

**A fumigação-extração na determinação do enxofre na biomassa microbiana do solo:  
revisão de literatura e estudo de caso**

ISSN 1517-2627

Dezembro, 2007

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Centro Nacional de Pesquisa de Solos  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

## ***Documentos 99***

# **A fumigação-extração na determinação do enxofre na biomassa microbiana do solo: revisão de literatura e estudo de caso**

*Fabiano de Carvalho Balieiro*

*Luiz Eduardo Dias*

*Avílio Antônio Franco*

*José Carlos Polidoro*

*Alúísio Granato de Andrade*

Rio de Janeiro, RJ  
2007

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Solos**

Rua Jardim Botânico, 1.024 Jardim Botânico. Rio de Janeiro, RJ  
Fone: (21) 2179-4500  
Fax: (21) 2274.5291  
Home page: [www.cnps.embrapa.br](http://www.cnps.embrapa.br)  
E-mail (sac): [sac@cnps.embrapa.br](mailto:sac@cnps.embrapa.br)

**Comitê Local de Publicações**

**Presidente:** Aluísio Granato de Andrade

**Secretário-Executivo:** Antônio Ramalho Filho

**Membros:** Marcelo Machado de Moraes, Jacqueline S. Rezende Mattos,  
Marie Elisabeth C. Claessen, José Coelho de A. Filho, Paulo Emílio  
F. da Motta, Vinícius de Melo Benites, Rachel Bardy Prado, Maria  
de Lourdes Mendonça Santos, Pedro Luiz de Freitas.

**Supervisor editorial:** *Jacqueline Silva Rezende Mattos*

**Revisor de Português:** *André Luiz da Silva Lopes*

**Normalização bibliográfica:** *Marcelo Machado Moraes*

**Editoração eletrônica:** *Jacqueline Silva Rezende Mattos*

**1ª edição**

1ª impressão (2007): online

**Todos os direitos reservados.**

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

---

B186f Balieiro, Fabiano de Carvalho.

A fumigação-extração na determinação do enxofre na biomassa microbiana do solo: revisão de literatura e estudo de caso / Fabiano de Carvalho Balieiro ... [et al.]. — Dados eletrônicos. — Rio de Janeiro : Embrapa Solos, 2007.

41 p. - (Documentos / Embrapa Solos, ISSN 1517-2627 ; 99)

Sistema requerido: Adobe Acrobat Reader.

Modo de acesso: <<http://www.cnps.embrapa.br/solosbr/publicacao.html>>

Título da página da Web (acesso em 20 dez. 2007).

1. Biomassa microbiana 2. Fumigação. 3. Enxofre. I. Dias, Luiz Eduardo. II. Franco, Avílio Antônio. III. Polidoro, José Carlos. IV. Andrade, Aluísio Granato de. V. Título. VI. Série.

CDD (21.ed.) 631.4

---

© Embrapa 2007

# Sumário

<b>1. Introdução</b>	<b>7</b>
<b>2. Revisão de literatura</b>	<b>8</b>
2.1. A importância do S na nutrição de plantas	8
2.2. O S microbiano do solo (S-BMS) e sua relação com o manejo do solo	10
2.3. O S na biomassa microbiana do solo (S-BMS) e sua relação com atributos físicos e químicos do solo	17
2.4. Procedimentos de amostragem na determinação do S-BMS	19
2.5. A fumigação no processo de determinação da biomassa microbiana	21
2.6. Extratores usados na determinação do S-BMS	23
<b>3. Estudo de caso</b>	<b>25</b>
3.1. Objetivos	25
3.2. Material e métodos	26
3.3. Análise estatística	28
3.4. Resultados e Discussão	28
3.4.1. Uso da terra fina seca ao ar (TFSA)	28
3.4.2. Extratores	30
3.4.3. Correlação com algumas características do solo	32
<b>4. Conclusões gerais</b>	<b>33</b>
<b>5. Referências bibliográficas</b>	<b>33</b>

## **Autores**

**Fabiano de Carvalho Balieiro**

Pesquisador Embrapa Solos. Rua Jardim Botânico,  
1024. CEP: 22460-000. Rio de Janeiro, RJ.

balieiro@cnps.embrapa.br

**Luiz Eduardo Dias**

Professor Universidade Federal de Viçosa.

reitoria@ufv.br

**Avílio Antônio Franco**

Pesquisador Embrapa Agrobiologia.

avilio@cnpab.embrapa.br

**José Carlos Polidoro**

Pesquisador Embrapa Solos.

polidoro@cnps.embrapa.br

**Alúcio Granato de Andrade**

Pesquisador Embrapa Solos.

aluisio@cnps.embrapa.br

## 1. Introdução

Os estudos com S na agricultura brasileira se intensificaram a partir da década de oitenta, quando o Cerrado passou a ser a nova fronteira agrícola nacional. Por possuir solos predominantemente oxídicos, com cargas positivas em condições naturais (pH abaixo do ponto de carga zero), observa-se que são solos com elevada capacidade de adsorção de fosfato e sulfato (FONTES et al., 1982; ALVAREZ VIEGAS, 1988; ALVAREZ VIEGAS, 2000; RIBEIRO JÚNIOR et al., 2001). Assim, vários autores relatam que a adição de formulações concentradas em macronutrientes primários ( $N-P_2O_5-K_2O$ ) e exportações consideráveis de nutrientes via colheita levam à deficiência induzida de S e, conseqüentemente a respostas positivas à adubação sulfatada a diversas culturas (MUZILLI, 1981; GOEPFERT, 1981; FONTES et al., 1982; VITTI et al., 1988; VAN RAIJ, 1991).

A matéria orgânica nesses solos é responsável por grande parte de sua CTC, agregação e, conseqüentemente, movimentação de água no perfil, além de ser reserva considerável de nutrientes. Sua dinâmica no solo é impulsionada por fatores inerentes à sua qualidade (OBLESBY; FOWNES, 1992; MARTENS et al., 2000; CHOWDHURY et al., 2000; MARTENS et al., 2000), ao clima (principalmente temperatura e precipitação – THOMAS; ASAKAWA, 1993, LEITE, 1996; LANDSBERG; GOWER, 1997; BENITES et al., 2005), manejo e composição (espécie, espaçamento etc.) do plantio (REIS et al., 1987; NATELHOFFER; FRY, 1988; LEITE et al., 1998; SISTI et al., 2004; JANTALIA et al., 2007) e pela própria biota nativa (ALEXANDER, 1977). Sendo assim, a população microbiana do solo, por meio de seu metabolismo ou catabolismo, excreção enzimática ou pela sua própria morte, representam agentes transformadores desses resíduos e também fontes de nutrientes às plantas. Mais recentemente, autores vêm atribuindo à textura, à mineralogia e ao grau de agregação dos solos parte da responsabilidade daquilo que pode ser transformado e estocado em termos de C nos agroecossistemas (HASSINK et al., 1997; DENEFF et al., 2007).

## 2. Revisão de literatura

### 2.1. A importância do S na nutrição de plantas

O S é um nutriente essencial para as plantas e, juntamente com o Ca e Mg, é denominado de macronutriente secundário, pois é normalmente absorvido pelas plantas em quantidades maiores que os micronutrientes, porém menores que os macronutrientes primários (N, P e K).

O sulfato é a forma predominantemente absorvida pelas plantas, porém esse ânion necessita ser reduzido, para então se tornar parte de alguma molécula orgânica ou ser transportado e armazenado no vacúolo (via canais). A incorporação do S aos aminoácidos cisteína e metionina, formas orgânicas principais do S na planta, é feita após a transformação do sulfato em compostos ativados (adenosina 5'-fosfosulfato-APS e 3'-fosfoadenosina 5'-fosfosulfato - PAPS). Somente essas formas ativadas poderão ser reduzidas a moléculas orgânicas. Para que tal ativação ocorra, é necessário ATP (adenosina 5'-trifosfato) e sulfato, sendo duas as enzimas responsáveis por tais reações (ATP sulforilase e APS quinase) (TAIZ; ZEIGER, 1991). De PAPS o sulfato pode passar diretamente para compostos orgânicos como sulfolipídeos, com ligações ésteres ou para se transformar nos aminoácidos supracitados ou proteínas é necessária a redução à sulfito. A formação de cisteína é catalizada pela enzima O-acetilserina sulfidrilase, sendo o acceptor O-acetilserina a forma ativa da serina que é produzida na presença da coenzima A e catalizada pela serinatransacetilase. Já a metionina pode ser formada a partir da transulfuração ou sulfuração direta, que envolve uma série de reações bioquímicas descritas por Taiz e Zeiger (1991). Embora todas essas transformações possam ocorrer nas raízes, é nas folhas que se encontram os maiores sítios de redução do sulfato, a ferridoxina, peça chave dos fotossistemas (MARSHNER, 1995), uma vez que a redução de sulfato está intimamente relacionada com a incidência de luz. Embora na planta o transporte a longas distâncias do sulfato seja feito pelo xilema, sua exportação para órgãos drenos, como ápices, frutos e raízes é feita via floema e por meio de compostos reduzidos como a glutatione.

Os teores de S nas plantas variam com fatores inerentes à espécie (genéticos), ao solo (% argila, CMAF, P-rem e outros) (FONTES et al., 1982; VIEGAS et al., 2000), ao clima (disponibilidade de água) (SILVA et al., 1998; PINTO; NAHAS, 2002) e ao manejo dado aos resíduos ou fertilizantes aplicados (ERIKSEN et al., 1995; CHOWDHURY et al., 2000; NOGUEIRA; MELO, 2003). A título de exemplo, Goepfert (1981) tem citado teores foliares da ordem de 1,2 a 1,8 g/kg como deficiente para a cultura da soja em solos do Rio Grande do Sul. Fernandez et al. (1996), trabalhando com uma espécie leguminosa arbórea (*Mimosa tenuiflora*), porém em fase de muda, encontraram valores de nível crítico foliar igual a 1,1 g kg<sup>-1</sup>. Balieiro et al. (2001), estudando *Acacia holosericea*, outra leguminosa arbórea, detectaram um valor médio nos tecidos foliares da ordem de 1,9 g kg<sup>-1</sup>. Dias et al. (1992) e Balieiro et al. (2001) avaliaram o efeito de doses de S sobre o teor de S foliar de *Sclerolobium paniculatum* e *Acacia auriculiformis*, respectivamente, em amostras semelhantes de um Latossolo Vermelho-Amarelo, com 5,1 mg kg<sup>-1</sup> de S e detectaram que ambas as espécies não responderam à adição de tal fonte, sugerindo um baixo requerimento em S pelas espécies florestais analisadas.

Independente da magnitude da demanda por S pelas plantas, deve-se ter em mente que as maiores reservas desse nutriente em solos oxidicos está na preservação e manejo correto da matéria orgânica do solo.

Dentre os compartimentos do C do solo, a biomassa microbiana merece destaque por representar uma parcela ativa de C do solo e ser responsável pelo fluxo de nutrientes e manutenção de ecossistemas tropicais, alicerçados (na maioria das vezes) sobre solos ácidos, pobres em cátions e muitas vezes com teores de Al tóxicos (GOLLEY et al., 1978; NOVAIS et al., 1998).

