

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E  
TECNOLOGIA GOIANO – CAMPUS RIO VERDE  
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA**

**DETERMINAÇÃO E DINÂMICA DE OXIDAÇÃO DO ENXOFRE ELEMENTAR  
EM FORMULAÇÕES ORGANOMINERAIS**

Autora: Lígia Gabriela de Sá Vanin

RIO VERDE – GO  
FEVEREIRO – 2021

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E  
TECNOLOGIA GOIANO – CAMPUS RIO VERDE  
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA**

**DETERMINAÇÃO E DINÂMICA DE OXIDAÇÃO DO ENXOFRE ELEMENTAR  
EM FORMULAÇÕES ORGANOMINERAIS**

Autora: Lígia Gabriela de Sá Vanin

Orientador: Dener Márcio da Silva Oliveira

Coorientador: Rodrigo Braghiroli

Coorientador: João Carlos Perbone de Souza

Coorientador: Edson Luiz Souchie

Coorientadora: Luciana Cristina Vitorino

Dissertação apresentada, como exigência para obtenção do título de MESTRE EM AGROQUÍMICA no programa de Pós-Graduação em Agroquímica do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde – Agroquímica Ambiental.

RIO VERDE – GO  
FEVEREIRO – 2021

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP  
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
**Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano**

VL724d Vanin, Lígia Gabriela de Sá  
DETERMINAÇÃO E DINÂMICA DE OXIDAÇÃO DO ENXOPRE  
ELEMENTAR EM FORMULAÇÕES ORGANOMINERAIS / Lígia  
Gabriela de Sá Vanin; orientador Dener Márcio da  
Silva Oliveira; co-orientador Rodrigo Braghiroli. --  
Rio Verde, 2021.  
59 p.

Dissertação (Mestrado em Pós-Graduação em  
Agroquímica) -- Instituto Federal Goiano, Campus Rio  
Verde, 2021.

1. Adubação orgânica. 2. Sulfato. 3. Biomassa  
microbiana. 4. Bacillus cereus. 5. Microrganismos  
oxidantes. I. Oliveira, Dener Márcio da Silva,  
orient. II. Braghiroli, Rodrigo, co-orient. III.  
Título.

**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO**

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610/98, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, a disponibilizar gratuitamente o documento no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, em formato digital para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

**Identificação da Produção Técnico-Científica**

- |  |   |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Tese  | <input type="checkbox"/> Artigo Científico              |
| <input checked="" type="checkbox"/> Dissertação                      | <input type="checkbox"/> Capítulo de Livro              |
| <input type="checkbox"/> Monografia – Especialização                 | <input type="checkbox"/> Livro                          |
| <input type="checkbox"/> TCC – Graduação                             | <input type="checkbox"/> Trabalho Apresentado em Evento |
| <input type="checkbox"/> Produto Técnico e Educacional - Tipo: _____ |   |

Nome Completo do Autor: Lígia Gabriela de Sá Vanin  
Matrícula: 20191033103I0049

Título do Trabalho: Determinação e dinâmica de oxidação do enxofre elementar em formulações organominerais.

**Restrições de Acesso ao Documento**

Documento confidencial:  Não  Sim, justifique: \_\_\_\_\_

O documento está sujeito a registro de patente?  Sim  Não

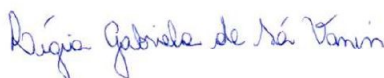
O documento pode vir a ser publicado como livro?  Sim  Não

**DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA**

O/A referido/a autor/a declara que:

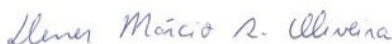
- o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autor/a, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Rio Verde - Goiás, 30/07/2021.



Assinatura do Autor e/ou Detentor dos Direitos Autorais

Ciente e de acordo:



Assinatura do(a) orientador(a)



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA  
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

Documentos 15/2021 - NREPG-RV/CPG-RV/DPGPI-RV/CMPRV/IFGOIANO

DETERMINAÇÃO E DINÂMICA DE OXIDAÇÃO DO ENXOFRE ELEMENTAR  
EM FORMULAÇÕES ORGANOMINERAIS

Autora: Lígia Gabriela de Sá Vanin  
Orientador: Dener Márcio da Silva Oliveira

TITULAÇÃO: Mestre em Agroquímica - Área de Concentração Agroquímica

APROVADA em 26 de fevereiro de 2021.

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Janine Mesquita  
Gonçalves  
Avaliadora externa - IF Goiano /  
Campus Urutaí

Prof. Dr. Carlos Frederico de Souza  
Castro  
Avaliador interno - IF Goiano /  
Campus Rio Verde

Prof. Dr. Dener Márcio da Silva Oliveira  
Presidente da Banca - IF Goiano / Campus Posse

Documento assinado eletronicamente por:

- Janine Mesquita Goncalves, ENGENHEIRO AGRONOMO, em 26/02/2021 19:49:17.
- Carlos Frederico de Souza Castro, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 26/02/2021 16:46:12.
- Dener Marcio da Silva Oliveira, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 26/02/2021 16:34:58.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 24/02/2021. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 242917  
Código de Autenticação: cf6e6dac00



INSTITUTO FEDERAL GOIANO  
Campus Rio Verde  
Rodovia Sul Goiana, Km 01, Zona Rural, None, RIO VERDE / GO, CEP 75901-970  
(64) 3620-5600

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pelo dom da vida e sabedoria concedida para a realização deste trabalho.

Aos meus pais Marly e Luiz Antonio, que sempre me incentivaram a seguir o caminho do conhecimento, sendo minha base e apoio nos momentos mais difíceis.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Dener Márcio da Silva Oliveira, por todo conhecimento e experiências a mim transmitidos. Aos meus coorientadores, Prof. Dr. Rodrigo Braghiroli, Prof. Dr. João Carlos Perbone de Souza, Prof. Dr. Edson Luiz Souchie e Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Luciana Cristina Vitorino, que participaram desse projeto e colaboraram com a minha formação profissional e pessoal, me oferecendo todo suporte necessário para que esse meu itinerário pudesse ser concluído.

Aos meus colegas do Laboratório de Fertilizantes Organominerais, Arizeu, Autielis e Prof. Celso Belisário. Aos colegas do Laboratório de Microbiologia Agrícola, Denise, Bárbara, Lidiane e Natasha. E aos colegas do Laboratório de Produtos de Origem Animal, João “Texera” e Prof. Marco Antonio, que me auxiliaram na execução do projeto e com empréstimos de equipamentos e reagentes.

Aos meus queridos amigos, Eloisa e Arizeu, que me ajudaram desde o início até o presente momento, sempre me incentivando ao longo dessa jornada. Obrigada pela amizade! E a todos que me ajudaram direta ou indiretamente na realização deste trabalho.

## **BIOGRAFIA DA AUTORA**

Lígia Gabriela de Sá Vanin, natural de Rio Verde – Goiás, nascida em 15 de julho de 1991, filha de Marly do Carmo de Sá Vanin e Luiz Antonio Vanin. Em 2012, formou-se em Engenharia Ambiental, pela Universidade de Rio Verde. Durante a graduação foi bolsista do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC).

Em 2013, ingressou no Programa de Pós-Graduação Lato Sensu em Engenharia de Segurança do Trabalho, pela Universidade de Rio Verde, concluindo -o em 2015.

Em 2019, iniciou no Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde, sob a orientação do Prof. Dr. Dener Márcio da Silva Oliveira, atuando na linha de pesquisa Agroquímica Ambiental.

**SUMÁRIO**

INTRODUÇÃO .....	15
OBJETIVOS.....	18
2.1 Geral.....	18
2.2 Específicos.....	18
REFERÊNCIAS .....	19
CAPÍTULO I - Comparação de métodos para quantificação de sulfato em solos adubados com enxofre elementar .....	23
INTRODUÇÃO .....	25
MATERIAL E MÉTODOS.....	28
2.1 Delineamento Experimental .....	28
2.2 Determinação turbidimétrica proposta por Vitti (1989).....	29
2.3 Determinação turbidimétrica proposta pelo PROFERT-MG (2005).....	29
2.4 Determinação gravimétrica proposta por Campos & Teixeira (2017).....	30
2.5 Análise Estatística .....	31
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
CONCLUSÕES .....	36
REFERÊNCIAS .....	37
CAPÍTULO II - Efeito da cama aviária e inoculação microbiana na oxidação de enxofre elementar de formulações organominerais.....	40
INTRODUÇÃO .....	42
MATERIAL E MÉTODOS.....	45
2.1 Preparo do Experimento e Delineamento Experimental .....	45
2.2 Preparo dos fertilizantes organominerais .....	47
2.3 Preparo dos microrganismos (inóculo) .....	48
2.4 Análises dos parâmetros.....	49
2.4 Análise Estatística .....	51
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
CONCLUSÕES .....	58
REFERÊNCIAS .....	58



**LISTA DE TABELAS****CAPÍTULO I**

Tabela 1 - Análise química das amostras de solo coletadas no horizonte A em área experimental do IF - Campus Rio Verde para implantação do experimento.....	28
Tabela 2 – Resultados das análises do teor de sulfato nos métodos propostos por Vitti (1989), Campos & Teixeira (2017) e PROFERT-MG (2005), respectivamente.....	32
Tabela 3 – Teores de sulfatos obtidos no período inicial de implantação do experimento para cada fertilizante incorporado ao Latossolo .....	33

**CAPÍTULO II**

Tabela 1 - Análise química das amostras de solo coletadas no horizonte A em área experimental do IF - Campus Rio Verde para implantação do experimento.....	46
---	----

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO I

- Figura 1 - Resultados das análises do teor de sulfato nos métodos propostos por PROFERT-MG (2005), VITTI (1989) e Campos & Teixeira (2017), respectivamente ..... 32

### CAPÍTULO II

- Figura 1 - Preparo do experimento. A – Determinação da capacidade de campo (EMBRAPA, 2009); B – Incubação das tratamentos; C – Restabelecimento da capacidade de campo diariamente; D – Retirada das amostras da BOD para determinação dos parâmetros avaliados ..... 47
- Figura 2 - Preparação dos fertilizantes organominerais. A – Secagem da cama aviária em estufa; B – Trituração das partículas da cama aviária em moinho de bolas; C – Granulação do fertilizante organomineral; D – Separação dos grânulos ..... 48
- Figura 3 - Teor de  $S-SO_4^{2-}$  (PROFERT-MG, 2005) no solo em função do tempo para tratamentos inoculados e não inoculados, respectivamente. CF: Cama de frango; STP: Supertriplo; S: Enxofre Elementar; IN: Inoculado; AC: Autoclavado ..... 52
- Figura 4 - Valores obtidos de pH (em  $CaCl_2$ ) do solo em função do tempo resultantes da oxidação do S-elementar. CF: Cama de frango; STP: Supertriplo; S: Enxofre Elementar; IN: Inoculado; AC: Autoclavado ..... 54
- Figura 5 - Matriz de Dispersão de Teor de sulfato ( $mg\ dm^{-3}$ ) e pH em solos incubados com enxofre elementar durante o período de 70 dias ..... 55
- Figura 6 - Valores obtidos de Carbono da Biomassa Microbiana do Solo (VANICE et al., 1987) em função do tempo resultantes da oxidação do S-elementar. CF: Cama de frango; STP: Supertriplo; S: Enxofre Elementar; IN: Inoculado; AC: Autoclavado ..... 56
- Figura 7 - Matriz de Dispersão de Teor de sulfato ( $mg\ dm^{-3}$ ) e BMS-C em solos incubados com enxofre elementar durante o período de 70 dias ..... 57

## RESUMO

VANIN, LÍGIA GABRIELA DE SÁ. Dissertação apresentada ao Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO, como parte das exigências da Pós-Graduação – Mestrado em Agroquímica. Fevereiro de 2021. Determinação e dinâmica de oxidação do enxofre elementar em formulações organominerais. Orientador: Dr. Dener Márcio da Silva Oliveira, Coorientadores: Dr. Rodrigo Braghiroli, Dr. João Carlos Perbone de Souza, Dr. Edson Luiz Souchie, Dra. Luciana Cristina Vitorino.

A adição de enxofre elementar à fórmulas de fertilizantes pode representar uma alternativa técnica que resulta em uma redução de custos de produção, de transporte e de aplicação para o agricultor, permitindo a fabricação de fertilizantes com altos teores de NPK e com adequada quantidade de enxofre para as culturas. O enxofre elementar, quando aplicado ao solo, somente é absorvido pelas plantas depois de sua oxidação a sulfato por meio de reações catalisadas, principalmente por microrganismos. Nesse sentido, os objetivos com este trabalho foram: a) avaliar o efeito conjunto da incorporação de cama aviária e inoculação microbiana na oxidação do enxofre elementar presente no solo, em diferentes tempos de avaliação; b) avaliar o efeito do tempo para a oxidação do enxofre elementar, na presença de cama aviária; c) avaliar a eficiência da incorporação de cama aviária na oxidação do enxofre elementar; d) verificar se a inoculação microbiana da espécie *Bacillus cereus* influencia na oxidação do enxofre elementar. Adicionalmente, menciona-se que amostras de solo foram incubadas com tratamentos constituídos de um fatorial de (6 x 2) sendo, 06 fertilizantes (Cama de Frango (CF) + Supertriplo (STP) + Enxofre Elementar (S<sup>0</sup>) – Autoclavado; CF + STP + S<sup>0</sup> – Não autoclavado; CF + S<sup>0</sup> – Autoclavado; CF + S<sup>0</sup> – Não autoclavado; STP + S<sup>0</sup>; S<sup>0</sup>), 02 doses de bactérias solubilizadoras (0,0 e 3 ml.g<sup>-1</sup> de S<sup>0</sup>), cada ml contendo 4,1x10<sup>6</sup> UFC, totalizando 12 tratamentos incubados por um período de 70 dias, em estufa a uma temperatura controlada de 27 ± 1°C. Foram avaliados: teores de sulfato, pH e a quantificação da biomassa microbiana do solo. A incorporação de cama aviária à a fonte de enxofre elementar se mostrou de forma positiva, comprovando que apenas os microrganismos presentes na cama foram capazes de oxidar o enxofre elementar. Aos 14 dias de incubação obteve-se a maior taxa de oxidação. No entanto, os tratamentos contendo Cama de Frango + Supertriplo + S-elementar e Supertriplo + S-elementar (Inoculado) continuaram em

crescimento aos 28 dias, atingindo valores respectivos de 933,35 e 877,38 mg dm<sup>-3</sup> de sulfato no solo.

**Palavras-chave:** Adubação orgânica; Sulfato; Biomassa microbiana; *Bacillus cereus*; microrganismos oxidantes.

## ABSTRACT

VANIN, LÍGIA GABRIELA DE SÁ. Dissertation presented to Institute Federal Goiano – Campus Rio Verde – Go, as part of the requirements of the Post-Graduation Program – Master in Agrochemistry. February 2021. Determination and dynamics of oxidation of elemental sulfur in organomineral formulations. Advisor: Dr. Dener Márcio da Silva Oliveira, Co-advisors: Dr. Rodrigo Braghiroli, Dr. João Carlos Perbone de Souza, Dr. Edson Luiz Souchie, Dr<sup>a</sup> Luciana Cristina Vitorino.

