

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE AGRONOMIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO

CARBONO E NITROGÊNIO DA BIOMASSA MICROBIANA DO SOLO E  
DA SERAPILHEIRA DE POVOAMENTOS DE EUCALIPTO

EMANUELA FORESTIERI DA GAMA-RODRIGUES

Orientadores:

Dr. Gabriel de Araújo Santos (Prof. Titular Departamento de Solos UFRRJ)

Dr. Nairam Félix de Barros (Prof. Titular Departamento de Solos UFV)

Tese submetida como requisito parcial para  
a obtenção do grau de "Philosophiae Doctor"  
em Agronomia.  
Área de Concentração em Ciência do Solo.

Seropédica, Rio de Janeiro  
Outubro de 1997

CARBONO E NITROGÊNIO DA BIOMASSA MICROBIANA DO SOLO E  
DA SERAPILHEIRA DE PovoAMENTOS DE EUCALIPTO

EMANUELA FORESTIERI DA GAMA-RODRIGUES

Aprovado em 21 de outubro de 1997

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Gabriel de Araújo Santos



---

Prof. Dr. Nairam Félix de Barros



---

Prof. Dr. Dejair Lopes de Almeida



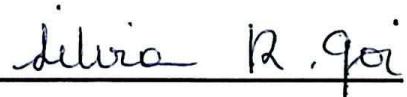
---

Prof. Dr. Eduardo Lima



---

Profª Drª Sílvia Goi



---

*In Memoriam* do meu amigo eterno,  
meu querido pai  
Roberto Forestieri

Dedico esta Tese ao meu marido Tony e à minha filha Sofia, os  
meus dois grandes amores.  
À minha querida mãe Dulcinéa Fernandes Forestieri e a minha avó Hilda  
Rosa Fernandes que me ensinaram a ter força e coragem na vida.  
Ao meu irmão Roberto Forestieri Júnior por sempre torcer por mim.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Professor Gabriel de Araújo Santos pela orientação, incentivo constante e sugestões durante o Curso.

Ao Professor Nairam Félix de Barros pela oportunidade de trabalhar sob sua orientação, pela infra-estrutura oferecida, pelas sugestões e apoio durante a condução do projeto.

Aos Professores Dejair Lopes de Almeida, Eduardo Lima e Sílvia Goi pelas sugestões na correção da Tese.

Ao Professor Antonio Carlos da Gama-Rodrigues pelo incentivo, sugestões constantes e auxílio nas análises de laboratório.

Aos pesquisadores do CNPAB Dr. Segundo Urquiaga e Dr. Bruno Alves pelo auxílio nas análises de N mineral e ajustes na metodologia de N-reativo de ninidrina.

Ao Professor Breno Grisi pelo auxílio no ajuste do método da fumigação-extracção.

A Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro pela possibilidade de realização do Curso de Doutorado em Agronomia, com área de concentração em Ciência do Solo.

A SIF (Sistema de Investigação Florestal), em especial as empresas de reflorestamento Aracruz Papel e Celulose, Cenibra, Celpav, Duratex e Pains Florestal pelo financiamento e auxílio na condução do projeto.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudo.

Aos Engenheiros Florestais José Luís Teixeira e Geraldo pelo apoio nos trabalhos de campo, especialmente na cubagem rigorosa de árvore.

Aos técnicos do Laboratório de Solos Florestais da UFV.

Aos colegas e funcionários do Departamento de Solos da UFRRJ e do CNPAB pelo convívio alegre durante o curso.

## **BIOGRAFIA DA AUTORA**

**EMANUELA FORESTIERI DA GAMA RODRIGUES** nasceu a 09 de novembro de 1965, na cidade do Rio de Janeiro, onde realizou o curso primário na Escola Estadual Amapá, o curso ginásial na Escola Municipal Camilo Castelo Branco e o científico na Escola Estadual André Maurois e Colégio Hélio Alonso.

Em 1983 iniciou o curso de Engenharia Agronômica na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Foi estagiária da PESAGRO-RIO, Estação experimental de Itaguaí, sob orientação do pesquisador Dr. Nilton Rocha Leal, no período de abril a novembro de 1985.

Iniciou na EMBRAPA/CNPAB, Itaguaí, Rio de Janeiro, como Bolsista de Iniciação Científica no período de outubro de 1986 a março de 1988, e a partir desta data, foi Bolsista de Aperfeiçoamento Profissional até fevereiro de 1989, sob orientação do pesquisador Dr. Helvécio De-Polli. Em março do mesmo ano, ingressou no curso de Mestrado em Agronomia (área de concentração em Ciência do solo) na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, conduzindo o trabalho na EMBRAPA/CNPAB, sob orientação do pesquisador Dr. Helvécio De-Polli, tendo defendido a tese em abril de 1992.

A partir de fevereiro de 1994 elaborou e conduziu o projeto intitulado "Critérios para a recomendação de N na cultura do eucalipto", sob orientação do Prof. Dr. Nairam Félix de Barros, no Laboratório do Solos Florestais da Universidade Federal de Viçosa, até fevereiro de 1995.

Em março de 1996 iniciou o curso de Doutorado em Agronomia (área de concentração em Ciência do solo) na Universidade Federal Rural do Rio de

Janeiro, conduzindo o trabalho na Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se à defesa de tese em 21 de outubro de 1997.

Janeiro, conduzindo o trabalho na Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se à defesa de tese em 21 de outubro de 1997.

## ÍNDICE

	Página
Glossário .....	xviii
Resumo Geral .....	1
General Summary.....	4
1. Introdução Geral .....	7
2. Revisão de Literatura .....	9
2.1 Introdução .....	9
2.2 Definição de Biomassa Microbiana.....	9
2.3 Função da Biomassa Microbiana.....	10
2.4 Uso da Biomassa Microbiana .....	11
2.5 Métodos para quantificar a biomassa microbiana.....	12
2.5.1 Observação direta .....	12
2.5.2 Índice de ATP .....	13
2.5.3 Taxa de respiração em resposta a adição de glicose .....	14

2.5.4 Métodos de fumigaço .....	15
2.5.4.1 Tratamento das amostras .....	15
2.5.4.2 Fumigaço-incubação .....	17
2.5.4.3 Considerações sobre o método .....	18
2.5.4.4 Cálculo do C da biomassa microbiana .....	21
2.5.4.5 Cálculo do N da biomassa microbiana .....	22
2.5.4.6 Fumigaço-extração .....	22
2.5.4.7 Considerações sobre o método .....	24
2.5.4.8 Cálculo do C da biomassa microbiana .....	27
2.5.4.9 Cálculo do N da biomassa microbiana .....	27
2.5.4.10 Cálculo do N-ninidrina da biomassa microbiana .....	28
2.6 Atividade microbiana .....	28
2.6.1 Índices derivados das estimativas da biomassa microbiana .....	30
2.6.1.1 Taxa de respiração específica da biomassa microbiana ( $q_{CO_2}$ ) .....	30
2.6.1.2 Relação C microbiano : C orgânico .....	31
2.7 Comparação de métodos .....	31
2.8 Considerações finais .....	33
2.9 Referências Bibliográficas .....	35

<b>Capítulo 1 .....</b>	<b>44</b>
Carbono e atividade da biomassa microbiana do solo e da serapilheira de povoamentos de eucalipto .....	44
Resumo .....	45
Summary .....	47
Introdução .....	49
Material e Métodos .....	51
Resultados e Discussão .....	56
Conclusões .....	68
Referências Bibliográficas .....	69
<b>Capítulo 2 .....</b>	<b>72</b>
Nitrogênio da biomassa microbiana do solo e da serapilheira de povoamentos de eucalipto .....	72
Resumo .....	73
Summary .....	75
Introdução .....	77
Material e Métodos .....	79
Resultados e Discussão .....	87
Conclusões .....	103
Referências Bibliográficas .....	104
Anexo .....	106

## ÍNDICE DE FIGURAS

### Capítulo 1

Página

Figura 1. Carbono orgânico, C da biomassa microbiana, respiração acumulada, o índice TRBM ( $\mu\text{g C-CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{ C microbiano. h}^{-1}$ ) e as relações C mic:C org, C:N microbiana e C:N dos solos sob eucalipto de diferentes idades (média dos povoamentos nos Municípios).....	59
Figura 2. Acumulação de serapilheira, C da biomassa microbiana, respiração acumulada, o índice TRBM ( $\mu\text{g C-CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{ C microbiano. h}^{-1}$ ) e as relações Cmic:C, C:N microbiana e C:N da serapilheira de eucalipto em diferentes idades (média dos povoamentos nos Municípios).....	60
Figura 3. CBM-serapilheira em função da TRBM-serapilheira (média dos povoamentos nos Municípios).....	61
Figura 4. TRBM-solo em função da TRBM-serapilheira ( $\mu\text{g C-CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{ C microbiano. H}^{-1}$ ) e a relação C mic:C org do solo em função da relação C mic:C da serapilheira (média dos povoamentos nos Municípios).....	61

Figura 5. RA e CBM-solo em função do C orgânico do solo (média dos povoamentos nos Municípios) .....	62
Figura 6. RA e CBM-solo em função do N total do solo (média dos povoamentos nos Municípios).....	62
Figura 7. NBM-solo em função de CBM-solo (média dos povoamentos nos Municípios) .....	63
Figura 8. CBM-solo em função de TRBM-solo (média dos povoamentos nos Municípios). ....	63
Figura 9. C orgânico, CBM e RA-solo em função do teor de argila dos solos (média dos povoamentos nos Municípios).....	65
Figura 10. TRBM ( $\mu\text{g C-CO}_2\cdot\text{g}^{-1}$ C microbiano. $\text{h}^{-1}$ ) e CBM-solo de eucalipto de em função da precipitação mensal (média por época de coleta). .....	66
Figura 11. Carbono orgânico em função da umidade do solo (média dos povoamentos nos Municípios).....	66

## Capítulo 2

Figura 1.Teores de N dos diferentes "pools" do solo de acordo com as idades dos povoamentos (média dos povoamentos nos Municípios)	88
Figura 2. Quantidade de serapilheira e seu conteúdo de N e N da biomassa microbiana da serapilheira de eucalipto sob diferentes idades (média dos povoamentos nos Municípios).....	89
Figura 3. Valor de N-total, N- $\text{NO}_3^-$ e NBMS em função do teor de C orgânico (média dos povoamentos nos Municípios).....	90

Figura 4. N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> em função do pH do solo (média dos povoamentos nos Municípios) .....	92
Figura 5. Valor de N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> e NBMS em função do teor de N total do solo (média dos povoamentos nos Municípios). ....	92
Figura 6. Teor de N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> em função do teor de N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> do solo (média dos povoamentos nos Municípios). ....	93
Figura 7. Teor de N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> e N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> em função do NBMS (média dos povoamentos nos Municípios). ....	93
Figura 8. N-total, N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> e NBMS em função do teor de argila (média dos povoamentos nos Municípios). ....	94
Figura 9. Teor de N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> no solo em função da precipitação mensal (média das épocas coletas por Município).....	95
Figura 10. N-total e N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> em função da umidade do solo (média das épocas coletas por Município). ....	95
Figura 11. NBMP em função da relação C:N e do acúmulo de serapilheira (média dos povoamentos).....	96
Figura 12. N mineral em função de NBM e Nmic:Nt do solo (média dos povoamentos por época de coleta).....	97
Figura 13. NBMS em função do N da serapilheira de eucalipto com 7 anos de idade e da floresta natural (média dos Municípios). ....	98
Figura 14. Biomassa Vegetal e N acumulado em função do N mineral, e produção de biomassa vegetal em função do N da biomassa Vegetal (média das idades). .....	101
Figura 15. Ciclagem microbiana e Fluxo de N fornecido pela biomassa microbiana de acordo com as idades do eucalipto (média dos Municípios).....	102

Figura 16. Produção e conteúdo de N da biomassa vegetal do eucalipto nas diferentes idades (média dos Municípios). ....

102

## Índice de Quadros

### Revisão de Literatura

Quadro 1. Ciclagem microbiano do nitrogênio em diferentes ecossistemas (kg.ha <sup>-1</sup> ).....	11
Quadro 2. Coeficiente de variação (CV) dos métodos de análise do C da biomassa microbiana em função dos teores de C orgânico dos solos.....	33

### Capítulo 1

Quadro 1. Classificação dos solos, espécies de eucalipto utilizadas nos povoamentos e tipo florestal de cada região. ....	52
Quadro 2. Caracterização química dos solos. ....	54
Quadro 3. Caracterização física e teor de umidade dos solos. ....	55
Quadro 4. C orgânico, C da biomassa microbiana, respiração acumulada, o índice TRBM e as relações Cmic:Corg, C:N microbiana e C:N dos solos sob eucalipto com 7 anos e sob floresta natural (médias dos Municípios). ....	67
Quadro 5. Acumulação de serapilheira, C da biomassa microbiana, respiração acumulada, o índice TRBM e as relações Cmic:C, C:N microbiana e C:N da serapilheira de eucalipto com 7 anos de idade e sob floresta natural (médias dos Municípios).....	67

## Capítulo 2

Quadro 1. Classificação dos solos, espécies de eucalipto utilizadas nos povoamentos e tipo florestal de cada região. ....	80
Quadro 2. Caracterização química dos solos. ....	85
Quadro 3. Caracterização física e teor de umidade dos solos. ....	86
Quadro 4. Valores dos diferentes "pools" de N do solo e da serapilheira e acúmulo de serapilheira do eucalipto de 7 anos e da floresta natural (médias dos Municípios). ....	98
Quadro 5. Conteúdo de N da biomassa vegetal da parte aérea de eucalipto de diferentes idades (médias dos povoamentos nos Municípios)	101

## GLOSSÁRIO

- CBMP - carbono da biomassa microbiana da serapilheira
- CBMS - carbono da biomassa microbiana do solo
- C mic:C org - relação entre o C microbiano e o C orgânico do solo
- C mic:C serapilheira - relação entre o C microbiano e o C da serapilheira
- C:N - relação entre o C orgânico do solo e o N total do solo
- NBMP - nitrogênio da biomassa microbiana da serapilheira
- NBMS - nitrogênio da biomassa microbiana do solo
- N mic:Nt - relação entre o N microbiano e o N total do solo
- N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> - nitrogênio amoniacal
- N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> - nitrogênio na forma de nitrato
- qCO<sub>2</sub> - quociente metabólico do CO<sub>2</sub>
- RAP - respiração acumulada da serapilheira
- RAS - respiração acumulada do solo
- TRBMP - taxa de respiração específica da biomassa microbiana da serapilheira
- TRBMS - taxa de respiração específica da biomassa microbiana do solo

## **RESUMO GERAL**

O objetivo deste trabalho foi o de avaliar a dinâmica do C e N da biomassa microbiana do solo e da serapilheira em povoamentos de eucalipto em várias condições edafoclimáticas do sudeste brasileiro. O carbono e o nitrogênio da biomassa microbiana foram estimados em amostras coletadas na camada de 0-10 cm de solo (CBMS e NBMS, respectivamente) e em amostras da serapilheira (NBMP e CBMP, respectivamente) obtidas em povoamentos de eucalipto de 1 a 7 anos de idade, plantados em cinco diferentes Municípios do Brasil e em área de vegetação de floresta natural respectiva a cada Município, sendo a amostragem realizada no período de março a novembro de 1995.

O objetivo deste trabalho foi o de avaliar a dinâmica do carbono da biomassa microbiana do solo e da serapilheira em povoamentos de eucalipto, cultivados em várias condições edafoclimáticas do sudeste brasileiro. Quantificaram-se o carbono da biomassa microbiana do solo e da serapilheira, a TRBM e a relação (C mic:C org). O carbono da biomassa microbiana do solo (CBMS) e da serapilheira (CBMP) foram estimados em povoamentos de eucalipto de 1 a 7 anos de idade, plantados em diferentes Municípios, sendo a amostragem realizada no período de março a novembro de 1995.

O CBM, a respiração acumulada (RA) o C orgânico do solo correlacionaram-se positivamente com o teor de argila. A TRBMS correlacionou-se negativamente e o CBMS positivamente com a precipitação pluviométrica (média mensal), bem como, o CBMP e a TRBMP apresentaram tendência positiva e negativa com a precipitação, respectivamente.

Os valores do CBMP e a respiração acumulada da serapilheira (RAP) ficaram na faixa de 4998 a 7308  $\mu\text{g}$  de C.g<sup>-1</sup> de serapilheira e de 6584 a 10674

$\mu\text{g}$  de C- $\text{CO}_2\cdot\text{g}^{-1}$  serapilheira, respectivamente e a TRBMP variou de 9409 a 20527  $\mu\text{g}$  de C- $\text{CO}_2\cdot\text{g}^{-1}$  de biomassa. $\text{h}^{-1}$ . A produção de serapilheira, em relação a idade de 1 ano, aumentou 52 % no segundo ano e apenas 20 % até o sétimo ano. Este acréscimo de serapilheira no segundo ano, foi acompanhado de uma tendência de aumento no CBMP e na TRBMP. No povoamento de 7 anos, o CBMP decresceu 32 % em relação aos 2 anos e a TRBMP aumentou 54 % em relação a 1 ano. O CBMS ficou na faixa de 168 a 232  $\mu\text{g}$  de C. $\text{g}^{-1}$  de solo, e apresentou a mesma tendência que o CBMP.

Não houve diferença significativa entre o eucalipto de 7 anos de idade e a floresta natural para TRBMS e para a relação C:N microbiana do solo. No entanto, com exceção da relação C:N do solo, o teor de C orgânico, a CBMS, a RAS e a relação Cmic:Corg do solo sob floresta natural foram significativamente maiores do que sob eucalipto. Os valores de RAP, a CBMP e a relação C:N microbiana da serapilheira foram similares entre as coberturas florestais. Por outro lado, o acúmulo de serapilheira e a TRBMP foram significativamente maiores no eucalipto do que na floresta natural, ao contrário para a relação Cmic:Corg.

Em povoamentos de eucalipto a serapilheira representa maior reserva de C microbiano do que o solo. A biomassa e a atividade microbiana do solo são influenciadas pela biomassa e a atividade microbiana da serapilheira. A biomassa e a atividade microbiana do solo são influenciadas por alguns atributos químicos e físicos do solo, como os teores de C orgânico, de N total e de argila. A floresta natural, em função da combinação de diferentes espécies, produziu uma serapilheira de melhor qualidade, expresso pela menor relação C:N e, consequentemente, maior eficiência da biomassa microbiana do solo e da serapilheira em utilizar o C orgânico.

A acumulação da serapilheira e sua relação C:N correlacionaram-se positivamente com o NBMP, sugerindo que a alta relação C:N levou a menor taxa de decomposição, e maior imobilização do N na biomassa microbiana. Neste caso, a biomassa microbiana da serapilheira de eucalipto exerceria uma função adicional de dreno de N, ao contrário da biomassa microbiana do solo, que estaria exercendo função de catalisadora e fonte de N, como foi indicado

$\mu\text{g}$  de C-CO<sub>2</sub>.g<sup>-1</sup> serapilheira, respectivamente e a TRBMP variou de 9409 a 20527  $\mu\text{g}$  de C-CO<sub>2</sub>.g<sup>-1</sup> de biomassa.h<sup>-1</sup>. A produção de serapilheira, em relação a idade de 1 ano, aumentou 52 % no segundo ano e apenas 20 % até o sétimo ano. Este acréscimo de serapilheira no segundo ano, foi acompanhado de uma tendência de aumento no CBMP e na TRBMP. No povoamento de 7 anos, o CBMP decresceu 32 % em relação aos 2 anos e a TRBMP aumentou 54 % em relação a 1 ano. O CBMS ficou na faixa de 168 a 232  $\mu\text{g}$  de C.g<sup>-1</sup> de solo, e apresentou a mesma tendência que o CBMP.

Não houve diferença significativa entre o eucalipto de 7 anos de idade e a floresta natural para TRBMS e para a relação C:N microbiana do solo. No entanto, com exceção da relação C:N do solo, o teor de C orgânico, a CBMS, a RAS e a relação Cmic:Corg do solo sob floresta natural foram significativamente maiores do que sob eucalipto. Os valores de RAP, a CBMP e a relação C:N microbiana da serapilheira foram similares entre as coberturas florestais. Por outro lado, o acúmulo de serapilheira e a TRBMP foram significativamente maiores no eucalipto do que na floresta natural, ao contrário para a relação Cmic:Corg.

Em povoamentos de eucalipto a serapilheira representa maior reserva de C microbiano do que o solo. A biomassa e a atividade microbiana do solo são influenciadas pela biomassa e a atividade microbiana da serapilheira. A biomassa e a atividade microbiana do solo são influenciadas por alguns atributos químicos e físicos do solo, como os teores de C orgânico, de N total e de argila. A floresta natural, em função da combinação de diferentes espécies, produziu uma serapilheira de melhor qualidade, expresso pela menor relação C:N e, consequentemente, maior eficiência da biomassa microbiana do solo e da serapilheira em utilizar o C orgânico.

A acumulação da serapilheira e sua relação C:N correlacionaram-se positivamente com o NBMP, sugerindo que a alta relação C:N levou a menor taxa de decomposição, e maior imobilização do N na biomassa microbiana. Neste caso, a biomassa microbiana da serapilheira de eucalipto exerceria uma função adicional de dreno de N, ao contrário da biomassa microbiana do solo, que estaria exercendo função de catalisadora e fonte de N, como foi indicado

pela correlação positiva entre o NBMS e a relação N microbiano:N total do solo (N mic:Nt) com o N mineral.

O N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> correlacionou-se positivamente com o pH do solo e a precipitação pluviométrica, mas negativamente com o teor de argila, enquanto o N-total do solo, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e NBMS apresentaram correlação positiva com a umidade do solo e o teor de argila e negativa com o pH do solo.

Os solos sob floresta natural apresentaram valores de N-total, N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e NBMS significativamente maiores do que nos solos sob eucalipto (Quadro 4). O eucalipto apresentou maior acúmulo de serapilheira e teor de N significativamente menor (0,88%) do que a serapilheira da floresta natural (1,60%) (Quadro 4).

Encontrou-se correlação negativa entre o N mineral do solo e a produção de biomassa vegetal e N absorvido pelo eucalipto.

A ciclagem microbiana dos solos sob eucalipto de diferentes idades variaram de 0,54 a 1,36 anos e o fluxo do N na biomassa microbiana variou de 40 a 98 kg.ha<sup>-1</sup>.ano<sup>-1</sup>, com as idades.

Em povoamentos de eucalipto a serapilheira representa maior reserva de N microbiano do que o solo. A maior relação C:N e quantidade da serapilheira afetam positivamente a quantidade de N microbiano da serapilheira. O N da biomassa microbiana do solo varia positivamente com os teores de C orgânico e N total do solo. A disponibilidade de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> do solo pode ser avaliada por meio da quantificação do N da biomassa microbiana e do N total do solo. O N da biomassa microbiana e os teores de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> do solo são influenciados pelo teor de argila.

## **GENERAL SUMMARY**

The objective of this study was to estimate the dynamics of C and N in microbial biomass of soil and litter of eucalypt plantations in five different conditions of soil and climate in the Southeastern region of Brazil. The microbial biomass nitrogen and carbon of soil were estimated in samples collected from the 0-10 cm upper layer of the soil (NBMS and CBMS, respectively) and in litter samples (NBMP and CBMP, respectively) in eucalypt plantations of different ages (1 to 7 years), and in areas of natural vegetation, in five regions of Brazil. The samples were collected from March to November 1995.

The CBMS, RAS and organic C of soil was positively correlated with clay content. The TRBMS was negatively correlated and CBMS positively correlated with rainfall. CBMP and TRBMP presented a tendency in a positive and negative correlation with rainfall, respectively.

The CBMP, RAP and TRBMP ranged from 4998 to 7308  $\mu\text{g C.g}^{-1}$  litter, 6584 to 10674  $\mu\text{g C-CO}_2\text{.g}^{-1}$  litter, and 9409 to 20527  $\mu\text{g C-CO}_2\text{.g}^{-1}$  microbial C.h<sup>-1</sup>, respectively. The litter production increased 52% in the 2 year-old year stand as compared with the one year old-stand, and increased only 20% 7 year old-stand. This increase in the litter in the 2 year-old year was followed by a tendency of increase in CBMP and TRBMP. In the 7 year old-stand the CBMP decreased 32% when it was compared with 2 year-old year-stand and increased 54% when it was compared with one year old-stand. The CBMS was ranged from 168 to 232  $\mu\text{g C.g}^{-1}$  soil and presented the same tendency of CBMP.

Significative difference not occurred among the eucalypt of 7 year-old and the natural forest for TRBMS and soil microbial C:N ratio. However, exception of the soil C:N ratio, the organic C content, CBMS, RAS and Cmic:Corg ratio of the soil in natural forest were highest significatively than the eucalypt. The values of RAP, CBMP and microbial C:N ratio of litter were similary between the covers forests. Nevertheless, the litter accumulation and the TRBMP were highest significatively in eucalypt plantation than the natural forest, inversely to Cmic:Corg ratio.

The litter of eucalypt plantation was greater reserve of microbial C than of the soil. The soil microbial biomass and activity are affected by litter microbial activity. The soil microbial biomass and activity are affected by organic C, total N and clay contents. The natural forest, in function of combination of differents species, produced litter of the low C:N ratio and, consequently, more efficient of the soil and litter microbial biomass in utilization of the organic C.

Litter accumulation in the eucalypt stands and the C:N ratio showed a linear relation with NBMP, suggesting that high C:N ratio litter results a low decomposition rate, favouring the imobilization of N by the microbial biomass. In this case, litter microbial biomass functions as N sink; contrarily, to the microbial biomass of soil, which functions as a catalyst and as a source, as indicated by the positive correlation between NBMS and N mic:Nt of soil with mineral N.

The N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> was positively correlated with soil pH and rainfall but negatively with clay content. However, soil total-N, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> were positively correlated with soil moisture and clay content and negatively with soil pH.

In soil in natural forest the values of total N, N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, and NBMS were highest significantly than the soil eucalypt plantation. In eucalypt the litter was highest and N contents was smallest than the litter natural forest.

The mineral N of soil was negatively correlated with eucalypt biomass production and N uptake. The microbial turnover of soils in eucalypt plantations, with different age, changed from 0,54 to 1,36 year and the flux of microbial biomass N varied with age from 40 to 98 kg.ha<sup>-1</sup>.year<sup>-1</sup>.

The litter in eucalypt plantation was greater reserve of microbial N than soil. The high litter C:N ratio and quantity affect positively the quantity of litter microbial N. The N soil microbial is affected positively by organic C and total-N contents. The soil N- $\text{NH}_4^+$  and N- $\text{NO}_3^-$  contents can be evaluated through the soil N microbial biomass and total-N. The soil N microbial biomass and N- $\text{NH}_4^+$  and N- $\text{NO}_3^-$  contents are affected by the clay contents.

## **1. INTRODUÇÃO GERAL**

A biomassa microbiana, por ser o compartimento de mais rápida ciclagem que ocorre na matéria orgânica do solo, assume grande importância como um compartimento de C, N e demais nutrientes. Nesse sentido, mais importante do que o valor absoluto da biomassa microbiana é o fluxo do nutriente que se torna disponível através da ciclagem microbiana (Paul & Clark, 1989).

A quantificação da biomassa microbiana não deve ser considerada apenas como mais um atributo pontual de fertilidade do solo. Ao contrário, deve estar associada à atividade microbiana e a outros atributos do solo, permitindo o monitoramento dos nutrientes em função da estacionalidade, da idade da cultura e das várias etapas de um manejo (Gama-Rodrigues et al., 1994; Grisi, 1995; Gama-Rodrigues et al., 1997). Assim, seria possível a obtenção de índices de aferição da sustentabilidade dos ecossistemas e o entendimento da fertilidade do solo como um processo dinâmico.

A quantificação da biomassa microbiana do solo e da serapilheira em ecossistemas florestais é essencial nos estudos de ciclagem da matéria orgânica e de nutrientes, pois permite avaliar a contribuição da biomassa microbiana na decomposição da matéria orgânica e, consequentemente, na fertilidade dos solos.

Os valores de C da biomassa microbiana no solo e na serapilheira indicam o potencial de reserva deste elemento, e a avaliação da respiração microbiana mostra a quantidade de C-CO<sub>2</sub> liberado durante um determinado período de incubação, sem contudo aferir as perdas de C do ecossistema. Por outro lado, a relação do C-CO<sub>2</sub> liberado com o C da biomassa microbiana (TRBM) permite aferir a tendência de acúmulo ou perda de C decorrente de

está sendo imobilizado pela biomassa microbiana, refletindo um possível menor potencial de decomposição da matéria orgânica (Insam & Domsch, 1988). Do mesmo modo, o N da biomassa microbiana constitui uma parte significativa e potencialmente mineralizável deste elemento que estará disponível para as plantas (Marumoto et al. 1982; Gallardo & Schlesinger, 1990).

Em plantações de eucalipto, pouco se conhece sobre a dinâmica da mineralização de N. Barros et al (1990) registraram que as respostas dessa essência florestal à adubação nitrogenada é em geral pequena. Assim, pode-se levantar a hipótese de que boa parte da necessidade da planta seja satisfeita pela mineralização de N do solo e, ou, da serapilheira. Portanto, o monitoramento do nitrogênio da biomassa microbiana, durante um determinado período de tempo, permitiria uma melhor compreensão do ciclo do elemento nesses ecossistemas e auxiliaria o planejamento da adubação nitrogenada.