Vários trabalhos são citados na literatura mundial quanto à estimativa do C, do N, do P e do S da biomassa microbiana do solo (C, N, P, S-BMS). Aqueles desenvolvidos na década de setenta (JENKINSON; POWLSON, 1976; JENKINSON et al., 1976) por pesquisadores ingleses foram um marco nesse sentido. Porém, apenas após meados dos anos oitenta as pesquisas com esse enfoque se iniciaram no Brasil, conforme relatam De-Polli e Guerra (1996).

De todos os macronutrientes citados, o S associado ao compartimento microbiano do solo (S-BMS) foi o menos estudado no Brasil até o momento. Aita e Giacomini (2007) ressaltam em trabalho recente a necessidade de se avaliar simultaneamente as biotransformações de C e do N, como também do C e do S, tanto em laboratório quanto em campo. Dentro desse contexto é que o presente trabalho se justifica. A partir de uma revisão de literatura e da condução de um experimento, procurou-se (i) evidenciar a importância da estimativa dessa reserva de S no solo e (ii) dar direcionamento àqueles que pretendem usar a fumigação-extração na estimativa do S-BMS.

## **2.2. O S microbiano do solo (S-BMS) e sua relação com o manejo do solo**

O S pode entrar no sistema solo-água-plantas por meio de intemperismo de rochas (sedimentares, ígneas ou metamórficas), por adições atmosféricas (associadas principalmente a regiões industrializadas ou grandes centros urbanos -  $\text{SO}_2$  e  $\text{H}_2\text{S}$ ), fertilizantes químicos (super simples, sulfato de amônio, sulfato duplo de potássio e magnésio, fosfato natural parcialmente acidulado) e orgânicos (de diversas origens) ou via corretivos (como o gesso). No solo, a matéria orgânica é sua maior reserva, representando mais 90 % do S dos solos minerais drenados (FRENEY, 1986; SENESI; LOFREDO, 1999; DIAS et al., 2003). Sendo assim, fatores inerentes à qualidade química do resíduo orgânico influenciarão decisivamente na taxa de decomposição do mesmo e disponibilidade do S às plantas (CHOWDHURY et al., 2000). É fato também, que características do solo como % de argila e capacidade de adsorção de fosfato e sulfato determinarão a absorção de S pelas plantas, mas este assunto será melhor abordado posteriormente.

Apesar do S ser essencial para as plantas, pode representar também um problema à nutrição vegetal em determinadas situações. Áreas de mineração de cobre, níquel, urânio, chumbo, zinco e carvão mineral geralmente estão associadas a minerais ricos em enxofre, como a pirita ( $\text{FeS}_2$ ), calcopirita ( $\text{CuFeS}_2$ ), arsenopirita ( $\text{FeAsS}$ ), calcocita ( $\text{Cu}_2\text{S}$ ), cinábri ( $\text{HgS}$ ), galena ( $\text{PbS}$ ), esfalerita ( $\text{ZnS}$ ), pintlandita ( $\text{Fe, Ni}_9\text{S}_8$ ) e outros. A exposição desses minerais, geralmente encontrados em profundidades significativas do solo, tende a provocar acidez excessiva da solução do solo e conseqüentemente

solubilização de metais nocivos às plantas e à biota de diferentes ecossistemas (SOARES; MELLO, 1997; ABRAHÃO; MELLO, 1998; MELLO et al., 2006).

Na natureza, o enxofre apresenta-se em diferentes estados de oxidação (de -2 a +6), tanto na forma de mineral como orgânica. Porém, é essa última fração que assume a maior importância na nutrição das plantas (BISSANI; TEDESCO, 1988), principalmente em solos altamente intemperizados, em que a reserva de minerais primários é praticamente inexistente e a capacidade de adsorção de sulfato e fosfato são fatores que se correlacionam negativamente com a disponibilidade de S (FONTES et al., 1982; ALVAREZ VIEGAS, 1988; ALVAREZ VIEGAS, 2000).

As principais fontes de S às plantas são: a atmosfera (via dissolução na água da chuva), o solo, pela própria mineralização da matéria orgânica ou intemperismo de minerais e a adubação mineral ou orgânica. Diferenças existem entre solos de classes diferentes quanto aos seus teores de S, devido às características do material de origem ou da magnitude com que cada fator de formação do solo agiu sobre ele; e dentro de uma mesma classe de solo ou mesma área, diferenças poderão existir em função da cultura que ali cresce ou do manejo dos resíduos adotados (CHOWDHURY et al., 2000). A Tabela 1 apresenta a relação C:S de alguns solos. Freney (1986), em revisão sobre as diferentes formas de S do solo, cita que a relação C:S tende a ser próxima de 100:1 para solos agrícolas, de 133:1 para solos orgânicos e de 200:1 para pastagens nativas e solos florestais.

Como o S é constituinte de várias moléculas orgânicas em animais e plantas (aminoácidos, proteínas, sulfolipídios, vitamina B, ácido lipóico, APS e PAPS e outras), este pode ser encontrado nas mais variáveis formas orgânicas ou minerais, dependendo das características de potencial redox do ambiente e da microbiota nativa (BISSANI; TEDESCO, 1988). No solo, o S orgânico pode encontrar-se associado a frações mais lábeis da matéria orgânica (como a própria biomassa microbiana, ou resíduos vegetais diversos) ou complexado às frações minerais, na forma de um material mais humificado, formando agregados.

O fracionamento das formas orgânicas de S no solo indica a ocorrência de três formas básicas de S no solo: o éster de sulfato (C-O-S - como o sulfato de colina, sulfatos fenólicos e polissacarídeos e lipídeos sulfatados), o S ligado ao C, tendo seus principais representantes os aminoácidos metionina e cisteína e o S residual, denominação esta dada a fração menos conhecida das formas de S orgânico. Apesar de Bissani e Tedesco (1988) citarem que essa última forma é bastante resistente a hidrólise por ácidos e bases fortes, e por isso possuir certa estabilidade no solo, Castellanos e Dick (1991) detectaram variações sazonais ligadas à atividade biológica do solo, e por isso esses autores ressaltam que tal fração não deve ser encarada como totalmente inerte. A forma C-O-S (éster de sulfato), segundo Alexander (1977), representa de 20-65% do S orgânico e a cisteína e metionina fazem parte de 5-35% das formas orgânicas representadas pela fração C-S. Por serem facilmente hidrolisadas à sulfato inorgânico, formas orgânicas da fração C-O-S, são rapidamente mineralizadas.

De acordo com Castellanos e Dick (1991), de 60 a 90% do S marcado ( $^{35}\text{S}$ ) adicionado ao solo foram rapidamente incorporados à fração éster de  $\text{SO}_4$ . A presença de raízes também foi detectada pelos autores como sendo peça chave na mineralização desse S, pois foi detectado efeito significativo ( $p < 0,001$ ) da presença da *Brassica napus* L. var. *napus* na atividade da enzima arilsulfatase, enzima responsável que liberação de  $\text{SO}_4$  a partir de ésteres aromáticos de  $\text{SO}_4$ . Vale ressaltar que em parcelas com plantas, a biomassa microbiana (C-BMS) também foi significativamente ( $p < 0,001$ ) superior que nas parcelas não cultivadas. Como nos microrganismos as forma de S ligadas ao C estão associados a constituintes orgânicos (proteínas e aminoácidos), preferencialmente que em órgãos de reserva (ou assumindo essa função), é de se esperar que essa forma sofra menos influência do  $\text{SO}_4$  no solo. Esse padrão de ocorrência foi detectado por Castellanos e Dick (1991), pois os mesmos não encontraram efeito significativo da presença de plantas ( $p < 0,10$ ) ou mesmo adição de fertilizante na quantidade de C-S extraído das parcelas analisadas, apesar do S-BMS ter se correlacionado ( $r = 0,50$ ,  $p < 0,05$ ) com tal forma de S. Eriksen et al. (1995) detectaram que de 27 a 45% do S total dos solos estudados da Dinamarca, estavam na forma de éster de sulfato.

**Tabela 1** - Características químicas de alguns solos.

Local	pH	C org. total (%)	N total (g/kg)	S org total (µg/g)	C:S
Escócia <sup>1</sup>	5,4	1,3*	1,0	187	70
Escócia <sup>1</sup>	6,4	1,7*	1,4	292	59
Escócia <sup>1</sup>	5,6	3,1*	2,3	984	80
Escócia <sup>1</sup>	4,8	2,3*	1,6	202	111
Escócia <sup>1</sup>	5,1	4,6*	3,0	496	93
Escócia <sup>1</sup>	3,2	12,7*	3,7	1120	113
Escócia <sup>1</sup>	5,2	4,1*	2,5	407	100
Escócia <sup>1</sup>	5,9	4,7*	3,1	501	94
Escócia <sup>1</sup>	4,5	4,3*	3,1	579	74
China <sup>2</sup>	5,9	4,0	3,4	464**	86
China <sup>2</sup>	5,8	7,0	4,6	725**	96
China <sup>2</sup>	5,4	0,6	0,8	125**	47
China <sup>2</sup>	5,2	0,7	0,8	217**	34
China <sup>2</sup>	5,5	1,0	1,4	190**	54
China <sup>2</sup>	5,9	1,9	2,1	276**	69
China <sup>2</sup>	6,0	0,9	1,0	115**	83
China <sup>2</sup>	5,9	0,6	0,8	91**	72
China <sup>2</sup>	5,8	3,5	3,1	431**	57
China <sup>2</sup>	5,4	3,9	2,9	499**	81
China <sup>2</sup>	6,0	3,8	3,7	464**	151
China <sup>2</sup>	5,4	2,4	2,4	324**	123
China <sup>2</sup>	5,3	2,0	1,9	359**	81
China <sup>2</sup>	5,2	2,3	1,7	290**	69
China <sup>2</sup>	3,8	3,5	1,9	233**	82
China <sup>2</sup>	3,9	2,0	1,1	160**	78
China <sup>2</sup>	5,8	0,3	0,3	64**	44
China <sup>2</sup>	6,0	0,2	0,2	60**	32
China <sup>2</sup>	4,2	0,1	0,1	41**	22
Dinamarca <sup>3</sup>	5,8	1,5*	1,1	167	90
Dinamarca <sup>3</sup>	6,0	1,4*	1,1	175	79
Dinamarca <sup>3</sup>	5,4	2,3*	1,8	253	87
Dinamarca <sup>3</sup>	5,7	2,6*	1,9	312	82
Dinamarca <sup>3</sup>	6,4	1,4*	1,3	183	70
Brasil <sup>4</sup>	4,62	0,6	0,6	59***	102
Brasil <sup>4</sup>	5,10	1,9	1,5	76	250
Brasil <sup>4</sup>	5,10	2,3	1,7	102	226

Fontes: <sup>1</sup> Champman (1987); <sup>2</sup> Chowdhury et al. (1999); <sup>3</sup> Eriksen et al. (1995) e <sup>4</sup> Dias et al. (1994).

Legenda: \* C total (%); \*\* S total; \*\*\* S de reserva (potencialmente mineralizável).