The addition of elemental sulfur to fertilizer formulas can represent a technical alternative that results in a reduction of production, transport and application costs for the farmer, conducting to the manufacture of fertilizers with high NPK contents and with an adequate amount of sulfur for cultures. Elemental sulfur, when applied to the soil, is only absorbed by plants after its oxidation to sulfate through catalyzed reactions, mainly by microorganisms. In the sense, the objectives with this work were: a) to evaluate the joint effect of the incorporation of poultry litter and microbial inoculation on the oxidation of elemental sulfur identified in the soil, at different times of evaluation; b) evaluate the effect of time for the oxidation of elemental sulfur, in the presence of poultry litter; c) evaluate the efficiency of the incorporation of poultry litter in the oxidation of elemental sulfur; d) check if the microbial inoculation of the species *Bacillus cereus* influences the oxidation of elemental sulfur. Soil samples were incubated with treatments consisting of a factorial of (6 x 2), 06 fertilizers (Poultry Litter (CF) + Super triple (STP) + Elemental Sulfur (S<sup>0</sup>) – Autoclaved; CF + STP + S<sup>0</sup> – Not autoclaved; CF + S<sup>0</sup> - Autoclaved; CF + S<sup>0</sup> – Not autoclaved; STP + S<sup>0</sup>; S<sup>0</sup>), 02 doses of solubilizing bacteria (0.0 and 3 ml.g<sup>-1</sup> of S<sup>0</sup>), each ml containing 4.1x10<sup>6</sup> CFU, totaling 12 treatments incubated for a period of 70 days, in an oven at a controlled temperature of 27 ± 1°C. The following items were evaluated: sulfate content, pH and the quantification of soil microbial biomass. The incorporation of poultry litter to the elemental sulfur source was positive, proving that only the microorganisms identified in the litter were able to oxidize elemental sulfur. At the 14 days of incubation, the highest oxidation rate was obtained. However, the treatments containing Poultry Litter + Super triple + Elemental Sulfur and Super triple + Elemental Sulfur (Inoculated) continued to grow during 28 days, reaching respective values of 933,35 and 877,38 mg dm<sup>-3</sup> of sulfate in the soil.

**Keywords:** Organic fertilization; Sulfate; Microbial biomass; *Bacillus cereus*; oxidizing microorganisms.

## 1. INTRODUÇÃO

O enxofre (S) é um macronutriente. O seu reconhecimento ocorreu há mais de 200 anos, tendo os primeiros relatos de aumento de produtividade em pastagens ocorridos em 1768, e rapidamente a aplicação de enxofre foi adotada na Europa e nas Américas (DUKE & REISENAUER, 1986). Nas plantas, os compostos de enxofre participam de reações fisiológicas e bioquímicas. A maior parte do enxofre no vegetal é orgânica (proteínas e peptídeos), na forma de cisteína e de metionina (DOMINGOS et al., 2015). Como nutriente para a fisiologia vegetal, o enxofre influi na redução de nitrato, na fixação biológica do nitrogênio e na síntese de proteínas nos tecidos vegetativos e reprodutivos da planta.

O enxofre também se encontra na planta na forma inorgânica de sulfato, como reserva. O S inorgânico, além de ser a principal forma móvel na planta, é a fonte de enxofre na qual a absorção radicular se torna deficiente. Além disso, é um dos fatores que influencia na qualidade do odor e do gosto dos produtos agrícolas. A falta do enxofre na planta além de reduzir a produtividade, pode também afetar a qualidade dos alimentos devido à menor concentração de cisteína e metionina nas proteínas.

O Brasil detém apenas 1,2% das reservas mundiais de enxofre, que somam 48,5 milhões de toneladas, e consome cerca de 1,6 milhão de toneladas anuais de S elementar, importando 90% desse total devido à pequena produção nacional (STIPP & CASARIN, 2010; USGS, 2007). A sua deficiência na agricultura brasileira, em razão da baixa fertilidade do solo, é um fator limitante para a produção agrícola, especialmente na região dos Cerrados. A deficiência de S na agricultura ocorre em diversas regiões do Brasil, em razão da baixa fertilidade natural dos solos, da pequena quantidade de matéria orgânica, do aumento da exportação de S pelos grãos causados por produtividade elevada das variedades melhoradas, e das perdas por lixiviação de sulfato, acentuadas pela aplicação de calcário e fósforo (RHEINHEIMER et al., 2005; VITTI et al., 2007; BROCH et al., 2011, MALAVOLTA, 1982; SFREDO & MOREIRA, 2015; FIORINI et al., 2016).

Além dos teores de S disponível serem bastante baixos, principalmente nos solos tropicais, e não satisfazerem as necessidades das plantas, alterações na condução das práticas agrícolas, como por exemplo o uso de fertilizantes contendo baixo teor de S, têm colaborado para a diminuição da quantidade de S disponível. Dessa forma, há necessidade de se aplicar fertilizantes que contenham S na forma elementar ou superfosfato simples. A fertilização do solo com S é destinada a sustentar o teor de  $S-SO_4^{2-}$  disponível, que

pode ser mais de 70% da absorção total de S pelas plantas e também para repor o S removido do solo por colheita de grãos (DEGRYSE et al., 2018).

Na agricultura brasileira, as fontes mais comuns de enxofre são o superfosfato simples (12% S-sulfato) e o sulfato de amônio (24% de S-sulfato), utilizadas isoladamente ou em fórmulas NPK de baixa concentração (HOROWITZ, 2003). STIPP & CASARIN, 2010). Embora o enxofre no solo encontre-se predominantemente na forma orgânica, a forma inorgânica é de extrema importância pois é nesta forma (S-sulfato) que as plantas conseguem absorver o nutriente. O S-sulfato tem maior solubilidade, volatilidade e mobilidade no perfil do solo. Além disto, a forma de enxofre predominante nos fertilizantes é a inorgânica (BOHN et al., 1986).

A adição de enxofre elementar à fórmulas de fertilizantes comerciais pode representar uma alternativa técnica que resulta em uma redução de custos de produção, de transporte e de aplicação para o agricultor, permitindo a fabricação de fertilizantes com altos teores de NPK e com adequada quantidade de enxofre, visto que o enxofre elementar contém mais de 90% de S em sua composição.

O enxofre elementar ( $S^0$ ), quando aplicado ao solo, somente é absorvido pelas plantas depois de sua oxidação a sulfato por meio de reações catalisadas principalmente por microrganismos (HOROWITZ & MEURER, 2006). Em experimento realizado utilizando dois tipos de solos, Argissolo e Latossolo, após 70 dias de incubação, as quantidades de S-sulfato no Argissolo foram acentuadamente superiores às quantidades obtidas no Latossolo, 563 mg/dm<sup>3</sup> e 207 mg/dm<sup>3</sup>, respectivamente, enquanto que no tratamento em que não houve adição de S elementar (testemunha), o teor de S-sulfato, durante o mesmo período de incubação, não apresentou alteração significativa. Além do microbioma do solo, outros fatores que afetam diretamente na oxidação são: temperatura, pH, umidade, aeração, teores de nutrientes e de matéria orgânica (HOROWITZ, 2003).

A área superficial específica do enxofre elementar também afeta a oxidação, pois depende da forma, do tamanho, da composição, do grau de dispersão e da taxa de aplicação das partículas de enxofre elementar. Quanto maior a área, associada à presença de microrganismos oxidantes, maior a taxa de oxidação de S elementar em S-sulfato. Embora seja possível esta reação ocorrer por fatores abióticos, a oxidação do S elementar é principalmente realizada por microrganismos. Logo, o tamanho da população microbiana específica e a sua atividade determinam a taxa de oxidação do enxofre elementar (LAWRENCE & GERMIDA, 1988; HOROWITZ, 2003).



Os microrganismos envolvidos no processo de oxidação são, principalmente, bactérias do gênero *Thiobacillus* (HEYDARNEZHAD et al., 2012). A oxidação do S elementar a sulfato, sendo dependente de microrganismos, resulta em um sistema em que as condições apropriadas para o crescimento vegetal são também favoráveis para a oxidação microbiológica do S elementar.

A adição de compostos orgânicos é fundamental à qualidade do solo, caracterizando-se pela liberação gradativa de nutrientes que reduz processos como lixiviação, fixação e volatilização, ainda que dependa necessariamente da taxa de decomposição, controlada pela temperatura, umidade, textura e mineralogia do solo, além da composição química do material orgânico utilizado (ORMAN & KAPLAN, 2011).

O aproveitamento de adubos orgânicos de origem animal é de extrema importância para o desenvolvimento das culturas, principalmente devido ao baixo custo e dos benefícios destes na melhoria da fertilidade, conservação do solo como também aproveitamento dos recursos existentes na propriedade. (BRITO et al., 2005; PAULETTI et al., 2008; PENÃ, 2010). A utilização de resíduos produzidos dentro da propriedade podem diminuir custos de produção, como por exemplo a cama do aviário gerada na criação de aves, que pode ser utilizada como adubo orgânico (VILELA, 2009).

O Brasil é o segundo maior produtor e líder mundial como exportador de carne de frango, produzindo 13 milhões de toneladas e destas, 4,3 milhões são exportadas (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL, 2018). No entanto, atrelado à produção, há geração de uma quantidade significativa de resíduos, especialmente a cama de aviário (PAULA JUNIOR, 2014). A cama de aviário é utilizada na avicultura para forrar o piso dos galpões, constituída por um material que incorpora e absorve as excreções, restos de rações e penas. Dentre os materiais absorventes frequentemente utilizados, tem-se a maravalha, casca de café, sabugo de milho triturado, capins, restos de culturas e outros (VIEIRA, 2011). Dentro dos galpões, a geração de cama aviária pode chegar a 02 kg por animal em cada lote (BOLAN et al., 2010). Porém, o uso e manejo incorreto desta cama aviária pode causar graves impactos ambientais devido às altas concentrações de nitrogênio e fósforo presentes nesse resíduo, podendo afetar a atmosfera, água, solo e as próprias aves.

Acrescenta-se que vem sendo realizados vários estudos buscando alternativas viáveis e sustentáveis para o uso da cama aviária a medida que cresce a cadeia avícola no país (CARVALHO et al., 2011).

A utilização de fertilizante orgânico obtido a partir de cama de frango pode contribuir para a melhoria das características físicas, químicas e biológicas do solo, refletindo no seu potencial produtivo, principalmente em solo que apresenta baixos teores de matéria orgânica, como os do Cerrado (FELINI & BONO, 2011). O uso adequado da cama aviária melhora as características químicas, físicas e biológicas do solo (SILVA et al., 2015).

A cama de frango é uma boa fonte de nutrientes, e se manejada adequadamente, pode suprir parcial ou totalmente o fertilizante químico, além de que o seu uso incorpora matéria orgânica no solo que melhora os atributos físicos, aumenta a capacidade de retenção de água, reduz a erosão, melhora a aeração e cria um ambiente adequado para o desenvolvimento da flora microbiana do solo (BLUM et al., 2003). As mudanças que ocorrem no solo são refletidas na comunidade microbiana e na sua atividade metabólica, sendo considerada um bioindicador da qualidade do solo (NOGUEIRA, 2013).

Nesse sentido, é possível que os efeitos da adição da cama-de-aviário influenciem a oxidação do S elementar por alterar a atividade dos microrganismos no solo. Com base no que foi exposto, objetivou-se avaliar a eficiência da adição de cama aviária na oxidação do enxofre elementar no solo após inoculação microbiana.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Geral**

O objetivo geral deste trabalho foi avaliar o efeito conjunto da incorporação de cama aviária e inoculação microbiana na oxidação do enxofre elementar presente no solo, em diferentes tempos de avaliação.

### **2.2. Específicos**

Avaliar o efeito do tempo para a oxidação do enxofre elementar, na presença de cama aviária;

Avaliar a eficiência da incorporação de cama aviária na oxidação do enxofre elementar;

Verificar se a inoculação microbiana da espécie *Bacillus cereus* influencia na oxidação do enxofre elementar.

### 3. REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. Relatório anual 2018. São Paulo, 2018. Disponível em: <http://abpa-br.com.br/storage/files/relatorio-anual-2018.pdf>. Acesso em: 20 jun. 2019.

BLUM, L. E. B.; AMARANTE, C. V. T.; GÜTTLER, G.; MACEDO, A. F.; KOTHE, D.; SIMMLER, A.; PRADO, G.; GUIMARÃES, L. 2003. Produção de moranga e pepino em solo com incorporação de cama aviária e casca de pinus. *Horticultura Brasileira* 21: 627-631, 2003.

BOHN, H. L.; BARROW, N. J.; RAJAN, S. S. S.; PARFITT, R.L. Reactions of inorganic sulfur in soils. In: *SULFUR in agriculture*. Madison: ASA:CSSA:SSSA, p. 233-249, 1986 (Agronomy monography, 27).

BOLAN, N. S.; SZOGI, A. A.; CHUASAVATHI, T.; SESHADRI, B.; ROTHROCK, M. J.; PANNEERSELVAM. P. Uses and management of poultry litter. **World's Poultry Science Journal**, v. 66, p. 673-698, 2010.

BRITO, O. R.; VENDRAME, P. R. S.; BRITO, R. M. Alterações das propriedades químicas de um latossolo vermelho distroférico submetido a tratamentos com resíduos orgânicos. *Semina: Ciência Agrária*, Londrina, v.26, n.1, p.33-40, jan/mar. 2005.

BROCH, D. L.; PAVINATO, P. S.; POSSENTI, J. C.; MARTIN, T. N.; QUIQUI, E. M. D. Produtividade da soja no cerrado influenciada pelas fontes de enxofre. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 42, n. 3, p.791-796, jul/set, 2011.

CARVALHO, T. M. R.; MOURA, D. J.; SOUZA, Z. M.; SOUZA, G. S.; FREITAS BUENO, L. G. Qualidade da Cama e do Ar em Diferentes Condições de Alojamento de Frangos de Corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 4, p. 351-361, 2011.

DEGRYSE, F.; SILVA, R. C.; BAIRD, R.; BEYRER, T.; BELOW, T.; MCLAUGHLIN, M. J. Uptake of elemental or sulfate-S from fall- or spring-applied co-granulated fertilizer by corn - a stable isotope and modeling study. **Field Crop Res.**; 221:322-32, 2018.

DOMINGOS, C. S.; LIMA, L. H. S.; BRACCINI, A. L. Nutrição mineral e ferramentas para o manejo da adubação na cultura da soja. *Scientia Agraria Paranaensis*, Maringá, v.14, n.3, p.132-140, 2015.

DUKE, S. H.; REISENAUER, H. M. Roles and requirements of sulfur in plant nutrition. In: **SULFUR in agriculture**. Madison: ASA:CSSA:SSSA, p.123-168, 1986 (Agronomy monography, 27).

FELINI, F. Z.; BONO, J. A. M. Produtividade de soja e milho, em sistema de plantio com uso de cama de frango na região de Sidrolândia-MS, **Ensaio e Ciência: Ciências Agrárias, Biológicas e da Saúde**, v.15, n.5, 2011.

FIORINI, I. V. A.; PINHO, R. G. V.; PIRES, L. P. M.; SANTOS, A. O.; FIORINI, F. V. A.; CANCELIER, L. L.; RESENDE, E. L. Avaliação de fontes de enxofre e das formas de micronutrientes revestindo o NPK na cultura do milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Lavras, v.15, n.1, p. 20-29, 2016.

HEYDARNEZHAD, F.; SHAHINROKHSAR, P.; VAHED, H. S.; BESHARATI, H. Influencia of elemental sulfur and sulfur oxidizing bacteria on some nutrient deficiency in calcareous soils. **International Journal of Agriculture and crop Sciences**, v.4, n.12, p.735-739, 2012.

HOROWITZ, N. **Oxidação e eficiência agrônômica do enxofre elementar em solos do Brasil**. 2003. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003.

HOROWITZ, N.; MEURER, E.J. Oxidação do enxofre elementar em solos tropicais. *Ciência Rural*, v.36, p.822-828, 2006.

LAWRENCE, J. R.; GERMIDA, J. J. Relationship between microbial biomass and elemental sulfur oxidation in agricultural soils. **Soil Science Society of American Journal**, Madison, v.52, p.672-675, 1988.

MALAVOLTA, E. **Nitrogênio e enxofre nos solos e culturas brasileiras**. São Paulo: Centro de Pesquisa e Promoção do Sulfato de Amônio, 59p., 1982.

NOGUEIRA, M.A. Aplicação de resíduos ao solo: a microbiologia pode ajudar no monitoramento? In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 34., Florianópolis/SC. Anais... Florianópolis, CBCS. 2013.

OBBER, J. A. Mineral Commodity Summaries. USGS., Washington, U.S. Bureau of Mines Annual (online), 1998 a 2007. Disponível em: <http://minerals.usgs.gov/minerals/pubs/commodity/sulfur/index.html> Acesso em: 18 de abril de 2019.

ORMAN, S.; KAPLAN, M. Effects of Elemental sulfur and farmyard manure on Ph and salinity. Kan soil and some nutrient elements in tomato plant. **Journal of Agriculture Science on technology**, v 5, P 20-26, 215, 2011.

