

JAIR ALVES DIONÍSIO

**ATIVIDADES MICROBIANAS EM DIFERENTES SISTEMAS DE
CULTIVO DE *Eucalyptus grandis* (W. Hill ex Maiden)**

Tese apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor. Curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Área de Concentração "Silvicultura", Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Professor Dr. Eli Nunes Marques.

CURITIBA

1996

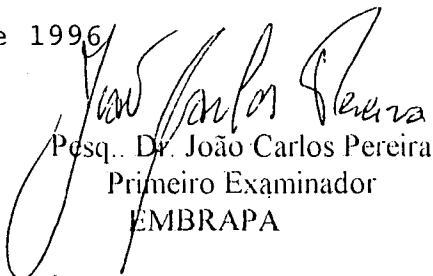
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E DO DESPORTO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
COORDENAÇÃO DO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA FLORESTAL

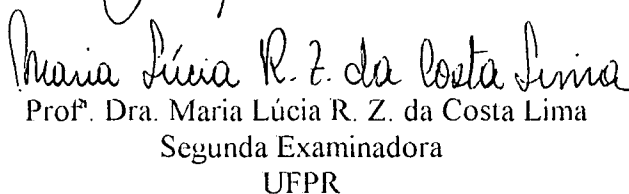
P A R E C E R

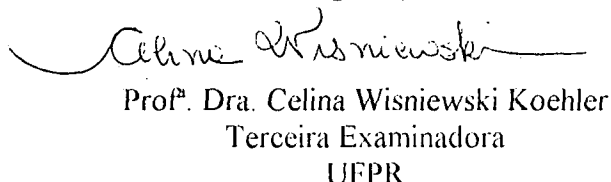
Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, reuniram-se para realizar a arguição da Tese de DOUTORADO, apresentada pelo candidato **JAIR ALVES DIONÍSIO**, sob o título "**FLUTUAÇÕES POPULACIONAIS, BIOMASSAS E ATIVIDADES MICROBIANAS EM ÁREA CULTIVADA COM *Eucalyptus grandis* (W.Hill ex Maiden)**", para obtenção do grau de **Doutor** em Ciências Florestais, no Curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, Área de Concentração **SILVICULTURA**.

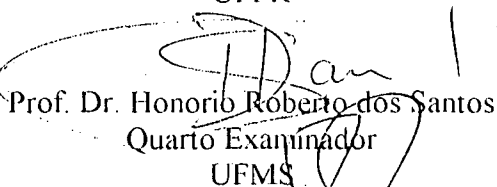
Após haver analisado o referido trabalho e argüido o candidato são de parecer pela "**APROVAÇÃO**" da Tese, com média final: (*8,80*), correspondente ao conceito: (*A*).

Curitiba, 26 de junho de 1996


Pesq. Dr. João Carlos Pereira
Primeiro Examinador
EMBRAPA


Prof.ª Dra. Maria Lúcia R. Z. da Costa Lima
Segunda Examinadora
UFPR


Prof.ª Dra. Celina Wisniewski Koehler
Terceira Examinadora
UFPR


Prof. Dr. Honorio Roberto dos Santos
Quarto Examinador
UFMS


Prof. Dr. Eli Nunes Marques
Orientador e Presidente da Banca
UFPR

OFEREÇO

Às minhas filhas, **HELENA e LAURA**

Dedico
ao meu irmão, **MÁRCIO** in memória

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Paraná, em especial ao Curso de Pós-graduação em Engenharia Florestal, área de concentração Silvicultura, pela oportunidade e acolhida.

Às Universidades, Estadual de Ponta Grossa e Federal do Paraná pela oportunidade de realização do Curso e à CAPES pelo apoio financeiro.

Ao professor Dr. Honório Roberto dos Santos pela amizade, orientação e grande espírito humanitário.

À Embrapa-CNPFlorestas, pela oportunidade de realização da pesquisa, através do projeto número 08.094.502 "Desenvolvimento de Técnicas Silviculturais de Sustentabilidade Econômicas e Ecológicas de Sistemas de Produção Florestal.

Aos amigos Helton Damin da Silva, Guilherme de Castro Andrade e Antônio F. Jurado Bellote, pela amizade, confiança e fundamental contribuição na coleta dos dados.

À Empresa Suzano de Papel e Celulose, pela concessão da área para realização da pesquisa e financiamento do projeto.

Aos trabalhadores rurais da empresa Suzano: Gilson, Adilson, pelo apoio na coleta dos dados.

Ao Eng^o. Agrônomo Robinson Rolim Ressetti, pela contribuição na revisão do texto.

À dona Elda Nazaré Leite Lubansinski secretária do Laboratório de Biologia do Solo pelo apoio e colaboração em todas as análises da pesquisa.

Aos meus pais, Geraldo e Iracy, que, com grande sacrifício, sempre acreditaram e investiram na educação de seus filhos.

A todos que colaboraram direta ou indiretamente para realização desta pesquisa.

BIOGRAFIA

JAIR ALVES DIONÍSIO, filho de Geraldo Francisco Dionísio e Iracy Alves Dionísio, nascido em 07 de setembro de 1958, em João Pessoa, Paraíba.

Cursou o primário no Grupo Escolar D. Pedro II, ginásio no Colégio Estadual de Jaguaribe e o segundo grau na Escola Técnica Federal da Paraíba, todos em João Pessoa.

Em 1977 iniciou o curso de Agronomia na Universidade Federal da Paraíba, Campus III Areia - Pb, graduando-se em 1981.

No ano de 1982 iniciou na Universidade Federal do Rio Grande do Sul o Mestrado em Agronomia Área de Concentração Solos, subárea Microbiologia do Solo, concluindo-o em 1985.

Em 1984 ingressou no quadro docente da Universidade Estadual de Ponta Grossa, como professor auxiliar, responsável pelas disciplinas: Microbiologia Agrícola e Fertilidade do Solo.

No período de 1985 a 1988 foi coordenador do Curso de Agronomia da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

No período de 1988 a 1990 foi Chefe do Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Em 1992 iniciou o Doutorado no Curso de Engenharia Florestal na Universidade Federal do Paraná, na Área de Concentração Silvicultura.

Através do convênio de Cooperação Técnica Científica entre a UFPr e a UEPG, iniciou a participação no Departamento de Solos da UFPr, como professor da disciplina Biologia do Solo (Graduação) e Microbiologia do Solo (Mestrado).

Efetivou-se na Universidade Federal do Paraná, Departamento de Solos em 1994, na disciplina Biologia do Solo.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- 1 Flutuações populacionais de bactérias em geral dos tratamentos com calagem, adubação mineral e/ou composto orgânico, na camada de 0 - 5 cm de profundidade, no município de Itatinga - SP, no período de agosto de 1994 a agosto de 1995. 58
- 2 Flutuações populacionais de bactérias em geral dos tratamentos com adubação mineral, na camada de 0 - 5 cm de profundidade, no município de Itatinga -SP, no período de agosto de 1994 a agosto de 1995. 58
- 3 Precipitações mensais acumuladas no município de Itatinga - SP, no período de agosto de 1994 a agosto de 1995. (Fonte: Companhia Suzano de Papel e Celulose). 59
- 4 Temperaturas médias mensais (mínima e máxima), no município de Itatinga - SP, no período de agosto de 1994 a agosto de 1995. (Fonte: Companhia Suzano de Papel e Celulose). 59
- 5 Flutuações populacionais de actinomicetos dos tratamentos com calagem, adubação mineral e/ou composto orgânico, na camada de 0 - 5 cm de profundidade, no município de Itatinga - SP, no período de agosto de 1994 a agosto de 1995. 61
- 6 Flutuações populacionais de actinomicetos dos tratamentos com adubação mineral, na camada de 0 - 5 cm de profundidade, no município de Itatinga - SP, no período de agosto de 1994 a agosto de 1995. 61

- 7 Flutuações populacionais de fungos dos tratamentos com calagem, adubação mineral e/ou composto orgânico, na camada de 0 - 5 cm de profundidade, no município de Itatinga - SP, no período de agosto de 1994 a agosto de 1995. 63
- 8 Flutuações populacionais de fungos dos tratamentos com adubação mineral na camada de 0 - 5 cm de profundidade, no município de Itatinga - SP, no período de agosto de 1994 a agosto de 1995. 63
- 9 Flutuações populacionais de celulolíticos dos tratamentos com calagem, adubação mineral e/ou composto orgânico na camada de 0 - 5 cm de profundidade, no município de Itatinga - SP, no período de agosto de 1994 a agosto de 1995. 65
- 10 Flutuações populacionais de celulolíticos dos tratamentos com adubação mineral na camada de 0 - 5 cm de profundidade, no município de Itatinga - SP, no período de agosto de 1994 a agosto de 1995. 65
- 11 Flutuações populacionais de solubilizadores de fosfato dos tratamentos com calagem, adubação mineral e/ou composto orgânico, na camada de 0 - 5 cm de profundidade, no município de Itatinga - SP, no período de agosto de 1994 a agosto de 1995. 66
- 12 Flutuações populacionais de solubilizadores de fosfato dos tratamentos com adubação mineral, na camada de 0 - 5 cm de profundidade, no município de Itatinga - SP, no período de agosto de 1994 a agosto de 1995. 66

- 13 Flutuações de esporos bacterianos dos tratamentos com calagem, adubação mineral e/ou composto orgânico, na camada de 0 - 5 cm de profundidade, no município de Itatinga - SP, no período de agosto de 1994 a agosto de 1995. 67
- 14 Flutuações de esporos bacterianos dos tratamentos com adubação mineral, na camada de 0 - 5 cm de profundidade, no município de Itatinga - SP, no período de agosto de 1994 a agosto de 1995. 67
- 15 Flutuações das biomassas microbianas dos tratamentos com calagem, adubação mineral e/ ou composto orgânico, na camada de 0 - 5 cm de profundidade, no município de Itatinga - SP, no período de agosto de 1994 a agosto de 1995. 69
- 16 Flutuações das biomassas microbianas dos tratamentos com adubação mineral, na camada de 0 - 5 cm de profundidade, no município de Itatinga - SP, no período de agosto de 1994 a agosto de 1995. 69
- 17 Flutuações das respirações microbianas acumuladas dos tratamentos com calagem, adubação mineral e/ ou composto orgânico, na camada de 0 - 5 cm de profundidade, no município de Itatinga - SP, no período de agosto de 1994 a agosto de 1995. 71
- 18 Flutuações das respirações microbianas acumuladas dos tratamentos com adubação mineral na camada de 0 - 5 cm de profundidade, no município de Itatinga - SP, no período de agosto de 1994 a agosto de 1995. 71

LISTA DE TABELAS

- 1 Densidades populacionais dos principais microrganismos do solo em função das diferentes formas de adubação na camada de 0 - 5 cm de profundidade, no município de Itatinga - SP, no período de agosto de 1994 a agosto de 1995. (Média das sete coletas). 43
- 2 Parâmetros físicos e químicos do solo em função das diferentes formas de adubação na camada de 0 - 5 cm de profundidade, no município de Itatinga - SP, no período de agosto de 1994 a agosto de 1995. (Média das sete coletas). 45
- 3 Coeficiente de correlação (de 1º grau) entre os dados de análise de solo, população, biomassa e respiração microbiana, considerando-se todos os tratamentos. 48
- 4 Densidades populacionais e percentagens de esporos bacterianos em função das diferentes formas de adubação na camada de 0 - 5 cm de profundidade, no município de Itatinga - SP, no período de agosto de 1994 a agosto de 1995. Média das sete coletas. 51
- 5 Biomassa microbiana, respiração microbiana e carbono orgânico pertencente a esta biomassa em função das diferentes formas de adubação, na camada de 0 - 5 cm de profundidade, no município de Itatinga - SP, no período de agosto de 1994 a agosto de 1995. (Média das sete coletas). 53

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES	V
LISTA DE TABELAS	VIII
RESUMO	XII
ABSTRACT	XIII
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 MICRORGANISMOS	3
2.1.1 Bactérias	3
2.1.2 Actinomicetos	4
2.1.3 Fungos	5
2.1.4 Celulolíticos	6
2.1.5. Solubilizadores de fosfato	7
2.2 AVALIAÇÕES DAS POPULAÇÕES MICROBIANAS DO SOLO	8
2.3 DENSIDADES POPULACIONAIS MICROBIANAS	10
2.4 EFEITOS DA ACIDEZ, CALAGEM E ADUBAÇÃO NA MICROBIOTA DO SOLO	13
2.5 EFEITO ESTACIONAL SOBRE A MICROBIOTA DO SOLO	17
2.6 BIOMASSA MICROBIANA	22
2.7 TÉCNICAS DE AVALIAÇÃO DA BIOMASSA MICROBIANA DO SOLO	26
2.7.1 Microscopia direta	26
2.7.2 Extração e determinação de constituintes dos microrganismos do solo	27
2.7.3. Respiração em resposta à adição de glicose	28
2.7.4 Fumigação incubação	29
3. MATERIAL E MÉTODOS	33
3.1 CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA	33
3.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS	33
3.3 AMOSTRAGENS	36

3.4 DETERMINAÇÕES	36
3.4.1. Populações microbianas	36
3.4.2. Biomassa microbiana	38
3.4.3. Características físicas e químicas do solo	39
3.5 DADOS METEOROLÓGICOS	41
3.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA	41
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
4.1 EFEITO DA APLICAÇÃO DE COMPOSTO ORGÂNICO, CALAGEM E ADUBOS MINERAIS NA POPULAÇÃO MICROBIANA	42
4.1.1 Densidades populacionais de bactérias em geral	43
4.1.2 Densidades populacionais de actinomicetos	44
4.1.3 Densidades populacionais de fungos	46
4.1.4 Densidades populacionais de microrganismos celulolíticos	49
4.1.5 Densidades populacionais de microrganismos solubilizadores de fosfato	49
4.1.6 Densidades populacionais de bactérias esporuláveis	50
4.2 EFEITO DA APLICAÇÃO DE COMPOSTO ORGÂNICO, CALAGEM E ADUBOS MINERAIS NA BIOMASSA MICROBIANA	52
4.3 EFEITO DA APLICAÇÃO DE COMPOSTO ORGÂNICO, CALAGEM E ADUBOS MINERAIS NA RESPIRAÇÃO MICROBIANA	55
4.4 INFLUÊNCIA DAS VARIAÇÕES CLIMÁTICAS NAS DENSIDADES POPULACIONAIS, BIOMASSAS E RESPIRAÇÕES MICROBIANAS	56
4.4.1 Bactérias	57
4.4.2 Actinomicetos	60
4.4.3 Fungos	62
4.4.4 Celulolíticos, solubilizadores de fosfato e bactérias esporuláveis	64
4.4.5 Flutuação estacional da biomassa microbiana	68
4.4.6 Flutuação estacional da respiração microbiana	70
5. CONCLUSÕES	72
APÊNDICE	73

RESUMO

Durante o período de agosto de 1994 a agosto de 1995 foi realizado um experimento no município de Itatinga - SP, em povoamento de *Eucalyptus grandis*, com três anos de idade, num solo Areia Quartzosa álica, onde avaliou-se o efeito das adubações (mineral e orgânica) e calagem, usadas individualmente ou em conjunto sobre a densidade populacional microbiana, biomassa (método da fumi-gação-incubação) e respiração microbiana. As amostras de solo foram coletadas da camada de 0 - 5 cm de profundidade. As densidades populacionais bacterianas foram mais expressivas em todos os tratamentos, seguida pelos actinomicetos e posteriormente pelos fungos. As maiores densidades populacionais, biomassa microbiana e respiração edáfica foram propiciadas pelos tratamentos 1 (composto + calagem + adubação mineral) e 8 (composto + adubação mineral). Já os tratamentos que utilizaram apenas adubação mineral (3, 4 e 9), de um modo geral apresentaram os menores valores. As densidades de celulolíticos foram pouco afetadas pelos tratamentos, e, as densidades de solubilizadores de fosfato, não foram afetadas pelas diversas formas de adubação e calagem. As variações climáticas contribuíram para a flutuação da densidade populacional, biomassa e respiração microbiana, com uma tendência de estímulo no período de elevadas precipitações e temperaturas, enquanto que, nas épocas de seca e temperaturas amenas, o efeito foi negativo. A matéria orgânica do solo correlacionou-se significativamente com a biomassa microbiana e a respiração do solo.

ABSTRACT

In *Eucalyptus grandis* L. plantations with 3 years of age at Itatinga-SP, growing on an alic Quarty-Sand soil, the effect of nine different fertilizer practices on the microbial population densities, biomass (fumigation-extraction method) and microbial respiration was evaluated during one year (August/94 to August/95). Soil samples were collected at 0 - 5 cm depth, every two months. Bacterial density was higher than actinomyces and fungi in all treatments. Higher population densities, microbial biomass and soil respiration were associated with liming + compost + mineral fertilization, while lower values of these variables were observed in soil that received only mineral fertilization. Density of celulolitic organisms was little affected by treatments and density of phosphate solubilizers was not affected. Climatic variations affected the results. Higher temperatures and precipitation stimulated microbial activity while lower air temperatures and soil humidity had a negative effect. Soil organic matter content was significantly correlated with microbial biomassa and soil respiration.

1. INTRODUÇÃO

No ápice do desenvolvimento de uma floresta, normalmente ocorre um equilíbrio entre a vegetação, o clima e o solo. Desde que se mantenham constantes as condições do ecossistema. Porém, se houver substituição da vegetação natural às conseqüências serão determinadas pelas interações entre o novo povoamento vegetal, o solo e o clima.

As espécies do gênero *Eucalyptus spp* nativas têm sido preferidas nos programas de reflorestamento em razão de sua adaptação às mais variadas condições climáticas e edáficas, do seu rápido crescimento e das múltiplas possibilidades de uso da madeira. Apesar desses aspectos favoráveis, existe a possibilidade de prejuízos causados ao solo e a sua microbiota, (DELA BRUNA, 1991). Porém, no Brasil existem poucas informações sobre a comunidade microbiana dos solos e muito menos ainda sobre os efeitos da implantação do *Eucalyptus spp*.

A adição de fertilizantes minerais ou carbono orgânico na forma de esterco, adubo verde, composto, restos animais e vegetais, fertilizantes orgânicos e resíduos orgânicos diversos, além de outros tratamentos do solo, exerce grande impacto sobre a microbiota do solo. Seus efeitos podem resultar em mudanças qualitativas e quantitativas das populações na comunidade microbiana ou de suas atividades específicas, podendo diminuir ou favorecer a proliferação de grupos, espécies minoritárias ou espécies novas, levando a comunidade a um novo equilíbrio, que pode favorecer ou afetar negativamente o crescimento das plantas e a produtividade do solo (SIQUEIRA e FRANCO, 1988).

Para se compreender as interações entre microrganismos e plantas, não só quanto aos processos simbióticos, mas também aqueles ligados à ciclagem de nutrientes, tem sido proposto uma série de técnicas de pesquisa, destacando-se entre elas a densidade populacional, respiração edáfica e biomassa microbiana. Esta última, tem recebido grande ênfase nos últimos anos, pois representa a parte viva da matéria orgânica do solo, ou seja, as células microbianas são utilizadas

como um indicador de grande sensibilidade para avaliar as mudanças no solo e decorrente das adubações, dos métodos de cultivo e das condições edafoclimáticas (SIQUEIRA e FRANCO, 1988).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar as influências das diferentes formas de adubação nas densidades populacionais, biomassas e atividades microbiana do solo, em área de *Eucalyptus grandis*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 MICRORGANISMOS

2.1.1 Bactérias

A maior densidade populacional dos microrganismos nos solos é promovida pelas bactérias, que é superior à densidade de todos os outros microrganismos juntos. A comunidade bacteriana é estimada em cerca de 10^8 a 10^9 por grama de solo, variando com a técnica de contagem e o tipo de solo. No entanto, devido ao tamanho celular reduzido, esta comunidade contribui com menos da metade da biomassa microbiana total (ARAÚJO e HUNGRIA, 1994). Em 17 solos pesquisados, a contribuição das bactérias para a biomassa total, variou de 10 a 40 %, sendo a média 25 %, enquanto que a contribuição dos fungos variou de 60 a 90 %, sendo a média de 75 % (ANDERSON e DOMSCH, 1980),

As bactérias são seres procarióticos, geralmente unicelulares caracterizados pelo tamanho reduzido ($0,5 - 2,0 \times 1,0 - 8,0 \mu\text{m}$) que se multiplicam por fissão binária formando colônias (BRANDÃO, 1992).

De acordo com as exigências de oxigênio as bactérias podem ser agrupadas em quatro divisões: a) aeróbias necessitam de oxigênio; b) microaerófilas exigem pequenas quantidades de oxigênio livre; c) anaeróbias propriamente ditas crescem na ausência do oxigênio e d) anaeróbias facultativas crescem tanto na presença quanto na ausência de oxigênio livre (SIQUEIRA et al., 1994).

As bactérias, do solo são na maioria heterotróficas, necessitando para o seu desenvolvimento nutrientes orgânicos pré-formados como fonte de energia e carbono. Mas, em algumas condições, pode haver predominância de autotróficas. Estima-se que existam no solo mais de 800 espécies, sendo que a maioria pertence à ordem *Eubacteriales*, as quais vivem nos horizontes.

Os gêneros de maior ocorrência no solo são: *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Xanthomonas* e *Micrococcus*. Outros gêneros pouco representativos, mas de grande importância ecológica são: *Nitro-*

somonas, *Nitrobacter*, *Ferrobacillus*, *Thiobacillus*, *Hidrogenomonas*, *Dessulfovibrio*, *Methanobacillus* e *Carboxidomonas*. Além dessas, são de grande interesse agrícola *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, que são bactérias fixadoras de N₂ com leguminosas e não leguminosas, *Parosponia*; *Azospirillum* que fixam N₂ com gramíneas; e *Beijerinckia*, *Azotomonas*, *Derxia* e outros gêneros que são fixadores de vida livre no solo (BRANDÃO, 1992).

De acordo com ALEXANDER (1980), o pH ótimo de crescimento das bactérias se localiza entre 6,5 e 7,5, porém, algumas espécies crescem em limites extremos que variam de 0,5 a 9,5.

Populações bacterianas do solo, representada pelos gêneros *Bacillus* e *Clostridium*, aeróbio e anaeróbio respectivamente, são capazes de sobreviver às condições adversas do ambiente, como: dessecação prolongada; altas temperaturas; irradiação e substâncias tóxicas, pela formação de estrutura de resistência (endosporo), que é mais resistente do que a célula vegetativa (GRAY e WILLIAMS, 1975). Estes esporos são eliminados com segurança através do calor seco a 180 °C por 15 minutos (BLOCK, 1991). Em contagens em placas de Petri, ALEXANDER (1980) cita que estas populações podem representar até 67 % da comunidade bacteriana.

2.1.2. Actinomicetos

Os actinomicetos constituem um grupo de microrganismos com características intermediárias entre fungos e bactérias. Pertencem à classe *Schyzomycetes*, juntamente com as bactérias. Dessa forma o termo actinomiceto não tem significado taxonômico, sendo então classificados como bactéria da ordem *Actinomycetales* (SIQUEIRA, 1988). Morfologicamente assemelham-se aos fungos da subdivisão *Deuteromycotina*, por produzirem um fino micélio ramificado que se fragmenta ou se subdivide formando esporos assexuais (conidiosporos) (PELCZAR et al., 1980). As hifas ou filamentos assemelham-se morfologicamente às hifas dos fungos, porém de diâmetro bastante reduzido (0,5 e 2,0 µm) semelhantes às bactérias Gram negativas, por possuírem núcleo primitivo, apresentarem sensibi-

lidade à vírus (SIQUEIRA, 1988). Em termos de biomassa microbiana total, os actinomicetos tem uma contribuição similar a das bactérias e, além disso, as transformações bioquímicas desenvolvidas no solo são menores que as dos fungos e das demais bactérias (ALEXANDER, 1980). Estes microrganismos ocorrem no solo numa densidade populacional variando de 10^4 a 10^8 /g de solo, sendo inferiores apenas às bactérias (SIQUEIRA, 1988).

O pH é um fator limitante para a maioria das espécies, que tem uma faixa ótima de ocorrência entre 6,5 a 8,0, sendo 5,5 o valor limitante para a maioria das espécies (TSAI et al., 1992). Porém, (KHAN e WILLIAMS, 1975) citam a ocorrência de actinomicetos adaptados a solos ácidos (pH 3,5).

De acordo com a nutrição, são predominantemente heterotróficos, utilizando fontes de carbono orgânico. O carbono é utilizado desde as moléculas simples às complexas de ácidos orgânicos, polissacarídeos, lipídeos, proteínas e carbonos alifáticos, assim como a quitina (SIQUEIRA, 1988). São fracos competidores, aparecendo no solo quando os nutrientes dos materiais orgânicos escasseiam e as populações de fungos e bactérias decaem (ALEXANDER, 1980).

2.1.3. Fungos

São classificados como protistas superiores, pois possuem células eucarióticas, podendo ser unicelulares (leveduras), sendo representados principalmente pelos gêneros *Candida*, *Torula* e *Sacharomyces* ou pluricelulares (filamentosos), representados pelos gêneros *Mucor*, *Chaetomium*, *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*. Todos são aclorofilados e portanto quimiorganotróficos, obtendo o carbono para a síntese celular da matéria orgânica morta ou nutrindo-se como parasitas de outros organismos.

Ocorrem no solo em densidades populacionais inferiores às bactérias e dos actinomicetos, variando de 10^4 a 10^6 /g de solo, mas, devido ao comprimento das hifas (10 - 100 m/g de solo) com elevado diâmetro (5 a 10 μ m), podem contribuir com 0,5 até 5,0 t/ha de tecido vivo (BRANDÃO, 1992). Desta forma, estes

microrganismos geralmente contribuem com a maior parcela da biomassa microbiana.

As populações fúngicas predominam em solos ácidos, onde sofrem menor competição, já que as bactérias e actinomicetos são favorecidos por valores de pH na faixa neutra a alcalina. Podem ser encontrados em solos com pH de 2,0 a 9,0 (PELCZAR et al., 1980), e o valor ótimo para o desenvolvimento depende da espécie. Após a calagem e elevação do pH as densidades populacionais fúngicas decrescem, em consequência da competição com populações de bactérias e actinomicetos (SIQUEIRA et al., 1994).

A umidade ideal para as populações fúngicas está localizada entre 60 a 70 % da capacidade de campo. Em geral são aeróbios, apresentam resistência a altas pressões de CO₂, podendo se desenvolver nas regiões mais profundas do solo (BRANDÃO, 1992). Em função da temperatura, podem ser encontrados em uma ampla faixa, sendo que as espécies mesófilas predominam nos solos.

2.1.4. Celulolíticos

Grande parte das população microbiana heterotrófica do solo, é representada pelos fungos, actinomicetos e bactérias e caracteriza-se pela habilidade em decompor a celulose, utilizando-a como fonte de carbono e energia.