Durante o processo de mineralização da matéria orgânica, organismos do solo obtêm sua energia a partir da oxidação de materiais ricos em carbono do solo. Parte desse C é usado para a síntese de material celular e parte é liberada,

via respiração ou liberação de algum composto inorgânico (mineralização). O mesmo fenômeno ocorre para o N e o S, com imobilizações e mineralizações ocorrendo simultaneamente. Por isso, a liberação de S inorgânico está diretamente relacionada com a disponibilidade de fontes de energia e com outros nutrientes essenciais à manutenção do metabolismo celular. Todos os fatores que determinam a atividade microbiana no solo influenciarão a dinâmica de mineralização do S no solo. Alexander (1977) cita os seguintes fatores como os mais importantes: a forma inorgânica de S, a qualidade do material orgânico (relação C:S), a população microbiana, temperatura, aeração, a umidade e o pH do solo. A presença de enzimas do tipo sulfahidrolases, como a arilsulfatase, citada anteriormente, também se relacionam com as transformações de formas específicas de S (éster de sulfato a  $\text{SO}_4$ ).

Vale ressaltar que a carência de informações a respeito da resposta microbiana e enzimática de plantas (de suas raízes) e de microrganismos ao manejo de resíduos orgânicos e fontes minerais de nutrientes impedem o entendimento mais preciso do ciclo do S nos agroecossistemas brasileiros. Em estudo recente, Nogueira e Melo (2003) descrevem como complexas as interações dos fatores que governam a atividade da arilsulfatase em solos cultivados com soja após aplicação de diferentes doses de gesso. De um modo geral, com relação ao efeito de profundidade, na média das doses e época de amostragem, nos dois anos de avaliação, a atividade da enzima foi significativamente superior de 0-20 cm ( $5,11-10,18 \text{ mg de PNP g}^{-1} \text{ terra h}^{-1}$ ) que de 20-40cm ( $4,09-7,49 \text{ mg de PNP g}^{-1} \text{ terra h}^{-1}$ ). Foi observada ainda, pelos autores, relação negativa entre os teores de  $\text{S-SO}_4^{=}$  e a atividade da enzima, evidenciando que o íon pode inibir a atividade da enzima.

Freney (1986) em sua revisão cita que a mineralização de S está diretamente relacionada com materiais orgânicos com relação C:S abaixo de 200, ao passo que a imobilização tende a se fortalecer em relações próximas de 400. Chowdhury et al. (2000) detectaram que a incorporação de composto de esterco bovino (C:S = 86) em solo deficiente de S permitiu aumento da disponibilidade de S para as plantas (*Brassica napus*), além de aumentar o potencial de suprimento do solo. Em contrapartida, a adição de composto de casca de arroz e de serragem (razões iguais a 286 e 255, respectivamente),

resultou em deficiência severa e limitação no crescimento por parte das plantas, pois a imobilização de S e transformações microbianas competiram com as plantas pelo S inorgânico. Eriksen et al. (1995) detectaram taxas de mineralização (medidas pela absorção das plantas, adicionada a lixiviação) da ordem de 1,7 a 3,1 % por ano, via reserva orgânica de S de diferentes solos (C:S variando 70-90), e enfatizaram que essa taxa não foi suficiente para suprir as necessidades das plantas testes *Lolium multiflorum*, *Brassica napus* e *Hordeum vulgare*, estando elas deficientes e com sintomas de deficiência severa. Estes resultados, aparentemente contraditórios com os apresentados anteriormente, se devem a remoção do  $\text{SO}_4$  por lixiviação. A adição de água para simulação de precipitação e comprovação de que à redução na entrada de fontes atmosféricas de S podem levar a deficiência de S pelas plantas, acabaram por confirmar a hipótese dos autores, pois as deficiências foram rapidamente induzidas por tais simulações anteriormente descritas.

Apesar do S associado a microbiota representar uma pequena proporção do S total do solo (0,9-2,6 % para CHAPMAN, 1987; 2,3 % para SAGGAR et al., 1981a; 1,1-4,0 % para CHOWDHURY et al., 1999), este pode se tornar rapidamente disponível às plantas. Dentre os fatores que mais se relaciona com a quantidade de S associada a microbiota do solo, está disponibilidade de  $\text{SO}_4^{2-}$  inorgânico, muito embora Eriksen (1997) não tenha observado efeito significativo entre os diferentes tratamentos que testou, ao adicionar fonte de S e C no solo. Esse autor atribuiu o resultado encontrado a grande variação nas determinações analíticas empregadas nos procedimentos de incubação. O tempo de incubação de 24 horas, segundo o autor, parece ter sido o causador da ausência de repetibilidade das análises, uma vez que o tempo de incubação tende a aumentar o S extraído. Sagggar et al. (1981a), por outro lado, verificaram que o aumento na concentração de S do meio de cultura de fungos e bactérias resultou em aumento da concentração de S nos tecidos desses organismos (Tabela 2), sendo o S preferencialmente na forma de éster de sulfato. Essa constatação foi mais marcante em fungos que em bactérias, quando aumentada a concentração de S do meio. Portanto é possível inferir que os fungos parecem não serem tão sensíveis ao aumento da pressão osmótica interna causado pelo aumento de formas de S, como a sulfato colina.

**Tabela 2** – Concentração de S nas bactérias e fungos crescidas em meios com diferentes concentrações de S.

<b>Tratamento</b>	<b><i>A. globiformis</i></b>	<b><i>P. cepacia</i></b>	<b><i>F. solani</i></b>	<b><i>T. harzianum</i></b>
<i>S total</i> ( $\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco)				
Baixo – S	928	1108	1013	852
Médio – S	1123	1341	2318	1262
Alto – S	1355	1339	2772	2034
<i>S reduzível -HI</i>				
Baixo – S	96	141	116	51
Médio – S	119	136	565	216
Alto – S	98	163	1159	752

Fonte: Saggat et al. (1981a)

Anderson e Domsh (1980) também realizaram um trabalho que descreve a influência da qualidade do meio sobre a composição química de bactérias e fungos. Os autores conduziram um interessante experimento com 10 espécies de bactérias e 14 fungos e apesar de não avaliarem o S, encontraram dados importantes quanto aos padrões de assimilação dos organismos. Os autores detectaram diferenças significativas na concentração dos nutrientes (N, P, K) entre os organismos avaliados e que os fungos, em função da quantidade de glicose, tenderam a acumular quantidades diferenciadas quando uma fonte de C era adicionada ao solo (Tabela 3). No meio com menor concentração de C foi observada a maior concentração dos nutrientes analisados. Esse efeito diluição certamente ocorreu para o S, tendo em vista a forte ligação com o N no metabolismo celular.

**Tabela 3** - Concentração de C, N, P e Ca em células de fungos e bactérias crescidas em meios com diferentes concentrações de glicose.

<b>Microrganismo</b>	<b>Concentração Glicose</b>	<b>C</b>	<b>N</b>	<b>P</b>	<b>K</b>	<b>Ca</b>
	--- g L <sup>-1</sup> ---	----- mg g <sup>-1</sup> matéria seca -----				
Bactérias <sup>1</sup>	10,0	430,5	76,8	24,4	13,3	7,0
Fungos <sup>2</sup>	1,0	317,4	43,7	47,5	41,9	5,2
Fungos <sup>2</sup>	2,5	346,2	47,7	41,2	36,6	3,4
Fungos <sup>2</sup>	5,0	365,8	47,1	34,0	32,6	2,4
Fungos <sup>2</sup>	10,0	373,3	45,2	31,0	32,7	1,4

Fonte: Anderson e Domsh (1980); <sup>1</sup> média de 10 espécies de bactérias do solo; <sup>2</sup> média de 14 espécies de fungos do solo.

A estimativa desse reservatório de nutrientes assume importância sem precedentes nos estudos que contemplam o manejo sustentável de sistemas produtivos, uma vez que sua dinâmica permite que boa parte do suprimento de S e demais nutrientes sejam fornecidos pela microbiota do solo. Um exemplo desse reservatório foi dado por Anderson e Domsch (1980). Os autores estimaram as reservas de N, P, K e Ca associados à microbiota de 29 solos, com base no C microbiano dos mesmos e do conhecimento da composição química de 10 espécies de bactérias e 14 de fungos. Segundo os autores, as reservas de C e N associadas com a microbiota foram estimadas em 0,27 a 4,8% e 0,5 a 15,3%, respectivamente, dos 2.400 - 69.750 kg ha<sup>-1</sup> do C total dos mesmos. Para o P, K e Ca, as reservas foram estimadas em 83 kg ha<sup>-1</sup> (1,7-244 kg ha<sup>-1</sup>), 70 kg ha<sup>-1</sup> (1,5-207 kg ha<sup>-1</sup>) e 11 kg ha<sup>-1</sup> (0,2 a 29 kg ha<sup>-1</sup>), respectivamente.

### **2.3. O S na biomassa microbiana do solo (S-BMS) e sua relação com atributos físicos e químicos do solo**

Os valores de S-BMS têm sido encontrados com grande variação na literatura. Chowdhury et al. (1999) detectaram valores que vão de 0,81 até 13,44 mg kg<sup>-1</sup> em solos da China, Wu et al. (1994) estimaram o S-BMS de solos da Inglaterra em 2,9 a 20 mg kg<sup>-1</sup>, enquanto que Sagggar et al. (1981b) verificaram variação acentuada na determinação dessa variável com o tipo de extrator usado. Para os 9 solos e três extratores testados, os autores encontraram variações de 1,7 a 35,2 mg kg<sup>-1</sup> de solo. Para as condições brasileiras, não foram encontrados trabalhos que estimassem a reserva de S associada a biomassa microbiana, embora vários são os trabalhos com extratores na avaliação das diferentes formas de S do solo (S-disponível; S-reserva; S total, por exemplo).

Já a relação C:S na biomassa microbiana, que tem sua estimativa dependente também do valor K (fator que relaciona a eficiência de extração do S adicionado ou liberado com a fumigação) usado na estimativa do S-BMS (CHAPMAN, 1987), pode variar de 31-63 (SAGGAR et al., 1981a), de 47-121 (SAGGAR et al., 1981b), de 36-1270 para a relação solo:extrator de 1:5 (peso:volume) e 54-149 para a relação de 1:2 (WU et al., 1994), de 32-88 (CHOWDHURY et al., 1999) e de 64 - 291 (CHOWDHURY et al., 2000).