PAULA JUNIOR, S.E.M. Avaliação das alternativas de disposição final do resíduo da produção de frango de corte: cama de frango. Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação, 100 p, 2014.

PAULETTI, V.; BARCELLOS, M.; MOTTA, A. C. V.; MONTE SERRAT, B.; SANTOS, I.R. Produtividade de culturas sob diferentes doses de esterco líquido de gado de leite e de adubo mineral. **Scientia Agraria**, Curitiba, v.9, n.2, p.199-205, 2008.

PENÃ, J. A. G. A. Produtividade de milho, perdas de nitrogênio e compartimentos de matéria orgânica. Programa de Pós-graduação em Solos e Nutrição de Plantas, Universidade Federal de Viçosa, p. 105, 2010.

RHEINHEIMER, D. S.; ALVAREZ, J. W. R.; FILHO, B. D. O.; SILVA, L.S.; BORTOLUZZI, E. C. Resposta de culturas à aplicação de enxofre e a teores de sulfato num solo de textura arenosa sob plantio direto. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 3, p. 562-569, 2005.

SFREDO G. J; MOREIRA, A. Efficiency of sulfur application on soybean in two types of Oxisols in Southern Brazil. **Commun Soil Sci Plant Anal**. 46:1802–1813, 2015.

SILVA, A. J. et al. Atributos biológicos e físico-hídricos de um solo cultivado com eucalipto e adubado com cama de frango em mineiros – GO. *Global Science and Technology*, v. 8, n. 3, p. 12–20, 2015.

STIPP, S. R.; CASARIN, V. A importância do enxofre na agricultura brasileira. **Informações Agronômicas**, v.129, n.1, p. 14-20, 2010.

VIEIRA, M. F. A. Caracterização e análise da qualidade sanitária de camas de frango de diferentes materiais reutilizados sequencialmente. Programa de Pós-graduação em Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa, Dissertação de Mestrado, 81 p, 2011.

VILELA, L. A. F.; PORTUGAL, A .F.; CARBALLAL, M. R.; RIBEIRO, D. O.; ARAÚJO, E. J.; GONTIJO, M. F. D.. Efeitos do uso de cama de frango associada a diferentes doses de nitrogênio no acúmulo de matéria seca em *Brachiariabrizanthacv. marandu*. In: Anuais... I Simpósio Internacional sobre Gerenciamento de Resíduos de Animais Uso dos Resíduos da Produção Animal como Fertilizante. Florianópolis, 2009.

VITTI, G. C.; HEIRINCHS, R. Formas tradicionais e alternativas de obtenção e utilização do nitrogênio e enxofre: uma visão holística. YAMADA, T.; ABDALLA, S. R. S.; VITTI, G. C. **Nitrogênio e enxofre na agricultura brasileira**, v. 1, p. 109-160, 2007.

## CAPÍTULO I

### **Comparação de métodos para quantificação de sulfato em solos adubados com enxofre elementar**

**RESUMO:** O enxofre (S) na sua forma de sulfato ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) representa a maior fração do S inorgânico nos solos, que, por sua vez, é a forma prontamente disponível para a absorção do elemento pelas plantas. Há diversos métodos para quantificação do sulfato. O método apropriado deve ser quantitativo, com adequada sensibilidade, e deve apresentar pouca influência do extrator ou dos constituintes do solo. Portanto a metodologia mais utilizada é a determinação quantitativa do sulfato por intermédio da precipitação na forma de sulfato de bário, fundamentadas em determinações volumétrica, gravimétrica, turbidimétrica ou colorimétrica. O método frequentemente utilizado para realizar análise de enxofre em fertilizantes é o gravimétrico, embora o método turbidimétrico seja uma alternativa. Objetivou-se com o trabalho comparar três métodos distintos, sendo dois turbidimétricos (Vitti, 1989; PROFERT-MG, 2005) e um gravimétrico (Campos & Teixeira, 2017) para determinação do teor de sulfato em solos, avaliando viabilidade, tempo e custos do processo. A utilização dos métodos turbidimétricos em amostras ricas em sulfato mostrou-se superior ao método gravimétrico. Porém, em se tratando de amostras com baixo teor de sulfato, o método gravimétrico revelou-se eficaz, determinando quantidades similares ao método turbidimétrico. A adaptação do método turbidimétrico proposto por PROFERT-MG (2005) mostrou-se viável pois mantém o sulfato de bário em suspensão por um período maior de tempo, evitando interferências na leitura em espectrofotômetro. O método turbidimétrico apresenta boa repetibilidade e reprodutibilidade, além de ser mais rápido e prático se comparado ao gravimétrico.

**Palavras-chave:** Turbidimetria; Gravimetria; Latossolo; Extração; Determinação.

## ABSTRACT

### **Comparison of methods for quantifying sulfate in soils fertilized with elemental sulfur**

Sulfur (S) in its sulfate form ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) represents the largest fraction of inorganic S in soils, which, in turn, it is the form readily available for the absorption of the element by plants. There are several methods for quantifying the sulfate. The appropriate method should be quantitative, with adequate sensitivity, and it should have little influence from the extractor or soil constituents. Therefore, the most used methodology is the quantitative determination of sulfate through precipitation in the form of barium sulfate, based on volumetric, gravimetric, turbidimetric or colorimetric determinations. The often used method to perform sulfur analysis in fertilizers is the gravimetric, although the turbidimetric method is an alternative. The objective of this work was to compare three different methods, two turbidimetric (VITTI, 1989; PROFERT-MG, 2005) and one gravimetric (CAMPOS & TEIXEIRA, 2017) to determine the sulfate content in soils, evaluating feasibility time and costs of the process. The use of turbidimetric methods in samples which are rich in sulfate proved to be superior to the gravimetric method. However, in the case of samples with low sulfate content, the gravimetric method proved to be effective, determining similar quantities to the turbidimetric method. The adaptation of the turbidimetric method proposed by PROFERT-MG (2005) proved to be feasible because it keeps barium sulfate in suspension for a longer period, avoiding interferences in the reading in a spectrophotometer. The turbidimetric method has good repeatability and reproducibility, in addition to being faster and more practical when compared to the gravimetric method.

**Keywords:** Turbidimetry; Gravimetry; Oxisol; Extraction; Determination.



## 1. INTRODUÇÃO

O enxofre (S) na sua forma de sulfato representa a maior fração do S inorgânicos nos solos sendo a forma prontamente disponível para a absorção do elemento pelas plantas. O enxofre disponível para a planta é constituído pelo sulfato presente na solução ou pelo que está em equilíbrio com o solo e também pelo sulfato que é liberado do enxofre orgânico no período de crescimento da planta. A dinâmica do enxofre no solo engloba reações de oxirredução, mineralização, imobilização e adsorção de sulfato nos colóides do solo. Essas transformações que ocorrem no solo dificultam a avaliação da disponibilidade de S para as plantas (CAMPOS & TEIXEIRA, 2017).

Há diversos métodos para quantificação do sulfato. O método apropriado deve ser quantitativo, com adequada sensibilidade, deve apresentar pouca influência do extrator ou dos constituintes do solo. Atualmente a metodologia mais utilizada é a determinação quantitativa do sulfato por intermédio da precipitação na forma de sulfato de bário, podendo ser de maneira volumétrica, gravimétrica, turbidimétrica ou colorimétrica.

Vários extratores podem ser utilizados para extrair o sulfato do solo, incluindo água e soluções salinas diluídas tais como:  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{LiCl}$  ou  $\text{KCl}$ . Esses extratores extraem sulfatos solúveis, embora não extraiam sulfatos adsorvidos. Para extrair ambos, as soluções podem ser utilizadas com ânions que podem deslocar sulfatos adsorvidos, como por exemplo:  $\text{NH}_4\text{OAc}$  (0,5-1 M),  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$  ou  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (500 mg P  $\text{L}^{-1}$ ) (TABATABAI, 1996). O sulfato solúvel, o adsorvido e a fração do S-orgânico tem sido extraídos com  $\text{NaHCO}_3$  e as soluções de fosfatos em ácido acético (REISENAUER et al., 1973).

A extração do sulfato pode ser feita por diversos métodos, sendo que as soluções contendo fosfato em sua composição têm sido bastantes usuais, visto que este íon extrai também o sulfato adsorvido às frações coloidais, além de remover a porção disponível.

Para solos com elevado pH ou contendo  $\text{CaCO}_3$ , a extração com fosfato de cálcio em ácido acético mostrou-se eficiente, porém para solos ácidos, o ácido acético não parece ser necessário (HOEFT et al., 1973). O íon  $\text{Ca}^{2+}$  age como floculante auxiliando na produção de extratos límpidos para o método turbidimétrico, evitando interferências na leitura. A solução de  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)$  apresenta melhores resultados do que a solução  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , pois a última dispersa a amostra de solo, dificultando a obtenção de um extrato

límpido, mesmo através da filtração e centrifugação; o que não ocorre utilizando o extrator  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$  (FOX et al., 1964).

O método frequentemente utilizado para realizar análise de enxofre em fertilizantes é o gravimétrico, embora o método turbidimétrico seja uma alternativa, procedimento no qual utiliza a luz para medir a concentração química (OLIVEIRA, 2012).

O método gravimétrico é realizado em várias etapas, como precipitação, digestão, filtração, lavagem, secagem, esfriamento, pesagem do precipitado e cálculos, todos visando a obtenção da espécie química que se deseja analisar (SKOOG et al., 2013; BAIRD et al., 2017). A determinação analítica que utiliza a leitura turbidimétrica em colorímetro ou espectrofotômetro do precipitado formado de sulfato de bário, vem sendo adotada nos laboratórios de fertilidade do solo do Brasil (ALVAREZ et al., 2001). A análise turbidimétrica é bastante utilizada na determinação de sulfatos em diferentes tipos de matrizes, como por exemplo, na pesquisa realizada por Rossete et al. (2008) que determinou sulfato em amostra de solo. Krug et al. (1977) publicaram um estudo no qual determinou-se sulfato na forma de sulfato de bário e como estabilizador coloidal utilizou-se álcool polivinílico (PVA) 0,05% em solução de cloreto de bário 5%, sendo empregado como solução carregadora HCl 0,01 mol L<sup>-1</sup>.

O método gravimétrico proposto por Campos & Teixeira (2017), baseia-se na adição de HCl 1:1 no extrato, precipitação por  $\text{BaCl}_2$ , calcinação do  $\text{BaSO}_4$  e determinação gravimétrica do precipitado. O precipitado é filtrado em papel filtro isento de cinzas, levado a mufla e calcinado à temperatura de 800 °C. Após o cadinho esfriar em dessecador, este é pesado e calculada a percentagem de enxofre total. Apesar de alguns laboratórios terem incluído adaptações no método para acelerar o processo, como a utilização de filtração à vácuo na determinação, diferente da forma tradicional em que é feita por gravidade tornando mais longa a análise, o tempo de análise ainda é de aproximadamente dois dias para um operador experiente.

O método de determinação da disponibilidade de sulfato proposto por Vitti (1989), baseia-se na extração do sulfato por  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$  (500 mg/L de P), dissolvidos em ácido acético 2 mol L<sup>-1</sup>. A quantificação é feita por turbidimetria, provocada na presença de  $\text{BaSO}_4$ , formado pela reação do  $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  com o  $\text{S-SO}_4^{2-}$ , extraído das amostras de solos. A matéria orgânica solúvel presente no extrato, comumente interfere na determinação turbidimétrica do sulfato. Para que seja eliminada essa interferência,

sugere-se a oxidação da matéria orgânica por aquecimento com ácido nítrico + ácido perclórico ou remoção com carvão ativado (TEDESCO et al., 1995)

Este método possui pequena sensibilidade para extratos com baixas concentrações de sulfato e é utilizado na reação uma solução de HCl contendo uma pequena quantidade de  $S-SO_4^{2-}$  de modo a colaborar na nucleação e precipitação do sulfato de bário.

Embora o presente método seja considerado o mais usual por apresentar boa repetibilidade e reprodutibilidade, além de demandar equipamentos baratos, a determinação da turbidez deve ser feita em um prazo máximo de 8 minutos após a adição dos reagentes e agitação, pois o material em suspensão tende a precipitar com o tempo podendo ocasionar erros na leitura, superestimando o teor de sulfato presente na amostra.

As metodologias de dosagem por turbidimetria, podem apresentar leituras distintas de  $S-SO_4^{2-}$  em um mesmo extrato. Isso ocorre devido ao acúmulo de precipitados que decantam com elevada e variada rapidez, dificultando a precisão. Portanto, é necessário elevar a taxa de nucleação do sulfato e também o uso de substâncias para aumentar o tempo em que o sulfato de bário fica em suspensão para a quantificação deste elemento. Os biopolímeros com base em emulsionantes, tais como proteínas e polissacarídeos como goma arábica, vem demonstrado eficácia na estabilização de emulsões que são adequadas para melhorar a biocompatibilidade, a disponibilidade e a estabilidade de compostos ativos (CHAROEN et al., 2011; POLIZELLI et al., 2006).

Sendo assim, o PROFERT-MG (2005) adaptou o método o  $BaSO_4$  em água e adicionando goma-arábica, com o objetivo de manter o material em suspensão por um período maior de tempo, eliminou interferências na leitura em espectrofotômetro.

Diversas metodologias são empregadas para a extração e determinação do teor de sulfato em solos, não havendo apenas um método recomendado para determinação de S-sulfato. Os compostos contendo fosfato têm sido os preferidos para a extração, uma vez que esse íon extrai também o sulfato adsorvido às frações coloidais, além de remover a porção disponível. Diversos trabalhos de pesquisa demonstraram a eficiência do fosfato de cálcio para extrair o sulfato (RAJI, 2001).

Dessa forma, objetivou-se com o trabalho comparar três métodos distintos para determinação do teor de sulfato em solos adubados com enxofre elementar.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Delineamento Experimental

O experimento foi realizado no Laboratório de Fertilizantes Organominerais do Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde, entre setembro de 2019 a setembro de 2020. O solo utilizado na constituição dos tratamentos foi do tipo Latossolo (Tabela 1), coletado em área experimental situada no Campus, horizonte A (de 0 a 20 cm da superfície) seco à sombra, tamisado em peneiras com malhas de 2,0 mm para a separação de partículas grosseiras. A determinação dos teores de sulfato utilizando-se os métodos recomendados foi realizada em amostras de solo incubadas com diferentes fertilizantes organominerais contendo S-elementar (Cama de Frango (CF) + Supertriplo (STP) + Enxofre Elementar (S<sup>0</sup>) – Autoclavado; CF + STP + S<sup>0</sup> – Não autoclavado; CF + S<sup>0</sup> – Autoclavado; CF + S<sup>0</sup> – Não autoclavado; STP + S<sup>0</sup>; S<sup>0</sup>), com ou sem a adição de bactérias solubilizadoras (0,0 e 3 ml.g<sup>-1</sup> de S<sup>0</sup>, com cada ml contendo 4,1x10<sup>6</sup> UFC). Os tratamentos foram repetidos 5 vezes e, a cada 14 dias (14, 28, 42, 56 e 70 dias), foi retirada uma repetição dos tratamentos para a avaliação da oxidação do enxofre elementar a sulfato em três diferentes métodos, sendo esses: método turbidimétrico proposto por Vitti (1989); método turbidimétrico proposto pelo PROFERT-MG (2005); método gravimétrico proposto por Campos & Teixeira (2017).

Tabela 1 – Análise química das amostras de solo coletadas no horizonte A em área experimental do IF - Campus Rio Verde para implantação do experimento.