A celulose é o mais abundante composto orgânico na natureza, representando 15 a 60 % da matéria seca dos vegetais incorporados ao solo. Encontra-se em plantas, sementes, algas, fungos e cistos de protozoários (SIQUEIRA et al., 1994). É um carboidrato composto de unidades de anidroglicose unidas pelas ligações β 1-4 nos átomos de carbono, com número variável entre 2.000 a 10.000 unidades por molécula, em longa cadeia linear não ramificada (CERRI et al., 1992). A degradação da celulose se dá através da enzima celulase, que é produzida em ambiente aeróbio ou anaeróbio. Em ambiente aeróbio a decomposição resulta na produção de CO₂ e substância celular, com a participação de todos os microrganismos, sendo os fungos os principais responsáveis pela degradação (PANIKOV et al., 1984), entre eles *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* e

Rhizopus. (ALEXANDER, 1980). Na ausência de oxigênio, a decomposição é lenta, predominantemente realizada pelas bactérias anaeróbias facultativas e/ou obrigatórias, que produzem CO₂, H₂, etanol, ácido acético, butírico, fórmico, láctico e succínico (LAMBAIS, 1992).

2.1.5. Solubilizadores de fosfato

O fósforo é um elemento vital para todas as formas de vida, ocorrendo no solo em quantidade total normalmente elevada, porém em baixas quantidades disponíveis para as culturas, principalmente nos solos ácidos tropicais. Diante dessas circunstâncias, a solubilização biológica causada pelos microrganismos do solo surge como uma alternativa para elevar a disponibilidade de fósforo nessas regiões. Dentre os principais grupos microbianos que apresentam esta característica destacam-se as bactérias, fungos e actinomicetos. Entre as bactérias citam-se vários gêneros, como *Bacillus*, *Thiobacillus*, *Mycobacterium*, *Micrococcus* entre outros; quanto aos fungos, destacam-se *Aspergillus*, *Penicillium*, *Sclerotium*, *Rhizopus* e outros, e para os actinomicetos *Streptomyces* (EIRA, 1992). De acordo com KUCEY (1983), os fungos são mais eficientes na solubilização do que as bactérias, mas estas são mais numerosas podendo atingir densidades populacionais de 10⁵ a 10⁷ por grama de solo.

O mecanismo básico de solubilização do fosfato se dá por três maneiras distintas: *a* - ácidos fracos (H₂CO₃), formados a partir das excreções radiculares e do metabolismo respiratório dos microrganismos; *b* - ácidos minerais fortes (HNO₂, HNO₃ e H₂SO₄, formados pela oxidação do nitrogênio e enxofre, respectivamente e *c* - ácidos orgânicos (cítrico, oxálico, glucônico, entre outros), formados no metabolismo microbiano ou excretados pelas plantas superiores (EIRA, 1992).

A habilidade de solubilizar fosfato tem sido amplamente afetada nos subcultivos in vitro (transferências sucessivas em meios artificiais), causando a perda desta característica principalmente em bactérias, enquanto que para os fungos a preservação desta característica é maior (EIRA, 1992).

MICHOUSTINE (1972), pesquisando sobre processos microbiológicos que mobilizam compostos orgânicos no solo em condições de laboratório, constatou uma solubilização de 85 a 92 % do $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ por *Aspergillus niger*, *Fusarium ovenaceum* e *Alternaria sp.*, com conseqüente acidificação do meio que passou de um pH 7,2 para 2,1 a 4,9. Enquanto as bactérias chegaram a solubilizar 61,7 % do $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, sendo *Bacillus megaterium* o mais eficiente, alterando o pH do meio de 7,2 para 4,2. HARRISON, et al., (1972) constataram que as formas mais facilmente solubilizadas pelos microrganismos do solo são: CaHPO_4 , $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, FePO_4 , $\text{Fe}(\text{PO}_4)_2$ e AlPO_4 . A taxa de solubilização aumenta quando ao solo se acrescenta uma maior quantidade de material energético disponível aos microrganismos, resultando numa maior produção de ácidos orgânicos.

2.2. AVALIAÇÕES DAS POPULAÇÕES MICROBIANAS DO SOLO

As avaliações das populações microbianas de um solo podem ser efetuadas em meios de cultura, através de contagens das UFC (Unidades Formadoras de Colônias), ou pôr técnicas de estimação do número mais provável com base na diluição à extinção, ou ainda pôr técnicas de contagem direta com o uso de microscópio (ALEXANDER, 1980). Estas técnicas são de grande valia para o conhecimento das relações entre os diferentes grupos microbianos.

As contagens realizadas em meios de cultura tem como princípio a diluição decimal da amostra de solo em solução salina isotônica ou em água destilada, que posteriormente é agitada mecanicamente para promover a separação das estruturas microbianas. Considerando-se as condições do solo, seleciona-se as diluições com maior possibilidade de ocorrência das populações e inocula-se em meio de cultura específico para cada grupo microbiano. Esta técnica parte do princípio que cada colônia origina-se de uma única célula, esporo, hifa ou segmento de hifa (GRAY e WILLIAMS, 1975). Segundo estes autores a grande desvantagem desta técnica é a subestimação da população, resultante da utilização dos meios de cultura e das condições de incubação que são seletivas. Além disso, deve-se considerar que, muitos esporos não germinam durante a diluição da

amostra de solo, muitas células permanecem agregadas e aderidas às paredes das pipetas. A quantificação da população geralmente é expressa por grama de solo seco, sendo obtida em função da diluição, do número de UFC por placa e da umidade natural do solo.

A estimativa da população realizado pela técnica do número mais provável é utilizada para microrganismos que não formam colônias em meio de cultura, sendo assim impossível quantificá-los em placas de Petri. Dessa forma, realiza-se a diluição da amostra de solo e inocula-se em meio líquido ou semi-sólido e analisa-se a formação ou o desaparecimento de um determinado produto. Esta técnica tem sido utilizada para quantificar as bactérias nitrificantes (*Nitrosomonas* e *Nitrobacter*), através da presença de nitrito e nitrato, respectivamente. A grande desvantagem desta técnica é citada pelo mesmo autor como sendo a estimativa da população em intervalos de diluições (ANDRADE et al., 1994).

Através de técnicas microscópicas, a estimativa das populações microbianas do solo é obtida a partir de um volume conhecido de suspensão do solo, adicionando-se um corante específico para cada grupamento microbiano e realiza-se a contagem no microscópio ótico (PARKINSON et al., 1971). Para expressão do resultado final das populações é necessário o conhecimento do volume da suspensão e da área em observação. Como limitações desta técnica, JENKINSON, et al., (1976), citam o baixo poder de resolução do microscópio óptico, que foi avaliado através de observações das suspensões por microscopia eletrônica. De forma similar, ANAN'YEVA e NIKITIN (1979) observaram que esta limitação induziu a erros de até 40 % na estimativa das populações de bactérias em dois solos de Moscou. Apesar disto, esta técnica tem tendência de superestimação das populações, visto que apresenta dificuldades em distinguir células viáveis de mortas, diferenciar células microbianas de partículas orgânicas coradas e em distinguir células bacterianas de esporos de actinomicetos (GRAY e WILLIAMS, 1975).

Conhecendo-se todas as limitações das contagens em placas de Petri e tomando-se os cuidados necessários para minimizar os seus efeitos, esta técnica tem grande aplicabilidade, pois permite a distinção de grupos de microrganismos específicos, tais como: solubilizadores de fosfato, celulolíticos, esporos de acti-

nomocetos e células bacterianas, etc., (CATTELAN e VIDOR, 1990), o que seria difícil ou mesmo impossível quantificá-los através de microscopia direta.

Baseando-se nas desvantagens apresentadas por ambas as técnicas de estimativa das populações microbianas de um solo, SILVA FILHO (1984), ressalta que o valor real das populações deverá oscilar entre os obtidos através destes duas técnicas.

2.3. DENSIDADES POPULACIONAIS MICROBIANAS

Nos sistemas florestais as densidades das populações microbianas do solo são da ordem de milhares de microrganismos por grama de solo, cuja presença e diversificação de atividades interferem diretamente na nutrição vegetal, sendo que estas densidades geralmente são inferiores às encontradas nos sistemas agrícolas.

As populações de microrganismos do solo e suas funções são afetadas pelas condições ambientais de pH, umidade, aeração, temperatura e disponibilidade de nutrientes orgânicos e inorgânicos (ALEXANDER, 1980). As modificações ambientais provocadas pelo manejo do solo e pela flutuação estacional das condições climáticas, também afetam as populações, como resultado do efeito isolado ou conjunto de dois ou mais fatores (SIQUEIRA et al., 1994).

Existem poucas informações sobre as populações microbianas em solos brasileiros cultivados com essências florestais e praticamente raros os estudos sobre os efeitos da implantação da monocultura de *Eucalyptus spp.* no Brasil. Tal informação, torna-se desejável em vista da importância da atividade microbiana na decomposição da matéria orgânica e mineralização de nutrientes para a planta (JONES e RICHARDS, 1977). Como as atividades microbianas são provavelmente, o mais importante fator na ciclagem de nutrientes de uma floresta (EIRA, 1995), o estudo destas populações e suas variações sazonais deve ser feito sem esquecer, entretanto, a fração inorgânica do solo. Esta tem influência na disponibilidade de nutrientes, aeração e retenção de água, determinando decisivamente a qualidade e quantidade das populações microbianas (SIQUEIRA et al., 1994).

A cobertura vegetal interfere nas populações microbianas, através das excreções radiculares, da qualidade e quantidade de matéria orgânica e das modificações ambientais. Dessa forma DAS et al., (1991), avaliaram a distribuição de bactérias, fungos e actinomicetos sob diferentes coberturas vegetais (*Tectonia grandis*, *Shorea robusta*, *Cryptomeria japonica*, *Cupressus cashmeriana*, *Pinus patula*, *Bucklandia populnea*, *Rhododendron* e gramíneas) em diferentes altitudes. Na camada mineral do solo, horizonte A1, as mais altas densidades populacionais de bactérias e actinomicetos foram encontradas sob *T. grandis* e a maior densidade de propágulos fúngicos observou-se sob gramíneas. Na vegetação com camada de serapilheira, as mais altas densidades populacionais de fungos e actinomicetos estavam associadas ao cultivo de *Rhododendron*. Os autores também constataram uma correlação positiva entre o pH do solo e número de bactérias, enquanto os fungos e actinomicetos correlacionaram-se com o carbono orgânico e carbono dos ácidos húmico e fúlvico. De maneira similar, MURRAY (1987) avaliou as densidades populacionais de bactérias, fungos e actinomicetos em três monoculturas (*Acacia pulchella*, *Branksia grandis* e *Eucaliptus marginata*) e verificou que a densidade populacional fúngica foi superior na monocultura de *B. grandis*, enquanto a de bactérias e actinomicetos foram superiores em *A. pulchella*.

DAS et al., (1991) demonstraram que a taxa de decomposição da serapilheira de quatro espécies de coníferas (*Cryptoria japonica*, *Tsuga brunoniana*, *Pinus patula* e *Cupressus cashemeriana*) e a essência *Bucklandia populnea*, diferiram em termos de velocidade, sendo a maior encontrada na *B. populnea*, seguida da *C. japonica*. Porém, a decomposição do serapilheira de *C. japonica* aumentou significativamente a densidade populacional de bactérias aos 60 dias, seguido por *C. cashemeriana*, *T. brunoniana*, e *P. patula*, enquanto a densidade populacional fúngica atingiu o máximo no mesmo período, porém sob a serapilheira de *B. populnea*.

EDITH e MARQUES (1984), através da técnica de contagem em placas de Petri, avaliaram as populações dos três principais grupos microbianos em solos do cerrado (Latosolo Vermelho-Amarelo), com pH variando de 4,5 a 4,8, visando

verificar as prováveis alterações causadas pela monocultura do eucalipto. Os grupos microbianos presentes no solo de eucalipto foram comparados com os grupos sob angico (*Piptadenia sp*) e sob vegetação nativa do cerrado. A maior população microbiana encontrada na monocultura do eucalipto foi a de actinomicetos, atingindo valores de $67,9 \times 10^4$ UFC/g solo seco, sendo os fungos o grupo menos freqüente ($0,3 \times 10^4$ UFC /g solo seco). Além disso, verificaram que, no solo como um todo, o sistema de monocultura do eucalipto apresentou a maior microflora ($87,3 \times 10^4$ UFC /g solo seco) como também as maiores populações dos grupos microbianos. Também sob esta cultura, o número de bactérias resistentes à estreptomicina foi positivamente correlacionado com o teor de Al^{+3} do solo, enquanto que sob o angico, houve correlação negativa destas bactérias com o teor de matéria orgânica. Os actinomicetos mostraram correlações negativas com a argila, o que está de acordo com TSAI et al., (1992), que ressalta as grandes influências da textura do solo na distribuição dos microrganismos nos solos.

A profundidade do solo afeta as densidades populacionais microbianas, pela redução do teor de matéria orgânica, disponibilidade de nutrientes, trocas gasosas e pelo aumento dos teores de alumínio e/ou manganês, induzindo os microrganismos a utilizarem alternativas, como a formação de esporos para sobreviverem às condições adversas. Dessa forma, SIALA, et al., (1974), avaliaram as populações bacterianas nos diferentes horizontes de um solo sob *Pinus nigra* e encontraram os seguintes valores: 33,6; 6,1 e 12×10^5 UFC /g solo seco para a camada O e os horizontes A1 e C, respectivamente. No horizonte A1, com pH (4,5), 67,5% dos isolamentos de *Bacillus subtilus* estavam na forma vegetativa e no horizonte C, com pH 8,1, 80% estavam na forma de esporos. A distribuição total de bactérias presentes como esporos foi de 15,7; 46,0 e 21,3 %, para a camada O e os horizontes A1 e C, respectivamente. Nas camadas mais profundas as populações dos microrganismos parecem não variar tão expressivamente, pois ZVYAGINTSEV (1994), trabalhando com solos turfosos e analisando camadas com 5 - 7 m de profundidade, verificou que as densidades populacionais de bactérias e fungos foram relativamente constantes, sendo que nas diversas camadas

do solo os grupos funcionais, estratégias ecológicas e estrutura taxônomica da bactéria dominante mudaram com as variações de profundidade.

2.4. EFEITOS DA ACIDEZ, CALAGEM E ADUBAÇÃO NA MICROBIOTA DO SOLO

As populações, atividades e biomassas microbianas são influenciadas pelas propriedades físicas, químicas e biológicas do solo. A acidez do solo tem um acentuado efeito sobre o crescimento e atividade dos microrganismos decompositores de matéria orgânica. Tanto os microrganismos como a serapilheira podem alterar o pH do solo. Os microrganismos do solo produzem substâncias acidificantes, como ácidos minerais e orgânicos e alcalinizantes, como o amoníaco (EIRA, 1992). Por outro lado a serapilheira produz efeito acidificante sobre as camadas superficiais do solo, sendo este efeito mais acentuado em coníferas que em florestas mistas, onde a serapilheira tende a aumentar o conteúdo de bases, tornando maior o poder tampão do solo (WILLIAMS e GRAY, 1977).

Tem-se observado que os fungos se desenvolvem muito melhor nos solos ácidos do que em solos neutros ou alcalinos. Esta predominância nos solos com pH menor que 5,0, não é devida ao fato de que eles encontrem as condições ótimas de crescimento, mas sim à redução da concorrência de actinomicetos e bactérias, pois estas últimas são mais sensíveis as condições de acidez (SIQUEIRA, 1988).

JAKAB (1989), avaliou as atividades biológicas através da respiração do solo em experimentos com monoculturas de *Pinus sylvestris* e *Picea abies*. O autor observou que nas áreas sob *P. abies* com pH 5,3 as densidades das populações bacterianas e a atividades celulolíticas foram maiores do que naquelas sob *P. sylvestris* com pH 4,3. Já as populações fúngicas foram superiores no solo mais ácido. PEDRO e CALLE (1979), estudando o efeito do substrato sobre a atividade microbiana em solos de floresta de *Fagus sylvatica*, observaram que os substratos calcário e quartzo, confirmaram o efeito negativo de condições ácidas sobre as populações de actinomicetos, de microrganismos aeróbios e anaeróbios,

de amonificadores, amilolíticos, celulolíticos e desnitrificantes. Entretanto, fungos, microrganismos proteolíticos e atividade proteolítica foram superiores em condições ácidas (RAUBUCH e BEESE, 1993). Além disso, um estudo da importância da correlação entre biomassa microbiana e valores de pH de solos de floresta sob *Picea abies* ou *Pinus sylvestris*, na região nordeste da Europa, demonstrou que a acidificação diminuiu a biomassa e atividade microbiana em solos sob floresta (ANDERSON e DOMSCH, 1993).

Uma outra forma de se analisar os efeitos do pH sobre os microrganismos do solo é o uso do quociente metabólico qCO_2 ou taxa de respiração específica. ANDERSON e DOMSCH (1993) usaram esta técnica para uma comparação direta da atividade real microbiana de diferentes cultivos florestais. Os quocientes metabólicos da comunidade microbiana de 137 solos cultivados com *Picea abies* e *Fagus sylvatica* na Alemanha foram calculados. Os resultados indicaram que o pH do solo afeta o qCO_2 dos microrganismos do solo. Nos solos sob *F. sylvatica* a comunidade microbiana despreendeu mais CO_2 por unidade de biomassa microbiana em condições de solo ácido do que em solos com pH neutro. Os autores complementaram afirmando que estes dados indicam que um alto qCO_2 para baixo pH pode ser um indicador do estresse da comunidade terrestre. Entretanto, devido a influência que o pH tem no qCO_2 , o seu uso como um parâmetro específico de atividade para determinação de mudanças bioenergéticas de sistemas de solos não estressados, poderá ser recomendável para solos que tenham valores comparáveis de pH.

A elevação do pH do solo aumenta a atividade microbiana, independente do sistema de exploração do solo (SIQUEIRA et al., 1994), proporcionando a decomposição da matéria orgânica e uma maior mineralização de nitrogênio. Com a elevação do pH de 3,8 para 7,0, IVARSON (1977) obteve duas vezes mais CO_2 liberado, enquanto as densidades populacionais de bactérias aumentaram 200 vezes, de actinomicetos 10 vezes e a de fungos reduziu-se a 1/3 da população original.

O efeito positivo da calagem sobre a biomassa microbiana foi observada por BAUHUS e BARTHEL (1995), através da determinação do carbono e nitrogê-

nio da biomassa microbiana em povoamento de faia (*Fagus sylvatica*) usando a técnica da fumigação-extração. Em áreas com calagem, sem calagem e áreas de mata nativa, verificaram que o carbono microbiano médio e o conteúdo de nitrogênio foram 530, 532 e 674 Kg C/ha e 65, 68 e 87 Kg N/ha, para as áreas sem calagem, com calagem e mata nativa, respectivamente. De maneira similar, BAATH e ARNEBRANT (1994), observaram que a biomassa microbiana e a densidade populacional bacteriana, variavam em função da elevação do pH. Em dois solos de florestas com coníferas, onde o pH tinha sido alterado pela adição de calcário e pó de cinzas de madeira, de 4,3 para 7,0 e de 3,9 para 6,1, constataram maior atividade microbiana total e maiores níveis de crescimento bacteriano.

PRIHA e SMOLANDER (1994), estudaram o efeito da calagem sobre o carbono (C) da biomassa microbiana e atividade respiratória em solos cultivados com plantações jovens de *Pinus sylvestris*, que tinham recebido calagem a 12, 5 e 1 ano atrás. Verificaram que a calagem aumentou a respiração edáfica, exceto na área de primeiro ano; e não afetou o C da biomassa microbiana exceto no 12º ano.

Resultados dos benefícios da calagem a longo prazo sobre a biomassa microbiana são citados por SMOLANDER e MALKONEN (1994), quando avaliaram os efeitos desta prática sobre as propriedades químicas do solo e o carbono da biomassa microbiana. Os autores estudaram doze parcelas de *Picea abies* com idade entre 40-80 anos em solos de fertilidade variável. Calcário finamente moído havia sido aplicado há 30 anos na dose de 2 t/ha e há 20 anos 4 t/ha. Os resultados obtidos pela técnica da fumigação-extração nas camadas superiores do solo demonstram que a calagem aumentou significativamente o carbono da biomassa microbiana.

A melhoria das condições do solo pela correção da acidez e/ou aplicação de fertilizantes minerais ou orgânicos, provoca um aumento da atividade da microbiota do solo e, conseqüentemente, a mineralização de uma maior quantidade de matéria orgânica (SORENSEN, 1975), além de diminuir as substâncias químicas da planta que retardam o processo de decomposição, como os taninos e ácidos fenólicos (RICE, 1979). GIULIMONDI e LIANI (1961), adicionando N, P, K e

calcário, observaram uma maior decomposição da serapilheira de eucalipto. Entretanto, ALEXANDER (1980), descreve que o efeito da adição de fertilizantes ao solo sobre a atividade microbiana é influenciado pelas condições do solo antes da fertilização.

As populações microbianas respondem prontamente à adição de fertilizantes ao solo, como demonstram os resultados de BLUE et al., (1955). De acordo com estes autores, as populações de fungos aumentaram de 2 a 5 vezes e a de bactérias em até 5 vezes com a aplicação de até 5 t/ha de fertilizantes com a fórmula (5-5-8). Similarmente, SALONIUS (1972), verificou que a atividade microbiana estimada pelo consumo de oxigênio foi estimulada em até 3 vezes pela adição da uréia, enquanto que a adição de fósforo resultou em menor estímulo. Já para o potássio não foi observado estímulo significativo. Van CLEVE e MOORE (1978) obtiveram um aumento da atividade microbiana pela adição de nitrogênio, fósforo e potássio, sendo o efeito do nitrogênio e do fósforo mais acentuado. Por outro lado, FLANAGAN e Van CLEVE (1983) não encontraram efeito benéfico da aplicação de nitrogênio, fósforo e potássio no campo; sendo que, em condições de laboratório verificaram um efeito inibitório da atividade microbiana.

HOSSAIN et al., (1995), estudando os efeitos da aplicação de fertilizantes sobre o C e N da biomassa microbiana e mineralização do N numa floresta subalpina de eucalipto em solo ácido, verificaram que os efeitos dos fertilizantes foram maiores na primavera e menores no outono e verão. Além disso, somente os tratamentos calagem + P e N + P, afetaram significativamente o conteúdo de C da biomassa microbiana, na camada de 0 - 2,5 cm de profundidade. Entretanto, na camada de 0 - 10 cm o carbono da biomassa foi mais que o dobro dos valores do tratamento calagem + P. Não houve relação entre N da biomassa microbiana (Kg N/ha) e os níveis de mineralização do N no campo (Kg N/ha/mês). Os resultados sugerem que embora o N da biomassa microbiana do solo represente um "pool" distinto de nitrogênio, ele não é uma medida de sucesso da ciclagem deste elemento.

Através de estudo conjunto da biomassa microbiana e respiração do solo INSAM e PALOJARVI (1995), observaram que em amostras de solo indeformadas

coletadas sob plantio de abeto (*Picea abies*), há diferenças quanto a fonte de fertilizante utilizada. Aplicaram 300 Kg/ha dos seguintes fertilizantes (formulação comercial e MuAB (Metileno-uréia-Apatita-Betonita). Após 28 semanas de incubação, concluíram que a alta solubilidade do fertilizante comercial diminuiu significativamente a biomassa microbiana e respiração do solo e que o fertilizante MuAB foi o mais indicado para o cultivo de abeto em solos de baixa fertilidade.

Com a finalidade de analisar o efeito da calagem, adubação nitrogenada e fosfatada, nos parâmetros biomassa microbiana e respiração do solo, SMOLANDER et al., (1994) realizaram um estudo a longo prazo (30 anos) em plantio de *P. abies*, aplicando-se no período 6 t/ha de calcário, 950 e 115 Kg/ha de nitrogênio e fósforo, respectivamente. Os resultados demonstraram que a calagem aumentou significativamente a biomassa e respiração do solo e a aplicação de N diminuiu ambos os parâmetros, tendo efeito positivo apenas na biomassa fúngica, enquanto que a aplicação do fósforo não teve nenhum efeito sobre os parâmetros.

2.5. EFEITO ESTACIONAL SOBRE A MICROBIOTA DO SOLO

O efeito das estações do ano sobre a microbiota do solo e sua atividade é um reflexo da ação isolada ou conjunta da umidade e temperatura do solo, do desenvolvimento vegetal e da deposição de resíduos orgânicos (SILVA FILHO, 1984).

As densidades populacionais de determinado grupo microbiano e as atividades por ele desenvolvidas são máximas em determinada temperatura, teor de umidade e disponibilidade de nutrientes. As atividades de uma população são resultantes da soma de todas as reações químicas, sendo estas totalmente influenciadas pela temperatura (TSAI, et al., 1992). Pequenas alterações nas condições ambientais não modificam significativamente as populações e suas atividades, enquanto que alterações pronunciadas provocam modificações sensíveis. A intensidade da redução depende do grau de alteração que, em condições extremas, reduz as atividades e as populações a um nível mínimo. Como a comunidade

de microbiana do solo é constituída de várias populações que desempenham atividades diversas, o efeito de determinada alteração do ambiente sobre a comunidade representará o somatório dos efeitos sobre cada população isoladamente (SILVA FILHO, 1984).

De acordo com TSAI, et al., (1992), a maior parte das populações de microrganismos do solo é mesófila, tendo uma temperatura ótima de crescimento entre 25-30 °C e com capacidade de crescer entre 15 a 45 °C. Embora muitas vezes a temperatura do solo seja inferior ou superior a estes limites, não implica que a população presente seja termófila ou psicrófila, mas uma população mesófila adaptada a estas condições.

A temperatura ótima de decomposição da matéria orgânica situa-se entre 30-40 °C, sendo que a partir de 40 °C os aumentos na temperatura são acompanhados de decréscimos na decomposição (ALEXANDER, 1980).

A velocidade com que ocorre a decomposição é altamente influenciada pelos aumentos de temperatura, pois, segundo STANFORD et al., (1973), a taxa de mineralização do nitrogênio dobra a cada 10 °C entre 5 e 35 °C. Isto permite que pequenos aumentos na temperatura possam resultar em grandes aumentos na atividade mineralizadora. No entanto, o estímulo de altas temperaturas pode ser apenas momentâneo.

A temperatura varia constantemente em maiores ou menores amplitudes dependendo do dia e da estação do ano. Geralmente, as variações em grandes amplitudes ocorrem na mudança das estações, especialmente em regiões temperadas. Pequenas variações de temperatura situadas dentro da faixa que permita o desenvolvimento do microrganismo podem estimular as populações microbianas. Alterações bruscas de temperatura afetam as populações microbianas, provocando decréscimo, principalmente, nas populações de bactérias, enquanto que os fungos e actinomicetos apresentam menores variações devido à presença de formas inativas (esporos, conídios e clamidosporos) que são mais resistentes às variações de temperatura e umidade. Dados de JENSEN (1974) demonstram que a variação da temperatura aumentou o peso do micélio produzido em quatro espécies de fungos decompositores. A morte de microrganismos por alterações brus-

cas de temperatura reflete-se em posterior fluxo de mineralização com consequente liberação de amônio para o solo e posterior surgimento de nitrato. Para CAMPBELL e BIEDERBECK (1976) isto é bastante evidente a campo com a chegada do outono, em regiões temperadas, período em que ocorrem quedas bruscas de temperaturas, sendo que no final do inverno geralmente há ocorrência de geadas. A influência da variação estacional nas densidades populacionais bacterianas também é citada por NIOH (1975), que observou numa floresta caducifólia no Japão um expressivo aumento das bactérias Gram negativas durante o outono e redução na primavera.

