

Carbono da Biomassa Microbiana em Solos de Cerrado: Comparação de Métodos Fumigação-Incubação e Fumigação-Extração



Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 9

Carbono da Biomassa Microbiana em Solos de Cerrado: Comparação dos Métodos Fumigação- incubação e Fumigação- extração

Juliana Ribeiro Alexandre Oliveira
Iêda de Carvalho Mendes
Lúcio José Vivaldi

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Cerrados

BR 020, Km 18, Rod. Brasília/Fortaleza

Caixa Postal 08223

CEP 73301-970 Planaltina - DF

Fone: (61) 388-9898

Fax: (61) 388-9879

http\www.cpac.embrapa.br

sac@cpac.embrapa.br

Comitê de Publicações

Presidente: *Ronaldo Pereira de Andrade*

Secretária-Executiva: *Nilda Maria da Cunha Sette*

Membros: *Maria Alice Bianchi, Leide Rovênia Miranda de Andrade, Carlos Roberto Spehar, José Luiz Fernandes Zoby*

Supervisão editorial: *Nilda Maria da Cunha Sette*

Revisão de texto: *Maria Helena Gonçalves Teixeira e Jaime Arbués Carneiro*

Normalização bibliográfica: *Maria Alice Bianchi*

Capa: *Chaile Cherne Soares Evangelista*

Editoração eletrônica: *Jussara Flores de Oliveira*

1ª edição

1ª impressão (2001): tiragem 300 exemplares

Todos os direitos reservados.

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

CIP-Brasil. Catalogação-na-publicação.
Embrapa Cerrados.

048 Oliveira, Juliana Ribeiro Alexandre de
Carbono da biomassa microbiana em solos de Cerrado:
comparação dos métodos fumigação-incubação e fumigação-
extração / Juliana Ribeiro Alexandre de Oliveira, Iêda de Carvalho
Mendes, Lúcio José Vivaldi. – Planaltina : Embrapa Cerrados, 2001.

22 p. — (Boletim de pesquisa e desenvolvimento / Embrapa Cerrados, ISSN 1676-918X ; 9)

1. Cerrado - Biologia do solo. 2. Biologia do solo - Cerrado.
I. Mendes, Iêda de Carvalho. II. Vivaldi, Lucio José. III. Título.
IV. Série.

631.46 - CDD 21

© Embrapa 2001

Sumário

| | |
|--|----|
| Introdução | 7 |
| Material e Métodos | 8 |
| Caracterização das áreas | 8 |
| Coleta, preparo e armazenamento das amostras de solo | 10 |
| Carbono da biomassa microbiana pelo método CFI..... | 10 |
| Carbono da biomassa microbiana pelo método CFE | 12 |
| Análises estatísticas | 12 |
| Resultados e Discussão | 13 |
| Conclusões | 19 |
| Agradecimentos | 19 |
| Referências Bibliográficas | 20 |

Carbono da Biomassa Microbiana em Solos de Cerrado: Comparação dos Métodos Fumigação-Incubação e Fumigação-Extração¹

Juliana Ribeiro Alexandre de Oliveira²

Iêda de Carvalho Mendes³

Lúcio José Vivaldi⁴

Resumo – Dentre os métodos mais utilizados para determinação do carbono da biomassa microbiana destacam-se: os de clorofórmio-fumigação-incubação (CFI) e clorofórmio-fumigação-extração (CFE). Trabalhos relatados na literatura têm comparado a eficiência desses métodos em diversos locais. No entanto, para a Região do Cerrado não existem informações a esse respeito. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência dos métodos CFE e CFI na determinação do carbono da biomassa microbiana do solo (CBMS) em áreas de Cerrado sob cultura anual (rotação soja-milho) e pastagem consorciada (*Andropogon gayanus* e *Stylosanthes guianensis*) e sob três fitofisionomias - Mata de Galeria, Campo Sujo e Cerradão. Amostras de solo coletadas em duas profundidades, 0 a 5 cm e 5 a 20 cm, foram analisadas em quatro épocas: agosto de 1998, janeiro e agosto de 1999 e janeiro de 2000. Nas áreas cultivadas, os resultados obtidos com os métodos CFE e CFI foram semelhantes independentemente dos tratamentos e das épocas amostradas; as pastagens consorciadas apresentaram maiores teores de CBMS do que as áreas sob culturas anuais. A interação profundidades x métodos foi significativa. Não houve diferenças entre as profundidades 0 a 5 cm e 5 a 20 cm quando se utilizou o método CFI, mas as diferenças obtidas com o método CFE foram significativas. Os métodos CFI e CFE apresentaram as mesmas tendências nas áreas nativas, independentemente dos tratamentos, profundidades ou épocas analisados; a Mata de Galeria apresentou níveis de CBMS superiores aos do Cerradão e do Campo Sujo. As interações profundidades x métodos e épocas x métodos foram significativas devido ao fato de que as diferenças nos teores do carbono da biomassa microbiana, nas profundidades e épocas amostradas, foram mais acentuadas com o método CFE. Os resultados indicaram que os métodos CFI e CFE foram apropriados para determinação da CBMS em solos de Cerrado sob cultivo e sob vegetação nativa.

Termos para indexação: solos de Cerrado, Mata de Galeria, Cerradão, Campo Sujo, Pastagens consorciadas, Culturas anuais.

¹ Parte da Tese de Mestrado em Agronomia da primeira autora, apresentada à Universidade de Brasília - UnB em julho de 2000.

² Eng. Agrôn., Mestre em Agronomia, UnB.

³ Eng. Agrôn., Ph.D, Embrapa Cerrados, mendesi@cpac.embrapa.br.