O objetivo deste trabalho foi o de avaliar a dinâmica do C e N do solo e da serapilheira em povoamentos de eucalipto em várias condições edafoclimáticas do sudeste brasileiro.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 INTRODUÇÃO**

A quantificação da biomassa microbiana do solo e da serapilheira é fundamental para o entendimento da dinâmica do C e N, pois a biomassa microbiana é um compartimento da matéria orgânica de rápida ciclagem, consequentemente, mais sensível que o C orgânico e o N total em aferir as mudanças na matéria orgânica do solo.

As metodologias propostas na literatura para a quantificação da biomassa microbiana foram calibradas para solos de clima temperado, sendo necessário, portanto, que esses métodos sejam padronizados para as condições edafoclimáticas brasileiras, a fim de se obter maior exatidão e precisão nos resultados. Sabe-se que a microbiota do solo é dinâmica e sujeita a variações em função das características edáficas, do clima, do manejo adotado e do desenvolvimento das culturas (Grisi & Gray, 1986; Wardle, 1992)

A seguir serão discutidos a importância da quantificação da biomassa microbiana, os métodos disponíveis e os índices obtidos a partir dos seus resultados.

### **2.2 DEFINIÇÃO DE BIOMASSA MICROBIANA**

A biomassa microbiana é definida como a parte viva da matéria orgânica do solo incluindo bactérias, actinomicetos, fungos, protozoários, algas e microfauna. Excluindo-se raízes de plantas e animais do solo maiores do que

$5 \times 10^3 \mu\text{m}^3$ , contendo em média de 2 a 5 % de C total do solo (Jenkinson & Ladd, 1981) e 1 a 5 % do N total do solo (Smith & Paul, 1990).

## 2.3 FUNÇÃO DA BIOMASSA MICROBIANA

A manutenção da produtividade dos ecossistemas agrícolas e florestais depende, em grande parte, do processo de transformação da matéria orgânica e, consequentemente, da biomassa microbiana do solo. A biomassa microbiana representa um importante componente ecológico, pois é responsável pela decomposição e mineralização dos resíduos vegetais no solo, que são constituídos por material facilmente e lentamente decomposto e material recalcitrante. Sendo também responsável pelos fluxos de C dos constituintes da matéria orgânica velha, de compostos recalcitrantes não protegidos de origem microbiana e de material vegetal, da matéria orgânica ativa protegida e de material microbiano. Assim, a biomassa microbiana seria o compartimento central do ciclo de C no solo, e de acordo com as condições edafoclimáticas do ecossistema e da qualidade da serapilheira, poderia funcionar como compartimento de reserva, dreno, ou como um catalisador na decomposição da matéria orgânica (Paul & Clark 1989).

Paul & Voroney, citados por Paul & Clark (1989), comparando diferentes ecossistemas demonstraram que a cana-de-açúcar, no Brasil, apresentou um “turnover” microbiano 28 vezes mais rápido do que num sistema de rotação de cultura do Canadá e consequentemente, o fluxo de N pela biomassa microbiana foi maior do que nos ecossistemas que apresentaram maior acumulação de N microbiano. Neste caso, a biomassa microbiana atuou mais como catalisadora do que como dreno e fonte de nutrientes (Quadro 1)

**Quadro 1. Ciclagem microbiano do nitrogênio em diferentes ecossistemas (kg.ha<sup>-1</sup>)**

Determinação	Canadá	Inglaterra	Brasil
N microbiano	360	95	84
turnover microbiano (ano)	6.8	2.5	0.24
fluxo de N pela biomassa microbiana	53	34	350
remoção anual de N pela cultura	40	24	220

Fonte: Adaptado de Paul & Clark (1989)

## 2.4 USO DA BIOMASSA MICROBIANA

Até o início da década de 90 os trabalhos sobre biomassa microbiana tratavam principalmente de ajustes metodológicos. Atualmente, as metodologias disponíveis têm sido utilizadas para a determinação do C, N, P e S microbiano (sendo que para P e S os trabalhos são mais escassos) do solo em ecossistemas agrícolas, de pastagem e florestais. Mais recentemente, também, é possível a quantificação da biomassa microbiana da serapilheira em ecossistemas florestais, que pode também vir a ser utilizada em ecossistemas agrícolas que privilegiem o acúmulo da matéria orgânica e o revolvimento mínimo do solo.

A biomassa microbiana do solo tem sido utilizada para avaliar:

- a) o efeito dos tipos de matéria orgânica, pH, umidade do solo e teor de argila (Ross et al., 1987; Pfenning et al., 1992; Anderson & Domsch, 1993; Hassink, 1994; Ghoshal & Singh, 1995);
- b) a influência da flutuação sazonal (Insam, 1990; Van Gestel et al., 1992);
- c) a influência da estrutura e a estabilidade dos agregados (Gupta & Germida, 1988 Van Gestel et al., 1996);
- d) presença de substâncias tóxicas, como, herbicidas, metais pesados e pesticidas (Brookes et al., 1986 Wardle & Parkinson, 1990; Chander & Brookes, 1993)

e) efeito de diferentes manejos e práticas agrícolas (Doran 1987; Saffigna et al., 1989; Wardle et al., 1993; Henrot & Robertson, 1994) ciclagem microbiana, como indicadora do fluxo de C e N (Van Veen et al., 1984; Jenkinson & Parry, 1989; Paul & Clark, 1989)

A biomassa microbiana da serapilheira tem sido utilizada para:

- a) ajustes metodológicos (Ross & Sparling, 1993; Ross & Tate, 1993)
- b) verificar a influência da flutuação estacional (Maruan & Scheu, 1996)
- c) avaliar a influência do manejo adotado e da idade das árvores no fornecimento de C e N pela biomassa microbiana (Sparling et al., 1994; Ross et al., 1995)

## **2.5 MÉTODOS PARA QUANTIFICAR A BIOMASSA MICROBIANA**

Os métodos extensamente utilizados para quantificar a biomassa microbiana do solo são: o da observação direta; fumigação-incubação (Jenkinson & Powlson, 1976b); taxa de respiração em resposta à adição de glicose (Anderson & Domsch, 1978); índice de ATP (Oades & Jenkinson, 1979); e fumigação-extração (Brookes et al., 1985, Vance et al., 1987c, Tate et al., 1988), recentemente proposto com o objetivo de superar algumas limitações do método da fumigação-incubação.

A confiabilidade destes métodos tem sido amplamente questionada, uma vez que a estimativa da biomassa microbiana pode ser afetada pelas condições edafoclimáticas (Grisi, 1988), principalmente, quando o objetivo é estimá-la "in situ".

### **2.5.1 OBSERVAÇÃO DIRETA**

Este método tem como princípio a estimativa da biomassa microbiana do solo feita pela quantificação do número e tamanho das colônias de microrganismos em quantidade representativa de solo, por meio da microscopia, com posterior conversão em biovolume microbiano. Duas das principais desvantagens à utilização deste método são a falta de

reprodutibilidade e a dificuldade de automação (Grisi, 1988), além de dificuldades no reconhecimento dos microrganismos, considerando-se partículas inanimadas ou organismos mortos como organismos vivos.

Grisi & Gray (1985), trabalhando com nove solos, encontraram superestimativas dos valores de biomassa calculada pelo método da observação direta, além de baixas correlações entre os valores de biomassa calculada pelo biovolume e os de fumigação-incubação e ATP ( $r= 0,39^{**}$  e  $r= 0,52^{**}$ , respectivamente), sugerindo que o método da observação direta não fornece estimativas consistentes nos diferentes solos investigados.

O método da observação direta já foi utilizado para se testar a hipótese de que o fluxo de decomposição após a fumigação poderia ser usado como medida da biomassa microbiana do solo. O método da observação direta e da fumigação-incubação correlacionaram-se significativamente, exceto quando utilizados em solos ácidos (Jenkinson et al. 1976; Vance et al. 1987b).

Utilizando-se os métodos do biovolume, índice de ATP, taxa de respiração em resposta à adição de glicose e fumigação-incubação, para análise de biomassa de C em solos da Nova Zelândia, observou-se correlação entre a biomassa microbiana determinada pelo biovolume e a determinada pela fumigação-incubação ( $r= 0,705^{**}$ ), apesar desta ter sido a menor correlação observada em comparação às demais obtidas com os outros métodos (West & Sparling, 1986).

Este método é recomendado quando houver um bom sistema de microscopia e um observador experiente (Grisi, 1988), para a comparação entre métodos e quando não for possível a aplicação de outros métodos.

## 2.5.2 ÍNDICE DE ATP

Este método é baseado na relação linear ( $r= 0,98$ ) encontrada entre o conteúdo de ATP e a quantidade de biomassa C estimada pelo método de Jenkinson & Powlson (1976b). A biomassa é calculada pelo conteúdo de ATP usando a relação biomassa C = 120 ATP (conteúdo de ATP no solo) (Oades & Jenkinson, 1979). No entanto, existem situações em que esta relação é

comprometida, por exemplo, flutuações sazonais, pré-incubação das amostras antes das análises, teor de fosfato no solo e em solos com adição recente de substrato orgânico (Nannipieri et al. 1978; Ross et al. 1980; Sparling et al. 1981 & West et al. 1986). Outras dificuldades deste método são: extração incompleta de ATP das células, a necessidade de inativar o sistema enzimático das células microbianas, adsorção de ATP pelos colóides do solo e hidrólise química do ATP após extração (Jenkinson & Oades, 1979).

### **2.5.3 TAXA DE RESPIRAÇÃO EM RESPOSTA À ADIÇÃO DE GLICOSE**

Este é um método objetivo e rápido, originalmente proposto por Anderson & Domsch (1978) e tem como princípio, quando concentrações crescentes de glicose são adicionadas ao solo, a taxa de respiração inicial aumenta até o seu valor máximo, sendo determinada a hora que melhor representa a resposta inicial máxima de cada tipo de solo (1-3 horas após a adição de glicose). Para converter a taxa de respiração em biomassa, Anderson & Domsch (1978) calibraram seu método em relação ao método de fumigação-incubação e propuseram a seguinte equação para estimar a biomassa microbiana:

$$B = 40,4 X + 0,37 \quad (r = 0,98)$$

onde:

B = biomassa microbiana ( $\text{mg C.}100 \text{ g}^{-1}$  de solo)

X= taxa de respiração inicial máxima ( $\text{ml C-CO}_2.100 \text{ g}^{-1}$  de solo)

Entre os substratos testados, a glicose foi o melhor, provavelmente, por ser metabolizada pela maioria dos microrganismos aeróbios do solo, sob as condições particulares de incubação. A concentração de glicose necessária para permitir a taxa de respiração inicial máxima, antes que o crescimento microbiano ocorra, deve ser determinada para cada solo, através de experimentação preliminar, tornando o método muito extenso.

Os fundamentos para a utilização deste método são: que a taxa de respiração inicial nos solos que receberam glicose, deve ser a mesma nas diferentes frações da população e que a biomassa determinada pelo método da fumigação-incubação deve estar correta. Os principais erros técnicos que

podem ser cometidos ao se utilizar este método são: a incubação das amostras de solo ser conduzida em temperatura diferente de 22°C, o que modificaria a equação anteriormente citada, ou a medida da taxa de respiração, antes que ocorram mudanças no tamanho da biomassa (Anderson & Domsch, 1978).

Este método é inapropriado para ser usado em solos secos, sendo recomendada a utilização de glicose em solução para estas condições (West & Sparling, 1986). Para solos com baixo teor de matéria orgânica é recomendável se usar 100 g de massa seca, enquanto para camadas orgânicas de solos florestais 10 g seriam suficientes (Horwath & Paul, 1994). No entanto, este método pode ser utilizado para uma série de solos agricultáveis e florestais e também, ser uma alternativa para solos ácidos, permitindo o cálculo do qCO<sub>2</sub> (ou taxa de respiração específica da biomassa microbiana) com maior facilidade, pois a respiração basal pode ser quantificada na mesma amostra de solo (Parkinson et al., 1991). O CO<sub>2</sub> liberado pode ser avaliado com o analisador de gás infravermelho ou o cromatógrafo a gás (Horwath & Paul, 1994).

No método da respiração induzida pelo substrato é possível medir-se distintamente atividade de procariotos e eucariotos, adicionando-se ao solo, respectivamente, ciclohexano (que inibe a respiração fúngica) e sulfato de estreptomicina (que inibe a respiração de bactérias) (Grisi, 1995). Desse modo, quatro subamostras de solo são preparadas e submetidas aos seguintes tratamentos: (1) apenas glicose; (2) sulfato de estreptomicina + glicose; (3) ciclohexano + glicose; (4) sulfato de estreptomicina + ciclohexano + glicose.

## 2.5.4 MÉTODOS DE FUMIGAÇÃO

### 2.5.4.1 Tratamento das amostras

A maneira mais real de se estudar o metabolismo dos microrganismos do solo é em amostras recém coletadas ou amostras frescas que não receberam

nenhum tipo de tratamento (peneiramento, armazenamento, congelamento e secagem) (Jenkinson & Powlson, 1976a). O efeito e a necessidade desses tratamentos têm sido amplamente discutidos (Jenkinson & Powlson, 1976a e 1980; Ross et al., 1980; Ross & Tate, 1984; Ross, 1987 e 1988; West et al., 1986; West & Sparling 1986), sendo as idéias muito controvertidas, já que os efeitos não seguem o mesmo modelo nos diferentes solos. No entanto, o peneiramento e o ajuste de umidade são práticas que auxiliam na padronização das amostras, reduzindo o coeficiente de variação. Já Ross (1987) e Gama-Rodrigues (1992) observaram que o peneiramento de amostras de solo muito úmido não é aconselhável, devido ao distúrbio provocado nas amostras, diminuindo o fluxo de C-CO<sub>2</sub> e, também, pela dificuldade no manuseio das amostras.

As amostras de solo devem ser coletadas de modo a garantir a representatividade da área. Caso as amostras não sejam analisadas logo após a coleta, elas devem ser armazenadas em temperatura em torno de 4°C. O congelamento não é uma prática adequada, pois propicia a morte dos microrganismos. Se houver necessidade de transporte das amostras de solo do local de coleta para o laboratório por um período maior que 24 h (caso seja em torno de 24 h, é conveniente deixar os sacos das amostras abertos para garantir a aeração), estas devem ser armazenadas em isopor, contendo gelo seco.

Com a chegada das amostras no laboratório, deve ser determinada a umidade atual. O peneiramento do solo pode ser feito com peneira de malha menor que 2 mm ou até de 5,6 mm, de acordo com as condições e o tipo de solo amostrado. Após o peneiramento, deve ser realizada uma pré-incubação de 5 a 7 dias, com a finalidade de estabilizar o efeito do peneiramento na respiração microbiana, ou seja, o peneiramento, ao fragmentar a matéria orgânica do solo, torna-a mais disponível ao ataque dos microrganismos, tendo por consequência, um aumento imediato da taxa respiratória, que se confundiria com o "pico" de CO<sub>2</sub>, caso se efetuasse a fumigação nessa amostra de solo recém-peneirada (Grisi, 1995).

A umidade dos solos deve ser ajustada de acordo com os seus respectivos equivalentes de umidade. É interessante o uso de um borrifador para adição de água, a fim de que se evite a formação de grumos e que seja a mais homogênea possível (Grisi, comunicação pessoal).

#### **2.5.4.2 Método da fumigação-incubação**

Jenkinson & Powlson (1976a), com o objetivo de estudar como o tratamento com biocida influenciaria o metabolismo do solo, conduziram uma série de trabalhos avaliando se o fluxo de decomposição, causado pela fumigação, poderia ser utilizado para a medida da biomassa microbiana, propondo um novo método para sua estimativa.

O princípio deste método considera, que ao se exterminar toda população de microrganismos com uma fumigação com clorofórmio, o fumigante removido e o solo inoculado com nova população de microrganismos, estes passarão a consumir não só a matéria orgânica pré-existente no solo, como também e, principalmente, os microrganismos mortos pela fumigação (Jenkinson & Powlson 1976a).

Os fundamentos deste princípio foram summarizados por Jenkinson (1966) e Jenkinson & Powlson (1976b), sendo:

- o C dos microrganismos mortos é mineralizado liberando CO<sub>2</sub> mais rapidamente do que o C dos microrganismos vivos, ou seja, o substrato das células vivas só se torna disponível após sua morte;
- a morte dos microrganismos pela fumigação é total;
- a morte da biomassa microbiana no solo não-fumigado é negligenciável;
- a fração da biomassa de C morta mineralizada é a mesma em diferentes solos ( $k_c$ );
- a única função da fumigação é promover a morte dos microrganismos.

#### 2.5.4.3 Considerações sobre o método

O uso do clorofórmio como fumigante, em comparação a outros fumigantes comerciais, é recomendada porque se apresenta como o mais conveniente de ser usado e mais fácil de ser removido do solo após a fumigaçāo. A remoção incompleta do fumigante pode afetar a atividade dos microrganismos sobreviventes após a fumigaçāo e dos microrganismos inoculados ao solo. Além do que, a remoção incompleta de certos fumigantes, pode fornecer substrato à atividade microbiana (Jenkinson & Powlson, 1970). No entanto, este fumigante tem sido citado por não eliminar todos os microrganismos (Linch & Panting, 1980; Ingham & Horton, 1987). É necessário, antes de se usar este método, conduzir testes para se escolher o tempo de fumigaçāo que promova morte completa dos microrganismos (Parkinson et al., 1991).

Os estudos acima citados demonstram que os valores de biomassa de C (incubação) são dependentes das condições experimentais usadas para sua determinação, e selecionar o período de incubação para o solo não fumigado tem grande influência para interpretação dos resultados obtidos por este método. Segundo estes autores, a liberação de CO<sub>2</sub> inicial do solo não-fumigado é alta devido ao manuseio das amostras, que causa morte das células e torna certos substratos disponíveis. Contudo, essa fonte de C também está disponível para a população introduzida no solo fumigado. Assim, o período de incubação de 0-10 dias para os solos fumigado e não fumigado pode ser o mais aconselhável (Ross & Tate, 1984).

Jenkinson (1966) acreditava que o fluxo de decomposição era causado pela liberação de toxinas difusíveis, microrganismos antagonistas ou mudanças na relação hospedeiro : predador, e, portanto, que a respiração do solo não fumigado era inibida. Assim, a inoculação com um solo não tratado diminuiria o fluxo de decomposição. Jenkinson & Powlson (1976a) constataram que o efeito do inóculo era negligenciável na quantidade de CO<sub>2</sub> emanado, contrariando a primeira suposição, além deste ser desnecessário, pois as

diferenças na liberação de CO<sub>2</sub> entre os solos inoculado e não inoculado foram pequenas.

O fator k<sub>c</sub>, usado na fórmula para determinação da biomassa microbiana, representa a fração do C da biomassa microbiana mineralizado como CO<sub>2</sub>. Nenhuma medida do fator k<sub>c</sub> foi feita com a população do solo "in situ". Os valores foram obtidos incorporando-se organismos crescidos in vitro no solo, fumigando-se e medindo-se a quantidade de C dos microrganismos mineralizados nas condições de incubação (Jenkinson, 1976). O primeiro k<sub>c</sub> obtido foi 0,30, calculado com apenas uma espécie de microrganismo (Jenkinson, 1966). Mais tarde, utilizando 13 espécies de microrganismos Jenkinson (1976), obteve o valor médio de 0,50 ± 0,08 para o k<sub>c</sub> (determinado a 25°C em um solo), no entanto o valor 0,45 ajustado, foi considerado mais apropriado para o cálculo. Com 27 espécies de fungos e bactérias Anderson & Domsch (1978), obtiveram um valor médio para k<sub>c</sub> de 0,41 determinado a 22°C em quatro solos.

Considerando que o k<sub>c</sub> para diferentes organismos, não vai ter uma variação muito grande (Anderson & Domsch, 1978), e também, que os solos apresentam semelhanças quanto a distribuição dos diferentes microrganismos, embora a quantidade seja variável (Jenkinson, 1976). O valor k<sub>c</sub> pode ser aplicado para diferentes solos sem causar sérios erros (Jenkinson & Ladd, 1981), o que pode ser observado por Sampaio et al. (1986) que obtiveram um valor para k<sub>c</sub> (0,41) semelhante aos obtidos para solo de clima temperado, sugerindo que estes podem ser generalizados para os solos de clima tropical. Contudo, mais trabalhos devem ser conduzidos em solos de clima tropical para se confirmar esses resultados.

O método proposto por Jenkinson & Powlson (1976b) assume que a decomposição da matéria orgânica nativa do solo procede na mesma taxa para os solos fumigado e não fumigado apesar das diferenças na população microbiana trazidas pela fumigação. Todavia, ao se determinar a biomassa C (incubação) em solos com adição de glucose superestimou-se os valores de biomassa C, enquanto que os outros dois substratos orgânicos (celulose e raiz de trigo) subestimaram os resultados. Concluiu-se que a menor capacidade de

decomposição de compostos orgânicos mais complexos poderia ser devido a menor população de decompositores no solo inoculado e fumigado (Martens, 1985). Subestimativas dos valores de biomassa C em solos com adição recente de matéria orgânica, também foram obtidas por Voroney & Paul (1984); Sparling et al. (1981); Sampaio et al. (1986).

Em caso de solos ácidos os valores de biomassa-C também são subestimados (Jenkinson et al., 1976; Vance et al., 1987a, b). Contudo, Vance et al. (1987b) sugerem que nem o uso adequado do fator  $k_c$  nem o do tamanho do inóculo, são suficientes para explicar estes resultados. Os autores acreditam que a principal razão é o fato da população recolonizadora nos solos ácidos (fumigado) não metabolizarem tão rapidamente quanto às populações nativas nas amostras não fumigadas. Assim sendo, o uso deste controle (amostra não fumigada) leva a valores muito baixos ou negativos de biomassa. Pelo fato de que em condições ácidas, há um aumento da disponibilidade de metais tóxicos inibindo e alterando a população microbiana que não é seletivamente adaptada a este ambiente, como a população recolonizadora do solo fumigado.

O método da fumigação-incubação, é inadequado para solos com recente adição de matéria orgânica (Jenkinson & Powlson, 1976b; Demétrio, 1988). Voroney citado por Sampaio et al. (1986) propôs uma aproximação diferente da proposta por Jenkinson & Powlson (1976b) para o cálculo da biomassa microbiana, com o intuito de superar estas restrições. Nesta aproximação não se diminui do  $\text{CO}_2\text{-C}$  emanado do solo fumigado o  $\text{CO}_2\text{-C}$  emanado do solo não fumigado. Assim, o autor admite que, no solo fumigado, durante o período de incubação, só há mineralização da biomassa morta pela fumigação.

No entanto, Sampaio et al. (1986) trabalhando em solos com adição recente de matéria orgânica, utilizando o método da incubação, observaram que mesmo no tempo zero de incubação a quantidade de  $\text{CO}_2\text{-C}$  emanado do solo fumigado com adição de palha, foi maior do que a quantidade emanada no solo fumigado sem adição de palha, demonstrando que a nova biomassa se utilizou também da palha, contradizendo a suposição de Voroney. Em trabalho conduzido por Jenkinson & Powlson (1976a), demonstra que a adição de

substrato orgânico antes da fumigação afeta o fluxo de decomposição. Os autores observaram que 29% da glucose adicionada permanecia no solo após 52 dias de incubação, sendo que deste total 35% fazia parte da biomassa microbiana do solo.

As amostras fumigadas, não-fumigadas e as iniciais podem ser extraídas com KCl para a determinação da mineralização de nitrogênio, através da análise de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. A determinação de um fator k<sub>N</sub> é difícil, pois a quantidade de N da biomassa microbiana pode variar em função da quantidade de substrato, da relação fungo/bactéria, relação C:N do "litter" e pelas condições edáficas. Os valores de k<sub>N</sub> desenvolvidos pela adição de microrganismos do solo marcados com N<sup>15</sup> variou de 0.54 a 0.62 e Jenkinson (1988) citado por Wardle (1992), sugere o valor médio de 0.54. Shen et al. (1984), obteve o valor de 0.68 pela determinação da imobilização de N- NH<sub>4</sub><sup>+</sup> em solos fumigados e não fumigados. Para as nossas condições edafoclimáticas ainda não foi feita uma estimativa de k<sub>N</sub>.

Baseado no que foi acima relatado pode-se sumarizar algumas desvantagens do método:

o período de 10 dias de incubação retarda a obtenção de resultados, além de ser fonte de erros;

a dificuldade de se determinar o tamanho do inóculo;

susas restrições quanto a utilização em solos ácidos e com recente adição de matéria orgânica.

Apesar das desvantagens citadas, o método continua sendo utilizado em diferentes situações e como padrão para a calibração de outras metodologias (Feigl et al., 1995; Joergensen, 1996; Luna & Grisi, 1996)

#### 2.5.4.4 Cálculo do C da biomassa microbiana

O C da biomassa microbiana pode ser calculado pela seguinte equação:

$$\text{C da biomassa microbiana} = \frac{(F_c - NF_c)}{k_c}$$

onde,

$F_c$  = fluxo de CO<sub>2</sub> das amostras fumigadas

$NF_c$  = fluxo de CO<sub>2</sub> das amostras não fumigadas

$k_c$  = fator de mineralização de C do método (0.45)

#### 2.5.4.5 Cálculo do N da biomassa microbiana

O N da biomassa microbiana pode ser calculado pela seguinte equação:

$$N \text{ da biomassa microbiana} = \frac{(F_N - NF_N)}{k_N}$$

onde,

$F_N$  = fluxo de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> das amostras fumigadas

$NF_N$  = fluxo de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> das amostras não fumigadas

$k_N$  = fator de mineralização de N do método (0.54)

#### 2.5.4.6 Método da fumigação-extracção

O primeiro ensaio avaliando a possibilidade de extração do C microbiano com K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> foi proposto por Jenkinson & Powlson (1976a). Mais tarde, utilizou-se o método da fumigação-extracção para o S microbiano (Saggar et al., 1981), P (Brookes et al., 1982; Hedley & Stewart, 1982 & Guerra et al., 1989) e N da biomassa microbiana (Brookes et al., 1985). A utilização do método da fumigação-extracção para análise de biomassa C microbiana surgiu com Vance et al (1987c) e logo depois Tate et al. (1988); Sparling & West (1988), realizaram novos estudos avaliando a utilização deste método em diferentes solos e propuseram um fator de eficiência de extração, usado no cálculo da biomassa microbiana.

Este método foi proposto com o objetivo de superar as limitações do método da fumigação-incubação para solos ácidos, solos com recente adição de matéria orgânica, solos da rizosfera sob pastagem permanente e solos sob encharcamento ou seca (Tate et al., 1988). Embora os outros métodos,

anteriormente citados, possam ser uma alternativa ao método da fumigação-incubação, nenhum deles oferece a possibilidade de recuperação do carbono microbiano após a análise, semelhante a obtida pelos microrganismos marcados com  $^{14}\text{C}$  (Ladd et al. citados por Tate et al., 1988), como se observa pelo método proposto por Jenkinson & Powlson (1976b).

A diferença deste método para o da fumigação-incubação é a extração química com  $\text{K}_2\text{SO}_4$  0,5 M para remover os nutrientes microbianos das células mortas pela fumigação; a inoculação e o período de 10 dias de incubação que são dispensados. Neste método, o solo não fumigado é extraído diretamente e o C orgânico do extrato é determinado por oxidação com  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ , sendo o fluxo de C orgânico usado como a medida do C microbiano.

As correlações significativas entre o fluxo de C extraído e o fluxo de  $\text{CO}_2$ -C (Vance et al., 1987c; Tate et al., 1988), e a biomassa C (estimada pela taxa de respiração em resposta a adição de glucose) (Sparling & West, 1988) são indicadores que o fluxo de C extraído é derivado das células microbianas morta pela fumigação. Um outro parâmetro obtido que reforça esta indicação, é a relação concentração de ATP no solo : fluxo de C extraído que se manteve constante nos solos com pH variando de 3,9-8,0. (Vance et al., 1987c).

A biomassa microbiana comumente apresenta correlação com a matéria orgânica do solo. Gama-Rodrigues et al. (1997) em solos sob diferentes coberturas florestais encontraram correlação significativa do C da biomassa microbiana com o C orgânico ( $r = 0.63^*$ ) e N total dos solos ( $r = 0.77^{**}$ ).

Este método também tem sido utilizado mais recentemente, para a quantificação do C e N microbiano da serapilheira, permitindo um estudo mais detalhado da dinâmica desses nutrientes nos ecossistemas florestais, e também, utilizar a biomassa microbiana da serapilheira como um indicador direto da taxa de decomposição da serapilheira, mais do que as análises de seus constituintes químicos (Wardle, 1992).

#### 2.5.4.7 Considerações sobre o método

Como o método da extração oferece a possibilidade de se estimar o C e N microbiano com o mesmo extrato do solo, procura-se utilizar as condições similares àquelas descritas por Brookes et al. (1985) para as análises de N. Contudo, é necessária a padronização do tempo de extração e das condições de agitação. Sugeriu-se o tempo de meia hora para a extração da maioria do C solúvel. A concentração do extrator e a relação extrator:solo, não tiveram efeito significativo no fluxo de C extraído (Tate et al., 1988).

