continha a matéria orgânica particulada. A porção que passou pela peneira, contendo as

frações silte e argila, foi coletada para posterior separação das mesmas, a qual foi realizada conforme procedimento descrito a seguir.

Primeiramente foi calculada a energia necessária a ser aplicada com ultrassom para obter a máxima dispersão dos solos em partículas primárias (99%). Para isso, foi construída uma curva de dispersão de argila. Em tubos de centrífuga foram adicionadas 20 g de solo (TFSA) e 80 mL de água destilada e foram aplicadas as seguintes energias de dispersão: 0, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 e 1000 J mL⁻¹. Após a ultrasonicação, cada uma das 12 suspensões foi levada a uma proveta, completou-se o volume até 1 L e agitou-se a suspensão manualmente por 1 minuto. Após o tempo de sedimentação das partículas, conforme a Lei de Stokes, a fração argila foi coletada. Por fim foi obtida a curva de dispersão (energia J mL⁻¹ x argila dispersa g kg⁻¹ de solo) e a energia necessária para dispersão de 99% do teor de argila foi obtida.

Como a energia necessária para dispersão da argila varia ao longo do perfil do solo foram construídas diferentes curvas de dispersão de acordo com as camadas de solo (Apêndice 6). Para as camadas de 0 - 5 cm e 5 - 10 cm foi utilizada a energia de 157 J mL⁻¹. Para a camada de 20 - 30 cm foi utilizada a energia de 233 J mL⁻¹. Para a camada de 40 - 50 cm foi utilizada a energia de 93 J mL⁻¹ e para as camadas de 75 - 100 cm e 100 - 150 cm foi utilizada a energia de 123 J mL⁻¹.

Após separação da fração areia, a fração < 53 µm das amostras de solo foi levada ao ultrassom e a energia correspondente à camada analisada foi aplicada. A seguir, a suspensão foi transferida para proveta onde foram realizadas sucessivas coletas da fração argila (cerca de 22 coletas), com base na Lei de Stokes, até a sua total remoção. Dessa forma, o material restante nas provetas corresponde à fração silte, a qual também foi coletada. As frações silte e argila foram floculadas utilizando-se solução de HCl 1M, secas em estufa à 50 °C, pesadas e moídas em gral de ágata.

A proporção de areia (%areia) na amostra foi obtida pela equação: % areia = 100 - %argila - %silte. Ao final do fracionamento a média da massa recuperada foi de 93%, indicando que não houve perda significativa de massa ao longo do processo de fracionamento das amostras de solo.

Os teores de carbono orgânico total (COT) e nitrogênio total (NT) e os teores de carbono e nitrogênio nas frações silte (C_{silte} , N_{silte}) e argila (C_{argila} , N_{argila}) foram determinados por combustão seca (Thermo Fisher Scientific - Flash EA1112, limite de detecção = 0,01%). Os teores de carbono e nitrogênio na fração areia (C_{areia} , N_{areia}) foram obtidos pela diferença entre o COT e NT e a soma $C_{\text{silte}}+C_{\text{argila}}$ e $N_{\text{silte}}+N_{\text{argila}}$, respectivamente.

7.2.3 Estimativa da capacidade de retenção e do déficit de saturação de C nas frações silte e argila

A estimativa da capacidade de retenção de C das frações silte e argila foi realizada plotando-se curvas entre o teor de C em cada fração e o teor de COT. Os dados de C da fração argila do solo sob FAQ ajustaram-se à equação exponencial máxima $C_{\text{argila}} = a + b(1 - e^{-cC_{\text{solo}}})$. Enquanto que os dados de C da fração argila dos solos sob FAN e PT e os dados de C da fração silte dos solos sob FAQ, FAN e PT ajustaram-se à equação linear $C_{\text{argila}} = a + b(C_{\text{solo}})$ e $C_{\text{silte}} = a + b(C_{\text{solo}})$, respectivamente. Os símbolos a, b e c são constantes e C_{argila} , C_{silte} e C_{solo} correspondem ao teor de C (g kg^{-1}) nas respectivas fração e ao teor de COT do solo.

A retenção máxima de C ($C_{\text{máx}}$) na fração argila foi calculada de acordo com a equação obtida pelo ajuste matemático dos dados e assumindo o C_{solo} tendendo ao infinito, conforme metodologia descrita em Reis et al. (2014).

O déficit de saturação de C (C_{ds}) na fração argila foi calculado pela equação $C_{\text{ds}} = C_{\text{máx}} - C_{\text{argila}}$ em cada camada de solo (Angers et al., 2011).

7.2.4 Ressonância Magnética Nuclear de ^{13}C no estado sólido com polarização cruzada e ângulo mágico de spinning (RMN ^{13}C CPMAS)

Previamente à análise por espectroscopia de RMN de ^{13}C , as amostras de solo foram desmineralizadas com solução de HF 10% (Gonçalves et al., 2003) com o objetivo de concentrar a MOS. Amostras de solo de 2,2 g foram colocadas em tubo de centrífuga e agitadas mecanicamente por 2 h com solução de HF 10% (v/v). A suspensão foi centrifugada (2.000 g) por 10 min e logo após o sobrenadante foi removido e descartado. Tal procedimento foi

repetido seis vezes e a seguir o material restante no tubo de centrifuga foi lavado seis vezes com água destilada. Em seguida, o material foi seco em estufa a vácuo a 50 °C e moído em gral de ágata.

As amostras de solo das camadas de 0 - 5, 5 - 10 e 40 - 50 cm, tratadas com HF, foram analisadas por RMN ¹³C CPMAS. Entretanto, devido ao baixo teor de C, mesmo após o tratamento com HF 10%, não foi possível obter os espectros das amostras da camada de 40 - 50 cm.

Os espectros de RMN ¹³C CPMAS foram obtidos em espectrômetro Bruker Avance III 600 MHz, operando a 150,91 MHz. Foi utilizada frequência de giro do rotor da amostra de 15 kHz e um tempo de contato para polarização cruzada de 1 ms. Dependendo do teor de C nas amostras, 11.700 a 42.000 scans foram acumulados, sendo empregada uma largura de linha de 250 a 400 Hz. Os deslocamentos químicos foram reportados em relação ao tetrametil-silano (0 ppm), o qual foi ajustado com glicina (C carboxila = 176,08 ppm).

A contribuição dos diferentes grupos de C para o COT foi calculada utilizando-se o programa MestreNova 8.1. Primeiramente foi realizada a integração das áreas correspondentes aos diferentes grupos identificados nos espectros, obtendo-se a área total. Logo após, a área correspondente a cada grupo foi dividida pela área total e multiplicada por 100. A atribuição das diferentes regiões químicas dos espectros foi realizada de acordo com Knicker et al. (2013).

O índice de hidrofobicidade (IH) da MOS foi calculado como $IH = (C\text{-alquil} + C\text{-aromático}) / (C\text{-O-alquil} + C\text{-carboxil})$, de acordo com Kögel-Knaber (1997).

7.2.5 Tratamento dos dados

A média e o desvio padrão dos teores de COT e NT foram calculados com base em duas repetições químicas obtidas a partir da mesma amostra simples de solo.

O fracionamento da MOS foi realizado em duplicata e a média e o desvio padrão dos teores de C_{areia} , C_{argila} , C_{silte} , N_{areia} , N_{argila} e N_{silte} foram calculados com base no resultado da análise química de cada duplicata.

7.3 Resultados e discussão

7.3.1 Propriedades químicas e teores de COT e NT do solo

Nos três ambientes estudados o pH foi ácido ao longo de todo perfil do solo (0 - 200 cm), com valores variando de 3,8 a 4,9 (Tabela 10). Argissolos com pH ácido são comuns na região Amazônica, devido à argila de baixa atividade normalmente encontrada nos solos dessa região, que retém poucos cátions básicos e devido à lixiviação desses cátions pela elevada precipitação pluviométrica (Sampaio et al., 2003; Barboza et al., 2011). Após cerca de dois anos da queimada, a principal diferença no pH do solo foi observada na camada de 0 - 5 cm, onde a área FAQ apresentou nível de pH superior (4,7) em comparação à área FAN (3,8). De acordo com Knicker (2007) em solos ácidos, o aumento do pH do solo após eventos de queimadas pode ser atribuído ao acúmulo de hidróxidos de Na e K e de carbonatos de Ca e Mg, oriundos da vegetação queimada.

Os teores de P disponível variaram de 0,5 a 4,1 mg dm⁻³ (Tabela 10), e em geral, os valores de P das áreas de FAQ e FAN foram superiores aos observados na área PT ao longo do perfil do solo. Os menores teores de P do solo na área PT podem estar associados aos menores teores de COT desse solo. Araújo et al. (2011) avaliaram os teores de P disponível em Argissolo Vermelho-Amarelo sob Floresta Amazônica nativa e sob pastagem e sugeriram que a MOS é a principal fonte de P disponível no solo desses ambientes.

Os teores de K trocável variaram de 9 a 56 mg dm⁻³ e em geral os maiores teores de K foram apresentados pelo solo sob FAQ. Provavelmente, isso se deve ao aporte desse elemento via cinzas em decorrência da queima da vegetação, conforme já observado por Cuevas (2001) para solos da região Amazônica com baixa fertilidade.

Nos solos sob FAQ, FAN e PT não foram observadas diferenças relevantes quanto aos teores de Na ao longo do perfil do solo, com valores variando de 1 a 6 mg dm⁻³ (Tabela 10).

Tabela 10. Distribuição granulométrica, pH em água (pH H₂O), teor de P disponível, K, Na, Al, Ca e Mg trocáveis, acidez potencial (Al+H), capacidade de troca de cátions efetiva (CTCe), teor de carbono orgânico total (COT) e de nitrogênio total (NT) no perfil de um Argissolo sob Floresta Amazônica queimada (FAQ), Floresta Amazônica nativa (FAN) e pastagem (PT).