⁴ Eng. Agrôn., Ph.D, Embrapa Cerrados, vivaldi@cpac.embrapa.br.

Microbial Biomass Carbon in Native and Cultivated Cerrado Soils: a Comparison of the Fumigation Incubation and Fumigation Extraction Methods

Abstract – Soil microbial biomass plays an important role in the nutrient cycling in the soil. Among the several methods that have been used to estimate the soil microbial biomass-C (SMBC), chloroform fumigation incubation (CFI) and chloroform fumigation extraction (CFE) are the most studied. Although several studies in the literature have compared the efficiency of these two methods to estimate SMBC, there is no such information for the acid soils of the Cerrado region. The objective of the present study was to compare the efficiency of these two methods in Cerrado soils that have been incorporated to agriculture (a corn-soybean rotation and a legume-based pasture) and in soils under three phytophysognomies (Gallery Forest, Campo Sujo and Cerradão). Soil samples were collected at two depths: 0 to 5 cm and 5 to 20 cm. Sampling times were: August of 1998 and 1999 and January of 1999 and 2000. The results obtained in cultivated soils with the two methods were the same regardless of treatment and sampling time, however the interaction depth x method was significant. There were no differences between depths 0 to 5 cm and 5 to 20 cm with the CFI, whereas the differences observed with CFE were statistically significant. For the soils under native vegetation, the results obtained with CFI and CFE were similar regardless of treatments, depth and sampling time. The Gallery Forest presented the greatest levels of SBMC as compared to Cerradão and Campo Sujo. The interactions depth x methods and sampling time x methods were statistically significant, because the differences were more pronounced with CFE. The results showed that both methods were appropriate to determine microbial biomass carbon in Cerrados soils. The standardization of soil sampling, handling and also of the chemical analysis is very important to validate these studies.

Index terms: soil microbial biomass, Cerrado soils, Gallery Forest, Cerradão, Campo Sujo, legume-based pastures, annual crops.

Introdução

As determinações do carbono da biomassa microbiana do solo (CBMS) são importantes para avaliação do tamanho do reservatório mais ativo e dinâmico da matéria orgânica do solo, o qual é constituído basicamente por fungos, bactérias e actinomicetos. Dentre os métodos mais utilizados para sua determinação, destacam-se: os de clorofórmio-fumigação-incubação - CFI ([Jenkinson & Powlson, 1976 a, b](#)) e clorofórmio-fumigação-extração - CFE ([Vance et al., 1987](#)), baseados na esterilização parcial (fumigação) de amostras de solos com clorofórmio. No método CFI, a determinação do tamanho da biomassa é feita com base no fluxo de CO₂ liberado das amostras de solo fumigadas e não-fumigadas após um período de incubação de 10 dias. No CFE, essa determinação é feita com base na extração do C-orgânico das amostras fumigadas e não-fumigadas.

Ambos os métodos apresentam limitações, vantagens e desvantagens. A simplicidade e o fato de que valores de taxa de respiração microbiana (liberação de CO₂) também podem ser determinados são as principais vantagens do método CFI. Dentre suas limitações, destacam-se o fato de que ele não deve ser utilizado em áreas que receberam adições recentes de material orgânico ([Martens, 1995](#)); solos com pH em água inferior a 5,0 ([Powlson, 1994](#); [Martens, 1995](#)) e a escolha do controle que melhor expresse o nível de respiração basal do solo ([Chaussod & Nicolardot, 1982](#); [Martens, 1995](#); [Franzluebbers et al., 1999](#)). No caso do método CFE, a principal vantagem é que não há dependência do estado fisiológico da população microbiana do solo. Quanto às desvantagens, destaca-se o fato de que na ausência de um analisador total de carbono, os procedimentos analíticos para determinação do C extraído das amostras são mais complexos e trabalhosos, envolvendo a utilização de produtos tóxicos. [Jenkinson \(1988\)](#), [Sparling & Ross \(1993\)](#) e [Martens \(1995\)](#) também destacam que, devido aos diferentes teores de argila e matéria orgânica dos solos, o coeficiente Kec, utilizado para determinação do CBMS pelo método CFE, pode apresentar variação maior que o coeficiente Kc, utilizado para cálculos de biomassa pelo método CFI. [Ross \(1990\)](#) observou que variações do coeficiente Kec ocorreram, inclusive, entre diferentes estações do ano, para um mesmo tipo de solo.

Vários trabalhos têm comparado a eficiência dos métodos CFI e CFE nas determinações de biomassa microbiana. A maioria desses estudos foi conduzida na Austrália e na Nova Zelândia, onde grande parte dos solos apresenta

problemas de acidez. [Wardle & Ghani \(1995\)](#) observaram alto grau de correlação entre os métodos CFI e CFE em solos sob pastagens nativas manejadas na Nova Zelândia. Nas poucas vezes em que os dois métodos não se correlacionaram, os autores atribuíram esse efeito ao fato de que os coeficientes K_c e K_{ec} , utilizados nessas determinações, variaram entre as amostras. [Sparling & Zhu \(1993\)](#) também observaram boa correlação entre os métodos CFE e CFI nos solos arenosos e ácidos do oeste australiano, embora o método CFE tenha apresentado maior variabilidade que o CFI.