A pré-incubação das amostras após o peneiramento, com a finalidade de diminuir a contribuição das raízes no fluxo de C extraído (Tate et al., 1988) e de outros nutrientes (McLaughlin et al. 1986; Sparling et al., 1985) tem sido bastante utilizadas, mas os resultados não fornecem conclusões definitivas. Enquanto Tate et al. (1988), recomenda o peneiramento para reduzir possíveis interferências de raízes no método da fumigação-extração, Ocio & Brookes (1990a) não encontraram diferenças significativas nos resultados de biomassa C extraída entre amostras peneiradas e não peneiradas.

Estudando-se o C da biomassa pelo método da extração em solos sob pastagem, observou-se que a secagem parcial das amostras não teve efeito sobre o fluxo de C extraído (Ross, 1988). No entanto, a secagem parcial em amostras úmidas e compactadas, seguida de um ajuste de umidade a 50% da capacidade de saturação, promoveu efeito benéfico no fluxo de C extraído. Mas constatou-se que esse procedimento era impraticável em análise de rotina (Ross, 1989). Neste mesmo estudo, demonstrou-se que a dispersão das amostras durante a extração parece ser o fator que mais afeta o resultado, propondo-se que em amostras úmidas e compactadas, o aumento da velocidade de agitação durante a extração é favorável, promovendo geralmente resultados satisfatórios. Tate et al. (1988), também observaram que a dispersão incompleta do solo pode diminuir o fluxo de C extraído, ocasionando variações nos resultados em amostras úmidas e compactadas.

Este método foi calibrado, utilizando-se o método da taxa de respiração em resposta à adição de glicose e através da extração de  $^{14}\text{C}$  dos

microrganismos marcados *in situ* com  $^{14}\text{C}$ -glucose. O fator  $k_{EC}$  obtido representa a eficiência de extração. Com o método da respiração obteve-se um  $k_{EC}$  médio de  $0,345 \pm 0,102$  para os solos minerais e  $0,197 \pm 0,053$  para os solos orgânicos. Pelo segundo método, o fator  $k_{EC}$  médio foi de 0,326 que foi similar ao obtido pelo método da respiração. Assim, o  $k_{EC}$  sugerido para os solos minerais foi  $0,33 \pm 0,08$  (Sparling & West, 1988). Segundo os autores, o menor  $k_{EC}$  para os solos orgânicos pode ser consequência do alto teor de C orgânico tanto nas amostras fumigadas como nas não fumigadas, o que pode mascarar o fluxo de C extraído ou pode refletir diferenças na microflora de amostras minerais e orgânicas. Vários outros fatores foram obtidos tanto pela calibração direta, através de adição de substrato marcado com  $^{14}\text{C}$ , (Sparling et al., 1990; Bremer & van Kessel, 1990, 1992) como pela calibração indireta, através da relação com outros métodos (Vance et al., 1987c Kaiser et al., 1992; Martens, 1995; Joergensen, 1996). Em solos de floresta da Amazônia, Feigl et al. (1995), encontraram um fator  $k_{EC}$  de 0,26, através da calibração direta.

Os fatores  $k_{EC}$  encontrados demonstram a baixa recuperação de C microbiano pelo método da extração. Recalculando os dados, Sparling & West, (1988) encontraram, em média, que a recuperação do C microbiano pela extração foi 13 % menor do que no método da fumigação-incubação e que o fator  $k_{EC}$  de 0,45 (para a fumigação-incubação) era equivalente ao valor 0,39 para o método da extração. Assim concluíram que o fator  $k_{EC}$  obtido para solos minerais foi um bom ajuste.

O N-total da biomassa microbiana pode ser estimado pelo método Kjeldahl: ao extrato do solo adiciona-se uma solução de  $\text{CuSO}_4$  e  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado que é submetida a digestão. Após a digestão as amostras são destiladas com  $\text{NaOH}$  10M e tituladas com  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,005N (Brookes et al., 1985). Pode-se estimar também, o N-reativo de ninidrina da biomassa microbiana, que representa apenas uma fração do N da biomassa microbiana.

Amato & Ladd, (1988), propuseram a estimativa do C da biomassa microbiana (CBM) a partir da quantificação do N-reativo de ninidrina após a extração do solo com  $\text{KCl}$  2M, através da seguinte equação:  $\text{CBM} = 21 * \text{N-extracão}$

ninidrina. Joergensen & Brookes, (1990) propuseram uma modificação do método passando -se a utilizar o  $K_2SO_4$ , pois o íon cloro interfere na oxidação com dicromato, a fim de permitir a análise simultaneamente do C e N da biomassa microbiana e do N-ninidrina da biomassa microbiana.

Para se obter o valor do N da biomassa microbiana a partir do N-reativo de ninidrina, é necessário a calibração com o método padrão de dosagem de N, o Kjeldahl. No entanto, para as nossas condições edafoclimáticas ainda não foi feita uma calibração deste método. A vantagem da dosagem colorimétrica é a rapidez, sensibilidade para os solos com baixos teores de N total, e é relativamente preciso, podendo detectar diferenças na biomassa microbiana de 5-10% ao nível de 5% de probabilidade (Voroney et al., 1993).

O princípio do método do N-reativo de ninidrina é que durante a fumigação ocorre a liberação de componentes reativos de ninidrina, essencialmente,  $\alpha$ -aminoácidos e N-amônio, provenientes da biomassa microbiana (Joergensen & Brookes, 1990). Esses componentes sofrem oxidação pela ninidrina, formando amônia,  $CO_2$  e o aldeído obtido pela perda de um átomo de C do aminoácido original. A intensa cor azul resultante desta reação é geralmente característica dos aminoácidos que apresentam  $\alpha$ -aminogrupos.

A determinação do fator  $k_{EN}$  é mais difícil do que a do fator  $k_{ec}$ , pois a quantidade de N e, portanto, a relação C/N dos microrganismos crescidos *in vitro* varia em função das condições e fases de crescimento (Anderson & Domsch, 1980). Assim, na maioria dos casos o fator  $k_{EN}$  é calibrado indiretamente pela relação entre o fluxo de N obtido pelo método da extração e o N da biomassa microbiana determinado pelo método da fumigação-incubação, sendo o valor de 0.54 (Brookes et al. 1985; Joergensen & Mueller, 1996), o mais comumente utilizado.

O método da fumigação-extração tem a vantagem de não ser afetado em solos com baixo pH (Vance et al. 1987c) e nem em solos com adição recente de matéria orgânica (Ocio & Brookes, 1990b), além de possibilitar a rapidez na obtenção de resultados e a sua praticidade na execução. No entanto,

apresenta-se impreciso quando utilizado em solos com teor de matéria orgânica maior do que 10% (Couteaux & Henkinet, 1991).

Uma modificação do método da fumigação-extracção foi proposto para a medida da biomassa C microbiana (Gregorich et al. 1990). O método da extração utilizado foi o proposto por Tate et al. (1988), exceto que o clorofórmio foi aplicado direto no solo. Este método modificado apresentou correlação significativa com o C orgânico ( $r= 0,89^{***}$ ) e com o teor de ATP no solo ( $r= 0,82^{***}$ ), e se mostrou mais rápido do que o comumente utilizado, com eficiência de extração ( $k_{EC}$ ) de 0,17, embora a eficiência de mineralização tenha sido menor do que a do método da fumigação-incubação.

#### **2.5.4.8 Cálculo do C da biomassa microbiana**

O C da biomassa microbiana pode ser calculado pela seguinte equação:

$$\text{C da biomassa microbiana} = \frac{(F_{EC} - NF_{EC})}{k_{EC}}$$

onde,

$F_{EC}$  = fluxo de C extraído das amostras fumigadas

$NF_{EC}$  = fluxo de C extraído das amostras não fumigadas

$k_{EC}$  = fator de recuperação de C do método

#### **2.5.4.9 Cálculo do N da biomassa microbiana**

O N total da biomassa microbiana pode ser calculado pela seguinte equação:

$$\text{N da biomassa microbiana} = \frac{(F_{EN} - NF_{EN})}{k_{EN}}$$

onde,

$F_{EN}$  = N total das amostras fumigadas

$NF_{EN}$  = N total das amostras não fumigadas

$k_{EN}$  = fator de recuperação de N do método

#### **2.5.4.1.0 Cálculo do N-ninidrina da biomassa microbiana**

N-ninidrina da biomassa microbiana = ( $F_{NIN} - NF_{NIN}$ )

onde,

$F_{NIN}$  = N-ninidrina das amostras fumigadas

$NF_{NIN}$  = N-ninidrina das amostras não fumigadas

### **2.6 ATIVIDADE MICROBIANA**

A atividade dos microrganismos é geralmente medida em termos metabólicos, através dos indicadores de  $CO_2$  evoluído,  $O_2$  absorvido, atividades enzimáticas e caloríficas, N, P, S mineralizados (Grisi, 1995). O termo respiração do solo é definido como a absorção de  $O_2$  e/ou a liberação de  $CO_2$  pelas entidades vivas e metabolizantes do solo. Já a respiração microbiana é definida como a absorção de  $O_2$  ou liberação de  $CO_2$  pelas bactérias, fungos, algas e protozoários no solo e, incluindo as trocas de gases que resultam de ambos os metabolismos aeróbio e anaeróbio (Anderson, 1982). A vantagem de se medir  $CO_2$ , ao invés de  $O_2$ , é porque o  $CO_2$  reflete a atividade, tanto de microrganismos aeróbios quanto de anaeróbios.

A respiração do solo pode ser mensurada no campo, onde está sujeito as condições naturais, ou em laboratório, onde as condições podem ser mais exatamente controladas. A localização da mensuração dependerá dos objetivos do experimento.

A mensuração da respiração do solo no campo tem sido usado para avaliar a atividade geral da biomassa do solo quando influenciada pelo clima, as propriedades físicas e químicas do solo, e práticas agrícolas. Além disso, ela tem sido usada para mensurar a mineralização e a estabilização do C quando relacionado ao tipo de matéria orgânica e a sua taxa de adição sobre ou dentro do solo. Os objetivos de muitas dessas mensurações tem sido obter uma clara compreensão do processo de mineralização e, portanto do ganho de

nutrientes e carbono no solo, possibilitando que a matéria orgânica seja mais eficientemente utilizada e conservada (Anderson, 1982; Parkinson & Coleman, 1991). Nesses tipos de estudos, os compartimentos que compõem o ciclo do C no solo, com adição recente de matéria orgânica, são melhor quantificados através de técnicas isotópicas, como a do  $^{14}\text{C}$  (Stevenson, 1986).

Nas condições de laboratório, a respiração basal ou estimulada podem ser mensuradas. A respiração basal tem sido largamente usada para estudar as influências de diversos atributos físicos do solo, como a umidade, a temperatura e a aeração sobre a mineralização da matéria orgânica do solo (Anderson, 1982). Em conjunção a isso, a respiração basal tem sido utilizada para correlacionar com outras propriedades fisiológicas do solo, tais como enzimas ou conteúdo de ATP, permitindo estimar a atividade da microflora e também do tamanho da população microbiana (Anderson & Domsch, 1978). Deve-se ressaltar, que nas análises de laboratório as amostras de solo são manipuladas, uma vez que a retirada das raízes é necessária, provocando mudanças em algumas condições físicas, facilitando o acesso dos microrganismos à matéria orgânica e, resultando em alterações nas características das trocas gasosas. O que leva às medidas de laboratório serem freqüentemente questionadas. No entanto, este método fornece resultados válidos sobre a atividade microbiana dos solos (Parkinson & Coleman; 1991), já tendo sido usado como um índice de fertilidade do solo (Waksman & Starkey, citados por Parkinson & Coleman, 1991).

Com relação aos sistemas de medição do  $\text{CO}_2$  em condições de laboratório, destacam-se o "estático", usando-se câmaras de incubação sem aeração e com absorção de  $\text{CO}_2$ , por solução alcalina de KOH ou NaOH ou  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ ; e aerado ou "dinâmico", com aeração contínua da amostra de solo em câmara de medição, usando-se, por exemplo, o analisador infravermelho de gás ou o cromatógrafo (Grisi, 1995).

Com o propósito de desenvolver um modelo de atividade microbiana relacionada com a umidade e temperatura, O'Connell (1990) fez medições da taxa de respiração (produção de  $\text{CO}_2$ ), através de incubações em laboratório,

das camadas dos folhedos de duas diferentes florestas de eucalipto, a fim de explicar mudanças estacionais da respiração em amostras de campo.

Atividade microbiológica de solos cobertos com eucalipto e sob mata nativa com adição de folhado de eucalipto, P, N e corretivo, também pode ser avaliada por Della Bruna et al. (1991), através da quantificação de C-CO<sub>2</sub> emanado em intervalos regulares num período de 28 dias, em que o solo sob mata nativa apresentou maior atividade microbiana do que o solo sob eucalipto, em todos os tratamentos.

A determinação da atividade enzimática é uma estimativa restrita a alguns grupos de microrganismos, sendo uma abordagem diferente da biomassa; além de que as enzimas, como são proteínas que freqüentemente são adsorvidas nos colóides orgânicos e inorgânicos do solo, refletem esse acúmulo, não se correlacionando diretamente à biomassa microbiana total do solo (Paul & Clark, 1989). As enzimas mais utilizadas como indicadores têm sido a urease, fosfatase, desidrogenase (enzimas constitutivas) e a celulase (enzima induzida). A atividade da desidrogenase freqüentemente se correlaciona com a respiração microbiana quando fontes externas de C são adicionadas ao solo (Tabatabai, 1994).

## **2.6.1 Índices derivados das estimativas da biomassa do solo**

### **2.6.1.1 Taxa de respiração específica da biomassa microbiana (qCO<sub>2</sub>)**

Alguns estudos tem tentado relacionar a quantidade de C-CO<sub>2</sub> com o C da biomassa microbiana na mesma amostra de solo. Esta proposta tem suporte na hipótese de Odum (1969), na qual propõe, que a relação (respiração total)/(biomassa total) diminui com o tempo ou sucessão num ecossistema. Esta hipótese pode ser interpretada pela razão (respiração microbiana)/(biomassa microbiana), onde o quociente metabólico (qCO<sub>2</sub>) diminui com o aumento da maturidade da matéria orgânica do solo (Anderson & Domsch, 1985). O quociente metabólico pode ser usado para definir e quantificar a atividade microbiana e também para caracterizar os riscos de

empobrecimento dos solos em termos de matéria orgânica (Insam & Domsch, 1988). Nesse sentido, o  $qCO_2$  prediz que: à medida que uma determinada biomassa microbiana se torna mais eficiente, menos C é perdido como  $CO_2$  pela respiração e uma proporção de C é incorporada ao tecido microbiano. Gama-Rodrigues et al. (1997) observaram que os valores de  $qCO_2$  quando associados aos valores de biomassa microbiana, C orgânico, N mineral e qualidade nutricional da serapilheira revelaram-se bons indicadores para aferir a dinâmica do C e N do solo sob diferentes coberturas florestais.

#### **2.6.1.2 Relação C microbiano : C orgânico**

A relação C microbiano : C orgânico total expressa um índice da qualidade nutricional da matéria orgânica. Solos com matéria orgânica de baixa qualidade a biomassa microbiana encontra-se sob condições de "stress", tornando-se incapaz de utilizar totalmente o C orgânico. Nesse caso, a relação (C microbiano)/(C orgânico) diminui. Ao contrário, com adição de matéria orgânica de boa qualidade nutricional, a biomassa microbiana pode aumentar rapidamente, mesmo se os níveis do C orgânico do solo permanecerem inalterados (Wardle, 1992).

Gama-Rodrigues (1992) em solos sob diferentes coberturas vegetais observaram que a relação C microbiano: C orgânico foi maior em solos com maiores teores de N total.

### **2.7. COMPARAÇÃO DE MÉTODOS**

Para mensurações gerais da biomassa microbiana, existem diversos métodos. Contudo, para estudos da função da biomassa microbiana na dinâmica da matéria orgânica e ciclagem de nutrientes, uma mensuração direta do conteúdo de C e nutrientes na biomassa microbiana é essencial. Ambos os métodos, fumigação-incubação e fumigação-extracção atendem a esses objetivos.

A estimativa do C e N da biomassa microbiana pelo método da fumigação-extração apresenta diversas vantagens sobre o método da fumigação-incubação. Além de ser rápido, o método da fumigação-extração é aplicável para solos ácidos e evita a necessidade da mineralização do C e N microbiano durante uma incubação. Além de evitar problemas quanto a imobilização de  $\text{NH}_4^+$  ou atividade de desnitrificação. Uma outra vantagem é que proporciona trabalhar com solos com umidade entre -5 e -10 KPa durante o período de fumigação, como também pode ser aplicado em solo com baixo conteúdo inicial de água e solos inundados (Voroney et al., 1993). Por outro lado, Gama-Rodrigues et al. (1994) compararam os dois métodos de fumigação (incubação e extração), obtendo correlação não muito elevada ( $r = 0,66$ ), e observaram que a fumigação-extração apresentou menor coeficiente de variação, tendo maior precisão do que a fumigação-incubação, mas que ambos os métodos tiveram menor precisão à medida que diminuía o teor de C orgânico total do solo (Quadro 2). Entretanto, o método da fumigação-incubação possibilita avaliar a "atividade real" dos microrganismos do solo em amostras intactas de solo (Lynch & Panting, citados por Grisi, 1995); neste caso, é avaliada a atividade dos microrganismos de maneira semelhante à existente em condições de campo. O método da fumigação-incubação tem a vantagem de simultaneamente determinar também a respiração do solo e, com isso, se obter a taxa de respiração específica da biomassa microbiana ou o quociente metabólico ( $q\text{CO}_2$ ).

O método da respiração induzida pela adição de substrato pode ser utilizado para monitorar mudanças temporais da biomassa microbiana e sua atividade quando afetada pelo manejo. Contudo, este método é muito laborioso e requer aparelhagem cara para sua aplicação. Além disso, nem sempre este método se correlaciona com os métodos baseados na fumigação. Apesar de ambos os métodos da respiração induzida pela adição de glucose e da fumigação-incubação medirem a "atividade potencial" dos microrganismos em amostras perturbadas.

Quadro 2. Coeficiente de variação (CV) dos métodos de análise do C da biomassa microbiana em função dos teores de C orgânico dos solos.

Solos <sup>(1)</sup>	C orgânico cmol.kg <sup>-1</sup>	fumigação-extracção	fumigação-incubação
		%	
PVd	79	51	142
HGP	133	17	32
PL	40	77	178

<sup>(1)</sup> PVd: podzólico vermelho-amarelo textura média distrófico; HGP: glei pouco húmico textura média; PL: planossolo arenoso

Fonte: Gama-Rodrigues et al (1994)

O método do índice de ATP tem sido criticado pela grande variação entre o conteúdo de ATP e o C da biomassa microbiana. Todavia, este método pode ser útil em estudos de microsítios, tais como agregados, rizosfera e amostras profundas de sedimentos, visto que requer apenas pequenas quantidades de amostras. O método também pode ser aplicado nas comparações intra-sítios, quando há um grande número de repetições ou tratamentos (Horwath & Paul, 1994).

## 2.8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os métodos para a quantificação da biomassa microbiana devem ser ajustados para as condições edafoclimáticas brasileiras, determinando-se os fatores de correção respectivos para cada metodologia e nutriente analisados. Pelo que foi abordado sobre os diferentes métodos para se estimar a biomassa microbiana, seria conveniente o uso de mais de um método de quantificação dos microrganismos do solo.

A biomassa e a atividade microbiana devem fazer parte dos estudos de ciclagem de matéria orgânica e de nutrientes, tendo como enfoque a sua contribuição na decomposição e mineralização da matéria orgânica e, consequentemente, na fertilidade do solo, por meio do "turnover" microbiano

que torna os nutrientes disponíveis para as plantas. Além disso, a quantificação da biomassa e atividade microbiana quando associadas aos valores de pH e dos teores de C orgânico, N total, umidade e argila do solo, permitem uma avaliação sistêmica do manejo adotado e a obtenção de índices de aferição da sustentabilidade dos ecossistemas.

## **2.9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- AMATO, M. & LADD, J.N. Na assay for microbial biomass based on ninhydrin-reactive nitrogen in extracts of fumigated soils. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.20, p. 107-114, 1988.
- ANDERSON, J.P.E. Soil respiration. In: PAGE, A.L.; MILLER, R.H.; KEENEY, D.R. eds. *Method of soil analysis*. 2.ed. Part 2. Madison: American Society of Agronomy/Soil Science Society of America, 1982. p.831-871.
- ANDERSON, J.P.E.; DOMSCH, K.H. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.10, p. 215-221, 1978.
- ANDERSON, J.P.E.; DOMSCH, K.H. Quantities of plant nutrients in the microbial biomass of selected soils. *Soil Science*, Baltimore, v.130, n.4, p. 211-216, 1980.
- ANDERSON, J.P.E.; DOMSCH, K.H. Determination of ecophysiological maintenance carbon requirements of soil microorganisms in a dormant state. *Biology and Fertility of Soil*, Berlim, v.1, p. 81-89, 1985.
- ANDERSON, J.P.E.; DOMSCH, K.H. The metabolic quotient for CO<sub>2</sub> (qCO<sub>2</sub>) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.25, n.3, p. 393-395, 1993.
- BARROS, N.F.; NOVAIS, R.F. de; NEVES, J.C.L. *Fertilização e Correção do solo para o Plantio de Eucalipto*. In: Barros, N.F. de & Novais, R.F. de (eds). *Relação solo-eucalipto*. Viçosa, Editora. Folha de Viçosa, 1990. 330p.
- BREMER, E.; van KESSEL, C. Extractability of microbial <sup>14</sup>C and <sup>15</sup>N following addition of variable rates of labelled glucose and (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.22, p. 707-713, 1990.
- BREMER, E.; van KESSEL, C. Seasonal and microbial biomass dynamics after addition of lentil and wheat residues. *Soil Science Society of America Journal* v.56, p. 1141-1146, 1992.
- BROOKES, P.C.; POWLSON, D.S.; JENKINSON, D.S. Measurement of microbial biomass phosphorus in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v. 14, p. 319-329, 1982.

- BROOKES, P.C.; LANDMAN, A.; PRUDEN, G.; JENKINSON, D.S. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: a rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.17, n.6, p.837-842, 1985.
- BROOKES, P.C.; HEIJNEN, C.E.; McGRATH, S.P.; VANCE, E.D. Soil microbial biomass estimates in soils contaminated with metals. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.18, p. 383-388, 1986.
- CHANDER, K.; BROOKES, P.C. Residual effects of zinc, copper and nickel in sewage sludge on microbial biomass in a sandy loam. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.25, n.9, p.1231-1239, 1993.
- COUTEAX, M.M.; HENKINET, R. Anomalies in microbial biomass measurements in acid organic soils using extractable carbon following chloroform fumigation. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v. 22, p.955-958, 1991.
- DELLA-BRUNA, E.; BORGES, A.C.; FERNANDES, B.; BARROS, N.F.; MUCHOVEJ, R.M.C. Atividade da microbiota de solos adicionados de serrapilheira de eucalipto e de nutrientes. *Rev. bras. Ci. Solo, Campinas*, v. 15 p. 15-20, 1991.
- DEMÉTRIO, R. Efeitos da aplicação de matéria orgânica sobre a biomassa-C microbiana do solo e crescimento e absorção de nitrogênio em milho (*Zea mays*, L.). Itaguaí, RJ: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1988. 98p. Tese de Mestrado
- DORAN, J.W. Microbial biomass and mineralizable nitrogen distribution in no-tillage and plowed soils. *Biology and Fertility of Soils*, Berlim, v.5, p. 68-75, 1987.
- FEIGL, B.J.; SPARLING, G.P.; ROSS, D.J.; CERRI, C.C. Soil microbial biomass in Amazonian soils: evaluation of methods and estimates of pool sizes. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.27, n.11, p.1467-1472, 1995.
- GALLARDO, A.; SCHLESINGER, W.R. Estimating microbial biomass nitrogen using the fumigation-incubation and fumigation-extraction methods in a warm-temperate forest soil. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.22, n.7, p. 927-932, 1990.
- GAMA-RODRIGUES, E.F. da. Biomassa-C microbiana de solos de Itaguaí: comparação entre os métodos da fumigaçāo-incubação e fumigaçāo-extracāo. Itaguaí, RJ: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1992. 108p. Tese de Mestrado.
- GAMA-RODRIGUES, E.F.da; GUERRA, J.G.M; ALMEIDA, D.L. de; DE-POLLI, H. Biomassa microbiana de carbono de solos de Itaguaí (RJ): comparação entre os métodos fumigaçāo-incubação e fumigaçāo-extracāo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo, Campinas*, v. 18, p. 427-432, 1994.
- GAMA-RODRIGUES, E.F. DA, GAMA-RODRIGUES, A.C. DA & BARROS, N.F. DE Biomassa microbiana de carbono e de nitrogênio de solos sob

diferentes coberturas florestais. Revista Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, 1997 (prelo).

GHOSHAL, N.; SINGH, K.P. Effects of farmyard manure and inorganic fertilizer on the dynamics of soil microbial biomass in a tropical dryland agroecosystem. Biology and Fertility of Soils, Berlim, v.19, p. 231-238, 1995.

GREGORICH, E.G.; WEN, G.; VORONEY, R.P.; KACHANOSKI, R.G. Calibration of a rapid direct chloroform extraction method for measuring soil microbial biomass-C. Soil Biology and Biochemistry, Oxford, v. 22 p. 1009-1011, 1990.

GRISI, B.M.; GRAY, T.R.G. Biomassa microbiana estimada do biovolume com o uso da microscopia de fluorescência. Revista Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, v.9, p.131-138, 1985.

GRISI, B.M.; GRAY, T.R.G. Comparação dos métodos de fumigação, taxa de respiração em resposta a adição de glucose e conteúdo de ATP para estimar a biomassa microbiana do solo. Revista Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, v.10, p.109-115, 1986.

GRISI, B.M. Biomassa e necessidades energéticas das populações microbianas de solo. In: FURLANI, A.M.C.; FURLANI, P.R. & FREITAS, S.S., eds. A Responsabilidade social da ciéncia do solo. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciéncia do Solo, 1988. p.526.

GRISI, B.M. Biomassa e a atividade de microrganismos do solo: revisão metodológica. Revista Nordestina de Biologia, v. 10, n.1, p.1-22, 1995.

GUERRA, J.G.M.; FONSECA, M.C.C. da; ALMEIDA, D.C.; DE-POLLI, H.; FERNANDES, M.S. Conteúdo de fósforo na biomassa microbiana de um solo cultivado com *Brachiaria decumbens*. In: Congresso Brasileiro de Ciéncia do Solo, 22, Recife. Resumos. Recife: Sociedade Brasileira de Ciéncia do Solo, 1989. p.168.

GUPTA, V.V.S.R.; GERMIDA, J.J. Distribution of microbial biomass and its activity in different soil aggregate size classes as affected by cultivation. Soil Biology and Biochemistry, Oxford, v. 20, p. 777-786, 1988.

HASSINK, J. Effects of soil texture and grassland management on soil organic C and N and rates of C and N mineralization. Soil Biology and Biochemistry, Oxford, v.26, n.9, 1994.

HEDLEY, M.J.; STEWART, J.W.B. Method to measure microbial biomass phosphorus in soils. Soil Biology and Biochemistry, Oxford, v.14, p. 377-385, 1982.

HENROT, J.; ROBERTSON, G.P. Vegetation removal in two soils of the humid tropics: effects on microbial biomass. Soil Biology and Biochemistry, Oxford, v.26, p.111-116, 1994.

HORWATH, W.R.; PAUL, E.A. Microbial biomass. In: Methods of Soil Sanalysis, Part 2. Microbiological and Biochemical Properties - SSSA Book Series, 1021p., n 5. p. 753-773, 1994.

- INGHAM, E.R.; HORTON, K.A. Bacterial, fungal and protozoan responses to chloroform fumigation in stored soil. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.19 p. 545-550, 1987.
- INSAM, H. Are the soil microbial biomass and basal respiration governed by the climatic regime? *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v. 22, n. 4, p. 525-532, 1990.
- INSAM, H.; DOMSCH, K.H. Relationship between soil organic carbon and microbial biomass on chronosequences of reclamation sites. *Microbial Ecology*, New York, v. 15, p. 177-188, 1988.
- JENKINSON, D.S. Studies on the decomposition of plant material in soil. II. Partial sterilization of soil and the soil biomass. *Journal of Soil Science*, Oxford, v.17 p. 280-302, 1966.
- JENKINSON, D.S. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil- IV. The decomposition of fumigated organisms in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v. 8 p. 203-208, 1976.
- JENKINSON, D.S.; OADES, J.M. A method for measuring adenosine triphosphate in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.11, p. 193-199, 1979.
- 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, 1981. v.5, p.415-471.
- JENKINSON, D.S.;PARRY, L.C. The nitrogen cycle in the broadbalk wheat experiment: a model for the turnover of nitrogen through the soil microbial biomass. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.21, n.4, p. 535-541, 1989.
- JENKINSON, D.S.; POWLSON, D.S The effects of biocidal treatments on metabolism in soil- I. Fumigation with chloroform. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v. 8, p. 167-177, 1976a.
- JENKINSON, D.S.; POWLSON, D.S The effects of biocidal treatments on metabolism in soil- V. A method for measuring soil biomass. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v. 8, p. 209-213, 1976b.
- JENKINSON, D.S.; POWLSON, D.S.; WEDDERBURN, 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 fumigation. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.8, p.189-202, 1976.
- JENKINSON, D.S.; POWLSON, D.S Measurement of microbial biomass in intact soil cores and in sieved soil. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v. 12, p. 579-581, 1980.
- JOERGENSEN, R.G. The fumigation-extraction method to estimate soil microbial biomass: calibratiion of the  $k_{EC}$  value. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v. 28, n.1, p. 25-31, 1996.