Área	Profundidade	Areia	Silte	Argila	pH H ₂ O	P	K	Na	Al	Ca	Mg	Al+H	CTCe	COT	NT
	cm	g kg ⁻¹				mg dm ⁻³				cmol _c dm ⁻³				g kg ⁻¹	
FAQ	0 - 5	824 ± 8	109 ± 7	67 ± 1	4,7	3,1	53,0	2,0	1,3	1,5	0,5	7,7	3,4	17,9 ± 0,1	1,4 ± 0,0
	5 - 10	816 ± 15	104 ± 2	80 ± 13	4,3	3,1	32,0	2,0	2,6	0,5	0,2	9,7	3,4	10,3 ± 1,6	0,9 ± 0,1
	10 - 15	724 ± 3	156 ± 10	120 ± 6	4,0	2,4	33,0	2,0	3,6	0,3	0,1	15,4	4,1	10,1 ± 0,4	0,9 ± 0,1
	15 - 20	679 ± 10	164 ± 1	157 ± 9	4,2	1,7	35,0	3,0	3,9	0,2	0,1	15,4	4,3	8,7 ± 0,6	0,8 ± 0,1
	20 - 30	707 ± 35	146 ± 1	147 ± 35	4,2	1,4	34,0	2,0	4,6	0,1	0,1	15,4	4,9	6,4 ± 0,3	0,7 ± 0,1
	30 - 40	636 ± 6	180 ± 11	184 ± 17	4,4	1,0	41,0	4,0	4,2	0,2	0,1	13,7	4,6	5,6 ± 0,1	0,6 ± 0,0
	40 - 50	652 ± 17	160 ± 10	188 ± 6	4,4	0,8	39,0	2,0	3,7	0,1	0,1	12,3	4,0	4,6 ± 0,4	0,5 ± 0,1
	50 - 75	638 ± 34	152 ± 12	210 ± 23	4,6	2,0	51,0	2,0	4,4	0,1	0,1	17,3	4,7	3,9 ± 0,1	0,5 ± 0,0
	75 - 100	631 ± 13	144 ± 6	225 ± 19	4,6	1,6	17,0	2,0	4,9	0,2	0,1	19,4	5,3	4,4 ± 0,2	0,5 ± 0,0
	100 - 150	664*	148*	188*	4,7	0,7	10,0	2,0	5,1	0,1	0,1	19,4	5,3	2,9 ± 0,0	0,4 ± 0,0
150 - 200	596 ± 29	146 ± 4	258 ± 33	4,7	1,3	11,0	2,0	4,9	0,2	0,1	17,3	5,2	2,3 ± 0,1	0,4 ± 0,1	
FAN	0 - 5	835 ± 8	122 ± 0	44 ± 8	3,8	4,1	26,0	1,0	2,2	0,1	0,1	15,4	2,5	14,5 ± 0,3	1,1 ± 0,0
	5 - 10	756 ± 6	178 ± 3	67 ± 9	4,0	2,1	17,0	1,0	2,5	0,1	0,1	15,4	2,7	10,4 ± 0,8	0,9 ± 0,1
	10 - 15	699 ± 23	211 ± 15	90 ± 8	4,1	1,9	17,0	2,0	3,8	0,1	0,1	13,7	4,1	8,7 ± 0,6	0,9 ± 0,1
	15 - 20	732 ± 22	183 ± 9	85 ± 31	4,3	1,2	13,0	1,0	3,0	0,1	0,1	8,7	3,2	6,5 ± 0,1	0,7 ± 0,1
	20 - 30	721 ± 3	180 ± 2	99 ± 1	4,1	1,2	12,0	1,0	3,1	0,1	0,1	9,7	3,3	6,1 ± 0,2	0,6 ± 0,0
	30 - 40	681 ± 5	218 ± 4	101 ± 9	4,5	2,3	10,0	1,0	3,2	0,1	0,1	10,9	3,4	5,0 ± 0,1	0,6 ± 0,0
	40 - 50	719 ± 29	177 ± 9	104 ± 38	4,6	1,1	11,0	1,0	4,5	0,1	0,1	17,3	4,7	3,4 ± 0,2	0,4 ± 0,0
	50 - 75	609 ± 6	200 ± 7	190 ± 1	4,5	0,8	9,0	1,0	5,1	0,1	0,1	19,4	5,3	4,3 ± 0,1	0,4 ± 0,0
	75 - 100	751 ± 32	135 ± 25	114 ± 7	4,6	1,5	11,0	1,0	3,6	0,2	0,1	13,7	3,9	2,3 ± 0,1	0,3 ± 0,0
	100 - 150	714 ± 7	171 ± 17	115 ± 10	4,8	0,5	10,0	2,0	3,5	0,3	0,1	13,7	3,9	1,2 ± 0,1	0,2 ± 0,0
150 - 200	727 ± 14	142 ± 11	131 ± 3	4,9	0,6	11,0	6,0	4,5	0,2	0,1	19,4	4,9	1,2 ± 0,0	0,4 ± 0,1	
PT	0 - 5	758 ± 38	178 ± 20	64 ± 18	4,7	2,1	47,0	1,0	0,5	0,8	0,4	3,5	1,8	10,1 ± 1,4	1,4 ± 0,1
	5 - 10	759 ± 6	175 ± 13	65 ± 7	4,9	1,6	25,0	1,0	0,8	1,0	0,2	3,5	2,1	8,0 ± 0,2	0,2 ± 0,0
	10 - 15	678 ± 11	219 ± 7	102 ± 17	4,8	1,1	22,0	1,0	0,9	1,4	0,3	2,8	2,7	5,7 ± 0,4	0,4 ± 0,0
	15 - 20	637 ± 31	233 ± 21	130 ± 10	4,8	0,8	17,0	1,0	1,2	1,0	0,2	2,8	2,4	4,4 ± 0,1	0,1 ± 0,0
	20 - 30	562 ± 20	251 ± 41	187 ± 21	4,7	0,4	17,0	2,0	1,9	0,6	0,2	4,4	2,8	3,7 ± 0,0	0,0 ± 0,0
	30 - 40	557 ± 1	272 ± 10	171 ± 11	4,7	0,4	16,0	1,0	2,1	0,2	0,1	5,5	2,4	3,6 ± 0,4	0,4 ± 0,0
	40 - 50	566 ± 12	251 ± 9	184 ± 2	4,5	0,4	22,0	2,0	3,4	0,1	0,1	7,7	3,7	2,9 ± 0,2	0,2 ± 0,0
	50 - 75	564 ± 24	238 ± 16	198 ± 16	4,6	0,4	56,0	1,0	4,0	0,1	0,1	7,7	4,3	2,7 ± 0,3	0,3 ± 0,0
	75 - 100	549 ± 0	212 ± 5	238 ± 6	4,8	0,2	54,0	1,0	5,0	0,1	0,1	13,7	5,3	2,4 ± 0,1	0,1 ± 0,0
	100 - 150	449 ± 12	191 ± 30	360 ± 42	4,5	0,3	18,0	1,0	10,5	0,1	0,1	17,3	10,7	3,1 ± 0,1	0,1 ± 0,0
150 - 200	400 ± 69	201 ± 7	399 ± 62	4,8	0,3	23,0	2,0	11,9	0,1	0,1	24,4	12,2	2,8 ± 0,1	0,0 ± 0,0	

* Desvio padrão não foi calculado devido à perda de amostra

Os teores de Al^{3+} tenderam a aumentar ao longo dos perfis de solo sob FAQ, FAN e PT, com valores variando de 0,5 a 11,9 $cmol_c\ dm^{-3}$ (Tabela 10). Na camada de 0 - 5 cm a queima da vegetação resultou em diminuição do teor de Al^{3+} , de 2,2 para 1,3 $cmol_c\ dm^{-3}$ em relação à área FAN. Isso pode ser atribuído ao aumento do pH do solo observado após a queimada e ao aumento dos teores de K, Ca e Mg observados na camada de 0 - 5 cm do solo sob FAQ, elevando o teor desses nutrientes no complexo de troca do solo na área FAQ. As principais diferenças nos teores de Ca e Mg foram observadas na camada superficial do solo, onde a área sob FAQ apresentou teores superiores aos observados nas áreas sob FAN e PT. As cinzas oriundas da queima de floresta geralmente contém elevada concentração desses nutrientes, o que provavelmente contribuiu para os resultados observados.

Em todas as áreas a acidez potencial (Al + H) tendeu a aumentar em profundidade, com valores variando de 2,8 a 24,4 $cmol_c\ dm^{-3}$ sendo, em geral, menor na área de PT.

Os solos das áreas FAQ, FAN e PT apresentaram baixa CTCe, com valores variando de 1,8 a 12,2 $cmol_c\ dm^{-3}$ e em todas as áreas a CTCe apresentou tendência de aumentar em profundidade. Não foram observadas diferenças relevantes entre as áreas de estudo quanto à CTCe dos solos, sendo a principal diferença observada na camada de 150 - 200 cm, onde o solo sob PT apresentou CTCe de 12,2 $cmol_c\ dm^{-3}$, enquanto as áreas FAQ e FAN apresentaram valores inferiores de CTCe, 5,2 e 4,8 $cmol_c\ dm^{-3}$, respectivamente. As diferenças no teor de argila nessa camada entre as diferentes áreas pode ter contribuído para tal resultado (coeficiente de correlação entre CTCe e teor de argila, $r = 0,86$, $p < 0,001$). De forma geral, a análise granulométrica do solo resultou em baixos valores de desvio padrão. Entretanto, a variabilidade natural da textura do solo juntamente com a utilização de amostras simples de solo, exige a interpretação cautelosa dos resultados obtidos.

Os teores de COT diminuíram em profundidade nas três áreas, variando de 17,9 a 2,3 $g\ kg^{-1}$ na área FAQ, de 14,5 a 1,2 $g\ kg^{-1}$ na área de FAN e de 10,1 a 2,4 $g\ kg^{-1}$ na área PT (Tabela 10). Os efeitos da queimada e da mudança no uso do solo (floresta-pastagem) sobre os teores de COT foram mais evidentes nas camadas até 20 cm, sendo a principal diferença observada

na camada superficial do solo (0 - 5 cm), onde a área FAQ apresentou teor de COT 23 e 77% superior aos teores observados nas áreas de FAN e PT, respectivamente. A queima parcial da biomassa vegetal acaba por adicionar ao solo material orgânico com caráter aromático e hidrofóbico, o qual tende a se acumular no solo devido à sua resistência inerente à degradação (Knicker, 2007). Além disso, o crescimento espontâneo da vegetação após a queima e a presença de raízes de árvores em decomposição em camadas subsuperficiais, também podem ter contribuído para os maiores teores de COT observados na área FAQ.

O menor teor de COT na área PT, principalmente na camada de 0 - 5 cm em relação às áreas FAQ e FAN, pode ser atribuído ao manejo inadequado da pastagem e à exportação de material vegetal pelo gado, levando a um aporte de resíduos menor que aquele existente originalmente sob floresta. Além disso, a perda de C oriundo da floresta após 23 anos do cultivo da pastagem também pode ter contribuído para os resultados observados. Neste sentido, Araújo et al. (2011) observaram por técnicas isotópicas que 20 anos após substituição da floresta por pastagem em Latossolo da região amazônica ocorreu um consumo da MOS oriunda da floresta em até 70% na camada de 0 - 40 cm. Resultados semelhantes foram encontrados por Salimon et al. (2007) os quais avaliaram o teor de COT de Argissolos sob Floresta Amazônica nativa e sob área de floresta convertida em pastagens com 13 e 14 anos. Os autores observaram que em ambas áreas de pastagem, a proporção de C originado das pastagens foi de 50% nas camadas superficiais do solo (até 10 cm), diminuindo em profundidade. Sendo assim, supõem-se que a perda de C oriundo da floresta e o menor aporte de resíduos vegetais ao solo na área PT, podem ter contribuído para os menores teores de COT observados nessa área.

Teores de COT mais elevados em áreas de pastagem em comparação à áreas de Floresta Amazônica nativa após o processo floresta-derrubada/queima-implantação da pastagem também podem ser encontrados na literatura, os quais são atribuídos ao não revolvimento do solo durante o cultivo e principalmente à qualidade do manejo da pastagem, com elevado aporte de resíduos orgânicos ao solo ao longo dos anos (Cerri et al., 2003; Araújo et al., 2011).

Os teores de NT foram semelhantes entre as áreas FAQ e FAN ao longo do perfil do solo e de forma geral o teor de NT na área PT foi inferior aos encontrados nas áreas de floresta. Provavelmente o menor aporte de material orgânico ao solo na área de pastagem juntamente com a diminuição da presença de plantas fixadoras de N na área PT, pode ter contribuído para tal resultado.

7.3.2 Composição química da MOS avaliada por RMN ^{13}C CPMAS

Os espectros de RMN ^{13}C da MOS das camadas de 0 - 5 e 5 - 10 cm dos solos sob FAQ, FAN e PT apresentaram o mesmo padrão (Figura 9). Entretanto, as intensidades relativas dos diferentes grupos orgânicos identificados nos espectros diferiram entre os ambientes avaliados (Tabela 11). As regiões químicas identificadas nos espectros e suas respectivas atribuições químicas foram: 220-160 ppm, C-carboxil; 160-110 ppm, C aromático; 110-60 ppm, C-O-alquil; 60-45 ppm, N-alquil; e 45-0 ppm, C-alquil.

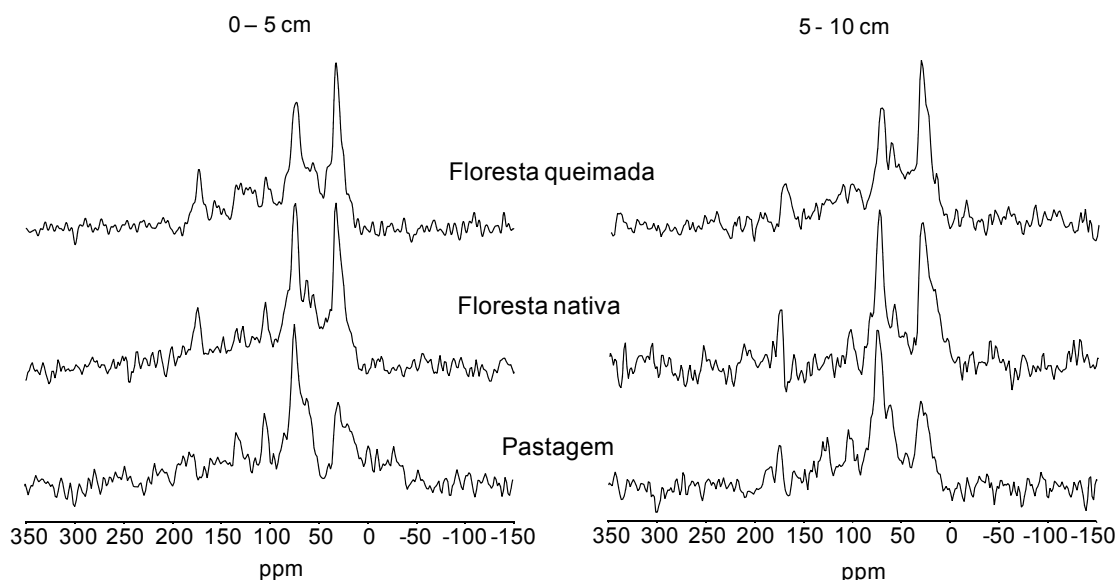


Figura 9. Espectros de RMN ^{13}C CPMAS da matéria orgânica nas camadas de 0 - 5 e 5 - 10 cm de um Argissolo Vermelho sob Floresta Amazônica queimada, Floresta Amazônica nativa e pastagem.