No Brasil, a maior parte dos estudos, envolvendo comparações entre os métodos CFE e CFI, foi realizada na Amazônia. [Pfenning et al. \(1992\)](#) observaram uma correlação positiva avaliando a eficiência dos métodos CFE e CFI em solos da Amazônia. Os maiores coeficientes de variação foram obtidos com o método CFI num Latossolo muito argiloso. De acordo com os autores, as condições físicas do solo interferiram na homogeneidade da fumigação e na capacidade de recolonização da microbiota após a fumigação do solo. [Feigl et al. \(1995\)](#) compararam os métodos CFE e CFI em amostras de solo coletadas em Latossolos e Podzólicos da Amazônia sob vegetação de mata nativa (profundidade 0 a 10 cm). Quando o controle não-fumigado não foi subtraído das amostras fumigadas, houve boa correlação entre os teores de biomassa estimados pelo método CFI e pelo método CFE.

[Rodrigues et al. \(1994\)](#), em estudos conduzidos no Rio de Janeiro, observaram correlação entre os dois métodos quando compararam os teores de carbono na biomassa microbiana determinados pelos métodos CFE e CFI em três tipos de solo (Podzol Vermelho Amarelo, Gley Pouco-Húmico e Planossolo).

Devido à importância das determinações de biomassa microbiana para os estudos de qualidade do solo e como a maior parte dos solos de Cerrado é constituída por solos intemperizados, com elevados teores de hidróxidos de ferro e de alumínio, baixa saturação por bases e baixo pH, o objetivo deste trabalho foi comparar a eficiência dos métodos CFI e CFE em solos de Cerrado incorporados ao processo agrícola e em solos sob vegetação nativa.

Material e Métodos

Caracterização das áreas

Os testes para a comparação dos métodos CFI x CFE foram realizados com dois grupos distintos de amostras. O primeiro, consistiu de amostras de solo

coletadas em áreas cultivadas (Tabela 1), e o segundo, de amostras sob vegetação nativa (Tabela 2). Nos ensaios das áreas cultivadas, foram coletadas amostras de solo sob culturas anuais contínuas e sob pastagem consorciada contínua. O experimento foi iniciado em 1991, num Latossolo Vermelho, textura argilosa, na Embrapa Cerrados, Planaltina, DF. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso com duas repetições, e as parcelas possuem 20 x 100 m. A seqüência de culturas em nove anos do experimento foi soja-soja-milho-soja-milho-soja-milho-soja-soja. O capim utilizado nas pastagens foi o *Andropogon gayanus* cv. Planaltina consorciado com *Stylosanthes guianensis* cv. Mineirão. O preparo do solo, usado nas culturas anuais, foi feito com grade aradora e grade niveladora.

Tabela 1. Propriedades químicas dos solos sob culturas anuais e pastagens consorciadas, nas profundidades 0 a 5 cm e 5 a 20 cm.

| Solo | pH (H ₂ O) | Al cmol _c dm ⁻³ | Ca + Mg mg dm ⁻³ | P mg dm ⁻³ | K mg dm ⁻³ | Mat. Orgânica (%) |
|--------------------------------------|-----------------------|--|--------------------------------|--------------------------|--------------------------|----------------------|
| Profundidade 0 - 5 (cm) | | | | | | |
| Pastagem consorciada | 5,9 | 0,03 | 2,95 | 1,4 | 93 | 3,3 |
| Cultura anual | 5,6 | 0,06 | 2,35 | 6,0 | 151 | 2,9 |
| Profundidade 5 - 20 (cm) | | | | | | |
| Pastagem consorciada | 5,7 | 0,06 | 1,8 | 0,2 | 27 | 2,9 |
| Cultura anual | 5,3 | 0,15 | 1,7 | 2,4 | 38 | 2,6 |

Nos ensaios dos solos sob vegetação nativa, foram coletadas amostras em três fitofisionomias do Bioma Cerrado: Campo Sujo, Cerradão e Mata de Galeria. As amostras da Mata de Galeria (uma associação de Podzólicos e Gley Pouco-Húmicos) foram coletadas no Córrego Vereda Grande, localizado na Estação Ecológica de Águas Emendadas (Planaltina-DF). As amostras de Campo Sujo (Latosolo Vermelho-Amarelo) e Cerradão (Latosolo Vermelho) foram coletadas no campo experimental da Embrapa Cerrados. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições. As áreas das parcelas foram de 30 x 5 m, na Mata de Galeria, 20 x 20 m no Campo Sujo, e 30 x 30 m no Cerradão.

Coleta, preparo e armazenamento das amostras de solo

As amostras do solo foram coletadas em dois períodos de seca (agosto de 1998 e agosto de 1999) e dois períodos chuvosos (janeiro de 1999 e janeiro de 2000). Nos solos sob cultivo, foram coletadas, em cada parcela, amostras compostas de quinze subamostras em duas profundidades, 0 a 5 cm e 5 a 20 cm. Nos solos nativos, as amostras foram compostas por dez subamostras nas mesmas profundidades.

A amostragem na profundidade de 0 a 5 cm foi feita por meio de minitrincheiras de 5 cm de altura e 30 cm de comprimento, de onde eram retiradas, com um facão, fatias de solo com 3 cm de espessura. A amostragem na profundidade de 5 a 20 cm foi feita com trado tipo holandês a partir dos 5 cm da trincheira.

As amostras foram homogeneizadas, passadas por uma peneira de malha 4 mm e armazenadas a uma temperatura de $7\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ até o momento da realização dos ensaios. Resíduos de plantas e raízes foram removidos do solo cuidadosamente. A determinação da umidade do solo foi efetuada pelo método gravimétrico, no momento da coleta das amostras e após a retirada dos resíduos vegetais.

Nas coletas feitas em agosto de 1998 e janeiro de 1999, para cada amostra de solo coletada no campo, foram realizadas quatro repetições analíticas no laboratório. Nas coletas de agosto de 1999 e janeiro de 2000, foram feitas três repetições analíticas.