Dentre as variáveis do solo que mais se correlacionam com o S-BMS, Chowdhury et al. (1999) citam o C-BMS ( $r = 0,97^{**}$ ), o N-BMS ( $r = 0,93^{**}$ ), o C orgânico ( $r = 0,93^{**}$ ), o N total ( $r = 0,89^{**}$ ), o S total ( $0,91^{**}$ ), o S-SO<sub>4</sub> extraído com CaCl<sub>2</sub> ( $r = 0,76^{**}$ ), o S orgânico extraído CaCl<sub>2</sub> ( $r = 0,65^{**}$ ) e a condutividade elétrica do solo ( $r = 0,81^{**}$ ). Os autores citados, usando o mecanismo de seleção do programa estatístico, que ordena variáveis independentes em ordem crescente de importância na regressão múltipla, denominado de *stepwise*, verificaram que 86% da variabilidade encontrada nos dados de S-BMS dos solos estudados eram originário do C-orgânico do solo. Neste mesmo estudo, a segunda variável que mais se correlacionou com o S-BMS foi o S-SO<sub>4</sub> extraído com CaCl<sub>2</sub>, indicando que para todas as reservas analisadas (C, N e S na biomassa microbiana) a formação da biomassa microbiana é dependente do suprimento de S-SO<sub>4</sub>. Chapman (1987) cita outros fatores que se correlacionaram com a estimativa do S-BMS (C total,  $r = 0,98^{***}$  e o S orgânico total,  $r = 0,94^{***}$ ), porém, não detectou correlação significativa para o S extraído pelo NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (10 mM) e pelo NaHCO<sub>3</sub> (16 mM) e com S-BMS.

Variáveis climáticas também se correlacionam com o S mineralizado e conseqüentemente extraído pelos métodos de determinação do S-BMS. Em condições de temperatura e umidade ótimas a atividade da enzima arilsulfatase foi aumentada, indicando um maior potencial de mineralização do S orgânico em áreas cultivadas (CASTELLANOS; DICK, 1991). Porém, vale destacar que alguns autores não encontraram boa correlação entre a atividade enzimática da arilsulfatase do solo e o sulfato do solo (MELO, 2003; NOGUEIRA e MELO, 2003).

No solo, os microrganismos são grandes concentradores de nutrientes, por isso, o manejo dos diferentes sistemas de produção devem ser bem estudado. Vários trabalhos tem sido feito para que a estimativa desse reservatório seja alcançada de forma precisa e, como será visto posteriormente, vários são os fatores que podem determinar a magnitude dessa reserva, como o manuseio da amostra, tempo de incubação, tipo de extrator, método de fumigação e determinação do S.

## 2.4. Procedimentos de amostragem na determinação do S-BMS

Grande variação na literatura tem sido observada no tratamento dado às amostras antes da extração do S microbiano, como a secagem do solo, o congelamento, o peneiramento (geralmente 2 mm), acondicionamento em geladeira de amostras úmidas e posterior incubação, reumidecimento de amostras após acondicionamento em geladeira, uso de terra fina seca ao ar (TFSA) e posterior incubação em condição úmida, ou a própria disponibilidade de amostras para estudos dessa natureza (JENKINSON; POWLSON, 1976; POWLSON; JENKINSON, 1976; SAGGAR et al., 1981a; SAGGAR et al., 1981b; CHAPMAN, 1987; CASTELLANOS; DICK, 1991; WU et al., 1994; FRANZLUEBBER et al., 1996; ERIKSEN, 1997; CHOWDHURY et al., 1999; GONÇALVES, 2000; CHOWDHURY et al., 2000), como foi o caso do projeto apresentado

Em experimentos que avaliam a parte viva do solo, é recomendado que as amostras sejam usadas imediatamente após sua coleta, porém, isso é pouco viável quando se trata de experimentos agrícolas, onde as áreas a serem amostradas geralmente possuem grandes dimensões e estão distantes dos locais de análise. Desta forma é necessário procedimentos de amostragem que modifiquem o mínimo a estrutura, a umidade ou mesmo a temperatura da amostra coletada. Um procedimento executado por Jenkinson e Powlson (1976) e Powlson e Jenkinson (1976), que ao entendimento dos autores deveria fazer parte dos procedimentos de amostragem para avaliações com esse fim, é a amostragem da camada subsuperficial do solo (5-10, mas que pode ser redimensionada), ao invés de camadas superficiais. Esse procedimento minimiza o efeito que os ciclos de umidecimento e secagem provocam sob a população microbiana, apesar de subestimarem a biomassa microbiana do sistema, pois o C orgânico tende a se concentrar na camada superficial do solo (VARGAS; SCHOLLES, 1998).

O peneiramento, utilizado em muitos dos trabalhos citados sobre a estimativa do C ou S-BMS, provoca desagregação e expõe fontes de C e organismos muitas vezes incomuns em condições naturais (JENKINSON; POWLSON, 1976a,b; SAGGAR et al., 1981a,b; CHAPMAN, 1987; CASTELLANOS;

DICK, 1991; WU et al., 1994; FRANZLUEBBER et al., 1996; CHOWDHURY et al., 2000). Esse fato pode ser indiretamente comprovado pela relação direta existente entre o teor de argila dos solos analisados por Franzluebber et al. (1996) e seus respectivos teores de C orgânico e C-BMS. Segundo os autores, o C-BMS subiu de 73 mg g<sup>-1</sup> de C orgânico em solo com 10% de argila para 115 mg g<sup>-1</sup> em solo com 40% de argila. Solos com elevados teores de argila tendem a manter uma porção elevada do C orgânico como biomassa microbiana. Esse fato se deve à redução na flutuação da umidade e pela proteção contra o ataque da fauna nos agregados do solo. Outra variável que pode descrever a proteção que a argila dá ao carbono, é a relação inversa do quociente metabólico e do N mineralizável, com o teor de argila do solo (FRANZLUEBBER et al., 1996).

O aumento da temperatura durante o procedimento de coleta das amostras, comum mesmo com o acondicionamento em isopor com gelo no campo (observação feita neste estudo e motivo adicional pelo qual se optou por trabalhar com TFSA), também pode levar a modificação das relações entre a biota e o substrato disponível. O efeito desse fator pode ser facilmente ilustrado com os dados gerados por Kirschbaum (1995), em que o mesmo verificou que o aumento de 1 °C da temperatura do planeta pode levar a perdas aproximadas de 10% do C orgânico em regiões onde a temperatura média é de 5 °C, ao passo que para o mesmo aumento, as perdas em regiões com temperatura média próxima de 30 °C, essas perdas poderiam chegar a 30%.

Powlson e Jenkinson (1976) avaliaram o C na biomassa microbiana de amostras de solos que tinham sido coletadas a 5-10 cm de profundidade e após remoção de minhocas, insetos e fragmentos de matéria orgânica foram peneiradas a 2,5 mm. Essas amostras foram incubadas aerobicamente a 15°C por 2 semanas e as suas umidades mantidas. Com esse procedimento os autores esperavam que o efeito do manuseio e amostragem fossem minimizados posteriormente. Após esse tratamento as amostras foram acondicionadas em congelador em sacos selados contendo 500 g de solo até descongelamento e análise. Os autores citam que o congelamento e o descongelamento estimulam a respiração, mas não tanto como a secagem do solo. Vale ressaltar aqui, que a secagem realizada pelos autores (Powlson e Jenkinson, 1976) foi assim caracterizada: 24 horas a 25°C.

O uso da TFSA na determinação do S microbiano do solo tem sido descrito na literatura (SAGGAR et al., 1981a; SAGGAR et al., 1981b; CHOWDHURY et al., 2000). Gonçalves (1999) testou, para condições brasileiras, diversos tempos de incubação da TFSA na determinação de C microbiano. Segundo o autor, a determinação imediata do C da biomassa microbiana de amostras coletadas no campo ou após 24 horas de reumidecimento para 50-75% da capacidade máxima de retenção de umidade da amostra, permite chegar a valores semelhantes para 60% dos solos testados. Por outro lado, Eriksen (1997) atribuiu a ausência de resposta da adição de S sobre o S da biomassa microbiana do solo, ao tempo de incubação das amostras (24 horas).

## **2.5. A fumigação no processo de determinação da biomassa microbiana**

De uma maneira geral, o procedimento de rotina associado aos métodos de fumigação-incubação e fumigação-extração, para determinação do C, N e S da biomassa microbiana do solo é a fumigação da amostra de solo. Essa operação visa causar a paralisação da atividade microbiana e posterior rompimento das células microbianas para determinação daquele elemento que se deseja estimar. Essa fumigação pode ser via vapor, mais amplamente difundida (JENKINSON; POWLSON, 1976a; SAGGAR et al., 1981b; ERIKSEN, 1997; WU et al., 1994; CHOWDHURY et al., 1999; CHOWDHURY et al., 2000) ou pela adição direta no solo do clorofórmio na forma líquida (SAGGAR et al., 1981a). Embora o forno de microondas esteja sendo utilizado por alguns autores (ISLAM; WEIL, 1998; NUNES et al., 2003) na fumigação de solo devido aos menores custos e geração de resíduos e gases poluentes, o uso do clorofórmio é ainda amplamente utilizado, sendo objeto das discussões posteriores.

É um procedimento que deve ser realizado de forma precisa pois, como foi observado por Powlson e Jenkinson (1976), a inoculação de solo fumigado não modificou significativamente a respiração daquele solo após tal procedimento. Com o efeito reduzido, os autores sugeriram que boa parte a microbiota havia sobrevivido ao tratamento com  $\text{CHCl}_3$ , sendo a inoculação desnecessária. Sendo assim, o agente biocida a ser usado deve ser bem estudado. O clorofórmio, aplicado na forma líquida ou em contato com a biota

na forma de vapor, é o agente mais usado nos métodos de fumigação-incubação ou fumigação-extração. Porém, Jenkinson e Powlson (1976) notaram diferenças significativas no efeito da concentração desse biocida sobre a respiração microbiana de uma amostra de solo. Quatro concentrações de  $\text{CHCl}_3$  (0, 62,5, 250 e 1.000 mg de  $\text{CHCl}_3$  por 100g de solo) e quatro tempos de exposição (4, 16, 64 e 256 minutos) foram testados. Segundo os autores, a maior concentração (mas na forma líquida) e menor tempo permitiu que o solo consumisse  $106 \text{ mg O}_2 \text{ 100g}^{-1}$  solo, ao passo que a exposição do solo ao vapor de  $\text{CHCl}_3$  por 24 horas ou 48 horas não afetou tal fenômeno significativamente, pois as taxas de respiração foram, respectivamente, 107 e 105  $\text{mg O}_2 \text{ 100g}^{-1}$  solo. Sendo assim, é recomendado que se usem concentrações superiores a 250 mg de  $\text{CHCl}_3 \text{ 100g}^{-1}$  solo para estudos de extração do C microbiano, caso contrário, o  $\text{CHCl}_3$  será fixado no sistema solo-água-ar de tal forma que será biologicamente ineficiente, pois a sorção em áreas hidrofóbicas é elevada (JENKINSON; POWLSON, 1976a).