Todos os espectros foram amplamente dominados pela região química C-O-alquil (31 - 45%) (Tabela 11), a qual representa material orgânico

lável, derivado principalmente de carboidratos da biomassa microbiana e de resíduos vegetais (Baldock et al., 1992; Knicker et al., 2013). A principal diferença entre a MOS dos ambientes estudados quanto à contribuição dessas estruturas C-O-alquil foi observada na camada de 5 - 10 cm, onde a MOS da área sob PT apresentou a maior proporção (45%), enquanto nas áreas FAQ e FAN os valores foram de 34 e 31%, respectivamente. O grande volume de raízes concentrado nas camadas superficiais do solo sob PT, principalmente devido ao cultivo de gramíneas como a braquiária brizanta, provavelmente contribuiu para o enriquecimento relativo de compostos químicos lábeis (C-O-alquil) na área PT. Além disso, na camada de 0 - 5 cm, a menor contribuição de C-O-alquil na área FAQ em relação às demais áreas pode ser explicada devido à perda preferencial desses compostos durante a queimada devido à sua elevada labilidade (Knicker et al., 2013).

Tabela 11. Distribuição proporcional dos grupos funcionais de carbono obtidos por RMN ^{13}C CPMAS e índice de hidrofobicidade (IH) nas camadas de 0 - 5 e 5 - 10 cm de um Argissolo Vermelho sob Floresta Amazônica queimada (FAQ), Floresta Amazônica nativa (FAN) e pastagem (PT).

Profundidade cm	Área	C-carboxil	C-aromático	C-O-alquil	N-alquil	C-alquil	IH ^a
		220-160 ppm	160-110 ppm	110-60 ppm	60-45 ppm	45-0 ppm	
		-----%-----					
0 - 5	FAQ	9,3	17,5	35,2	9,3	28,7	1,0
	FAN	12,4	14,1	37,4	9,4	26,7	0,8
	PT	13,9	17,6	38,0	7,8	22,8	0,8
5 - 10	FAQ	7,9	11,6	34,1	11,0	35,5	1,1
	FAN	16,4	9,2	31,4	8,7	34,4	0,9
	PT	7,6	15,4	44,9	9,1	22,9	0,7

^a $(\text{C-alquil} + \text{C-aromático}) / (\text{C-O-alquil} + \text{C-carboxil})$

A MOS da área FAQ apresentou maior contribuição de C-aromático nas camadas de 0 - 5 cm (18%) e 5 - 10 cm (12%) em comparação à área FAN (14 e 9% para as respectivas camadas), a qual é atribuída à presença de Cpi originado da queima parcial da biomassa vegetal. Devido a sua composição química, esta fração tende a se acumular no solo (Knicker et al., 2013), justificando a maior contribuição do C-aromático e o maior teor de COT na área FAQ, mesmo após 2 anos da queima. O consumo preferencial de grupos C-O-

alquil e a entrada de Cpi aumentam o caráter hidrofóbico da MOS, conforme indicam os maiores valores de IH obtidos para as duas camadas do solo sob FAQ (1,0 e 1,1) (Tabela 11) em comparação às áreas FAN e PT. Esses dados corroboram com os de Knicker et al. (2013), que observaram aumento na contribuição de C-aromático na camada de 0 - 15 cm de um Cambissolo após 5 anos da queima de floresta mediterrânea de pinus na região de Sierra de Aznalcóllar, Espanha.

Na área PT a contribuição do grupo C-aromático na camada de 0 - 5 cm (18%) foi semelhante à observada na área FAQ e superior à observada na área FAN enquanto que na camada 5 - 10 cm a contribuição desse grupo químico na área PT (15%) foi consideravelmente superior às contribuições observadas nas outras áreas (9 a 11 %). Esse resultado pode ser devido ao efeito residual da queima, quando houve enriquecimento relativo dessas estruturas associado ao menor aporte de resíduos ao solo na área sob PT, acentuando esse enriquecimento.

A menor contribuição do grupo C-carboxil na área FAQ (9%) em comparação às áreas FAN (12%) e PT (14%) na camada de 0 - 5 cm (Tabela 11), pode ser atribuído à perda de grupos ácidos da MOS por ação do fogo na superfície do solo e também ao enriquecimento relativo da MOS em grupos C-aromáticos e C-alquil (Knicker, 2007). Na camada de 5 - 10 cm a contribuição de C-carboxil para a composição da MOS na área FAN (16%) foi superior à observada nas áreas FAQ (8%) e PT (8%) (Tabela 11). Dentre as três áreas analisadas, a FAN constitui a única área em que não houve ação antrópica, e a maior proporção de C-carboxil observada nessa camada provavelmente reflete o processo natural de humificação e funcionalizam da MOS em profundidade (Knicker et al., 2012).

A contribuição do grupo N-alquil variou de 8 a 11% nas áreas avaliadas e de forma geral a área PT apresentou leve diminuição na contribuição de estruturas N-alquil para a composição da MOS em comparação às áreas de floresta (Tabela 11).

7.3.3 Distribuição do C nas frações granulométricas da MOS

O teor de C_{areia} variou de 1,8 a 12,7 g kg⁻¹ no perfil do solo sob FAQ, de 1,1 a 9,9 g kg⁻¹ no solo sob FAN e de 1,1 a 5,7 g kg⁻¹ no solo sob PT (Tabela 12). A areia foi a fração granulométrica predominante ao longo de todo o perfil dos solos das três áreas avaliadas (Tabela 10). Entretanto, foi observada pouca contribuição do teor de C_{areia} , de 0 a 17%, para o teor de COT (Tabela 12).

O teor de C_{silte} variou de 2,7 a 31,4 g kg⁻¹ no perfil do solo sob FAQ, de 2,1 a 27,8 g kg⁻¹ no solo sob FAN e de 1,4 a 11,6 g kg⁻¹ no solo sob PT (Tabela 12). O teor de C_{argila} variou de 8,8 a 58,6 g kg⁻¹ no perfil do solo sob FAQ, de 7,2 a 64,5 g kg⁻¹ no solo sob FAN e de 6,6 a 57,6 g kg⁻¹ no solo sob PT (Tabela 12). Em geral, (principalmente até 50 cm) a fração silte foi mais representativa em comparação à fração argila (Tabela 10). Entretanto, em todas as camadas de solo foi observado maior valor de C_{argila}/COT , com valores variando de 57 a 77%, enquanto que os valores de C_{silte}/COT variaram de 14 a 31% (Tabela 12). Estes dados evidenciam a importância da interação organo-mineral como mecanismo de proteção da MOS, a qual pode ser atribuída à maior superfície específica da fração argila em comparação às frações silte e areia, permitindo maior número de interações organo-minerais (Six et al., 2002; Zinn et al., 2007). Os resultados encontrados no presente estudo corroboram os dados observados por Santana (2014) em solos arenosos (Neossolo Regolítico, Argissolo Vermelho-Amarelo e Cambissolo Háplico) com e sem cultivo de eucalipto, em que a contribuição de C_{argila} para o COT foi superior em relação às contribuições de C_{areia} e C_{silte} .

A principal diferença entre as áreas de estudo quanto ao teor de C_{areia} foi observada na camada de 0 - 5 cm, o qual decresceu na sequência FAQ > FAN > PT (Tabela 12). Maior teor de C_{areia} nos solos sob floresta era esperado uma vez que os resíduos vegetais produzidos nesse tipo de vegetação normalmente apresentam maior tamanho quando comparados aos resíduos de pastagem. A exportação de tecido vegetal da área sob PT devido à presença do gado também pode ter contribuído para os menores teores de C_{areia} observados nessa área.

Tabela 12. Teor de C e N das frações areia, silte e argila e contribuição do C das frações para o teor de COT ($C_{\text{areia}}/\text{COT}$, $C_{\text{silte}}/\text{COT}$, $C_{\text{argila}}/\text{COT}$) no perfil de um Argissolo sob Floresta Amazônica queimada (FAQ), Floresta Amazônica nativa (FAN) e pastagem (PT).

Área	Profundidade	Areia			Silte			Argila		
		C	N	$C_{\text{areia}}/\text{COT}$	C	N	$C_{\text{silte}}/\text{COT}$	C	N	$C_{\text{argila}}/\text{COT}$
	cm	g kg ⁻¹ fração ⁻¹		%	g kg ⁻¹ fração ⁻¹		%	g kg ⁻¹ fração ⁻¹		%
FAQ	0 - 5	12,7 ± 0,5	0,9 ± 0,0	12	31,4 ± 1,1	2,3 ± 0,1	31	58,6 ± 1,0	5,9 ± 0,2	57
	5 - 10	5,2 ± 0,6	0,4 ± 0,1	7	21,6 ± 1,3	1,6 ± 0,2	29	47,6 ± 0,6	5,0 ± 0,3	64
	20 - 30	3,4 ± 1,1	0,3 ± 0,1	11	7,1 ± 1,4	0,6 ± 0,1	23	19,7 ± 0,1	2,3 ± 0,1	65
	40 - 50	1,8 ± 0,3	0,1 ± 0,0	9	3,7 ± 0,2	0,4 ± 0,0	18	15,2 ± 0,2	2,0 ± 0,0	73
	75 - 100	2,7 ± 0,3	0,2 ± 0,0	17	2,7 ± 0,0	0,3 ± 0,0	17	10,3 ± 0,2	1,5 ± 0,0	65
	100 - 150	ND	ND	0	3,5*	0,4*	29	8,8*	1,4*	71
FAN	0 - 5	9,9 ± 0,1	0,7 ± 0,0	10	27,8 ± 2,9	2,2 ± 0,3	27	64,5 ± 0,5	6,6 ± 0,0	63
	5 - 10	6,3 ± 0,6	0,5 ± 0,1	9	15,1 ± 0,8	1,3 ± 0,0	23	44,8 ± 0,5	4,9 ± 0,0	68
	20 - 30	3,2 ± 0,0	0,3 ± 0,0	9	6,3 ± 0,2	0,6 ± 0,0	17	27,4 ± 0,4	3,2 ± 0,0	74
	40 - 50	1,1 ± 0,7	0,1 ± 0,1	5	4,0 ± 0,2	0,4 ± 0,0	18	17,8 ± 0,7	2,3 ± 0,2	77
	75 - 100	ND	ND	0	4,2 ± 0,0	0,4 ± 0,0	23	14,0 ± 0,1	1,7 ± 0,0	77
	100 - 150	ND	ND	0	2,1 ± 0,5	0,2 ± 0,0	23	7,2 ± 0,4	1,5 ± 0,0	77
PT	0 - 5	5,7 ± 1,2	0,4 ± 0,1	8	11,6 ± 1,0	0,9 ± 0,1	15	57,6 ± 0,2	6,3 ± 0,0	77
	5 - 10	5,0 ± 0,5	0,4 ± 0,1	9	9,5 ± 1,2	0,8 ± 0,1	18	39,6 ± 0,8	4,7 ± 0,0	73
	20 - 30	1,5 ± 0,3	0,2 ± 0,1	9	2,3 ± 0,3	0,3 ± 0,0	14	12,4 ± 0,4	2,0 ± 0,0	76
	40 - 50	1,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1	10	1,8 ± 0,3	0,2 ± 0,1	14	9,7 ± 0,1	1,8 ± 0,0	76
	75 - 100	1,1 ± 0,1	0,2 ± 0,0	13	1,4 ± 0,0	0,3 ± 0,0	16	6,1 ± 0,1	1,3 ± 0,0	71
	100 - 150	ND	ND	0	2,6 ± 0,0	0,4 ± 0,0	29	6,3 ± 0,8	1,3 ± 0,1	71

* Desvio padrão não foi calculado devido à perda de amostra.

ND : valor abaixo do nível de detecção (ND). ND = 100 ppm = 0,1 g kg⁻¹.

O principal mecanismo de estabilização do C_{areia} é a recalcitrância bioquímica do material, e portanto, essa fração é frequentemente sensível às mudanças do uso e manejo do solo (Six et al., 2002). O maior valor de C_{areia} observado para FAQ em comparação à área FAN pode estar associado à composição química da MOS dessa fração. Conforme discutido anteriormente a MOS da área de FAQ apresenta maior IH (Tabela 11) do que a MOS das outras áreas, contribuindo para sua estabilização. Provavelmente o maior teor de COT observado para a camada de 0 - 5 cm sob FAQ se deva principalmente a esse efeito.