A umidade e aeração do solo estão inversamente relacionadas, pelo movimento e substituição do ar e da água. Todos os microrganismos vivos são dependentes da água; a maior parte da sua massa é constituída pela água e todas as suas atividades são desenvolvidas em meio aquoso (TSAI, et al., 1992). Geralmente, há um aumento nas densidades das populações microbianas a partir de um mínimo de umidade até o ponto entre 50 a 70 % da capacidade de campo, quando, geralmente, o incremento da umidade pode se traduzir em diminuição da oxigenação e conseqüentemente, das densidades populacionais (SIQUEIRA et al., 1994). Dos grandes grupos de microrganismos, praticamente todos os fungos e actinomicetos e grande parte das bactérias são aeróbias. Com a inundação do solo, as populações microbianas ficam restritas praticamente às bactérias anaeróbias facultativas e obrigatórias.

Em condições de seca, as populações microbianas são reduzidas. Os actinomicetos são os mais resistentes, não sendo raro o desenvolvimento de hifas e conídios em condições semi-áridas. Em condições de baixa umidade do solo, sua composição chega a ser de até 98 % das colônias de bactérias contadas em meios de cultura, devido a grande quantidade de esporos presentes (MEIKLEJOHN, 1957). Sucessivos ciclos de secagem e umidecimento reduzem as populações microbianas, sendo que o primeiro ciclo reduz em até três vezes as populações, mas nos ciclos seguintes, a redução das populações sobreviventes é muito pequena. Isto pode ser atribuído à morte das formas ativas durante o primeiro ciclo, restando somente as formas resistentes que não são afetadas pelos ciclos se-

guintes. Com a morte destas populações, seguido de novo umidecimento, ocorre um estímulo nas atividades microbianas, aumentando a mineralização e liberando grandes quantidades de amônio com o conseqüente surgimento de nitratos (AGARWALL, et al., 1971). As atividades microbianas aumentam com o umidecimento do solo a partir de um mínimo de umidade até um teor máximo, o qual deve permitir a oxigenação necessária à atividade. Este valor de máxima umidade é variável com o tipo de microrganismo envolvido. A mineralização das formas orgânicas dos elementos do solo, ocorre preferencialmente com valores de umidade próximas a 0,33 bar, sendo a oxidação favorecida por tensões de 0,33 a 0,66 bar, enquanto que a redução ocorre em condições contrárias, com menor teor de O₂ (TSAI, et al., 1992).

Efeitos associados de temperatura e umidade sobre a decomposição de resíduos orgânicos foram demonstrados por NYHAM (1976). Segundo esse autor, em condições de baixas temperaturas (10 °C), ocorreram maiores liberações de CO₂ em solos úmidos (0,01 bar) quando comparadas com solos secos. Com o aumento da temperatura para 40 °C, foi observada uma maior liberação de CO₂ em tensões inferiores a 6 bar. Nestas condições, aumentos na temperatura provocam decréscimos nas atividades microbianas, enquanto que em tensões superiores a 6 bar, ocorrem aumentos nas atividades em temperaturas superiores a 40 °C.

A vegetação também afeta adinâmica das populações microbianas. O estímulo recebido pelas condições de temperatura e umidade resultam em crescimento da planta, maior superfície fotossintética, ampliação do sistema radicular e conseqüentemente liberação de maiores quantidades de excreções (SILVA FILHO, 1984). A deposição dos resíduos excretados ao solo disponibiliza maiores quantidades de nutrientes e, conseqüentemente, estimula a comunidade microbiana (CARDOSO e FREITAS, 1992).

Em clima temperado a combinação desses diferentes fatores faz com que as estações do ano tenham efeitos diferenciados sobre as populações microbianas do solo. As populações são maiores no outono e primavera e menores no inverno e verão (SIQUEIRA et al., 1994). A redução das populações microbianas

no verão tem sido atribuída à deficiência hídrica, altas temperaturas e à presença de predadores (WILLIAMS e PARKINSON, 1968; MARTYNIUK e WAGNER, 1978). Com a chegada do outono, as populações tendem a aumentar, como consequência de temperaturas mais amenas, maior deposição de resíduos e maior umidade do solo (MARTYNIUK e WAGNER, 1978; CAMPBELL e BIEDERBECK, 1982). No inverno, as populações e suas atividades tendem a decrescerem pelo efeito das baixas temperaturas. Entretanto, podem ocorrer altas contagens resultantes da presença de formas inativas (KAURI, 1982; MARTYNIUK e WAGNER, 1978). Na primavera, com a elevação da temperatura, presença de resíduos não decompostos das estações anteriores, excreções produzidas pelas plantas em desenvolvimento e boas condições de umidade, ocorre um aumento na atividade e nas densidades populacionais dos microrganismos (MARTYNIUK e WAGNER, 1978; KAURI, 1982).

Nas regiões tropicais as variações das densidades populacionais microbianas e de suas atividades são controladas pelos períodos de alterações da umidade, em consequência das altas e baixas precipitações pluviométricas e da temperatura do solo. Contagens realizadas por FAPARUSI (1978), demonstram que as populações microbianas foram altas no fim da estação seca, com $4,8 \times 10^9$ células de bactérias e $5,6 \times 10^5$ células de leveduras por g de solo. Durante a estação chuvosa, as populações, apesar de reduzidas em 10 vezes, permaneceram altas, com $5,2 \times 10^8$ células de bactérias e $4,8 \times 10^4$ células de leveduras na metade da estação e $3,5 \times 10^8$ e $6,8 \times 10^3$ /g de solo no final. Na estação seca, elas foram altamente reduzidas, sendo encontradas densidades de $1,6 \times 10^4$ células de bactérias e $3,5 \times 10^3$ células de leveduras por g de solo na metade da estação. Em solo de cerrado brasileiro, EDITH e MARQUES (1984), quando compararam as populações dos principais grupos microbianos predominantes em solos com vegetação nativa, monocultura de *Eucalyptus sp.* e cultivado com angico (*Piptadenia sp.*) e constataram em todas as formas de cultivo que, no verão, as populações total e individual de bactérias, fungos e actinomicetos foram superiores ao inverno.

Nas regiões em que o clima não é perfeitamente caracterizado como o tropical, a ação dos fatores climáticos sobre as populações não deve produzir alterações tão pronunciadas na comunidade microbiana, pois as quedas de temperatura não são tão bruscas como nos climas temperados e os períodos com déficit hídrico são pequenos ou inexistentes (SILVA FILHO, 1984).

2.6. BIOMASSA MICROBIANA

A biomassa microbiana do solo, é definida como a parte da matéria orgânica do solo, excluindo-se as raízes e animais maiores do que $5 \times 10 \mu\text{m}$ e, que operacionalmente, atua como agente de transformação da matéria orgânica, no ciclo dos nutrientes, e no fluxo de energia (JENKINSON e LADD, 1988; WARDLE, 1992). Constitui o primeiro estágio do carbono dos resíduos em decomposição no solo e representa de 1 a 4 % ou mais do carbono total do solo, podendo atingir toneladas por hectare (SIQUEIRA e FRANCO, 1988).

A importância do estudo da biomassa tem crescido nos últimos anos, pois de acordo com SIQUEIRA e FRANCO (1988) justifica-se em três aspectos:

a - é formada por células vegetativas vivas, capazes de promoverem mudanças importantes no solo; b - devido à grande quantidade e ao fato de ser o maior componente lábil da matéria orgânica do solo, torna-se um importante reservatório de nutrientes e c - representa um indicador de grande sensibilidade para avaliar as mudanças no solo. A quantificação da biomassa microbiana na forma de carbono, permite acompanhar muito mais rapidamente as perturbações sofridas pelo equilíbrio microbiano e as variações no total de matéria orgânica decorrentes do manejo e uso do solo, pois reage com maior rapidez do que os parâmetros físico-químicos (POWLSON et al., 1987).

O carbono da biomassa, como percentagem do carbono orgânico total (CBM/CBT X 100), calculado a partir do dado de biomassa obtido pela técnica de fumigação e do peso seco do solo (0 - 5 cm) está numa faixa de 0,07 a 4,69 % (GRISI, 1988). Na região da Amazônia, CERRI et al., (1985) estimaram 0,73 % de

C na camada de 0 - 4 cm de um Latossolo Amarelo sob mata natural, 0,04 % de C na mesma profundidade, sob mata queimada e 1,6 % de C na camada de (0 - 2 cm) após dois anos de pousio. É possível que um manejo adequado dos solos proporcione um aumento desse componente biológico (GRISI, 1988).

FARIA e DE-POLLI (1987), trabalhando num Podzólico Vermelho-Amarelo sob vegetação de mata, estimaram uma biomassa de 260 $\mu\text{g/g}$ de solo, que corresponderia aproximadamente a 670 Kg de C/ha no protoplasma microbiano. Posteriormente, utilizando-se os fatores de conversão citados por ANDERSON e DOMSCH (1980) e considerando-se uma profundidade de 20 cm, obtiveram 1.811 Kg/ha de matéria seca microbiana, contendo em Kg/ha, 101 de N, 78 de P, 68 de K e 9 de Ca. A taxa de liberação de N e P, via biomassa microbiana, atinge 40 e 10 a 20 Kg/ha/ano, respectivamente (SIQUEIRA e FRANCO, 1988). Resultados semelhantes são citados por SRIVASTAVA e SINGHI (1991), que encontraram na China um fluxo anual de N e P através da biomassa microbiana variando de 27 a 64 Kg/ha e 13 a 26 Kg/ha, respectivamente. A liberação desses nutrientes no solo ocorre de maneira gradual, superior à liberação da matéria orgânica do solo, porém variando em função dos fatores que controlam a atividade e a densidade microbiana do solo. Estudos recentes realizados no Canadá, mostraram relações muito estreitas entre a produtividade agrícola e a magnitude da biomassa do solo, evidenciando sua participação como componente da produtividade dos solos (SIQUEIRA e FRANCO, 1988).

O sistema de utilização do solo também interfere diretamente na biomassa microbiana. GRISI e GRAY(1986) realizaram um estudo da biomassa microbiana através das técnicas da fumigação-incubação, biovolume, adição de glicose e ATP em 10 solos da Inglaterra cultivados com pastagens, agricultura e floresta. Em todas as técnicas testadas a biomassa foi superior nas áreas de pastagens, seguida das áreas agricultáveis e finalmente na floresta, com as maiores diferenças para a técnica da fumigação-incubação.

Mudanças na biomassa microbiana após o reflorestamento com espécies tropicais pode prover um indicador das pequenas mudanças lentas que ocorrem na matéria orgânica do solo. Os efeitos da conversão da savana em terras agricul-

táveis sobre a biomassa microbiana, segundo BASU e BEHERA (1993), foram significativos, oscilando entre 50 a 58 %. GRACE, et al., (1992) analisaram amostras de solos argilosos sob floresta (*Acacia harpophylla* e *Casuarina cristata*), gramínea (*Panicum maximum*) e (*Vigna mungo*). Após um período de 15 meses, o C da biomassa microbiana na camada de 0 - 3,5 cm sob *A. harpophylla* foi em média 3.630 μg de C/g de solo, sendo 50 % maior que no solo da área de *P. maximum* e 400 % maior que na área de *V. mungo*. CHANDER et al., (1995), encontraram numa área de floresta nativa e após a substituição por *Pinus radiata*, que o C da biomassa microbiana variou de 1.100 Kg/ha na floresta exótica para 1.310 Kg/ha sob floresta nativa com predominância de *Ulex europaeus*. A adição ao solo de folhas de álamo e eucalipto afetaram diferenciadamente o carbono da biomassa microbiana. O aumento líquido do C da biomassa microbiana, num período de 90 dias, foi superior no solo que recebeu o álamo e a razão C da biomassa:C orgânico do solo, no solo que recebeu folhas de eucalipto foi 2 - 4 vezes menor que naquele que recebeu folhas de álamo. Estas diferenças foram justificadas pela presença de aleloquímicos liberados dentro do solo durante a decomposição das folhas de eucalipto, que tinham um efeito tóxico sobre os microrganismos (CHANDER et al., 1995).

As populações microbianas contribuem de maneira diferenciada para a formação da biomassa, pois as densidades populacionais microbianas não refletem diretamente a biomassa do solo. A biomassa dos actinomicetos, determinada por microscopia direta, foi encontrada usualmente como sendo menos do que 1 % da biomassa total de bactérias em solos de floresta (GRUNDA, 1990).

A influência do material de origem do solo, na biomassa microbiana foi ressaltada por ALPHEI et al., (1993), ao constatarem que solos derivados de basalto apresentaram biomassa maior que em solos derivados de calcário. Além disso, o cálculo da razão procariótica:eucariótica indicam diminuição da contribuição bacteriana para a biomassa microbiana de 0,88 no solo de basalto e 0,73 no solo derivado de calcário.

A técnica de determinação da biomassa microbiana, denominada fumigação-extração, permite ainda a quantificação de outros nutrientes importantes para

a silvicultura, tais como fósforo, enxofre e principalmente nitrogênio no mesmo extrato (VORONEY e PAUL, 1984; BROOKES et al., (1985). Dessa forma, BILLORE et al., (1995), estimaram o nitrogênio da biomassa microbiana em solos cultivados com gramíneas, florestas de espécies caducifólias e perenes, na camada superficial do solo (0 -15 cm), como sendo respectivamente: 6,96, 20,7 e 24,8 mg de N/m². A alteração na cobertura vegetal de savanas para terras agrícolas causou uma redução significativa no nitrogênio da biomassa microbiana de 47 a 53 %.

Uma tentativa recente para classificar o carbono e nitrogênio da biomassa microbiana de solos sob floresta de faia (*Fagus sylvatica*) foi realizada por JOERGENSEN et al., (1995) após estimarem estes parâmetros em 38 solos. Baseando-se nos resultados e frequência de distribuição, os autores dividiram os solos em dois sub-grupos, com exceção de um solo: (a) C e N altos (>12 mg de C/g de solo e 28 mg N/g de solo, n = 23 solos) e (b) C e N baixos (<12 mg de C/g de solo e 28 mg de N/g de solo, n = 14 solos).

Os fatores que afetam as densidades populacionais microbianas, ao mesmo tempo afetam a sua respectiva biomassa. Assim, ROSS e TATE (1993) encontraram que o carbono microbiano expresso como uma percentagem do C total variou em função da profundidade, sendo 4,5 % no serapilheira, 2,1 % na camada de 0 - 20 cm do solo e diminuindo significativamente para 0,6 % na camada de 50 - 60 cm. JIA e INSAM (1991), também constataram que o carbono da biomassa microbiana no horizonte A variou entre 350 e 700 µg/g de solo em abril (início da época das chuvas) e de 250 a 500 µg/g de solo em outubro (fim da época das chuvas). O carbono da biomassa microbiana determinada pela fumigação-incubação e fumigação-extração e respiração induzida, assim como a atividade microbiana, foram correlacionadas significativamente com o teor de argila, C orgânico e conteúdo total de N (KAISER et al., 1992). De maneira similar, WOLTERS e JOERGENSEN (1991) obtiveram correlações significativas entre o carbono da biomassa microbiana e o teor de cálcio trocável em seis solos sob *Fagus sylvatica*, com pH variando de 4,8 a 8,3.

Estudos comparativos de quantificação do carbono da biomassa microbiana (BMC), foram realizados por RODRIGUES et al., (1994), que não encontraram diferenças significativas entre as profundidades e obtiveram correlação ($r = 0,66$), entre as técnicas fumigação-incubação e fumigação extração, indicando que as duas técnicas estão quantificando compartimentos semelhantes no solo. Os valores de BMC calculados pelos duas técnicas FI e FE apresentaram correlação significativa com o carbono total ($r = 0,83$ para FE e $r = 0,79$ para FI) .

GRISI e GRAY(1986), também realizaram uma comparação entre os diversas técnicas de determinação da biomassa microbiana do solo (fumigação-incubação, taxa de respiração em resposta à adição de glicose e conteúdo de ATP) e ressaltam que nenhum dessas técnicas é aplicável a todos os solos, pois parece ser impossível uma comparação absoluta de biomassa microbiana de diferentes solos sem incorrer em erro, por causa da heterogeneidade natural dos solos.

2.7. TÉCNICAS DE AVALIAÇÃO DA BIOMASSA MICROBIANA DO SOLO

2.7.1. Microscopia direta

É a técnica precursora utilizada para expressar a biomassa microbiana de um solo, na qual estima-se a biomassa a partir do biovolume dos microrganismos, suspendendo-se as células em soluções salinas e com observação direta em microscopia. A técnica implica na estimativa da densidade e do biovolume para biomassa microbiana (DE-POLLI e GUERRA,1995) e fornece informações úteis sobre a natureza e a composição da biomassa do solo (WARDLE, 1994) e da distribuição das bactérias por tamanho e classe (JENKINSON et al., 1976). Por outro lado, tem como desvantagens o grande tempo de análises em relação aos demais técnicas, a necessidade de técnicos altamente qualificados (WARDLE, 1994) e o uso de diversos fatores de conversão, que sempre estão associados a um erro (WARDLE e PARKINSON, 1991). Para solos onde não é possível a utilização de

outra técnica e onde se dispõe de equipamentos e técnicos qualificados, é viável seu uso (GRISI, 1988).

2.7.2 Extração e determinação de constituintes dos microrganismos do solo

Diversos constituintes tem sido utilizados para estimar a biomassa microbiana do solo, entre eles destacam-se: ácido murâmico, uma hexamina que compõe a parede celular das bactérias e algas verde-azuis (MILLAR e CASSIDA, 1970); o ácido diaminopimélico, constituinte da parede celular bacteriana (STEUBING, 1973); a quitina integrante da parede celular fúngica (FOSTER e WEBBER, 1960; SWIFT, 1973), os ácidos nucleicos (JENKINSON e LADD, 1988) e a adenosina 5'-trifosfato (ATP), uma adenina nucleotídeo presente em todos os organismos vivos (HOLM-HANSEN e BOOTH, 1972).

O ATP tem sido o constituinte mais utilizado na determinação da biomassa do solo (GRISI, 1984). No entanto, para o uso com essa finalidade é preciso: 1) extrair todo o ATP da biomassa; 2) inativar completa e irreversivelmente o sistema enzimático das células; 3) evitar que o ATP seja adsorvido aos colóides do solo e 4) evitar a hidrólise do ATP. JENKINSON e OADES (1979) afirmam que, o ácido tricloro acético, adicionado com o paraquat satisfaz estas necessidades.

A quantificação do ATP é feita através da medida da quantidade de luz emitida submetendo-se uma amostra de solo à presença da luciferina-luciferase extraída dos vagalumes, com a emissão luminosa medida por fotometria ou espectrofotometria.

O carbono da biomassa microbiana de acordo com GRISI (1984) é dado pela expressão:

$$\text{Carbono da biomassa} = \text{conteúdo de ATP} \times f (248)$$

Porém, os valores do fator f , em geral, situam-se entre 120 a 500 (ATLAS e BARTHA, 1981; GRISI, 1983; MARTENS, 1995).

Muitos pesquisadores encontraram boas correlações entre a biomassa estimada pela técnica do ATP e pela fumigação-incubação (JENKINSON, et al., 1979; ROSS et al., 1980; GRISI e GRAY, 1986).

Como limitações desta técnica, MARTENS (1995), cita a extração incompleta do ATP das células, decomposição ou hidrólise química do ATP durante o processo de extração, além da adsorção do ATP pelo solo. Esta técnica é recomendada por vários autores para obter-se informações a respeito da atividade microbiana (SPARLING e EILAND, 1983; GRISI e GRAY, 1986).

2.7.3 Respiração em resposta à adição de glicose

Esta técnica rápida de avaliação da biomassa microbiana foi proposta inicialmente por ANDERSON e DOMSCH (1978), mas não permite a determinação direta da biomassa, os valores obtidos devem ser correlacionados com outras técnicas. Baseia-se no aumento inicial da taxa de respiração (até um máximo), causado pela adição de glicose. Esse carboidrato é o mais utilizado por ser um açúcar metabolizado pela maior parte da população de microrganismos do solo, ser solúvel em água, ter estrutura relativamente complexa, o que evita sua mineralização por enzimas livres e por não ser tóxico nas quantidades usadas (ANDERSON e DOMSCH, 1978).

Os mesmos autores observaram uma correlação significativa ($r = 0,96$) entre a respiração obtida por estas técnicas, com a biomassa obtida por fumigação-incubação. Para transformar o carbono liberado pela respiração em biomassa microbiana, ANDERSON e DOMSCH (1978), calibraram esta técnica com a da fumigação incubação (JENKINSON e POWLSON, 1976) e propuseram a seguinte fórmula:

$$B = 40,04X + 0,37$$

B = Biomassa microbiana (mg de C/100 g de solo)

X = taxa de respiração (ml C-CO₂/h/100 g de solo)

As vantagens dessa técnica são a objetividade e simplicidade (conclusão após seis horas de incubação), além de possibilitar a estimativa parcial da biomassa de microrganismos, através da utilização de técnicas de inibição seletiva, utilizando-se sulfato de estreptomicina para bactérias e ciclohexamida (actidione) para fungos (ANDERSON e DOMSCH, 1978).

Apesar desta fórmula ser utilizada freqüentemente, ela tem sido fortemente questionada, pois alguns autores citam como maior problema o uso de solos com altos teores de matéria orgânica no estudo de calibração entre os técnicas (WARDLE, 1994). O emprego de fatores de correção para esse problema faz com que a relação obtida seja muito mais fraca (WARDLE e PARKINSON, 1991).

As diferenças obtidas entre as técnicas de respiração induzida pela glicose e fumigação-incubação, podem estar no fato de que essas técnicas não avaliem as mesmas populações microbianas (WARDLE, 1994).

Esta técnica é uma boa alternativa para medir a biomassa em solos orgânicos ácidos, onde a fumigação é problemática. Com algumas restrições tem sido utilizado por alguns autores com sucesso (DE-POLLI e GUERRA, 1995).

2.7.4. Fumigação incubação

Esta técnica foi proposta por JENKINSON e POWLSON (1976) e é, provavelmente, o mais amplamente empregado para a quantificação da biomassa microbiana (WARDLE, 1994). Tem como fundamentação a determinação da biomassa microbiana do solo com base na medição de um pico de CO₂ após à esterilização de uma amostra e, posteriormente inoculação com uma amostra do mesmo solo. O CO₂ produzido conseqüentemente se deve à decomposição dos microrganismos originalmente presentes no solo, que foram mortos. Dessa forma, WARDLE (1994) determinaram que a liberação de CO₂ é proporcional à quantidade de microrganismos no solo antes da esterilização e, sendo assim, a biomassa microbiana pode ser calculada diretamente seguindo-se uma calibração adequada.

Dentre as substâncias fumigantes, o clorofórmio (CHCl_3) tem sido a mais amplamente utilizada (SANTRUCKOVA, 1992). Para garantir o uso é necessária a purificação, para remoção do etanol que integra o produto como estabilizante (JENKINSON e POWLSON, 1976). O CHCl_3 atua na célula microbiana mediante a ruptura da parede celular, levando a morte das células (JENKINSON, 1976; VORONEY e PAUL, 1984). Por outro lado, apresenta vantagens em relação às outras substâncias fumigantes, uma vez que sua ação é mais rápida, é mais facilmente removido do solo do que o brometo de metila, isotiocianato de metila, formaldeído, cloropicrina e outros (JENKINSON e POWLSON, 1976) e praticamente não interfere na taxa de decomposição da matéria orgânica do solo (JENKINSON, 1976).

A técnica consiste em separar uma amostra de solo em 2 subamostras, fumigar uma e não fumigar a outra. O peso da amostra pode variar com o tipo de solo. WARDLE (1994) recomenda amostras de 10 a 15 g de uma forma geral, porém para solos tropicais que apresentam níveis de biomassa inferiores recomenda-se aumentar o peso das amostras DE-POLLI e GUERRA (1995) sugere, nestas condições, o uso de amostras com 40 g.

A subamostra é fumigada em dessecador com clorofórmio durante 24 horas e após é retirado o excesso do fumigante com a bomba de vácuo e, posteriormente, é reinoculada com uma amostra do solo original (JENKINSON e POWLSON, 1976), numa relação de peso 1:9 (inóculo:solo fumigado) ou numa relação ainda menor (WARDLE e PARKINSON, 1991). A subamostra é incubada por dez dias, enquanto a não fumigada é primeiro pré-incubada por dez dias para depois ser incubada pelo mesmo período (JENKINSON e POWLSON, 1976). A temperatura de incubação é variável, porém as mais utilizadas tem sido 20, 22 e 25 °C. Após a incubação, mede-se a emissão do CO_2 nas duas subamostras mediante a reação deste gás com uma base (NaOH ou KOH 1M.). A retrotitulação da base não consumida na reação é feita com HCl, na presença de um indicador de pH, com a precipitação do carbonato.

O carbono da biomassa microbiana é dado através da seguinte fórmula:

$$CB = (Cf - Cnf) / K$$

CB = Carbono da biomassa microbiana;

Cf = C-CO₂ na subamostra fumigada, durante 10 dias após à fumigação;

Cnf = C-CO₂ na subamostra não-fumigada, durante 10 dias após período igual de pré-incubação na amostra não fumigada;

K = é uma constante, representada pela fração do carbono da biomassa mineralizada a CO₂ durante a incubação após à fumigação.

O valor do K tem sido ponto de discórdia entre vários pesquisadores, porém os valores 0,50 (JENKINSON e POWLSON, 1976), 0,41 (ANDERSON e DOMSCH, 1978) e 0,45 (OADES e JENKINSON, 1979), são os mais usados.

Algumas limitações para o uso desta técnica têm sido destacadas por alguns autores, principalmente para o uso em solos com adição recente de matéria orgânica (SAMPAIO, et al., 1986) e solos ácidos, aquém dos resultados obtidos por outras técnicas, como Microscopia direta, ATP e adição de glicose (JENKINSON e LADD, 1981; GRISI e GRAY, 1986). A fumigação não mata a biomassa total, pois LYNCH e PANTING (1980) observaram que, após a fumigação de um solo peneirado, eliminou-se apenas 89,1 % das bactérias e 99,8 % dos fungos. Por outro lado, mesmo com algumas limitações, a técnica tem se mostrado muito útil e confiável, com elevado nível de precisão (GRISI, 1984). Comparando-se esta técnica com o da microscopia direta, a partir de sete solos JENKINSON, et al., (1976), obtiveram um coeficiente de correlação altíssimo ($r = 0,99$), além de correlacionar-se muito bem com a técnica baseado no conteúdo de ATP (GRISI e GRAY, 1986) e com a técnica baseado na taxa máxima de respiração (ANDERSON e DOMSCH, 1978).

Um dos avanços da metodologia para determinação da biomassa microbiana foi o desenvolvimento da metodologia fumigação-extração, proposta por VANCE et al., (1987) e adaptada por TATE et al., (1988). Na técnica mais recente, o carbono liberado pela morte dos microrganismos é determinado por extração química, com K₂SO₄ (0,5 M), relação solo: extrator de 1:2,5. Uma alíquota desta

amostra é misturada com $K_2Cr_2O_7$ (0,15 M) para oxidar o carbono, que é facilitada pelo uso do H_2SO_4 concentrado, ou através do aquecimento até à fervura. O excesso de $K_2Cr_2O_7$ é então retrotitulado contra $Fe(NH_4)(SO_4)$. O carbono da biomassa microbiana é dado pela fórmula:

$$C_{mic} = (C_F - C_{NF})/k_C = \mu g \text{ de C/g de solo}$$

C_{mic} = carbono da biomassa microbiana do solo;

C_F = carbono da amostra fumigada;

C_{NF} = carbono da amostra não fumigada;

k_C = fator de correção.