Ca	Mg	Ca + Mg	Al	H + Al	K	K	S	P (mel)		
-----cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----					-----mg dm <sup>-3</sup> -----					
0,80	0,26	1,06	0,20	4,62	0,07	25,65	21,04	1,79		
Na	Fe	Mn	Cu	Zn	B	CTC	SB	V%	m%	M.O
-----Micronutrientes - mg dm <sup>-3</sup> -----						-----cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----	Sat. Bases	Sat. Al	g dm <sup>-3</sup>	
1,00	85,51	48,86	4,25	1,86	0,14	5,75	1,13	19,65	15,04	14,20
Textura (g dm <sup>-3</sup> )			Relação entre Bases			Porcentagem de bases na CTC (%)			pH	
Argila	Silte	Areia	Ca/Mg	Ca/K	Mg/K	Ca/CTC	Mg/CTC	K/CTC	CaCl <sub>2</sub>	
683,20	56,00	260,80	3,08	12,19	3,96	13,92	4,52	1,14	4,35	

## 2.2 Determinação turbidimétrica proposta por Vitti (1989)

O método proposto por Vitti (1989), descrito pela Embrapa (2009), baseia-se na extração do sulfato por íons fosfato (500 mg/L de P) dissolvidos em ácido acético 2,0 mol L<sup>-1</sup> e posterior quantificação do S disponível pela medição, em espectrofotômetro, da turbidez formada pela precipitação de sulfato pelo cloreto de bário. A extração foi realizada em erlenmeyer de 125 ml, adicionando 10 cm<sup>3</sup> de solo e 25 mL de solução extratora, a qual é composta por 2,034 g de Ca(H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, transferidos em um balão volumétrico de 1 L e completado o volume com solução de ácido acético 2 mol L<sup>-1</sup>. Posteriormente foi agitado durante 30 minutos em mesa agitadora a uma velocidade de 160 rpm. Tirou-se as amostras da mesa agitadora, foi adicionado 0,25 g de carvão ativado e agitou-se novamente por 3 minutos.

Acrescenta-se que para a determinação, adicionou-se em erlenmeyer de 50 mL uma alíquota de 2 ml de sobrenadante, 8 ml do extrator, objetivando a diluição das amostras e 1 mL de solução de HCl 6,0 mol L<sup>-1</sup> contendo 20 mg de enxofre L<sup>-1</sup>. A esta solução foi adicionado 500 mg de BaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, deixando-a em repouso por um minuto. Após esse período procedeu-se a agitação do erlenmeyer em agitador por 30 segundos de modo a obter a completa dissolução dos cristais de cloreto de bário. Retirou-se uma alíquota para medir a turbidez em espectrofotômetro a 420 nm em cubetas, num prazo máximo de 8 minutos após a adição dos cristais de cloreto de bário.

Com o objetivo de zerar o equipamento foi retirada uma amostra nas mesmas condições da extração para ser determinada a prova em branco. O cálculo do teor de sulfato no solo foi obtido pela expressão:

$$S-SO_4^{2-} (\mu\text{g cm}^{-3} \text{ de solo}) = A \times B$$

Em que:

A = concentração de S-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> (μg L<sup>-1</sup>) no extrato, determinada pela curva padrão.

B = 2,5. Fator obtido pela diluição, durante a etapa de extração, de 10 cm<sup>3</sup> de solo em 25 mL de solução extratora.

## 2.3 Determinação turbidimétrica proposta pelo PROFERT-MG (2005)

O método proposto pelo PROFERT-MG (2005) adaptou a metodologia proposta por Vitti (1989), diluindo o BaSO<sub>4</sub> em água e adicionando goma-arábica, objetivando manter o material em suspensão por um período maior de tempo, eliminando interferências na leitura em espectrofotômetro.

A extração foi realizada em erlenmeyer de 125 mL, adicionando 10 cm<sup>3</sup> de solo, 0,30 g de carvão ativado e 25 mL do extrator Ca(H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> contendo 500 mg/L de P, em ácido acético 2 mol/L. Agitou-se durante 45 minutos em mesa agitadora, a uma velocidade de 160 rpm e deixou-se decantar entre 5 a 10 minutos.

Menciona-se que da mesma forma do método anterior, foi realizada uma amostra em branco para zerar o equipamento e para a determinação, foram pipetadas em erlenmeyer de 50 mL, 2 mL do extrato, 8 mL da solução extratora, visando a diluição das amostras, 1 mL da solução padrão 15 mg/L de S, na qual foi realizada diluição seriada iniciando em solução padrão de 500 mg/L de S, contendo 1,3589 g de K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> PA (secado em estufa a 105 °C, durante 1 hora) diluído em água destilada até 500 mL. Foram adicionados também 4 mL de uma solução contendo 62,5 g de BaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O em ± 300 mL de água destilada. Em bquer de 100 mL dissolveu-se 0,625 g de goma-arábica em pó em ± 50 mL de água destilada. Passou-se esta solução a um balão de 500 mL, misturando as soluções. Adicionou-se gradativamente 88 mL de NH<sub>4</sub>OH 2,6 mol/L e completou-se o volume com água, homogeneizando a solução, sendo que esta solução deve ser preparada na hora de sua utilização.

Posteriormente à adição de reagentes, agitou-se o erlenmeyer em agitador até a homogeneização da suspensão (média de 30 segundos). Esperou-se durante 10 minutos para a completa formação de turbidez e, 2 a 3 minutos antes de fazer a leitura em espectrofotômetro de absorção molecular a 420 nm em cubetas de 1,0 cm de largura, agitou-se novamente para ressuspender o precipitado. O cálculo para determinação do teor de sulfato no solo é o mesmo utilizado no método proposto por Vitti (1989).

#### **2.4 Determinação gravimétrica proposta por Campos & Teixeira (2017)**

A metodologia por gravimetria, descrita por Campos & Teixeira (2017), consiste na extração do enxofre total na forma de sulfato, sua precipitação com cloreto de bário e pesagem desse precipitado. A metodologia acima foi adaptada no procedimento de extração e determinação, sendo que algumas etapas do procedimento proposto foram excluídas, utilizando o extrato proveniente do método proposto por Vitti (1989), objetivando evitar o desperdício de amostra, sendo que no método descrito, a destruição da matéria orgânica é realizada por aquecimento com ácido nítrico.

Neste trabalho, optou-se pela remoção da matéria orgânica utilizando o carvão ativado. Para a determinação, foram adicionados 500 mg de cloreto de bário e 1 mL de

solução de HCl 6,0 mol L<sup>-1</sup> contendo 20 mg de enxofre/L. Aguardou-se a completa decantação do BaSO<sub>4</sub> e filtrou-se o extrato em papel filtro quantitativo de faixa azul com baixo teor de cinzas, lavando-se o recipiente, objetivando filtrar todo o material. Após a completa filtração, foram fechados os papéis filtros e levados à estufa para secagem. Posteriormente, colocou-se o papel com o precipitado num cadinho de porcelana tarado e levou-se à mufla à temperatura de 800°C, mantendo a porta entreaberta durante a elevação da temperatura. Fechou-se a porta da mufla conservando-o nessa temperatura durante 1 hora. Retirou-se o cadinho, levando-o ao dessecador para esfriar e pesar. O teor de sulfato foi determinado mediante a seguinte expressão:

$$\% S = \frac{13,74 \times m}{G}$$

Em que:

m = massa (g) do precipitado de BaSO<sub>4</sub>

G = massa (g) da amostra.

O princípio do método gravimétrico é similar ao turbidimétrico, com a diferença que, no último, o precipitado formado fica em suspensão coloidal, enquanto no gravimétrico, o precipitado é decantado, seco, calcinado e pesado na forma de sulfato de bário.

### 2.5 Análise Estatística

A análise de variância (ANOVA) foi realizada empregando o software SISVAR. Os resultados obtidos foram submetidos ao teste de média para comparação estatística dos métodos descritos. O método aplicado foi o teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os métodos propostos foram comparados entre si, havendo alteração de alguns procedimentos para o método gravimétrico. Em todos os casos, a quantidade de SO<sub>4</sub> determinada foi maior quando o enxofre foi enriquecido com fertilizantes (Figura 1).

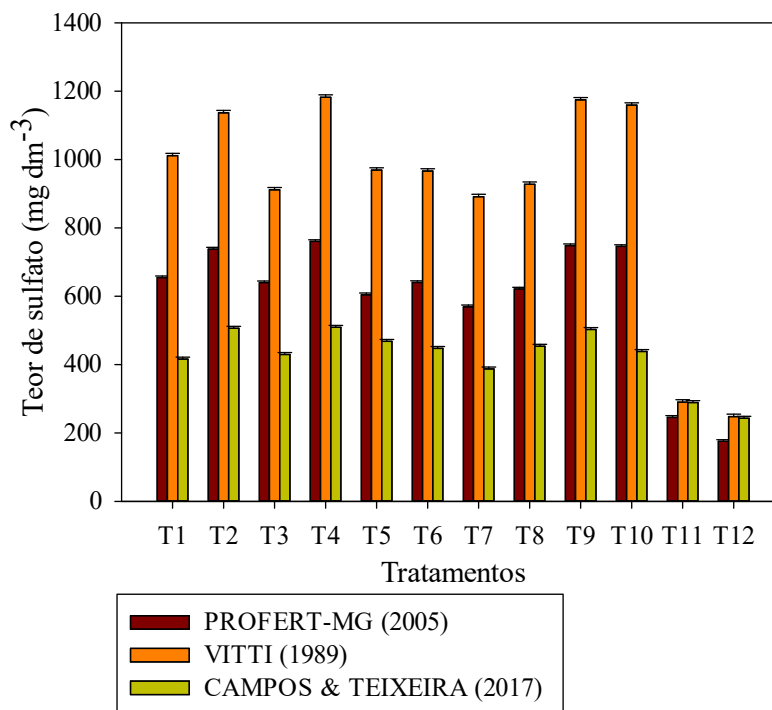


Figura 1 – Resultados das análises do teor de sulfato nos métodos propostos por PROFERT-MG (2005), VITTI (1989) e Campos & Teixeira (2017), respectivamente. T1 = Cama de Frango (CF) + Supertriplo (STP) + Enxofre Elementar (S<sup>0</sup>) – Autoclavado + Inoculado; T2 = CF + STP + S<sup>0</sup> – Inoculado; T3 = CF + STP + S<sup>0</sup> – Autoclavado; T4 = CF + STP + S<sup>0</sup>; T5 = CF + S<sup>0</sup> – Autoclavado + Inoculado; T6 = CF + S<sup>0</sup> – Inoculado; T7 = CF + S<sup>0</sup> – Autoclavado; T8 = CF + S<sup>0</sup>; T9 = STP + S<sup>0</sup> – Inoculado; T10 = STP + S<sup>0</sup>; T11 = S<sup>0</sup> – Inoculado; T12 = S<sup>0</sup>.

Tabela 2 – Resultados das análises do teor de sulfato nos métodos propostos por Vitti (1989), Campos & Teixeira (2017) e PROFERT-MG (2005), respectivamente.

TRATAMENTO	VITTI (1989)	CAMPOS & TEIXEIRA (2017)	PROFERT-MG (2005)
T1	1011,26 cA	416,25 deC	654,38 bB
T2	1136,83 bA	506,35 abC	738,12 aB
T3	911,34 cdA	429,76 cdC	639,93 bcB
T4	1182,18 aA	509,22 aC	760,36 aB
T5	969,11 dA	468,15 bcC	604,55 cdB
T6	966,32 deA	447,6 cdC	640,27 bcB
T7	891,43 fA	387,53 eC	569,35 dB
T8	927,62 efA	453,75 cdC	621,43 bcB
T9	1174,4 abA	502,79 abC	748,1 aB
T10	1158,99 abA	438,59 cdC	745,86 aB
T11	290,32 gA	289,10 fA	245,75 eB
T12	248,15 hA	243,39 gA	175,52 fB



Tabela 3 – Teores de sulfatos obtidos no período inicial de implantação do experimento para cada fertilizante incorporado ao Latossolo.

	<b>PROFERT-MG (2005)</b>	<b>VITTI (1989)</b>	<b>CAMPOS &amp; TEIXEIRA (2017)</b>
<b>CF + STP + S</b>	520,58	758,50	362,75
<b>CF + S</b>	491,96	809,97	380,74
<b>STP + S</b>	576,56	768,30	325,95
<b>S</b>	107,28	122,88	161,52

Para as amostras contendo cama de frango, supertriplo e enxofre elementar em sua composição, observou-se (Tabela 2) que para o método proposto por Vitti (1989), o tratamento CF + STP + S sem inoculação apresentou melhor resultado, com o teor de sulfato de 1182,18 mg dm<sup>-3</sup>. Em contrapartida, para os demais métodos, os tratamentos contendo CF + STP + S inoculados ou não, não apresentaram diferenças significativas à 5% de variância, apresentando os teores de 509,22 e 506,35 mg dm<sup>-3</sup> para os tratamentos não inoculado e inoculado, respectivamente (CAMPOS & TEIXEIRA, 2017) e os teores de 760,36 e 738,12 mg dm<sup>-3</sup> para os mesmos tratamentos de acordo com o método proposto pelo PROFERT-MG (2005).

As amostras contendo cama de frango e enxofre elementar em sua composição, para o método proposto por Vitti (1989), apresentaram maiores teores de sulfato nos tratamentos CF + S + IN autoclavado e não autoclavado, atingindo valores de 969,11 e 966,32 mg dm<sup>-3</sup> respectivamente. No método proposto por PROFERT-MG (2005), os maiores teores de sulfato foram encontrados nos tratamentos CF + S inoculado e não inoculado, com valores de 640,27 e 621,43 mg dm<sup>-3</sup> respectivamente, não diferenciando significativamente do tratamento contendo CF + S + IN + AC com teor de sulfato de 604,55 mg dm<sup>-3</sup>. No método proposto por Campos & Teixeira (2017), o tratamento que apresentou maior teor de sulfato foi o CF + S + IN + AC, com 468,15 mg dm<sup>-3</sup>, não diferenciando significativamente dos tratamentos CF + S inoculado ou não, com teores respectivos de 447,60 e 453,75 mg dm<sup>-3</sup>.

Os tratamentos contendo supertriplo e enxofre elementar inoculados ou não, não apresentaram diferenças significativas para os métodos turbidimétricos, com valores respectivos de 1174,40 e 1158,99 mg dm<sup>-3</sup> (VITTI, 1989) e de 748,10 e 745,86 mg dm<sup>-3</sup> (PROFERT-MG, 2005). Para o método gravimétrico (CAMPOS & TEIXEIRA, 2017), o

tratamento inoculado apresentou teor de 502,79 mg dm<sup>-3</sup> enquanto que para o tratamento não inoculado o teor foi de 438,59 mg dm<sup>-3</sup>.

Nas amostras contendo apenas enxofre elementar, para todos os métodos, os tratamentos inoculados apresentaram melhores resultados, sendo de 290,32; 289,10; e 245,75 mg dm<sup>-3</sup> (VITTI, 1989; CAMPOS & TEIXEIRA, 2017; PROFERT-MG, 2005) e teores respectivos para tratamentos não inoculados de 248,15; 243,39; e 175,52 mg dm<sup>-3</sup>.

Os teores de sulfatos obtidos no período inicial de implantação do experimento para cada fertilizante incorporado ao Latossolo (Tabela 3), demonstram que, para amostras ricas em sulfato, os métodos turbidimétricos apresentaram mais confiabilidade em seus resultados, extraindo teores mais elevados de sulfato. Já para amostras contendo menor quantidade de sulfato, como por exemplo os tratamentos contendo apenas enxofre elementar em sua composição, o método gravimétrico mostrou-se eficaz (Figura 1), visto que o método turbidimétrico possui pequena sensibilidade para extratos de baixas concentrações de S-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>.

Nos resultados obtidos (Figura 1), observa-se que os teores de sulfato provenientes da oxidação foram maiores para o método proposto por Vitti (1989), que utiliza o extrator fosfato de cálcio, sendo 2,1 vezes maior do que os valores obtidos no método proposto por Campos & Teixeira (2017) e 1,5 vezes maior do que os valores obtidos no método do PROFERT-MG (2005).

Este resultado é previsível, uma vez que o oxidante converte enxofre orgânico em sulfatos. Neste caso, pode-se observar que esses extratos oxidados mantiveram uma cor amarelada. Esta distorção da reação também pode contribuir para valores de sulfato mais elevados do que os valores alcançados pelo método gravimétrico, além da rápida e variada decantação do sulfato de bário, podendo causar interferências na leitura. Por se tratar de um método de pequena sensibilidade para extratos com baixas concentrações de S-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, a relação solo-extrator é estreita. Além disso, emprega-se na reação uma solução de HCl contendo uma pequena quantidade de S-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> para auxiliar na nucleação e precipitação do sulfato de bário (RAIJ et al., 2001).