Na camada de 0 - 5 cm, as áreas de floresta apresentaram teor de N_{areia} superior ao da área PT (Tabela 12) e no restante do perfil do solo os teores de N_{areia} foram semelhantes entre as três áreas. Esse resultado possivelmente se deva ao maior aporte de material orgânico lábil aos solos sob FAQ e FAN.

Os teores de C_{silte} ao longo do perfil do solo foram semelhantes entre as áreas FAQ e FAN. Entretanto, na camada de 5 - 10 cm o solo sob FAQ apresentou teor de C_{silte} ($21,6 \text{ g kg}^{-1}$) superior ao da área FAN ($15,1 \text{ g kg}^{-1}$) os quais contribuíram com 29 e 23%, respectivamente, para o teor de COT (Tabela 12). Uma vez que o teor de COT nessa camada foi similar entre FAQ e FAN, esse resultado sugere que após a queima da floresta houve uma redistribuição das frações da MOS, ocorrendo um enriquecimento da fração C_{silte} no solo sob FAQ. De forma geral, as áreas sob floresta apresentaram maior teor de C_{silte} e N_{silte} em comparação à área PT, principalmente nas camadas até 30 cm, sendo as diferenças menos expressivas no restante do perfil do solo. Semelhante ao que foi discutido para os teores de C_{areia} , possivelmente isso se deva ao tamanho e composição química do resíduo aportado ao solo sob floresta.

Com exceção das camadas de 5 - 10 cm e 100 - 150 cm, onde o solo sob FAQ apresentou teor de C_{argila} superior ao solo sob FAN, nas demais camadas os teores de C_{argila} foram superiores no solo sob FAN, sendo as diferenças menos expressivas a partir de 30 cm de profundidade. Essas diferenças sugerem que a queimada alterou a dinâmica de acúmulo de C na fração argila, o que pode ser evidenciado pela mudança na capacidade de retenção de C_{argila} , conforme discutido no item a seguir. De forma similar ao

que ocorreu para os teores de C_{areia} , N_{areia} , C_{silte} e N_{silte} , foi constatada a tendência de o solo sob PT apresentar menores teores de C_{argila} e N_{argila} ao longo do perfil, com exceção da camada de 0 - 5 cm, onde o teor de C_{argila} em PT foi igual e o de N_{argila} foi superior ao do solo sob FAQ (Tabela 12).

7.3.4 Capacidade de retenção de C nas frações silte e argila

Nas áreas FAN e PT, tanto para C_{silte} como para o C_{argila} a curva de saturação de C apresentou comportamento linear (Figuras 10b e 10c), indicando que não foi atingida experimentalmente a saturação dos sítios de retenção de C nessas frações. Comportamento similar foi observado para o C_{silte} na área FAQ, o qual apresentou comportamento linear quando relacionado ao C_{solo} . Resultados semelhantes foram encontrados por Dieckow et al. (2005b) os quais observaram comportamento linear dos teores de C_{silte} em relação ao C_{solo} nas camadas de 0 - 2,5 e 2,5 - 7,5 cm de um Argissolo Vermelho subtropical sob plantio direto. De acordo com os autores, isto pode ter ocorrido devido à presença de material orgânico particulado na fração silte, o qual não estaria ocupando os sítios de interação dessa fração, resultando em uma capacidade teoricamente infinita da fração silte em armazenar C.

Por outro lado, a curva de saturação de C para C_{argila} da área FAQ apresentou uma forma exponencial tendendo à saturação de sítios de retenção de C dessa fração (Figura 10a). De acordo com o ajuste matemático dos dados experimentais, o limite máximo ($C_{\text{máx}}$) de retenção de C_{argila} na área FAQ é de 81 g kg^{-1} . A partir do $C_{\text{máx}}$ e do C_{argila} (em cada camada) o C_{ds} da fração argila na área sob FAQ foi estimado em $22,4 (\pm 1,0) \text{ g kg}^{-1}$ na camada de 0 - 5 cm; $33,5 (\pm 0,6) \text{ g kg}^{-1}$ na camada de 5 - 10 cm; $61,3 (\pm 0,1) \text{ g kg}^{-1}$ na camada de 20 - 30 cm; $65,8 (\pm 0,2) \text{ g kg}^{-1}$ na camada de 40 - 50 cm; $70,7 (\pm 0,2) \text{ g kg}^{-1}$ na camada de 75 - 100 cm; e $72,2 (\pm 0,1) \text{ g kg}^{-1}$ na camada de 100 - 150 cm. Santana (2014) observou menor $C_{\text{máx}}$ (94 g kg^{-1}) e C_{ds} na fração argila nas camadas entre 0 - 80 cm de um Neossolo cultivado por 7 anos com eucalipto (de $31,9$ a $70,9 \text{ g kg}^{-1}$) quando comparado ao $C_{\text{máx}}$ (124 g kg^{-1}) e ao C_{ds} (de $59,9$ a $101,8 \text{ g kg}^{-1}$) do solo sob vegetação natural de campo, o que pode ter ocorrido pela adição ao solo de resíduos de eucalipto com caráter hidrofóbico, promovendo o acúmulo de C no solo e a maior saturação dessa

fração através de interações hidrofóbicas da MOS.

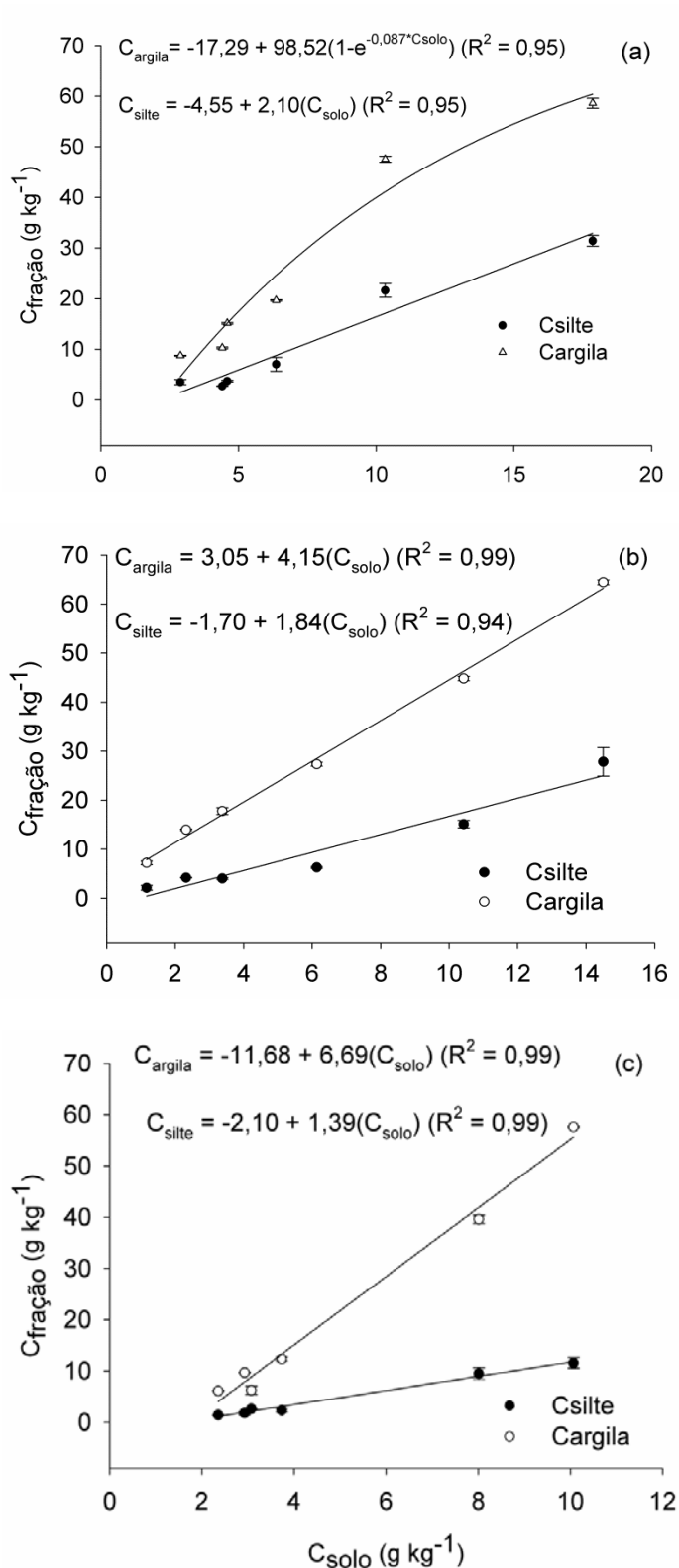


Figura 10. Relação entre o teor de carbono nas frações silte e argila (C_{silte} , C_{argila}) e o teor de carbono orgânico total do solo (C_{solo}) em Argissolo Vermelho sob Floresta Amazônica queimada (Figura 10a), Floresta Amazônica nativa (Figura 10b) e pastagem (Figura 10c).

Apesar do solo sob FAN ter apresentado maior teor de C_{argila} em relação ao solo sob FAQ na maior parte do perfil do solo, não foi obtido experimentalmente um nível de saturação de C para FAN. O comportamento linear da curva de saturação de C para a fração argila em FAN pode ser explicada pelo tipo de interação da MOS. O maior teor de C_{argila} no solo sob FAN não necessariamente significa um número maior de sítios da fração argila ocupados por moléculas orgânicas. Em ambientes naturais, como no caso da FAN, o constante aporte de material orgânico ao solo, juntamente com a não perturbação do mesmo, estimula a auto-associação entre os grupos funcionais da matéria orgânica, incluindo interações do tipo hidrofóbicas, conforme modelo zonal de interação organo-mineral proposto por Kleber et al. (2007). Neste sentido, parte do C presente na fração argila em FAN não estaria ligado diretamente à matriz mineral, mas sim por meio de interações matéria orgânica-matéria orgânica (MO-MO). Dessa forma, sítios de retenção de C estariam constantemente disponíveis, não havendo tendência de saturação de C nessa fração.

Já a tendência à saturação de C na fração argila de FAQ pode ser relacionada com os efeitos da queima. A comparativamente maior hidrofobicidade da MOS de FAQ pode ter levado à interrupção da interação MO-MO em multicamadas, em que ocorre a alternância de camadas hidrofílicas e hidrofóbicas (Kleber et al., 2007). Adicionalmente, a queima pode ter provocado diminuição da superfície específica da fração argila na camada superficial do solo, diminuindo o número de sítios disponíveis para interação com a fração orgânica, e facilitando assim a saturação dessa fração.

Em experimento semelhante ao do presente estudo, realizado na área experimental da Embrapa Acre em Rio Branco, durante a queimada foram observadas temperaturas na superfície do solo em torno de 360 °C e entre 30 e 80 °C aproximadamente até 2 cm de profundidade (Pérez, 2013). Supõem-se que temperaturas semelhantes ocorreram durante a queimada no presente estudo, levando à diminuição da área superficial específica da fração argila. Ketterings et al. (2000) observaram em um Latossolo um aumento das frações mais grosseiras na camada de 0 - 5 cm após queima com temperaturas acima de 600 °C. Entretanto, diminuição nos teores de caulinita e gibsitita nas frações silte e argila foi observada em temperaturas a partir de

300 °C.

O fato do solo sob PT não ter apresentado saturação de C nas frações argila e silte provavelmente está associado à relevante perda de C após a queimada e à conversão floresta-pastagem, resultando em baixo teor de COT e de C associado à essas frações. Dessa forma, grande parte dos sítios da fração mineral permanecem disponíveis para interação com a matéria orgânica, e o solo não apresenta dificuldades em reter C nessas frações.

7.4 Conclusões

Decorridos dois anos, a queima da Floresta Amazônica promoveu o aumento do teor de nutrientes e da capacidade de troca de cátions efetiva, principalmente na camada de 0 - 5 cm em comparação ao solo sob Floresta Amazônica nativa e sob pastagem. Essa prática também promoveu o aumento do teor de COT principalmente na camada de 0 - 5 cm, o que pode ser associado ao caráter mais aromático e hidrofóbico da matéria orgânica desse solo, o que aumenta a sua resistência à decomposição. No solo sob pastagem, apesar de verificada maior proporção de material orgânico lábil no solo (C-O-alquil) em comparação aos solos sob floresta, a quantidade de material aportado ao solo e/ou a qualidade do manejo da pastagem ao longo dos anos de cultivo provavelmente contribuíram para os menores teores de carbono orgânico total desse solo.