Na aplicação desta técnica assume-se que o fator de correção é constante, mas de acordo com a técnica que é correlacionado apresenta um valor diferente. VANCE et al., (1987), calibrando-o com a técnica de fumigação-incubação encontrou um valor do $K = 0,379$. SPARLING e WEST (1988) determinaram através do ^{14}C , um valor que variou de 0,23 a 0,38 para diversos solos. Porém, como salientam PFENNING et al., (1992) é importante a determinação do fator para as condições tropicais.

A grande limitação desta técnica é sua tendência em ser inferior ao fator de correção da técnica da fumigação-incubação, o que torna a técnica de fumigação-extração menos desejável em muitos estudos (WARDLE, 1994), como também não possibilitar a estimativa da respiração do solo. Por outro lado, funciona relativamente bem e é particularmente útil em solos ácidos e orgânicos de florestas (VANCE et al., (1987), como também, é mais rápida do que a fumigação-incubação por não necessitar de 10 dias de incubação, além de permitir a extração e determinação do nitrogênio, fósforo e enxofre (DE-POLLI e GUERRA, 1995).

Todas as técnicas apresentam limitações em graus variáveis, sendo assim na aplicação em pesquisa, cabe ao pesquisador escolher a técnica mais apropriada para a finalidade e se possível calibrá-la para o tipo de solo em estudo.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA

Para realização desta pesquisa, foram coletadas amostras de solo das parcelas do experimento em condução "Avaliação do crescimento e do estado nutricional do *Eucalyptus grandis* devido à aplicação de resíduo urbano e adubos minerais", sob a responsabilidade da Embrapa-CNPFLoresta, localizado na fazenda Ariona, pertencente à Companhia Suzano de Papel e Celulose, no município de Itatinga, estado de São Paulo.

A região está localizada entre 23°15' S de latitude, 48°36' de longitude oeste com uma altitude de 665 m. O clima segundo Koppen é o Cfa, mesotérmico úmido, com uma precipitação acumulada variando de 1.200 a 1.300 mm, apresentando uma temperatura média variando de 22 a 23 °C no mês mais quente do ano (janeiro) e de 15 a 16 °C no mês mais frio (julho). O solo foi classificado como Areia Quartzosa aluvional álica, A moderado, fase floresta relevo suave ondulado (MELO e ZEN, 1990).

A litologia e formação geológica é da Bacia do Paraná, grupo São Bento, formação Pirambóia, período mesozóico, tendo como material originário depósitos fluviais, incluindo arenitos finos e médios, siltitos-argilosos, com níveis de folhelhos e arenitos argilosos intercalados com faixas de derrame basáltico (PETRI, 1983).

3.2. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS

O experimento foi instalado no período de 02 a 17 de dezembro de 1991, na gleba 15 D, talhão 51, obedecendo um delineamento experimental em blocos completos casualizados, do qual utilizaram-se os seguintes tratamentos.

Tratamentos

-
1. AL → 15 t/ha do composto de resíduo urbano e 1,5 t/ha de calcário
AF → 400 Kg/ha de Termofosfato
AS → 300 Kg/ha da formulação comercial (N-P-K) 10-10-10
AC → 200 Kg/ha da formulação comercial (N-P-K) 20-00-15
Manutenção 1994 → 175 Kg/ha da formulação comercial (N-P-K) 14-10-25

 2. AL → 750 Kg/ha de calcário
AF → 200 Kg/ha de Termofosfato
AS → 150 Kg/ha da formulação comercial (N-P-K) 10-10-10
Manutenção 1994 → 90 Kg/ha da formulação comercial (N-P-K) 14-10-25

 3. AS → 30 Kg/ha de FAPS e 148 Kg/ha da formulação comercial (N-P-K) 10-20-10
AC → 148 Kg/ha da formulação comercial (N-P-K) 10-20-10
Manutenção 1994 → 223 Kg/ha da formulação comercial (N-P-K) 10-10-10

 4. AL → 500 Kg/ha de FAPS
AF → 210 Kg/ha da formulação comercial (N-P-K) 10-10-10
AC → 200 Kg/ha da formulação comercial (N-P-K) 20-00-20
Manutenção 1994 → 60 Kg/ha da formulação comercial (N-P-K) 20-00-20 e
53 Kg/ha de KCl

 5. AL → 1,1 t/ha de Composto
AS → 155 Kg/ha da formulação comercial (N-P-K) 06-30-06
AC → 168 Kg/ha da formulação comercial (N-P-K) 20-00-20
Manutenção 1994 → 200 Kg/ha da formulação comercial (N-P-K) e
67 Kg/ha de KCl

6. AF → 300 Kg/ha de Termofosfato
AS → 220 Kg/ha da formulação comercial (N-P-K) 10-10-10
AC → 150 Kg/ha da formulação comercial (N-P-K) 20-00-20
Manutenções: 1992 → 1 t/ha de Calcário e 1994 → 120 Kg/ha da formulação comercial (N-P-K) 20-00-20
7. AL → 1,5 t/ha de Calcário
AF → 400 Kg/ha de Termofosfato
AS → 300 Kg/ha da formulação comercial (N-P-K) 10-10-10
AC → 200 Kg/ha da formulação comercial (N-P-K) 20-00-15
8. AL → 15 t/ha de Composto de resíduo urbano
AF → 400 Kg/ha de Termofosfato
AS → 300 Kg/ha da formulação comercial (N-P-K) 10-10-10
AC → 200 Kg/ha da formulação comercial (N-P-K) 20-00-15
Manutenção 1994 → 120 Kg/ha da formulação comercial (N-P-K) 20-00-20 e 40 Kg/ha de KCl
9. AF → 400 Kg/ha de Termofosfato
AS → 300 Kg/ha da formulação comercial (N-P-K) 10-10-10
AC → 200 Kg/ha da formulação comercial (N-P-K) 20-00-15
Manutenção 1994 → 120 Kg/ha da formulação comercial (N-P-K) 20-00-20, 40 Kg/ha de KCl e 150 Kg/ha de MgSO₄
-

Legenda

- AL = Adubação na Linha
AF = Adubação na Faixa
AS = Adubação no Sulco
AC = Adubação de Cobertura
FAPS = Fosfato de Amônio Parcialmente Solúvel

3.3. AMOSTRAGENS

As amostragens foram efetuadas a cada dois meses no período de agosto de 1994 a agosto de 1995.

Coletaram-se aleatoriamente 08 subamostras por bloco, totalizando 32 subamostras na área útil de cada parcela (3 m x 2 m), entre as linhas de plantio, na camada superficial do solo (0 - 5 cm de profundidade), com auxílio de um trado calador. Em seguida foram colocadas em um balde plástico e homogeneizadas para formarem as amostras compostas. Posteriormente, as amostras foram devidamente embaladas e acondicionadas em caixa de isopor contendo gelo e transportadas para o Laboratório de Biologia do Solo da Universidade Federal do Paraná, para processamento das análises físicas, químicas e microbiológicas (populações microbianas, biomassas e respirações do solo).

3.4. DETERMINAÇÕES

3.4.1. Populações microbianas

As avaliações das populações microbianas do solo, representada pelos grupos: bactérias, fungos, actinomicetos, celulolíticos, solubilizadores de fosfato e bactérias esporuláveis, foram realizadas pela técnica da diluição decimal em série e contagem em placa de Petri. Realizaram-se diluições decimais em série a partir de 10 g de solo úmido, previamente peneirado em malha 2 mm e transferido para frascos contendo 90 ml de solução salina (VINCENT, 1970) e 3 esferas de vidro (5 a 6 mm de diâmetro), previamente esterilizado. A suspensão formada (solo + solução) foi, agitada a 100 rpm durante 30 minutos em agitador mecânico de movimentação circular. Desta suspensão procederam-se as diluições decimais seriadas até 10^5 .

Para as populações de bactérias em geral utilizaram-se as diluições 10^3 , 10^4 e 10^5 , inoculando-se 0,1 ml da suspensão por diluição na superfície de três placas de Petri, contendo o meio de cultura de Thorton (1922) e espalhadas com

a alça de Drigalsky. Após a inoculação, as placas foram incubadas à temperatura ambiente em posição invertida, durante um período que variou de 5 a 9 dias. Fez-se a contagem, sempre procurando selecionar diluições que fornecessem valores entre 20 a 300 UFC/placa.

Para a contagem dos fungos utilizaram-se as diluições 10^2 , 10^3 , 10^4 e o meio de cultura de Martin (MENZIES, 1965). Após um período de incubação de 5 a 8 dias realizou-se a contagem do número de UFC.

Similarmente à contagem realizada para as bactérias, realizou-se as contagens dos actinomicetos porém utilizando-se o meio de cultura Caseinato-Dextrose-Ágar (CLARK, 1965b). A contagem foi realizada após 10 a 12 dias de incubação.

Para os microrganismos celulolíticos, foram utilizadas as diluições decimais 10^2 , 10^3 , 10^4 e o meio de cultura Celulose-Ágar (PARKINSON et al., 1971). Após um período de 10 a 12 dias realizou-se a contagem das colônias positivas que apresentavam um halo claro ao seu redor, resultante da hidrólise da celulose.

Para os microrganismos solubilizadores de fosfato, utilizaram-se as diluições 10^2 , 10^3 , 10^4 e o meio de cultura Glicose-Extrato de Solo (SYLVESTER-BRADLEY et al., 1982), com a substituição do extrato de solo, por 0,5 g de extrato de levedura/litro (CATTELAN & VIDOR, 1990). Antes de verter-se o meio de cultura nas placas de Petri, adicionou-se 50 ml de uma solução de K_2HPO_4 (10 %) e 100 ml de uma solução de $CaCl_2$ (10 %) por litro, sendo que ambas foram previamente esterilizadas. Após um período de incubação de 4 a 8 dias, a identificação das colônias positivas foi baseada na formação de um halo claro em torno das mesmas indicando a solubilização do fosfato tricálcico.

A partir das diluições 10^2 , 10^3 , 10^4 realizou-se a contagem de esporos bacterianos. As diluições foram aquecidas a $80^\circ C$ em banho-maria (CLARK, 1965a), por um período de 15 minutos, para eliminar as formas vegetativas. Os demais procedimentos foram idênticos aos utilizados para a contagem de bactérias.

A composição detalhada dos meios de cultura utilizados neste estudo encontram-se nos Apêndices de 1 a 5.

3.4.2. Biomassa microbiana

A partir das amostras de solo utilizadas para contagens das populações microbianas, realizou-se o estudo da biomassa microbiana e da respiração do solo através da técnica proposta por JENKINSON e POWLSON (1976), que além disso, propicia nas mesmas amostras o estudo da respiração do solo.

No dia seguinte à contagem microbiana (48 h após a amostragem) retirou-se uma subamostra de 100 g de solo úmido, de cada tratamento para fumigação com clorofórmio livre de álcool de acordo com VOGEL (1951). As amostras foram então colocadas em Beckers de 250 ml e transferidas para dessecadores com paredes laterais previamente revestidas com papel toalha umedecido. Acrescentou-se ao dessecador, um Becker contendo 100 ml de clorofórmio e com a bomba de vácuo produziu-se o vácuo inicial no dessecador. Este conjunto foi mantido durante 22 a 24 horas à temperatura e condições ambientais, sem luminosidade. Após este período, com auxílio da bomba de vácuo, retirou-se o excesso de clorofórmio em intervalos de três minutos, por seis vezes consecutivas. Quando necessário corrigiu-se a umidade com água deionizada, para $\pm 70\%$ da capacidade de campo.

As subamostras fumigadas foram então transferidas para frascos "*tipo compota*" com capacidade para um litro e receberam a inoculação de 1 g de solo da amostra original. Acrescentou-se um tubo de ensaio contendo 10 ml de água deionizada, para manter a umidade do ambiente e outro tubo contendo 20 ml de NaOH 0,5 N, para reagir com o CO₂ liberado. De forma similar, as subamostras não fumigadas foram transferidas para frascos semelhantes e receberam os mesmos procedimentos. Ambos os frascos foram incubados em estufa a temperatura de $25^{\circ} \pm 1,5^{\circ} \text{C}$, durante o período de 10 dias. Além disso, fez-se a prova em branco, incubando-se dois frascos sem solo, sendo um para a mostra fumigada e o outro para não fumigada.

A liberação de CO₂ das subamostras fumigadas e não fumigadas foi avaliada aos 10 e 20 dias de incubação. Retirou-se o tubo de ensaio que continha a solução de NaOH 0,5 N e transferiu-se o volume para um Erlenmeyer de 125 ml,

adicionou-se 2 ml de BaCl_2 3 N, três gotas de fenolftaleína e titulou-se com HCl 0,5 N padronizado. Apenas nas subamostras não fumigadas renovou-se a solução de NaOH 0,5 N e reincubou-se nas condições anteriormente descritas. A estimativa da quantidade de CO_2 foi obtida de acordo com as seguintes reações:



e calculado de acordo com a fórmula: $\text{mg C-CO}_2 = (B - V) \cdot N \cdot E$, segundo STOTZKY (1965), onde B = volume de HCl 0,5 N gasto para titular a base da prova em branco, V = volume de HCl 0,5 N gasto para titular a subamostra, N = normalidade do ácido padronizado e E = equivalente grama do carbono, que é igual a 6.

A biomassa microbiana foi obtida de acordo com JENKINSON e POWLSON (1976), pela fórmula: $B = (x - y)/k$, onde B = biomassa microbiana (mg de C/100g de solo seco), x = CO_2 /100g de solo seco, liberado no intervalo de 10 dias, y = CO_2 /100g de solo seco liberado no intervalo de 10 a 20 dias de incubação e k = fração da biomassa mineralizada no intervalo de 10 dias, que no caso utilizou-se 0,411 (ANDERSON e DOMSCH, 1978).

3.4.3. Características físicas e químicas do solo

Foram realizadas segundo rotina do Laboratório de Solos, Setor de Ciências Agrárias da UFPr, a partir de metodologia proposta por EMBRAPA (1979), como descrito a seguir.

- pH CaCl_2

Determinado em solução de CaCl_2 0,01 M, relação 1:2,5 em potenciômetro. As suspensões foram agitadas manualmente com bastão de vidro e imediatamente antes da leitura de cada amostra.

- Acidez potencial (H + Al)

Através do emprego da solução denominada SMP, introduzida originalmente por SHOEMAKER, et al., (1961). após a determinação do pH, adicionou-se 5 ml da solução tampão SMP e agitou-se manualmente deixando-se em repouso por uma noite. As leituras potenciométricas foram efetuadas trinta minutos após uma nova agitação manual.

- Cálcio, Magnésio e Alumínio trocáveis

Extraídos por solução KCl 1 N, relação 1:10. Após agitação por cinco minutos em agitador horizontal e repouso por 01 noite, foram retiradas alíquotas de 25 ml. Cálcio mais magnésio e cálcio isoladamente foram determinados por complexometria com o EDTA 0,025 M e os indicadores Negro de Eriocromo e Calgon, respectivamente. O alumínio foi obtido por titulação com NaOH 0,025 N, utilizando-se azul de bromotimol 0,1 % como indicador.

- Potássio trocável e Fósforo solúvel

Realizou-se a extração com solução Mehlich 1 (HCl 0,05 N + H_2SO_4 0,025 N) na relação 1:10, utilizando o fotômetro de chama para determinação do potássio e o método colorimétrico com emprego de molibdato de amônio, usando-se como redutor o ácido ascórbico, para a determinação do fósforo. Para leitura do P, utilizou-se a medição da densidade ótica através de espectrofotômetro, utilizando-se filtro vermelho (comprimento de onda 660 nm).

- Carbono

Determinado pelo método colorimétrico com oxidação pelo dicromato de sódio. A leitura foi realizada no espectrofotômetro no comprimento de onda de 650 nm.

- Análise granulométrica

Foi determinada segundo EMBRAPA (1979), seguindo-se a rotina do Laboratório de Física do Setor de Ciências Agrárias da UFPR. A determinação foi por tamisação e sedimentação, empregando-se solução de pirofosfato de sódio (44 g/l de água) como agente químico dispersante e agitação a alta rotação por 15 minutos. A fração argila foi determinada pelo método do densímetro.

3.5. DADOS METEOROLÓGICOS

Foram usados os dados da Estação Agrometeorológica da Empresa Suzano de Papel e Celulose, localizada no município de Itatinga, próxima à área experimental. Os dados foram utilizados na confecção dos gráficos das temperaturas médias máximas e mínimas do ar e da precipitação pluviométrica mensal acumulada.

3.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

As avaliações estatísticas basearam-se em análises de correlação entre os diversos parâmetros estudados.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As densidades das populações de bactérias, actinomicetos e fungos, foram inferiores para os tratamentos que receberam adubação mineral e/ou menor quantidade de calcário, 3, 4 e 9 (Tabela 1).

As diferentes formas de aplicação de composto orgânico, calagem e adubação mineral sobre as populações microbianas permitem avaliar como um todo, apenas os efeitos globais, porém, deve-se considerar o efeito seletivo que estas adições podem causar sobre determinados gêneros ou espécies de microrganismos, favorecendo a proliferação de uns em detrimento de outros (CAMPBELL e BIEDERBECK, 1982). Diante de tal situação se faz necessário discutir a influência das diferentes formas de adubação sobre as principais populações microbianas.

4.1. EFEITO DA APLICAÇÃO DE COMPOSTO ORGÂNICO, CALAGEM E ADUBOS MINERAIS NAS POPULAÇÕES MICROBIANAS

Observando-se os dados da Tabela 1, verifica-se que a maior densidade populacional (média das sete épocas), entre os microrganismos estudados (bactérias, fungos, actinomicetos), foi promovida pelas bactérias, que variou de 182 a 382×10^4 UFC (Unidade Formadoras de Colônias)/g de solo seco, nos tratamentos 1 e 4, respectivamente. Valores próximos aos da densidade bacteriana foram atingidos pelos actinomicetos, que oscilaram de 93,2 a 182×10^4 UFC/g de solo seco, para os tratamentos 6 e 8, respectivamente. A menor densidade populacional foi observada para os fungos, que apresentaram valores mínimo e máximo de 11,7 a $25,3 \times 10^4$ UFC/g de solo seco, para os tratamentos 4 e 1, respectivamente. A densidade populacional microbiana (média das sete épocas), atingida no geral foi inferior às áreas de sistemas agrícolas, porém, semelhante àquelas obtidas por EDITH e MARQUES (1984), quando trabalharam nos solos do cerrado, na monocultura do eucalipto e encontraram valores de 19,18; 67,9 e $0,27 \times 10^4$ UFC/g de solo seco, para bactérias, actinomicetos e fungos, respectivamente.

TABELA 1 - Densidades populacionais dos principais microrganismos do solo em função das diferentes formas de adubação na camada de 0 - 5 cm de profundidade, no município de Itatinga - SP, no período de agosto de 1994 a agosto de 1995. (Média das sete coletas).

Tratamentos	Bactérias	Actinomicetos	Fungos	Celulolíticos	Solubilizadores
	em geral				
	----- UFC x 10 ⁴ /g de solo seco -----				
1	382,0	173,2	25,3	53,8	31,9
2	336,5	179,7	22,8	28,9	28,4
3	331,4	149,3	14,2	25,6	40,1
4	182,0	109,8	11,7	30,6	39,6
5	229,0	110,8	17,5	19,4	35,0
6	301,1	93,2	15,7	22,4	37,6
7	272,0	128,3	12,0	31,3	31,7
8	343,1	182,0	25,1	34,9	37,4
9	241,3	122,9	17,4	36,6	37,0

Para os microrganismos celulolíticos, observou-se que a população variou de 19,4 a 53,8 x 10⁴ UFC/g de solo seco, nos tratamentos 5 e 1, respectivamente (Tabela 1). Já para os microrganismos solubilizadores de fosfato habilidade em solubilizar fosfatos naturais em condições artificiais foi constatada em maior escala nos tratamentos 3, 4 e 6.

4.1.1. Densidades populacionais de bactérias em geral

Nos tratamentos estudados as densidades populacionais bacterianas apresentaram variabilidade entre os tratamentos estudados (Tabela 1). Destacaram-se os tratamentos 1 (composto orgânico + calagem + adubação mineral) e 8 (composto orgânico + adubação mineral), atingindo densidades da ordem de 382 e 343,1 UFC/g de solo seco, respectivamente. A adubação com composto orgânico nos dois tratamentos, que tem como característica uma baixa relação C/N, tendeu a favorecer a população saprofítica, pois esta recebeu carbono e nitrogênio

de forma prontamente assimilável. Além disso, essa adubação pode ter promovido alterações nos exsudados radiculares, pois quanto melhor o estado nutricional das plantas em relação ao nitrogênio, maior a proporção de compostos nitrogenados excretados pelas raízes, o que afeta as populações microbianas como um todo (KOLB e MARTIN, 1988). Em todos os tratamentos há uma considerável contribuição de matéria orgânica representada pelas folhas e galhos que são liberados durante o processo de crescimento do eucalipto, porém, destacando-se os tratamentos 1 e 8 que apresentaram maior crescimento em altura e diâmetro. Por outro lado, deve-se destacar que o tratamento 1 também recebeu a adição de 15 t/ha de calcário, diferentemente do tratamento 8, contribuiu para minimizar os efeitos da acidez e elevar o nível de cálcio.

A aplicação do tratamento 2, que correspondeu a 50% da adubação recomendada para o tratamento 1, resultou numa densidade populacional inferior aos tratamentos 1 e 8, atingindo valores da ordem de $336,5 \times 10^4$ UFC/g de solo seco (Tabela 1). Tal valor indica que nesta área as populações podem estar sendo ainda mais limitadas por uma série de fatores, entre eles destacando-se o teor de matéria orgânica do solo (Tabela 2).

Os tratamentos que receberam apenas adubação mineral (3, 4 e 9) de um modo geral apresentaram as menores densidades, variando de 182 a $331,4 \times 10^4$ UFC/g de solo seco. Estes resultados indicam que apenas adubações minerais nestas áreas, não são suficientes para elevar as populações bacterianas ao mesmo nível dos tratamentos que receberam calagem e/ou composto orgânico. Este fato evidencia que, os fatores determinantes destas densidades não estão restritos aos nutrientes minerais.

Quando aplicou-se 1,1 t/ha de calcário (tratamentos 5 e 6), diferenciando-se na adubação mineral, verifica-se que as densidades bacterianas tenderam a ser inferiores aos tratamentos 1 e 8 atingindo valores de 229 a 301×10^4 UFC/g de solo seco mas, por outro lado, ficaram bem próximos dos tratamentos que receberam apenas adubação mineral.

4.1.2. Densidades populacionais de actinomicetos

TABELA 2. Parâmetros físicos e químicos do solo na camada de 0 - 5 cm de profundidade, no município de Itatinga - SP no período de agosto de 1994 a agosto de 1995. (Média das sete épocas).

Trata- mentos	pH CaCl ₂	P ppm	C %	H+ Al		Ca	Mg	K	CTC	m	V	Areia			Umidade
				Al	meq/100 ml							%			
1	3,8	47,0	4,1	7,7	0,8	1,6	0,5	0,09	9,9	26,8	22,1	88,0	4,0	8,8	2,9
2	3,7	20,0	2,8	6,6	1,0	0,9	0,7	0,08	8,3	37,3	20,3	90,0	2,0	8,0	2,7
3	3,6	78,0	2,9	6,6	1,4	0,7	0,7	0,06	8,1	49,0	18,1	88,0	4,0	8,0	2,8
4	3,5	39,0	3,3	7,7	1,7	0,5	0,4	0,06	8,7	63,9	11,1	88,0	4,0	8,0	2,7
5	3,6	24,0	3,2	7,2	1,3	0,7	0,7	0,08	8,7	46,8	17,1	88,0	6,0	6,0	2,8
6	3,8	24,0	3,0	6,6	0,8	1,4	1,0	0,08	9,1	24,4	27,3	86,0	8,0	6,0	2,4
7	3,8	27,0	2,6	6,6	1,0	1,3	1,1	0,08	9,1	28,7	27,3	86,0	6,0	8,0	2,8
8	3,8	44,0	3,9	6,6	1,0	1,2	0,6	0,09	8,5	34,6	22,3	88,0	4,0	8,0	2,6
9	3,7	12,0	3,6	6,2	1,1	0,4	0,5	0,08	7,2	52,9	13,6	86,0	6,0	8,0	2,6

As densidades populacionais de actinomicetos foram inferiores as das bactérias, assim como, influenciada pelas formas de adubação e adição de resíduo orgânico (Tabela 1).

Os valores mais expressivos foram 179,7; 173,2 e 182 x 10⁴ UFC/g de solo seco, obtidos para os tratamentos 2, 1 e 8, respectivamente. A adição de fertilizantes minerais, como foi o caso dos tratamentos 3, 4 e 9, associação com 1,1 t/ha de calcário (tratamentos 5 e 6) resultou nas menores densidades, com valores oscilando no primeiro caso entre 109,8 a 149,3 x 10⁴ UFC/g de solo seco e no segundo caso, 93,2 a 110,8 x 10⁴ UFC/g de solo seco. Isto demonstra que, as populações de actinomicetos do solo são predominantemente saprofíticas, além de necessitar um pH ideal para o desenvolvimento próximo à neutralidade, o que confirma observações anteriores (TSAI et al., 1992).

Ao contrário das bactérias em geral, os actinomicetos estiveram relacionados com o teor de argila do solo, no qual constatou-se um coeficiente de correlação significativo entre estes parâmetros, obtiveram ($r = 0,620 *$) (Tabela 3). Esses dados são similares aos obtidos por MARQUES e EDITH (1984), que apesar de não encontrarem uma correlação significativa entre estes parâmetros, obtiveram ($r = 0,56$), quando trabalharam com eucalipto num Latossolo Vermelho-Amarelo na época do inverno. Além disso, verificou-se uma correlação significativa entre as densidades populacionais dos actinomicetos e das bactérias em geral ($r = 0,619 *$), indicando que estes microrganismos estão presentes no solo em condições similares, ou que suas densidades são resultantes da ação dos mesmos fatores limitantes.

Os parâmetros físicos e químicos do solo, de um modo, geral não correlacionaram-se significativamente com as densidades populacionais de actinomicetos (Tabela 3). Estas densidades apresentaram um coeficiente de correlação não significativo, apesar de alto com os teores de cálcio.

4.1.3. Densidades populacionais de fungos

De forma semelhante as bactérias em geral e actinomicetos, as densidades

populacionais fúngicas não foram influenciadas pelos tratamentos (Tabela 1). Os mais altos valores foram atingidos com os tratamentos 1, 8 e 2, com os respectivos valores 25,3, 25,1 e 22,8 x 10⁴ UFC/g de solo seco. Já os menores valores, 11,7, 14,2 e 17,4 x 10⁴ UFC/g de solo seco, foram verificados nos tratamentos 4, 3 e 9, respectivamente, que receberam apenas adubação mineral.

Considerando-se as características de reprodução dos fungos, deve-se destacar que os resultados obtidos entre os tratamentos com calagem e/ou adição de composto orgânico e os tratamentos que receberam adubação mineral podem estar relacionados com as condições desfavoráveis para estes microrganismos, nos quais, tais condições propiciam a entrada no período reprodutivo mais rapidamente, com maior quantidade de esporos por unidade de biomassa (GRAY e WILLIAMS, 1975; SIQUEIRA, et al., 1994). Em tais condições, grande parte das colônias contadas em placas podem originar-se de esporos. Dessa forma, apesar dos tratamentos só com adubação mineral apresentarem densidades superiores ou semelhantes aos tratamentos que receberam calagem e adubação mineral, estes devem possuir biomassa e atividade fúngica inferiores.

