

CARBONO DA BIOMASSA MICROBIANA EM SOLOS DE CERRADO SOB VEGETAÇÃO NATIVA E SOB CULTIVO: AVALIAÇÃO DOS MÉTODOS FUMIGAÇÃO-INCUBAÇÃO E FUMIGAÇÃO-EXTRAÇÃO⁽¹⁾

J. R. A. OLIVEIRA⁽²⁾, I. C. MENDES⁽³⁾ & L. VIVALDI⁽³⁾

RESUMO

A biomassa microbiana do solo é um componente essencial da matéria orgânica que, entre outras funções, regula a ciclagem de nutrientes no solo. 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 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 gayanuse Stylosanthes guianensis*) e sob três fitofisionomias - mata de galeria, campo sujo e cerradão. Amostras de solo coletadas em duas profundidades, 0-5 cm e 5-20 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, tendo as pastagens consorciadas apresentado maiores teores de CBMS do que as áreas sob culturas anuais. A interação profundidades x métodos foi significativa. Não houve diferenças entre as profundidades 0-5 e 5-20 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 analisadas, tendo a mata de galeria apresentado níveis de CBMS superiores aos do cerradão e campo sujo. As interações profundidades x métodos e épocas x métodos foram significativas pelo fato de as diferenças nos teores do carbono da biomassa microbiana, nas profundidades e épocas amostradas, terem sido 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 de indexação: 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. Recebido para publicação em agosto de 2000 e aprovado em maio de 2001.

⁽²⁾ Engenheira-Agrônoma, Universidade de Brasília – UnB.

⁽³⁾ Pesquisadores, Embrapa Cerrados. Caixa Postal 08223, CEP 73301-970 Planaltina (DF). E-mail: mendesi@cpac.embrapa.br

SUMMARY: *MICROBIAL BIOMASS CARBON IN NATIVE AND CULTIVATED CERRADO SOILS: A COMPARISON OF THE FUMIGATION INCUBATION AND FUMIGATION EXTRACTION METHODS*

Soil microbial biomass plays an important role in nutrient cycling in soils. 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 little information for the acid soils of the Cerrado region. The present study compared the efficiency of these two methods in cultivated Cerrado soils (a corn-soybean rotation and a legume-based pasture) and neigboyring in soils under three native vegetation types (gallery forest, grassy savannah and woody savannah). Soil samples were collected at two depths: 0-5 cm and 5-20 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 similar regardless of treatment and sampling time, however the interaction depth x method was significant. There were no differences between depths 0-5 cm and 5-20 cm with the CFI, whereas the differences observed with CFE were statistically significant. For 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 grassy savannah and woody savannah. The interactions depth x methods and sampling time x methods were statistically significant, because differences were more pronounced with CFE. The results showed that both methods were appropriate to determine microbial biomass carbon in Cerrado soils.

Index terms: soil microbial biomass, cerrado soils, gallery forest, grassy savannah, 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, 1976a,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 a partir da 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, em razão dos diferentes teores de argila e matéria orgânica dos solos, o coeficiente *K_{ec}*, utilizado na determinação do CBMS pelo método CFE, pode apresentar variação maior que o coeficiente *K_c*, utilizado em cálculos de biomassa pelo método CFI. Ross (1990) observou que variações do coeficiente *K_{ec}* 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 realizada

na Austrália e 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 Kc e Kec, 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 de 0-10 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 realizados em Itaguaí (RJ), 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 (Podzólico Vermelho-Amarelo, Gley Pouco Húmico e Planossolo).

Considerando a importância das determinações de biomassa microbiana para os estudos de qualidade do solo e por ser a maior parte dos solos de cerrado constituída por solos intemperizados, com elevados teores de hidróxidos de ferro e 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 e o segundo, de

amostras sob vegetação nativa. 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, apresentando as parcelas 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. No preparo do solo das culturas anuais, foram utilizadas grade aradora e grade niveladora.

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 de 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 (Latossolo Vermelho-Amarelo) e cerradão (Latossolo 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 de 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 15 subamostras em duas profundidades, 0-5 cm e 5-20 cm. Nos solos nativos, as amostras foram compostas por 10 subamostras nas mesmas profundidades.

A amostragem na profundidade de 0-5 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 5-20 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 $7 \pm 3^\circ\text{C}$ 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 de agosto de 1998 e janeiro de 1999, para cada amostra de solo coletada no campo, foram feitas quatro repetições analíticas no laboratório.

Nas coletas de agosto de 1999 e janeiro de 2000, foram efetuadas três repetições analíticas.

Nas áreas nativas e cultivadas as determinações das características químicas dos solos (EMBRAPA, 1979) foram efetuadas nas amostras coletadas em agosto de 1998 e agosto de 1999, respectivamente, 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 (Quadros 1 e 2).