O solo sob floresta queimada apresentou menor capacidade de retenção de carbono na fração argila. A diminuição da área superficial específica dessa fração em consequência da queimada e a perda de compostos que promovem as interações entre moléculas orgânicas na fração argila podem ter sido as principais causas da saturação parcial e do menor teor de carbono nessa fração observados na área de floresta queimada em relação à área não queimada. Neste sentido, estudos que incluam análise da área superficial específica e da composição química da matéria orgânica da fração argila poderão contribuir para a elucidação dos mecanismos envolvidos no processo de saturação dessa fração.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

8.1 Estudos 1 e 2

Após 20 meses da aplicação de diferentes doses de resíduos finos de carvão vegetal ao solo os principais efeitos desse resíduo sobre os atributos químicos e sobre os teores de carbono e a composição química da matéria orgânica foram observados na camada superficial do solo (0 - 5 cm) com a aplicação da dose mais elevada, 40 Mg ha⁻¹. Apesar da incorporação do carvão vegetal até 10 cm, foi constatado que boa parte desse material, principalmente os fragmentos maiores, permaneceu na camada superficial do solo. Por outro lado, os fragmentos coloidais foram lixiviados até 20 cm de profundidade, mas não foi observada presença de carvão vegetal na camada mais profunda avaliada nesse estudo (20 - 30 cm).

A melhoria dos atributos de fertilidade do solo após a aplicação de carvão vegetal sugere que esse resíduo pode ser utilizado como um fertilizante alternativo, diminuindo o consumo de outros fertilizantes.

Além de aumentar o teor de carbono total do solo, a adição de carvão vegetal aumentou o teor de carbono nas frações químicas mais humificadas do solo, o que aparentemente ocorreu em função de seu acúmulo na fração húmica devido ao seu caráter hidrofóbico e à estimulação do processo de humificação da matéria orgânica endógena do solo no caso das frações ácido húmico e ácido fúlvico. A aplicação do carvão vegetal alterou a composição química da matéria orgânica, elevando a sua aromaticidade e o seu caráter hidrofóbico. Conseqüentemente, a matéria orgânica do solo com aplicação de carvão vegetal foi menos susceptível à biodegradação e maior

tempo médio de residência da matéria orgânica foi constatado no solo que recebeu 40 Mg ha⁻¹ de carvão vegetal em comparação ao solo testemunha.

Sendo assim, os resíduos finos de carvão vegetal apresentam potencial para serem utilizados não só como fertilizante alternativo, mas também como alternativa para incrementar o sequestro de carbono no solo. Entretanto, estudos mais detalhados quanto à longevidade de tais benefícios e quanto ao risco ambiental da presença desse material no solo são estritamente necessários, uma vez que a aplicação do carvão vegetal ao solo é um processo irreversível.

8.2 Estudo 3

Os dados obtidos neste estudo sugerem que o solo sob Floresta Amazônica queimada apresenta menor capacidade de retenção de carbono na fração argila em comparação à Floresta Amazônica nativa.

A Amazônia é o bioma brasileiro mais afetado pelas queimadas e nele, grande parte do carbono concentra-se na biomassa vegetal, sendo a fração argila parte fundamental no processo de retenção de carbono no solo. Isto representa um grande potencial de perda de carbono nesse ambiente, não só pela emissão de gases de efeito estufa no momento da queima da vegetação, mas também pela aparente menor capacidade da fração argila em reter carbono após a queimada. Dessa forma, estudos que avaliem os efeitos das queimadas sobre a capacidade do solo em reter carbono são especialmente relevantes, uma vez que anualmente grandes extensões de Floresta Amazônica são submetidas à queima.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIVEN, S. et al. Pyrogenic carbon soluble fraction is larger and more aromatic in aged charcoal than in fresh charcoal. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 43, n. 7, p. 1615-1617, 2011.

ABREU JÚNIOR, C. H. et al. Métodos analíticos utilizados em química do solo. In: QUÍMICA e mineralogia do solo. parte II – aplicações. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2009. p. 529-685.

ACRE. Secretaria de Estado de Meio Ambiente e Recursos Naturais. **Zoneamento Ecológico-Econômico do Estado do Acre, Fase II (Escala 1:250.000)**: documento Síntese. 2. ed. Rio Branco: SEMA, 2010. 356p.

ANGELO, L. C. et al. Loading of VO^{2+} and Cu^{2+} to partially oxidized charcoal fines rejected from Brazilian metallurgical industry. **Journal of Soils and Sediments**, Berlin, v. 14, n. 2, p. 353-359, 2014.

ANGERS, D. A. et al. Estimating and mapping the carbon saturation deficit of French agricultural topsoils. **Soil Use and Management**, Oxford, v. 27, n. 4, p. 448-452, 2011.

ANTAL, M. J. J. GRONLI, M. The art, science, and technology of charcoal production. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, Washington, v. 42, n. 8, p. 1619-1640, 2003.

ARAÚJO, E. A. et al. Impacto da conversão floresta - pastagem nos estoques e na dinâmica do carbono e substâncias húmicas do solo no bioma Amazônico. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 41, n. 1, p. 103-114, 2011.

BALDOCK, J. A. et al. Aspects of the chemical structure of soil organic materials as revealed by solid-state ^{13}C NMR spectroscopy. **Biochemistry**, Elmsford, v. 16, n. 1, p. 1-42, 1992.

BALDOCK, J. A. et al. Assessing the extent of decomposition of natural organic materials using solid-state ^{13}C NMR spectroscopy. **Australian Journal of Soil Research**, Melbourne, v. 35, n. 5, p. 1061-1083, 1997.

BALDOCK, J. A.; SMERNIK, R. J. Chemical composition and bioavailability of thermally altered *Pinus resinosa* (Red pine) wood. **Organic Geochemistry**, Amsterdam, v. 33, n. 9, 1093–1109, 2002.

BARBOZA, E. et al. Fertilidade de solos em Rondônia. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 7, n. 13, p. 586-594, 2011.

BASSO, A. S. et al. Assessing potential of biochar for increasing water holding capacity of sandy soils. **Global Change Biology Bioenergy**, Oxford, v. 5, n. 2, p. 132-143, 2013.

BAUER, M. O. et al. Anatomical evaluation and nutritive value of four prevailing forage grasses in natural pasture of Viçosa-MG. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, n. 1, p. 9-17, 2008.

BEHLING, H.; PILLAR, V. P. Late quaternary vegetation, biodiversity and fire dynamics on the southern Brazil highland and their implication for conservation and management of modern araucaria forest and grassland ecosystems. **Philosophical Transactions of Royal Society**, London, v. 362, n. 1478, p. 243-251, 2007.

BENITES, V. M. et al. Properties of black soil humic acids from high altitude rocky complexes in Brazil. **Geoderma**, Amsterdam, v. 127, n. 1-2, p. 104-113, 2005.

BERNOUX, M. et al. The use of stable carbon isotopes for estimating soil organic matter turnover rates. **Geoderma**, Amsterdam, v. 82, n. 1-3, p. 43-48, 1998.

BERNS, A.; KNICKER, H. Soil Organic Matter. **Encyclopedia of Magnetic Resonance**, v. 3, p. 43-54, 2014.

BIEDERMAN, L. A.; HARPOLE, W. S. Biochar and its effects on plant productivity and nutrient cycling: a meta-analysis. **Global Change Biology Bioenergy**, Oxford, v. 5, n. 2, p. 202-214, 2013.

BIRD, M. I. et al. Stability of elemental carbon in savanna soil. **Global Biogeochemical Cycles**, Washington, v. 13, n. 4, p. 923-932, 1999.

BREWER, C. et al. New approaches to measuring biochar density and porosity. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v. 66, p. 176-185, 2014.

CAMBARDELLA, C. A.; ELLIOT, E. T. Particulate soil organic matter changes across a grassland cultivation sequence. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 56, n. 3, p. 777-783, 1992.

CAO, X.; HARRIS, W. Properties of dairy-manure-derived biochar pertinent to its potential use in remediation. **Bioresource Technology**, Essex, v. 101, n. 14, p. 5222-5228, 2010.

CERRI, C. E. P. et al. Modeling soil carbon from forest and pasture ecosystems of Amazon, Brazil. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 67, n. 6, p. 1879-1887, 2003.

CERRI, C. E. P.; FEIGL, B. J.; CERRI, C. C. Dinâmica da matéria orgânica do solo na Amazônia. In: FUNDAMENTOS da matéria orgânica do solo – ecossistemas tropicais e subtropicais. 2. ed. Porto Alegre: Metrópole, 2008. p. 325-358.

CHEFETZ, B. et al. Chemical and biological characterization of organic matter during composting of municipal solid waste. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 25, n. 4, p. 776-785, 1996.

COOK, R. L. et al. A modified crosspolarization magic angle spinning C-13 NMR procedure for the study of humic materials. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 68, n. 22, p. 3979-3986, 1996.

CRITTER, S. A. M.; AIROLDI, C. Thermal analysis of Brazilian tropical soils originating from different sources. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 17, n. 7, p. 1250-1258, 2006.

CROSS, A.; SOHI, S. The priming potential of biochar products in relation to labile carbon contents and soil organic matter status. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 43, n. 10, p. 2127-2134, 2011.

CUEVAS, E. Soil versus biological controls on nutrient cycling in terra firme forests In: THE BIOCHEMISTRY of the Amazon basin. Oxford, Oxford University Press, 2001. p. 53-67.

CUNHA, T. J. F. et al. Spectroscopy characterization of humic acids isolated from Amazonian dark earth soils (Terra preta de índio). In: AMAZONIAN dark earths: wim sombroek's vision. [Dordrecht]: Springer, 2009. p. 363-372

CUNHA, T. J. F. et al. Fracionamento químico da matéria orgânica e características de ácidos húmicos de solos com horizonte a antrópico da amazônia (Terra Preta). **Acta Amazônica**, Manaus, v. 37, n.1, p. 91-98, 2007.

DAI, Z. et al. The potential feasibility for soil improvement, based on the properties of biochars pyrolyzed from different feedstocks. **Journal of Soils and Sediments**, Berlin, v. 13, n. 6, p. 989-1000, 2013.

DE LA ROSA, J. M. et al. Direct detection of black carbon in soils by Py-GC/MS, Carbon-13 NMR spectroscopy and thermogravimetric techniques. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 72, n.1, p. 258-267, 2008.

DE LA ROSA, J. M. et al. Characterization of wildfire effects on soil organic matter using analytical pyrolysis. **Geoderma**, Amsterdam, v. 191, p. 24-30, 2012.

DIAS, B. O. et al. Infravermelho na caracterização de ácidos húmicos de Latossolo sob efeito de uso contínuo de lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 33, n. 4, p. 885-894, 2009.

DICK, D. P.; GOMES, J.; ROSINHA, P. B. Caracterização de substâncias húmicas extraídas de solos e de lodo orgânico. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 22, n. 4, p. 603-611, 1998.

DICK, D. P. et al. Impacto da queima nos atributos químicos do solo, na composição da matéria orgânica e na vegetação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 5, p. 633-640, 2008a.

DICK, D. P. et al. Estudo comparativo da matéria orgânica de diferentes classes de solos de altitude do sul do Brasil por técnicas convencionais e espectroscópicas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 32, n. 6, p. 2289-2296, 2008b.

DIECKOW, J. et al. Composition of organic matter in a subtropical Acrisol as influenced by land use cropping and N fertilization, assessed by CPMAS ^{13}C NMR spectroscopy. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 56, n. 6, p. 705–715, 2005a.

DIECKOW, J. et al. Soil C and N stocks as affected by cropping systems and nitrogen fertilization in a southern Brazil Acrisol managed under no-tillage for 17 years. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 81, n. 1, p. 87-95, 2005b.

DOBBSS, L. B. et al. Caracterização química e espectroscópica de ácidos húmicos e fúlvicos isolados da camada superficial de Latossolos brasileiros. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 33, n. 1, p. 51-63, 2009.

EMBRAPA. **Manual de métodos de análise de solo**. 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa – Centro Nacional de Pesquisa de Solo, 1997. 212 p.

EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: Embrapa. Centro Nacional de Pesquisa em Solos, 2006. 306 p.

ENDERS, A. et al. Characterization of biochars to evaluate recalcitrance and agronomic performance. **Bioresource Technology**, Essex, v. 114, p. 644-653, 2012.

FAO. **World reference base for soils resources 2006**. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2006. 128 p. (World Soil Resources Reports n. 103).

FAVORETTO, C. M. et al. Determinação da humificação da matéria orgânica de um Latossolo e de suas frações organo-minerais. **Química Nova**, São Paulo, v.31, n. 8, p. 1994-1996, 2008.

FREITAS, J. C. C.; BONAGAMBA, T. J.; EMMERICH, F. G. ^{13}C High-resolution solid-state NMR study of peat carbonization. **Energy and Fuels**, New York, v. 13, n. 1, p. 53-59, 1999.