O método da fumigação-extração foi desenvolvido por Vance et al. (1987) e tem sido considerado o mais usado na determinação do C, N e S microbiano devido à sua rapidez, pois não passa pelo tempo de incubação necessário no método de incubação-fumigação. Com esse método, as estimativas do C, N ou S microbiano do solo se fazem após a fumigação do solo e rompimento das células, com posterior extração (extrator específico para o nutriente analisado). Para o caso do S-BMS, o cálculo é feito da seguinte forma:

$$S_{\text{BMS}} = (S_{\text{F}} - S_{\text{NF}})/K, \text{ em } \mu\text{g/g de S no solo}$$

sendo, o  $S_{\text{BMS}}$  = enxofre na biomassa microbiana do solo;  $S_{\text{F}}$  = enxofre solúvel extraído da amostra fumigada;  $S_{\text{NF}}$  = enxofre solúvel extraído da amostra não-fumigada e o  $K$  = fator que relaciona a eficiência de extração do S adicionado ou liberado com a fumigação. Saggiar et al. (1981a) estimaram valores de  $K$  para os extratores testados na estimativa do S-BMS (0,35 para o extrator  $\text{CaCl}_2$  e 0,41 para o  $\text{NaHCO}_3$ ). Tais valores indicam que 35 e 41% do S da biomassa microbiana puderam ser mensurados pela técnica da fumigação (com  $\text{CHCl}_3$ )-extração, usando os extratores  $\text{CaCl}_2$  e  $\text{NaHCO}_3$ , respectivamente. Chapman (1987) utilizaram os mesmos valores de  $K$  para

os solos da Escócia. Wu et al. (1994), trabalhando com solos da Inglaterra e usando uma biomassa marcada com um isótopo estável de S ( $^{35}\text{S}$ ) em quantidade conhecida, conseguiram estimar valores de  $K$  da ordem de 0,31 e 0,35, respectivamente, para análise em que foram usadas as relações 1:2 e 1:5 de solo e solução extratora (peso:volume).

Pode-se evidenciar, desta forma, que apesar do valor  $K$  se relacionar com o tipo de extrator utilizado, com a população testada e extraída (de fungos ou bactérias) e com a relação entre o solo:extrator usada, poucos são os trabalhos que visam estimar esse parâmetro para condições diferentes daquelas em que o  $K$  usado na literatura foi estimado. Como a grande parte dos trabalhos utiliza valores de  $K$  originados de trabalhos com solos de clima temperado, com características químicas, físicas e físico-químicas diferentes daqueles encontrados nos trópicos, se faz urgente a estimativa desse fator para nossas condições.

## 2.6. Extratores usados na determinação do S-BMS

Vários são os extratores usados na determinação do S microbiano, sendo muitos deles semelhantes aos usados na extração do S disponível às plantas. Outros métodos estão descritos por De-Polli e Guerra (1996) com o mesmo objetivo, ou seja, determinar o potencial de reserva da biomassa microbiana do solo. Dentre eles os autores citam (a) a microscopia direta, que foi usada por Grisi e Gray (1985) e que é baseada na contagem e medição de tamanho dos organismos observados em certa quantidade de amostra de solo e dos seus biovolumes, determinados por características conhecidas como a densidade relativa e os conteúdos de água e C dos mesmos; (b) a determinação de constituinte específico no solo como o ATP, quitina e outros; e (c) o método fisiológico da determinação da taxa de respiração, proposto por Anderson e Domsch (1978). Porém, os mais usados atualmente são os baseados na extração direta do elemento desejado, após fumigação da amostra. Por isso, toda discussão posterior será relacionada com extratores usados em tais métodos de determinação (fumigação-extração).

Saggar et al. (1981a) após testarem cinco diferentes extratores ( $\text{NaHCO}_3$  0,5 M e  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$  40 mM;  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$  40 mM + ácido acético 2N; 10 mM  $\text{CaCl}_2$  e 0,1 M  $\text{NaHCO}_3$ ), no desenvolvimento de uma técnica para se avaliar o S na biomassa microbiana (S-BMS), obtiveram resultados interessantes. Segundo os autores, os três primeiros extratores além de extraírem quantidades variáveis de S orgânico, em adição ao S solúvel do solo, apresentaram baixas taxas de recuperação para uma determinada cultura de fungo testada e anteriormente aplicada ao solo, por isso, os mesmos recomendaram o uso dos extratores  $\text{CaCl}_2$  10 mM e  $\text{NaHCO}_3$  0,1 M. Porém, apesar de Saggar et al. (1981a) terem verificado que o  $\text{NaHCO}_3$  possui uma maior capacidade de recuperação (39-50 % do S bacteriano e 37-43% do S fúngico) que o  $\text{CaCl}_2$  (28-47% do S bacteriano e 29-38% do S fúngico), Chapman (1987) cita que este extrator ( $\text{NaHCO}_3$ ) tem a capacidade de extrair outras formas que não as solúveis de S, como o sulfato adsorvido e o S orgânico lábil. Wu et al. (1994) também citam as mesmas propriedades para o  $\text{KHCO}_3$  (100 mmol). Segundo os autores, o  $\text{KHCO}_3$  (100 mmol) e o  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (100 mmol) possuem maior capacidade de extração de S dos solos testados (ampla faixa de textura e manejo) que o  $\text{CaCl}_2$  (10 mmol), com pequena superioridade do  $\text{KHCO}_3$  (100 mmol), apesar deste apresentar seus extratos com coloração escura, evidenciando que boa parte do S extraído por ele era de origem orgânica. Chapman (1987) detectou o mesmo problema em seus extratos oriundos do uso do  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (16 mmol), extrator de maior capacidade de extração do S. Apesar desse autor (CHAPMAN, 1987) ter obtido menores extrações com o  $\text{CaCl}_2$  10 mmol.L<sup>-1</sup> em solos da Escócia, mas os dados oriundos do seu uso foram responsáveis por uma maior precisão (menor variância) do experimento (Tabela 4). O único trabalho brasileiro que contempla a comparação de extratores ( $\text{CaCl}_2$ , 20 mmol e  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$  500 mg L<sup>-1</sup> em HOAc) na determinação do S-BMS foi realizado por Nunes et al. (2003) sendo os resultados sem uma relação clara entre os extratores e os solos avaliados. Os autores encontraram maior capacidade de extração do S-BMS pelo  $\text{CaCl}_2$  do que pelo fosfato monocálcico e discutem a urgência de pesquisas exploratórias com a metodologia de determinação do S-BMS, que ainda é incipiente no Brasil.

**Tabela 4** – Efeito de três concentrações de S em meios de cultura de bactérias e fungos na extração de S desses microrganismos com uso do  $\text{CaCl}_2$  10 mM e  $\text{NaHCO}_3$  0,1 M, como extratores.

Trat. <sup>1</sup>	Sem fumigação		Com fumigação		Aumento da extração	
	$\text{CaCl}_2$ 10 mM	$\text{NaHCO}_3$ 0,1 M	$\text{CaCl}_2$ 10 mM	$\text{NaHCO}_3$ 0,1 M	$\text{CaCl}_2$ 10 mM	$\text{NaHCO}_3$ 0,1 M
<i>Arthrobacter globiformis</i>						
Baixo S	13,3	15,4	41,3	47,9	28,0	32,5
Médio S	17,9	18,0	46,0	48,2	28,1	30,2
Alto S	17,3	18,7	50,7	55,4	33,4	36,7
<i>Pseudomonas cepacia</i>						
Baixo S	16,9	19,4	51,6	55,0	34,7	35,6
Médio S	18,7	21,3	53,2	55,3	34,5	34,0
Alto S	2,4	21,7	60,2	56,4	39,8	34,7
<i>Fusarium solani</i>						
Baixo S	20,4	20,5	52,6	51,8	32,2	31,3
Médio S	22,8	24,5	54,3	56,1	31,5	31,6
Alto S	29,0	27,7	61,2	61,8	32,2	34,1
<i>Trichoderma harzianum</i>						
Baixo S	22,1	25,4	50,6	53,0	28,5	27,6
Médio S	20,8	23,6	53,5	56,3	32,7	32,7
Alto S	26,1	27,0	61,5	65,7	35,4	38,7

Fonte: Chapman (1987) <sup>1</sup> Meios de baixa, média e alta concentrações de S, 1, 4 e 16 mg ml<sup>-1</sup> de S, respectivamente.

Diante do exposto e da ampla utilização do  $\text{CaCl}_2$  (10 Mm) como extrator do S-BMS, os autores fizeram a opção por testar preferencialmente esse extrator nos solos brasileiros.

### 3. Estudo de caso

#### 3.1. Objetivos

- => Avaliar o uso de TFSA na estimativa do S-BMS;
- => Estimar o S associado com a microbiota de diferentes classes de solo amostrados nos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo, a partir da incubação por 24 horas e uso de dois diferentes extratores; e
- => Correlacionar os resultados obtidos às características químicas, físicas e biológicas desses solos.

### 3.2. Material e métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Análises de Solo da Embrapa *Agrobiologia*, Seropédica, Rio de Janeiro. Doze classes de solos foram estudadas, tendo suas amostras sido coletadas em três Estados da Federação do Brasil e condições de manejo (Tabela 5). Cada amostra composta analisada foi confeccionada a partir de 8 amostras simples, sendo a profundidade de coleta de 0-20 cm para todas elas. As amostras foram coletadas em diferentes épocas e acondicionadas como TFSA (terra fina seca ao ar), por longo período de tempo (até dois anos). As exceções foram as amostras coletadas em PLANOSSOLO, sob áreas com diferentes coberturas arbóreas, coletadas 2 semanas antes das análises. Cada solo foi caracterizado quimicamente quanto aos seus respectivos teores de C orgânico, P, Ca, Mg e S. O C orgânico, o P, o Ca e o Mg foram determinados segundo manual de métodos da Embrapa Solos (EMBRAPA, 1997). O S foi determinado por turbidimetria, segundo Alvarez Viegas et al. (2001).

Amostra de cada solo foi pesada (10 g) e, em triplicata (referente aos tratamentos representativos da fumigação e não-fumigação), foi incubada próxima a 60% da capacidade de campo por 24 horas para posterior avaliação do S na biomassa microbiana. Esse procedimento objetivava o crescimento de organismos remanescentes dos solos. Os procedimentos de fumigação e extração do S microbiano usados nesse trabalho foram descritos por Wu et al. (1994). De forma resumida, as amostras foram fumigadas com o vapor do  $\text{CHCl}_3$ , na presença de água, em dessecador para que a umidade das amostras se mantivessem durante o período desse procedimento (24 horas). No momento da colocação das amostras no dessecador, vácuo foi dado até a pressão (negativa) de  $-600$  mmHg, quando se observou borbulhamento do  $\text{CHCl}_3$ . Ao final do tempo de fumigação (24 horas), o dessecador foi aberto, sendo retirados o clorofórmio e a água do mesmo. Sucessivas aplicações de vácuo (4x) foram feitas até a remoção do agente fumigante. As amostras permaneceram ainda por cerca de 30 minutos ao ar livre para que todo o clorofórmio fosse volatilizado das amostras.