A determinação do teor de sulfato utilizando o método turbidimétrico pode apresentar baixa precisão devido às interferências causadas pela cor do extrato (AJWA & TABATABAI, 1993) e o conteúdo das frações orgânicas que precipitam com o cloreto de bário (ANDERSON et al., 1992). Portanto, o extrato foi submetido a tratamento com carvão ativado para a remoção da matéria orgânica. Em um trabalho realizado

comparando diversos extratores, não houve diferença significativa na quantidade de sulfatos extraídos com cloreto de cálcio, cloreto de potássio, acetato de amônio ou fosfato de cálcio nos extratos tratados com carvão ativado (RUSSI et al., 2010).

No método proposto por PROFERT-MG (2005), observa-se valores intermediários de teores de sulfato, atingindo valores médios de 1,3 vezes maiores do que os valores obtidos pelo método gravimétrico. Em estudo realizado, utilizando-se três substâncias surfactantes, sendo elas: goma arábica (G.A.), tween (TW) e álcool polivinílico (PVA), demonstrou-se que as três substâncias formam uma suspensão estável que evita que se apresentem soluções coloidais que possam agir como núcleos primários e por conseguinte diminuir a possibilidade de decantação do  $S-SO_4^{2-}$  na suspensão de leitura (CABALLERO et al., 2014).

Na etapa de experimentação em laboratório pôde-se perceber que a substância surfactante atuou estabilizando o sulfato de bário em suspensão por cerca de 33 minutos, diminuindo a interferência na leitura e evitando superestimar ou subestimar o teor de sulfato disponível. Porém, o reagente de trabalho deve ser preparado diariamente, ocasionando eventuais desperdícios de reagentes.

Nos resultados obtidos para o método gravimétrico descrito por Campos & Teixeira (2017) pôde-se observar menores valores de sulfato para os tratamentos. As vantagens desse método é sua grande precisão e exatidão, além da utilização de equipamentos simples e de baixo custo. Por outro lado, a geração de grandes quantidades de resíduos e tempos geralmente muito longos para a sua execução, podem ser apontados como desvantagens deste método. Por ser um método de procedimentos demorados e em várias etapas, é passível de erros de precipitação ou perdas de precipitado durante as etapas.

Embora o método turbidimétrico seja vantajoso por ser mais rápido do que o gravimétrico, o mesmo deve ser conduzido com técnica para reproduzir as condições de produção das suspensões.

A gravimetria é um método simples, no entanto exige muitas etapas sequenciais de trabalho devido ao tempo de precipitação, de secagem e calcinação do precipitado e da pesagem deste. Enquanto que a turbidimetria permite que a determinação seja realizada em algumas horas.

Os métodos gravimétricos são tediosos e não são sensíveis o suficiente para determinar as microquantidades de  $SO_4$  contidas na maioria dos solos, enquanto métodos

turbidimétricos não modificados, frequentemente empregados para determinar S-SO<sub>4</sub> em extratos de solos intemperizados não fornecem resultados confiáveis.

Menciona-se que o problema pode ser substancialmente reduzido por uma combinação de procedimentos que incluem: limpeza do extrato com carvão ativado, concentração e desidratação do extrato, e adição de sementes de SO<sub>4</sub> antes de prosseguir com a precipitação utilizando cristais de BaSO<sub>4</sub>.

A interferência de extratos coloridos que podem não ser totalmente eliminados pela limpeza do carvão ativado, pode ser minimizado com pequena perda de sensibilidade pela leitura da turbidez em uma onda mais longa, comprimento de 600 nm, do que o normalmente empregado (420 nm). Os autores sugerem uma proporção de 1:10 de solo para o extrator Ca(H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, acoplada com extração repetida necessária para a remoção eficaz de SO<sub>4</sub> de alguns solos altamente intemperizados (FOX et al., 1987).

O método proposto por Vitti (1989) é rápido e prático, porém exige a determinação imediata de modo a evitar erros na leitura devido à decantação do sulfato de bário. A adaptação do método turbidimétrico proposto por PROFERT-MG (2005) mostrou-se viável pois mantém o BaSO<sub>4</sub> em suspensão por um período maior de tempo, evitando interferências na leitura em espectrofotômetro. E o método gravimétrico descrito por Campos & Teixeira (2017), demanda a utilização de equipamentos simples e baratos, porém exige um período de tempo maior para análise, podendo ser apontado como desvantagem deste método.

#### 4. CONCLUSÕES

A utilização dos métodos turbidimétricos em amostras ricas em sulfato mostrou-se superior ao método gravimétrico. Porém, em se tratando de amostras com baixo teor de sulfato, o método gravimétrico revelou-se eficaz, determinando quantidades similares ao método turbidimétrico.

A adaptação do método turbidimétrico proposto por PROFERT-MG (2005) mostrou-se viável e recomendado pois mantém o sulfato de bário em suspensão por um período maior de tempo, evitando interferências na leitura em espectrofotômetro.

O método turbidimétrico apresenta boa repetibilidade e reprodutibilidade, além de ser mais rápido e prático se comparado ao gravimétrico.

## 5. REFERÊNCIAS

AJWA, H.A.; TABATABAI, M.A. 1993. Comparison of some methods for determination of sulphate in soils. *Commun Soil Sci. Plant Anal.* 24 (15 & 16), 1817-1832.

ALVAREZ, V. V. H., DIAS, L. E., RIBEIRO JUNIOR, E. S., SOUZA, R. D., FONSECA, C. D. **Métodos de análises de enxofre em solos e plantas**. Viçosa: Editora UFV, 2001.

ANDERSON, G.; LEFROY R.; CHINOIM N.; BLAIR, G. 1992. Soil Sulphur testing. *Sulphur in agriculture.* 16: 6-14.

BAIRD, R. B.; EATON, A. D.; RICE, E. W.; BRIDGEWATER, L. (Eds.) **Standard methods for the examination of water and wastewater**. Washington, DC: American Public Health Association, v. 23, 2017.

CABALLERO, E. M. C.; ALVAREZ, V. H.; SANTOS, A. F. Dosagem de sulfato por turbidimetria em solos tiomórficos. *Acta Agronómica*, v. 63, n. 1, p. 42-47, 2014.

CAMPOS, D. V. B. de; TEIXEIRA, P. C. Enxofre. **Embrapa Solos-Capítulo em livro técnico (INFOTECA-E)**, 2017.

CHAROEN, R.; JANGCHUD, A.; JANGCHUD, K.; HARNSILAWAT, T.; NAIVIKUL, O. Y MCCLEMENTS, D. J. 2011. Influence of biopolymer emulsifier type on formation and stability of rice bran oil-in-water emulsions: whey protein, gum arabic, and modified starch. *J. Food Sci.* 76(1):E165 - E172.

EMBRAPA. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2. ed. rev. ampl. Brasília, DF : Embrapa Informação Tecnológica, 627p., 2009.

FOX, R.L.; OLSON, R.A.; RHOADES, H.F. Evaluating the sulfur status of soils by plant and soil tests. *Soil Science Society of America Proceedings*, Madison, v.28, n.2, p.243-246, 1964.

FOX, R. L.; HUE, N. V.; PARRA, A. J. A turbidimetric method for determining phosphate-extractable sulfates in tropical soils. ***Communications in soil science and plant analysis***, v. 18, n. 4, p. 343-357, 1987.

HOEFT, R.G.; WALSH, L.M.; KEENEY, D.R. Evaluation of various extractants for available soil sulfur. ***Soil Science Society America Proceedings***, Madison, v.37, p.401-404, 1973.

KRUG, F. J; BERGAMIN FILHO, H.; ZAGATTO, E. A. G.; JØRGENSEN, S. S. Rapid determination of sulphate in natural waters and plant digests by continuous flow injection turbidimetry. ***Analyst***, v. 102, n. 1216, p. 503-508, 1977.

OLIVEIRA, M. V. P. de. Aplicações De Estudos Bioquímicos Quantitativos Em Ciências Biológicas E Da Saúde. ***Estudos Bioquímicos Quantitativos***, 2, 99–127, 2012.

POLIZELLI, M.; NICOLETTI, V.; AMARAL, L.; FEITOSA, E. 2006. Formation and characterization of soy bean oil/surfactante/water microemulsions. *Colloids and surface, A: Physicochem. Eng. Aspects* 281:230 - 236.

PROFERT-MG – Programa Interlaboratorial de Controle de Análise do Estado de Minas Gerais. (2005). *Manual do Laboratorista*, 1ª ed, 33 p.

RAIJ, B. Van; ANDRADE, J. C. de; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. *Análise Química para Avaliação da Fertilidade de Solos Tropicais*. Campinas, Instituto Agrônomo, 285p., 2001.

REISENAUER, H. M.; WALSH, L. M.; HOEFT, R. G. Testing soils for sulphur, boron, molybdenum and chlorine. In: WALSH, L. M. & BEATON, J. D., eds. *Soil testing and plant analysis*, Madison, ASA, cap. 12, p. 173-199, 1973.

ROSSETE, A. L. R. M.; BENDASSOLLI, J. A.; TRIVELIN, P. C. O. Organic sulfur oxidation to sulfate in soil samples for total sulfur determination by turbidimetry. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n. 6, p. 2547-2553, 2008.

RUSSI, D.; BOEM, F. G.; PRYSTUPA, P.; RUBIO, G. (2010). Comparación de mediciones turbidimétricas de sulfatos utilizando distintos extractantes y tratamientos del extracto. **Cong. Arg. Ciencia del Suelo, Rosario, Argentina**, 2010. 5p.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. Fundamentos da química analítica. São Paulo: **Cengage Learning**, 2013.

TABATABAI, M. A. Sulfur. **Methods of Soil Analysis: Part 3 Chemical Methods**, v. 5, p. 921-960, 1996.

TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S.J. **Análise de solos, plantas e outros materiais**. Porto Alegre: Departamento de Solo, UFRGS. 1995. 174 p.

VITTI, G. C. **Avaliação e interpretação do enxofre no solo e na planta**. FCAV, UNESP, 1989.

## CAPÍTULO II

### **Efeito da cama aviária e inoculação microbiana na oxidação do enxofre elementar em formulações organominerais**

**RESUMO:** A adição de enxofre elementar à fórmulas de fertilizantes pode representar uma alternativa técnica que resulta em uma redução de custos de produção, de transporte e de aplicação para o agricultor, permitindo a fabricação de fertilizantes com altos teores de NPK e com adequada quantidade de enxofre para as culturas. O enxofre elementar, quando aplicado ao solo, somente é absorvido pelas plantas depois de sua oxidação a sulfato por meio de reações catalisadas, principalmente por microrganismos. Nesse sentido, os objetivos com este trabalho foram: a) avaliar o efeito conjunto da incorporação de cama aviária e inoculação microbiana na oxidação do enxofre elementar presente no solo, em diferentes tempos de avaliação; b) avaliar o efeito do tempo para a oxidação do enxofre elementar, na presença de cama aviária; c) avaliar a eficiência da incorporação de cama aviária na oxidação do enxofre elementar; d) verificar se a inoculação microbiana da espécie *Bacillus cereus* influencia na oxidação do enxofre elementar. Amostras de solo foram incubadas com tratamentos constituídos de um fatorial de (6 x 2) sendo, 06 fertilizantes (Cama de Frango (CF) + Supertriplo (STP) + Enxofre Elementar (S<sup>0</sup>) – Autoclavado; CF + STP + S<sup>0</sup> – Não autoclavado; CF + S<sup>0</sup> – Autoclavado; CF + S<sup>0</sup> – Não autoclavado; STP + S<sup>0</sup>; S<sup>0</sup>), 02 doses de bactérias solubilizadoras (0,0 e 3 ml.g<sup>-1</sup> de S<sup>0</sup>), cada ml contendo 4,1x10<sup>6</sup> UFC, totalizando 12 tratamentos incubados por um período de 70 dias, em estufa à uma temperatura controlada de 27 ± 1°C. Foram avaliados: teores de sulfato, pH e a quantificação da biomassa microbiana do solo. A incorporação de cama aviária à fonte de enxofre elementar se mostrou de forma positiva, comprovando que apenas os microrganismos presentes na cama foram capazes de oxidar o enxofre elementar. Aos 14 dias de incubação obteve-se a maior taxa de oxidação. No entanto, os tratamentos contendo Cama de Frango + Supertriplo + S-elementar e Supertriplo + S-elementar (Inoculado) continuaram em crescimento aos 28 dias, atingindo valores respectivos de 933,35 e 877,38 mg dm<sup>-3</sup> de sulfato no solo.

**Palavras-chave:** Adubação orgânica; Sulfato; Biomassa microbiana; *Bacillus cereus*; microrganismos oxidantes.



## ABSTRACT

### **Effect of poultry litter and microbial inoculation on elemental sulfur oxidation in organomineral formulations**

The addition of elemental sulfur to fertilizer formulas can represent a technical alternative that results in a reduction of production, transport and application costs for the farmer, conducting to the manufacture of fertilizers with high NPK contents and with an adequate amount of sulfur for cultures. Elemental sulfur, when applied to the soil, is only absorbed by plants after its oxidation to sulfate through catalyzed reactions, mainly by microorganisms. In the sense, the objectives with this work were: a) to evaluate the joint effect of the incorporation of poultry litter and microbial inoculation on the oxidation of elemental sulfur identified in the soil, at different times of evaluation; b) evaluate the effect of time for the oxidation of elemental sulfur, in the presence of poultry litter; c) evaluate the efficiency of the incorporation of poultry litter in the oxidation of elemental sulfur; d) check if the microbial inoculation of the species *Bacillus cereus* influences the oxidation of elemental sulfur. Soil samples were incubated with treatments consisting of a factorial of (6 x 2), 06 fertilizers (Poultry Litter (CF) + Super triple (STP) + Elemental Sulfur (S<sup>0</sup>) – Autoclaved; CF + STP + S<sup>0</sup> – Not autoclaved; CF + S<sup>0</sup> - Autoclaved; CF + S<sup>0</sup> – Not autoclaved; STP + S<sup>0</sup>; S<sup>0</sup>), 02 doses of solubilizing bacteria (0.0 and 3 ml.g<sup>-1</sup> of S<sup>0</sup>), each ml containing 4.1x10<sup>6</sup> CFU, totaling 12 treatments incubated for a period of 70 days, in an oven at a controlled temperature of 27 ± 1°C. The following were evaluated: sulfate content, pH and the quantification of soil microbial biomass. The incorporation of poultry litter to the elemental sulfur source was positive, proving that only the microorganisms identified in the litter were able to oxidize elemental sulfur. At the 14 days of incubation, the highest oxidation rate was obtained. However, the treatments containing Poultry Litter + Super triple + Elemental Sulfur and Super triple + Elemental Sulfur (Inoculated) continued to grow during 28 days, reaching respective values of 933,35 and 877,38 mg dm<sup>-3</sup> of sulfate in the soil.

**Keywords:** Organic fertilization; Sulfate; Microbial biomass; *Bacillus cereus*; oxidizing microorganisms.

## 1. INTRODUÇÃO

Estima-se que o enxofre (S) seja o nono elemento mais abundante do planeta, predominantemente encontrado nas formas de sulfato, sulfeto e S elementar. É o constituinte mais abundante dos minerais após o oxigênio e o silício. Na forma livre na natureza, o S pode ser encontrado em depósitos vulcânicos ou sedimentares, além de estar presente também em carvões, petróleos e gás natural, na forma de compostos orgânicos (STIPP & CASSARIN, 2010).

O S apresenta-se no solo nas formas orgânica e inorgânica, embora a sua disponibilidade dependa de processos como a adsorção, dessorção, mineralização, imobilização e lixiviação. O S relacionado a compostos minerais e/ou orgânicos, pode chegar à solução do solo durante o ciclo vital da cultura e ser absorvidos pelas plantas, esse enxofre é denominado lábil.