GALFORD, G. et al. Wavelet analysis of MODIS time series to detect expansion and intensification of row-crop agriculture in Brazil. **Remote Sensing of Environment**, New York, v. 112, n. 2, p. 576–587, 2008.

GASKIN, J. W. et al. Effect of low-temperature pyrolysis conditions on biochar for agricultural use. **American Society of Agricultural and Biological Engineers**, St. Joseph, v. 51, n. 6, p. 2061-2069, 2008.

GLASER, B. Black carbon in density fractions of anthropogenic soils of the Brazilian Amazon region. **Organic Geochemistry**, Amsterdam, v. 31, n. 7-8, p. 669-678, 2000.

GONÇALVES, C. N. et al. The effect of 10% HF treatment on the resolution of CPMAS ¹³C NMR spectra and on the quality of organic matter in Ferrasols. **Geoderma**, Amsterdam, v. 116, n. 3-4, p. 373-392, 2003.

GONZÁLEZ-PÉREZ, J. A. et al. The effect of fire on soil organic matter – a review. **Environmental International**, New York, v. 30, n. 6, p. 855–870, 2004.

GONZÁLEZ-VILA, F. J. et al. Nature of refractory forms of organic carbon in soils affected by fires. Pyrolytic and spectroscopic approaches. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON FOREST FIRE RESEARCH, 4., 2002, Coimbra. **Proceedings...** Coimbra: Forest Fire Research & Wildland Fire Safety, 2002.

GUIOTOKU, M. et al. Molecular and morphological characterization of hydrochar produced by microwave - assisted hydrothermal carbonization of cellulose. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 5, p. 687-692, 2012.

HAMER, U. et al. Interactive priming of black carbon and glucose mineralisation. **Organic Geochemistry**, Amsterdam, v. 35, n. 7, p. 823-830, 2004.

HARTT, C. F. Preliminary report of the Morgan Exhibitions, 1870-1871 - report of a reconnaissance of the Lower Tapajós. **Bulletin of Cornell University**, Cornell, v.1, p. 1-37, 1874.

HENN, M. R.; CHAPELA, I. H. Differential C isotope discrimination by fungi during decomposition of C₃ and C₄-derived sucrose. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 66, n. 10, p. 4180-4186, 2000.

HILSCHER, A.; KNICKER, H. Degradation of grass-derived pyrogenic organic material, transport of the residues within a soil column and distribution in soil organic matter fractions during a 28 month microcosm experiment. **Organic Geochemistry**, Amsterdam, v. 42, n. 1, p. 42-54, 2011.

IBI - International Biochar Initiative. **[Informações do site]**. Disponível em <<http://www.biochar-international.org/>>. Acesso em: 28 fev. 2015.

INPE. **Portal do Monitoramento de Queimadas e Incêndios em 2012**. Disponível em <<http://www.inpe.br/queimadas>> Acesso em: 18 fev. 2015.

JOHNSON, D. W.; CURTIS, P. S. Effects of forest management on soil C and N storage: meta analysis. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 140, n. 2-3, p. 227-238, 2001.

KAAL, J. et al. Characterization of aged black carbon using pyrolysis-GC/MS, thermally assisted hydrolysis and methylation (THM), direct and cross-polarisation ^{13}C nuclear magnetic resonance (DP/CP NMR) and the benzenepolycarboxylic acid (BPCA) method. **Organic Geochemistry**, Amsterdam, v. 39, n. 10, p. 1415-1426, 2008.

KATZER, F. Grundzüge der geologie des unteren Amazonas gebietes (de Staates Pará in Brasilien). Leipzig: Verlag on Max Weg, 1903.

KAZMIERCZAK, M. L. Análise da distribuição espacial das queimadas no Brasil no período de 2000 a 2009. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE SENSORIAMENTO REMOTO, 15., 2011, Curitiba. **Anais...** Curitiba: INPE, 2011, p. 7996.

KEILUWEIT, M. et al. Dynamic molecular structure of plant biomass-derived black carbon (biochar). **Environmental Science and Technology**, Easton, v. 44, n. 4, p. 1247-1253, 2010.

KETTERINGS, Q. M.; BIGHAM, J. M.; LAPERCHE, V. Changes in soil mineralogy and texture caused by slash-and-burn fires in Sumatra, Indonesia. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 64, n. 3, p. 1108-1117, 2000.

KLEBER, M; SOLLINS, P; SUTTON, R. A conceptual model of organo-mineral interactions in soils: self-assembly of organic molecular fragments into zonal structures on mineral surfaces. **Biogeochemistry**, Dordrecht, v. 85, n. 1, p. 9-24, 2007.

KNICKER, H. et al. Alteration of quality and stability of organic matter in grassland soils of Southern Brazil highlands after ceasing biannual burning. **Geoderma**, Amsterdam, v. 181-182, p.11-21, 2012.

KNICKER, H. et al. A new conceptual model for the structural properties of char produced during vegetation fires. **Organic Geochemistry**, Amsterdam, v. 39, n. 8, p. 935-939, 2008.

KNICKER, H. et al. Characteristic alterations of quantity and quality of soil organic matter caused by forest fires in continental Mediterranean ecosystems: a solid-state ^{13}C NMR study. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 57, n. 6, p. 558–569, 2006.

KNICKER, H. et al. Condensation degree of burnt peat and plant residues and the reliability of solid-state VACP MAS ^{13}C NMR spectra obtained from pyrogenic humic material. **Organic Geochemistry**, Amsterdam, v. 36, n. 10, p. 1359-1377, 2005b.

KNICKER, H. et al. Fire-induced transformation of C- and N-forms in different organic soil fractions from a Dystric Cambisol under a Mediterranean pine forest (*Pinus pinaster*). **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 37, n. 4, p. 701–718, 2005a.

KNICKER, H. How does fire affect the nature and stability of soil organic nitrogen and carbon? A review. **Biogeochemistry**, Dordrecht, v. 85, n. 1, p. 91-118, 2007.

KNICKER, H.; GONZÁLEZ-VILA, F. J.; GONZÁLEZ-VÁSQUEZ, R. Biodegradability of organic matter in fire-affected mineral soils of Southern Spain. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 56, p. 31-39, 2013.

KNICKER, H.; SCHMIDT, M. W. I.; KÖGEL-KNABER, I. Nature of organic nitrogen in fine particle size separates of sandy soils of highly industrialized areas as revealed by NMR spectroscopy. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 32, p. 241-252, 2000.

KÖGEL-KNABER, I. ^{13}C and ^{15}N NMR spectroscopy as a tool in soil organic matter studies. **Geoderma**, Amsterdam, v. 80, n. 3-4, p. 243-280, 1997.

KRULL, E. S.; SWANSTON, C. W.; SKJEMSTAD, J. O. Importance of charcoal in determining the age and chemistry of organic carbon in surface soils. **Journal of Geophysical Research**, Washington, v. 11, n. G4, p. 1-9, 2006.

KUZYAKOV, Y.; BOGOMOLOVA, I.; GLASER, B. Biochar stability in soil: decomposition during eight years and transformation as assessed by compound-specific ^{14}C analysis. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 70, p. 229-236, 2014.

KWAPINSKI, W. et al. Biochar from Biomass and Waste. **Waste and Biomass Valorization**, Dordrecht, v. 1, p. n. 2, 177-189, 2010.

LAIRD, D. A. et al. Distinguishing black carbon from biogenic humic substances in soil clay fractions. **Geoderma**, Amsterdam, v. 143, n. 1-2, p. 115-122, 2008.

LAL, R. Soil carbon sequestration to mitigate climate change. **Geoderma**, Amsterdam, v. 123, n. 1-2, p. 1-22, 2004.

LEAL, O. A. et al. Soil chemical properties and organic matter composition of a subtropical Cambisol after charcoal fine residues incorporation. **Journal of Soils and Sediments**, Berlin, v. 15, n. 4, 805-815, 2015.

LEIFELD, J. Thermal stability of black carbon characterised by oxidative differential scanning calorimetry. **Organic Geochemistry**, Amsterdam, v. 38, n. 1, p. 112–127, 2007.

LEHMANN, J. A handful of carbon. **Nature**, London, v. 447, p. 143-144, 2007.

LEHMANN, J.; GAUNT, J.; RONDON, M. Bio-char sequestration in terrestrial ecosystems – a review. **Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change**, Dordrecht, v. 11, p. 403-427, 2006.

LIANG, B. et al. Black carbon increases cation exchange capacity in soils. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 70, n. 5, p. 1719-1730, 2006.

LIMA, H. N. et al. Pedogenesis and pre-Colombian land use of “Terra Preta Anthrosols” (“Indian black earth”) of Western Amazonia. **Geoderma**, Amsterdam, v. 110, n. 1-2, p. 1-17, 2002.

LUGATO, E. et al. An energy-biochar chain involving biomass gasification and rice cultivation in Northern Italy. **Global Change Biology Bioenergy**, Oxford, v. 5, n. 2, p. 192-201, 2013.

MADARI, B. E. et al. Matéria orgânica dos solos antrópicos da Amazônia (Terra Preta de Índio): suas características e papel na sustentabilidade da fertilidade do solo. In: As terras pretas de índio da Amazônia: sua caracterização e uso deste conhecimento na criação de novas áreas. Manaus: Universidade Federal do Amazonas/Embrapa Amazônia Ocidental, 2010. p. 263-284.

MAIA, C. M. B. F.; MADARI, B. E.; NOVOTNY, E. H. Advances in biochar research in Brazil. **Dynamic Soil, Dynamic Plant**, [S.l.], v. 5, p. 53-58, 2011.

MANGRICH, A. S.; MAIA, C. B. F.; NOVOTNY, E. H. Biocarvão, as terras pretas de índios e o sequestro de carbono. **Ciência Hoje**, São Paulo, v. 47, p. 48-52, 2011.

MILTNER, A. et al. Non-phototrophic CO₂ fixation by soil microorganisms. **Plant and Soil**, The Hague, v. 269, n. 1-2, p. 193-203, 2005.

MUCCIO, Z.; JACKSON, J. P. Isotope ratio mass spectrometry. **Analyst**, London, v. 134, p. 213-222, 2009.

NEARY, D. G. et al. Fire effects on belowground sustainability: a review and synthesis. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 122, n. 1-2, p. 51-71, 1999.

NORDGREN, A. Apparatus for the continuous, long-term monitoring of soil respiration rate in large numbers of samples. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 20, n. 6, p. 955-957, 1988.

NOVAK, J. M. et al. Impact of biochar amendment on fertility of a Southeastern Coastal Plain soil. **Soil Science**, Washington, v. 174, n.2, p. 105-112, 2009.

NOVOTNY, E. H. Biochar. **Revista Opiniões**, Ribeirão Preto, p. 45, jun.- ago., 2008.

NOVOTNY, E. H. et al. Lessons from the *terra preta de índios* of the Amazon region for the utilization of charcoal for soil amendment. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 20, n. 6, p. 1003-1010, 2009.

O'LEARY, M. H. Carbon isotope fractionation in plants. **Phytochemistry**, New York, v. 20, n. 4, p. 553-567, 1981.

PARK, J. H. et al. Biochar reduces the bioavailability and phytotoxicity of heavy metals. **Plant and Soil**, The Hague, v. 348, n. 1-2, p. 439-451, 2011.

PAZ-FERREIRO, J. et al. Interactive effects of biochar and the earthworm *Pontoscolex corethrurus* on plant productivity and soil enzyme and soil enzyme activities. **Journal of Soils and Sediments**, Berlin, v. 14, n.3, p. 483-494, 2014.

PEERSEN, O. B. et al. Variable-amplitude crosspolarization Mas Nmr. **Journal of Magnetic Resonance Series A**, San Diego, v. 104, n. 3, p. 334-339, 1993.

PENNISE, D. M. et al. Emissions of greenhouse gases and other airborne pollutants from charcoal making in Kenya and Brazil. **Journal of Geophysical Research**, Washington, v. 106, n. D20, p. 143-155, 2001.

PÉREZ, J. J. M. **Emissão de mercúrio proveniente da queima de floresta tropical na região de Rio Branco (AC, Brasil)**. 2013. 121 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) - Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2013.

PERÓN, A. J.; EVANGELISTA, A. R. Degradação de pastagens em regiões do cerrado. **Ciências e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 3, p. 655-661, 2004.

PETTER, F. A. et al. Soil fertility and upland rice yield after biochar application in the Cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 5, p. 699-706, 2012.

POTES, M. L. et al. Matéria orgânica em Neossolo de altitude: influência do manejo da pastagem na sua composição e teor. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 34, n. 1, p. 23-32, 2010.

POTES, M. L. et al. Soil organic matter in fire-affected pastures and in an Araucaria forest in South - Brazilian Leptosols. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 5, p. 707-115, 2012.