Apesar do pH ser um fator de grande influência sobre o desenvolvimento microbiano (ALEXANDER, 1980; BAUHUS e BARTHEL, 1995), observa-se que não houve correlação significativa com as populações fúngicas (Tabela 3). Isto pode ser em parte explicado pelo fato desse parâmetro ter sido muito semelhante entre todos os tratamentos apresentando uma amplitude de 0,3 unidades (Tabela 2). Observa-se que, na faixa de pH na qual trabalhou-se (3,5 a 3,8) as condições são mais favoráveis aos fungos que às bactérias em geral e actinomicetos (ALEXANDER, 1980).

As densidades populacionais correlacionaram-se de forma positiva com o teor de matéria orgânica do solo ($r = 0,740 *$) (Tabela 3). Esse comportamento já era esperado, uma vez que a distribuição dos fungos no solo está associado diretamente com o teor de matéria orgânica (ALEXANDER, 1980). Além disso, respondem à adubação orgânica ou à adição de resíduos vegetais (NANNIPIERI et al., 1984). Também constatou-se uma correlação significativa entre as densidades populacionais fúngica e bacteriana ($r = 0,609 *$), o que confirma resultados

Tabela 3. Coeficientes de correlação (de 1^o grau) entre os dados de análise de solo, população, biomassa e respiração microbiana, considerando-se todos os tratamentos.

Parâmetros	Bactérias	Fungos	Actinomicetos	Celulolíticos	Solubilizadores	B.Esporuláveis	Biomassa	Respiração
Argila	0,024 NS	-0,161 NS	0,620 *	0,628 *	-0,206 NS	0,360 NS	0,060 NS	0,270 NS
CTC	-0,201 NS	0,053 NS	0,129 NS	0,449 NS	-0,401 NS	0,036 NS	0,756 *	0,715 *
pH	-0,440 NS	-0,088 NS	0,036 NS	0,238 NS	0,469 NS	0,283 NS	0,476 NS	0,097 NS
P	0,133 NS	0,226 NS	0,333 NS	0,193 NS	0,221 NS	0,225 NS	0,465 NS	0,654 *
MO	-0,248 NS	0,740 NS	-0,403 NS	-0,342 NS	0,134 NS	0,474 NS	0,679 *	0,701 *
Al	0,244 NS	0,077 NS	0,061 NS	-0,421 NS	0,286 NS	-0,287 NS	-0,822 **	0,790 *
Ca	0,068 NS	0,287 NS	0,560 NS	0,415 NS	-0,291 NS	0,356 NS	0,843 **	0,687 *
Mg	0,004 NS	0,480 NS	-0,369 NS	-0,114 NS	-0,286 NS	0,411 NS	0,409 NS	0,791 *
Umidade	-0,203 NS	0,313 NS	0,510 NS	0,385 NS	0,365 NS	-0,259 NS	0,746 *	-0,326 NS
Bactérias	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Fungos	0,609 *	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Actinomicetos	0,619 *	-0,119 NS	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Celulolíticos	-0,345 NS	-0,404 NS	0,539 NS	-----	-----	-----	-----	-----
Solubilizadores	-0,009 NS	0,171 NS	-0,447 NS	-0,342 NS	-----	-----	-----	-----
B. esporuláveis	-0,005 NS	0,550 NS	-0,410 NS	-0,135 NS	0,380 NS	-----	-----	-----
Biomassa	-0,009 NS	0,420 NS	0,287 NS	0,567 NS	-0,199 NS	0,440 NS	-----	-----
Respiração	-0,286 NS	-0,078 NS	0,244 NS	0,354 NS	-0,498 NS	-0,394 NS	0,643 *	-----

Obs. NS = Não significativo a um nível de 5% de probabilidade,

* = Significativo a um nível de 5% de probabilidade,

** = Significativo a um nível de 1% de probabilidade.

anteriores de CATTELAN e VIDOR (1990).

4.1.4. Densidades populacionais de microrganismos celulolíticos

As densidades populacionais de microrganismos celulolíticos são representadas por parte das populações dos principais grupos microbianos. Como entre eles não constataram-se grandes diferenças (Tabela 1), este fato pode ter se refletido na densidade de celulolíticos/g de solo seco, onde os valores oscilaram entre 19,4 a 53,8 x 10⁴ UFC/g de solo seco, respectivamente para os tratamentos 5 e 1 (Tabela 5). Deve-se ressaltar que a similaridade entre os resultados pode estar associada ao aporte contínuo e quase semelhante de matéria orgânica que ocorreu em todos os tratamentos, como consequência da desrama natural, acrescentando-se ao solo material rico em celulose.

Apesar das densidades populacionais não terem sido correlacionadas significativamente com nenhum dos demais grupos microbianos estudados (Tabela 3), observou-se que os microrganismos que hidrolisaram a celulose em meio de cultura foram representados, na quase totalidade, por fungos. Esta constatação também foi feita por outros pesquisadores (PANIKOV et al., 1984; SILVA FILHO, 1984; CATTELAN e VIDOR, 1990).

4.1.5. Densidades populacionais de microrganismos solubilizadores de fosfato

Os microrganismos solubilizadores de fosfato apresentaram densidades populacionais da ordem de 10⁴ UFC/g de solo seco (Tabela 1). Estes resultados são de um modo geral inferiores aos obtidos em áreas de cultivo agrícola, como os citados por SILVA FILHO (1984); CATTELAN e VIDOR (1990), quando obtiveram valores da ordem de 10⁵ UFC/g de solo seco.

As densidades populacionais foram bastante similares nos tratamentos, com valores oscilando entre 28,4 a 40,1 x 10⁴ UFC/g de solo seco. Porém era de se esperar maiores variações entre os tratamentos 1 e 2, que receberam (composto orgânico + calagem + adubação mineral) e 8 (composto orgânico +

calagem), quando comparados com aqueles que receberam apenas adubação mineral, uma vez que estes apresentaram uma maior produção vegetal, pois sabe-se que estes microrganismos são muito influenciados pelo sistema radicular das culturas (SYLVESTER-BRADLEY et al., 1982).

De um modo geral observou-se que, nas contagens dos microrganismos solubilizadores de fosfatos, realizadas em meio de cultura, houve uma grande predominância das bactérias, seguida dos fungos e por último pelos actinomicetos. Estas observações estão de acordo com os resultados de SYLVESTER-BRADLEY et al., (1982) e MOLLA et al., (1984). As superioridade das populações bacterianas podem estar associadas ao fato do pH do meio de cultura ser levemente alcalino (Apêndice 5), o que favorece a competição das bactérias.

Não constatou-se nenhuma correlação significativa em relação aos demais microrganismos, assim como dos parâmetros de fertilidade do solo, (Tabela 3), até mesmo com o teor de fósforo disponível. Esses resultados corroboram com as observações de KUCEY (1983), que sugere que a habilidade para solubilizar fosfato seja uma decorrência natural do metabolismo microbiano e não uma função fisiológica especializada, estimulada por condições ambientais. De forma similar TARDIEUX-ROCHE (1966), também observou que a atividade solubilizadora não foi influenciada pelo fósforo disponível, pelo pH, pelo teor de matéria orgânica ou pela textura do solo, mas sim pelo tipo de vegetação.

4.1.6. Densidades populacionais de bactérias esporuláveis

A proporção de esporos nas densidades populacionais bacterianas variaram de 14,1 a 39,9% (Tabela 4). Os tratamentos 2, 1 e 8, que receberam composto orgânico e calagem, atingiram os valores de 14,1; 19,9 e 26,1 %, respectivamente, enquanto os tratamentos que receberam apenas adubação mineral apresentaram as maiores proporções, sendo 37,0, 39,9 e 38,6 %, para os tratamentos 4, 5 e 9, respectivamente.

De um modo geral, verifica-se que as densidades de esporos em relação as densidades bacterianas foi relativamente alta, quando comparada com os re-

sultados obtidos por CATTELAN e VIDOR (1990), numa amostra da camada superficial de um solo sem cobertura vegetal. Isto reflete as condições adversas que este plantio de eucalipto apresenta para grande parte das populações microbianas do solo. Em tais condições, esses endosporos permitem as bactérias sobreviverem às condições desfavoráveis do ambiente, como na falta de nutrientes, em altas temperaturas e baixa umidade do solo (GRAY e WILLIAMS, 1975; SIQUEIRA et al., 1994).

Observa-se também que, as densidades de esporos e as densidades populacionais de bactérias não correlacionaram-se significativamente (Tabela 3) . Resultados similares entre ambos parâmetros foram observados por CATTELAN e VIDOR (1990), em sete sistemas de culturas agrícolas.

TABELA 4. Densidades populacionais e percentagens de esporos bacterianos em função das diferentes formas de adubação na camada de 0-5 cm de profundidade, no município de Itatinga - SP, no período de agosto de 1994 a agosto de 1995. (Média das sete coletas).

Tratamentos	UFC x 10 ⁴ /g de solo seco	Esporos (%)
1	76,0	19,9
2	47,4	14,1
3	94,0	28,4
4	67,3	37,0
5	91,3	39,9
6	98,9	32,9
7	84,6	31,1
8	89,7	26,1
9	93,1	38,6

4.2. EFEITO DA APLICAÇÃO DE COMPOSTO ORGÂNICO, CALAGEM E ADUBOS MINERAIS NA BIOMASSA MICROBIANA

A biomassa microbiana apresentou variação entre os diferentes tratamentos estudados (Tabela 5). O tratamento 1 (resíduo urbano + calagem + adubação mineral) apresentou uma biomassa microbiana média de 44,7 mg de C/100 g de solo seco, apresentando valores superiores aos outros tratamentos, em seis das sete avaliações efetuadas. Um pouco abaixo, verifica-se um grupo de tratamentos representado pelos tratamentos 8 e 6, com valores médios de 38,2 e 36,6 mg de C/100 g de solo seco, respectivamente. Os menores valores 27,7 a 28,6 mg de C/100 g de solo seco, foram obtidos pelos tratamentos que receberam apenas adubação mineral (3, 4 e 9) e adubação mineral juntamente com 1,1 t/ha de calcário (5). Nestes tratamentos apresentaram uma biomassa microbiana de 62 a 64 % da biomassa presente no tratamento que recebeu resíduo urbano + calagem + adubação mineral.

Os valores da biomassa microbiana encontrados para os diferentes sistemas estão de acordo com outros estudos que utilizaram o método de fumigação-incubação. JENKINSON e POWLSON (1976) obtiveram valores de 17 a 118 mg de C/100g de solo seco, em solos da Estação Experimental de Rothamsted submetidos a nove diferentes sistemas de culturas, na profundidade de 0 a 23 cm. GRISI e GRAY (1986) encontraram valores de 4,14 a 251,52 mg de C/100g de solo, nos 5 cm superficiais de nove solos da Inglaterra, provenientes de áreas de floresta, agricultáveis e de pastagens, nos 5 cm superficiais.

O carbono microbiano é um dos constituintes da matéria orgânica do solo, sendo importante quantificar sua contribuição para a mesma. A fração do carbono orgânico do solo pertencente à biomassa microbiana variou de 0,5 a 1,7% (Tabela 5). Esses valores são inferiores aos resultados obtidos por JENKINSON e POWLSON (1976), que obtiveram valores de 1,7 a 3,7%, em nove solos, submetidos a diferentes sistemas de manejo, na camada de 0 a 23 cm. Por outro lado, estes valores se aproximam mais dos obtidos por LYNCH e PANTING (1980), que encontraram valores de carbono na biomassa microbiana na ordem de 1,1 a

2,7 %, na camada de 0 a 5 cm, em um solo submetido ao plantio direto e preparo convencional. O solo no tratamento 1 também apresentou os maiores teores de carbono (4,1%) (Tabela 2).

TABELA 4. Biomassa, respiração microbiana e carbono orgânico pertencente a esta biomassa em função das diferentes formas de adubação, na camada de 0 - 5 cm de profundidade, no município de Itatinga - SP, no período de agosto de 1994 a agosto de 1995. (Média das sete coletas).

TRATAMENTOS	Biomassa (mg C/100 g de solo)	Respiração microbiana (mg C/100 g de solo)	C orgânico do solo na biomassa (%)	Kg C microbiano/ha
1	44,7	30,5	1,7	385
2	27,7	24,4	0,9	171
3	33,2	23,2	0,7	212
4	28,7	24,0	0,6	208
5	28,4	23,5	0,6	200
6	36,6	21,8	0,9	242
7	31,9	23,7	0,6	182
8	38,2	29,3	1,3	328
9	28,6	19,7	0,5	164

A matéria orgânica constitui-se na principal fonte de energia e nutrientes para os organismos heterotróficos (VERSTRAETE e VOETS, 1977; BRANDÃO, 1992). Além disso, também colabora para o aumento da capacidade de armazenamento de água pelo solo (HILLEL, 1982), favorecendo as condições para o desenvolvimento microbiano. Nesse estudo observou-se uma correlação significativa ($r = 0,679^*$) (Tabela 3), entre o teor de matéria orgânica e a umidade gra-

vimétrica do solo, nos diferentes tratamentos. Correlações significativas também foram observadas entre biomassa e umidade gravimétrica ($r = 0,746 *$).

Em relação aos parâmetros de fertilidade do solo, verificou-se correlação positiva, altamente significativa entre a biomassa e o teor de cálcio trocável ($r = 0,843 **$). De forma similar, destaca-se a correlação entre a biomassa e a capacidade de troca de cátions do solo (CTC) ($r = 0,756 *$). Já para o alumínio essa correlação foi altamente significativa, porém negativa ($r = -0,822**$).

Entre as populações microbianas não foi observado correlação sigificativa com a biomassa microbiana, porém destacou-se a correlação com as densidades populacionais bacterianas ($r = 0,009$ NS). Como era de se esperar, apesar de ser predominante no solo, devido ao tamanho celular reduzido, contribui com menos da metade da biomassa microbiana total (ARAÚJO e HUNGRIA, 1994). ANDERSON e DOMSCH (1980), estudando 17 solos, verificaram que a contribuição das bactérias para a biomassa total variou de 10 a 40 %, sendo a média 25 %, enquanto que a contribuição dos fungos variou de 60 a 90 %, sendo a média de 75 %.

Para facilitar a compreensão da importância que a biomassa microbiana apresenta para o desenvolvimento das culturas agrícolas, os valores obtidos nesta pesquisa foram convertidos para Kg/ha e calculada a quantidade de alguns nutrientes armazenados nela. Deve-se ressaltar, no entanto, que esses valores têm maior validade quando são usados em termos relativos do que absolutos (GRISI e GRAY, 1986). Dessa forma, considerando-se a densidade do solo como sendo $1,20 \text{ g/cm}^3$, obtêm-se os valores apresentados na Tabela 5. Verifica-se que os valores de carbono microbiano oscilaram entre 164 a 385 Kg/ha. Assim como nos demais parâmetros estudados, os tratamento 1 (resíduo urbano + calagem + adubo mineral) e 8 (resíduo urbano + adubação mineral), atingiram os maiores valores 385 e 328 Kg/ha de C, respectivamente, indicando serem essas condições mais favoráveis à biomassa microbiana. De um modo geral, os tratamentos que receberam apenas adubação mineral e menor dose de calagem tenderam a apresentar a menor quantidade de C na biomassa microbiana.

Tomando-se como base os valores da biomassa microbiana expressa na Tabela 5 e considerando-se as relações propostas por ANDERSON e DOMSCH (1980), verificou-se que as quantidades de N, P, K e Ca podem atingir valores da ordem de 57,8; 44,3; 38,5 e 9,6 Kg/ha respectivamente, para o tratamento 1 e 49,2; 37,7; 38,2 e 5,4 Kg/ha, para o tratamento 8 (dados não apresentados). Diante destes valores pode-se ressaltar que a biomassa microbiana constitui-se um importante reservatório de nutrientes inorgânicos para as plantas, os quais são parcial e periodicamente liberados, principalmente quando ocorrem os ciclos de secamento - reumidecimento do solo (MARUMOTO et al., 1982; KIEFT et al., 1987). É provável que, através dessa retenção temporária dos nutrientes em sua biomassa, os microrganismos também contribuam para diminuir a lixiviação dos mesmos, principalmente em solos arenosos.

4.3. EFEITO DA APLICAÇÃO DE COMPOSTO ORGÂNICO, CALAGEM E ADUBOS MINERAIS NA RESPIRAÇÃO MICROBIANA

Para estimar-se a respiração microbiana potencial, foi utilizado o somatório do CO₂ desprendido aos dez e vinte dias de incubação da amostra não fumigada utilizado no cálculo da biomassa microbiana.

De um modo geral, a respiração microbiana apresentou um comportamento similar à biomassa microbiana entre os tratamentos analisados (Tabela 5), sendo que os tratamentos 8 e 1, como nos demais parâmetros analisados, destacaram-se, apresentando valores de 29,33 a 30,52 mg de C/100 g de solo seco, respectivamente. Estes tratamentos receberam a adição de 15 t/ha de lixo domiciliar.

Os menores valores encontrados foram provenientes dos tratamentos que receberam apenas adubação mineral. O tratamento 9 (19,7 mg C/100 g de solo seco) foi o menor. Verifica-se que, apesar de existirem variações entre alguns tratamentos, no geral não houve grandes oscilações, pois o menor valor da respiração microbiana chegou a representar 64,6% do tratamento de maior expressão. Nos tratamentos onde utilizou-se apenas calagem e/ou adubação mineral, praticamente não houve variação, com a respiração oscilando entre

19,7 a 24,0 mg C/100 g de solo seco. Os valores obtidos são similares aos citados por SILVA FILHO (1984), quando obteve valores acumulados de 16 dias, oscilando entre 2,60 a 25,92 mg C/100 g de solo seco, na camada de 0 a 17 cm de um Latossolo Roxo Distrófico, submetido a vários sistemas de manejo. CATTELLAN e VIDOR (1990) obtiveram valores de 18,1 a 36,4 mg C/100 g de solo seco, em solos submetidos a diferentes sistemas de culturas, na camada de 0 - 5 cm de profundidade.

As similaridades entre as taxas de respiração entre os diversos tratamentos, sugerem que na composição das populações deve haver microrganismos de grande atividade decompositora. Dessa forma, as bactérias podem ser importantes, pois trata-se de um grupo muito ativo metabolicamente (ALEXANDER, 1980) e que contribui muito pouco para a biomassa total. Por outro lado, essa hipótese fica comprometida, pois não foi encontrada correlação significativa entre a densidade populacional de bactérias e a respiração microbiana ($r = 0,568$) (Tabela 3).

Em relação aos demais parâmetros, verificou-se que a biomassa apresentou correlação significativa com a respiração microbiana ($r = 0,643^*$). Já para os parâmetros do solo observou-se correlação significativa da respiração microbiana com a CTC ($r = 0,715^*$) e com os nutrientes P ($r = 0,654^*$) e K ($r = 0,682^*$). Esses resultados são coerentes com as observações de outros pesquisadores de que a adubação mineral estimula os microrganismos (KHAN, 1970; NUERNBERG, et al., 1984). Esse estímulo pode se dar de maneira direta, pelo fornecimento de nutrientes inorgânicos às células ou de maneira indireta, pela maior produção vegetal e maior efeito rizosférico (ROVIRA e DAVEY, 1974; LYNCH, 1986).

4.4 INFLUÊNCIAS DAS VARIAÇÕES CLIMÁTICAS NAS DENSIDADES POPULACIONAIS, BIOMASSAS E RESPIRAÇÕES MICROBIANAS

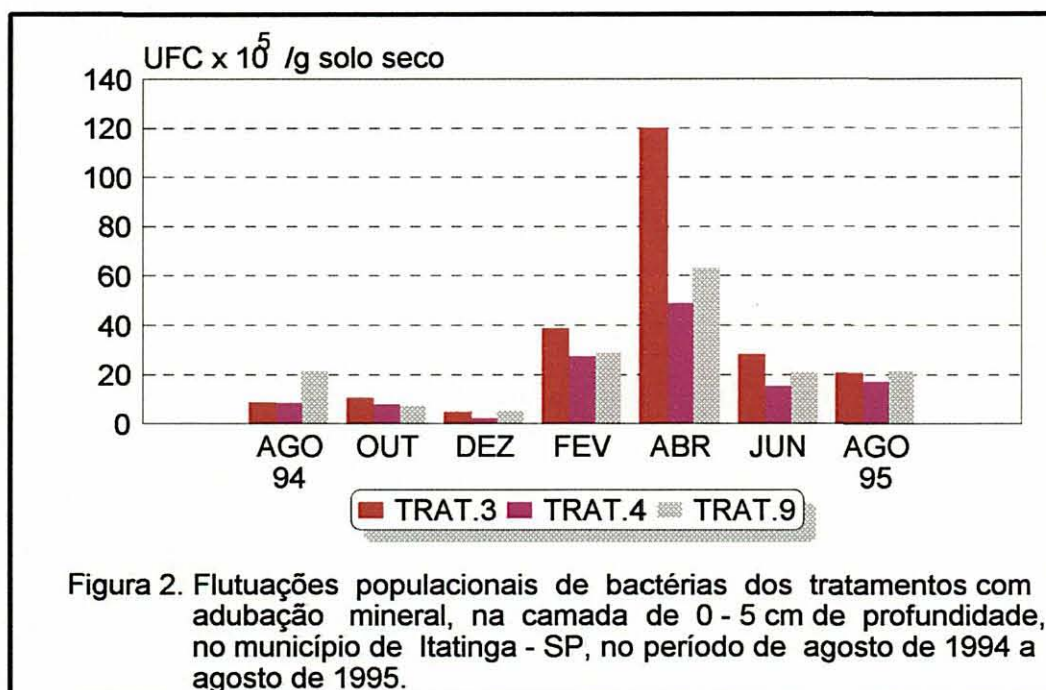
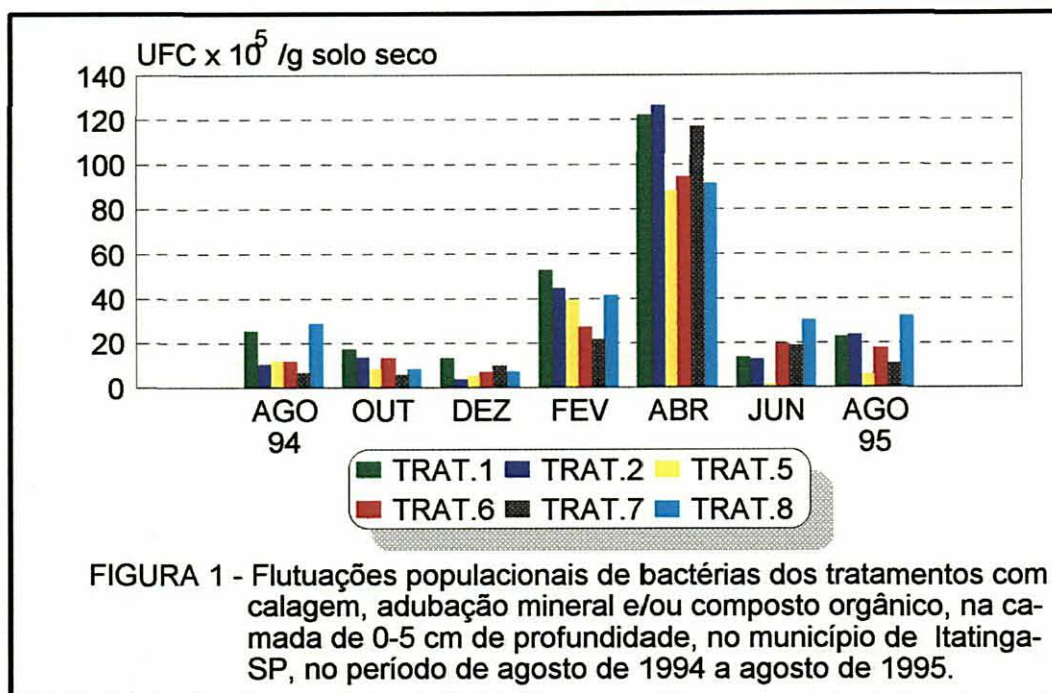
Com a finalidade de promover melhor visualização dos efeitos estacionais dos tratamentos sobre as populações, biomassas e respirações microbianas, os dados referentes as coletas serão apresentados em dois grupos distintos. O primeiro é composto dos tratamentos que receberam além da adubação mineral,

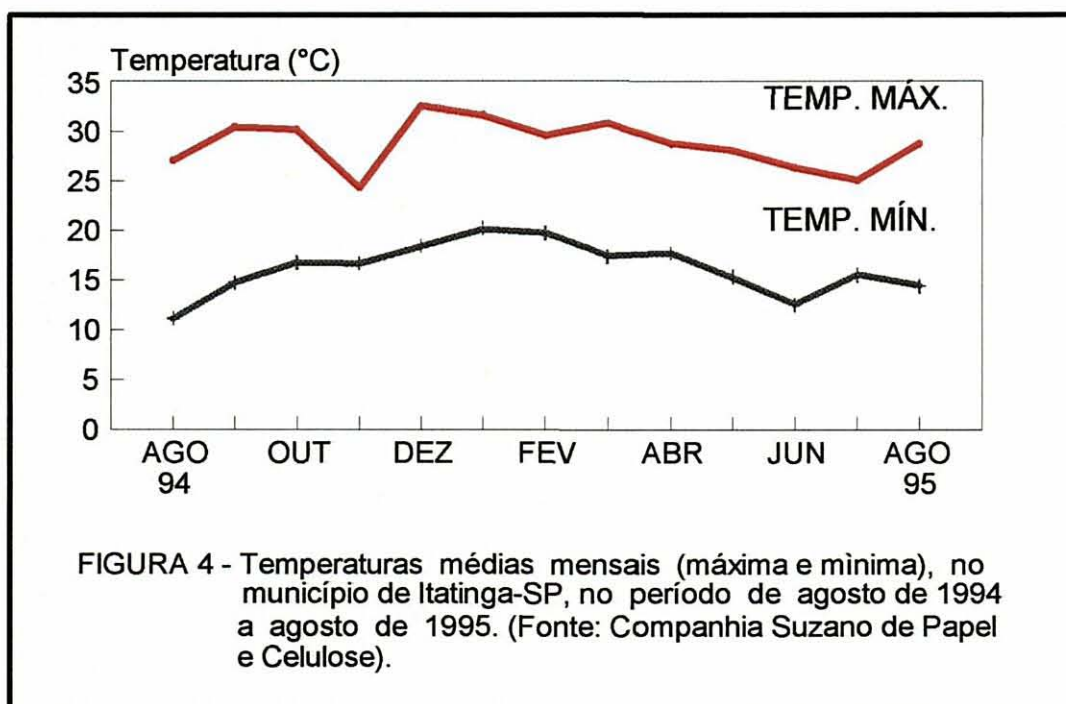
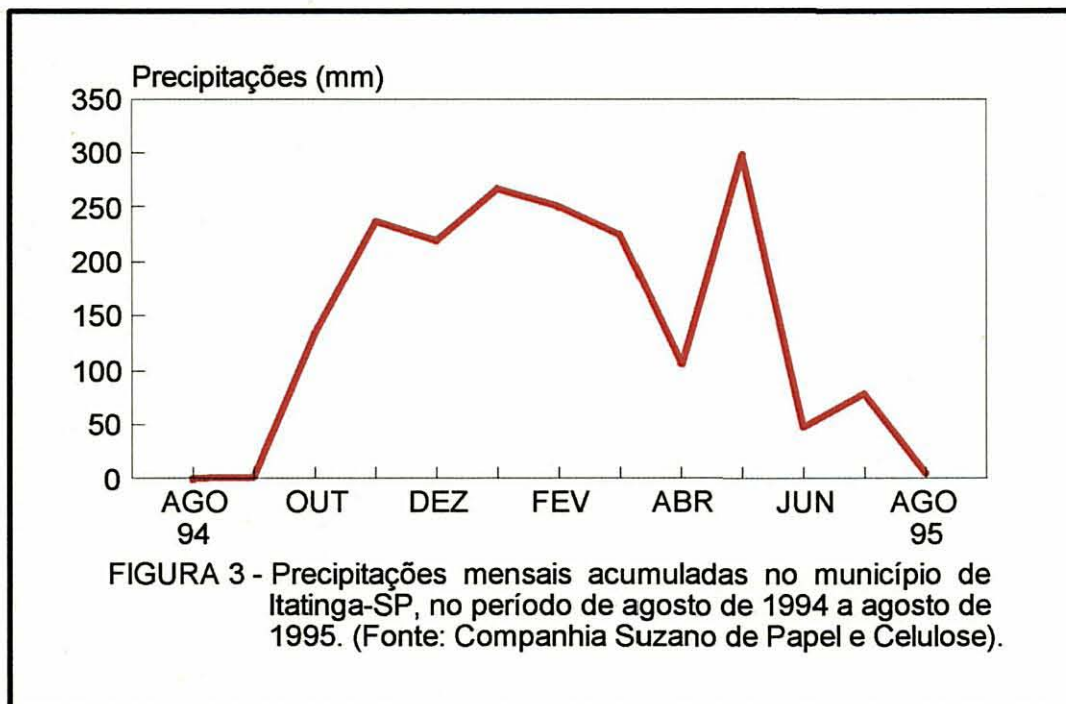
calagem e/ou composto orgânico (1, 2, 5, 6, 7 e 8) e o segundo pelos tratamentos que receberam apenas adubação mineral (3, 4 e 9).