- JOERGENSEN, R.G.; BROOKES, P.C. Ninhhydrin-reactive nitrogen measurements of microbial biomass in 0.5 M K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> soil extracts. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v. 22 p. 1023-1027, 1990.
- JOERGENSEN, R.G.; MUELLER, T. The fumigation-extraction method to estimate soil microbial biomass: calibratiion of the  $k_{EN}$  value. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v. 28, n.1, p. 33-37, 1996.
- 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 Biology and Biochemistry*, Oxford, v.24, p. 675-683, 1992.
- LYNCH, J.M.; PANTING, L.M. Cultivation and the soil biomass. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.12, n.1, p.29-33, 1980.
- LUNA, R.G. de; GRISI, B.M. Biomassa e atividade microbianas de solos cultivados com cana-de-açúcar, sob efeito da vinhaça. *Revista Nordestina de Biologia*, v.11, n.1, p. 15-29, 1996.
- MARTENS, R. Limitations in the application of the fumigation technique for biomass estimations in amend soils. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.17, p. 57-63, 1985.
- MARTENS, R. Current methods for measuring microbial biomass C in soil: Potentials and limitations. *Biology and Fertility of Soils*, Berlim, v. 19, p. 87-89, 1995.
- MARUAN, M.; SCHEU, S. Seasonal changes in microbial biomass and activity in leaf litter layers of beech (*Fagus sylvatica*) forests on a basalt-limestone gradient. *Pedobiologia*, v. 40, p.21-31, 1996.
- MARUMOTO, T.; ANDERSON, J.P.E. & DOMSCH, K.H. Mineralization of nutrients from soil microbial biomass. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.14, p. 469-475, 1982.
- MC LAUGHLIN, M.J.; ALSTON, A.M.; MARTIN, J.K. Measurement of phosphorus in the soil microbial biomass: a modified procedure for field soils. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.18, p. 437-443, 1986.
- NANNIPIERI, P.; JOHNSON, R.L.; PAUL, E.A. Criteria for measurement of microbial growth in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.10, p.223-229, 1978.
- OADES, J.M.; JENKINSON, D.S. Adenosine Triphosphate content of the soil microbial biomass. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.11, p.201-204, 1979.
- OCIO, J.A.; BROOKES, P.C. An evaluation of methods for measuring the microbial biomass in soils following recent additions of wheat straw and the characterization of the biomass that develops. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.22, n.5, p.685-694, 1990a.
- OCIO, J.A.; BROOKES, P.C. Soil microbial biomass measurements in sieved and unsieved soil. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.22, n.7, p.999-1000, 1990b.

- O'CONNEL, A.M. Microbial decomposition (respiration) of litter in eucalypt forests of south-western Australia: an empirical model based on laboratory incubations. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.22, n.2, p.153-160, 1990.
- ODUM, E.P. The strategy of ecosystem development. *Science*, v. p. 262-270, 1969.
- PAUL, E.A.; CLARK, F.E. *Soil Microbiology and Biochemistry*, California, Academic Press, 1989. 275p.
- PARKINSON, D.; COLEMAN, D.C. Methods for assessing soil microbial populations, activity and biomass-Microbial communities, activity and biomass. *Agriculture Ecosystems and Environment*, Amsterdam, v.34, p.3-33, 1991.
- PFENNING, L.; EDUARDO, B. de P.; CERRI, C.C. Os métodos da fumigaçāo-incubação e fumigaçāo-extração na estimativa da biomassa microbiana de solos da Amazônia. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Campinas, v.16, p. 31-37, 1992.
- ROSS, D.J. Soil microbial biomass estimated by the fumigation-incubation procedure: Seasonal fluctuations and influence of soil moisture content. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.19, n.4, p.397-404, 1987.
- ROSS, D.J. Modifications to the fumigation procedure to measure microbial biomass-C in wet soils under pasture: influence on estimates of seasonal fluctuations in the soil biomass. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v. 20 p. 377-383, 1988.
- ROSS, D.J. Estimations of soil microbial-C by a fumigation-extraction procedure: influence of soil moisture content. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v. 21, p. 767-772, 1989.
- ROSS, D.J.; SPARLING, G.P. Comparison of methods to estimate microbial C and N in litter and soil under *Pinus radiata* on a coastal sand. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.25, p. 1591-1599, 1993.
- ROSS, D.J.; SPARLING, G.P.; BURKE, C.M.; SMITH, C.T. Microbial biomass C and N, and mineralizable-N, in litter and mineral soil under *Pinus radiata* on a coastal sand: Influence of stand age and harvest management. *Plant and Soil*, Dodrecht, v. 175, p. 167-177, 1995.
- ROSS, D.J.; TATE, K.R. Microbial biomass in soil: Effects of some experimental variables on biochemical estimations. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v. 16, p. 161-167, 1984.
- ROSS, D.J.; TATE, K.R. Microbial C and N in litter and soil of a southern beech (*Nothofagus*) forest: comparison of measurement procedures. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.25, n.4, 467-475, 1993.
- ROSS, D.J.; TATE, K.R.; CAIRNS, A.; PANSIER, E.A. Microbial biomass estimations in soils from tussock grasslands by three biochemical procedures. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.12, p.375-383, 1980.

- SAGGAR, S.; BETTANY, J.R.; STEWART, J.W.B. Measurement of microbial sulfur in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.13, p. 493-498, 1981.
- SAMPAIO, E.V.S.B.; SALCEDO, I.H.; MAIA, L.C. Limitações no cálculo da biomassa microbiana determinada pelo método da fumigação em solos com adição recente de substrato orgânico ( $^{14}\text{C}$ ). *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Campinas, v. 10, p. 31-35, 1986.
- SAFFIGNA, P.G.; POWLSON, D.S.; BROOKES, P.C.; THOMAS, G.A. Influence of sorghum residues and tillage on soil organic matter and soil microbial biomass in an Australian Vertisol. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.21, p. 759-765, 1989.
- SHEN, S.M.; PRUDEN, G.; JENKINSON, D.S. Mineralization and immobilization of nitrogen in fumigated soil and the measurement of microbial biomass nitrogen. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.16, p. 437-444, 1984.
- SMITH, J.L.; PAUL, E.A. The significance of soil microbial biomass estimations. In: BOLLAG, J.M. & STOTZKY, G. eds. *Soil Biochemistry*, v 6, 1990. p.357-396.
- SPARLING, G.P.; ORD, B.G.; VAUGHAN, D. Microbial biomass and activity in soils amended with glucose. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v. 13, p. 99-104, 1981.
- SPARLING, G.P.; WEST, A.W.; WHALE, K.N. Interference from plant roots in the estimation of soil microbial ATP, C, N, and P. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.17, p.275-278, 1985.
- SPARLING, G.P.; WEST, A.W. A direct extraction method to estimate soil microbial biomass-C: Calibration in situ using microbial respiration and  $^{14}\text{C}$  labelled cells. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v. 20, p. 337-343, 1988.
- SPARLING, G.P.; FELTHAM, C.W.; REYNOLDS, J.; WEST, A.W.; SINGLETON, P. Estimation of soil microbial C by a fumigation extraction method: Use on soils of high organic matter, and a reassessment of the  $k_{EC}$  factor. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.22, p.301-307, 1990.
- SPARLING, G.P.; BRANDENBURG, S. A.; ZHU, C. Microbial C and N in revegetated wheatbelt soils in western Australia: estimation in soil, humus and leaf-litter using the ninhydrin method. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.26, n.9, 1994
- STEVENSON, F.J. Cycles of Soil - carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur, micronutrients, eds JOHN WILEY & SONS. 380p., 1986.
- TABATABAI, M.A. Soil enzymes. In: *Methods of Soil Snalysis*, Part 2. Microbiological and Biochemical Properties - SSSA Book Series, 1021p., n 5. pp. 775-883, 1994.
- 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 Biology and Biochemistry*, Oxford, v.20, n.3, p.329-335, 1988.

VANCE, E.D.; BROOKES, P.C.; JENKINSON, D.S. Microbial biomass measurements in forest soils: determination of  $K_c$  values and tests of hypotheses to explain the failure of the chloroform fumigation-incubation method in acid soils *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v. 19, p. 689-696, 1987a.

VANCE, E.D.; BROOKES, P.C.; JENKINSON, D.S. Microbial biomass measurements in forest soils: The use of the chloroform fumigation-incubation method in strongly acid soils. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v. 19, p. 697-702, 1987b.

VANCE, E.D.; BROOKES, P.C.; JENKINSON, D.S An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.19, n.6, p.703-707, 1987c.

VAN GESTEL, M.; LADD, J.N.; AMATO, M. Microbial biomass responses to seasonal change and imposed drying regimes at increasing depths of undisturbed topsoil profiles. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v. 24, n.2, p. 103-111, 1992.

VAN GESTEL, M.; MERCKX, R.; VLASSAK, K. Spatial distribution of microbial biomass in microaggregates of a silty-loam soil and the relation with the resistance of microorganisms to soil drying. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.28, n.4/5, p. 503-510, 1996.

VAN VEEN , J.A.; LADD, J.N.; FRISSEL, M.J. Modelling C and N turnover through the microbial biomass in soil. *Plant and Soil*, Dodrecht, v.76, p. 257-274, 1984.

VORONEY, R.P.; PAUL, E.A. Determination of  $K_c$  and  $K_N$  in situ for calibration of the chloroform fumigation-incubation method. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v. 16, p. 9-14, 1984.

VORONEY, R.P., WINTER, J.P.; BEYAERT, R.P. Soil Microbial biomass C and N. In: *Soil Sampling and Methods of Analysis*, eds M.R. CARTER. Canadian Society of Soil Science. p. 277-286, 1993.

WARDLE, D.A. A comparative assessment of factors which influence microbial biomass carbon and nitrogen levels in soil. *Biology Review*, Praga, v. 67, p. 321-358, 1992.

WARDLE, D.A.; PARKINSON, N.D. Interactions between microbial variables and the soil microbial biomass. *Biology and Fertility of Soils*, Berlim, v.9, p. 272-280, 1990.

WARDLE, D.A.; YEATES, G.W.; WATSON, R.N.; NICHOLSON, K.S. Response of soil microbial biomass and plant litter decomposition to weed management strategies in maize and asparagus cropping system. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.25, n.7, p. 857-868, 1993.

WEST, A.W.; ROSS, D.J.; COWLING, J.C. Changes in microbial C, N, P and ATP contents, numbers and respiration on storage of soil. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.18, p. 141-148, 1986.

WEST, A.W.; SPARLING, G.P. Correlation between four methods to estimate total microbial biomass in stored, air-dried and glucose-amended soils. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.18, p. 569-576, 1986.

## **CAPÍTULO 1**

**CARBONO E ATIVIDADE DA BIOMASSA MICROBIANA DO SOLO E DA  
SERAPILHEIRA DE PovoAMENTOS DE EUALIPTO**

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi o de avaliar a dinâmica do carbono da biomassa microbiana do solo e da serapilheira em povoamentos de eucalipto, cultivados em várias condições edafoclimáticas do sudeste brasileiro. Quantificaram-se o carbono da biomassa microbiana do solo e da serapilheira, a TRBM e a relação (C mic:C org). O carbono da biomassa microbiana do solo (CBMS) e da serapilheira (CBMP) foram estimados em povoamentos de eucalipto de 1 a 7 anos de idade, plantados em diferentes Municípios, sendo a amostragem realizada no período de março a novembro de 1995.

O CBM, a respiração acumulada (RA) o C orgânico do solo correlacionaram-se positivamente com o teor de argila. A TRBMS correlacionou-se negativamente e o CBMS positivamente com a precipitação pluviométrica (média mensal), bem como, o CBMP e a TRBMP apresentaram tendência positiva e negativa com a precipitação, respectivamente.

Os valores do CBMP e a respiração acumulada da serapilheira (RAP) ficaram na faixa de 4998 a 7308  $\mu\text{g}$  de C.g $^{-1}$  de serapilheira e de 6584 a 10674  $\mu\text{g}$  de C-CO $_2$ .g $^{-1}$  serapilheira, respectivamente e a TRBMP variou de 9409 a 20527  $\mu\text{g}$  de C-CO $_2$ .g $^{-1}$  de biomassa.h $^{-1}$ . A produção de serapilheira, em relação a idade de 1 ano, aumentou 52 % no segundo ano e apenas 20 % até o sétimo ano. Este acréscimo de serapilheira no segundo ano, foi acompanhado de uma tendência de aumento no CBMP e na TRBMP. No povoamento de 7 anos, o CBMP decresceu 32 % em relação aos 2 anos e a TRBMP aumentou 54 % em relação a 1 ano. O CBMS ficou na faixa de 168 a 232  $\mu\text{g}$  de C.g $^{-1}$  de solo, e apresentou a mesma tendência que o CBMP.

Não houve diferença significativa entre o eucalipto de 7 anos de idade e a floresta natural para TRBMS e para a relação C:N microbiana do solo. No

Não houve diferença significativa entre o eucalipto de 7 anos de idade e a floresta natural para TRBMS e para a relação C:N microbiana do solo. No entanto, com exceção da relação C:N do solo, o teor de C orgânico, a CBMS, a RAS e a relação Cmic:Corg do solo sob floresta natural foram significativamente maiores do que sob eucalipto. Os valores de RAP, a CBMP e a relação C:N microbiana da serapilheira foram similares entre as coberturas florestais. Por outro lado, o acúmulo de serapilheira e a TRBMP foram significativamente maiores no eucalipto do que na floresta natural, ao contrário para a relação Cmic:Corg.

Em povoamentos de eucalipto a serapilheira representa maior reserva de C microbiano do que o solo. A biomassa e a atividade microbiana do solo são influenciadas pela biomassa e a atividade microbiana da serapilheira. A biomassa e a atividade microbiana do solo são influenciadas por alguns atributos químicos e físicos do solo, como os teores de C orgânico, de N total e de argila. A floresta natural, em função da combinação de diferentes espécies, produziu uma serapilheira de melhor qualidade, expresso pela menor relação C:N e, consequentemente, maior eficiência da biomassa microbiana do solo e da serapilheira em utilizar o C orgânico.

## SUMMARY

The objective of this study was to estimate the dynamics of C in microbial biomass of soil and litter of eucalypt plantations in different conditions of soil and climate in the Brazilian Southeastern region. The carbon microbial biomass of soil and litter and the especific rate of respiration index of microbial biomass (TRBM) and the microbial C : organic carbon of soil were estimated. The carbon in microbial biomass of soil (CBMS) and litter (CBMP) were estimated in eucalypt plantations with age ranging from 1 to 7 year old, cultivated in different regions of Brazil and in areas of natural vegetation respective to each region. The samples were collected from March to November 1995.

The organic C CBMS, RAS and organic C of soil was positively correlated with clay content. The TRBMS was negatively correlated and CBMS positively correlated with rainfall. CBMP and TRBMP presented a tendency in a positive and negative correlation with rainfall, respectively.

The CBMP, RAP and TRBMP ranged from 4998 up to 7308  $\mu\text{g C.g}^{-1}$  litter, 6584 up to 10674  $\mu\text{g C-CO}_2\text{.g}^{-1}$  litter, and 9409 up to 20527  $\mu\text{g C-CO}_2\text{.g}^{-1}$  microbial  $\text{C.h}^{-1}$ , respectively. The litter production increased 52% in the 2 year-old year stand as compared with the one year old-stand, and increased only 20% 7 year old-stand. This increase in the litter in the 2 year-old year was followed by a tendency of increase in CBMP and TRBMP. In the 7 year old-stand the CBMP decreased 32% when it was compared with 2 year-old year-stand and increased 54% when it was compared with one year old-stand. The CBMS was ranged from 168 to 232  $\mu\text{g C.g}^{-1}$  soil and showed the same tendency of CBMP.

Significative difference not occurred among the eucalypt of 7 year-old and the natural forest for TRBMS and soil microbial C:N ratio. However, exception

Significative difference not occurred among the eucalypt of 7 year-old and the natural forest for TRBMS and soil microbial C:N ratio. However, exception of the soil C:N ratio, the organic C content, CBMS, RAS and Cmic:Corg ratio of the soil in natural forest were highest significatively than the eucalypt. The values of RAP, CBMP and microbial C:N ratio of litter were similary between the covers forests. Nevertheless, the litter accumulation and the TRBMP were highest significatively in eucalypt plantation than the natural forest, inversely to Cmic:Corg ratio.

## INTRODUÇÃO

Um povoamento de eucalipto acumula considerável quantidade de serapilheira, que funciona como um reservatório potencial de nutrientes. Mas a liberação de nutrientes da serapilheira depende da sua taxa de decomposição (Reis & Barros, 1990). Como a decomposição e a mineralização desses resíduos vegetais dependem da atividade microbiana, a avaliação da biomassa microbiana pode ser de grande utilidade na avaliação desse reservatório. A biomassa microbiana é o compartimento central do ciclo de C, que apresenta rápida ciclagem, sendo um reservatório de nutrientes e de energia potencialmente disponíveis para as plantas, representando um compartimento de fundamental importância nos estudos de ciclagem de nutrientes (Paul & Clark, 1989).

A atividade dos microrganismos é geralmente medida, em termos metabólicos, por meio de um ou mais indicadores: CO<sub>2</sub> emanado, O<sub>2</sub> absorvido, atividades enzimáticas e caloríficas e N, P, S mineralizados (Grisi, 1995). O termo respiração do solo é utilizado para indicar a absorção de O<sub>2</sub> e, ou, a liberação de CO<sub>2</sub> pelas entidades vivas e metabolizantes do solo. Já o termo respiração microbiana é empregado para indicar a absorção de O<sub>2</sub> ou liberação de CO<sub>2</sub> pelas bactérias, fungos, algas, protozoários no solo, incluindo as trocas de gases que resultam de ambos os metabolismos aeróbio e anaeróbio. A vantagem de se medir CO<sub>2</sub>, ao invés de O<sub>2</sub>, é porque o CO<sub>2</sub> reflete a atividade, tanto de microrganismos aeróbios quanto de anaeróbios (Anderson, 1982).

Alguns estudos tem tentado relacionar a quantidade de C-CO<sub>2</sub> com o C da biomassa microbiana na mesma amostra de solo. Esta proposta tem

Alguns estudos tem tentado relacionar a quantidade de C-CO<sub>2</sub> com o C da biomassa microbiana na mesma amostra de solo. Esta proposta tem suporte na hipótese de Odum (1969), na qual propõe, que a relação (respiração total)/(biomassa total) diminui com o tempo ou sucessão num ecossistema. Esta hipótese pode ser interpretada pela razão (respiração microbiana)/(biomassa microbiana), onde o quociente metabólico ( $qCO_2$ ) diminui com o aumento da maturidade da matéria orgânica do solo (Anderson & Domsch, 1985). O quociente metabólico pode ser usado para definir e quantificar a atividade microbiana e também para caracterizar os riscos de empobrecimento dos solos em termos de matéria orgânica (Insam & Domsch, 1988). Nesse sentido, o  $qCO_2$  prediz que: à medida que uma determinada biomassa microbiana se torna mais eficiente, menos C é perdido como CO<sub>2</sub> pela respiração e uma proporção de C é incorporada ao tecido microbiano. Contudo, Anderson & Domsch (1993) e Wardle (1993) propõem a utilização do  $qCO_2$  como um índice metabólico para avaliar o efeito das condições de "stress" sobre a atividade e a biomassa microbianas.

A relação C microbiano:C orgânico total expressa um índice da qualidade nutricional da matéria orgânica. Solos com matéria orgânica de baixa qualidade a biomassa microbiana encontra-se sob condições de "stress", tornando-se incapaz de utilizar totalmente o C orgânico. Nesse caso, a relação (C microbiano)/(C orgânico) diminui. Ao contrário, com adição de matéria orgânica de boa qualidade nutricional, a biomassa microbiana pode aumentar rapidamente, mesmo se os níveis do C orgânico do solo permanecerem inalterados (Wardle, 1993).

O objetivo deste trabalho foi o de avaliar a dinâmica do carbono da biomassa microbiana do solo e da serapilheira em povoamentos de eucalipto, cultivados em várias condições edafoclimáticas do sudeste brasileiro.

## MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de solo e de serapilheira foram coletadas em plantios comerciais de eucalipto com idades variando, em torno, de 1, 2, 4 e 7 anos, em cinco Municípios Brasileiros: ARACRUZ-ES (A), GUANHÃES-MG (G), LUÍS ANTONIO-SP (L.A), LENÇÓIS PAULISTAS-SP (L.P) e TRÊS MARIAS-MG (T.M). Foram feitas coletas nos meses de março e agosto de 1995, correspondendo, respectivamente, ao fim do período chuvoso e ao pico do período seco/frio. Nos povoamentos com idade de 7 anos, foram feitas mais duas coletas nos meses de maio e novembro. Em cada um dos Municípios, numa área sob floresta natural contígua à do povoamento de eucalipto de 7 anos (Quadro 1), foi feita uma coleta no mês de novembro do mesmo ano. Para cada Município, estabeleceram-se quatro parcelas (20 x 20m) permanentes, para amostragem dos solos. Em cada parcela, coletaram-se 23 amostras simples para formar uma amostra composta, da camada de 0-10cm.

As amostras de solo e de serapilheira foram armazenadas a 4°C até o período das análises. As amostras de solo foram destorreadas e passadas em peneira de 1,68mm de malha, homogeneizadas, retirando-se as raízes e resíduos visíveis de plantas e animais do solo. As amostras foram incubadas por 5 dias mantendo-se-as em recipiente grande contendo um frasco com água e outro com NaOH 1N para absorver o CO<sub>2</sub> liberado do solo. Após este período, foi feita a padronização da umidade, até atingir os equivalentes de umidade respectivos de cada uma das amostras. Procurou-se assim, aumentar a precisão das análises (Grisi, 1995).

Os solos foram analisados (Quadro 2) para a determinação do pH (em água) e teores de P, K (extraíveis, por Mehlich-1), Ca, Mg, Al (trocáveis, por KCl 1mol L<sup>-1</sup>) segundo Defelipo & Ribeiro (1981), C orgânico por oxidação

com  $K_2Cr_2O_7$ , 0,4 mol L<sup>-1</sup>, e N total pelo método Kjeldahl, conforme descrito em EMBRAPA (1979). A análise granulométrica foi feita segundo método da EMBRAPA (1979). Assumiu-se que o teor de C da serapilheira era de 50% do peso da matéria seca. A classificação dos solos, suas características químicas, físicas e as espécies de eucalipto plantadas encontram-se nos Quadros 1, 2 e 3.

A coleta da serapilheira, considerada aqui como todo material acumulado sobre o solo (folhas, galhos e cascas), em diferentes graus de decomposição, foi feita utilizando-se quadrados de madeira de 0,25m<sup>2</sup>. Depois de seco até peso constante, o material foi pesado e submetido a análise química para determinação do teor de N conforme descrito por Bataglia et al. (1983).

O método da fumigação-extracção foi utilizado para estimar o carbono (Tate et al., 1988) e o nitrogênio (Joergensen & Brookes, 1990) da biomassa microbiana do solo e da serapilheira (CBMS e CBMP; NBMS e NBMP, respectivamente). Pesaram-se 20 g de solo e 2g de serapilheira (3 amostras

**Quadro 1. Classificação dos solos, espécies de eucalipto utilizadas nos povoamentos e tipo florestal de cada região**

REGIÕES <sup>(1)</sup>	Classificação dos Solos	Espécies de eucalipto	Tipo Florestal
A	Podzólico Amarelo	<i>E.grandis</i> x <i>E.urophylla</i> <sup>(2)</sup>	Mata Atlântica
G	Latossolo Vermelho-Amarelo	<i>E.grandis</i>	Transição Mata Atlântica - Cerrado
L. A	Areia Quartzosa	<i>E.grandis</i>	Cerrado
L. P	Latossolo Vermelho-Escuro	<i>E.grandis</i>	Cerrado
T. M	Latossolo Vermelho-Amarelo	<i>E.urophylla</i>	Cerrado

(1) Aracruz-ES (A), Guanhães-MG (G), Luís Antonio-SP (L.A), Lençóis Paulistas-SP (L.P) e Três Marias-MG (T.M).

(2) Clone híbrido

fumigadas e 3 não-fumigadas). As amostras foram fumigadas com clorofórmio livre de álcool por 24 horas. O C das amostras não-fumigadas foi extraído no momento em que se começou a aplicação da fumigação às outras amostras.

A extração foi feita com 50 ml de  $K_2SO_4$  0,5 mol L<sup>-1</sup> com pH entre 6,5 e 6,8. As amostras foram agitadas por 30 minutos em aparelho de agitação com movimento circular-horizontal e ficaram em repouso por 30 minutos para decantação. Após esse período, foi feita a filtragem do sobrenadante. A determinação do C foi feita adicionando-se ao extrato  $K_2Cr_2O_7$  0,066 mol L<sup>-1</sup>,  $H_2SO_4$  e  $H_3PO_4$ . A mistura foi aquecida e o dicromato em excesso foi titulado com sulfato ferroso amoniacial 0,03 N.

O N microbiano foi determinado pelo método do N-reativo-de-ninidrina (Joergensen & Brookes, 1990).

O carbono da biomassa microbiana do solo e da serapilheira foram calculados pela seguinte fórmula:

$$CBM = \frac{\text{Fluxo de C extraído}}{k_{EC}}$$

$$k_{EC}$$

onde,

Fluxo de C extraído: representa a diferença entre a quantidade de C das amostras fumigadas e a quantidade de C das amostras não fumigadas;

$$k_{EC} = \text{fator de mineralização do C } 0,33 \text{ (Sparling & West, 1988)}$$

A respiração do solo e da serapilheira foram estimadas pela quantidade de C-CO<sub>2</sub> liberado no período de sete dias e cinco dias de incubação, respectivamente. A incubação foi feita colocando-se cada um dos frascos de solo (50 g) e de serapilheira (4 g) em potes contendo frascos com 10 ml de NaOH 1,0 M. Os potes foram hermeticamente fechados e após o período de incubação procedeu-se a titulação com HCl 0,5 M.

Foram feitas estimativas da Taxa de respiração específica da biomassa microbiana (TRBM) do solo e da serapilheira expressa da seguinte maneira:

$$TRBM = \mu\text{g de C-CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{ de C microbiano. H}^{-1}$$

Estimou-se a eficiência da biomassa microbiana em utilizar o C orgânico por meio da relação C microbiano:C orgânico do solo e da serapilheira expressa por: C mic:C org.

**Quadro 2. Caracterização química dos solos**

Região <sup>(1)</sup> /idade	pH	P ---mg/dm <sup>3</sup> ---	K ---cmolc/dm <sup>3</sup> ---	Al	Ca	Mg	C	N total
A/2	4,8	2,8	12	0,6	0,6	0,2	1,14	0,08
A/4	4,9	9,0	28	0,3	1,3	0,6	1,52	0,10
A/7	5,1	2,1	27	0,3	1,2	0,4	0,98	0,09
G/1	44	1,2	18	1,3	0,2	0	1,29	0,17
G/2	4,2	0,5	21	1,7	0,2	0	1,34	0,19
G/4	4,6	0,9	16	1,4	0,3	0	1,00	0,15
G/7	4,2	0,7	14	1,4	0,2	0	1,08	0,16
L. A/1	4,6	13,4	11	0,8	0,2	0,1	0,62	0,04
L. A/2	4,7	5,4	9	0,9	0,1	0,1	0,54	0,06
L. A/4	4,6	8,3	9	1,0	0,2	0	0,87	0,06
L. A/7	4,7	16	7	0,7	0,2	0,1	0,46	0,04
L. P/1	4,7	6,7	16	1,0	0,1	0,1	1,02	0,07
L. P/2	4,7	3,0	9	0,8	0,2	0,1	0,67	0,05
L. P/4	4,8	3,7	8	0,9	0,1	0,1	0,83	0,05
L.P/7	4,9	5,7	7	0,8	0,1	0,1	0,56	0,04
T. M/1	4,7	37	9	0,5	0,3	0,1	0,54	0,05
T. M/2	4,7	31	13	0,6	0,2	0,1	0,66	0,06
T. M/4	4,7	33	12	0,7	0,2	0,1	0,67	0,06
T. M7	4,7	22	10	0,6	0,4	0,1	0,64	0,06

(1) Aracruz-ES (A), Guanhães-MG (G), Luís Antonio-SP (L.A), Lençóis Paulistas-SP (L.P) e Três Marias-

MG (T.M).