Em contrapartida, considera-se que fatores associados ao manejo do solo, por intermédio da adubação com S e do intervalo de reação do adubo com os colóides do solo que não se encontram em equilíbrio com a solução do solo, levam à formação de uma reserva não lábil do enxofre (UCHOA et al., 2013). Cerca de 98% de enxofre no solo encontra-se na forma orgânica, contudo a capacidade do solo em suprir a demanda da planta pelo nutriente está relacionada com o teor de matéria orgânica presente no solo e à mineralização do S orgânico para formas inorgânicas, como, por exemplo, o sulfato. Por esse motivo, solos com texturas arenosas com baixos teores de matéria orgânica, de argila e de óxidos, proporcionam maior probabilidade de resposta das culturas mediante a aplicação de enxofre (TIECHER et al., 2013).

As transformações de enxofre no solo são controladas por processos bióticos e abióticos, visto que os bióticos estão intimamente relacionados aos processos de mineralização, imobilização, oxirredução e assimilação de S pela planta, ao passo que os abióticos advêm em função de adsorção, dessorção, precipitação e dissolução do S inorgânico. O resultado de cada processo está associado a fatores como temperatura, pH, umidade, quantidade e tipos de argilominerais, óxidos de ferro e alumínio, conteúdos de carbono e nitrogênio, bem como o tipo de solo e estrutura (NORMAN et al., 2002).

O enxofre é um macronutriente para organismos vivos e tem múltiplas funções no desenvolvimento das plantas, incluindo os aspectos catalíticos, regulatórios e funções estruturais (CAPALDI et al., 2015). Para que seja absorvido pela planta, o enxofre

aplicado via solo deve ser transportado até a superfície das células da raiz (FIORINI et al., 2016). Contudo, a escassez do enxofre contribui expressivamente para a redução da biomassa das plantas, na síntese de proteínas e na sua qualidade produtiva, uma vez que o mesmo está associado à produção de compostos com funções biológicas essenciais tais como: aminoácidos sulfurados, vitaminas, acetil-CoA, fotossíntese, fixação e metabolismo de nitrogênio e enxofre (CAPALDI et al., 2015; DING et al., 2016).

O provimento do enxofre inorgânico pode ser realizado por meio de fertilizantes na forma de sulfato ou enxofre elementar. O enxofre na forma de sulfato está disponível para a absorção das plantas, porém é altamente móvel no solo e suscetível à lixiviação.

Por outro lado, o enxofre elementar é uma forma mais concentrada (> 90% S), com baixo custo de transporte e de perda por lixiviação, entretanto somente torna-se disponível para as plantas após sua oxidação (DEGRYSE et al., 2016); o que pode ser favorável para o fornecimento equilibrado e contínuo, atendendo a demanda nutricional ao longo do ciclo da cultura (GRANT et al., 2012).

O processo de oxidação do enxofre elementar é dependente de fatores como: temperatura, umidade, pH e teor de matéria orgânica do solo (BRAHIM et al., 2017; DEGRYSE et al., 2018). A oxidação do enxofre elementar é um processo microbiano e tem mostrado depender fortemente da temperatura para que seja realizada a oxidação (JANZEN & BETTANY, 1987).

Os microrganismos são uma parte largamente despercebida da biota terrestre, ignorada pela maioria dos biólogos profissionais e são relativamente menos conhecidos do público, exceto quando são causadores de doenças. No entanto, o funcionamento da biosfera depende absolutamente de processos desencadeados por microrganismos. Dentre suas diversas funções, os microrganismos são um componente essencial do sistema de decomposição do solo, no qual os resíduos vegetais e animais são degradados em matéria orgânica e os nutrientes são liberados nas teias alimentares (TRIPURA et al., 2005).

As bactérias são os organismos unicelulares e procariontes mais abundantes no solo, sendo em sua maioria aeróbias heterotróficas, sendo os gêneros mais comuns: *Bacillus*, *Clostridium*, *Arthorobacter*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Azotobacter* e *Nitrobacter*. As bactérias pertencentes a grupos fisiológicos específicos, como as bactérias nitrificantes, as fixadoras de N<sub>2</sub>, as oxidantes de enxofre e as redutoras de sulfato, constituem apenas uma pequena parte da comunidade bacteriana. Vale ressaltar que o ciclo do enxofre abrange diversos compostos sulfurados, sendo estes: enxofre

elementar, sulfato, sulfito, sulfureto de hidrogênio e tiosulfato. Os microrganismos que integram o ciclo do enxofre são diversos e capazes de intervir em processos de redução ou de oxidação (BHOOPANDER et al., 2005).

Em solos com boa aeração, a forma mineral de S predominantemente encontrada no solo é o ânion  $\text{SO}_4^{2-}$ , como também a principal forma do elemento absorvida pelas plantas. Por sua vez, a população microbiana ao decompor compostos orgânicos com baixa relação C/S ( $\text{C:S} < 200$ ), disponibiliza o  $\text{SO}_4^{2-}$  por meio de mineralização para a solução do solo. No entanto, em materiais orgânicos com alta relação C/S ( $\text{C:S} > 400$ ), os decompositores necessitam de maior quantidade de S para incorporar em sua biomassa. Assim, o S inorgânico do solo é imobilizado, tornando-se temporariamente indisponível às plantas, processo semelhante ao que ocorre com o N (STIPP & CASARIN, 2010). Materiais com relação C:S entre 200 e 400 resultam em equilíbrio entre a mineralização e a imobilização (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006).

A oxidação do S é extremamente baixa em temperaturas abaixo de  $10^\circ\text{C}$ , aumentando com temperaturas entre 20 e  $40^\circ\text{C}$  e apresentando novamente declínio em temperaturas superiores a  $40^\circ\text{C}$ . A umidade apresenta um comportamento parabólico, sendo a oxidação mínima quando há pouca disponibilidade de água, aumentando a taxa quando atinge o ponto máximo (capacidade de campo) e diminuindo novamente quando a umidade ultrapassa o limite máximo (JANZEN & BETTANY, 1987), com pH sugerido entre 6-7 (LUCHETA, 2010).

O uso de microrganismos oxidantes e/ou fixadores é uma alternativa para a produção de fertilizantes organominerais, pois são reconhecidos por sua habilidade em desempenhar transformações bioquímicas dos nutrientes como também são importantes em fornecer os elementos nutritivos de interesse às plantas, em especial nitrogênio, fósforo e enxofre (PAUL & CLARK, 1989; SINGH & REDDY, 2011).

O emprego de enxofre elementar incorporado à diferentes fontes de fertilizantes, objetivando o fornecimento do nutriente, oferece benefícios na qualidade física do fertilizante, além de proporcionar ao produto, menor higroscopicidade, contribuindo com a atividade operacional, entre outros benefícios, como o armazenamento por um período maior de tempo sem perder a qualidade do produto.

A utilização de fertilizante orgânico obtido a partir de cama de frango pode contribuir para a melhoria das características físicas, químicas e biológicas do solo,

refletindo no seu potencial produtivo, principalmente em solo que apresenta baixos teores de matéria orgânica, como os do Cerrado (FELINI & BONO, 2011).

O uso adequado da cama aviária melhora as características químicas, físicas e biológicas do solo (SILVA et al., 2015). A cama de frango é uma boa fonte de nutrientes, e se manejada adequadamente, pode suprir parcial ou totalmente o fertilizante químico, além de que o seu uso incorpora matéria orgânica no solo que melhora os atributos físicos, aumenta a capacidade de retenção de água, reduz a erosão, melhora a aeração e cria um ambiente adequado para o desenvolvimento da flora microbiana do solo (BLUM et al., 2003).

Deste modo, o presente trabalho visa avaliar a eficiência da adição de fertilizantes organominerais na oxidação do enxofre elementar no solo com e sem inoculação microbiana em diferentes tempos de avaliação, objetivando disponibilizar o enxofre elementar que encontra-se no solo de forma indisponível para as culturas.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Preparo do experimento e Delineamento Experimental**

O experimento foi realizado no laboratório de fertilizantes organominerais do IF Goiano – Campus Rio Verde, entre novembro de 2019 e setembro de 2020. O solo utilizado foi coletado em área experimental situada no Campus, horizonte A (de 0 a 20 cm da superfície) seco à sombra, tamisado em peneiras com malhas de 2,0 mm para a separação de partículas grosseiras e determinado suas características físico-químicas (Tabela 1). Posteriormente foi levado à estufa por 72 horas a 105°C e determinou-se a capacidade de campo de acordo com Embrapa (2009).

Tabela 1 – Análise química das amostras de solo coletadas no horizonte A em área experimental do IF - Campus Rio Verde para implantação do experimento.

Ca	Mg	Ca + Mg	Al	H + Al	K	K	S	P (mel)
-----cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----					-----mg dm <sup>-3</sup> -----			
0,80	0,26	1,06	0,20	4,62	0,07	25,65	21,04	1,79

Na	Fe	Mn	Cu	Zn	B	CTC	SB	V%	m%	M.O
-----Micronutrientes - mg dm <sup>-3</sup> -----						-----cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----	Sat. Bases	Sat. Al	g dm <sup>-3</sup>	
1,00	85,51	48,86	4,25	1,86	0,14	5,75	1,13	19,65	15,04	14,20

Textura (g dm <sup>-3</sup> )			Relação entre Bases			Porcentagem de bases na CTC (%)			pH
Argila	Silte	Areia	Ca/Mg	Ca/K	Mg/K	Ca/CTC	Mg/CTC	K/CTC	CaCl <sub>2</sub>
683,20	56,00	260,80	3,08	12,19	3,96	13,92	4,52	1,14	4,35

Os tratamentos foram constituídos de um fatorial de (6 x 2) sendo, 06 fertilizantes (Cama de Frango (CF) + Supertriplo (STP) + Enxofre Elementar (S<sup>0</sup>) – Autoclavado; CF + STP + S<sup>0</sup> – Não autoclavado; CF + S<sup>0</sup> – Autoclavado; CF + S<sup>0</sup> – Não autoclavado; STP + S<sup>0</sup>; S<sup>0</sup>), 02 doses de bactérias solubilizadoras (0,0 e 3 ml.g<sup>-1</sup> de S<sup>0</sup>), cada ml contendo 4,1x10<sup>6</sup> UFC, totalizando 12 tratamentos. Os tratamentos foram repetidos 5 vezes e, a cada 14 dias (14, 28, 42, 56 e 70 dias), foi retirada uma repetição dos tratamentos para a avaliação dos parâmetros: teor de sulfato, pH e a quantificação do carbono da biomassa microbiana do solo.

O experimento foi implantado em incubadora com temperatura controlada de 27 ± 1 °C, em placas de Petri de 10 cm de diâmetro permitindo a condição de aerobiose. Diariamente a umidade foi medida, por meio da pesagem da amostra, e restabelecida a quantidade inicial de água, ou seja, retornando à 60% da capacidade de campo, por meio de uma seringa através do método de gotejamento.



Figura 1 – Preparo do experimento. A – Determinação da capacidade de campo (EMBRAPA, 2009); B – Incubação das tratamentos; C – Restabelecimento da capacidade de campo diariamente; D – Retirada das amostras da BOD para determinação dos parâmetros avaliados.

## 2.2 Preparo dos fertilizantes organominerais

A cama de aviário foi coletada em aviário localizado no município de Rio Verde, Goiás, peneirada para a retirada de partículas grosseiras. Posteriormente, triturada e peneirada novamente para a homogeneização de partículas em peneiras de 0,074 mm. O mesmo procedimento foi realizado para o superfosfato triplo e o enxofre elementar; ambos adquiridos de fornecedora de nutrientes localizada no município de Rio Verde.

O enxofre elementar foi triturado e peneirado para homogeneização das partículas, para assegurar a remoção das partículas finas aderidas às partículas do tamanho desejado (JANZEN & BETTANY, 1987). Após este procedimento, o S elementar, a cama aviária e o superfosfato triplo foram levados à estufa para a secagem a 65°C. A seguir foram pesadas as doses mencionadas para a elaboração dos tratamentos e posteriormente produzir os grânulos de fertilizante organomineral associando a cama aviária, superfosfato simples e enxofre elementar.



Figura 2 – Preparação dos fertilizantes organominerais. A – Secagem da cama aviária em estufa; B – Trituração das partículas da cama aviária em moinho de bolas; C – Granulação do fertilizante organomineral; D – Separação dos grânulos.

### 2.3 Preparo dos microrganismos (inóculo)

O microrganismo utilizado é da espécie *Bacillus cereus*, sendo fornecido pelo Laboratório de Microbiologia Agrícola do Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde.

Foi realizada a diluição seriada dos microrganismos, utilizando 9 ml de solução salina e 1 ml de meio de cultivo e foram emplacados em triplicatas em meio ágar nutriente contendo 3 g de extrato de carne, 5 g de peptona e 25 g de ágar. Os mesmos permaneceram na estufa durante um período de 72 horas. Após este período, foi realizada a contagem de colônias utilizando a fórmula:

$$\text{UFC/mL} = \frac{\text{média UFC}}{0,1} \times \text{diluição}$$

Realizada a contagem, foi coletado uma alíquota de microrganismos e passou-se para o meio líquido de ágar nutriente e foi levado à mesa agitadora por um período de 72 horas para o crescimento.



Os tratamentos contendo microrganismos oxidantes de enxofre foram inoculados com 3 ml contendo  $4,1 \times 10^6$  UFC.g<sup>-1</sup> de S<sup>0</sup>.

#### **2.4 Análises dos parâmetros**

Após a retirada das placas de Petri da incubadora, foram avaliados os teores de: sulfato (PROFERT-MG, 2005), pH (EMBRAPA, 2009) e a quantificação do carbono da biomassa microbiana do solo, pelo método da fumigação-extração de acordo com Vance et al. (1987), para a avaliação da eficiência da oxidação do enxofre elementar em função do tempo.

Escolhida com base nos resultados obtidos no Capítulo I, a metodologia para análise de sulfato utilizada foi a proposta pelo PROFERT-MG (2005), a qual baseia-se na extração do sulfato por íons fosfato (500 mg de P/L) dissolvidos em ácido acético 2,0 mol L<sup>-1</sup> e posterior quantificação do S disponível pela medição, em espectrofotômetro, da turbidez formada pela precipitação de sulfato pelo cloreto de bário. O cloreto de bário é diluído em água e adiciona-se goma-arábica objetivando manter o material em suspensão por um período maior de tempo, eliminando interferências na leitura em espectrofotômetro.

Para a análise de pH foi utilizada a metodologia de pH em CaCl<sub>2</sub> (EMBRAPA, 2009), na qual coloca-se 10 cm<sup>3</sup> de TFSA em um frasco de 50 mL e adiciona 25 mL de CaCl<sub>2</sub> 2H<sub>2</sub>O 0,001 mol/L, deixando 15 min em contato. Em seguida, agita-se a amostra em agitador horizontal por 10 min a 200 rpm. Deixa-se a amostra em repouso por 30 a 60 min. Após o tempo de repouso, sem agitar novamente a amostra, faz-se a leitura em potenciômetro, devidamente calibrado com soluções-padrão de pH 4,0 e 7,0.

A quantificação do carbono da biomassa microbiana do solo, pelo método da fumigação-extração (VANCE et al., 1987) baseia-se na realização de análises em triplicatas, ou seja, cada amostra é dividida em sete sub-amostras de 20 g (três fumigadas, três não-fumigadas e uma para obtenção da umidade do solo), devidamente pesadas e adicionadas em frascos de vidro de 100 mL.

O frasco previamente destinado à determinação de umidade do solo é seco em estufa a 105 °C por 24 horas ou até obter peso constante. Após seca, a amostra é acondicionado em dessecador até o equilíbrio da temperatura e em seguida pesada. Imediatamente após a pesagem da amostra do solo adiciona-se aproximadamente 1 mL de clorofórmio com o auxílio de pipeta com graduação de 1 mL, em todos os frascos

destinados a fumigação. Os frascos são fechados e armazenados em local isento de luminosidade por 24 horas, com temperatura em torno de 25 a 28 °C. No dia seguinte é retirada a tampa dos frascos em capela de exaustão, deixando evaporar todo o clorofórmio presente, até a eliminação completa.