As determinações das propriedades químicas dos solos ([EMBRAPA, 1979](#)) foram efetuadas nas amostras coletadas em agosto de 1998 após secagem ao ar e peneiramento, em malha de 4 mm. Foram analisados o pH, matéria orgânica e teores de P, Ca, Mg, K, e Al ([Tabelas 1 e 2](#)).

Carbono da biomassa microbiana pelo método CFI

Utilizaram-se os procedimentos descritos por [Jenkinson & Powlson \(1976a\)](#), com algumas modificações. Depois da coleta no campo, quando necessário, o teor de umidade das amostras de solo (20 g) foi elevado a 100% da capacidade de retenção de água (equivalente ao teor de H₂O retido no solo a 6 KPa) e as

mesmas foram pré-incubadas, no escuro, por sete dias, à temperatura ambiente ($26\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$). A seguir, metade das amostras foi fumigada (F) por 48 horas em um dessecador, contendo uma placa de Petri com 25 mL de clorofórmio livre de álcool. Nesse período, as amostras não-fumigadas (NF) foram mantidas na temperatura ambiente. Após a fumigação, as amostras F e NF foram transferidas para recipientes de vidro com tampas rosqueáveis e capacidade de 500 mL, contendo um frasco com 10 mL de KOH $0,3\text{ mol L}^{-1}$ (na Mata de Galeria utilizou-se KOH 1 mol L^{-1} devido às elevadas taxas de respiração). As amostras foram então incubadas, no escuro, por dez dias, à temperatura ambiente. A quantidade de CO_2 liberado do solo foi determinada após titulação com HCl $0,1\text{ mol L}^{-1}$, usando fenolftaleína 1% como indicador.

Antes da titulação, foram adicionados 3 mL de BaCl_2 20%. A quantidade de carbono da biomassa microbiana do solo (CBMS) foi determinada pela diferença entre o CO_2 liberado das amostras F e NF, no período de 10 dias após a fumigação, utilizando-se um fator de correção (Kc) de 0,41 (Anderson & Domsch, 1978).

Tabela 2. Propriedades químicas dos solos sob vegetação de Mata de Galeria, Cerradão e Campo Sujo, nas profundidades 0 a 5 cm e 5 a 20 cm.

| Solo | pH (H_2O) | Al $\text{cmol}_c\text{ dm}^{-3}$ | Ca + Mg mg dm^{-3} | P mg dm^{-3} | K mg dm^{-3} | Mat. Orgânica (%) |
|--------------------------------------|-----------------------------|--------------------------------------|--------------------------------|--------------------------|--------------------------|----------------------|
| Profundidade 0 - 5 (cm) | | | | | | |
| Mata de Galeria | 4,7 | 20,1 | 0,14 | 5,9 | 182 | 7,7 |
| Cerradão | 4,6 | 16,4 | 0,40 | 2,3 | 130 | 6,0 |
| Campo Sujo | 5,0 | 9,3 | 0,38 | 0,5 | 60 | 4,3 |
| Profundidade 5 - 20 (cm) | | | | | | |
| Mata de Galeria | 4,8 | 16,7 | 0,13 | 5,9 | 131 | 5,8 |
| Cerradão | 4,6 | 11,6 | 0,13 | 0,9 | 76 | 3,4 |
| Campo Sujo | 5,2 | 7,1 | 0,39 | 0,3 | 47 | 3,2 |

Carbono da biomassa microbiana pelo método CFE

Para as análises de CBMS pelo método CFE – clorofórmio fumigação-extração utilizou-se o método proposto por [Vance et al. \(1987\)](#). As amostras de solo foram pré-incubadas e fumigadas conforme descrito para o método CFI. O carbono da biomassa microbiana foi extraído pela adição de 50 mL de uma solução de K_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ às amostras de solo (10 g), que foram posteriormente submetidas à agitação horizontal (150 rpm) por 30 minutos. Depois da agitação, as amostras foram filtradas, utilizando-se papel de filtro Inlab 50. Ao extrato filtrado, foram adicionados 2 mL de $K_2Cr_2O_7$ $0,4 \text{ mol L}^{-1}$ e 15 mL de uma mistura 1:2 (v/v) de H_2SO_4/H_3PO_4 em erlenmeyers de 250 mL. Essa solução foi fervida sob refluxo por 30 minutos, resfriada e diluída com 20 mL de água destilada adicionada pelo condensador. O dicromato residual foi medido por titulação com uma solução de sulfato ferroso amoniacal $[(NH_4)_2Fe(SO_4) \cdot 6H_2O]$ em H_2SO_4 concentrado, na presença de um indicador composto por fenantrolina $0,075 \text{ mol L}^{-1}$ e sulfato ferroso $0,041 \text{ mol L}^{-1}$. Determinou-se o carbono pela redução do dicromato de potássio dos extratos filtrados. A quantidade de CBMS foi determinada pela diferença entre o carbono orgânico extraído das amostras de solo F e NF, usando um fator de correção (Kec) de 0,35.

Análises estatísticas

Os dados foram analisados utilizando-se o programa estatístico SAS, “Statistic Analitical System” ([SAS, 1996](#)). Como as avaliações foram repetidas no espaço e no tempo, utilizou-se a análise proposta por [Milliken & Johnson \(1992\)](#) e [Hinkelman & Kempthorne \(1994\)](#), onde as profundidades foram consideradas como subparcelas e as épocas de amostragem como subsubparcelas. Para determinar se a estrutura da covariância era apropriada, utilizou-se um teste de esfericidade. Esse teste determina se é aceitável tratar os dados como uma análise univariada e, conseqüentemente, se o experimento pode ser modelado como parcela dividida (*split-split*). As fontes de variação foram os tratamentos (parcela), profundidades (subparcelas), épocas de amostragem (subsubparcelas), métodos (subsubsubparcelas) e suas interações. Os efeitos principais foram separados usando teste t a 0,05 de probabilidade. Para o desdobramento das interações relevantes, os graus de liberdade foram ajustados pela fórmula desenvolvida por [Satterthwaite \(1946\)](#).