**Quadro 3. Caracterização física e teor de umidade dos solos**

Região <sup>(1)</sup> /Idade	Areia Grossa	Areia Fina	Silte	Argila	Classe textural
-----%-----					
A/2	55	24	02	19	franco-arenoso
A/4	49	17	03	31	franco argilo-arenoso
A/7	42	20	05	33	franco argilo-arenoso
G/1	24	09	10	57	argila
G/2	32	08	09	51	argila
G/4	29	09	07	55	argila
G/7	23	09	09	59	argila
L. A/1	43	44	01	12	areia-franca
L. A/2	08	82	01	09	areia
L. A/4	55	36	02	07	areia
L. A/7	47	46	01	06	areia
L. P/1	53	32	03	12	areia-franca
L. P/2	55	33	02	10	areia-franca
L. P/4	58	28	01	13	areia-franca
L.P/7	48	37	02	13	areia-franca
T. M/1	25	61	01	13	areia-franca
T. M/2	24	54	04	18	franco-arenoso
T. M/4	31	47	03	19	franco-arenoso
T. M7	20	61	03	16	franco-arenoso

(1) Aracruz-ES (A), Guanhães-MG (G), Luís Antonio-SP (L.A), Lençóis Paulistas-SP (L.P) e Três Marias-MG (T.M).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

CBMS, RAS e TRBMS ficaram na faixa de 168 a 237  $\mu\text{g}$  de C.g $^{-1}$  de solo, 42 a 55  $\mu\text{g}$  de C-CO $_2$ . g $^{-1}$  de solo e 1159 a 1441  $\mu\text{g}$  de C-CO $_2$ . g $^{-1}$  de C microbiano. h $^{-1}$ , respectivamente (Figura 1). Contudo, o CBMP, RAP e a TRBMP variaram de 4998 a 7308  $\mu\text{g}$  de C.g $^{-1}$  de serapilheira, 6584 a 10674  $\mu\text{g}$  de C-CO $_2$ . g $^{-1}$  de serapilheira e 9409 a 20527  $\mu\text{g}$  de C-CO $_2$ . g $^{-1}$  de C microbiano. h $^{-1}$ , respectivamente (Figura 2). Estes resultados expressam a importância da serapilheira como reserva de C microbiano em comparação com o solo. Ross et al. (1995), em solos com C orgânico na faixa de 0,81 a 3,20%, na profundidade de 0-10 cm e em serapilheira de pinus de diferentes idades, encontraram valores de CBMS e CBMP variando de 167 a 386  $\mu\text{g}$  de C g $^{-1}$  solo, nas idades de 1 a 33 anos, e 6360 a 14470  $\mu\text{g}$  de C. g $^{-1}$  serapilheira nas idades entre 9 e 33 anos, respectivamente.

O acúmulo de serapilheira, em relação a idade de 1 ano, aumentou 52 % nos povoamentos de 2 anos de idade e apenas 20 % nos de 7 anos (Figura 2). Este acréscimo de serapilheira aos 2 anos provocou um estímulo à atividade microbiana, expresso pelo aumento da RAP e da TRBMP em 64 e 112%, respectivamente (Figura 2). Contudo, o acréscimo na atividade microbiana não provocou diminuição na quantidade de C immobilizado pelos microrganismos, pois houve um acréscimo de 15 % no CBMP. Sendo assim, nesta idade, o aumento da TRBMP teria sido pelo aumento da quantidade de substrato para atividade dos microrganismos. Wardle & Parkinson (1990) sugerem que um declínio na TRBM, acompanhado de uma queda na biomassa microbiana durante um período de incubação sem adição de substrato, foi decorrente da diminuição da quantidade de substrato disponível para a atividade dos

microrganismos. Em serapilheira não decomposta e em estágio inicial de decomposição, encontrou-se valores elevados da TRBM e de C da biomassa microbiana (Wardle, 1993).

Na idade de 7 anos houve um novo aumento da TRBMP de 54 %, seguido de um decréscimo de 32 % no CBMP (Figura 2), provavelmente, pela maior contribuição de galhos e cascas na queda do "litter" com o aumento da idade do eucalipto (Polglase & Attiwill, 1992), que apresentam maior quantidade de formas de C recalcitrantes, que são menos disponíveis para a biomassa microbiana. Em consequência, ocorreu um decréscimo da eficiência da biomassa microbiana em utilizar o C da serapilheira, indicada pela relação C mic/C org (Figura 2).

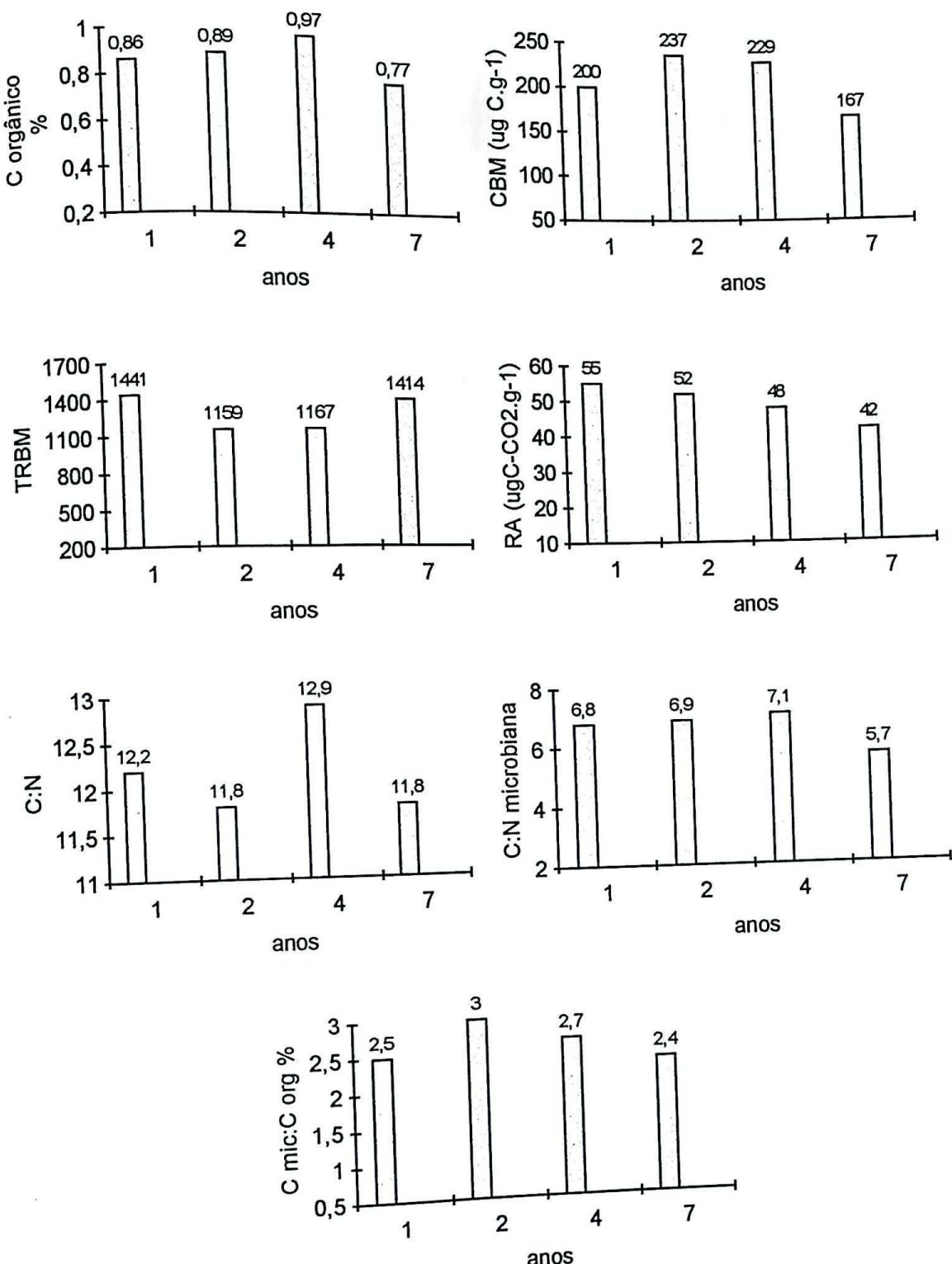
Wardle (1993) encontrou no horizonte A1 de solos sob florestas primárias e capoeiras da Nova Zelândia aumento da TRBM e diminuição da relação C mic:C org, devido provavelmente a diminuição do pH, redução dos níveis de nutrientes e aumento nos teores de C orgânico recalcitrante.

Encontraram-se correlações negativas significativas entre a TRBMP e o CBMP (Figura 3) e uma tendência linear negativa entre CBMP e NBMP ( $r = -0.49^\circ$ ). A relação C:N microbiana da serapilheira foi decrescente com as idades, diminuindo 49% aos 7 anos (Figura 2). Ou seja, a biomassa microbiana da serapilheira diminuiu sua eficiência em imobilizar C.

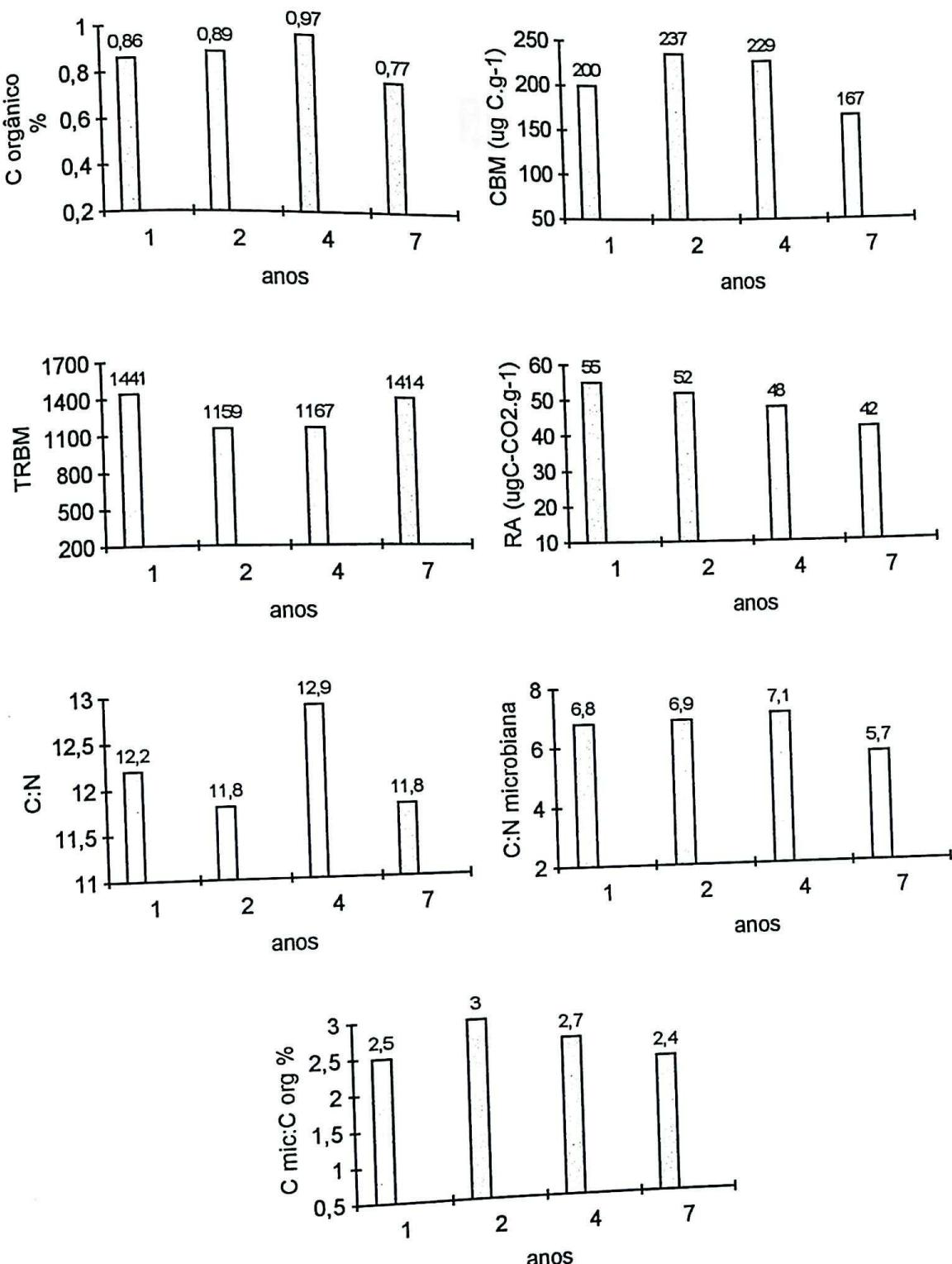
Houve correlação positiva entre a TRBMS e a TRBMP, bem como, entre as relações C mic:C org do solo e C mic:C da serapilheira. Encontrou-se uma tendência linear positiva entre o CBMP e o CBMS ( $r = 0.50^\circ$ ) (Figura 4). Neste caso, os resultados encontrados para biomassa microbiana e sua atividade no solo, foram um reflexo da acumulação e qualidade da serapilheira. Portanto, em solos sobre a biomassa e atividade microbiana da serapilheira. Portanto, em solos com baixos teores de matéria orgânica maior enfase deve ser dada ao estudo da biomassa microbiana da serapilheira e seus índices para a melhor avaliação da disponibilidade de C no ecossistema.

A RAS e CBMS apresentaram correlação positiva significativa com o C orgânico e N total dos solos (Figuras 5 e 6). Contudo, os maiores valores de coeficiente de correlação foram encontrados para as correlações com N total,

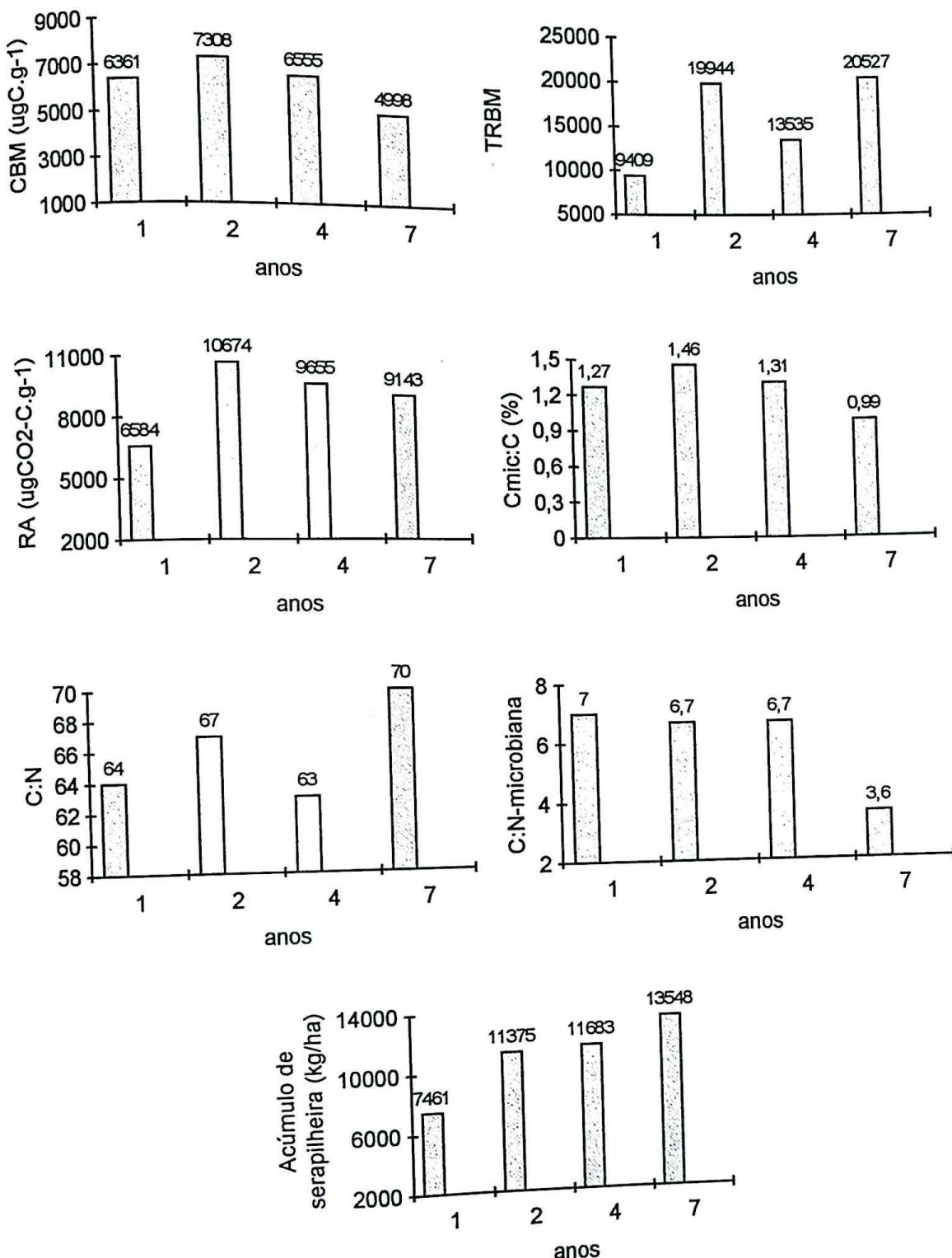
sugerindo que a biomassa microbiana e sua atividade seriam mais influenciadas pelo N do que pelo C do solo. Resultados similares foram encontrados por Martens (1987) e van der Werf & Werstrate (1987).



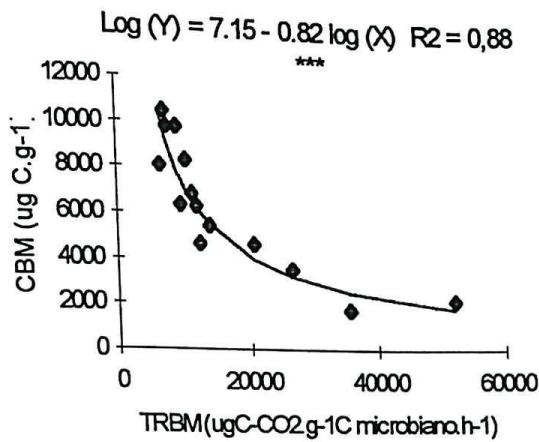
**Figura 1.** Carbono orgânico, C da biomassa microbiana, respiração acumulada, o índice TRBM ( $\mu\text{g C-CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{C microbiano} \cdot \text{h}^{-1}$ ) e as relações C mic:C org, C:N microbiana e C:N dos solos sob eucalipto de diferentes idades (média dos povoamentos nos Municípios).



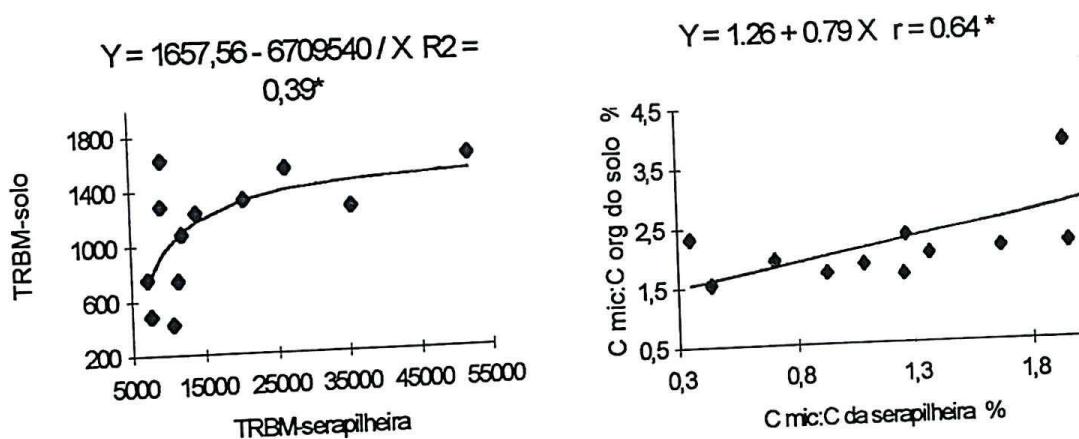
**Figura 1.** Carbono orgânico, C da biomassa microbiana, respiração acumulada, o índice TRBM ( $\mu\text{g C-CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{C microbiano. h}^{-1}$ ) e as relações C mic:C org, C:N microbiana e C:N dos solos sob eucalipto de diferentes idades (média dos povoamentos nos Municípios).



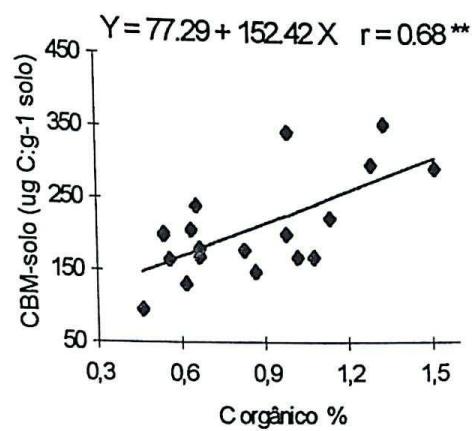
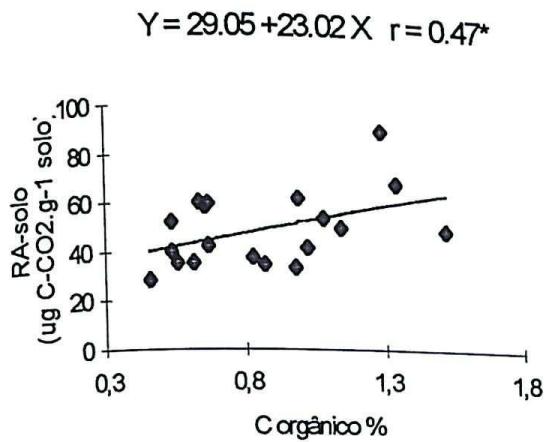
**Figura 2.** Acumulação de serapilheira, C da biomassa microbiana, respiração acumulada, o índice TRBM ( $\mu\text{g C-CO}_2\cdot\text{g}^{-1}\text{C}$  microbiano.  $\text{h}^{-1}$ ) e as relações Cmic:C, C:N microbiana e C:N da serapilheira de eucalipto em diferentes idades (média dos povoamentos nos Municípios).



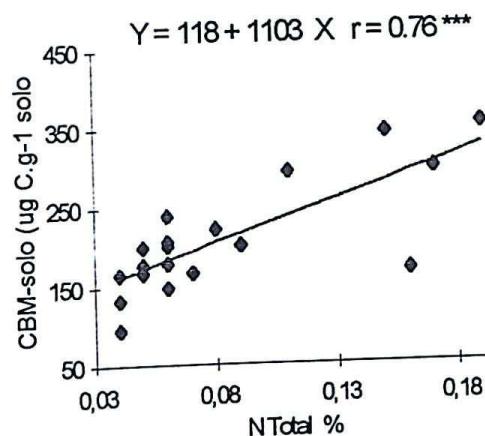
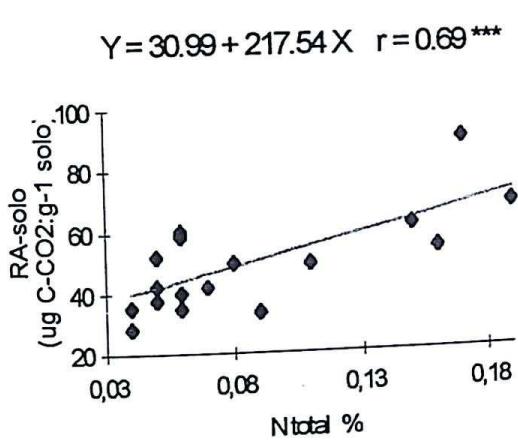
**Figura 3.** CBM-serapilheira em função da TRBM-serapilheira (média dos povoamentos nos Municípios).



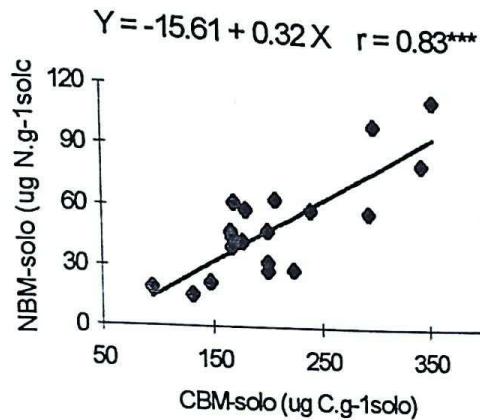
**Figura 4.** TRBM-solo em função da TRBM-serapilheira ( $\mu\text{g C-CO}_2\text{ g}^{-1}\text{C microbiano.h}^{-1}$ ) e a relação C mic:C org do solo em função da relação C mic:C da serapilheira (média dos povoamentos nos Municípios).



**Figura 5.** RA e CBM-solo em função do C orgânico do solo (média dos povoamentos nos Municípios).

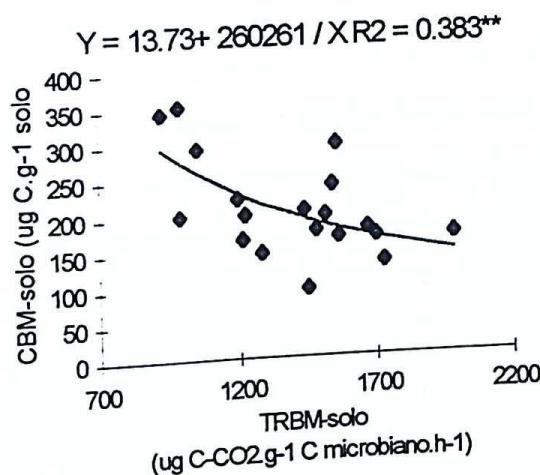


**Figura 6.** RA e CBM-solo em função do N total do solo (média dos povoamentos nos Municípios).



**Figura 7.** NBM-solo em função de CBM-solo (média dos povoamentos nos Municípios).

O CBMS correlacionou-se positivamente com o NBMS, o que indica que estes nutrientes estão sendo estimados do mesmo compartimento do solo (Figura 7). O CBMS correlacionou-se negativamente com o a TRBMS (Figura 8), sugerindo que à medida que a biomassa microbiana tornou-se menos eficiente, ou seja, perdeu mais carbono como CO<sub>2</sub>, menor proporção de carbono foi incorporado ao tecido microbiano. Santruckova & Straskaba (1991) encontraram uma relação hiperbólica negativa da biomassa microbiana com a TRBM, e concluíram que, a respiração microbiana pode ter produzido níveis de CO<sub>2</sub>-C que foram inibidores da biomassa microbiana.



**Figura 8.** CBM-solo em função de TRBM-solo (média dos povoamentos nos Municípios).

O CBMS, RAS e C orgânico do solo correlacionaram-se positivamente com o teor de argila (Figura 9). A adsorção de compostos orgânicos pelas argilas dificulta a sua decomposição, proporcionando seu acúmulo no solo (Stenvenson, 1982). A maior biomassa microbiana nos solos argilosos deve-se a sua proteção física nos microsítios contra predadores (Smith & Paul, 1990; Hassink et al., 1993).

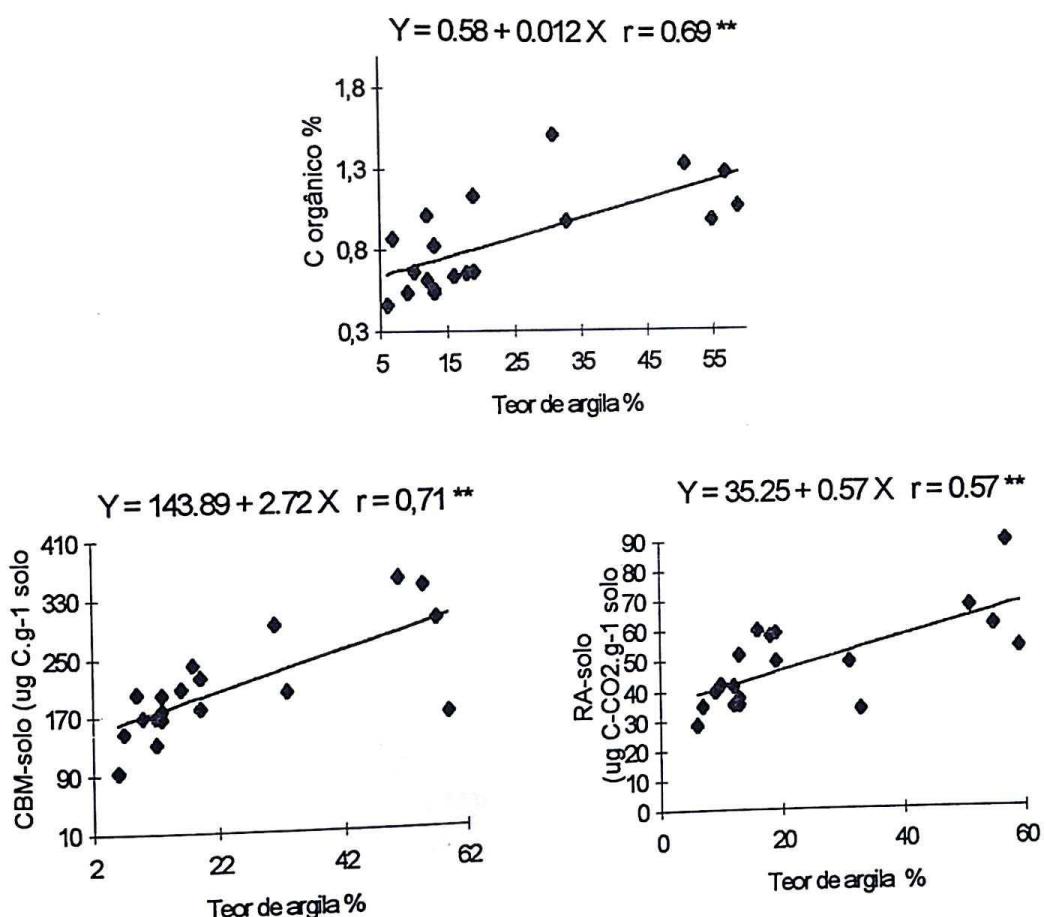
Encontraram-se correlações positiva do CBMS e negativa da TRBMS com a precipitação pluviométrica (Figura 10) e o C orgânico do solo correlacionou-se positivamente com a umidade do solo (Figura 11). O CBMP e TRBMP apresentaram tendência linear positiva ( $r = 0.82^\circ$ ,  $n= 4$ ) e negativa ( $r = -0.87^\circ$ ,  $n = 4$ ) com a precipitação pluviométrica, respectivamente.