**Tabela 5** – Classificação do solo, Estado de coleta das amostras e características químicas e físicas das amostras.

Classe	Estado	Cultura	pH	Al	Ca+Mg	P	K	P-rem	Corg	Ag <sup>1</sup>	Af <sup>2</sup>	Si <sup>3</sup>	Ar <sup>4</sup>
				-- cmolc dm <sup>-3</sup> --	----- mg dm <sup>-3</sup> -----	----- g kg <sup>-1</sup> -----							
Cambissolo	RJ	Cana-de-açúcar	5,7	0,0	9,2	4,0	48	28	23	6	12	46	36
Cambissolo	MG	Cana-de-açúcar	5,3	0,0	6,9	4,5	56	34	27	34	12	9	46
Latossolo	MG	Cana-de-açúcar	4,2	0,5	2,0	2,0	38	20	18	30	9	15	46
Luvissolo	MG	Cana-de-açúcar	4,8	0,2	3,2	6,7	55	17	28	34	3	25	68
Luvissolo	MG	Cana-de-açúcar	4,8	0,3	4,5	16,7	393	23	32	26	12	5	57
Latossolo	SP	Cana-de-açúcar	5,7	0,0	2,6	12,3	23	19	6	50	40	4	5
Cambissolo	SP	Cana-de-açúcar	6,9	0,0	3,5	9,3	11	49	6	67	24	2	7
Latossolo	SP	Cana-de-açúcar	5,8	0,0	2,8	5,7	14	43	7	51	34	2	13
Argissolo	RJ	Acácia mangium	4,5	0,6	0,9	11,7	55	53	13	65	26	7	2
Planossolo	RJ	Pseudosamanea guachapele	4,8	0,4	0,9	7,7	27	57	8	65	26	7	2
Planossolo	RJ	Eucalyptus grandis	4,8	0,3	0,8	7,0	25	59	12	65	26	7	2
Planossolo	RJ	E. grandis+ P. guachapele	4,4	0,5	0,9	10,	27	55	15	65	26	7	2

<sup>1</sup>Ag: areia grossa; <sup>2</sup>Af: areia final; <sup>3</sup>Si: silte; <sup>4</sup>Ar: argila.

Os extratores selecionados para o estudo foram o  $\text{CaCl}_2$  10  $\text{mmol L}^{-1}$  e o  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ , 500  $\text{mg.L}^{-1}$  de P, em HOAC 2  $\text{mol.L}^{-1}$ , por serem extratores amplamente usados, eficientes e apresentarem algumas vantagens. Na verdade, poucos trabalhos foram encontrados na literatura com o  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ , 500  $\text{mg.L}^{-1}$  de P, em HOAC 2  $\text{mol.L}^{-1}$  para determinação do S microbiano (SAGGAR et al., 1981b). Entretanto, devido a ressalva feita por Ribeiro Jr. (1999) e Alvarez Viegas et al. (2001) de que é um extrator (S-disponível) sensível a capacidade tampão de sulfato dos solos de Minas Gerais e de que o Ca não permite a dispersão do solo, impedindo que o extrato não apresente coloração escura, se incluiu tal extrator no experimento.

### 3.3. Análise estatística

Análise de variância dos dados foi realizada para o S-BMS, tendo como fontes de variação os diversos solos. Coeficientes de correlação foram também estimados entre as características do solo analisadas e os valores estimados de S-BMS, para ambos os extratores. Foi usado o programa SAEG (EUCLYDES, 1983) para execução as análises citadas.

### 3.4. Resultados e discussão

#### 3.4.1. *Uso da terra fina seca ao ar (TFSA)*

O uso da TFSA acondicionada por períodos longos, para solos argilosos, ou mesmo períodos curtos, para solos arenosos, não proporcionou bons resultados na estimativa do S da biomassa microbiana, tendo sido detectado valores de S superiores em solos não fumigados que naqueles fumigados (Tabela 4). Apenas para 6 solos foi possível estimar a quantidade de S-BMS (0,08-39,8, não havendo também, coincidência entre os extratores para essa extração. Assim como Eriksen (1997) e Sagggar et al. (1981) citam, o tempo de incubação reduzido pode limitar o crescimento microbiano e, por conseguinte o S extraído. Acredita-se que para os solos acondicionados a muito tempo, a maior parte do C lábil dos solos, que poderia ser utilizado facilmente pela população nativa do solo após seu reumidecimento, tenha sido oxidado durante o período de estocagem levando a baixa disponibilidade de substrato para o crescimento de uma população microbiana também reduzida.

**Tabela 4** – Valores de S encontrados nas amostras fumigadas e não fumigadas usadas na estimativa do S-BMS.

Solo	Fumigado	Não-fumigado	S-BMS <sup>1</sup>	Fumigado	Não-fumigado	S-BMS <sup>1</sup>
	CaCl <sub>2</sub> 10 mM			Ca(H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> , 500 mg.L <sup>-1</sup> de P, em HOAC		
CAMBISSOLO	4,39	4,25	0,40	0,38	1,10	*
CAMBISSOLO	5,34	4,58	2,14	8,85	9,96	*
LATOSSOLO	1,29	2,19	*	5,21	5,89	*
ALUVIAL	1,33	2,79	*	21,86	7,98	39,60
ALUVIAL	11,02	23,8	*	27,44	29,39	*
LATOSSOLO	1,75	3,64	*	11,79	9,44	6,71
CAMBISSOLO	0,35	2,90	*	1,03	1,28	*
LATOSSOLO	0,18	2,53	*	3,27	3,24	0,08
ARGILOSSOLO	3,46	6,91	*	6,30	8,65	*
PLANOSSOLO	2,56	5,27	*	1,15	1,19	*
PLANOSSOLO	3,14	4,96	*	1,03	0,70	0,94
PLANOSSOLO	3,03	4,89	*	6,05	6,83	*

\* Valores negativos; <sup>1</sup> Estimado segundo Wu et al. (1994) ( $k = 0,35$ ).

Apesar de alguns autores terem trabalhado com TFSA (SAGGAR et al., 1981a; GONÇALVES, 1999; CHOWDHURY et al., 2000), outros usaram o resfriamento (5-10 °C - CHAPMAN, 1987; 5°C – WU et al., 1994) e o congelamento (JENKINSON; POWLSON, 1976; POWLSON; JENKINSON, 1976) como forma de acondicionamento das amostras coletadas até o momento da incubação, deve-se dar preferência para coleta e avaliação imediata do compartimento associada com a microbiota do solo, conforme Chowdhury et al. (1999) recomenda. Porém, como boa parte dos campos experimentais se localizam longe dos laboratórios de análise e alguns estudos necessitam comparar diferentes áreas, busca-se com o uso da TFSA e demais procedimentos de acondicionamento diminuir erros inerentes às condições das amostras pré-análise.

### 3.4.2. Extratores

Correlações altamente significativas ( $r = 0,86^{**}$  e  $r = 0,76^{**}$ , para os solos fumigados e não fumigados, respectivamente) foram encontradas entre os valores estimados de S por ambos os extratores, evidenciando aptidões dos mesmos à extração do nutriente. O  $\text{CaCl}_2$  10 mM, como citado na literatura (ALVAREZ VIEGAS, 1988; ALVAREZ VIEGAS et al., 2001), tendeu a apresentar menor capacidade de extração de S que o  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ , 500 mg L<sup>-1</sup> de P, em HOAC 2 mol L<sup>-1</sup> e a ser menos sensível as diferenças entre os solos. Ribeiro Júnior et al. (2001), avaliando a dinâmica de frações de S de solos brasileiros detectou que o  $\text{CaCl}_2$  foi o extrator que mais bem se correlacionou com S disponível ao sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) para solos com baixa e média capacidade de adsorção de sulfato, ao passo que os extratores  $\text{NH}_4\text{OAc}$  (0,5 M) e  $\text{HOAc}$  (0,25 M) e o  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ , 500 mg L<sup>-1</sup> de P, em HOAC 2 mol L<sup>-1</sup> os que melhor se correlacionaram com a disponibilidade de S ao sorgo. Saggari et al. (1981a) detectaram em estudo da estimativa do S-BMS que, tanto o  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$  40 mM (com ou sem 2 N ácido acético) como o  $\text{NaHCO}_3$  0,5 M extraíram outras formas de S que não somente a solúvel, pois seus extratos apresentavam coloração escura. Como a recuperação de uma cultura de fungo adicionada ao solo estava sendo baixa por estes extratores, os autores optaram por usar apenas o  $\text{CaCl}_2$  10 mM e o  $\text{NaHCO}_3$  0,1 M. Assim, sugere-se que novos estudos com solos brasileiros contemplem os extratores utilizados no presente estudo, porém após a introdução de cultura de organismos marcados com <sup>35</sup>S; vale ressaltar que esse estudo seria de grande relevância, uma vez que a determinação do coeficiente de extração (k) poderia também ser efetuada.

O  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ , 500 mg L<sup>-1</sup> de P, em HOAC 2 mol L<sup>-1</sup> parece ser o extrator mais adequado para se trabalhar com S nos solos testados, pois foi observado um maior coeficiente correlação entre os dados (Figura 2) e pela distribuição mais homogênea dos pontos no gráfico, indicando uma maior sensibilidade do extrator aos solos. Porém, novos estudos devem ser feitos com ambos os extratores de forma a validar tal afirmativa, principalmente por que esse extrator ( $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ ) tende a extrair não apenas formas solúveis de S, mas algo do que está adsorvido e que pode entrar rapidamente em solução (DIAS et al., 2003).

Um resultado interessante e que merece ser destacado é de que, apesar da fumigação-extração não ter sido eficaz na estimativa do S-BMS, foi possível detectar um menor coeficiente de variação dos dados estimados quando os solos haviam sofrido fumigação (C.V. = 14,3% para o  $\text{CaCl}_2$  e 24,0% para o  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ ), em comparação com aqueles em que tal procedimento não foi realizado (45% para o  $\text{CaCl}_2$  e 66,4 % para o  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ ). Esses achados podem estar relacionados com o pouco tempo de incubação, no qual não tenha sido possível atingir um patamar de crescimento da microbiota do solo.

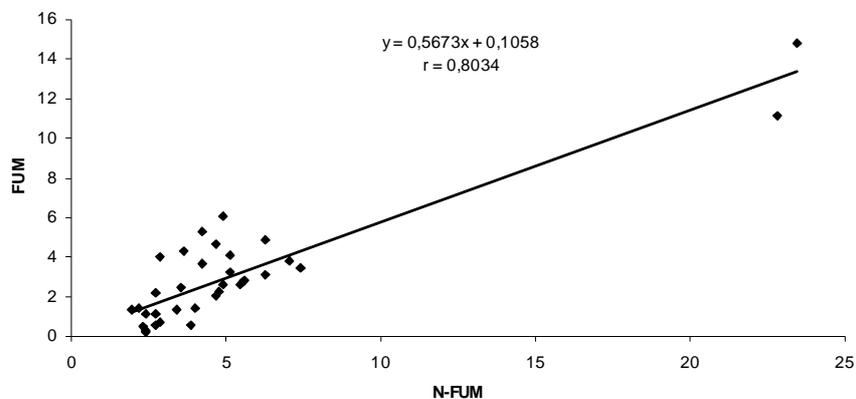


Figura 1 - Correlação entre o S estimado ( $\text{mg dm}^{-3}$ ) em solo fumigado (FUM) e não fumigado (N-FUM), pelo extrator  $\text{CaCl}_2$  10 mM.