REIS, C. E. S. et al. Carbon sequestration in clay and silt fractions of Brazilian soils under conventional and no-tillage systems. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 71, n. 4, p. 259-343, 2014.

REIS, C. E. S. **Estoque e qualidade da matéria orgânica e retenção de carbono em perfis de dois Latossolos subtropicais sob diferentes manejos**. 2012. 131 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo. Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

RHEINHEIMER, D. S. et al. Modificações nos atributos químicos de solo sob campo nativo submetido à queima. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 1, p. 49-55, 2003.

RIEDEL, T. et al. Changes in the molecular composition of organic matter leached from an agricultural topsoil following addition of biomass-derived black carbon (biochar). **Organic Geochemistry**, Amsterdam, v. 69, p. 52-60, 2014.

ROSCOE, R. et al. Effects of fire on soil organic matter in a “cerrado sensu-stricto” from Southeast Brazil as revealed by changes in $\delta^{13}\text{C}$. **Geoderma**, Amsterdam, v. 95, n. 1-2, p. 141-160, 2000.

ROSCOE, R. et al. Soil organic matter dynamics in density and particle size fractions as revealed by the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ isotopic ratio in a Cerrado's Oxisol. **Geoderma**, Amsterdam, v. 104, n. 3–4, p. 185-202, 2001.

SALIMON, C. I.; WADT, P. G. S.; MELO, A. W. F. Dinâmica do carbono na conversão de florestas para pastagens em Argissolos da Formação Geológica Solimões, no Sudoeste da Amazônia. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, João Pessoa, v. 7, n. 1, p. 29-38, 2007.

SAMPAIO, F. A. R. et al. Balanço de nutrientes e da fitomassa em um Argissolo Amarelo sob floresta tropical amazônica após a queima e cultivo com arroz. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 27, n. 6, p. 1161-1170, 2003.

SANTANA, G. S. et al. Substâncias húmicas e suas interações com Fe e Al em Latossolo subtropical sob diferentes sistemas de manejo de pastagem. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 35, n. 2, p. 461-472, 2011.

SANTANA, G. S. **Origem e retenção da matéria orgânica em solos sob sistemas de produção florestal no sul do Brasil**. 2014. 131 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós Graduação em Ciência do Solo, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

SANTÍN, C. et al. Wildfires influence on soil organic matter in an Atlantic mountainous region (NW of Spain). **Catena**, Amsterdam, v. 74, n. 3, p. 286-295, 2008.

SCHAEFER, J.; STEJSKAL, E. O. C-13 nuclear magnetic-resonance of polymers spinning at magic angle. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, v. 98, n. 4, p. 1031-1032, 1976.

SCHMIDT, M. W. I. et al. Comparative analysis of black carbon in soils. **Global Biogeochemical Cycles**, Washington, v. 15, n. 1, p. 163-167, 2001.

SCHMIDT, M. W. I.; NOACK, A. G. Black carbon in soils and sediments: Analysis, distribution, implications, and current challenges. **Global Biogeochemical Cycles**, Washington, v. 14, n. 3, p. 777-793, 2000.

SCHNEIDER, M. P. W.; LEHMANN, J.; SCHMIDT, M. W. I. Charcoal quality does not change over a century in a tropical agro-ecosystem. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 43, n. 9, p. 1992-1994, 2011.

SCHULZE, E. D. et al. Leaf and wood carbon isotope ratios, specific leaf areas and wood growth of *Eucalyptus* species across a rainfall gradient in Australia. **Tree Physiology**, Oxford, v. 26, n.4 p. 479-492, 2006.

SILVÉRIO, F. O.; BARBOSA, L. C. U. A.; PILÓ-VELOSO, D. A pirólise como técnica analítica. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 6, p. 1543-1552, 2008.

SIX, J. et al. Stabilization mechanisms of soil organic matter: implications for C saturation of soils. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 241, n. 2, p. 155-176, 2002.

SKJEMSTAD, J. O. et al. Charcoal Carbon in U.S. Agricultural Soils. **Soil Science Society of American Journal**, Madison, v. 66, n. 4, p. 1249-1255, 2002.

SPOKAS, K. A. Review of the stability of biochar in soils: predictability of O:C molar ratios. **Carbon Management**, [Washington], v. 1, n. 2, p. 289-303, 2010.

STEINBEISS, S.; GLEIXNER, G.; ANTONIETTI, M. Effect of biochar amendment on soil carbon balance and soil microbial activity. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 41, n. 6, p. 1301-1310, 2009.

STEINER, C. et al. Long term effects of manure, charcoal and mineral fertilization on crop production and fertility on a highly weathered Central Amazonian upland soil. **Plant and Soil**, The Hague, v. 291, n. 1-2, p. 275-290, 2007.

STEWART, C. E. et al. Soil carbon saturation: implications for a measurable carbon pool dynamics in long-term incubations. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 41, n. 2, p. 357-366, 2009.

SWIFT, R. S. Organic matter characterization. In: Methods of soil analysis. part 3. chemical methods. Madison: Soil Science Society of America Books, 1996. p. 1001-1069.

TAN, K. H. **Humic matter in soil and the environment: principles and controversies**. New York: Marcel Dekker, 2003. 408 p.

TAYLOR, J. P. et al. Comparison of microbial numbers and enzymatic activities in surface soils and subsoils using various techniques. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 34, n. 3, p. 387-401, 2002.

TEDESCO, M. J. et al. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 2. ed. Porto Alegre: Departamento de Solos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. 174p.

VASILYEVA, N. A. et al. Pyrogenic carbon quantity and quality unchanged after 55 years of organic matter depletion in a Chernozem. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 43, n. 9, p. 1985-1988, 2011.

VERHEIJEN, F. et al. **Biochar application to soils: a critical scientific review of effects on soil properties, processes and functions**. Luxembourg: European Commission, 2010. 149 p.

VERHEIJEN, F. G. A.; MONTANARELLA, L.; BASTOS, A. C. Sustainability, certification, and regulation of biochar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 5, p. 649-653, 2012.

WANG, J. et al. Effects of biochar amendment in two soils on greenhouse gas emissions and crop production. **Plant and Soil**, The Hague, v. 360, n. 1-2, p. 287-298, 2012.

WANG, X. et al. Characteristics of phosphate adsorption-desorption onto ferrihydrite: comparison with well-crystalline Fe (Hydr)Oxides. **Soil Science**, Washington, v. 178, n. 1, p. 1-11, 2013.

WOOLF, D. et al. Sustainable biochar to mitigate global climate change. **Nature communications**, New York, v. 1, n. 56, p. 1-9, 2010.

ZANETTI, M. et al. Uso de subprodutos de carvão vegetal na formação do portaenxerto limoeiro 'cravo' em ambiente protegido. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 25, n. 3, p. 508-512, 2003.

ZIMMERMAN, A. R.; GAO, B.; AHN, M. Y. Positive and negative carbon mineralization priming effects among a variety of biochar-amended soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 43, n. 6, p. 1169-1179, 2011.

ZHOU, Z. et al. Sorptive domains of pine chars as probed by benzene and nitrobenzene. **Environmental Pollution**, Oxford, v. 158, n. 1, p. 201-206, 2010.

ZINN, Y. L.; LAL, R.; RESCK, D. V. S. Edaphic controls on soil organic carbon retention in the brazilian cerrado: texture and mineralogy. **Soil Science Society of American Journal**, Madison, v. 71, n. 4, p. 1204-1214, 2007.

10. APÊNDICES

Apêndice 1. Média e desvio padrão de três repetições do teor de elementos extraíveis do carvão vegetal puro. Metodologia de extração descrita no capítulo 2. Somente para fins são anexados também os teores máximos de alguns elementos permitidos pela International Biochar Initiative (IBI) na composição do biochar e os teores máximos permitidos pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente do Brasil na composição do lodo de esgoto e seus derivados para aplicação agrícola.

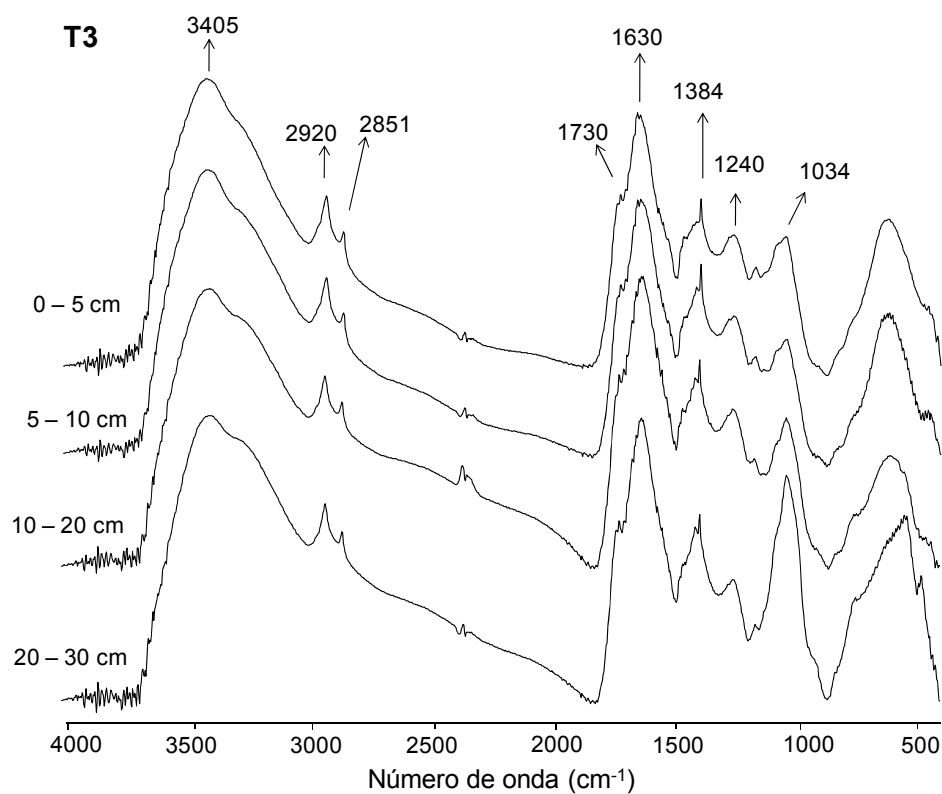
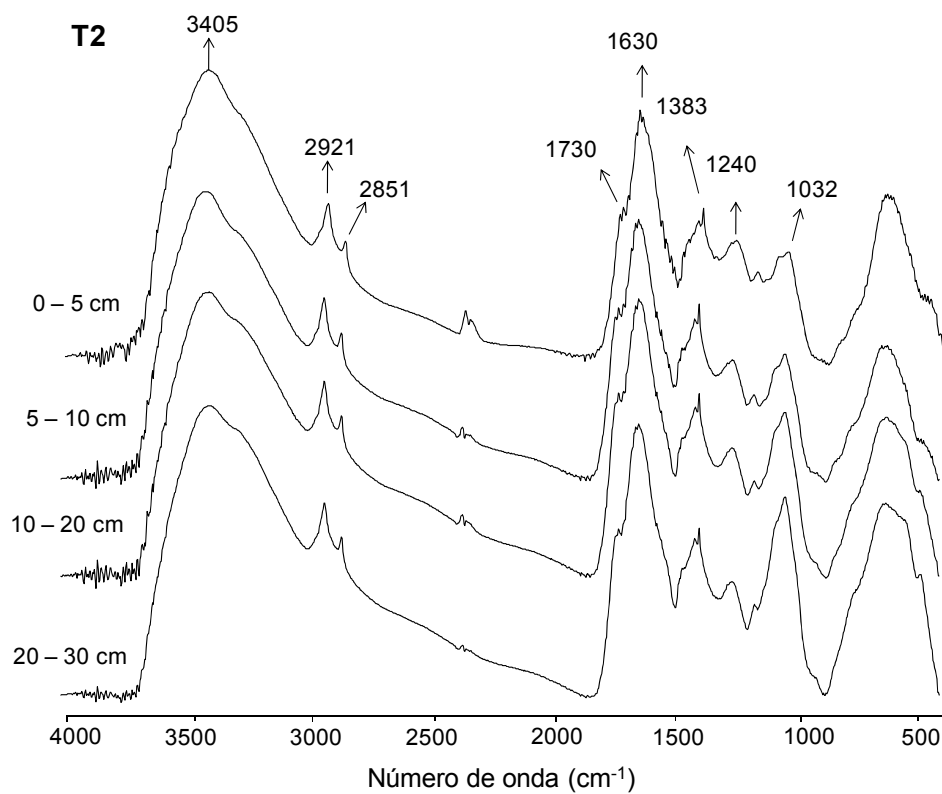
Elemento	Unidade	Média \pm desvio padrão	IBI (mg kg ⁻¹) **	CONAMA Lodo de esgoto e derivados (mg kg ⁻¹) ***
Alumínio (Al)	g kg ⁻¹	11,4 \pm 0,72	-	-
Arsênio (As)	mg kg ⁻¹	0,63 \pm 0,25	100	41
Boro (B)	mg kg ⁻¹	18,2 \pm 0,20	-	-
Bário (Ba)	mg kg ⁻¹	85,9 \pm 4,09	-	1.300
Cádmio (Cd)	mg kg ⁻¹	0,05 \pm 0,01	39	39
Cobalto (Co)	mg kg ⁻¹	6,81 \pm 0,20	150	-
Cromo (Cr)	mg kg ⁻¹	5,29 \pm 0,35	100	1.000
Cobre (Cu)	mg kg ⁻¹	27,7 \pm 1,15	1.500	1.500
Ferro (Fe)	g kg ⁻¹	11,3 \pm 0,61	-	-
Mercúrio (Hg)	mg kg ⁻¹	0,11 \pm 0,04	17	17
Lítio (Li)	mg kg ⁻¹	1,77 \pm 0,06	-	-
Manganês (Mn)	mg kg ⁻¹	1.146,25 \pm 27	-	-
Molibdênio (Mo)	mg kg ⁻¹	0,10 \pm 0,04	75	50
Sódio (Na)	g kg ⁻¹	0,05 \pm 0,00	-	-
Níquel (Ni)	mg kg ⁻¹	5,98 \pm 0,45	600	420
Chumbo (Pb)	mg kg ⁻¹	1,88 \pm 0,09	500	300
Estanho (Sn)	mg kg ⁻¹	ND*	-	-
Estrôncio (Sr)	mg kg ⁻¹	86,16 \pm 0,74	-	-
Vanádio (V)	mg kg ⁻¹	43,63 \pm 1,85	-	-
Zinco (Zn)	mg kg ⁻¹	44,58 \pm 2,11	2.800	2.800