Estes resultados evidenciam a importância da água na ação dos microrganismos durante o processo de decomposição da matéria orgânica e, consequentemente, na imobilização de nutrientes pela biomassa microbiana, principalmente por se tratarem de solos, na sua maioria, de textura arenosa a média, e caracterizados por baixa capacidade de retenção de água.

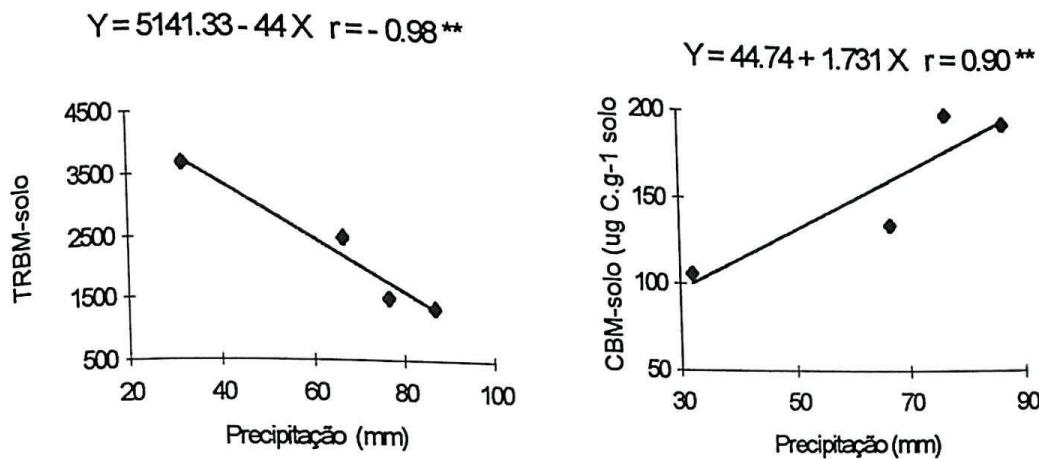
Não houve diferença significativa entre o eucalipto de 7 anos de idade e a floresta natural para TRBMS e para a relação C:N microbiana do solo (Quadro 4). No entanto, com exceção da relação C:N do solo, o teor de C orgânico, a CBMS, a RAS e a relação Cmic:Corg do solo sob floresta natural foram significativamente maiores do que sob eucalipto (Quadro 4). Os valores de RAP, a CBMP e a relação C:N microbiana da serapilheira foram similares entre as coberturas florestais (Quadro 5). Por outro lado, o acúmulo de serapilheira e a TRBMP foram significativamente maiores no eucalipto do que na floresta natural, ao contrário para a relação Cmic:Corg (Quadro 5).

A floresta natural, ao contrário do eucalipto, em função da combinação de diferentes espécies, produziu uma serapilheira de melhor qualidade, expresso pela menor relação C:N (Quadro 4). Segundo Gama-Rodrigues (1997) o eucalipto por apresentar maior eficiência de ciclagem bioquímica e com isso, maior imobilização de nutrientes na sua fitomassa, produz uma serapilheira de menor qualidade nutricional.

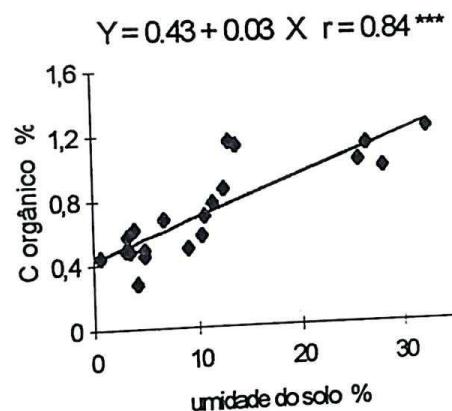
Consequentemente, esperar-se-ia maior quantidade de C da biomassa microbiana do solo sob eucalipto do que na floresta natural (Quadro 4), pois Gama-Rodrigues et al. (1997) encontraram maior imobilização de C na biomassa microbiana do solo sob eucalipto, que apresentou serapilheira de menor qualidade nutricional em comparação com a serapilheira de angico e de capoeira. É provável, que a menor eficiência da biomassa microbiana em utilizar o C orgânico do solo ( $C_{mic}:C_{org}$ ) sob eucalipto (Quadro 4), seja decorrente da maior contribuição de galhos e cascas na formação da serapilheira desse ecossistema na idade de 7 anos, por apresentarem maior quantidade de C recalcitrante.



**Figura 9. C orgânico, CBM e RA-solo em função do teor de argila dos solos (média dos povoamentos nos Municípios).**



**Figura 10.** TRBM ( $\mu\text{g C-CO}_2\cdot\text{g}^{-1}\text{C microbiano}\cdot\text{h}^{-1}$ ) e CBM-solo de eucalipto em função da precipitação mensal (média por época de coleta).



**Figura 11.** Carbono orgânico em função da umidade do solo (média dos povoamentos nos Municípios).

**Quadro 4. C orgânico, C da biomassa microbiana, respiração acumulada, o índice TRBM e as relações Cmic:Corg, C:N microbiana e C:N (médias dos Municípios)**

	C-orgânico	CBM	RA	TRBM	Cmic:Corg	C:N	C:N microbiana
	%	$\mu\text{g.g}^{-1}$		$\mu\text{g.g}^{-1.\text{h}^{-1}}$	%		
eucalipto	0,77 b <sup>(1)</sup>	133b	31b	1960a	1,46b	17a	4,82a
f. natural	1,08 a	256a	64a	1972a	2,37a	11b	4,00a

<sup>(1)</sup> Letras iguais na mesma coluna não houve diferença significativa pelo teste F ao nível de 5%.

**Quadro 5. Acumulação de serapilheira, C da biomassa microbiana, respiração acumulada, o índice TRBM e as relações Cmic:C, C:N microbiana e C:N da serapilheira de eucalipto com 7 anos de idade e sob floresta natural (médias dos Municípios)**

cobertura	A. S. *	CBM	RA	TRBM	Cmic:C	C:N	C:N microbiana
	$\text{kg.ha}^{-1}$	$\mu\text{g.g}^{-1}$		$\mu\text{g.g}^{-1.\text{h}^{-1}}$	%		
vegetal							
eucalipto	14455a <sup>(1)</sup>	2902a	9652a	31027a	0,58b	59a	6,14a
f. natural	9356b	5012a	9971a	18759b	1,00a	32b	8,87a

<sup>(1)</sup> Letras iguais na mesma coluna não houve diferença significativa pelo teste F ao nível de 5%.

\* A. S. acúmulo de serapilheira

## CONCLUSÕES

Em povoamentos de eucalipto a serapilheira representa maior reserva de C microbiano do que o solo.

A biomassa e a atividade microbiana do solo são influenciadas pela biomassa e a atividade microbiana da serapilheira.

A biomassa e a atividade microbiana do solo são influenciadas por alguns atributos químicos e físicos do solo, como os teores de C orgânico, de N total e de argila.

A floresta natural, em função da combinação de diferentes espécies, produziu uma serapilheira de melhor qualidade, expresso pela menor relação C:N e, conseqüentemente, maior eficiência da biomassa microbiana do solo e da serapilheira em utilizar o C orgânico.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSON, J.P.E. Soil respiration. In: PAGE, A.L.; MILLER, R.H.; KEENEY, D.R. eds. Method of soil analysis. 2.ed. Part 2. Madison: American Society of Agronomy/Soil Science Society of America, 1982. p.831-871.
- ANDERSON, J.P.E. & DOMSCH, K.H. Determination of ecophysiological maintenance carbon requirements of soil microorganisms in a dormant state. *Biology and Fertility of Soil*, 1: 81-89, 1985.
- ANDERSON, J.P.E.; DOMSCH, K.H. The metabolic quotient for CO<sub>2</sub> (qCO<sub>2</sub>) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.25, n.3, p. 393-395, 1993.
- BATAGLIA, O.C.; FURLANI, A.M.C.; TEIXEIRA, J.P.F.; FURLANI, P.R.; GALLO, J.R. *Métodos de análise química de plantas*. Campinas, Instituto Agronômico, 1983. 48p. (Boletim Técnico, 78)
- DEFELIPO, B.V.; RIBEIRO, A.C. Análise química do solo. Viçosa, UFV, 1981. 17p. (Boletim de Extensão 29).
- EMBRAPA. Serviço Nacional de Levantamento e Conservação de Solos. Rio de Janeiro, Manual de métodos de análise de solo. Rio de Janeiro, SNLCS, 1979. n.p
- GAMA-RODRIGUES, A.C. DA Ciclagem de nutrientes por espécies florestais em povoados puros e mistos, em solos de tabuleiro da Bahia, Brasil. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1997. Tese de Doutorado.
- GAMA-RODRIGUES, E.F. DA, GAMA-RODRIGUES, A.C. DA & BARROS, N.F. DE. Biomassa microbiana de carbono e de nitrogênio de solos sob diferentes coberturas florestais Revista Brasileira de Ciência do Solo, 1997 (prelo).
- GRISI, B.M. Biomassa e a atividade de microrganismos do solo: revisão metodológica. *Revista Nordestina de Biologia*, v. 10, n.1, p. 1-22, 1995.
- HASSINK, J., BOUWMAN, L.A. ZWART, K.B.; BRUSSAARD, L. Relationships between habitable pore space, soil biota and mineralization rates in grassland soils. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.25, p. 47-55, 1993.

- INSAM, H.; DOMSCH, K.H. Relationship between soil organic carbon and microbial biomass on chronosequences of reclamation sites. *Microbial Ecology*, New York, v. 15, p. 177-188, 1988.
- JOERGENSEN, R.G.; BROOKES, P.C. Ninhhydrin-reactive nitrogen measurements of microbial biomass in 0.5 M K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> soil extracts. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v. 22 p. 1023-1027, 1990.
- MARTENS, R. Estimation of microbial biomass in soils by the respiration method: importance of soil pH and flushing methods for measurement of respired CO<sub>2</sub>. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.19, 77-81, 1987.
- PAUL, E.A. & CLARK, F.E. *Soil Microbiology and Biochemistry*, California, Academic Press, 1989. 275p.
- POLGLASE, P.J. & ATTIWILL, P.M. Nitrogen and phosphorus cycling in relation to stand age of *Eucalyptus regnans* F. Muell. *Plant Soil*, Wageningen, 142: 157-166, 1992.
- REIS, M.G.F.; BARROS, N.F. de Ciclagem de Nutrientes em Plantios de Eucalipto. pp 265-302. In: Barros, N.F. de & Novais, R.F. de (eds). Relação solo-eucalipto. Viçosa, Folha de Viçosa, 1990, 330p.
- ROSS, D.J.; SPARLING, G.P.; BURKE, C.M.; SMITH, C.T. Microbial biomass C and N, and mineralizable-N, in litter and mineral soil under *Pinus radiata* on a coastal sand: Influence of stand age and harvest management. *Plant and Soil*, Dodrecht, v. 175, p. 167-177, 1995.
- SANTRUCKOVA, H.; STRASKABA, M. On the relationship between specific respiration, activity and microbial biomass in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v. 23, p. 525-531, 1991.
- SPARLING, G.P.; WEST, A.W. A direct extraction method to estimate soil microbial biomass-C: Calibration in situ using microbial respiration and <sup>14</sup>C labelled cells. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v. 20, p. 337-343, 1988.
- SMITH, J.L.; PAUL, E.A. The significance of soil microbial biomass estimations. In: BOLLAG, J.M. & STOTZKY, G. eds. *Soil Biochemistry*, v 6, 1990. p.357-396.
- STEVENSON, F.J. *Humus chemistry*. New York, John Wiley & Sons, Inc, 1982. 443p.
- 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 Biology and Biochemistry*, Oxford, v.20, n.3, p.329-335, 1988.
- van de WERF, H. & VERSTRAETE, W. Estimation of active soil microbial biomass by mathematical analysis of respiration curves: calibration of test procedures. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v. 19, p. 261-265, 1987.

WARDLE, D.A. Changes in the microbial biomass and metabolic quotient during leaf litter succession in some New Zealand forest and scrubland ecosystem. *Functional Ecology*, v.7, p.346-355, 1993.

WARDLE, D.A.; PARKINSON, N.D. Interactions between microbial variables and the soil microbial biomass. *Biology and Fertility of Soils*, Berlin, v.9, p. 272-280, 1990.

## **CAPÍTULO 2**

**NITROGÊNIO DA BIOMASSA MICROBIANA DO SOLO E DA SERAPILHEIRA  
DE POCOAMENTOS DE EUCALIPTO**

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi o de avaliar a dinâmica do N da biomassa microbiana do solo e da serapilheira de povoamentos de eucalipto, cultivados em várias condições edafoclimáticas do sudeste brasileiro.

Quantificou-se o nitrogênio da biomassa microbiana do solo (NBMS) e da serapilheira (NBMP) de eucalipto, em diferentes idades, estabelecendo-se as suas relações com o N mineral do solo e a composição química da serapilheira. As amostras de solo e de serapilheira foram coletadas em povoamentos de eucalipto de 1 a 7 anos de idade, plantados em cinco diferentes condições edafoclimáticas do Brasil. Foram feitas coletas nos meses de março e de agosto de 1995. Nos povoamentos com idade de 7 anos, foram feitas mais duas coletas nos meses de maio e novembro. Em cada uma das condições, numa área sob vegetação de floresta natural contígua à do povoamento de eucalipto de 7 anos, foi feita uma coleta no mês de novembro do mesmo ano.

A acumulação da serapilheira e sua relação C:N correlacionaram-se positivamente com o NBMP, sugerindo que a alta relação C:N levou a menor taxa de decomposição, e maior imobilização do N na biomassa microbiana. Neste caso, a biomassa microbiana da serapilheira de eucalipto exerceria uma função adicional de dreno de N, ao contrário da biomassa microbiana do solo, que estaria exercendo função de catalisadora e fonte de N, como foi indicado pela correlação positiva entre o NBMS e a relação N microbiano:N total do solo (N mic:Nt) com o N mineral.

O N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> correlacionou-se positivamente com o pH do solo e a precipitação pluviométrica, mas negativamente com o teor de argila, enquanto

o N-total do solo, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e NBMS apresentaram correlação positiva com a umidade do solo e o teor de argila e negativa com o pH do solo.

Os solos sob floresta natural apresentaram valores de N-total, N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e NBMS significativamente maiores do que nos solos sob eucalipto (Quadro 4). O eucalipto apresentou maior acúmulo de serapilheira e teor de N significativamente menor (0,88%) do que a serapilheira da floresta natural (1,60%) (Quadro 4).

Encontrou-se correlação negativa entre o N mineral do solo e a produção de biomassa vegetal e N absorvido pelo eucalipto.

A ciclagem microbiana dos solos sob eucalipto de diferentes idades variaram de 0,54 a 1,36 anos e o fluxo do N na biomassa microbiana variou de 40 a 98 kg.ha<sup>-1</sup>.ano<sup>-1</sup>, com as idades.

Em povoamentos de eucalipto a serapilheira representa maior reserva de N microbiano do que o solo. A maior relação C:N e quantidade da serapilheira afetam positivamente a quantidade de N microbiano da serapilheira. O N da biomassa microbiana do solo varia positivamente com os teores de C orgânico e N total do solo. A disponibilidade de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> do solo pode ser avaliada por meio da quantificação do N da biomassa microbiana e do N total do solo. O N da biomassa microbiana e os teores de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> do solo são influenciados pelo teor de argila.

## SUMMARY

The objective of this study was to quantify the available nitrogen in soil and litter of eucalypt plantations cultivated in five different conditions of soil and climate of the Brazilian Southeastern region.

The nitrogen microbial biomass of soil (NBMS) and litter (NBMP) was estimated in eucalypt plantations of different ages (1 to 7 years) and was found relation between soil mineral N and litter quality. The soil samples and litter was collected in eucalypt plantations with ages ranging from 1 up to 7 years old, cultivated in five different regions of Brazil. The samples were collected in March and August, 1995. At the plantations eucalypt seven year old, two additional sampling time were used in May and November. In each region an area of natural forest respective to each region, samples were collectd in November at the same year.

Litter accumulation in the eucalypt stands and the C:N ratio showed a linear relation with NBMP, suggesting that high litter C:N ratio results a low decomposition rate, favouring the imobilization of N by the microbial biomass. In this case, litter microbial biomass functions as N sink; contrarily, to the microbial biomass of soil, which functions as a catalyst and as a source, as indicated by the positive correlation between NBMS and N mic:Nt of soil with mineral N.

The N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> was positively correlated with soil pH and rainfall but negatively with clay content. However, soil total-N, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> were positively correlated with soil moisture and clay content and negatively with soil pH.

In soil in natural forest the values of total N, N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, and NBMS were highest significantly than the soil eucalypt plantation. In eucalypt the litter was highest and N contents was smallest than the litter natural forest.

The mineral N of soil was negatively correlated with eucalypt biomass production and N uptake. The microbial turnover of soils in eucalypt plantations, with different age, ranged from 0,54 to 1,36 year and the flux of N microbial biomass varied with age from 40 to 98 kg.ha<sup>-1</sup>.year<sup>-1</sup>.

The litter in eucalypt plantation was greater reserve N microbial than soil. The high litter C:N ratio and quantity affect positively the quantity of litter microbial N. The soil microbial N is affected positively by organic C and total-N contents. The soil N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> and N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> contents can be evaluated through the soil microbial biomass N and total-N. The soil N of microbial biomass and N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> and N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> contents are affected by the clay contents.

## INTRODUÇÃO

O eucalipto é a essência florestal mais plantada nos programas de reflorestamento no Brasil, sendo normalmente utilizado para áreas com solos de baixa fertilidade, e onde a quantidade e distribuição das chuvas limitam a sobrevivência e o crescimento das árvores. A adubação nitrogenada das plantações é realizada de modo empírico, em geral pela aplicação de formulações NPK, independente do tipo de solo, da espécie e época de plantio (Barros et al., 1990). A adubação nitrogenada racional requer avaliação das diferentes formas deste elemento no solo. A isso se associa a dependência da mineralização do N da atividade microbiana, que por sua vez é influenciada por fatores climáticos e edáficos (Urquiaga et al., 1993).

Para adoção de um manejo racional do nitrogênio na cultura do eucalipto, que leve em conta não somente o aumento da produtividade, mas também a manutenção do elemento nestes povoamentos, é necessário a avaliação da disponibilidade de N nos diferentes "pools" de N do ecossistema, ou seja, o N total e o N mineral do solo, o nitrogênio da biomassa microbiana do solo e da serapilheira e o N da serapilheira e o N absorvido pela cultura.

Dentro deste contexto, a biomassa microbiana é de grande importância, pois além de ser o compartimento central do ciclo do N no solo, apresenta uma rápida ciclagem, sendo, portanto, uma fornecedora potencial de N para a cultura. A biomassa microbiana, de acordo com as condições edafoclimáticas e a qualidade da matéria orgânica, pode funcionar, como catalisadora na decomposição da matéria orgânica e como fonte e dreno de nutrientes. (Paul & Clark, 1989, Wardle, 1992).

A quantificação do nitrogênio da biomassa microbiana de forma pontual, e sem estar associada a valores de pH e aos teores de C orgânico, de N total

A quantificação do nitrogênio da biomassa micobiana de forma pontual, e sem estar associada a valores de pH e aos teores de C orgânico, de N total e de argila do solo, não expressa adequadamente a dinâmica do N. Essa quantificação deve ser conduzida de maneira a permitir o monitoramento do nitrogênio, em função da sazonalidade, da idade da cultura e, ou, das várias etapas de um dado manejo (Game-Rodrigues et al., 1994; Game-Rodrigues et al., 1997; Ross et al., 1995).

O objetivo deste trabalho foi o de avaliar a dinâmica do N da biomassa micobiana do solo e da serapilheira de povoamentos de eucalipto, cultivados em várias condições edafoclimáticas do sudeste brasileiro.

## MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de solo e de serapilheira foram coletadas em plantios comerciais de eucalipto, em espaçamento 3 x 2 m, com idades em torno de 1, 2, 4 e 7 anos, nos seguintes Municípios: ARACRUZ-ES (A), GUANHÃES-MG (G), LUÍS ANTÔNIO-SP (L A), LENÇÓIS PAULISTAS-SP (L P) e TRÊS MARIAS-MG (T M). Foram feitas duas coletas em cada povoamento, nos meses de março e agosto de 1995, correspondendo, respectivamente, ao fim do período chuvoso e ao pico do período seco/frio. Nos povoamentos de idade de 7 anos, foram feitas mais duas coletas intermediárias, nos meses de maio e novembro. Em cada um dos Municípios, numa área sob floresta natural (Quadro 1), contígua à do povoamento de eucalipto de 7 anos, foi feita uma coleta no mês de novembro do mesmo ano. Em cada situação, estabeleceram-se quatro parcelas (20 x 20m) permanentes para amostragem do solo. Em cada parcela, coletaram-se 23 amostras simples para formar uma amostra composta da camada de 0-10cm.

As amostras de solo e de serapilheira foram armazenadas a 4°C até à época das análises de laboratório. As amostras de solo foram destoroadas, passadas em peneira de 1,68 mm de malha e homogeneizadas, retirando-se as raízes e resíduos visíveis de plantas e animais do solo. Com a finalidade de se estabilizar o efeito do peneiramento sobre a taxa de respiração dos microrganismos, as amostras foram incubadas por 5 dias, mantendo-se-as em recipiente grande, contendo um frasco com água e outro com NaOH 1N para absorver o CO<sub>2</sub> liberado do solo. Após este período, foi feita a padronização da umidade, até atingir os equivalentes de umidade respectivos de cada uma

**Quadro 1. Classificação dos solos, espécies de eucalipto utilizadas nos povoamentos e tipo florestal de cada região**

REGIÕES <sup>(1)</sup>	Classificação dos Solos	Espécies de eucalipto	Tipo Florestal
A	Podzólico Amarelo	<i>E.grandis</i> x <i>E.urophylla</i> <sup>(2)</sup>	Mata Atlântica
G	Latossolo Vermelho-Amarelo	<i>E.grandis</i>	Transição Mata Atlântica - Cerrado
L. A	Areia Quartzosa	<i>E.grandis</i>	Cerrado
L. P	Latossolo Vermelho-Escuro	<i>E.grandis</i>	Cerrado
T. M	Latossolo Vermelho-Amarelo	<i>E.urophylla</i>	Cerrado

(1) Aracruz-ES (A), Guanhães-MG (G), Luís Antonio-SP (L.A), Lençóis Paulistas-SP (L.P) e Três Marias-MG (T.M).

(2) Clone híbrido

das amostras, devido a resposta rápida da biomassa microbiana ao aumento do potencial de água do solo (Kieft et al. 1987; Grisi, 1995).

Os solos foram analisados para a determinação do pH (em água) e teores de P e K (extraíveis por Mehlich-1) Ca, Mg e Al (trocáveis, por KCl 1mol L<sup>-1</sup>) segundo Defelipo & Ribeiro (1981), C orgânico por oxidação com K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 0.4 mol L<sup>-1</sup> e N total pelo método Kjeldahl, conforme descrito em EMBRAPA (1979). A extração do N mineral foi feita com KCl 1 mol L<sup>-1</sup>, e a dosagem do N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e do N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> foi feita pelo sistema de fluxo contínuo (FIA) (Alves, 1992). A determinação do N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> foi feita utilizando-se os reagentes: salicilato de sódio/nitroprussiato de sódio (vazão de 2,01 ml/min); solução tampão de citrato de sódio e hidróxido de sódio (vazão de 0,58 ml/min) e hipoclorito de sódio 5% (vazão de 1,06 ml/min). Os reagentes foram colocados em fluxo juntamente a um carreador (KCl), que foi utilizado como "branco" nas análises. Uma vez zerada a absorbância no espectrofotômetro iniciou-se a análise. Antes da amostra entrar em fluxo com os reagentes ela passou por um "loop" (um loop de 75 cm, que define sempre o mesmo volume para a amostra). Depois de completado o volume, posicionou-se a alavanca do injetor comutador de banho-forma a colocar o "loop" no fluxo do carreador. O fluxo passou por um banho-

maria e a cor foi lida no comprimento de onda de 647 nm em espectrofômetro.

Na determinação do N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> é dispensado o banho-maria, e utilizou-se uma coluna de cádmio cuperizada para a redução do NO<sub>3</sub><sup>-</sup> a NO<sub>2</sub><sup>-</sup>. Os reagentes utilizados foram: NH<sub>4</sub>Cl, Bórax, EDTA-Na (vazão de 0,60 ml/min); sulfanilamida/N-naftil etilenodiamino (1,0 ml/min) e o carreador (KCl, vazão de 5,07 ml/min), seguindo-se o mesmo procedimento descrito para o N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.

A análise granulométrica das amostras de solo foi feita segundo método descrito em EMBRAPA (1979). A classificação dos solos, suas características químicas, físicas e as espécies de eucalipto plantadas encontram-se nos Quadros 1, 2 e 3.

A serapilheira, considerada aqui como todo material acumulado sobre o solo, em diferentes graus de decomposição, foi amostrada utilizando-se quadrados de madeira variando de 0.09m<sup>2</sup> a 0.25m<sup>2</sup> de área, conforme os Municípios. Depois de seco até peso constante, o material foi pesado e submetido à análise química para determinação do teor de N pelo método Kjeldahl, descrito por Bataglia et al. (1983). Assumiu-se que o teor de C da serapilheira era de 50% do peso da matéria seca.

O método da fumigaçāo-extrāção foi utilizado para estimar o nitrogénio da biomassa microbiana do solo (NBMS) e da serapilheira (NBMP) (Brookes et al., 1985). Pesaram-se 20 g de solo e 2g de serapilheira, sendo três amostras submetidas à fumigaçāo e três não. As amostras foram fumigadas com clorofórmio livre de álcool por 24 horas. A extração do N foi feita com K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.5 mol L<sup>-1</sup>, com pH entre 6,5 e 6,8. Foi feita a determinação do N pelo método do N-reativo de-ninidrina (Joergensen & Brookes, 1990). Em tubos de ensaio de 20 ml, adicionaram-se o extrato (0,75 ml), ácido cítrico tampão (1,75 ml) e o reagente de ninidrina (1,25 ml). Os tubos de ensaio foram mantidos em banho-maria por 25 minutos, com temperatura em torno de 100°C. A solução foi resfriada em temperatura ambiente e adicionaram-se 4,5 ml de uma solução de etanol:água, na relação 1:1. Após a homogeneização, procedeu-se à leitura em

espectrofômetro ajustado para o comprimento de onda de 570 nm. As amostras em "branco" eram compostas de todos os reagentes menos o extrato.

O nitrogênio da biomassa microbiana do solo e da serapilheira foi considerado como igual ao fluxo de N extraído, que foi obtido pela diferença entre o nitrogênio-ninidrina das amostras fumigadas e o nitrogênio-ninidrina das amostras não fumigadas.

Quantificou-se a biomassa (folhas, galhos, casca e lenho) de árvores de cada uma das parcelas de amostragem, usando-se árvores com dimensões próximas às da média de cada idade. O peso da matéria seca dos componentes das árvores foi determinado com base no peso de amostras submetidas à secagem em estufa a 75°C até peso constante.