A extração se dá nas amostras fumigadas, após tempo de fumigação de 24 horas, seguida de eliminação dos resíduos de clorofórmio e nas não-fumigadas, realizada imediatamente após pesagem, procedendo da seguinte forma: adiciona-se 50 mL de solução 0,5 M de sulfato de potássio ( $K_2SO_4$ ), com o auxílio de um dispensador de 0 a 50 mL; agita-se por 30 minutos em agitador orbital a 220 rpm, espera-se decantar por 30 min e transfere-se o sobrenadante com o auxílio de uma pipeta para um filtro de papel acomplado a funil e tubo de 50 mL, evitando resuspensão e recuperação do material decantado. Ao final da filtração é obtido o extrato de cada sub-amostra (fumigada ou não-fumigada) e estas amostras são direcionadas para a quantificação do carbono microbiano ou armazenadas em geladeira a 4 °C por no máximo 10 dias.

Na etapa de determinação, é transferido 8 mL do extrato previamente filtrado para um Erlenmeyer de 250 mL. Adiciona-se 2 mL de solução 0,066 M de dicromato de potássio, 10 mL de ácido sulfúrico P.A. e 5 mL de ácido orto-fosfórico P.A., todos com o auxílio de dispensador e em ordem cronológica. Espera-se esfriar e adiciona-se cerca de 70 mL de água deionizada, espera-se esfriar novamente e adiciona-se aproximadamente 4 gotas de difenilamina e titula-se sob agitação magnética com uma solução 0,033 M de sulfato ferroso amoniacal. Ao final da titulação, a coloração da solução passa da cor púrpura para verde.

Para a determinação do teor de C nos extratos é utilizado o seguinte cálculo:

$$C \text{ (mg C kg}^{-1} \text{ solo)} = \frac{(V_b - V_a) \times M \times 0,003 \times V_1 \times 10^6}{P_s \times V_2}$$

Onde: C – carbono extraído do solo;  $V_b$  (mL) – volume do sulfato ferroso amoniacal gasto na titulação da solução controle (branco);  $V_a$  (mL) – volume de sulfato ferroso amoniacal gasto na titulação da amostra; M – molaridade exata do sulfato ferroso amoniacal;  $V_1$  – volume do extrator ( $K_2SO_4$ ) utilizado;  $V_2$  – alíquota pipetada do extrato para a titulação; 0,003 – miliequivalente do carbono;  $P_s$  (g) – massa de solo seco.

Para o cálculo da biomassa microbiana do solo (BMS-C) é utilizada a seguinte fórmula:

$$\text{BMS-C (mg C microbiano kg}^{-1} \text{ solo)} - \text{FC} \times \text{kc}^{-1}$$

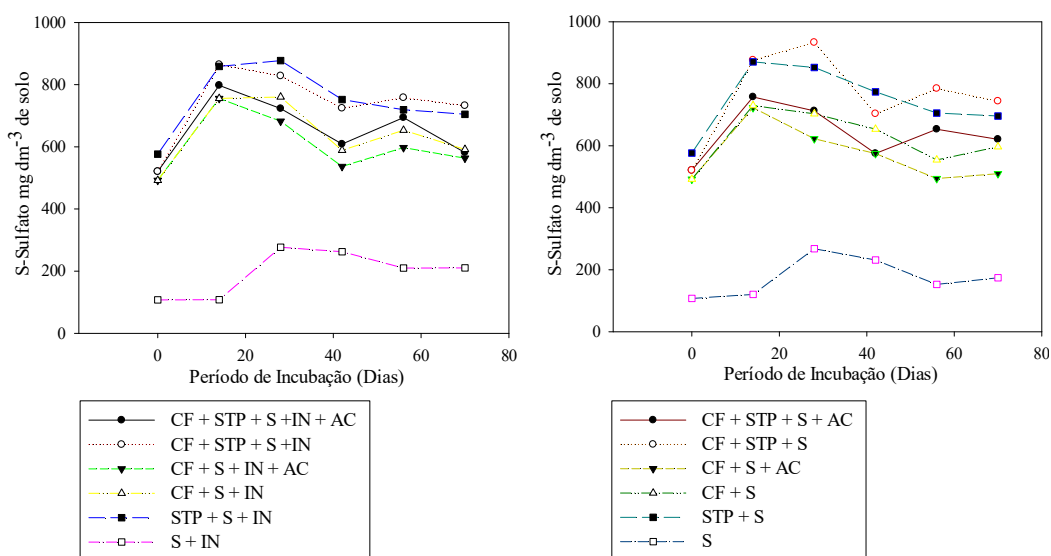
Onde: BMS-C – carbono da biomassa microbiana do solo em mg de C por kg de solo; FC – fluxo obtido da diferença entre a quantidade de C da equação anterior, recuperada no extrato da amostra fumigada e a recuperada na amostra não fumigada; kc – fator de correção.

## 2.5 Análise Estatística

Os resultados dos parâmetros avaliados foram submetidos à análise estatística de variância (ANOVA) e ao teste de média para comparação estatística entre os tratamentos, utilizando o software SISVAR 5.6. O método aplicado foi o teste de Tukey ao nível de 5% de significância. Por fim, foi empregado o teste de Correlação de Pearson, utilizando o software SigmaPlot 12.0, para avaliar a relação entre os parâmetros.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliando os teores de sulfato obtidos em função do tempo de incubação, a análise estatística mostrou diferenças significativas nos valores das taxas de oxidação do S-elementar entre os tratamentos estudados (Figura 3). Dentre as fontes de fertilizantes utilizadas, a que apresentou menores valores de S-sulfato foi o fertilizante apenas contendo S-elementar. O teor de S-sulfato ao longo do tempo de incubação (70 dias), evidenciou a ocorrência de oxidação do  $\text{S}^0$  incorporado aos fertilizantes.



**Figura 3.** Teor de  $S-SO_4^{2-}$  (PROFERT-MG, 2005) no solo em função do tempo para tratamentos inoculados e não inoculados, respectivamente. CF: Cama de frango; STP: Supertriplo; S: Enxofre Elementar; IN: Inoculado; AC: Autoclavado.

Aos 14 dias de incubação, notou-se que o tratamento Cama de Frango enriquecida com Supertriplo e S-elementar (CF + STP + S) apresentou maior teor de S-sulfato com  $876,33 \text{ mg dm}^{-3}$  de solo, seguido por Supertriplo e S-elementar (STP + S) com  $870,54 \text{ mg dm}^{-3}$  de solo, cama de frango enriquecida com Supertriplo e S-elementar Inoculado (CF + STP + S + IN) com  $864,65 \text{ mg dm}^{-3}$  de solo e Supertriplo e S-elementar Inoculado (STP + S + IN) com  $858,76 \text{ mg dm}^{-3}$  de solo (Figura 3), demonstrando que apenas os microrganismos presentes na cama foram capazes de oxidar o enxofre elementar. Aos 28 dias, os tratamentos contendo CF + STP + S e STP + S + IN apresentaram continuidade de crescimento atingindo valores respectivos de  $933,35$  e  $877,38 \text{ mg dm}^{-3}$  de solo, seguido de um declínio da disponibilização de sulfato no solo.

Nas amostras contendo cama de frango e enxofre elementar (CF + S) em sua composição, observou-se maiores concentrações de sulfato aos 14 dias para os tratamentos inoculados autoclavados ou não, com os respectivos valores de  $755,64$  e  $755,43 \text{ mg dm}^{-3}$  de solo, sendo que para o tratamento inoculado não autoclavado obteve-se aumento da concentração para o período de 28 dias (Figura 3).

Os tratamentos contendo apenas enxofre elementar (S), na proporção de  $1 \text{ g S}^0$  em  $100 \text{ g}$  de solo, apresentaram maiores valores obtidos de sulfato aos 28 dias de incubação, obtendo valores de  $276,77$  e  $267,74 \text{ mg dm}^{-3}$  de solo, para os tratamentos inoculado e não inoculado respectivamente (Figura 3).

Observou-se resultados mais expressivos para os tratamentos contendo CF + STP + S e STP + S, apresentando valores menos acentuados nas amostras em que a cama de frango foi autoclavada, corroborando com a pressuposição de que os microrganismos presentes na cama atuam como oxidantes do enxofre elementar.

Um dos fatores que afetou positivamente a oxidação do S-elementar a S-sulfato é o teor de matéria orgânica dos fertilizantes organominerais, podendo ser explicado pela mineralização da matéria orgânica e pelo crescimento mais rápido dos microrganismos capazes de oxidar o enxofre, em concordância com o verificado por Janzen & Bettany (1987), em estudo com 39 solos, que constataram significância positiva entre a oxidação do enxofre elementar e teor de matéria orgânica do solo; assim como observado em trabalhos realizados por Skiba & Wainwright (1984) e Lawrence & Germida (1988)

também houve um efeito positivo da matéria orgânica no solo na oxidação do S-elementar.

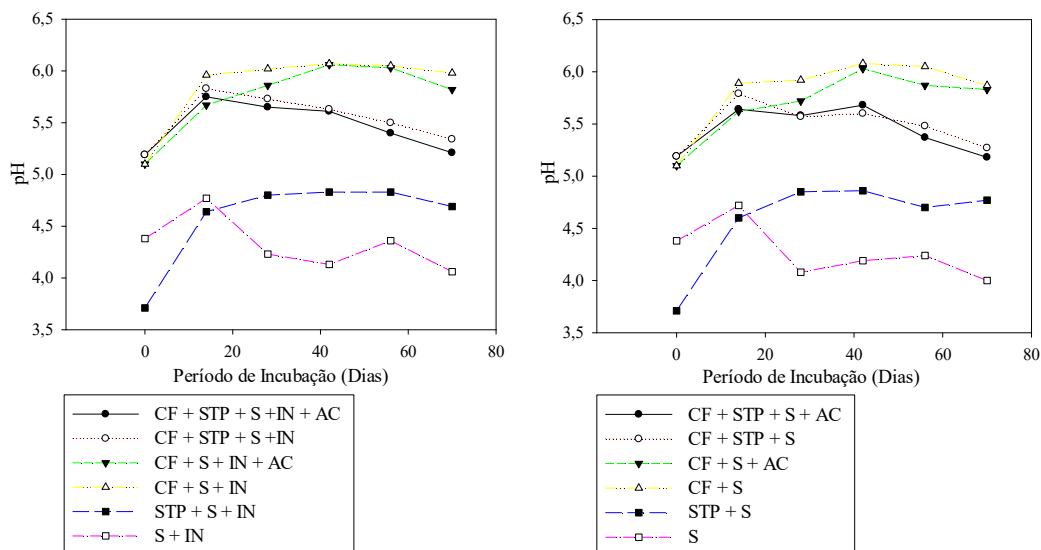
Esta relação pode ser atribuída em função de organismos heterotróficos que oxidam o S-elementar utilizando o substrato como fonte de energia.

A adição de superfosfato triplo na formulação dos fertilizantes também apresentou efeito positivo na oxidação do enxofre elementar a sulfato. Vários trabalhos mostraram efeito estimulante do teor de fósforo do solo sobre a taxa de oxidação de enxofre (JANZEN & BETTANY, 1987; LAWRENCE & GERMIDA, 1988). Em experimento de incubação do S elementar no solo, a adubação fosfatada aumentou a oxidação de S elementar de 1,6% para 16% após o período de seis semanas (SHOLEH et al., 1997).

A variação encontrada nas taxas de oxidação se dá pela influência de diversos fatores, visto que a oxidação é um processo dependente de todas as características do solo e que pequenas mudanças nesse ambiente podem acarretar em uma grande variabilidade, sendo esses fatores: microrganismos, temperatura, textura, aeração, pH, nutrientes e área superficial específica (forma, tamanho, composição, dispersão, taxa de aplicação) (HOROWITZ, 2003).

Observou-se um declínio da disponibilidade de sulfato no solo. Esse declínio provavelmente se deve ao fato da conversão dos sulfatos à formas reduzidas ou imobilização do sulfato pelos microrganismos. Os microrganismos são capazes de intervir em processos de redução ou oxidação (BHOOPANDER et al., 2005); dessa forma a conversão do enxofre o solo pode dividir-se em: mineralização dos compostos orgânicos; imobilização do íon sulfato pelos microrganismos; oxidação, que promove a conversão de formas reduzidas (sulfuretos, tiosulfatos e enxofre elementar) em sulfatos; redução, que leva a conversão dos sulfatos a formas reduzidas (sulfuretos de hidrogênio) (CORREIA, 1980).

O pH dos solos relaciona-se geralmente com a oxidação do S-elementar catalisadas pelos microrganismos (NOR & TABATABAI, 1977; LAWRENCE & GERMIDA, 1988). A oxidação do S-elementar resulta na acidificação do solo devido à liberação de íons  $H^+$  durante o processo, podendo variar de acordo com a quantidade de S-elementar aplicada e a capacidade tampão do solo (YANG et al., 2008).



**Figura 4.** Valores obtidos de pH (em  $\text{CaCl}_2$ ) do solo em função do tempo resultantes da oxidação do S-elementar. CF: Cama de frango; STP: Supertriplo; S: Enxofre Elementar; IN: Inoculado; AC: Autoclavado.

No Latossolo utilizado, a oxidação do S-elementar após os 70 dias de incubação, para os tratamentos enriquecidos com fertilizantes organominerais (CF + STP + S), resultou em mudanças menores no pH (Figura 4), com variação máxima de 0,6 unidades, sendo menos acentuada para os tratamentos inoculados. Observou-se aumento em média de 0,8 unidades no pH do solo (Latosolo), para os tratamentos contendo CF + S, inoculado e não inoculado, sendo apresentado menores mudanças para os tratamentos autoclavados.

Os tratamentos contendo STP + S aos 0 dias de incubação apresentaram uma diminuição em média de 0,6 unidades no pH. Nos demais dias de incubação, 14, 28, 42, 56 e 70, estabilizou o valor de pH em média 4,8 de acordo com a degradação do grânulo de fertilizante mineral. Já os tratamentos contendo apenas S-elementar apresentaram uma diminuição em 0,3 unidades de pH aos 70 dias de incubação (Figura 4). A reduzida variação de pH encontrada para os tratamentos está relacionada ao maior poder tampão do Latossolo (HOROWITZ, 2003).

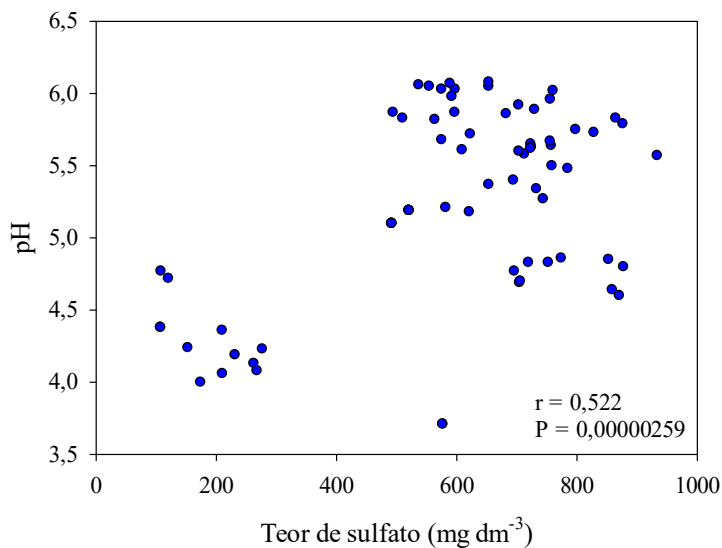


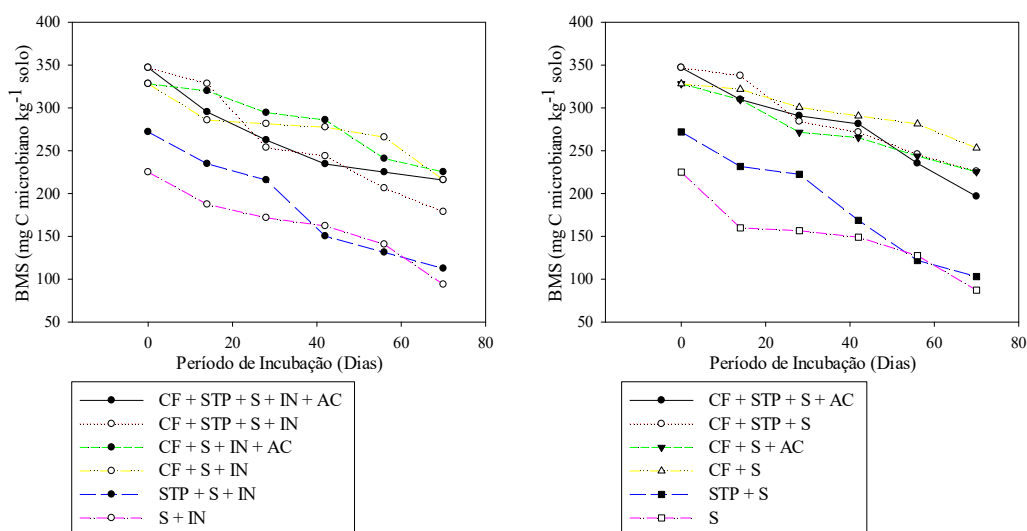
Figura 5 – Matriz de Dispersão de Teor de sulfato (mg dm<sup>-3</sup>) e pH em solos incubados com enxofre elementar durante o período de 70 dias.