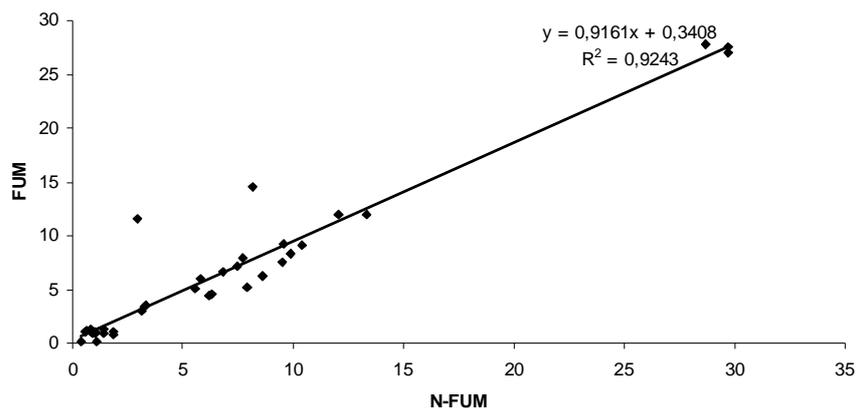


Figura 2 - Correlação entre o S estimado ( $\text{mg dm}^{-3}$ ) em solo fumigado (FUM) e não fumigado (N-FUM), pelo extrator o  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ , 500  $\text{mg L}^{-1}$  de P, em HOAC 2  $\text{mol L}^{-1}$ .

A relação usada entre a massa do solo e o volume de extrator (1:5) na determinação do S pode também ter contribuído para o insucesso das avaliações. Wu et al. (1994), após detectarem que valores baixos de S extraídos com  $\text{CaCl}_2$ , sugeriram que o uso da relação 1:2 seja mais confiável, sendo que permitiu ainda menor variabilidade dos dados gerados. Chowdhury et al. (1999) e Eriksen (1997) utilizaram a mesma relação que Wu et al. (1994) recomendaram, enquanto Saggari et al. (1981a) e Chapman (1987) adotaram a relação 1:5.

### **3.4.3. Correlação com algumas características do solo**

Como já foi dito anteriormente, a maior reserva de S nos solos é de origem orgânica, sendo assim, pode-se afirmar que grande parte do S estimado pelos extratores e em ambas as situações (fumigado e não fumigado) também tenham sua origem na matéria orgânica. Por isso, correlações positivas e altamente significativas ( $p < 0,005$ ) foram encontradas entre o S extraído e o Corgânico ( $r$  variando de 0,50 a 0,63), corroborando com outros autores (CHOWDHURY et al., 1999; DIAS et al., 2003).

O P e o K disponíveis mantiveram correlações altamente significativas ( $p < 0,01$ ) com o S extraído com ambos os extratores e procedimentos (não fumigação -NFUM e fumigação -FUM), evidenciando a adição via fertilizante, vinhaça ou deposição de serapilheira (plantios florestais) desses nutrientes no solo, conjuntamente. A adição de fosfato em solos tem sido relacionada com o decréscimo da adsorção de sulfato e aumento de formas lábeis de S no solo (DIAS et al., 1994).

O S extraído com ambos os extratores (tanto em condição de solo FUM e NFUM, respectivamente), se correlacionou negativamente ( $r = -0,43^{**}$  a  $r = -0,52^{**}$ ) com o P-rem apenas para o extrator  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ , 500  $\text{mg.L}^{-1}$  de P), corroborando com inferências feitas por Dias et al. (2003) de que esse extrator tem maior capacidade de extração de S que o  $\text{CaCl}_2$ .

Das frações físicas analisadas, a que manteve relação estreita com S extraído dos solos foi a argila. O S extraído com  $\text{CaCl}_2$  se correlacionou significativamente ( $p < 0,05$ ) com o teor de argila dos solos, ao passo que para o  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$  essa relação se estreitou ainda mais ( $p < 0,01$ ), corroborando

com outros autores que descrevem ser esse o extrator mais recomendado para avaliação de formas orgânicas potencialmente lábeis de S de solos com alta capacidade de adsorção de sulfato, normalmente mais argilosos (DIAS et al., 2003).

#### 4. Conclusões gerais

Os extratores foram eficientes na extração do S do solo, porém em função principalmente do tempo reduzido de incubação, não foi possível estimar de forma confiável o S-BMS. O  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ , 500 mg L<sup>-1</sup> de P, em HOAC 2 mol L<sup>-1</sup> parece ser mais sensível às diferenças em propriedades químicas e físicas do solo.

Foram identificadas três demandas urgentes para que o S-BMS possa ser estimado de forma precisa: (i) estimar o valor de *K* compatível com atributos físico-químicos de solos oxidicos, que impõem ao S comportamento distinto dos solos pouco intemperizados de regiões de clima temperado, (ii) avaliar a sensibilidade de outros extratores de S do solo na estimativa do S microbiano, e (iii) a atividade de enzimas relacionadas com as transformações do S no solo.

#### 5. Referências bibliográficas

ABRAHÃO, W.A.P.; MELLO, J.W.V. Fundamentos da pedologia e geologia de interesse no processo de recuperação de áreas degradadas. In: DIAS, L.E., MELLO, J.W.V. (Ed.). **Recuperação de Áreas Degradadas**. Viçosa: UFV – Departamento de Solos; Sociedade Brasileira de Recuperação de Áreas Degradadas, 1998. p.45-57.

AITA, C.; GIACOMINI, S.J. Matéria orgânica do solo, nitrogênio e enxofre nos diversos sistemas de exploração agrícola. In: YAMADA, T., STIPP, S.R., VITTI, G.C. (Ed.). **Nitrogênio e enxofre na agricultura brasileira**. Piracicaba: IPNI, 2007. p: 1-41.

ALVAREZ VIEGAS, V.H. Enxofre: critérios de diagnose para o solo e planta, correção de deficiências e excessos. In: BORKERT, C.M., LANTMAN, Á.F. (Ed.). **Enxofre e micronutrientes na agricultura brasileira**. Londrina: Embrapa – CNPSo/IAPAR/SBCS, , 1988. p: 31-57.

ALVAREZ VIEGAS, V.H.; NOVAIS, R.F.; DIAS, L.E.; OLIVEIRA, J.A. Determinação e uso do fósforo remanescente. **Boletim informativo da SBCS**, Viçosa, v. 25, p. 27-32, 2000.

ALVAREZ VIEGAS, V.H.; DIAS, L.E.; RIBEIRO Jr.; E.S., SOUZA, R.B. de; FONSECA, C.A. **Métodos de análise de enxofre em solos e em material vegetal**. 1 ed. Viçosa: Imprensa Universitária, 2001, 131 p.

ALEXANDER, M. Microbial transformation of sulfur. In: ALEXANDER, M. (Ed.) **Introduction to soil microbiology**. 2 ed. John Wiley & Sons, 1977. p. 350-367.

ANDERSON, J.P.E.; DOMSCH, K.H. Quantities of plant nutrients in the microbial biomass of selected soils. **Soil Science**, Baltimore, v.130, p. 211–216, 1985.

BALIEIRO, F.C.; OLIVEIRA, I.G.; DIAS, L.E. Formação de mudas de *Acacia holosericea* e *A. auriculiformis*: resposta a calagem, fósforo, potássio e enxofre. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 25, p. 183-191, 2001.

BALIEIRO, F.C.; FRANCO, A.A.; PEREIRA, M.G.; CAMPELLO, E.F.C.; DIAS, L.E.; FARIA, S.M.; ALVES, B.J.R. Dinâmica de serapilheira e transferência de nitrogênio ao solo em plantios de *Pseudosamanea guachapele* and *Eucalyptus grandis*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, p. 597-601, 2004.

BENITES, V.M.; MENDONÇA, E.S.; SCHAEFER, C.E.G.R.; NOVOTNY, E.H.; REIS, E.L.; KER, J.C. Properties of black soil humic acid from high altitude rocky complexes in Brazil. **Geoderma**, Amsterdam, v. 127, p. 104-113, 2005.

BISSANI, C.A.; TEDESCO, M.J. O enxofre no solo. In: **Enxofre e micronutrientes na agricultura brasileira**. In: BORKERT, C.M.; LANTMAN, Á.F. (Ed.). Londrina: Embrapa – CNPSo/IAPAR/SBCS, 1988, p. 11-29.

CASTELLANOS, S.D.; DICK, R.P. Cropping and sulfur fertilization influence on sulfur transformations in soil. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 55, p. 114-121, 1991.

CHAPMAN, S.J. Microbial sulfur in some Scottish soils. **Soil Biology Biochemistry**, Amsterdam, v. 19, p. 301-305, 1987.

CHOWDHURY, A.H.; KOUNO, K.; ANDO, T. Correlation among microbial biomass S, soil properties, and other biomass nutrients. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v. 45, p. 175-186, 1999.

CHOWDHURY, A.H.; KOUNO, K.; ANDO, T.; NAGAOKA, T. Microbial biomass, S mineralization and S uptake by african millet from amended with various compost. **Soil Biology Biochemistry**, Amsterdam, v. 32, p. 845-852, 2000.

CONSTANTINIDES, M.; FOWNES, J.H. Nitrogen mineralization from leaves and litter of tropical plantas: relationship to nitrogen, lignin and soluble polyphenol concentrations. **Soil Biology Biochemistry**, Amsterdam, v. 26, p. 49-55, 1994.

DE-POLLI, H.; GUERRA, J.G.M. Biomassa microbiana: perspectivas para o uso e manejo do solo. In: ALVAREZ VIEGAS, V.H.; FONTES, L.E.F.; FONTES, M.P. (Ed.). **O solo nos grandes domínios morfoclimáticos do Brasil e o desenvolvimento sustentável**. Viçosa: SBCS/UFV/DPS, 1996, p. 551-563.

DIAS, L.E.; ALVAREZ VIEGAS, V.H.; COSTA, L.M.; NOVAIS, R.F. Dinâmica de algumas formas de enxofre em colunas de solos tratados com diferentes doses de fósforo e gesso. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 18, p. 373-380, 1994.

DIAS, L.E.; RIBEIRO JR., E.S.; ALVAREZ VIEGAS., V.H.; MELLO, J.W.M. Organic and mineral sulfur fractions in brazilian soils submitted to consecutive harvest. **Communication of Soil Science and Plant Analysis**, Athens, v. 34, p. 357-373, 2003.

DIAS, L.E.; JUCKSCH, I.; ALVAREZ VIEGAS., V.H.; BARROS, N.F.; BRIENZA Jr., S. Formação de mudas de Taxi Branco (*clerolobium paniculatum*) : resposta a nitrogênio, potássio e enxofre. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 16, p. 135-143, 1992.

DUDA, G.P. **Conteúdo de fósforo microbiano, orgânico e biodisponível em diferentes classes de solo**. 2000.158 f. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

EMBRAPA **Manual de Métodos de Análise de Solo**. Brasília: Embrapa Comunicação para transferência de tecnologia; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 1997, 212p.

ERIKSEN, J.; MORTENSEN, J.V.; NIELSEN, J.D.; NIELSEN, N.E. Sulphur mineralization in five Danish soils as measured by plant uptake in pot experiment. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 56, p. 43-51, 1995.