O cálculo da demanda de N pelo eucalipto nas diferentes idades, foi feito considerando a quantidade absorvida pela cultura e a retida pela serapilheira em cada idade. A taxa de decomposição utilizada no cálculo de fornecimento de N pela serapilheira foi obtida de Ferreira (1984):

Idade de 2 anos

103 kg/ha de N folha (Quadro 5) - 100

29 kg/ha de N serapilheira <sup>(1)</sup> - X

X = 28 % que foram retidos pela serapilheira

$(103 * 28)/100 = 29\text{kg/ha N}$  que foram retidos pela serapilheira

29 kg + 96kg<sup>(2)</sup> = 125 kg/ha demanda de N na idade de 2 anos

<sup>(1)</sup> diferença de N da serapilheira entre as idades de 2 e 1 anos (Figura 2)

<sup>(2)</sup> diferença de N absorvido pelo eucalipto entre as idades de 2 e 1 anos (Figura 1)

O mesmo procedimento foi feito para as demais idades

Fornecimento de N pela serapilheira:

Taxa de decomposição da serapilheira de eucalipto nas diferentes idades  
(Ferreira, 1984)

Idades (anos)	Taxa de decomposição	
		(perda em peso %)
1		33
2		33
4		45
7		60

2 Anos

87 kg/ha de N acumulado na serapilheira (Figura 2) x 33%  $\approx$  19 kg/ha

O mesmo procedimento foi dado as demais idades

Foram feitas as seguintes estimativas:

**Ciclagem microbiana (CM)** por meio da seguinte fórmula (Smith & Paul, 1990):

$$CM(\text{ano}) = NBMS / (\text{N via queda do "litter"} + 43\% \text{ do N absorvido pelo eucalipto})$$

onde,

IDADES	N-via queda do "litter" <sup>(1)</sup>
anos	kg.ha <sup>-1</sup> .ano <sup>-1</sup>
2.1	30,4
3.0	30,6
4.1	29,6
5.0	30,7

<sup>(1)</sup> Ferreira (1984)

Os valores de N via queda do "litter" estimados por Ferreira (1984) em povoados de eucalipto de diferentes idades são provenientes de locais diferentes

N mic:Nt: representa a relação N microbiano : N-total do solo

$$\text{Nmic:Nt (\%)} = (\text{NBMS} / \text{N-total do solo}) / 100$$

onde,

NBMS = nitrogênio da biomassa microbiana do solo

**Quadro 2. Caracterização química dos solos**

Região <sup>(1)</sup> /idade	pH	P ---mg/dm <sup>3</sup> ---	K ---mg/dm <sup>3</sup> ---	Al -----	Ca -----cmolc/dm <sup>3</sup> -----	Mg -----	C -----%	N total -----%
A/2	4,8	2,8	12	0,6	0,6	0,2	1,14	0,08
A/4	4,9	9,0	28	0,3	1,3	0,6	1,52	0,10
A/7	5,1	2,1	27	0,3	1,2	0,4	0,98	0,09
G/1	44	1,2	18	1,3	0,2	0	1,29	0,17
G/2	4,2	0,5	21	1,7	0,2	0	1,34	0,19
G/4	4,6	0,9	16	1,4	0,3	0	1,00	0,15
G/7	4,2	0,7	14	1,4	0,2	0	1,08	0,16
L. A/1	4,6	13,4	11	0,8	0,2	0,1	0,62	0,04
L. A/2	4,7	5,4	9	0,9	0,1	0,1	0,54	0,06
L. A/4	4,6	8,3	9	1,0	0,2	0	0,87	0,06
L. A/7	4,7	16	7	0,7	0,2	0,1	0,46	0,04
L. P/1	4,7	6,7	16	1,0	0,1	0,1	1,02	0,07
L. P/2	4,7	3,0	9	0,8	0,2	0,1	0,67	0,05
L. P/4	4,8	3,7	8	0,9	0,1	0,1	0,83	0,05
L.P/7	4,9	5,7	7	0,8	0,1	0,1	0,56	0,04
T. M/1	4,7	37	9	0,5	0,3	0,1	0,54	0,05
T. M/2	4,7	31	13	0,6	0,2	0,1	0,66	0,06
T. M/4	4,7	33	12	0,7	0,2	0,1	0,67	0,06
T. M7	4,7	22	10	0,6	0,4	0,1	0,64	0,06

(1) Aracruz-ES (A), Guanhães-MG (G), Luís Antonio-SP (L.A), Lençóis Paulistas-SP (L.P) e Três Marias-MG (T.M).

**Quadro 3. Caracterização física e teor de umidade dos solos**

Região <sup>(1)</sup> /Idade	Areia Grossa	Areia Fina	Silte	Argila	Classe textural
-----%-----					
A/2	55	24	02	19	franco-arenoso
A/4	49	17	03	31	franco argilo-arenoso
A/7	42	20	05	33	franco argilo-arenoso
G/1	24	09	10	57	argila
G/2	32	08	09	51	argila
G/4	29	09	07	55	argila
G/7	23	09	09	59	argila
L. A/1	43	44	01	12	areia-franca
L. A/2	08	82	01	09	areia
L. A/4	55	36	02	07	areia
L. A/7	47	46	01	06	areia
L. P/1	53	32	03	12	areia-franca
L. P/2	55	33	02	10	areia-franca
L. P/4	58	28	01	13	areia-franca
L.P/7	48	37	02	13	areia-franca
T. M/1	25	61	01	13	areia-franca
T. M/2	24	54	04	18	franco-arenoso
T. M/4	31	47	03	19	franco-arenoso
T. M7	20	61	03	16	franco-arenoso

(1) Aracruz-ES (A), Guanhães-MG (G), Luís Antonio-SP (L.A), Lençóis Paulistas-SP (L.P) e Três Marias-MG (T.M).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os solos amostrados neste estudo são fortemente ácidos e apresentam teor de argila variando de 6 a 59%, na profundidade de 0 a 10 cm (Quadros 2 e 3). Os teores médios de C orgânico e de N-total foram de 0,86% e 0,08% (Quadro 2), respectivamente. A forma de N mineral predominante foi de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (Figura 1). O NBMS e o NBMP variaram entre as idades de 45 a 55 µg de N.g<sup>-1</sup> solo e 903 a 1386 µg de N.g<sup>-1</sup> serapilheira, respectivamente (Figuras 1 e 2). Os maiores valores de NBMP em relação a NBMS sugerem que a serapilheira seria uma importante reserva de N microbiano em povoamentos de eucalipto . Ross et al. (1995), em plantios de pinus com idades variando de 1 a 33 anos, na Nova Zelândia, encontraram na camada de solo de 0 a 10 cm, valores de C orgânico de 0,81 a 3,20%, de N total de 0,07 a 0,11%, de N-valores de C orgânico de 0,81 a 3,20%, de N total de 0,07 a 0,11%, de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> de 8 µg.g<sup>-1</sup> e de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> de 7 µg.g<sup>-1</sup>. Os valores do NBMS e NBMP ficaram na faixa de 22 a 56 µg de N.g<sup>-1</sup> solo e 564 a 1060 µg de N.g<sup>-1</sup> serapilheira, respectivamente, próximos aos encontrados no presente trabalho, apesar das diferenças de idades.

O N-total, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e NBMS correlacionaram-se positivamente com o C orgânico (Figura 3). Segundo Attiwill et al. (1996), a disponibilidade de N na superfície dos solos de floresta de eucalipto é controlada pelo C oxidável.

O N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> correlacionou-se positivamente e o N total e o N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> negativamente com o pH do solo (Figura 4), e o NBMS apresentou uma tendência negativa ( $r = -0.43^\circ$ ). O N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e o NBMS apresentaram correlação positiva com o N total, mas o N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> correlacionou-se negativamente. O N-

$\text{NH}_4^+$  e o  $\text{N-NO}_3^-$  apresentaram entre si relação inversa e o NBMS apresentou correlação positiva com o  $\text{N-NO}_3^-$  e negativa com o  $\text{N-NH}_4^+$  (Figuras 5, 6 e 7).

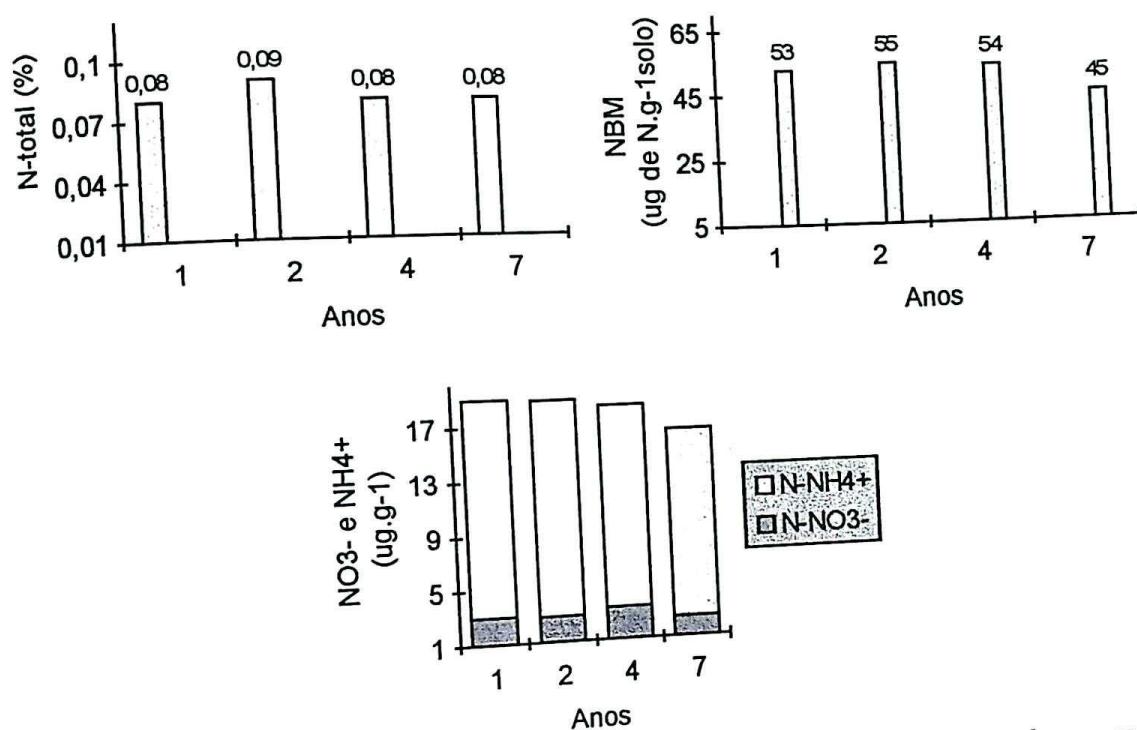
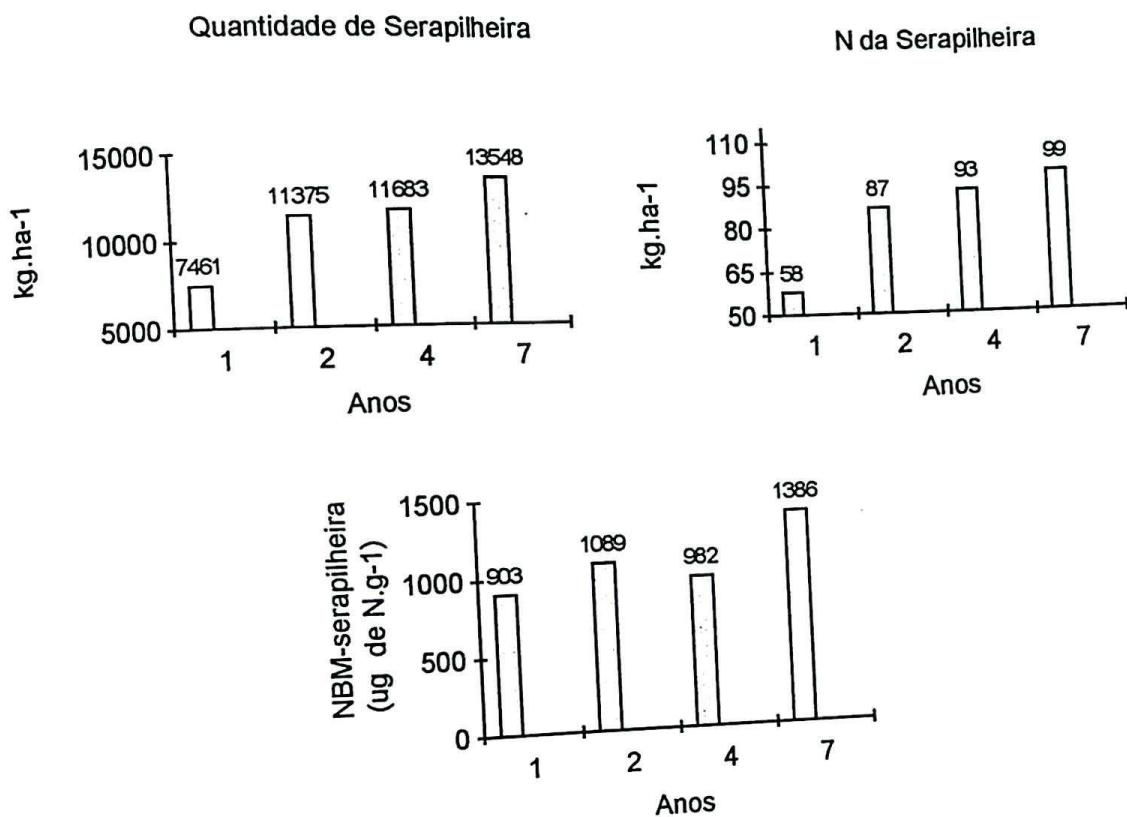
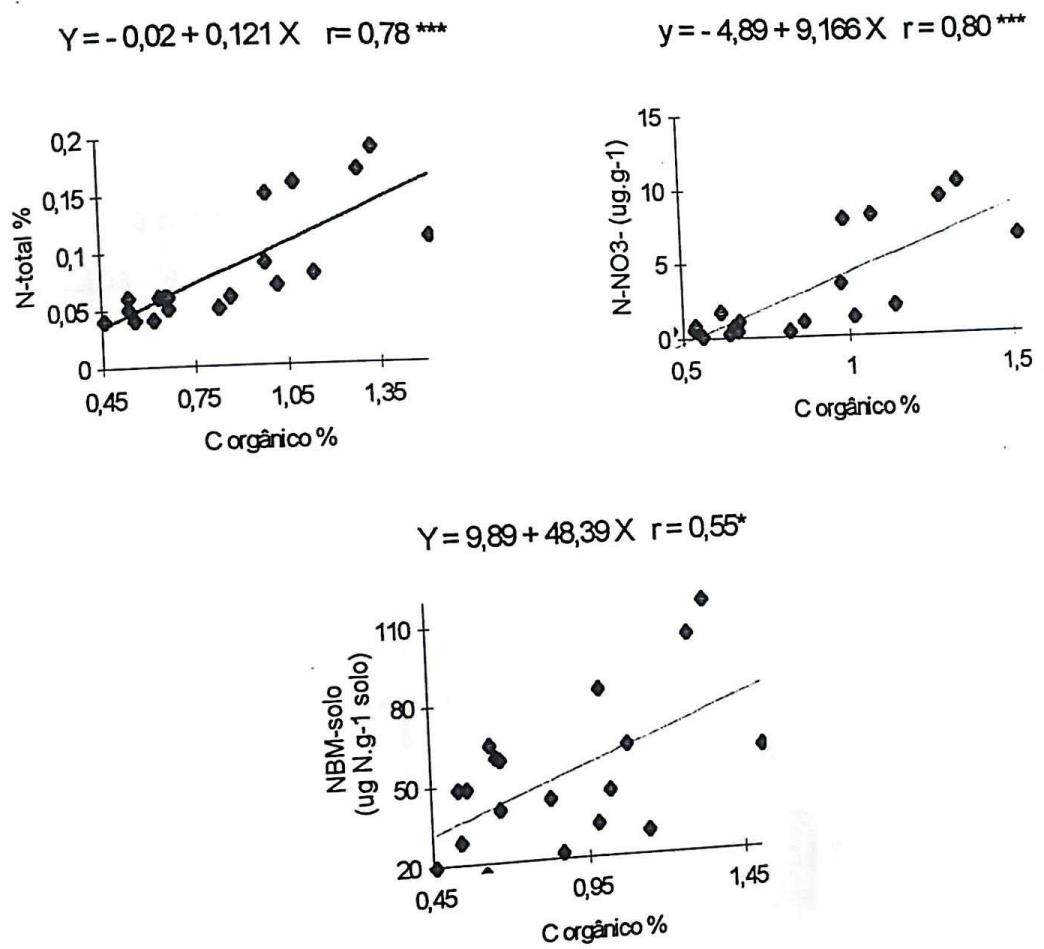


Figura 1. Teores de N dos diferentes "pools" do solo de acordo com as idades dos povoamentos (média dos povoamentos nos Municípios).



**Figura 2.** Quantidade de serapilheira e seu conteúdo de N e N da biomassa microbiana da serapilheira de eucalipto sob diferentes idades (média dos povoamentos nos Municípios).



**Figura 3. Valor de N-total, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e NBMS em função do teor de C orgânico (média dos povoamentos nos Municípios).**

Segundo Paul & Clark (1989), em solos florestais com pH fortemente ácido a nitrificação poderia ocorrer pela decomposição de material rico em N em microsítios do solo, onde o pH se elevaria durante a mineralização do N, ficando maior do que o pH da solução do solo, e, ou, pela ação de microrganismos nitrificadores heterotróficos que são mais tolerantes a acidez do que os microrganismos nitrificadores autotróficos.

No entanto, a variação do N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e do N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> com o pH do solo pode estar relacionada com a variação textural dos solos, pois encontrou-se correlação positiva do N-total, NBMS e N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e negativa do N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> com o teor de argila (Figura 8). Ou seja, os solos de pH mais baixo (pH 4,2-4,6) foram os argilosos e os de pH mais alto (4,7-5,1) com textura mais arenosa (Quadros 2 e 3). Assim, o aumento do N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> com o pH do solo, seria devido ao aumento da mineralização do N nos solos mais arenosos, pois a adsorção de compostos de N orgânico pelas argilas dificulta a sua decomposição e exerce também uma proteção aos microrganismos contra os predadores, proporcionando assim, um estímulo à biomassa microbiana (Stevenson, 1982; Smith & Paul, 1990).

Os menores teores de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> nos solos com valores maiores de pH (Figura 4), foi devido provavelmente, a estes solos serem de textura mais arenosa, sujeitos, portanto, a maiores perdas de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> por lixiviação. Além disso, deve-se considerar que o processo de nitrificação acidifica o solo, e os valores de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> encontrados são provenientes de uma amostragem pontual.

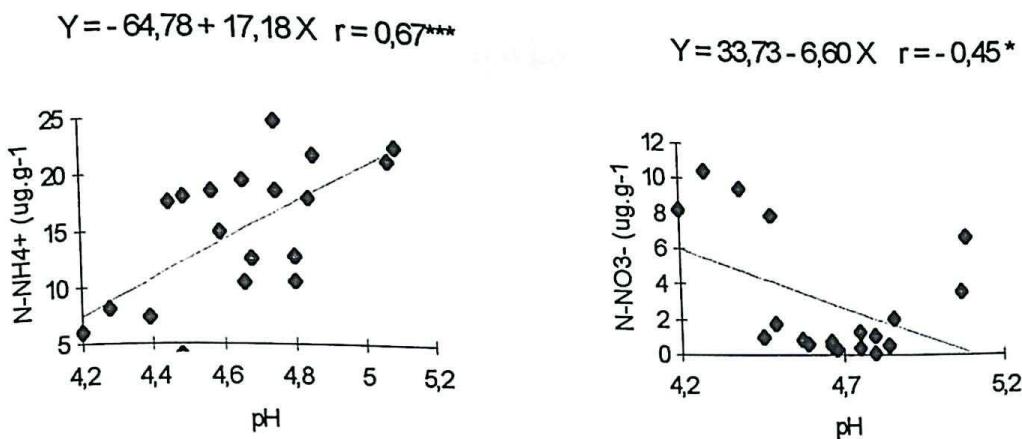


Figura 4. N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> em função do pH do solo (média dos povoamentos nos Municípios).

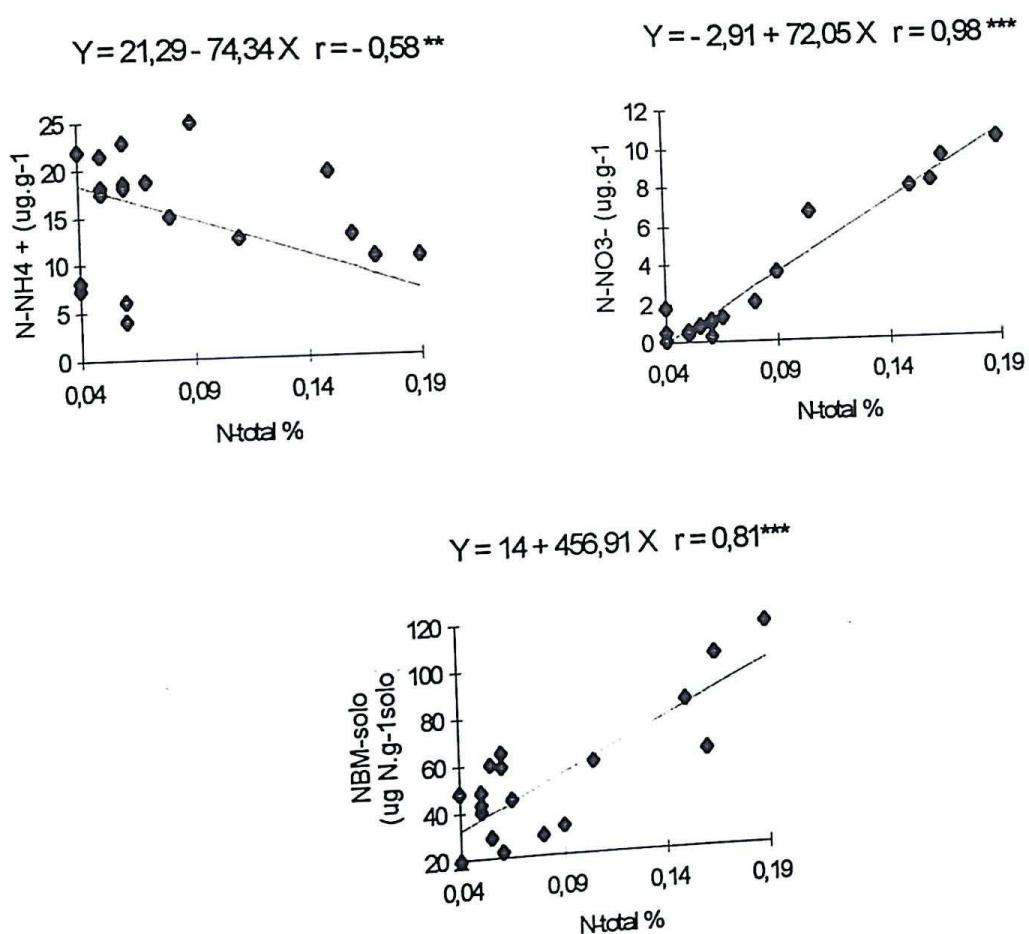
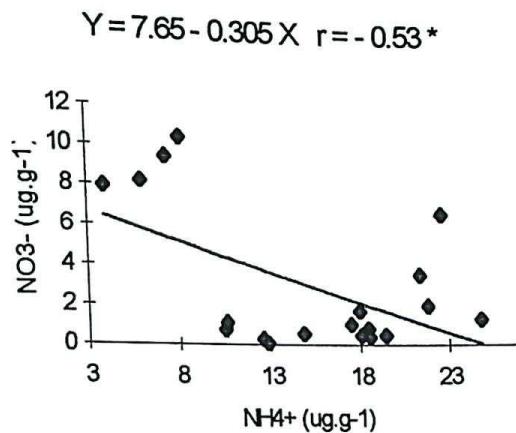
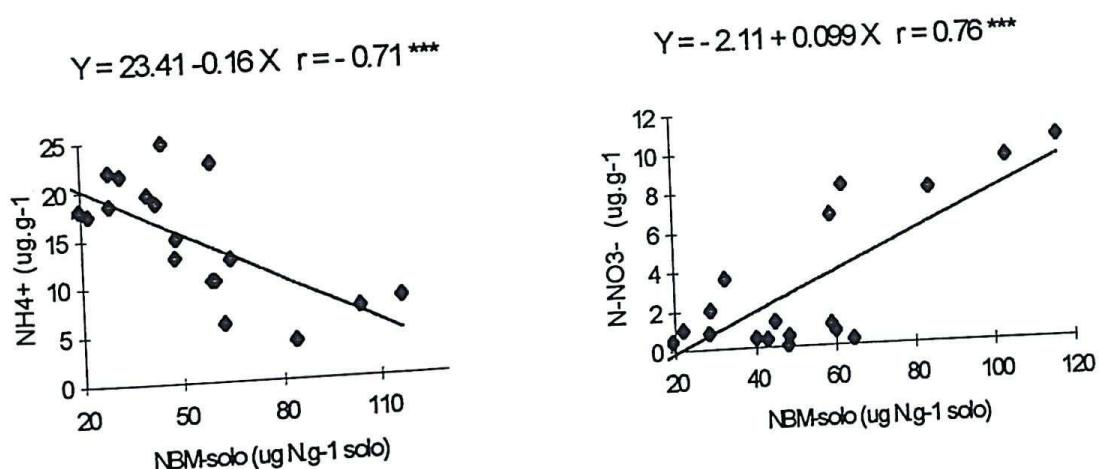


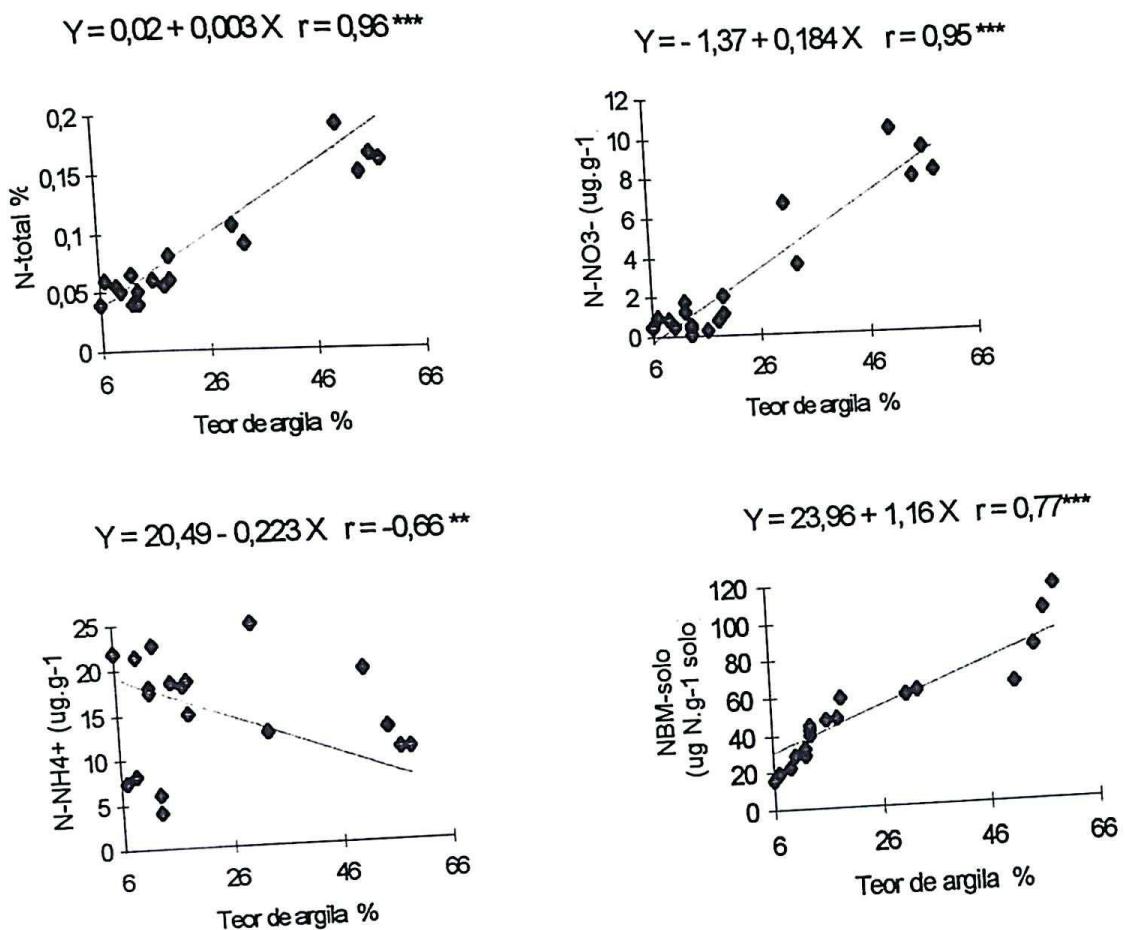
Figura 5. Valor de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e NBMS em função do teor de N total do solo (média dos povoamentos nos Municípios).



**Figura 6.** Teor de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> em função do teor de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> do solo (média dos povoamentos nos Municípios).



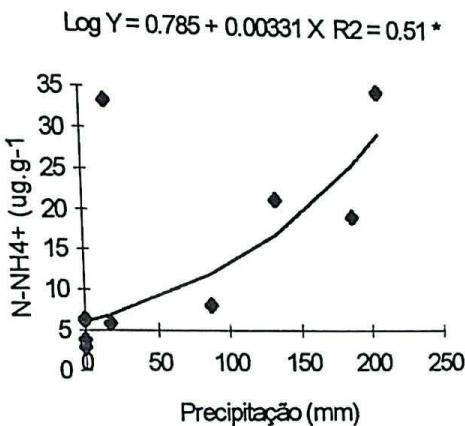
**Figura 7.** Teor de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> em função do NBMS (média dos povoamentos nos Municípios).