Resultados e Discussão

Os valores de carbono da biomassa microbiana para as áreas sob pastagens consorciadas e culturas anuais, determinados pelos métodos CFE e CFI, são apresentados na [Tabela 3](#). Independentemente do método utilizado, observou-se que os maiores valores de CBMS foram obtidos na pastagem consorciada, com apenas uma exceção (profundidade 5 a 20 cm/janeiro de 2000/método CFI). Resultados semelhantes foram observados por [Lavahun et al. \(1996\)](#) na Alemanha, por [Sparling \(1992\)](#) na Nova Zelândia e por [Saminéz \(1999\)](#) e [Cattelan & Vidor \(1990\)](#) no Brasil. Isso se deve, principalmente, ao fato de as pastagens apresentarem maior densidade de raízes e, conseqüentemente, maior efeito rizosférico, isto é, maior disponibilidade de substratos orgânicos para as comunidades microbianas do solo. Além disso, nesses sistemas, a ausência de revolvimento do solo tende a favorecer as populações fúngicas ([Bandick & Dick, 1999](#)) que constituem, em termos proporcionais, a maior parte da biomassa microbiana do solo.

A interação tratamento x profundidade foi significativa nas áreas cultivadas ([Tabela 4](#)). Na pastagem consorciada, os maiores teores de CBMS foram observados na profundidade 0 a 5 cm. Isso pode ser atribuído ao maior acúmulo de liteira na profundidade 0 a 5 cm nas pastagens, comparativamente às áreas de culturas anuais. Na área sob culturas, não se observaram diferenças no CBMS entre as duas profundidades, o que pode estar relacionado ao preparo mecânico, realizado anualmente (aração e gradagem), resultando na homogeneização do solo na profundidade 0 a 20 cm ([Tabela 4](#)).

Nas áreas nativas, independentemente do método utilizado, os maiores valores de CBMS foram obtidos na Mata de Galeria, seguida do Cerradão e do Campo Sujo ([Tabela 3](#)). Entre os fatores que explicam os maiores teores de CBMS obtidos na Mata de Galeria, podem ser relacionados: os teores de matéria orgânica e umidade do solo, a densa camada de serapilheira (quase 5 cm de espessura) na sua superfície, além da quantidade e qualidade dos resíduos vegetais retornados ao solo, uma vez que a composição florística dessas áreas é diferenciada ([Ribeiro & Walter, 1998](#)).

Tabela 3. Carbono da Biomassa Microbiana em solos cultivados e sob vegetação nativa de Cerrado, avaliado pelos métodos CFE e CFI em duas profundidades e quatro épocas.

| | | Solos cultivados | | | | | | | |
|-----------------|-----|--|---------|--------------|---------|-------------|---------|--------------|---------|
| | | Agosto 1998 | | Janeiro 1999 | | Agosto 1999 | | Janeiro 2000 | |
| | | 0-5 cm | 5-20 cm | 0-5 cm | 5-20 cm | 0-5 cm | 5-20 cm | 0-5 cm | 5-20 cm |
| | | mg C kg ⁻¹ solo | | | | | | | |
| Pastagem | CFI | 343 | 411 | 262 | 319 | 353 | 402 | 283 | 213 |
| | CFE | 563 | 404 | 615 | 319 | 585 | 431 | 512 | 416 |
| Cultura anual | CFI | 222 | 289 | 230 | 215 | 230 | 287 | 215 | 217 |
| | CFE | 352 | 214 | 209 | 297 | 277 | 373 | 331 | 301 |
| | | Solos cultivados sob vegetação nativa | | | | | | | |
| | | Agosto 1998 | | Janeiro 1999 | | Agosto 1999 | | Janeiro 2000 | |
| | | 0-5 cm | 5-20 cm | 0-5 cm | 5-20 cm | 0-5 cm | 5-20 cm | 0-5 cm | 5-20 cm |
| | | mg C kg ⁻¹ solo | | | | | | | |
| Campo Limpo | CFI | 569 | 436 | 550 | 410 | 558 | 413 | 608 | 373 |
| | CFE | 866 | 541 | 652 | 610 | 625 | 486 | 1035 | 730 |
| Cerradão | CFI | 658 | 734 | 997 | 629 | 892 | 557 | 1108 | 489 |
| | CFE | 1097 | 647 | 1129 | 610 | 1007 | 464 | 1198 | 704 |
| Mata de Galeria | CFI | 1244 | 822 | 1214 | 1227 | 1334 | 763 | 1218 | 729 |
| | CFE | 1315 | 618 | 1457 | 962 | 1077 | 614 | 1639 | 1054 |

Tabela 4. Interação Tratamentos x Profundidades na avaliação do Carbono da Biomassa Microbiana em solos sob cultivo.

| Profundidades | Tratamentos | |
|---------------|-------------|---------|
| | Pastagem | Cultura |
| 0-5 cm | 440 aA | 259 bA |
| 5-20 cm | 365 aB | 278 bA |

Letras minúsculas referem-se a comparações dentro de uma mesma profundidade. Letras maiúsculas referem-se a comparações dentro de um mesmo tratamento. Valores seguidos pela mesma letra, na mesma linha ou coluna, não diferem entre si pelo teste t a 5%.