ERIKSEN, J. Sulfur cycling in Danish agricultural soils: turnover in organic fractions. **Soil Biology Biochemistry**, Amsterdam, v. 29, p. 1371-1377, 1997.

EUCLYDES, R.F. **Manual de utilização do programa SAEG (Sistema para análises estatísticas e genéticas)**. Viçosa-MG: Imprensa Universitária, 1983. 59p.

DENEFF, K.; ZOTARELLI, L.; BODDEY, R.M.; SIX, J. Microaggregate-associated carbon as a diagnostic fraction for management-induced changes in soil organic carbon in two Oxisols. **Soil Biology Biochemistry**, Amsterdam, v. 39, p. 1165-1172, 2007.

FERNANDEZ, J.Q.P.; RUIVO, M.L.P.; DIAS, L.E.; COSTA, J.P.V.; DIAZ, R.R. Crescimento de mudas de *Mimosa tenuiflora* submetidas a diferentes níveis de calagem e doses de fósforo. **Revista Árvore**, [Viçosa], v. 20, p. 425-431, 1996.

FONTES, M.P.F.; NOVAIS, R.F.; ALVAREZ VIEGAS, V.H.; BORGES, A.C. Nível crítico de enxofre em latossolos e recuperação de sulfato adicionado por diferentes extratores químicos, em casa de vegetação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.6, p. 226-230, 1982.

FRANZLUEBBERS, A.J.; HANEY, R.L.; HONS, F.M.; ZUBERER, D.A. Active fractions of organic matter in soils with different texture. **Soil Biology Biochemistry**, Amsterdam, v. 28, p. 1367-1372, 1996.

FRENEY, J.R. Forms and relations of organic sulfur compounds in soils. In: TABATABAI, M.A. (Ed.). **Sulfur in agriculture**. Madison, Wisconsin: American Society of Agronomy, Crop Science Society of America and Soil Science Society of America, Inc., 1986, p. 207-232.

GOEPFERT, C.F. Calagem e adubação no Estado do Rio Grande do Sul. In: MIYASAKA, S, MEDINA, J.C. (Ed.). **A soja no Brasil**. Campinas: Instituto de tecnologia de Alimentos – ITAL, 1981. p. 482-489.

GOLLEY, F.R. **Ciclagem de nutrientes em um ecossistema de floresta tropical úmida**. São Paulo: EPU/USP, 1978. 256p.

GONÇALVES, A.S. Biomassa microbiana de carbono de solos de pastagem do Estado do Rio de Janeiro. 1999. 76f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

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

HASSINK, J. The capacity of soils to preserve organic C and N by their association with clay and silt particles. **Plant and Soil**, Hague, v. 191, p. 77-87, 1997.

ISLAM, K.R.; WEIL, R.R. A rapid microwave digestion method for colorimetric measurement of soil organic matter. **Communication of Soil Science and Plant Analysis**, Athens, v. 15 & 16, p. 2269-2284, 1988.

JENKINSON, D.S.; POWLSON, D.S. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil – I. Fumigation with chloroform. **Soil Biology Biochemistry**, Amsterdam, v. 8, p. 167-177, 1976.

JENKINSON, D.S.; POWLSON, D.S.; WEDDERBUR, R.W.M. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil – III. The relationship between soil bioluminescence, measured by optical microscopy, and the flush of decomposition caused by fumigation. **Soil Biology Biochemistry**, Amsterdam, v. 8, p. 189-202, 1976.

JOHNSON, G.V.; FIXEN, P.E. Testing soils sulfur, boron, molybdenum and chlorine. In: WESTERMAN, R.L. (Ed.). **Soil testing and plant analysis**. 3 ed. SSSA Book series, v. 3, p. 265-268, 1995.

KIRSHBAUM, M.U.F. The temperature dependence of soil organic matter decomposition, and the effect of global warming on soil organic C storage. **Soil Biology Biochemistry**, Amsterdam, v. 27, p. 753-760, 1995.

KOWALENKO, C.G. Total and fractions of sulfur. In: CARTER, M.R. (Ed.). **Soil Sampling and methods of analysis**. Canadian Society of Soil Science. Boca Raton, Florida Lewis Publishers, 1993, p. 231-238.

LANDBERG, J.J.; GOWER, S.T. Soil organic matter and decomposition. In: LANDBERG, J.J.; GOWER, S.T. (Eds.) **Applications of physiological ecology to forest management**. London: Academic Press, 1997, p. 161-184.

LEITE, F.P.; BARROS, N.F.; NOVAIS, R.F.; FABRES, A.S. Acúmulo e distribuição de nutrientes em *Eucalyptus grandis* sob diferentes densidades populacionais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 22, p. 419-426, 1998.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London: Academic Press, 1995. 889p.

MARTENS, D.A. Plant residues biochemistry regulates soil carbon cycling and carbon sequestration. **Soil Biology Biochemistry**, Amsterdam, v. 32: 361-369, 2000.

MELLO, J.W.V.; DIAS, L.E.; DANIEL, A.M.; ABRAHÃO, W.A.P.; DESCHAMPS, E., SCHAEFER, C.E.G.R. Preliminary evaluation of acid mine drainage in Minas Gerais State, Brazil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.30, p. 365-375, 2006.

MUZILLI, O. Calagem e adubação no Estado do Paraná. In: MIYASAKA, S, MEDINA, J.C. (Ed.). **A soja no Brasil**. Instituto de tecnologia de Alimentos – ITAL, 1981, p. 493-501.

NATELHOFFER, K.J.; FRY, B. Controls on natural nitrogen-15 and carbon-13 abundance in forest soil organic matter. **Soil Science Society of America Journal**, Madson, v. 52, p. 1633-1640, 1988.

NOGUEIRA, M.A., MELO, W.J. Enxofre disponível para soja e atividade de arilsulfatase em solo tratado com gesso agrícola. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, [Viçosa], v.27, p. 655-663, 2003.

NOVAIS, R.F.;BARROS, N.F.;NEVES, J.C.L. Nutrição mineral do eucalipto. In: BARROS, N.F.; NOVAIS, R.F. (Ed.) **Relação solo-eucalipto**. Viçosa: Editora Folha de Viçosa, 1990, p. 23-98.

NUNES, L.A.P.L.; DAS, L.E.; RIBEIRO JR., E.S. Determinação do enxofre da biomassa microbiana através do método de irradiação em forno de microondas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, IXX, **Anais...** Ribeirão Preto, SP., 2003. (em CD).

OGLESBY, K.A.; FOWNES, J.H. Effects of chemical composition on nitrogen mineralization from green manures of seven tropical leguminous trees. **Plant and Soil**, Hague, v.143, p. 127-132, 1992.

PINTO, C.R.; NAHAS, E. Atividade e população microbiana envolvida nas transformações do enxofre em solos com diferentes vegetações. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, p. 1751-1756, 2002.

POLWSON, D.S.; JENKINSON, D.S. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil – II. Gamma irradiation, autoclaving, air drying and fumigation. **Soil Biology Biochemistry**, Amsterdam, v. 8, p. 179-188, 1976.

POLWSON, D.S.; BROOKES, P.C.; CHRISTENSEN, B.T. Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total soil organic matter due to straw incorporation. **Soil Biology Biochemistry**, Amsterdam, v. 19, p. 159-164, 1987.

REIS, M.G.F.; BARROS, N.F.; KIMMINS, J.P. Acúmulo de nutrientes em uma seqüência de idade de *Eucalyptus grandis* W. Hill (ex-Maiden) plantado no cerrado em duas áreas com diferentes produtividades, em Minas Gerais. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 11, p. 1-15, 1987.

REZENDE, J.L.P.; GARCIA, Q.S.; SCOTTI, M.R.M.M. Laboratory decomposition of *Dalbergia nigra* All. ex. Benth and *Eucalyptus grandis* W. Hill ex. Maiden leaves in forest and eucalypt plantation soils. **Acta botanica brasilica**, São Paulo, v.15, p. 305-312, 2001.

RIBEIRO JR.; E.S., DIAS, L.E.; ALVAREZ VIEGAS, V.H.; MELLO, W.W.V.; DANIELS, W.L. Dynamics of sulfur fractions in brasilian soils submitted to consecutive harvest of sorghum. **Soil Science Society of America Journal**, Madson, v. 65, p. 787-794, 2001.

SAGGAR, S., BETTANY, J.R., STEWART, W.B. Measurment of microbial sulfur in soil. **Soil Biology Biochemistry**, Amsterdam, v. 13, p. 493-498, 1981a.

SAGGAR, S., BETTANY, J.R., STEWART, W.B. Sulfur transformations in relation to carbon and nitrogen in incubated soils. **Biology Biochemistry**, Amsterdam, v. 13, p. 499-511, 1981b.

SENESI, N., LOFFREDO, E. The chemistry of soil organic matter. In: SPARKS. D.L. (Ed.). **Soil physical chemistry** (2 ed.). Boca Raton: CRS Press, 1999, p.259-264.

SILVA, D.J., ALVAREZ VIEGAS, V.H., RUIZ, H.A. Fluxo de massa e difusão de enxofre para as raízes de milho em solos ácidos de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 22, p. 109-114, 1998.

SISTI, C.P.J., SANTOS, H.P., KOHHANN, R., ALVES, B.J.R., URQUIAGA, S., BODDEY, R.M. Change in carbon and nitrogen stocks in soil under 13 years of conventional or zero tillage in southern Brazil. **Soil Tillage and Research**, Amsterdam, v.76, p. 39-58, 2004.

SOARES, E.R., MELLO, J.W.V. de Marcha de oxidação da pirita proveniente de área de mineração de carvão. In: SIMPÓSIO DE RECUPERAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS, III. **Anais ... SINRAD/UFV/DPS/DEF**. Ouro Preto – MG, 245-248, 1997.

TAIZ, L., ZEIGER, E. Assimilation of mineral nutrients. In: TAIZ, L., ZEIGER, E. (Ed.) **Plant Physiology**. Redwood City, California: The Benjamin/Cummings Publishing Company, 1991, p. 307-310.

Van RAIJ, B. Macronutrientes secundários. In: Van RAIJ, B. (Ed.) **Fertilidade do Solo e Adubação**. Editora Agronômica Ceres Ltda, POTAFOS, São Paulo, p: 1991, p. 219-226.

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

VARGAS, L.K., SCHOLLES, D. Nitrogênio da biomassa microbiana, em solo sob diferentes sistemas de manejo, estimado por métodos de fumigação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 22, p. 411-417, 1998.

VITTI, G.C., MALAVOLTA., E., FERREIRA, M.E. Resposta de culturas anuais e perenes à aplicação de enxofre. In: BORKERT, C.M., LANTMAN, Á.F. (Ed.) **Enxofre e micronutrientes na agricultura brasileira**. Londrina, Embrapa – CNPSo/IAPAR/SBCS, 1988, p. 61-85.

WU, J., O'DONNELL, A.G., HE, Z.L., SYERS, J.K. Fumigation-extraction method for the measurement of soil microbial biomass-S. **Soil Biology Biochemistry**, Amsterdam, v.26, p. 117-125, 1994.

**Embrapa**

---

***Solos***