4.4.1 Bactérias

As densidades populacionais bacterianas apresentaram ampla variação durante o período de estudo, com grande semelhança entre os tratamentos avaliados (Figuras 1 e 2). Observou-se que nas coletas referentes aos meses de agosto, outubro e dezembro de 1994, para todos os tratamentos as densidades foram extremamente baixas. Estes valores são compreensíveis, uma vez que, o solo trata-se de uma Areia Quartzosa álica, com baixa capacidade de retenção de umidade e que durante o período de 60 dias, referente aos meses de agosto e setembro a precipitação pluviométrica média mensal foi 0,0 mm (Figura 3), apesar das temperaturas não serem elevadas (Figura 4). O déficit hídrico tem grande importância neste estudo, pois as amostragens foram realizadas na camada superficial do solo de 0 - 5,0 cm, onde provavelmente ocorrem perdas de água por evaporação. Na quarta coleta, efetuada em fevereiro de 1995, as densidades destes microrganismos aumentaram, destacando-se os tratamentos 1, 3 e 8. Este acréscimo coincide com o aumento da precipitação pluviométrica em relação aos meses anteriores, pois as populações bacterianas são bastante sensíveis à falta de umidade (CAMPBELL e BIEDERBECK, 1976; SILVA FILHO, 1984). As densidades continuaram a elevar-se nos meses subsequentes, atingindo os maiores valores em abril de 1995. Dessa forma, verifica-se que as maiores densidades populacionais bacterianas foram atingidas no verão e no outono, quando observaram condições climáticas mais favoráveis. CAMPBELL e BIERDECK (1976) observaram que, em solos bem drenados, o excesso hídrico não chega a limitar a disponibilidade de oxigênio para as populações aeróbias e, pelo contrário, estimula seu desenvolvimento.

Uma expressiva redução nas densidades populacionais foi constatada nas coletas efetuadas nos meses de junho e agosto de 1995, retornando-se praticamente aos valores obtidos durante este mesmo período no ano anterior, os

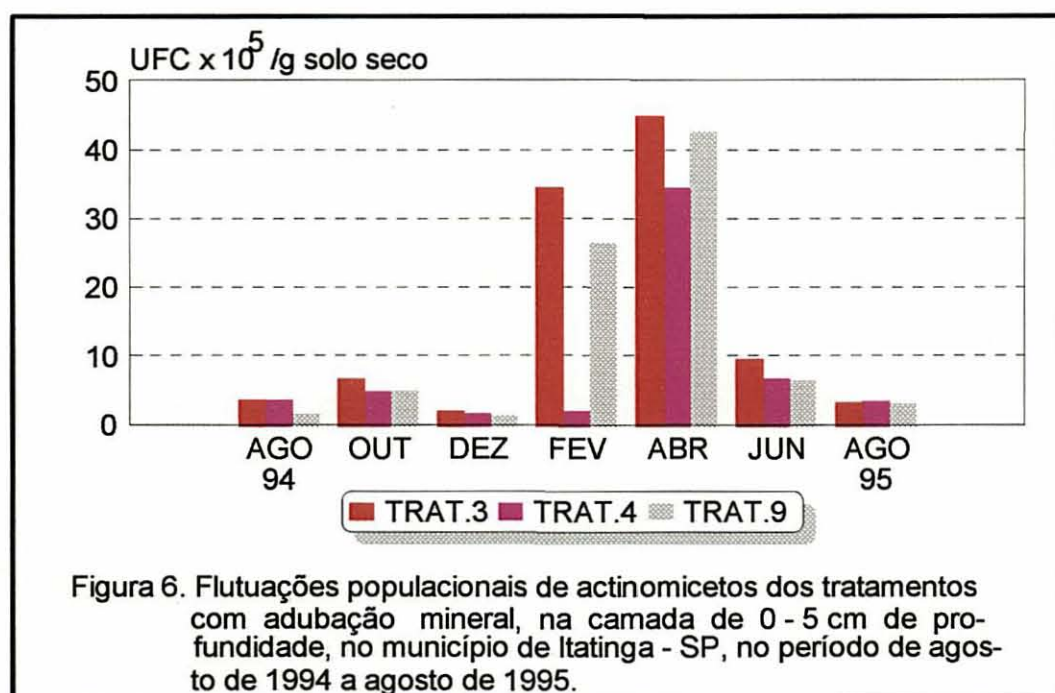
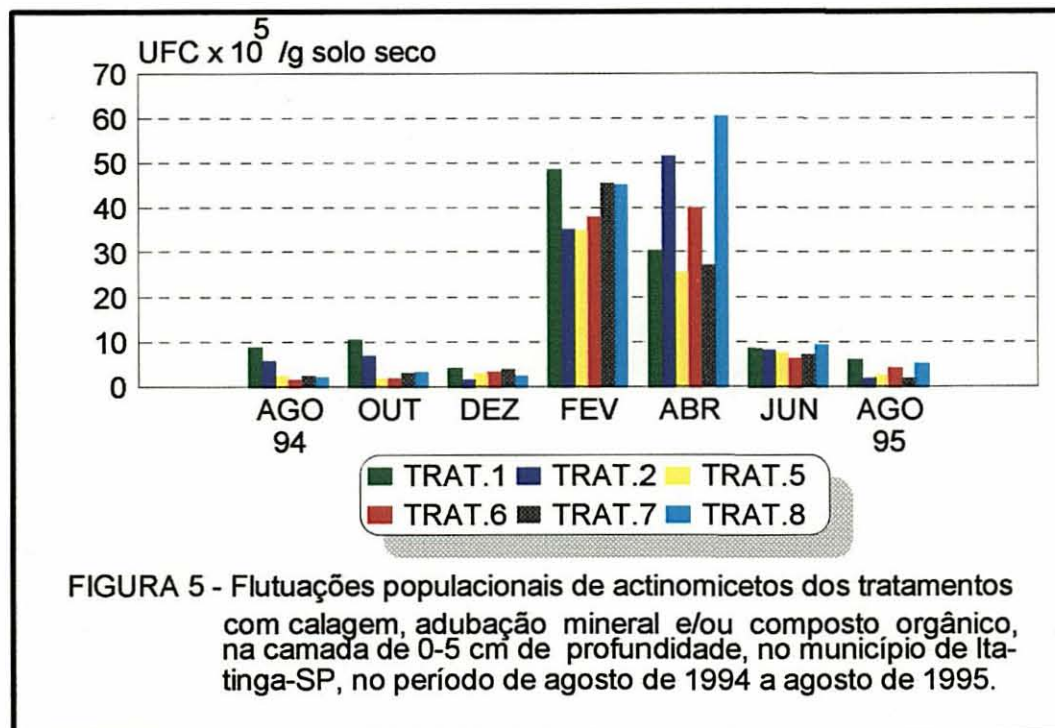




quais são justificados através de uma nova redução da precipitação pluviométrica, uma vez que a temperatura máxima durante todo o estudo sempre manteve-se entre 25 a 35 °C, na faixa de maiores atividades das populações microbianas do solo (ALEXANDER, 1980).

4.4.2. Actinomicetos

De forma similar as flutuações ocorridas nas densidades populacionais bacterianas, observou-se variações nas densidades populacionais de actinomicetos nas sete coletas realizadas durante o intervalo de um ano (Figuras 5 e 6), com um comportamento semelhante ao das bactérias (Figuras 1 e 2). Apesar desses microrganismos serem considerados resistentes à condições de seca (MEIKLEJOHN, 1957; MAYFIELD et al., 1972) todos os tratamentos apresentaram baixas densidades nas épocas de ausência de baixa umidade (Figura 3), associada à elevadas temperaturas (Figura 4), que correspondeu ao período de agosto a outubro de 1994. As precipitações pluviométricas que elevaram-se no verão e estenderam-se até o outono, propiciaram as maiores densidades para todos os tratamentos, assim como aconteceu com as densidades das populações de bactérias em geral. A sexta e sétima coletas, que correspondem ao final do outono e estendendo-se até o inverno, as densidades populacionais foram menores, concomitantemente com as precipitações, atingindo valores equivalentes aos atingidos nas coletas realizadas entre agosto e dezembro de 1994. Os resultados obtidos evidenciam que, apesar desses microrganismos serem resistentes à seca e sensíveis às baixas tensões de oxigênio, por serem aeróbios em sua maioria (WILLIAMS et al. 1972; ALEXANDER, 1980), eles foram muito afetados pelas condições de seca e que as maiores precipitações pluviométricas do verão 94/95 não chegaram a ser um fator limitante. Esses resultados estão de acordo com CAMPBELL e BIERDECK (1976), que também verificaram que os actinomicetos foram tão afetados pelas condições de seca quanto as bactérias. Deve-se ressaltar que, devido às características físicas do solo e a sua declividade, que favorecem muito a drenagem, o excesso de água possivelmente não tenha sido um fator

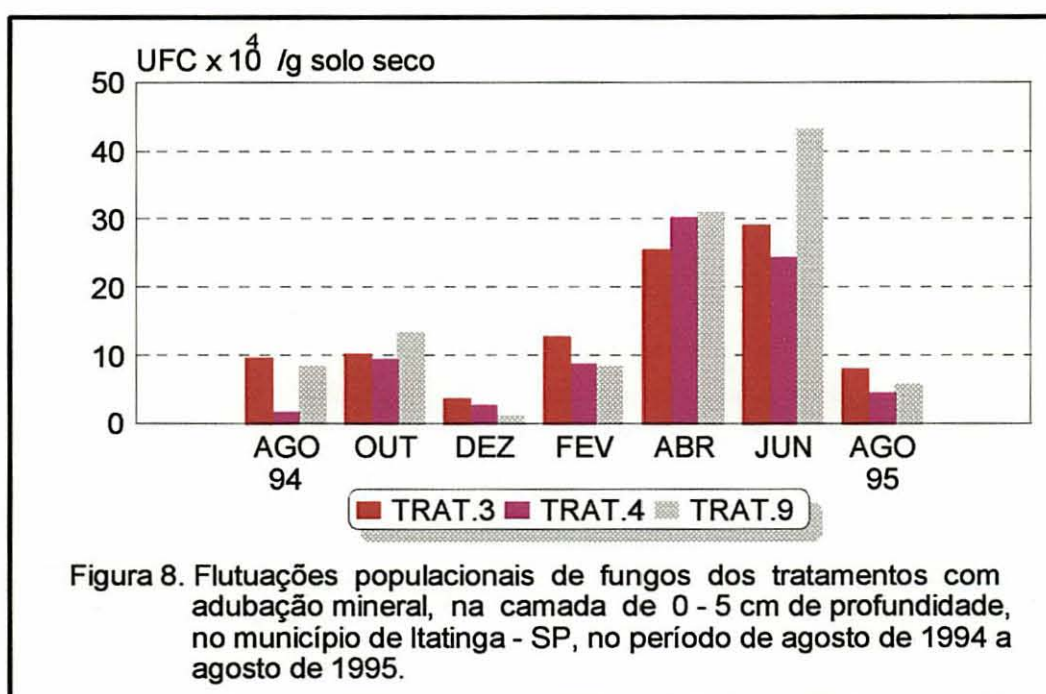
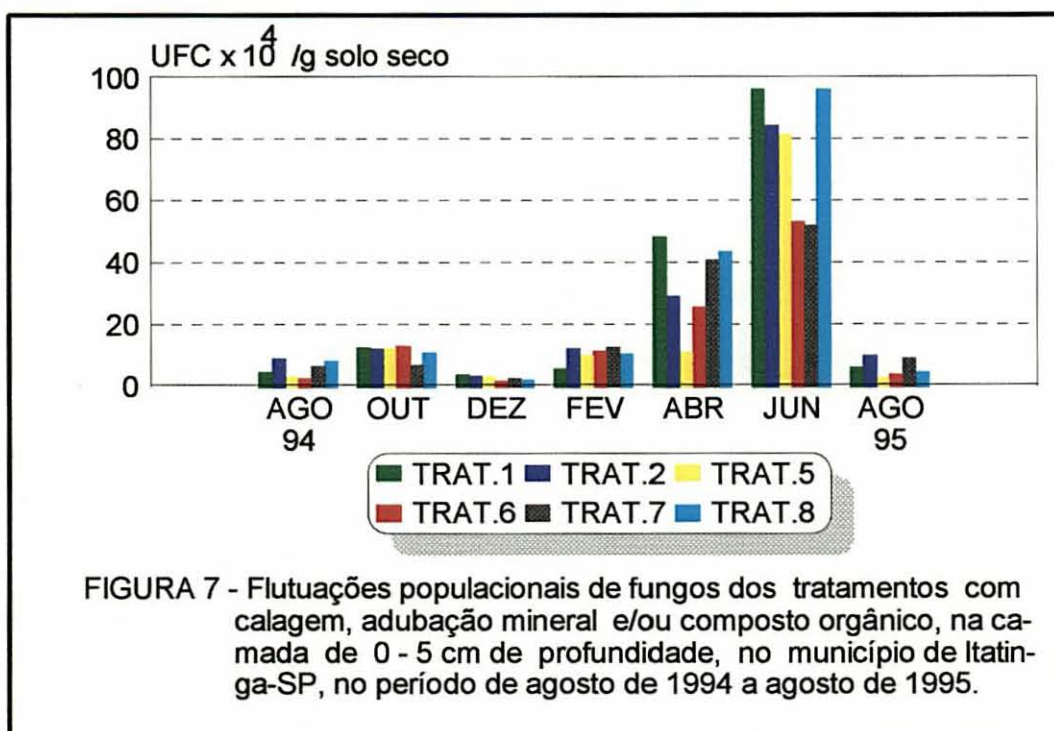


limitante para as populações microbianas, pela redução do suprimento de oxigênio.

4.4.3. Fungos

As densidades populacionais fúngicas apresentaram variações durante o período de condução do experimento (Figuras 7 e 8). O comportamento dessas populações foi semelhante ao das bactérias em geral, que são similares aos resultados obtidos em áreas de cultivo agrícola por NUERNBERG et al., (1984) e SILVA FILHO (1984) e contrariamente aos obtidos por CATELLAN e VIDOR (1990).

De modo geral, verifica-se que nas coletas realizadas no ano de 1994 as densidades populacionais foram reduzidas. Na primeira coleta (agosto/94), com ausência de precipitações as densidades foram baixas, elevando-se um pouco na segunda (outubro/94), com o aumento da precipitação retornando a valores inferiores na terceira (dezembro/94). A partir de fevereiro/95, observa-se uma elevação das densidades, atingindo valores superiores em abril/95 e culminando em junho/95, porém apresentando um grande declínio em agosto/95, com valores similares aos obtidos na primeira coleta. Uma observação distinta dos demais microrganismos é que as densidades máximas não ocorreram nos meses de fevereiro e abril, mas sim nos meses de abril e junho. Essa ocorrência é confirmada por EDITH e MARQUES (1984), quando constataram diferenças sazonais significativas nas populações fúngicas, sendo superiores na estação do inverno e menores no verão, em três ecossistemas na região do cerrado brasileiro. Por outro lado, verifica-se que mesmo nos períodos de precipitações máximas e temperatura mais elevadas, não houve uma elevação expressiva nas densidades populacionais desses microrganismos e que essa ocorreu no período de baixas precipitações. Além disso, deve-se ressaltar problemas de esporulação que podem ter ocorrido com o uso da técnica de contagem por diluição em placas, podem ter superestimado esse valores. Uma vez que, em condições adversas como foi o caso do inverno, com precipitações de 48 mm no mês de junho, os fungos podem



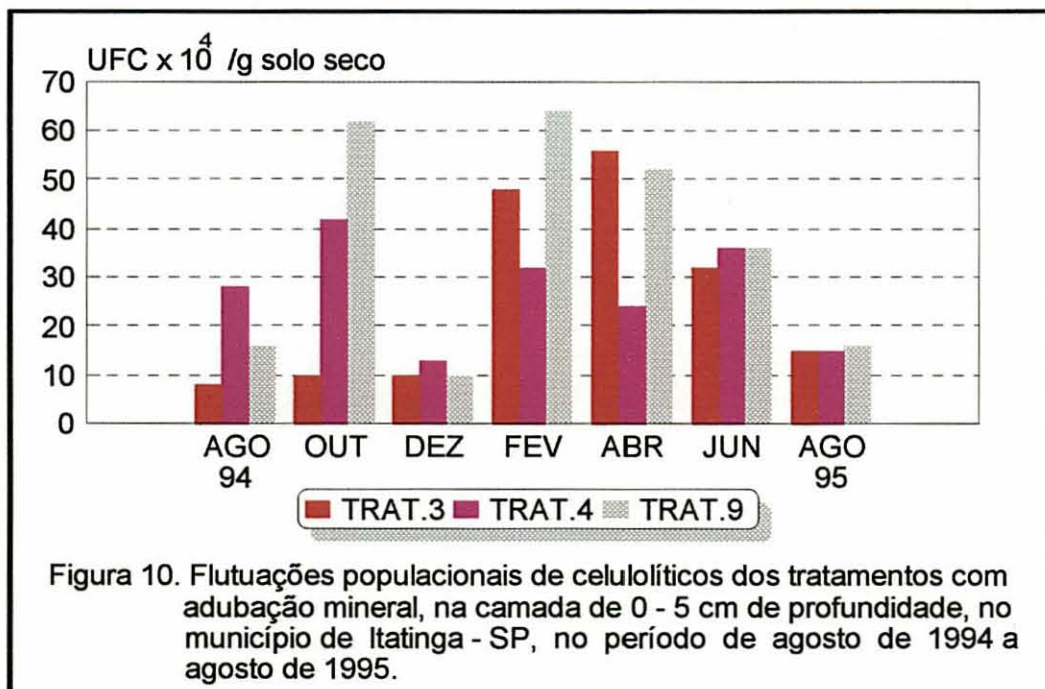
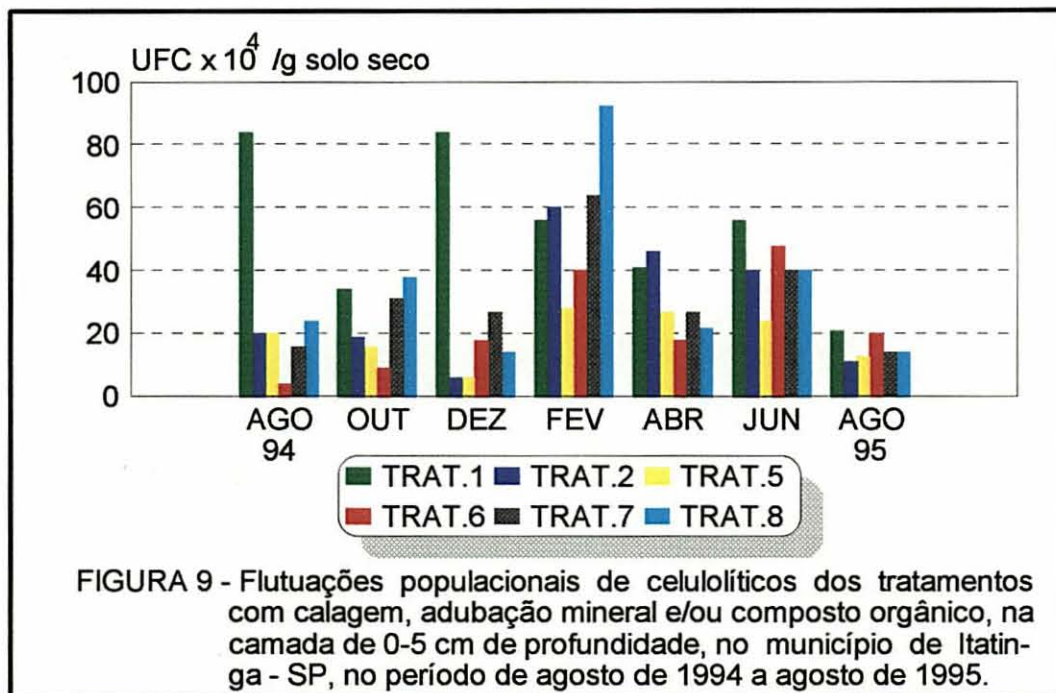
ter entrado na fase reprodutiva, mais rapidamente produzindo um grande número de esporos por unidade de biomassa (GRAY e WILLIAMS, 1975; PELCZAR et al., 1980).

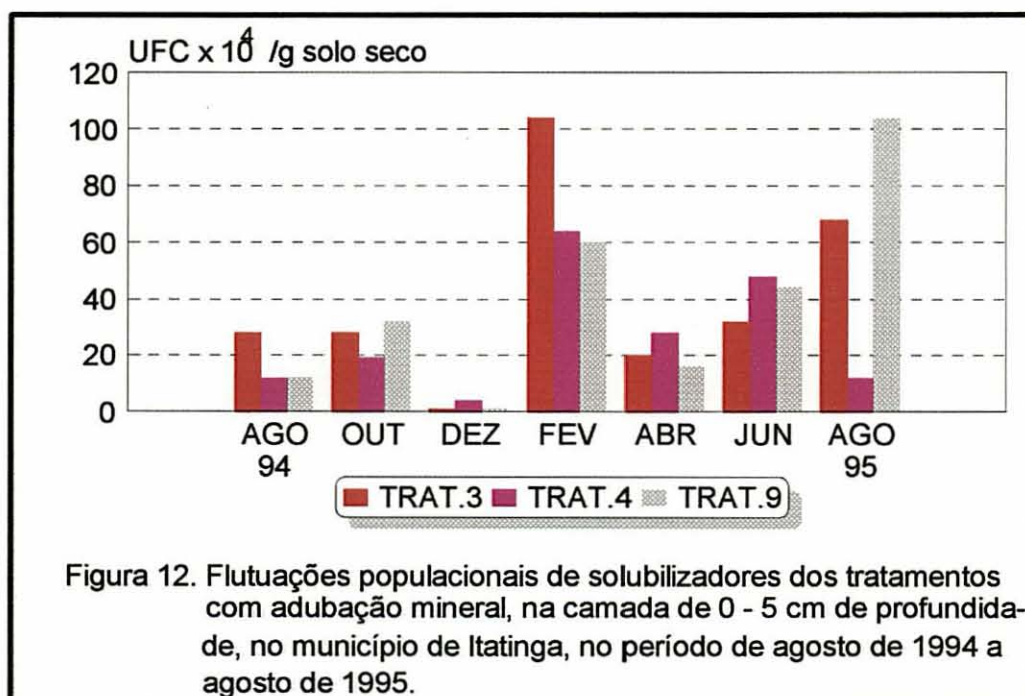
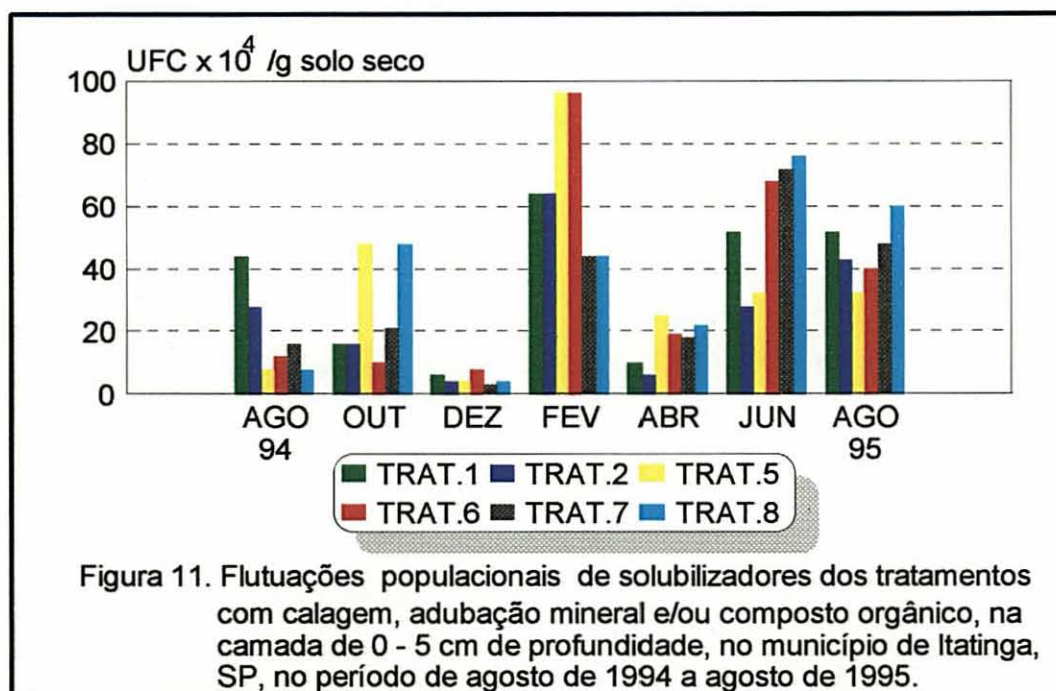
4.4.4. Celulolíticos, solubilizadores de fosfatos e bactérias esporuláveis