[Jenkinson & Powlson \(1976b\)](#), em estudos conduzidos em solos com pH variando entre 3,9 e 4,6, observaram que os valores das taxas de CO₂ liberado das amostras fumigadas eram inferiores aos das amostras não-fumigadas, o que resultava na ineficiência do método CFI para solos ácidos, gerando valores negativos de biomassa microbiana. Esse fato é considerado uma das principais desvantagens desse método. Neste estudo e conforme observado também por [Feigl et al. \(1995\)](#) nos solos ácidos da Amazônia, deve ser ressaltado que, nos solos de Cerrado sob vegetação nativa (pH em torno de 4,6), o método CFI foi adequado para estimar a biomassa microbiana nas condições testadas (com reumedecimento, limpeza e pré-incubação das amostras), não tendo sido observadas as limitações descritas por [Jenkinson & Powlson \(1976b\)](#).

Nas áreas cultivadas, os teores de CBMS não variaram entre as épocas avaliadas, isto é, o efeito da época de amostragem e suas interações com tratamentos, profundidades e métodos não foram estatisticamente significativos. Para as áreas sob vegetação nativa, apenas a interação épocas x métodos foi significativa ([Tabela 5](#)). Com o método CFI as variações nos teores de CBMS entre as quatro épocas avaliadas não foram muito acentuadas (de 757 a 846 mg C kg⁻¹ solo), mesmo assim, os valores de CBMS nos meses de agosto de 1998 e agosto de 1999 (estação seca) foram inferiores ao de janeiro de 1999 (estação chuvosa). De acordo com o método CFE, não houve diferenças entre os teores de CBMS dos meses de agosto de 1998 (seca) e janeiro de 1999 (chuva). Os menores valores foram obtidos em agosto de 1999 (712 mg C kg⁻¹ solo) e os maiores, em janeiro de 2000 (1091 mg C kg⁻¹ solo). É possível que essa interação esteja relacionada a coeficientes de extração (Kec) diferenciados entre as épocas do ano, conforme observado por [Ross \(1990\)](#).

Tabela 5. Interação Épocas x Métodos na avaliação do Carbono da Biomassa Microbiana em solos nativos.

| | Solos Nativos | | | |
|-----|--|--------------|-------------|--------------|
| | Agosto 1998 | Janeiro 1999 | Agosto 1999 | Janeiro 2000 |
| | mg C kg ⁻¹ solo | | | |
| CFI | 757 b | 847 a | 771 b | 799 ab |
| CFE | 826 b | 833 b | 712 c | 1091 a |

As letras referem-se a comparações dentro de um mesmo método. Valores seguidos pela mesma letra, na mesma linha, não diferem entre si pelo teste t a 5%.

A ausência de um efeito mais acentuado das épocas de amostragem no CBMS, pode estar relacionada ao fato de que as amostras coletadas nas épocas seca e chuvosa foram padronizadas quanto à umidade. Entretanto, outra hipótese estaria relacionada à adaptação gradativa da microbiota do solo às mudanças do ambiente podendo ter havido, ao longo dos sete meses que separaram a coleta das amostras, mudanças qualitativas, o que não é possível determinar pelos métodos CFI e CFE por serem eles quantitativos.

Tanto nas áreas cultivadas como nas áreas nativas, a interação profundidade x métodos foi significativa ([Tabela 6](#)). Nas áreas cultivadas, não houve diferença entre as profundidades 0 a 5 cm e 5 a 20 cm com o método CFI, enquanto as diferenças obtidas com o método CFE foram estatisticamente significativas. De acordo com o método CFE, os teores de biomassa na profundidade 0 a 5 cm foram, em média, 1,3 vezes superiores aos da profundidade 5 a 20 cm ([Tabela 6](#)). Nas áreas nativas, independentemente do método testado, os níveis de biomassa da profundidade 0 a 5 cm foram superiores aos da profundidade 5 a 20 cm, o que pode ser atribuído ao acúmulo de liteira na superfície do solo. A interação foi significativa porque as diferenças foram mais acentuadas quando se utilizou o método CFE. Esses resultados diferem de [Rodrigues et al. \(1994\)](#) que não observaram diferenças nos teores do CBMS entre as profundidades 0 a 5 cm e 5 a 20 cm, num estudo conduzido na região de Itaguaí (RJ) em solos sob cultivo de hortaliças (Podzólico Vermelho-Amarelo), pousio (Gley Pouco-Húmico) e pastagem (Planossolo).

Tabela 6. Interação Profundidades x Métodos na avaliação do Carbono da Biomassa Microbiana em solos nativos e sob cultivo.

| Solos Cultivados | | |
|------------------|--------|---------|
| | 0-5 cm | 5-20 cm |
| CFI | 267 a | 298 a |
| CFE | 431 a | 344 b |
| Solos Nativos | | |
| | 0-5 cm | 5-20 cm |
| CFI | 900 a | 674 b |
| CFE | 1002 a | 597 b |

As letras referem-se a comparações dentro de um mesmo método. Valores seguidos pela mesma letra, na mesma linha, não diferem entre si pelo teste t a 5%.