*ND

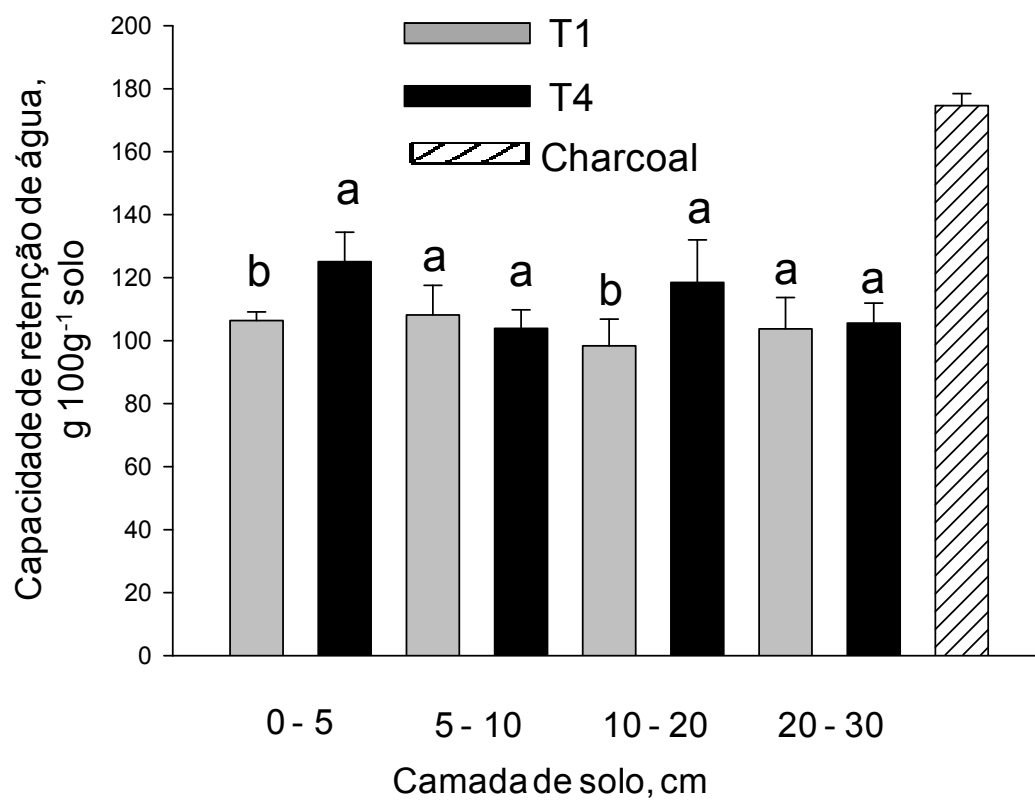
** Teor máximo permitido na composição do biochar de acordo com normas de certificação de biochar propostas pela International Biochar Institute (IBI).

*** Teor máximo permitido na composição de lodo de esgoto e seus derivados de acordo com a resolução número 397 do CONAMA de 29 de agosto de 2006, a qual define critérios e procedimentos, para o uso agrícola de lodos de esgoto gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados, e dá outras providências.

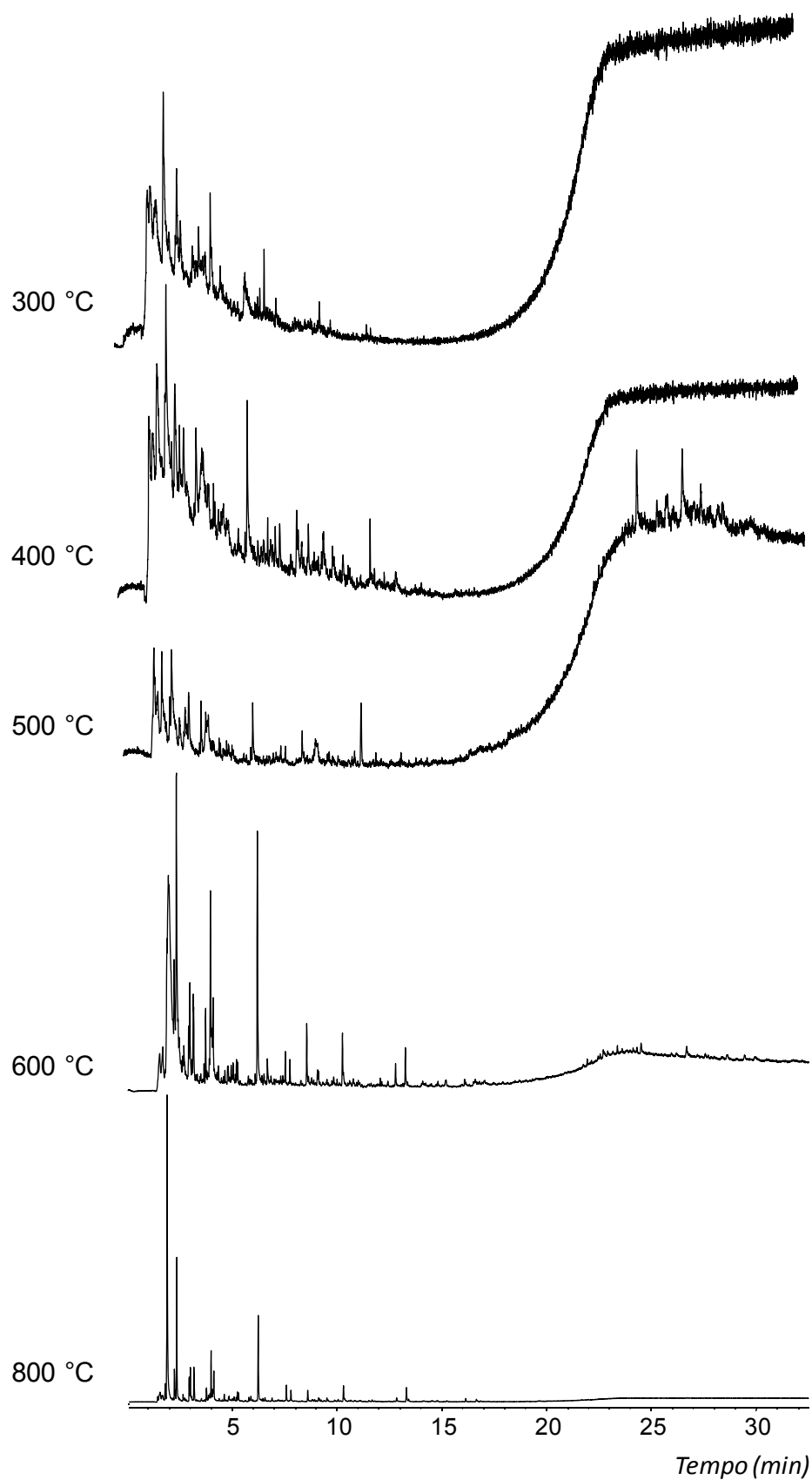
Apêndice 2. Espectros de infravermelho de amostras de solo (tratadas com HF) coletadas nas camadas de 0 - 5, 5 - 10, 10 - 20 e 20 - 30 cm nos tratamentos T2 e T3. T2 = 10 Mg ha⁻¹; T3 = 20 Mg ha⁻¹ de carvão vegetal.



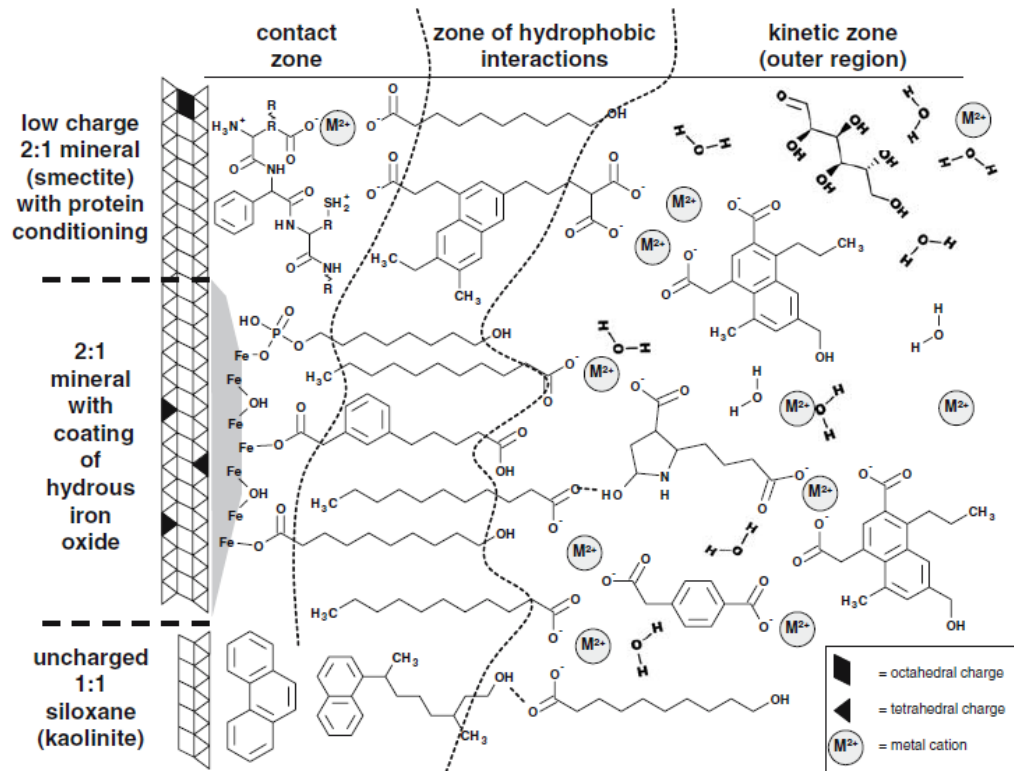
Apêndice 3. Média e desvio padrão de quatro repetições dos valores de capacidade de retenção de água do solo nos tratamentos T1 e T4 e do carvão vegetal puro. T1 = 0 Mg ha⁻¹; T4 = 40 Mg ha⁻¹ de carvão vegetal. Médias seguidas de mesma letra em cada profundidade não diferem entre si pelo teste de Tukey a 10%.



Apêndice 4. Cromatogramas dos produtos de pirólise analítica (Pi-CG/EM) do carvão vegetal puro realizada a diferentes temperaturas.



Apêndice 5. Modelo zonal de interação organo-mineral proposto por Kleber et al. (2007).



Apêndice 6. Curvas de dispersão da fração argila para as camadas de 0 - 5 e 5 - 10 cm (curva 1), 20 - 30 cm (curva 2), 40 - 50 cm (curva 3) e para as camadas de 75 - 100 e 100 - 150 cm (curva 4).