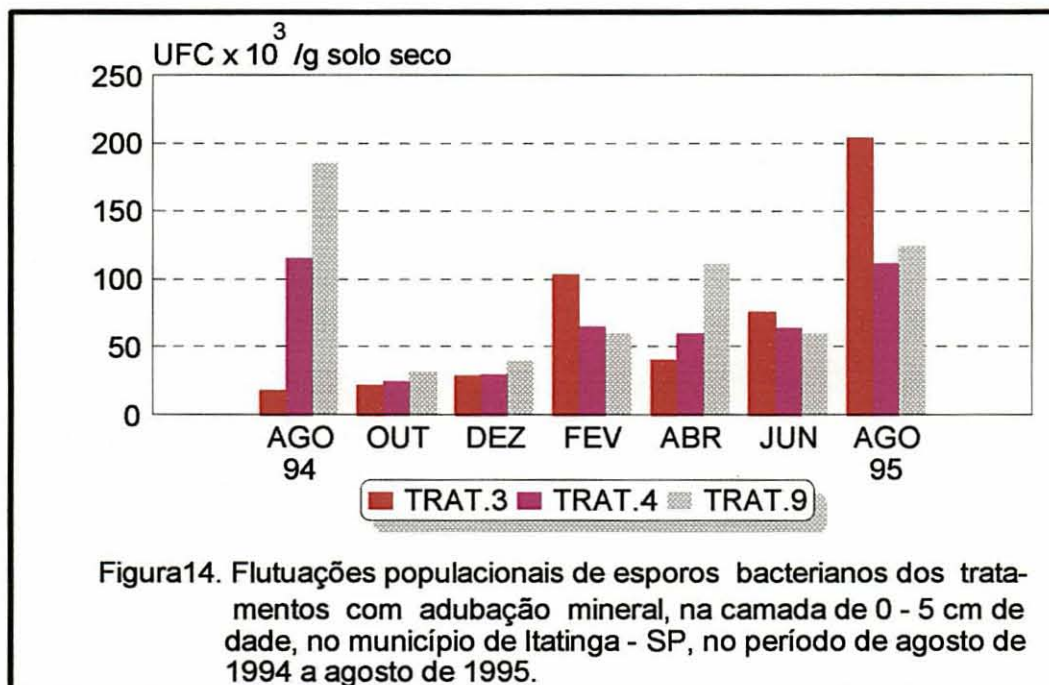
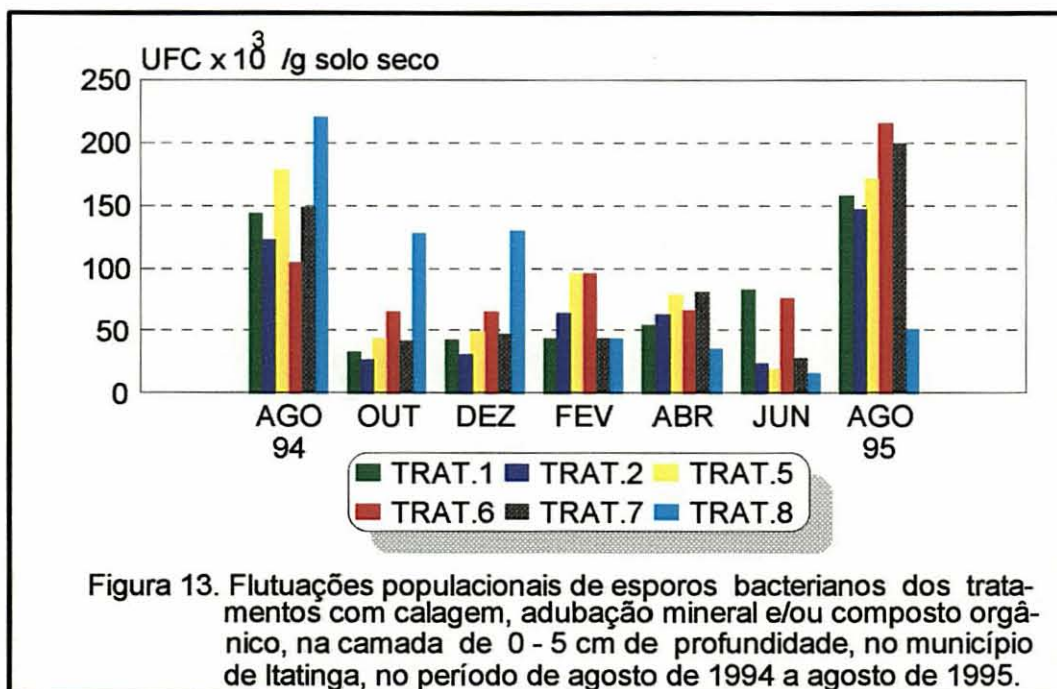
De forma menos evidente que as densidades dos microrganismos individualizados, as densidades dos celulolíticos foi baixa da primeira coleta, até a terceira coleta, porém atingindo de um modo geral valores máximos em todos os tratamentos na quarta coleta (Figuras 9 e 10), ou seja, na estação do verão. Nas coletas posteriores as densidades tenderam a reduzir-se, atingindo valores inferiores nas coletas de abril e junho de 95 e menores em agosto de 1995, porém similares aos obtidos na primeira coleta.

As densidades populacionais dos solubilizadores apresentaram uma flutuação menos evidente do que os microrganismos que a compõem (Figuras 11 e 12). Observa-se que na primeira coleta as densidades foram baixas, elevando-se na segunda e reduzindo-se na terceira. Na quarta coleta (fevereiro/95), atinge valores máximos, de forma semelhante às densidades populacionais de bactérias em geral (Figuras 1 e 2) e de actinomicetos (Figuras 5 e 6), porém reduzindo-se na quinta coleta (abril/95), mas recuperando-se e mantendo-se num nível superior nas coletas posteriores. O que chama atenção é a diferença de valores, obtida entre a primeira e a sétima coleta, ou seja, nos meses de agosto/94 e agosto/95.

As densidades de esporos bacterianos, apresentaram um comportamento diferenciado das densidades populacionais bacterianas (Figuras 13 e 14). Apresentando dois valores máximos distintos, um na coleta inicial (agosto/94) e outro na coleta final (agosto/95), as quais correspondem às épocas de ausência de precipitação (Figura 3), demonstrando que em condições adversas algumas bactérias entram na fase de repouso, permanecendo inativas no solo. Nas demais coletas quando a precipitação eleva-se, verifica-se que os números de esporos são reduzidos em todos os tratamentos, porém, permanecendo sem grandes oscilações.



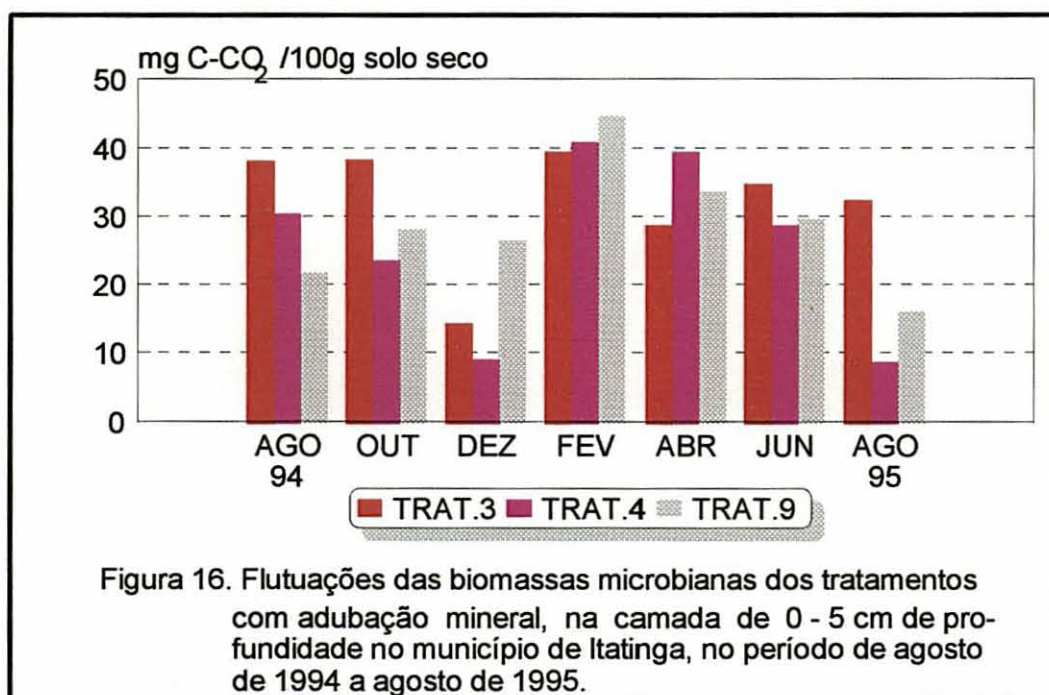
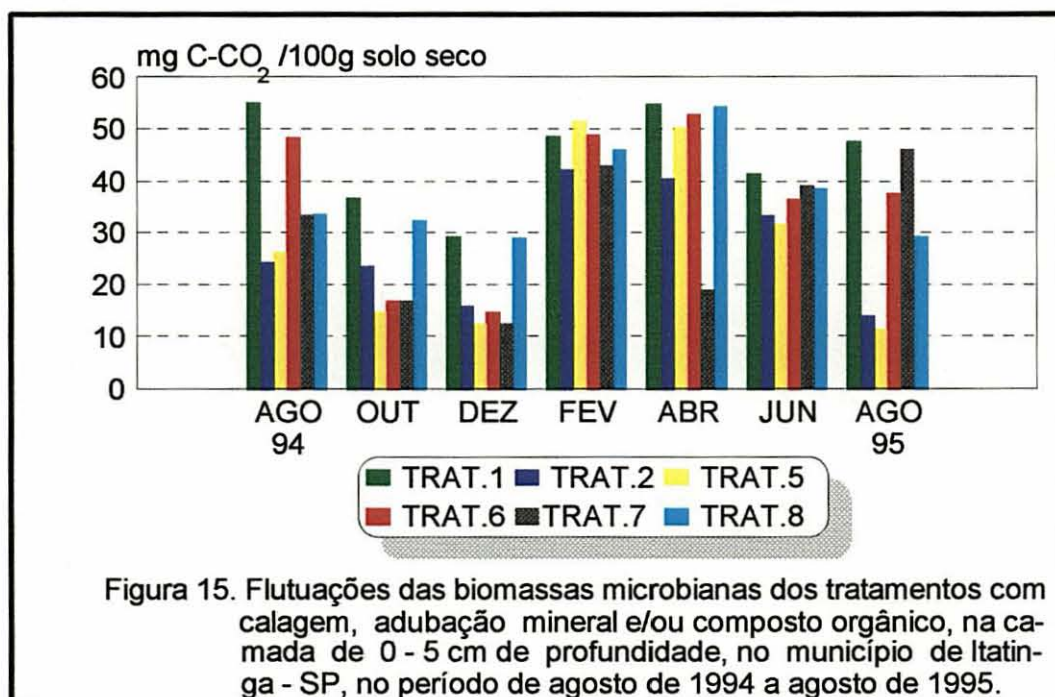




4.4.5. Flutuação estacional da biomassa microbiana

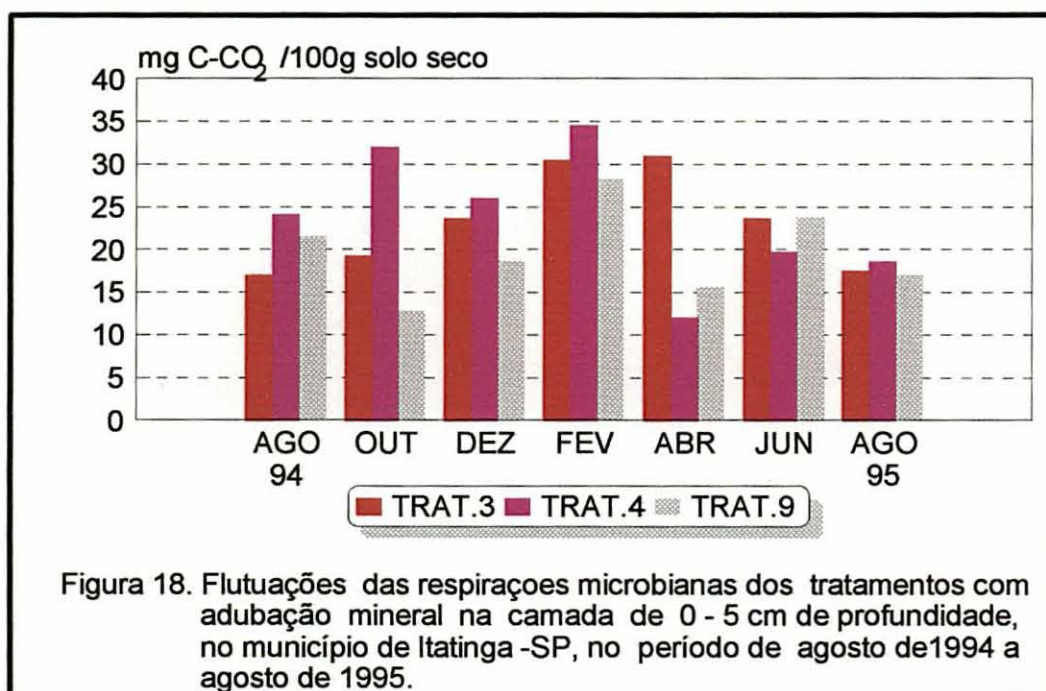
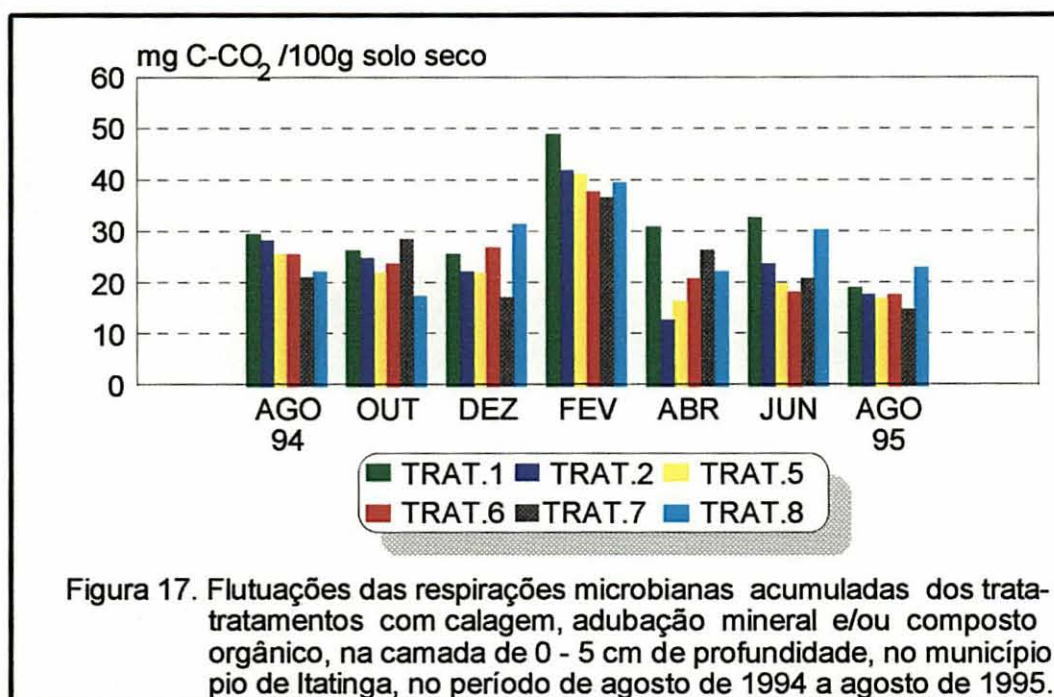
A biomassa microbiana sofreu influência das variações climáticas e ambientais que ocorreram durante o período do estudo, sendo que, no geral, o comportamento foi similar para todos os tratamentos (Figuras 15 e 16). Verifica-se que as oscilações foram menos acentuadas do que as ocorridas nas densidades populacionais microbianas como um todo.

Observa-se que os tratamentos que apresentaram menores valores foram aqueles que receberam apenas adubação mineral (3, 4 e 9), enquanto os maiores foram os tratamentos 1 (adubação orgânica + calagem e adubação mineral) e 8 (calagem + adubação mineral). Uma análise conjuntural mostra que na primeira coleta (agosto/94), os valores foram intermediários para todos os tratamentos, porém nas duas coletas seguintes (outubro de dezembro/94) esses valores tenderam a reduzir-se para todos os tratamentos, provavelmente devido à deficiência hídrica e altas temperaturas (Figuras 3 e 4), que ocorreram neste período. O fato da biomassa em alguns tratamentos (1 e 8) serem menos sensíveis às condições adversas deve estar relacionado com o fato destes tratamentos apresentarem teor de matéria orgânica um pouco superior e assim conseguirem manter maior quantidade de água do que os outros tratamentos. Nas coletas de fevereiro e abril/95 a biomassa foi mais elevada em todos os tratamentos, com exceção no tratamento 3. Este fato pode estar associado a maior disponibilidade hídrica e temperaturas mais elevadas que favoreceram as densidades populacionais microbianas (bactérias e actinomicetos), na coleta de fevereiro/95 e (bactérias, actinomicetos e fungos) em abril/95. A partir de junho/95, início do inverno, observa-se que em todos os tratamentos ocorre um declínio da biomassa microbiana, quando começa a reduzir as precipitações pluviométricas na região. Na última coleta que fecha o ciclo de um ano de observação, verifica-se que a biomassa continua reduzindo-se, porém atingindo valores semelhantes aos da primeira coleta. Essa diminuição, provavelmente está associada às precipitações pluviométricas reduzidas e temperaturas mínimas inferiores, que caracterizaram este período, fato comum nessa região (Figuras 3 e 6).



4.4.6. Flutuação estacional da respiração microbiana

As flutuações na respiração microbiana no período de ago/94 a ago/95 apresentaram uma certa similaridade com as flutuações da biomassa, porém, apresentando pequenas variações entre os tratamentos (Figuras 17 e 18). De um modo geral observa-se que na coleta inicial e estendendo-se até a terceira, de um modo geral os valores foram baixos e permaneceram assim, sem grandes oscilações entre todos os tratamentos. Os resultados obtidos estão bem abaixo dos citados por CATELLAN & VIDOR (1990), quando obtiveram valores em cinco sistemas agrícolas que oscilaram entre 33,9 a 51,6 mg de C-CO₂. Esse comportamento é explicado através da ausência de precipitações ocorridas na primeira coleta e mantendo-se baixa até a segunda (Figura 3). Na quarta avaliação (fevereiro/95), que realizou-se no verão, houve um aumento da liberação de CO₂, com valores máximos para todos os tratamentos, em consequência das temperaturas elevadas (Figura 4) e das precipitações pluviométricas que incidiram no período. Além disso, esses valores podem estar relacionado ao maior efeito rizosférico apresentado pelas culturas (ROVIRA, 1978; SILVA FILHO, 1984). Esse parâmetro diferenciou-se da biomassa na quinta coleta, (abril/95), quando apresentou de um modo geral uma redução para todos os tratamentos, caindo a um nível semelhante aos obtidos nas coletas iniciais e permanecendo nesse patamar até as coletas finais de junho e agosto/95.



5. CONCLUSÕES

Com base nos resultados e nas condições em que a pesquisa foi realizada pode-se concluir que:

1. As densidades bacterianas foram as mais expressivas em todos os tratamentos, seguida das populações de actinomicetos e posteriormente dos fungos.

2. Os tratamentos 1 (composto + calagem + adubação mineral) e 8 (composto + adubação mineral) apresentaram as maiores densidades populacionais, biomassas e atividades microbianas, sendo que a maior densidade populacional de celulolíticos foi promovida pelo tratamento 1.

3. As densidades populacionais de solubilizadores não foram afetada pelas diversas formas de adubação e calagem.

4. A maior porcentagem de esporos bacterianos (39,9 %), ocorreu no tratamento 5 (adubação mineral + 1,1 t/ha de calcário), enquanto as menores, 14,1 e 19,9%, foram proporcionadas pelos tratamento 2 e 1, respectivamente, que receberam (composto + calagem + adubação mineral).

5. A biomassa e a respiração do solo apresentaram grandes flutuações durante o período da pesquisa. As variações climáticas apresentaram maior efeito nessa flutuação. Constatou-se uma tendência de estímulo no período de precipitações e temperaturas elevadas, enquanto que nas épocas de seca e temperaturas amenas, o efeito foi negativo.

6. A biomassa microbiana correlacionou-se significativamente com a respiração do solo, CTC, matéria orgânica, cálcio e umidade gravimétrica, enquanto que a respiração microbiana correlacionou-se com a CTC, fósforo disponível e teor de matéria orgânica.

APÊNDICE 1. Solução salina (sais do meio YMA na concentração de 25%)
(VINCENT, 1970).

Reagentes	Concentração (mg)
K_2HPO_4	125
NaCl	25
$MgSO_4$	50
Água destilada	1.000 ml

APÊNDICE 2. Meio de cultura de THORTON (PARKINSON et al., 1971).

Reagentes	Concentração(g)
K ₂ HPO ₄	1,0
MgSO ₄	0,2
CaCl ₂	0,1
NaCl	0,1
FeCl ₃	traços
KNO ₃	0,5
Asparagina	0,5
Manitol	1,0
Ágar	15,0
Água destilada	1.000 ml

O pH foi ajustado para 7,4, com HCl diluído, antes da diluição do ágar.

APÊNDICE 2. Meio de cultura de MARTIN (MENZIES, 1965).

Reagentes	Concentração (g)
KH_2PO_4	1,0
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,5
Peptona	5,0
Glicose	10,0
Rosa Bengala ^{1/}	0,06
Ágar	15,0
Água destilada	1.000 ml

^{1/} Dissolvida em 10 ml de água destilada antes de ser adicionada ao meio.

Adicionou-se ao meio de cultura, a 45-50^o C (momentos antes de ser vertido nas placas), uma solução de sulfato de estreptomicina (30 mg/litro de meio) a 1% em álcool etílico 96^oGL.

APÊNDICE 3. Meio de cultura caseinato-dextrose-ágar (CLARK, 1965b).

Reagentes	Concentração (g)
Glicose	2,0
Caseína *	0,2
K ₂ HPO ₄	0,5
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,2
FeCl ₃	traços
Ágar	15,0
Água destilada	1.000 ml

* Dissolvida previamente em 10 ml de NaOH 0,1 N.

O pH foi ajustado para 6,5 a 6,6 com HCl diluído, antes da adição do ágar.

APÊNDICE 4. Meio de cultura celulose-ágar (PARKINSON et al., 1971)

Reagentes	Concentração (g)
NaNO ₃	0,5
K ₂ HPO ₄	1,0
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,01
Celulose*	12,0
Ágar	15,0
Água destilada	1.000 ml

* "Sigmacell type 20" da sigma Chemical Company.

APÊNDICE 5. Meio de cultura glicose- "extrato de solo" (SYLVESTER-BRADLEY et al., 1982).

Reagentes	Concentração
Glicose	10,0 g
Extrato de levedura	0,5 g
Solução de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ a 10%	2 ml
Solução de $CaCl_2$ a 1%	2 ml
Solução de $NaCl$ a 10%	1 ml
Solução de micronutrientes ^{1/}	2 ml
Fe-EDTA ^{2/}	10 ml
KNO_3	0,1 g
Ágar	15,0 g
Água destilada (para volume final)	1.000 ml

^{1/}

Solução contendo: 0,2 g de $Na_2 MoO_4 \cdot 2H_2O$; 0,235 g de $MnSO_4 \cdot 2H_2O$; 0,28 g de H_3BO_3 ; 0,008 g de $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ e 0,024 g de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ em 200 ml de água destilada.

^{2/}

Solução obtida pela dissolução de 3,72 g de Na-EDTA e 3,78 g de $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ em 900 ml de água destilada aquecida a 80 C até a dissolução completa seguida de ajustamento do volume para 1.000 ml.

Antes do meio ser vertido nas placas foram adicionados 50 ml da solução K_2HPO_4 a 10% e 100 ml da solução $CaCl_2$ a 10%, esterilizadas separadamente.

Após a dissolução dos reagentes e antes da adição do ágar, o pH do meio foi corrigido para 7,0 pela adição de $NaOH$ 0,1N.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGARWALL, A.SINGH, B.R. KANEHIRO, Y. Soil nitrogen and carbon mineralization as affected by drying-rewetting cycles. **Soil Science Society of America Proceedings**, Madison, 35:96-100. 1971.
- ALEXANDER, M. **Introducción a la microbiología del suelo**. México, D.F., Libros Y Editoriales. 491 p, 1980.
- ALPHEI, J. ; BONKOWSKI, M.; SCHEU, S. Optimization and utilization of selective inhibition in three carbon-rich beech wood soils. **Mitteilungen der Deutschen Bodenkundlichen Gesellschaft**, 71:309-12, 1993.
- ANAN'YEVA, N.D. & NIKITIN, D.I. Sizes of bacterial cells in some soils. **Soviet Soil Science**, Silver Sprig, 11:157-60, 1979.
- ANDERSON, J. P.& DOMSCH, K.H. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. **Soil Biol. Biochem.**, Oxford, 10:215-21. 1978.
- ANDERSON, J.P.E. & DOMSCH, K.H. Quantities of plant nutrients in the microbial biomass of selected soils. **Soil Science**, Baltimore, 130:211-16. 1980.
- ANDERSON, T.H. & DOMSCH, K.H. The metabolic quotient for CO₂ (qCO₂) as a activity parameter to asses the effects of enviromental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. **Soil Biol.Biochem.**, Oxford, 3:393-95.1993.
- ANDRADE, D.S. ; MIYAZAWA, M. & HAMAKAWA, P. J. In: HUNGRIA, M.; ARAÚJO, R. S. ed. **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994.p. 227-236. (EMBRAPA-CNPAF. Documentos, 46).
- ARAÚJO, R.S. & HUNGRIA, M. Microrganismos de importância agrícola. EMBRAPA-CNPAF, Brasília, 236 p, 1994.
- ATLAS, R.M. & BARTHA, R. **Microbial Ecology: fundamentals and applications**. Philippines, Addison-Wesley, 560 p, 1981.
- BAATH, E. & ARNEBRANT, K. Growth rate and response of bacterial communities to pH in limed and ash treated forest soils. **Soil Biol.Biochem.**, Oxford, 8:995-1001, 1994.