As interações profundidade x método, observadas nas áreas nativas e cultivadas (Tabela 6), podem estar relacionadas à extração de frações de C que não estejam associadas à biomassa microbiana. Esse efeito seria mais acentuado na profundidade 0 a 5 cm devido ao acúmulo de resíduos vegetais, passíveis de extração com K_2SO_4 que ocorre na superfície do solo. [Merckx & Martin \(1987\)](#) e [Badaluc-co et al. \(1990\)](#) obtiveram evidências de que C de origem não-microbiana pode ser disponibilizado após a fumigação com clorofórmio. A extração de C não-microbiano acarretaria a superestimação dos valores de biomassa obtidos por meio do método CFE, o que só poderia ser corrigido pela utilização de coeficientes de extração (K_{ec}) diferenciados para as duas profundidades. Esse efeito não ocorre com o método CFI, uma vez que ele se baseia num processo fisiológico relacionado à liberação de CO_2 .

Nas amostras de solo sob cultivo, os valores de CBMS obtidos pelo método CFE foram, em geral, superiores aos estimados pelo método CFI ([Tabela 3](#)). Resultados semelhantes também foram observados por [Ferreira et al. \(1999\)](#). Isso se deve, em parte, ao fato de que os dois métodos utilizam coeficientes de correção (K_c) e extração (K_{ec}) diferenciados. O K_{ec} utilizado para o cálculo da biomassa no método CFE (0,35) é menor que o K_c utilizado para o cálculo da biomassa pelo método CFI (0,41), o que resulta numa superestimação dos valores no método CFE e numa subestimação no CFI. Os valores de K_c e K_{ec} e o fato de que cada método avalia diferentes reservatórios do carbono microbiano

do solo, evidenciam que os resultados numéricos obtidos nas determinações de biomassa são relativos, conforme verificado por [Franzluebbers & Arshad \(1996\)](#) e [Wardle & Ghani \(1995\)](#). Para evitar esse tipo de problema, ao invés de expressarem os valores de biomassa microbiana em termos de mg C kg^{-1} solo, alguns autores têm reportado aos teores respirados de CO_2 e aos teores de C extraídos das amostras fumigadas e não-fumigadas ([Feigl et al., 1998](#)), sem dividi-los pelos coeficientes de correção. Além de problemas relacionados à adoção de valores diferenciados de K_c e K_{ec} , a apresentação dos dados nessa forma também evita problemas associados à escolha do controle que melhor represente a respiração basal do solo, no método CFI.

Ao contrário do observado no Latossolo Vermelho sob pastagens e culturas anuais, os valores de biomassa estimados pelo método CFE, nas três fitofisionomias sob vegetação nativa, nem sempre foram superiores aos estimados pelo método CFI ([Tabela 3](#)). Isso poderia ser atribuído ao fato de que cada um dos solos sob vegetação nativa apresenta um K_{ec} diferenciado, devido às suas propriedades químicas (principalmente qualidade e quantidade de matéria orgânica) e físicas (principalmente textura). [Feigl et al. \(1995\)](#) observaram que, os valores de biomassa microbiana estimados pelos métodos CFE e CFI em três tipos de solo na Amazônia (Latosolo Amarelo Argiloso, Podzólico Vermelho-Amarelo e Podzólico Vermelho-Escuro), não diferiram entre si quando foram usados coeficientes K_{ec} específicos para cada tipo de solo, mas foram subestimados quando se utilizou o mesmo fator de conversão para os três tipos de solo. [Wardle & Ghani \(1995\)](#) também atribuíram as discrepâncias entre os métodos CFE e CFI, observadas nos seus estudos, às variações do coeficiente K_{ec} entre as diferentes amostras de solo.

Entretanto, mais importante do que comparar os valores de biomassa estimados pelos métodos CFE e CFI é avaliar as interações: tratamentos x métodos, épocas x métodos e profundidades x métodos para determinar se tendências observadas com os métodos CFE e CFI são ou não as mesmas em função dos tratamentos, épocas e profundidades amostradas. Neste estudo, tanto nas áreas cultivadas como nas áreas nativas, as interações tratamentos x métodos não foram significativas. Esses resultados estão de acordo com [Wardle & Ghani \(1995\)](#), [Sparling & Zhu \(1993\)](#) e [Feigl et al. \(1995\)](#) que também observaram

boas correlações entre os métodos CFE e CFI. Nos casos em que as interações foram significativas (profundidades x métodos, áreas nativas e cultivadas e épocas x métodos, áreas nativas), foi evidenciada a necessidade de refinamentos metodológicos para determinar a existência de coeficientes *K_{ec}* diferenciados para as profundidades e épocas amostradas.

De posse do conhecimento sobre as vantagens e desvantagens de cada método e tendo em vista os resultados obtidos neste estudo, conclui-se que os dois métodos avaliados: CFE e CFI foram apropriados para a determinação do carbono da biomassa microbiana em solos de Cerrado sob vegetação nativa e incorporados ao processo agrícola. A utilização de metodologias totalmente padronizadas, desde a coleta e preparo até a análise das amostras, é condição básica para validar esses estudos.

Conclusões

1. Os resultados indicam que os métodos CFI e CFE são apropriados para determinação da CBMS em solos de Cerrado sob cultivo e sob vegetação nativa.
2. Nos solos sob cultivo, independentemente do método utilizado, as pastagens consorciadas apresentam maiores teores de CBMS que as áreas sob culturas anuais, sendo que essas diferenças são mais acentuadas na profundidade 0 a 5 cm.
3. Nos solos nativos, independentemente do método utilizado, a Mata de Galeria apresenta níveis de CBMS superiores aos do Cerradão e Campo Sujo.

Agradecimentos

Ao técnico agrícola Osmar Teago de Oliveira e aos funcionários do laboratório de Microbiologia do Solo da Embrapa Cerrados: Emílio J. Taveira, Maria das Dores Silva, Odete J. dos Santos e Vilderete Castro Alves pelo valioso auxílio na condução dos trabalhos.