Os estudos de correlação entre o S-sulfato e o pH do solo (Figura 5) indicaram correlação direta entre estas variáveis. Observou-se que as concentrações maiores de sulfato estão entre os pH 4,5 e 6, comprovando as afirmações de Janzen & Bettany (1987) e de Lawrence & Germida (1988), que constataram que o pH do solo relaciona-se positivamente com a taxa de oxidação do S-elementar.

Isso acontece pois o efeito positivo do alto pH na oxidação do S-elementar está relacionado à capacidade do solo em tamponar o ácido sulfúrico formado na oxidação, que, se acumulado em elevadas concentrações, inibe a atividade dos microrganismos que transformam o S-elementar em S-sulfato (FOX et al., 1964). Possivelmente o efeito positivo dos valores mais elevados de pH na oxidação do S-elementar seja devido à redução do alumínio trocável e não devido à redução da concentração de H<sup>+</sup> na solução do solo, demonstrando que a oxidação do enxofre elementar não causou a acidificação do solo.

Observou-se um declínio nos valores de biomassa em função do tempo, sendo menos acentuado para tratamentos contendo cama de frango e enxofre elementar, que no período inicial havia 328,1 mg C microbiano kg<sup>-1</sup> solo e após os 70 dias, em média 229,9 mg C microbiano kg<sup>-1</sup> solo, seguido pelo tratamento contendo cama de frango, supertriplo e enxofre elementar, decrescendo de 346,9 para, em média, 204,2 mg C microbiano kg<sup>-1</sup> solo. Para os tratamentos STP + S e S obteve-se valores inferiores de carbono da biomassa

microbiana, em média, 107,8 e 90,5 respectivamente após o período de 70 dias. (Figura 6).



**Figura 6.** Valores obtidos de Carbono da Biomassa Microbiana do Solo (VANCE et al., 1987) em função do tempo resultantes da oxidação do S-elementar. CF: Cama de frango; STP: Supertriplo; S: Enxofre Elementar; IN: Inoculado; AC: Autoclavado.

Esse comportamento pode ser explicado devido ao maior teor de matéria orgânica presente nas amostras contendo cama de frango, fornecendo substrato para os microrganismos por um período maior de tempo se comparado aos demais tratamentos.

Em pesquisa realizada avaliando o teor de carbono da biomassa microbiana em vermicompostagem, encontrou-se comportamento semelhante, diferenciando apenas para o tratamento com esterco caprino + bovino + folhas de cajueiro, em que obteve-se teor de carbono da biomassa microbiana máximo aos 21 dias, notando-se redução após esse período. Os demais tratamentos tiveram resultados lineares negativos, ou seja, o teor de carbono da biomassa microbiana foi reduzindo no decorrer dos 120 dias de vermicompostagem, uma vez que reduziu a oferta de matéria orgânica fresca e aumentou o teor de matéria orgânica humificada (MORAIS, 2019).

Os estudos de correlação utilizando o teste de Correlação de Pearson entre o S-sulfato e o BMS-C (Figura 7) indicaram correlação direta entre estas variáveis. Observou-se que, com o aumento da biomassa microbiana, maiores teores de sulfato foram obtidos. Para que a oxidação do enxofre elementar ocorra, a especificidade de microrganismos e o tamanho de sua população são importantes indicadores. Em pesquisa realizada no Canadá, demonstrou-se alta correlação entre o aumento da oxidação do S-elementar com



a biomassa microbiana. Portanto, o tamanho da população microbiana e sua atividade determinam a taxa de oxidação do S-elementar (LAWRENCE & GERMIDA, 1988).

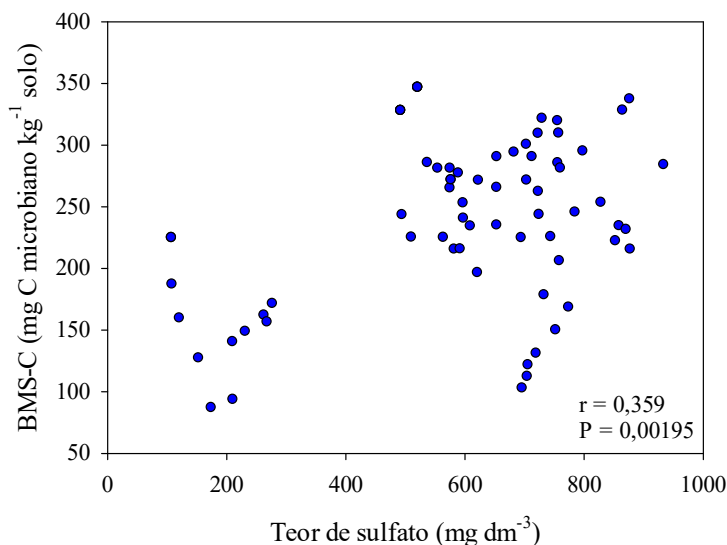


Figura 7 – Matriz de Dispersão de Teor de sulfato (mg dm<sup>-3</sup>) e BMS-C em solos incubados com enxofre elementar durante o período de 70 dias.

Observou-se que a incorporação de cama de frango estimulou a biomassa microbiana do solo, resultando em teores mais elevados de carbono da BMS. Almeida (1991) verificou efeitos diversos sobre a biomassa microbiana em função do tipo de resíduo orgânico incorporado (esterco bovino, vermicomposto e esterco de galinha) que contribuíram com aumento do C microbiano do solo, sendo os maiores valores obtidos para o esterco de galinha. O autor encontrou uma correlação positiva entre o C microbiano e o N total das fontes orgânicas. Muller et al. (2014) observaram que tanto o uso de esterco bovino quanto de aves proporcionaram aumento no carbono da BMS. Wardle e Hungria (1994) explanam que embora a biomassa microbiana demonstre correlação com o nível de N do solo, o comportamento da microbiota em relação às adições do composto tende a ser muito variável.

#### 4. CONCLUSÕES

A incorporação de cama aviária a fonte de enxofre elementar se mostrou de forma positiva, comprovando que apenas os microrganismos presentes na cama foram capazes de oxidar o enxofre elementar.

Aos 14 dias de incubação obteve-se a maior taxa de oxidação. No entanto, os tratamentos contendo Cama de Frango + Supertriplo + S-elementar e Supertriplo + S-elementar (Inoculado) continuaram em crescimento aos 28 dias, atingindo valores respectivos de 933,35 e 877,38 mg dm<sup>-3</sup> de sulfato no solo.

A taxa de oxidação do enxofre elementar não afetou o pH do solo. A reduzida variação de pH encontrada para os tratamentos está relacionada ao maior poder tampão do Latossolo e da cama aviária.

A incorporação de cama de frango estimulou a biomassa microbiana do solo, resultando em teores mais elevados de carbono da BMS para esses tratamentos.

## 5. REFERÊNCIAS

ALMEIDA, D. L. **Contribuição da matéria orgânica na fertilidade do solo**. Tese de Doutorado. Itaguaí: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1991. 188p.

BLUM, L. E. B.; AMARANTE, C. V. T.; GÜTTLER, G.; MACEDO, A. F.; KOTHE, D.; SIMMLER, A.; PRADO, G.; GUIMARÃES, L. 2003. Produção de moranga e pepino em solo com incorporação de cama aviária e casca de pinus. *Horticultura Brasileira* 21: 627-631, 2003.

BHOOPANDER G., GIANG P., KUMARI R., PRASAD R., VARMA, A. Soil biology, microorganisms in Soils: Roles in Genesis and Functions, Volume 3, Chapter 2 - **Microbial Diversity in Soils**, 19-55, 2005.

BRAHIM, S.; NIESS, A.; PFLIPSEN, M.; NEUHOFF, D.; SCHERER, H. Effect of combined fertilization with rock phosphate and elemental sulphur on yield and nutrient uptake of soybean. **Plant Soil Environ.**, v. 63, n. 2, p. 89-95, 2017.

CAPALDI, F. R.; GRATÃO, P. L.; REIS, A. R.; LIMA, L. W.; AZEVEDO, R. A. Sulfur metabolism and stress defense responses in plants. **Tropical plant biology**, v. 8, n. 3-4, p. 60-73, 2015.

CORREIA, A. A. D. Bioquímica nos solos, nas pastagens e forragens. (1a. Edição). **Fundação Calouste Gulbenkian**. Lisboa, Portugal, 1980.

DEGRYSE, F.; AJIBOYE, B.; BAIRD, R.; DA SILVA, R. C.; MCLAUGHLIN, M. J. Availability of fertilizer sulfate and elemental sulphur to canola in two consecutive crops. **Plant and soil**, v. 398, n. 1-2, p. 313-325, 2016.

DEGRYSE, F.; SILVA, R. C.; BAIRD, R.; BEYRER, T.; BELOW, F.; MCLAUGHLIN, M. J. Uptake of elemental or sulfate-S from fall-or spring-applied co-granulated fertilizer by corn: a stable isotope and modeling study. **Field Crops Research**, v. 221, p. 322-332, 2018.

DING, Y.; ZHOU, X.; ZUO, L.; WANG, H.; YU, D. Identification and functional characterization of the sulfate transporter gene GmSULTR1; 2b in soybean. **BMC genomics**, v. 17, n. 1, p. 373, 2016.

EMBRAPA. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2. ed. rev. ampl. Brasília, DF : Embrapa Informação Tecnológica, 627p., 2009.

FELINI, F. Z.; BONO, J. A. M. Produtividade de soja e milho, em sistema de plantio com uso de cama de frango na região de Sidrolândia-MS, **Ensaio e Ciência: Ciências Agrárias, Biológicas e da Saúde**, v.15, n.5, 2011.

FIORINI, I. V. A., VON PINHO, R. G., PIRES, L. P. M., SANTOS, Á. D. O., FIORINI, F. V. A., CANCELLIER, L. L.; RESENDE, E. L. Avaliação de fontes de enxofre e das formas de micronutrientes revestindo o NPK na cultura do milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 15, n. 1, p. 20-29, 2016.

FOX, R. L.; ATESALP, H. M.; KAMPBELL, D. H.; RHOADES, H. F. Factors influencing the availability of sulfur fertilizers to alfafa and corn. **Soil Science Society Proceedings**, Madison, p. 406-408, 1964.

GRANT, C. A.; MAHLI, S. S.; KARAMANOS, R. E. Sulfur management for rapeseed. **Field Crops research**, v. 128, p. 119-128, 2012.

HOROWITZ, N. **Oxidação e eficiência agronômica do enxofre elementar em solos do Brasil**. 2003. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003.

JANZEN, H. H.; BETTANY, J. R. Oxidation of elemental sulfur under field conditions in Central Saskatchewan. **Canadian Journal of Soil Science**, Ottawa, v.67, p.609-618, 1987.

LAWRENCE, J. R.; GERMIDA, J. J. Relationship between microbial biomass and elemental sulfur oxidation in agricultural soils. **Soil Science Society of American Journal**, Madison, v.52, p.672-675, 1988.

LUCHETA, A. R. Oxidação microbiológica do enxofre elementar no solo. 2010. Tese (Doutorado Agronomia) - Escola Superior de Agricultura, Universidade de São Paulo, SP. 2010. 178p.

MORAIS, F. M. S. Reprodução e crescimento de minhocas e biomassa microbiana em substratos. 2019. 40 p.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2.ed. Lavras: Editora UFLA, 2006, 729p.

MÜLLER, D. H.; CAMILI, E.C.; GUIMARÃES, S.C.; CAMPO, D.T.S.; MARTINS, M.E.; BARROS, K.C. Biomassa e atividade microbiana de solo sob aplicação de resíduos orgânicos. *Revista Internacional de Ciências*, v.4 - n.2 p. 71-82, 2014.

NOR, Y. M.; TABATAI, M. A. Oxidation of elemental sulfur in soils. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v.41, p. 736-741, 1977.

NORMAN, A. L.; GIESEMANN, A.; KROUSE, H. R.; JAGER, H. J. Sulphur isotope fractionation during sulphur mineralization: results of an incubation-extraction

experiment with a Black Forest soil. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 34, p. 1425-1438, 2002.

PAUL, E. A.; CLARK, F. E. Soil Microbiology and Biochemistry. San Diego: Academic Press, 254p., 1989.

PROFERT-MG – Programa Interlaboratorial de Controle de Análise do Estado de Minas Gerais. (2005). Manual do Laboratorista, 1ª ed, 33 p.

SHOLEH; LEFROY, R. D. B.; BLAIR, G. J. Effect of nutrients and elemental sulfur particle size on elemental sulfur oxidation and the growth of *Thiobacillus thiooxidans*. **Australian Journal of Agricultural Research**, Collingwood, v.48, p.497-501, 1997.

SILVA, A. J. et al. Atributos biológicos e físico-hídricos de um solo cultivado com eucalipto e adubado com cama de frango em mineiros – GO. *Global Science and Technology*, v. 8, n. 3, p. 12–20, 2015.

SINGH, H.; REDDY, M.S. Effect of inoculation with phosphate solubilizing fungus on growth and nutrient uptake of wheat and maize plants fertilized with rock phosphate in alkaline soils. *European Journal of Soil Biology*, Philadelphia, v. 47, n. 1, p. 30-34, 2011.

SKIBA, U.; WAINWRIGHT, M. Oxidation of elemental-S in coastal-dune sands and soils. **Plant and Soil**, Dordrecht Netherlands, v.77, p.87-95, 1984.

STIPP, S. R.; CASARIN, V. A importância do enxofre na agricultura brasileira. **Informações Agrônomicas**, v.129, n.1, p. 14-20, 2010.

TIECHER, T.; SANTOS, D. R.; ALVAREZ, J. W. R.; MALLMANN, F. J. K.; PICCIN, R.; BRUNETTO, G. Respostas de culturas à adubação sulfatada e deposição de enxofre atmosférico. **Revista Ceres**, v. 60, n. 3, p. 420-427, 2013.

TRIPURA C., SASHIDHAR B., PODLLE A. **Microbial Diversity - Current perspectives and potential applications, Trangenic mineral phosphate solubilizing bacteria for improved agricultural productivity**, p. 375-392, 2005.

UCHÔA, S. C. P.; ALVAREZ, V. V. H.; FREIRE, F. M. Doses de enxofre e o tempo de incubação na dinâmica de formas de enxofre no solo. **Rev. Bras. Ciênc. Solo**, Viçosa, v. 37, n. 3, p. 678-687, June 2013.

VANCE, E. D.; BROOKES, P. C.; JENKINSON, D. S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biol. Biochem.*, 19:703-707, 1987.

WARDLE, D. A.; HUNGRIA, M.; ARAUJO, R. S. Microrganismos de importância agrícola, n. 44, p.195-216, 1994.

YANG, Z.; HANEKLAUS, S.; SINGH, B. R.; SCHNUG, E. Effect of repeated applications of elemental sulfur on microbial population, sulfate concentration and pH in soils. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 39, p. 124-140, 2008.