- BASU, S. & BEHERA, N. The effect of tropical forest conversion on soil microbial biomass. **Biology and Fertility of Soils**. Berlim, 16:302-4, 1993.
- BAUHUS, J. & BARTHEL, R. Nutrient uptake and cycling in forest ecosystems. Proceedings of the CEC/IUFRO Symposium, Halmstad, Sweden, 7-10 June, 1993. HUTTL, R.F.; NILSSON, L.O. JOHANSSON, U.T. eds. **Plant and Soil**, 168/169:585-92, 1995.
- BILLORE, S.K.; OHSAWA, M.; NUMATA, M.; OKANO, S. Microbial biomass nitrogen pool in soils from warm temperate grassland, and from deciduous and evergreen forests in Chiba, central Japan. **Biology and Fertility of Soils**, Berlim, 19:124-28, 1995.
- BLOCK, S.S. Desinfección, esterilización, and preservation. Philadelphia, Lea & Febiger, 1162 p, 1991.
- BLUE, W.G.; ENO, C.F.; WESTGATE, P.J. Influence of soil profile characteristics and nutrient concentrations on fungi and bacteria in leon fine sand. **Soil Science**, Baltimore, 80:303-8, 1955.
- BRANDÃO, E. M. Os componentes da comunidade microbiana do solo. In: **Microbiologia do Solo**. CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M. & NEVES, M.C.P. eds. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, 1-15, 1992.
- BROOKES, P.C.; TATE, K.R. ; JENKINSON, D.S. The adenylate energy charge of the soil microbial biomass. **Soil Biol.Biochem.**, Oxford, 15:9-16, 1985.
- CAMPBELL, C.A. & BIEDERBECK, V.O. Soil microbial activity as influenced by temperature trends and fluctuations. **Canadian Journal of Soil Science**, Ottawa, 53:369-76, 1976.
- CAMPBELL, C.A. & BIEDERBECK, V.O. Changes in mineral N and numbers of bacteria and actinomycetes during two years under wheatfallow in southwestern Saskatchewan. **Canadian Journal of Soil Science**, Ottawa, 62:125-137.1982.
- CARDOSO J.B.N. & FREITAS, S.S. A rizosfera. In: **Microbiologia do Solo**. CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M. & NEVES, M.C.P. eds. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, 14-57, 1992.
- CATTELAN, A. J. & VIDOR, C. Sistemas de culturas e a população microbiana do solo. **Rev. bras. Ci. Solo**. Campinas, 14:125-32, 1990a.
- CATTELAN, A. J. & VIDOR, C. Flutuações na biomassa, atividade e população microbiana do solo, em função de variações ambientais. **Rev. bras. Ci. Solo**. Campinas, 14:133-42, 1990b.

- CERRI, C.C.; VOLKOFF, B. EDUARDO, B.P. Efeito do desmatamento sobre a biomassa em latossolo amarelo da Amazônia. **R. bras. Ci. Solo**, Campinas, 9:1-4, 1985.
- CERRI, C.C.; ANDREAUX, F & EDUARDO, B.P. O ciclo do carbono no solo. In: **Microbiologia do Solo**. CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M. & NEVES, M.C.P. eds. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Campinas. 59-71, 1992.
- CHANDER, K.; GOYAL, S. ; KAPOOR, K.K. Microbial biomass dynamics during the decomposition of leaf litter of poplar and *Eucalyptus* in a sandy loam. **Biol. Fert. Soils**, Berlin , 19:357-62, 1995.
- CLARK, F.E. Aerobic spore-forming bacteria. In: BLACK, C.A. ed. *Methods of soil analysis*. Madison, American Society of Agronomy. v.2. cap. 101, p. 1473-6, 1965a.
- CLARK, F.E. Actinomyces. In: BLACK, C.A. ed. *Methods of soil analysis*. Madison, American Society of Agronomy. v.2. cap. 106, p. 1498-501, 1965b.
- DAS, P.K.; NATH, S.; BANERJEE, S.K. Distribution of microorganisms in soils under different forest cover at different altitudes. **Indian Agriculturist**. Calcutta, 35:217-23.1991.
- DELLA BRUNA, E.; BORGES, A.C. FERNANDES, B.; BARROS, N.F. MUUCHOVEJ, R.M.C. Atividade da microbiota de solos adicionados de serapilheira de eucalipto e de nutrientes. **R. bras. Ci. Solo**, Campinas, 15:15-20,1991.
- DE-POLLI, H.; GUERRA, J.G.M. Biomassa microbiana: perspectivas para o uso e manejo do solo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO (25.:1995 : Viçosa). Palestra apresentada... Viçosa, 1995. p. 1-18. (Não publicado).
- EDITH, M.A. & MARQUES, A.F.S.M. Avaliação das alterações microbiológicas em latossolo vermelho-amarelo álico sob monocultura de *Eucalyptus sp* em comparação com Angico (*Piptadenia sp*). **Pesq. agrop. bras.**, Brasília, 19 s/n:331-7, 1984.
- EIRA, A.F. Solubilização Microbiana de Fosfatos. In: **Microbiologia do Solo**. CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M. & NEVES, M.C.P. eds. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, 243-56, 1992.
- EMBRAPA SNLCS. *Manual de métodos de análise de solos*. Rio de Janeiro, 1979.
- FAPARUSI, S.I. The bacteria and yeasts in the soils of oil palm (*Elaeis guiniensis*) plantations. **Soil Science**, Baltimore, 125:23-7, 1978.

- FARIA, A.A. & DE-POLLI, H. Efeito da calagem sobre a biomassa-C microbiana e o desenvolvimento do milho em diferentes solos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 21., Campinas: Anais. Campinas, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1987. (Resumo nº 16).
- FLANAGAN, P.W. & Van CLEVE, K. Nutrient cycling in relation to decomposition and organic-matter quality in taiga ecosystems. **Canadian Journal of Forest Research**, 13(5) : 795-817, 1983.
- FOSTER, A. B. & WEBER, J. M. **Chitin. Adv. Carbohydr. Chemistry**, 15:371-93, 1960.
- GIULIMONDI, G. & LIANI, A. Evoluzione della materia organica di eucalitto nel suolo (I - Ricerche chimico-fisiche). **Publicazione Del Centro Di Sperimentazione Agricola Forestali**, Roma, 5: 125-39, 1961.
- GRACE, P.R.; MacRAE, I.C.; MYERS, R.J.K. Factors influencing the availability of mineral nitrogen in clay soils of the brigalow (*Acacia harpophylla*) region of Central Queensland. **Australian Journal of Agricultural Research**. Melbourne, 43:1197-215.1992.
- GRAY, T.R.G. & WILLIAMS, S.T. **Soil Micro-organisms**. 2^a ed. London, Longman. 240 p.1975.
- GRISI, B M. A comparison of methods for estimating soil microbial biomass. Tese de Doutorado. Colchester, Universidade de Essex, 1983. 147p.
- GRISI, B.M. Metodologia da determinação de biomassa microbiana de solo. **R. bras. de Ci. Solo**, Campinas, 8:167-72. 1984.
- GRISI, B. M. Biomassa e necessidades energéticas das populações microbianas de solo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO. MONIZ, A.C.; FURLANI, A.M.; FURLANI, P.R. & FREITAS, S.S. *A responsabilidade social da ciência do solo*. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, 1988. 353-64.
- GRISI, B.M. & GRAY, T.R.G. Biomassa microbiana estimada do biovolume com o uso de microscopia de fluorescência. **R. bras. Ci. Solo**, Campinas, 9:131-8, 1985.
- GRISI, B.M. & GRAY, T.R.G. Comparação de métodos de fumigação, taxa de respiração em resposta à adição de glicose, e conteúdo de ATP para estimar a biomassa microbiana dos solos. **R. bras. Ci. Solo**, Campinas, 10:109-15, 1986.

- GRUNDA, B. Actinomycetes biomass in forest soils. In: Proceedings of the Tenth International Symposium on Soil Biology, Keszthely, 27-31, august, 1990. 39:473-75..
- HARRISON, M.J.; PACHA, R. E. & MORITA, R. Solubilization of inorganic phosphates by bacteria isolated from upper klamath lake sediment. *Limnol. Oceanogr.* 17(1):50-7, 1972.
- HILEL, D. **Applications of soil Physics.** New York, Academic Press. 364 p. 1982.
- HOLM-HANSEN, O. The use of ATP determinations in the ecological sites. In: ROSSWALL, T. ed. Modern methods in the study of microbial ecology. *Bulletins from the Ecological Research Committee*, Stockholm, 17:179-188, 1973.
- HOSSAIN, A.K.M.A.; RAISON, R.J; KHANNA, P.K. Effects of fertilizer application and fire on soil microbial biomass carbon and nitrogen, and nitrogen mineralization in an Australian subalpine eucalypt forest. **Biology and Fertility of Soils.** Berlin, 19:246-52, 1995.
- INSAN, H. & PALOJARVI, A. Effects of forest fertilization on nitrogen leaching and soil microbial properties in the Northern Calcareous Alps of Austria. In: **Nutrient uptake and cycling in forest ecosystems.** Proceedings of the CEC/IUFRO Symposium, Halmstad, Sweden, 7-10 june, 1993. HUTTL, R.F.; NILSSON, L.O.; JOHANSSON, U.T. *Plant and Soil.* 168/169:75-81, 1995.
- IVARSON, K.C. Changes in decomposition rate, microbial population and carbohydrate content of an acid peat bog after liming and reclamation. *Canadian Journal of Soil Science*, Ottawa, 57 : 129-37, 1977.
- JAKAB, B. N. The adenylate energy charge of the soil microbial biomass. *Soil Biol Biochem.*, Oxford, 15:9-16, 1989.
- JEFFE. A.Z. The microflora of a cotinuously cropped soil in Israel with special reference to effects of manuring and fertilizing. *Mycologia*, New York, 55: 271-82, 1963.
- JENSEN, V. Decomposition of angiosperm tree litter. In: DICKINSON, C.H. & PUGH, G.J.F. eds. **Biology of Plant Litter Decomposition.** London, Academic Press, v.1. 241p, 1974p.
- JENKINSON, D.S. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil - IV. The decomposition of fumigated organisms in soil. *Soil Biol. Biochem.*, Oxford, 8:203-8, 1976.

- JENKINSON, D. S. & LADD, J. N. Microbial biomass in soil: Measurement and turnover. In: PAUL, E.A. & LADD, J.N. eds. **Soil Biochemistry**. New York, Marcel Dekker, 1988. v.5. p.415-71.
- JENKINSON, J. S. & OADES, J. M. A method for measuring adenosine triphosphate and microbial biomass in soil. **Soil Biol. Biochem.**, Oxford, 11:193-99. 1979.
- JENKINSON, D.S. & POWLSON, D.S. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. I. Fumigation with chloroform. **Soil Biol. Biochem.**, Oxford, 8:167-77, 1976b.
- JENKINSON, D.S.; DAVIDSON, S.A.; POWLSON, D.S. Adenosine triphosphate and microbial biomass in soil. **Soil Biol. Biochem.**, Oxford, 11:521-27, 1979.
- JENKINSON, D. S.; POWLSON, D. S. ; WEDDERBRUM, R.W.M. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. III. The relationship between soil biovolume, measured by optical microscopy, and the flush of decomposition caused by fumigation. **Soil Biol. Biochem.**, Oxford, 8:189-202, 1976b.
- JIA, C.Y.& INSAM, H. Microbial biomass and relative contributions of bacteria and fungi in soil beneath tropical rain forest, Hainan Island, China. **Journal of Tropical Ecology**. 7:385-93, 1991.
- JOERGENSEN, R.G.; ANDERSON, T.H.; WOLTERS, V. Carbon and nitrogen relationships in the microbial biomass of soils in beech (*Fagus sylvatica* L.). **Biology and Fertility of Soils**. Berlin, 19:141-7, 1995.
- JONES, J.M. e RICHARDS, B.B. Changes in the microbiology of eucalypt forest soils following reforestation with exotic pines. **Australian Forest Research**. Melbourne, 7:229-40, 1977.
- KAISER, E.A.; MUELLER, T.; JOERGENSEN, R.G.; INSAM, H.; HEINEMEYER, O. Evaluation of methods to estimate the soil microbial biomass and the relationship with soil texture and organic matter. **Soil Biol. Biochem.**, Oxford, 24:675-83, 1992.
- KAURI, T. Seasonal fluctuations in numbers of aerobic bacteria and their spores in four horizons of beech forest soil. **Soil Biol. Biochem.**, Oxford, 14:185-90, 1982.
- KHAN, M.R. & WILLIAMS, S.T. Studies on the ecology of actinomycetes in soil - VIII. Distribution and characteristics of acidophilic actinomycetes. **Soil Biol. Biochem.**, Oxford, 7 : 345-8, 1975.

- KIEFT, T. L. ; SOROKER, E. ; FIRESTONE, F. K. Microbial biomass response to a rapid increase in water potential when dry soil is wetted. **Soil Biol. Biochem.**, Oxford, 19:119-26, 1987.
- KOLB, W. & MARTIN, P. Influence of nitrogen on the number of N₂-fixing and total bacterial in the rhizosphere. **Soil Biol. Biochem.**, Oxford, 20 : 221-5, 1988.
- KUCEY, R.M.N. Phosphate-solubilizing bacteria and fungi in various cultivated and virgin Alberta soils. **Canadian Journal of Soil Science**, Ottawa, 63 : 671-8. 1983.
- LAMBAIS, M. R. Poluição orgânica e o seu controle. In: **Microbiologia do Solo**. CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M. & NEVES, M.C.P. eds. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, 91-104, 1992.
- LYNCH, J.M. & PANTING, L. M. Cultivation and the soil biomass. **Soil Biol. Biochem.**, Oxford, 12:29-33, 1980.
- LYNCH, J. M. **Biotecnologia do solo**. São Paulo, Manole. 1986, 209p.
- MARUMOTO ; ANDERSON, J. P. E. ; DOMSCH, K. H. Mineralization of nutrients from soil microbial cells in soil. **Soil Biol. Biochem.**, Oxford, 14: 469-75, 1982.
- MARTENS, R. Current methods for measuring microbial biomass C in soil: Potentials and limitations. **Biol. Fertil. Soils**, Berlin, 19:87-9. 1995.
- MARTYNIUK, S. & WAGNER, G.H. Quantitative and qualitative examination of soil microflora associated with different management systems. **Soil Science**, Baltimore, 125:255-8, 1978.
- MAYFIELD, C. I. ; WILLIAMS, S.T. ; RUDDICK, S. M. ; HATFIELD, H. L. Studies on the ecology of actinomycetes in soil - IV. Observations on the form and growth of streptomycetes in soil. **Soil Biol. Biochem.**, Oxford, 4 : 79-91, 1972.
- MEIKLEJOHN, J. The nitrifying bacteria: a review. **Journal of Soil Science**, London, 4:59-68, 1957.
- MENZIES, J.D. Fungi. In: BLACK, C.A. ed. Methods of soil analysis. Madison, American Society of Agronomy. v.2. cap. 107.p.1502-1505, 1965.
- MICHOUSTINE, E.N. Processus microbiologiques mobilisant les composés du phosphore le sol. **Rev. Ecol. Biol. Sol.** Paris, 9:521-28, 1972.
- MILLAR, W.N. & CASSIDA, L.E. Evidence for muramic acid in soil. **Can. J. Microbiol.**, Ottawa, 16:299-304, 1970.

- MOLLA, M.A.Z.; CHOWDHURY, A.A. ; ISLAM, A. ; HOQUE, S. Microbial mineralization of organic phosphate in soil. **Plant and Soil**, The Hague, 78:393-99, 1984.
- MURRAY, D.I.L. Rhizosphere microorganisms from the jarrah forest of western Australia and their effects on vegetative growth and sporulation in *Phytophthora cinnamomi* Rands. **Australian Journal of Botany**. Melbourne, 5:567-80, 1987.
- NANNIPIERI, P. ; MUCCINI, L. CIARDI, C. Microbial biomass and enzyme activities: production and persistence. **Soil Biol. Biochem.**, Oxford, 15 : 679-85, 1984.
- NIOH, I. Seasonal variation of micro-organisms in forest soils in relation to vegetation and soil type. **Journal of Soil and Manure**. 46:369-75. 1975.
- NUERNENBERG, N. J.; VIDOR, C. STAMMEL, J.G. Efeito de sucessões de culturas e tipos de adubação na densidade populacional e atividade microbiana do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, 1984, 8:197-203.
- NYHAM, J.W. Influence of soil temperature and water tension on the decomposition rate of carbon-14 labeled herbage. **Soil Science**, Baltimore, 121:228-93, 1976.
- OADES, J.M. & JENKINSON, D.S. Adenosine triphosphate content of the soil microbial biomass. **Soil Biol. Biochem.**, Oxford, 11:201-04, 1979.
- PANIKOV, N.S.; AFREMOVA, V.D.; ASEYEVA, I.V. Kinetics of cellulose decomposition in the soil. **Soviet Soil Science**, Silver Spring, 16:19-27, 1984.
- PARKINSON, D.; GRAY, T.R.G.; WILLIAMS, S.T. 1971. **Methods for studying the ecology of soil microorganisms**. Oxford, Blackwell Scientific Publications. 1971, 116p.
- PEDRO, F.V. & CALLE, J.M.L. Cambios sinecologicos de la microflora telurica asociados a las replobaciones forestales con especies exoticas. **Anais de Edafologia y Agrobiologia**. 38:871-79, 1979.
- PELCZAR, M.; REID, R.; CHAN E.C.S. **Microbiologia**. São Paulo, McGraw-Hill. v.1, 566p. 1980.
- PETRI, S. **Geologia do Brasil**. Universidade de São Paulo, São Paulo, 1983, 558p.
- PFENNING, L.; EDUARDO, B. de P.; CERRI, C.C. Os métodos da fumigação-incubação e fumigação-extração na estimativa da biomassa microbiana de solos da Amazônia. **R. bras. Ci. Solo**, Campinas, 16:31-7, 1992.

- POWLSON, D.S. BROOKES, P.C. ; CHRISTENSEN, B.T. Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total soil organic matter due to straw incorporation. **Soil Biol.Biochem.**, Oxford, 19:159-64, 1987.
- PRIHA, O & SMOLANDER, A. Fumigation-extraction and substrate-induced respiration derived microbial biomass C, and respiration rate in limed soil of Scots pine sapling stands. **Biology and Fertility of Soils**. Berlim, 17:301-08, 1994.
- RAUBUCH, M. & BEESE, F. Distribution of microbial biomass and activity in forest soils along a transect in a European spruce and pine location. **Mitteilungen der Deutschen Bodenkundlichen Gesellschaft**. 71:373-76, 1993.
- RICE, E.L. Allelopathy and uptake. **The Botanical Review**, 45: 105-9, 1979.
- RODRIGUES, E.F. da G.; J.G.M.; ALMEIDA, D.L. de ;DE-POLLI, H. Biomassa microbiana de carbono de solos de Itaguaí (RJ): Comparação entre os métodos fumigação-incubação e fumigação-extração. **R. bras. Ci. Solo.**, Campinas, 18:427-32, 1994.
- ROSS, D.J. & TATE, K.R. Microbial C and N, and respiratory activity, in litter and soil of a southern beech (*Nothofagus*) forest: distribution and properties. **Soil Biol. Biochem.**, Oxford, 25:477-83, 1993.
- ROSS, D. J.; TATE, K. R. CAIRNS, A. PANSIER, E. A. Microbial biomass estimations in soils from Tussock grass lands by three biochemical procedures. **Soil Biol. Biochem.**, Oxford, 12:375-83, 1980.
- ROVIRA, A.D. Microbiology of pasture soil and some effects of microorganisms on pasture plants. In: WILSON, J. R. , ed. **Plant Relations in Pastures**. Melbourne, CSIRO, 1975, p. 95-110.
- ROVIRA, A.D. & DAVEY, C.B. Biology of the rhizosphere. In : CARSON, E.W. , ed. **The Plant Root and its Environment**. University Press of Virginia. Cap. 7, p.153-94, 1974.
- SALONIUS, P.O. Microbiological response to fertilizer treatments in organic forest soils. **Soil Science**, Baltimore, 114:12-9, 1972.
- SAMPAIO, E.V.S.B.; SALCEDO, I.H. MAIA, I.C. Limitações no cálculo da biomassa microbiana determinada pelo método da fumigação em solos com adição recente de substrato orgânico (^{14}C). **R. bras. Ci. Solo**, Campinas, 10:31-35, 1986.
- SANTRUCKOVA, H. Zdroje chyb pri stanoveni mikrobini biomasy fumigacni metodou. **Rost. Vyr.** Prague, 38:893-8, 1992.

- SHOMAEKER, H.E.; MCLEAN, E.O & PRATT, P. F. Buffer methods for determining lime requirements of soils within appreciable amounts of extractable aluminium. *Soil Sci. Am. Proc.*, Madison, v. 25. 4: 274-77, 1971.
- SIALA, A.; HILL, I.R. ; GRAY, T.R.G. Populations of spore-forming bacteria in an acid forest soil, with special reference to *Bacillus subtilis*. **Journal of General Microbiology**. 81:183-90, 1974.
- SILVA FILHO. G.N. *Flutuação populacional de microrganismos em solos submetidos a diferentes sistemas de manejo*. Porto Alegre, Faculdade de Agronomia, UFRGS, 153p. (Diss. Mestr.). Agronomia, 1984.
- SIQUEIRA, J.O. Microrganismos do solo e seus processos: irrelevantes para a produtividade agrícola? In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO. MONIZ, A.C.; FURLANI, A.M.; FURLANI, P.R. & FREITAS, S.S. A responsabilidade social da ciência do solo. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, 1988, 337-52.
- SIQUEIRA, J.S. & FRANCO, A.A. **Biotecnologia do solo: Fundamentos e perspectivas**. Brasília, MEC, ABEAS, ESAL, FAEPE. 1988, 235p.
- SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. de S.; GRISI, B.; HUNGRIA, M. ARAÚJO, R. Microrganismos e processos biológicos do solo : perspectiva ambiental. EMBRAPA, Brasília, 142p, 1994.
- SMOLANDER, A. & MALKONEN, E. Microbial biomass C and N in limed soil of Norway spruce stands. **Soil Biol. Biochem.**, Oxford, 26:503-9, 1994,
- SMOLANDER, A.; KURKA, A.; KITUNEN, V.; MALKONEN, E. Microbial biomass and respiratory activity in soil of repeatedly limed and N and P fertilized Norway spruce stands. **Soil Biol. Biochem.**, Oxford, 26:957-62, 1994.
- SORENSEN, L.H. The influence of clay on the rate decay of amino acid metabolite synthesized in soils during decomposition of cellulose. **Soil Biol. Biochem.**, Oxford, 7:171-7, 1975.
- SPARLING, G.P. & EILAND, F. A comparison of methods for measuring ATP and microbial biomass in soils. **Soil Biol. Biochem**, Oxford, 15:227-9, 1983.
- SPARLING, G.P. & WEST, A. W. A direct extraction method to estimate soil microbial C: calibration in situ using microbial respiration and ¹⁴C-labelled. **Soil Biol. Biochem.**, Oxford, 20:337-43, 1988b.
- SRIVASTAVA, S.C. & SINGHI, J.S. Microbial C, N and P in dry tropical forest soils: effects of alternative land uses and nutrient flux. **Soil Biol. Biochem.**, Oxford, 23:117-27, 1991.

- STANFORD, G.; FRERE, M.H.; SCWANINGER, D.H. Temperature coefficient of soil nitrogen mineralization. **Soil Science**, Baltimore, 76:107-13, 1973.
- STEUBING, L. Soil flora: studies of the number and activity of microorganisms in woodland soils. In: REICHLE, D.E. ed. *Analysis of temperate forest ecosystems*. Berlin, Springer-Verlag, p. 131-46, 1973.
- STOTZKY, G. Microbial Respiration. In: BLACK, C. A., ed. **Methods of soil analysis**. Madison, American Society of Agronomy. v.2, cap. 113, p.1550-72, 1965.
- SYLVESTER-BRADLEY, R.; ASAKAWA, N.; TORRACA, S. La; MAGALHÃES, F.M.M.; OLIVEIRA, L.A. PEREIRA, R.M. Levantamento quantitativo de microrganismos solubilizadores de fosfatos na rizosfera de gramíneas e leguminosas forrageiras da Amazônia. **Acta Amazônica**, Manaus, 12:15-22, 1982.
- SWIFT, M. J. Estimation of mycelial biomass by determination of the hexosamine content of wood lime decayed by fungi. **Soil Biol. Biochem.**, Oxford, 5:321-332, 1973.
- TARDIEUX-ROCHE, A. Contribution a l'étude des interactions entre phosphates naturels et microflora du sol. **Annales Agronomiques**, Paris, 17:403-71.
- TATE, K.R.; ROSS, D.J. ; FELTHAM, C.W. A direct extraction method to estimate soil microbial C: effects of experimental variables and some different calibration procedures. **Soil Biol. Biochem.**, Oxford, 20:329-35, 1988.
- THORTON, H. G. On the development of a standardized agar medium for counting soil bacteria with special regard to the repression of spreading colonies. **Annals of Applied Biology**, Cambridge, v.9, 241-74, 1922.
- TSAI, S. M.; BARAIBAR, A.V.L. ; ROMANI, V.L.M. Efeito de fatores do solo. In: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M. & NEVES, M.C.P. eds. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, 59-72, 1992.
- Van CLEVE, K. & MOORE, T.A. Cumulative effects of nitrogen, phosphorus, and potassium fertilizer additions on soil respiration, pH, and organic matter content. **Soil Science Society American Journal**, 42: 121-4, 1978.
- VANCE, E.D., BROOKES, P.C. ; JENKINSON D.S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biol. Biochem.**, Oxford, 19:703-7, 1987.
- VERSTRAETE, W. & VOETS, J. P. Soil microbial and biochemical characteristics in relation to soil management and fertility. **Soil Biol. Biochem**, Oxford, 9:253-58, 1977.

- VINCENT, J. M. *A manual for the practical study of root-nodules bacteria*. London, Burgess. IBP. 164p. 1970.
- VOGEL, A.I. *A text-book of practical organic chemistry including qualitative organic analysis*. 2^a ed. London, Longmans, Green. 174p. 1951.
- VORONEY, R.P. & PAUL, E.A. Determination of kc and kn in situ for calibration of the chloroform fumigation-incubation method. **Soil Biol. Biochem**, Oxford, 16 : 9-14, 1984.
- WARDLE, D.A. A comparative assessment of factors which influence microbial biomass carbon and nitrogen levels in soil. **Biol. Rev.**, Praga, 67:321-58, 1992.
- WARDLE, D.A. Metodologia para quantificação da biomassa microbiana do solo. In: HUNGRIA, M. & ARAUJO, R.S.eds. *Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola*. Brasília, EMBRAPA, p. 419-36, 1994.
- WARDLE, D. A. & PARKINSON, D. A statistical evaluation of equations for predicting total microbial biomass carbon using physiological and biochemical methods. In: CROSSLEY, D. A., ed. *Modern techniques in soil ecology*. Amsterdam. Elsevier, 75-86, 1991.
- WARDLE, D.A. & PARKINSON, D. Interactions between microbial variables and the soil microbial biomass. **Biol. Fertil. Soils**, Berlin, 9:272-80, 1991.
- WILLIAMS, S.T. & GRAY, T.R.G. Decomposition of litter on soil surface. In: DICKSON, C.H. & PUGH, G.J.F. eds. *Biology of plant litter decomposition*. London, Academic Press, v.1. 241 p, 1977.
- WILLIAMS, S.T. & PARKINSON, D. Studies of fungi in a podzol. I. Nature and fluctuation of cecil soil. **Soil Science Society of America Proceedings**, Madison, 23:365-8, 1968.
- WILLIAMS, S. T. ; SHAMEEMULLAH, M. WATSON, E. T.; MAYFIELD, C. I. Studies on the ecology of actinomycetes in soil - VI. The influence of moisture tension on growth and survival. **Soil Biol. Biochem.**, Oxford, 4 : 215-25, 1972.
- WOLTERS, V. & JOERGENSEN R.G. Microbial carbon turnover in beech forest soils at different stages of acidification. **Soil Biol. Biochem.**, Oxford, 23:897-902, 1991.
- ZVYAGINTSEV, D.G. Vertical distribution of microbial communities in soils. In: *Beyond the biomass: compositional and functional analysis of soil microbial communities*. RITZ, K.; DIGHTON, J.; GILLER, K.E. eds. John Willey & Sons Ltd. UK, 29-37.1994.