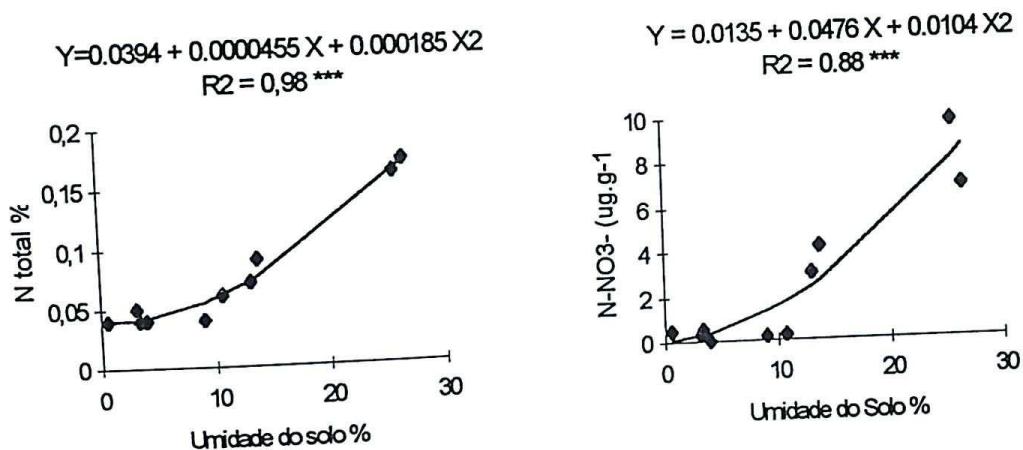
**Figura 8.** N-total, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e NBMS em função do teor de argila (média dos povoamentos nos Municípios).

O teor de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> aumentou no solo com o aumento da precipitação (Figura 9). Já o N-total, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> correlacionou-se positivamente com a umidade do solo (Figura 10). Estes resultados expressam a influência da disponibilidade de água na mineralização do N, principalmente por se tratarem de solos na sua maioria de textura arenosa a média, caracterizados por baixa capacidade de retenção de água.

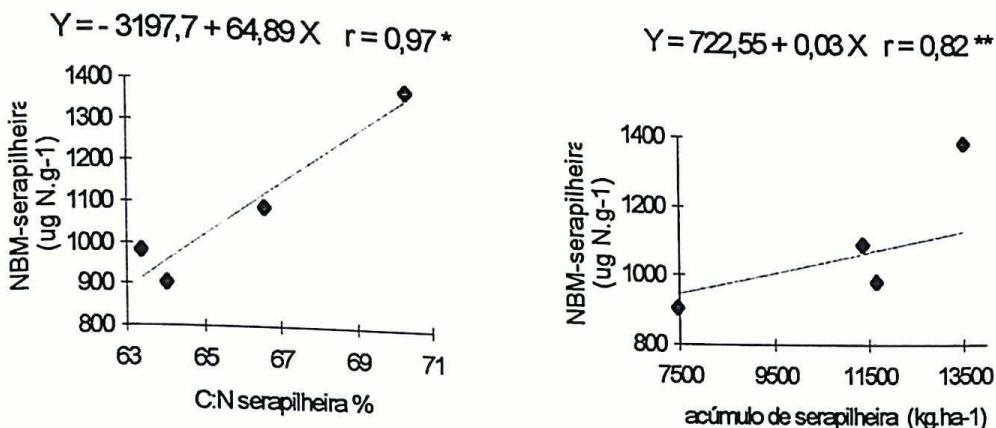
A acumulação da serapilheira do eucalipto e sua relação C:N apresentaram correlação linear positiva com o NBMP. Estes resultados caracterizam a função de dreno de N da biomassa microbiana da serapilheira e demonstram que o aumento de N na biomassa microbiana é dependente da quantidade e qualidade da serapilheira. (Figura 11).



**Figura 9.** Teor de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> no solo em função da precipitação mensal (média das épocas coletas por Município)



**Figura 10.** N-total e N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> em função da umidade do solo (média das épocas coletas por Município)



**Figura 11.** NBMP em função da relação C:N e do acúmulo de serapilheira (média dos povoamentos).

Por outro lado, a relação N mic:Nt do solo e o NBMS correlacionaram-se positivamente com o N mineral (Figura 12), sugerindo que a disponibilidade de N mineral do solo é dependente da eficiência da biomassa microbiana em utilizar o N orgânico do solo, e, desta forma, a biomassa microbiana estaria exercendo função simultânea de catalisadora e fonte de N. Gama-Rodrigues et al. (1997), no entanto, encontraram correlação negativa do NBMS com o N mineral de um mesmo solo sob diferentes coberturas florestais, demonstrando que nos ecossistemas sob eucalipto e pinus, a biomassa microbiana além de catalisadora estaria exercendo a função de dreno de N.

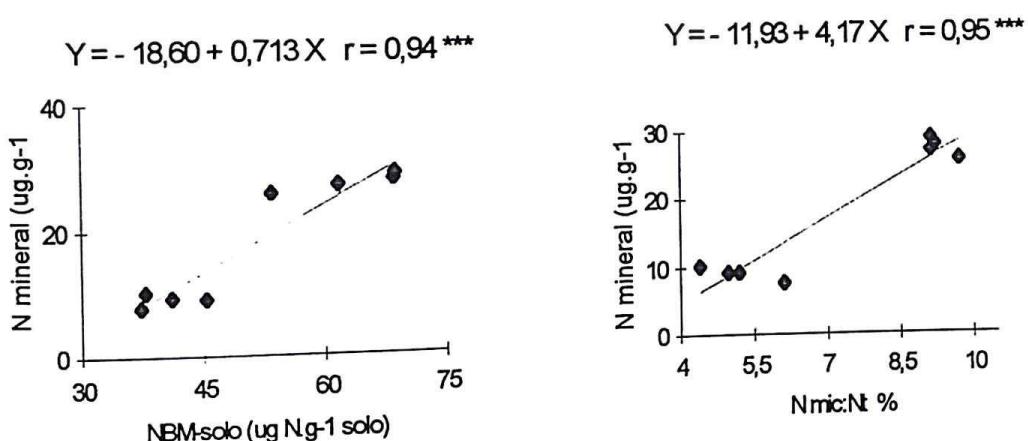
Os solos sob floresta natural apresentaram valores de N-total, N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e NBMS significativamente maiores do que nos solos sob eucalipto (Quadro 4). O eucalipto apresentou maior acúmulo de serapilheira e teor de N significativamente menor (0,88%) do que a serapilheira da floresta natural (1,60%) (Quadro 4).

Encontrou-se correlação positiva significativa entre o N da serapilheira e o NBMS e uma tendência positiva do N da serapilheira com o N mineral (Figura 13). Isso indica que a melhor qualidade nutricional da serapilheira (Gama-Rodrigues et al. (1997) em solo sob diferentes coberturas florestais

encontraram correlação negativa do N da serapilheira e o NBMS, ou seja, quanto menor a taxa de decomposição da serapilheira, maior seria o N acumulado na biomassa microbiana do solo, mostrando a função de dreno da biomassa microbiana neste caso.

Adams (1996) encontrou relação positiva significativa entre o aporte anual de N pelo folhedo e o N mineralizado em solos sob eucalipto da Austrália.

A baixa qualidade nutricional da serapilheira do eucalipto deve ser decorrente da maior eficiência dessa essência florestal na utilização de nutrientes, pela ciclagem bioquímica e, consequentemente, maior capacidade de conservação de nutrientes immobilizados na sua biomassa, pouco contribuindo para a melhoria da fertilidade do solo superficial (Gama-Rodrigues, 1997).



**Figura 12.** N mineral em função de NBMsolo e Nmic:Nt do solo (média dos povoamentos por época de coleta)

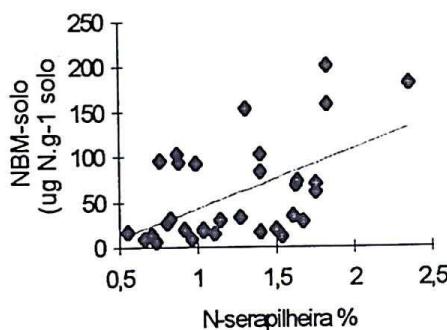
**Quadro 4. Valores dos diferentes "pools" de N do solo e da serapilheira e acúmulo de serapilheira do eucalipto de 7 anos e da floresta natural (médias dos Municípios)**

	N-total solo %	N-NH4+ -----	N-NO3- μg . g <sup>-1</sup>	NBM-solo -----	N-S * %	NBM-S** μg . g <sup>-1</sup>	A. S.*** t. ha <sup>-1</sup>
eucalipto	0,07b	7,60b	2,70b	37b	0,88b	1068a	14,4a
f. natural	0,12a	12,20a	6,80a	75a	1,61a	922a	9,4b

<sup>(1)</sup> Letras iguais na mesma coluna não houve diferença significativa pelo teste F ao nível de 5%.

\* N-serapilheira; \*\*NBM-serapilheira; \*\*\*Acúmulo de serapilheira

$$Y = -23,76 + 66,69 X \quad r = 0,53 \text{ **}$$



**Figura 13. NBMS em função do N da serapilheira de eucalipto com 7 anos de idade e da floresta natural (média dos Municípios)**

O N mineral do solo apresentou correlação negativa significativa com o N acumulado e a produção de biomassa vegetal. Assim como a biomassa vegetal produzida correlacionou-se positivamente com o N acumulado (Figura 14). Isso indica que o aumento da produção de biomassa vegetal há maior demanda de N pela cultura e, consequentemente, maior quantidade de N é absorvida do solo.

A biomassa microbiana pode exercer função catalisadora, de fonte e, ou, de dreno de N, apesar da sua magnitude ser pequena se comparada com os "pools" de N do solo e da planta. Além disso, a sua rápida ciclagem pode fornecer fluxos de importância relevante na nutrição das plantas (Smith & Paul, 1990).

A ciclagem microbiana calculada para a cultura do eucalipto variou de 0,54 a 1,36 anos e o fluxo de N fornecido pela biomassa microbiana ficou entre 40 e 98 kg.ha<sup>-1</sup>.ano<sup>-1</sup> (Figura 15). Os valores de ciclagem microbiana foram maiores do que o encontrado para cana-de-açúcar no Brasil (0,24 anos) e menores do que para uma rotação de cultura (trigo-pousio) no Canadá (6,8 anos) e uma monocultura de trigo sem adubação na Inglaterra (2,5 anos) com os valores de fluxo de N de 350, 53, e 34 kg.ha<sup>-1</sup>.ano<sup>-1</sup>, respectivamente (Paul & Clark, 1989). Apesar da diferença entre a ciclagem microbiana encontrada para o eucalipto e a rotação de cultura do Canadá, o fluxo de N apresentou valor aproximado, pois o N imobilizado na biomassa microbiana do solo sob rotação foi 6 vezes maior do que o N da biomassa microbiana do solo sob eucalipto.

O eucalipto para atingir a produção de 62 t.ha<sup>-1</sup> na idade de 2 anos (Figura 16) teve uma demanda de 125 kg.ha<sup>-1</sup> de N. Considerando-se o fluxo de N da biomassa microbiana na idade de 1 ano fornecesse 98 kg.ha<sup>-1</sup> de N (Figura 14), mais a reserva de 20 kg.ha<sup>-1</sup> de N mineral do solo (Figura 1) e 19 kg.ha<sup>-1</sup> de N que a serapilheira poderia fornecer, com uma taxa de decomposição em torno de 33%. O eucalipto na idade de 1 ano, apresentaria uma reserva de 137 kg.ha<sup>-1</sup> de N, que atenderia as suas necessidades por esse elemento na idade de 2 anos.

Na idade de 4 anos o eucalipto aumentou a produção de biomassa vegetal em 45 t.ha<sup>-1</sup> (Figura 16), em comparação aos 2 anos, necessitando de mais 30 kg.ha<sup>-1</sup> de N, o que demonstra uma maior eficiência de utilização de N pela cultura com a idade, devido ao aumento da contribuição da ciclagem bioquímica no fornecimento de nutrientes. Desta forma, somente o fluxo de N fornecido pela biomassa microbiana na idade de 2 anos (Figura 15) seria suficiente para suprir as necessidades do eucalipto. Podendo apresentar, uma

reserva de 48 kg.ha<sup>-1</sup> de N referentes ao N mineral do solo (Figura 1) e a quantidade liberada pela decomposição da serapilheira, considerando a taxa de decomposição de 33%, nesta idade.

Aos 7 anos o eucalipto absorveu 78 kg.ha<sup>-1</sup> de N. Se for considerado que 51% desse N poderia ser proveniente do fluxo de N da biomassa microbiana na idade de 4 anos (Figura 15), acrescentando 18 kg.ha<sup>-1</sup> de N mineral do solo (Figura 1) e mais 42 kg.ha<sup>-1</sup> de N que poderia ser fornecido via decomposição da serapilheira com uma taxa de decomposição em torno de 45%. Aos 4 anos, as reservas de N seriam suficientes para suprir o eucalipto até a idade de corte.

Na idade de corte do eucalipto a exportação seria de 247 kg de N ha<sup>-1</sup> com a retirada do tronco (casca e lenho). Com o fluxo de N da biomassa microbiana representando 25% do que seria exportado (Figura 15), e mais a reserva de 17 kg.ha<sup>-1</sup> de N mineral do solo (Figura 1), e 59 kg.ha<sup>-1</sup> de N proveniente via decomposição da serapilheira, com uma taxa de decomposição em torno de 60%, o estoque seria em torno de 140 kg.ha<sup>-1</sup> de N.

Contudo, com a adoção de um manejo florestal que privilegie não somente a manutenção de folhas e galhos, mas também das cascas, que representou uma reserva de 79 kg.ha<sup>-1</sup> de N. Assim, o estoque de N para o ciclo posterior do eucalipto aumentaria em torno de 181 kg.ha<sup>-1</sup> (Quadro 5).

A quantificação das perdas de N e a sua taxa de mineralização seriam importantes para um estudo mais detalhado sobre a dinâmica do N, pois auxiliariam na obtenção de respostas mais precisas sobre a disponibilidade de N para a cultura do eucalipto.

Quadro 5: Conteúdo de N da biomassa vegetal da parte aérea de eucalipto de diferentes idades (médias dos povoamentos nos Municípios)

Idades anos	Folhas	Galhos	Casca	Lenho	Total
	kg.ha <sup>-1</sup>				
1	103	19	14	21	157
2	103	34	39	77	253
4	74	29	54	120	277
7	72	30	79	168	349

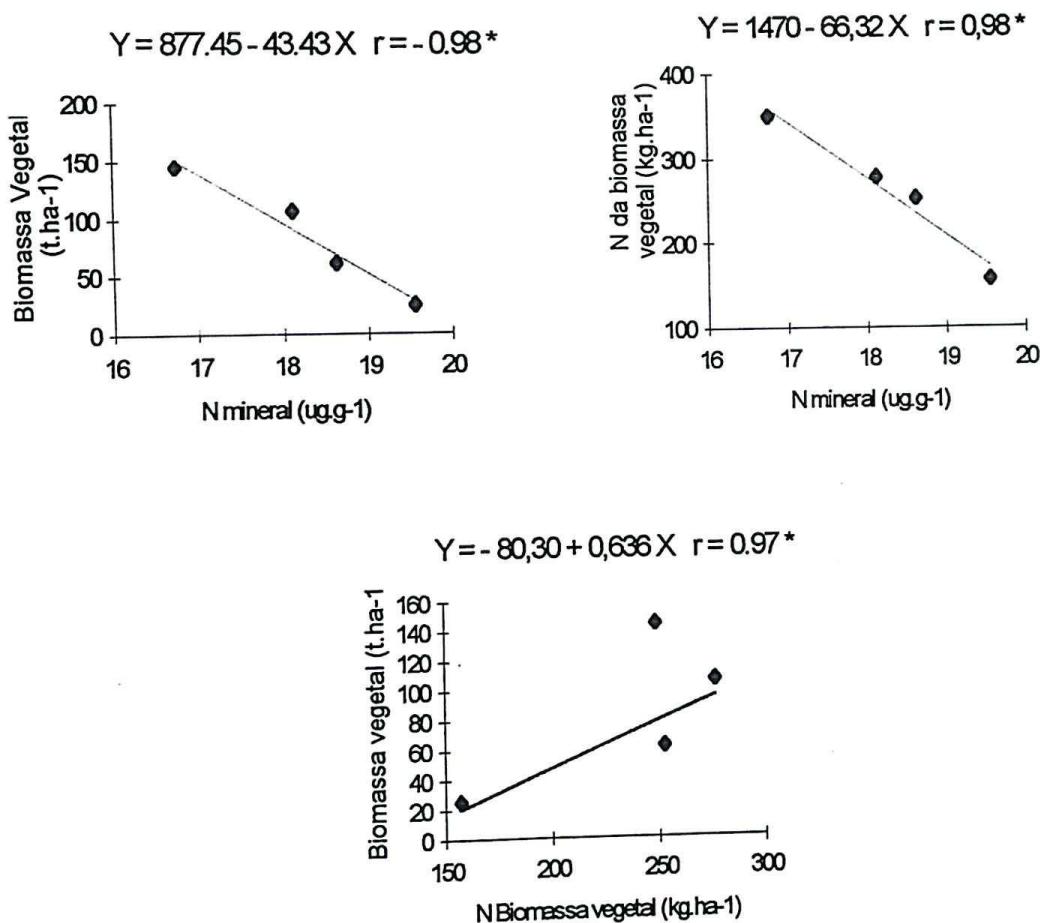
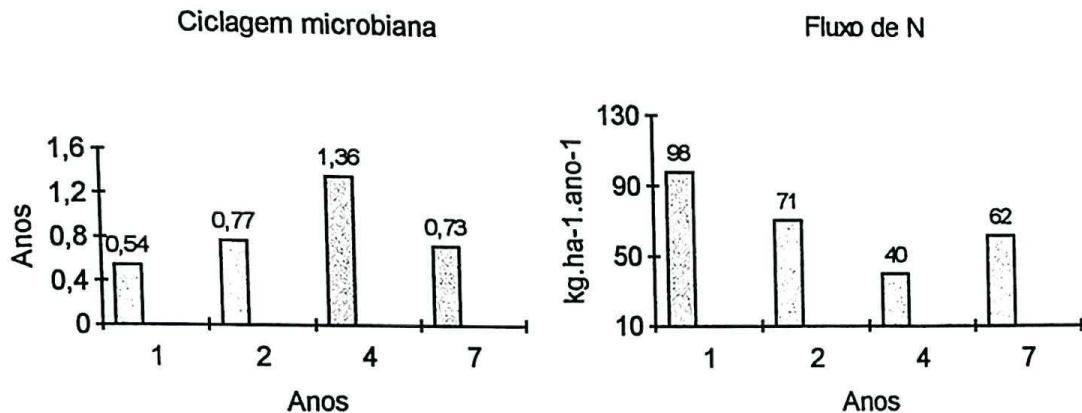
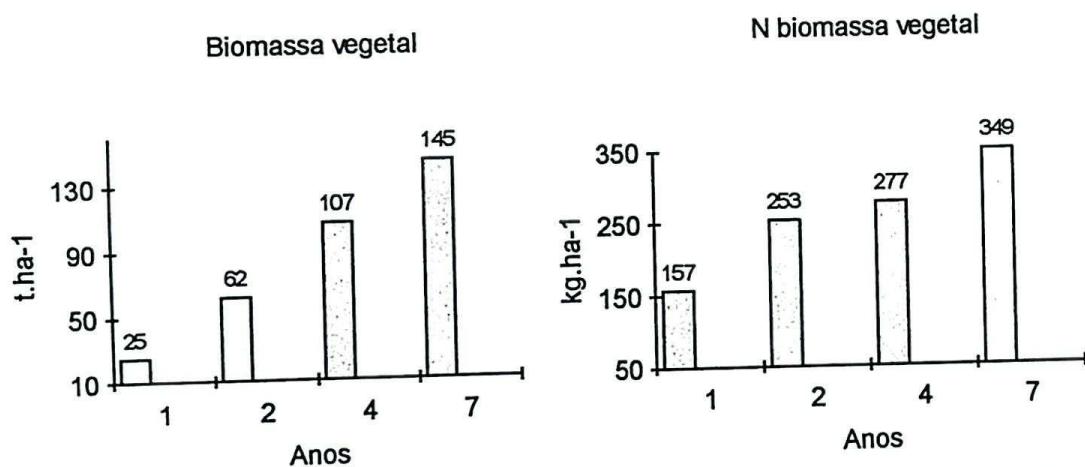


Figura 14. Biomassa Vegetal e N acumulado em função do N mineral, e produção de biomassa vegetal em função do N da biomassa Vegetal (média das idades)



**Figura 15. Ciclagem microbiana e Fluxo de N fornecido pela biomassa microbiana de acordo com as idades do eucalipto (média dos Municípios)**



**Figura 16. Produção e conteúdo de N da biomassa vegetal do eucalipto nas diferentes idades (média dos Municípios)**

## CONCLUSÕES

Em povoamentos de eucalipto a serapilheira representa maior reserva de N microbiano do que o solo.

A maior relação C:N e quantidade da serapilheira afetam positivamente a quantidade de N microbiano da serapilheira.

O N da biomassa microbiana do solo varia positivamente com os teores de C orgânico e N total do solo.

A disponibilidade de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> do solo pode ser avaliada por meio da quantificação do N da biomassa microbiana e do N total do solo.

O N da biomassa microbiana e os teores de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> do solo são influenciados pelo teor de argila.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, M.A. Distribution of Eucalypts in Australian Landscapes: Landforms soils, fire and nutrition. In: ATTIWILL, P.M. & ADAMS, M.A. Nutrition of Eucalypts. Austrália, CSIRO, 1996. 61-76p.
- ALVES, B.J.R. Avaliação da mineralização do N do solo *in situ*. Itaguaí, RJ: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1992. 177p. Tese de Mestrado.
- ATTIWILL, P.M.; POLGLASE, P.J.; WESTON, C.J. & ADAMS, M.A. Nutrient cycling in forests of South-Eastern Australia. In: ATTIWILL, P.M. & ADAMS, M.A. Nutrition of Eucalypts. Austrália, CSIRO, 1996. 191-228p.
- BARROS, N.F.; NOVAIS, R.F. de; NEVES, J.C.L. Fertilização e Correção do solo para o Plantio de Eucalipto. In: Barros, N.F. de & Novais, R.F. de (eds). Relação solo-eucalipto. Viçosa, Editora. Folha de Viçosa, 1990. 330p.
- BATAGLIA, O.C.; FURLANI, A.M.C.; TEIXEIRA, J.P.F.; FURLANI, P.R.; GALLO, J.R. Métodos de análise química de plantas. Campinas, Instituto Agronômico, 1983. 48p. (Boletim Técnico, 78)
- DEFELIPO, B.V.; RIBEIRO, A.C. Análise química do solo. Viçosa, UFV, 1981. 17p. (Boletim de Extensão 29).
- EMBRAPA. Serviço Nacional de Levantamento e Conservação de Solos. Rio de Janeiro, Manual de Métodos de análise de solo. Rio de Janeiro, SNLCS, 1979. n.p
- FERREIRA, M.G.M. An analysis of the future productivity of *Eucalyptus grandis* plantations in the cerrado region in Brazil: a nutrient cycling approach. Vancouver: University of British Columbia, 1984. 230p. Tese Ph.D
- GAMA-RODRIGUES, A.C. DA Ciclagem de nutrientes por espécies florestais em povoamentos puros e mistos, em solos de tabuleiro da Bahia, Brasil. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1997. Tese de Doutorado.
- GAMA-RODRIGUES, E.F. da, GUERRA, 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-extracção. Revista Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, v.18, p. 427-432, 1994.

- GAMA-RODRIGUES, E.F. DA, GAMA-RODRIGUES, A.C. DA & BARROS, N.F. DE. Biomassa microbiana de carbono e de nitrogênio de solos sob diferentes coberturas florestais Revista Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, 1997 (prelo).
- GRISI, B.M. Biomassa e a atividade de microrganismos do solo: revisão metodológica. Revista Nordestina de Biologia, v. 10, n.1, p. 1-22, 1995.
- JOERGENSEN, R.G.; BROOKES, P.C. Ninyhydrin-reactive nitrogen measurements of microbial biomass in 0.5 M K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> soil extracts . Soil Biology and Biochemistry, Oxford, v. 22 p. 1023-1027, 1990.
- KIEFT, T., SOROKER, E.; FIRESTONE, M.K. Microbial Biomass response to a rapid increase in water potencial when dry soil is wetted. Soil Biology and Biochemistry, Oxford, v. 19 p.119-126, 1987.
- PAUL, E.A. & CLARK, F.E. Soil Microbiology and Biochemistry, California, Academic Press, 1989. 275p.
- REIS, M.G.F.; BARROS, N.F. de Ciclagem de Nutrientes em Plantios de Eucalipto. pp 265-302. In: Barros, N.F. de & Novais, R.F. de (eds). Relação solo-eucalipto. Viçosa, Folha de Viçosa, 1990, 330p.
- ROSS, D.J.; SPARLING, G.P.; BURKE, C.M.; SMITH, C.T. Microbial biomass C and N, and mineralizable-N, in litter and mineral soil under *Pinus radiata* on a coastal sand: Influence of stand age and harvest management. Plant and Soil, Dordrecht, v. 175, p. 167-177, 1995.
- SMITH, J.L.; PAUL, E.A. The significance of soil microbial biomass estimations. In: BOLLAG, J.M. & STOTZKY, G. eds. Soil Biochemistry, v 6, 1990. p.357-396.
- STEVENSON, F.J. Humus chemistry. New York, John Wiley & Sons, Inc, 1982. 443p.
- URQUIAGA, S.; BODDEY, R.M.; ALVES, B.J.R. Dinâmica do N no solo. In: URQUIAGA, S.; BODDEY, R.M.; ALVES, B.J.R. Simpósio sobre nitrogênio em plantas, v.1, 1993. P.181-251.
- WARDLE, D.A. A comparative assessment of factors which influence microbial biomass carbon and nitrogen levels in soil. Biology Review, Praga, v. 67, p. 321-358, 1992.

## ANEXO

**Quadro 1.** C orgânico, C da biomassa microbiana, respiração acumulada, o índice TRBM e as relações Cmic:Corg, C:N microbiana e C:N dos solos sob eucalipto em diferentes Municípios (média das idades)

Municípios (1)	C orgânico	CBMS	RAS	TRBMS	Cmic:corg	C:N
	%	$\mu\text{g.g}^{-1}$		$\mu\text{g.g}^{-1.\text{h}^{-1}}$	%	
A	1.30	239	44	1032	1.80	15
G	1.17	291	68	1336	2.62	7
L.A	0.62	144	34	1297	2.40	13
L.P	0.77	170	39	1265	2.48	16
T.M	0.62	207	57	1442	3.74	11

(1) Aracruz-ES (A), Guanhães-MG (G), Luís Antonio-SP (L.A), Lençóis Paulistas-SP (L.P) e Três Marias-MG (T.M).

**Quadro 2.** Valores dos diferentes "pools" de N do solo dos solos sob eucalipto em diferentes Municípios (média das idades)

Municípios (1)	N total	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	NBMS
	%	$\mu\text{g.g}^{-1}$		$\mu\text{g.g}^{-1.\text{h}^{-1}}$
A	0.09	22	4.1	40
G	0.17	6.4	9.0	92
L.A	0.05	18	1.0	22
L.P	0.05	19	0.56	44
T.M	0.06	12	0.68	58

(1) Aracruz-ES (A), Guanhães-MG (G), Luís Antonio-SP (L.A), Lençóis Paulistas-SP (L.P) e Três Marias-MG (T.M).

Quadro 3 C orgânico, C da biomassa microbiana, respiração acumulada, o índice TRBM e as relações Cmic:Corg, C:N microbiana e C:N dos solos sob eucalipto com 7 anos de idade coletados em diferentes épocas (média dos Municípios)

Meses (1)	C orgânico	CBMS	RAS	TRBMS	Cmic:corg	C:N
	%	$\mu\text{g.g}^{-1}$		$\mu\text{g.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$	%	
março	0.77	193	40	2167	2.65	11
maio	0.64	106	54	4109	1.96	10
agosto	0.75	199	46	1633	2.75	12
novembro	0.75	135	40	2640	1.73	12

(1) Aracruz-ES (A), Guanhães-MG (G), Luís Antonio-SP (L.A), Lençóis Paulistas-SP (L.P) e Três Marias-MG (T.M).

Quadro 4. Valores dos diferentes "pools" de N do solo dos solos sob eucalipto com 7 anos de idade coletados em diferentes épocas (média dos Municípios)

Meses (1)	N total	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	NBMS
	%	$\mu\text{g.g}^{-1}$	$\mu\text{g.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$	
março	0.08	23	3.0	53
maio	0.08	4.9	2.0	35
agosto	0.07	5.2	2.3	43
novembro	0.07	6.7	2.3	33

(1) Aracruz-ES (A), Guanhães-MG (G), Luís Antonio-SP (L.A), Lençóis Paulistas-SP (L.P) e Três Marias-MG (T.M).