Referências Bibliográficas

BANDICK, A. K.; DICK, R. P. Field management effects on soil enzyme activities. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 31, p. 1471-1479, 1999.

BADALUCCO, L.; NANNIPIERI, P.; GRECO, S.; CIARDI, C. Microbial biomass and anthrone-reactive carbon in soils with different organic matter contents. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 22, p. 899-904, 1990.

CATTELAN, A. J.; VIDOR, C. Flutuações na biomassa, atividade e população microbiana do solo, em função de variações ambientais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 14, p. 133-142, 1990.

CHAUSSOD, R.; NICOLARDOT, B. Measure de la biomass microbienne dans les sols cultivés. I. Approche cinétique et estimation simplifiée du carbone facilement minéralisable. **Revue d' Ecologie et Biologie du Sol**, Paris, v. 19, p. 501-512, 1982.

EMBRAPA. Serviço de Levantamento e Conservação dos Solos. **Manual de métodos de análise de solos**. Rio de Janeiro, 1979.

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 & Biochemistry**, Oxford, v. 27, p. 1467-1472, 1995.

FEIGL, B. J.; CERRI, C. C.; BERNOUX, M. Balanço de carbono e biomassa microbiana em solos da Amazônia. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Ecologia microbiana**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPMA, 1998. 488 p.

FERREIRA, A. S., CAMARGO, F. A. O.; VIDOR, C. Utilização de microondas na avaliação da biomassa microbiana do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 23, p. 991-996, 1999.

FRANZLUEBBERS, A. J.; ARSHAD, M. A. Soil organic matter pools during early adoption of conservation tillage in Northwestern Canada. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 60, p. 1422-1427, 1996.

FRANZLUEBBERS, A. J.; HANEY, R. L.; HONS, F. M. Relationships of choroform fumigation-incubation to soil organic matter pools. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 31, p. 395-405, 1999.

HINKELMAN, K.; KEMPTHORNE, O. **Design and analysis of experiments: introduction to experimental design**. New York: J. Wiley, 1994. v. 1.

JENKINSON, D. S.; POWLSON, D. S. The effect of biocidal treatment on metabolism in soil. V. A method of measuring soil biomass. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 8, p. 209-213, 1976a.

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

JENKINSON, D. S. Determination of microbial biomass carbon and nitrogen in soils. In: WILSON, J. R., (Ed.). **Advances in nitrogen cycling in agricultural systems**. Wallingford: CAB International, 1988. p. 368-386.

LAVAHUN, M.F.E.; JOERGENSEN, R.G. & MEYER, B. Activity and biomass of soil microorganisms at different depths. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 23, p. 38-42, 1996.

MARTENS, R. Current methods for measuring microbial biomass C in soil: Potentials and limitations. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 19, p. 87-99, 1995.

MERCKX, R.; MARTIN, J. K. Extraction of microbial biomass components from rhizosphere soils. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 19, p. 371-376, 1987.

MILLIKEN, G. A. E.; JOHNSON, D. E. **Analysis of messy data**: designed experiments. New York, Chapman & Hall, 1992, v. 1.

PFENNING, L.; EDUARDO, B. P.; CERRI, C. C. Os métodos da fumigação-incubação e fumigação-extração na estimativa da biomassa microbiana de solos da Amazônia. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 16, p. 31-37, 1992.

POWLSON, D. S. The soil microbial biomass: before, beyond and back. In: RITS, K.; DIGHTON, J.; GILLER, K. E. **Beyond the biomass**. BSSS, Wiley-Sayce, 1994.

RIBEIRO, J. F. R.; WALTER, B. M. T. Fitofisionomias do bioma cerrado. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. (Ed.). **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998. p. 89-166.

RODRIGUES, E. F.; GUERRA, J. G. M.; ALMEIDA, D. L.; DE-POLLI, H. Biomassa microbiana de carbono de solos de Itaguaí (RJ): Comparação entre os

métodos fumigação-incubação e fumigação-extração. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 18, p. 427- 432, 1994.

ROSS, D.J. Estimation of soil microbial C by a fumigation-extraction method: influence of seasons, soils and calibration with the fumigation-incubation procedure. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 22, p. 295-300, 1990.

SAMINÊZ, T. C. O. **Efeito do sistema de cultivo, tensão de água, biomassa microbiana e temperatura do solo nas fluxos de CO₂ e N₂O, em solos de cerrados**. 1999. 99 p. Tese (Mestrado) - Universidade de Brasília, Brasília.

SAS INSTITUTE INC. **SAS/STAT user´s guide, version 6**. 12 ed. Cary, NC, 1996.

SATTERTHWAITE, F. E. An approximate distribution of estimates of variance components. **Biometrics**, Washington, v.2, p. 110-114, 1946.

SPARLING, G. P Ratio of microbial biomass carbon to soil organic carbon as a sensitive indicator of changes in soil organic matter. **Australian Journal of Soil Research**, Victoria, v. 30, p.195-207, 1992.

SPARLING, G. P.; ROSS, D. J. Biochemical methods to estimate soil microbial biomass: Current developments and applications. In: MULONGOY, K.; MERCKX, R. (Ed.). **Soil organic matter dynamics and sustainability of tropical agriculture**. Leuven: Wily-Sayce, 1993.

SPARLING, G.; ZHU, C. Evaluation and calibration of biochemical methods to measure microbial biomass C and N in soils from western Australia. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 25, p. 1793-1801, 1993.

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

WARDLE, D. A.; GHANI, A. Why is the strength of relationships between pairs of methods for estimating soil microbial biomass often so variable? **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 27, p. 821-828, 1995.