Carbono da biomassa microbiana pelo método CFI

Utilizaram-se os procedimentos descritos por Jenkinson & Powlson (1976a), com algumas modificações. Após a 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), ficando as amostras pré-incubadas, no escuro, por sete dias, à temperatura ambiente (26 ± 2°C). A seguir, metade das amostras foi fumigada (F) por 48 horas em um dessecador que continha uma placa de Petri com 25 mL de clorofórmio livre de álcool. Neste 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, que continham um frasco com 10 mL de KOH 0,3 mol L⁻¹ (na mata de galeria, utilizou-se KOH 1 mol L⁻¹, em virtude das elevadas taxas de respiração). As amostras foram então incubadas, no escuro, por 10 dias, à temperatura ambiente. A quantidade de CO₂ liberado do solo foi determinada após titulação com HCl 0,1 mol L⁻¹, usando fenoltaleína 1% como indicador.

Antes da titulação, foram adicionados 3 mL de BaCl₂ 20%. A quantidade de carbono da biomassa microbiana do solo (CBMS) foi determinada pela diferença entre o CO₂ liberado das amostras F e NF, no período de 10 dias após a fumigação, utilizando um fator de correção (Kc) de 0,41 (Anderson & Domsch, 1978).

Carbono da biomassa microbiana pelo método CFE

Para as análises de CBMS pelo método CFE - clorofórmio fumigação-extração, utilizou-se o método

Quadro 1. Características químicas dos solos sob vegetação de mata de galeria, cerradão e campo sujo, nas profundidades de 0-5 cm e 5-20 cm

Solo	pH (H ₂ O)	Al	Ca + Mg	P	K	Matéria orgânica
		— mmol _c dm ⁻³ —		— mg dm ⁻³ —		%
Profundidade 0-5 cm						
Mata de galeria	4,7	41,1	1,4	5,6	175	7,3
Cerradão	4,6	34,6	4,0	2,3	130	6,0
Campo sujo	5,0	8,1	3,6	0,5	60	3,9
Profundidade 5-20 cm						
Mata de galeria	4,8	34,5	1,3	3,6	135	5,4
Cerradão	4,6	27,3	1,3	0,5	86	3,6
Campo sujo	5,2	5,4	1,4	0,3	47	3,0

Quadro 2. Características químicas dos solos sob culturas anuais e pastagens consorciadas, nas profundidades de 0-5 cm e 5-20 cm

Solo	pH (H ₂ O)	Al	Ca + Mg	P	K	Matéria orgânica
		— mmol _c dm ⁻³ —		— mg dm ⁻³ —		%
Profundidade 0-5 cm						
Pastagem consorciada	5,9	0,3	29,5	1,4	93	3,3
Cultura anual	5,6	0,6	23,5	6,0	151	2,9
Profundidade 5-20 cm						
Pastagem consorciada	5,7	0,6	18,0	0,2	27	2,9
Cultura anual	5,3	1,5	17,0	2,4	38	2,6

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. Após a agitação, as amostras foram filtradas, utilizando 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. Esta solução foi fervida sob refluxo por 30 min, 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 $[(NH_4)_2 Fe(SO_4)_6 \cdot 6H_2O]$ 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 o programa estatístico SAS, “Statistic Analytical System” (SAS, 1996). Como as avaliações foram repetidas no espaço e no tempo, adotou-se a análise proposta por Milliken & Johnson (1992) e Hinkelman & Kempthorne (1994), em que 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 determinava se era aceitável tratar os dados como uma análise univariada e, conseqüentemente, se o experimento podia ser modelado como parcela dividida (*split-plot*). 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 no quadro 3. Independentemente do método utilizado, observou-se que os maiores valores de CBMS foram obtidos na pastagem consorciada, com apenas uma exceção (profundidade 5-20 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. Isto 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

Quadro 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

		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 de solo									
Solo cultivado									
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
Solo nativo									
Campo limpo	CFI	569	436	550	410	558	413	608	373
	CFE	866	541	652	610	625	486	1.035	730
Cerradão	CFI	658	734	997	629	892	557	1.108	489
	CFE	1.097	647	1.129	610	1.007	464	1.198	704
Mata de galeria	CFI	1.244	822	1.214	1.227	1.334	763	1.218	729
	CFE	1.315	618	1.457	962	1.077	614	1.639	1.054

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 (Quadro 4). Na pastagem consorciada, os maiores teores de CBMS foram observados na profundidade de 0-5 cm. Isso pode ser atribuído ao maior acúmulo de liteira na profundidade de 0-5 cm nas pastagens, comparativamente às áreas de culturas anuais. Na área sob culturas, não se observaram diferenças na CBMS entre as duas profundidades, o que pode estar relacionado com o preparo mecânico realizado anualmente (aração e gradagem), resultando na homogeneização do solo na profundidade de 0-20 cm (Quadro 4).

Quadro 4. Interação tratamentos x profundidades na avaliação do carbono da biomassa microbiana em solos sob cultivo

Profundidade	Tratamento	
	Pastagem	Cultura
cm	— mg C kg ⁻¹ de solo —	
0-5	440 aA	259 bA
5-20	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%.

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 (Quadro 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).

Jenkinson & Powlson (1976b), em estudos realizados em solos com pH variando de 3,9 a 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.

No presente 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 (Quadro 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 de solo). Mesmo assim, os valores de CBMS nos meses de agosto de 1998 e agosto de 1999 (estação seca) foram inferiores aos 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 de solo) e os maiores, em janeiro de 2000 (1.091 mg C kg⁻¹ de solo). É possível que essa interação esteja relacionada com coeficientes de extração (Kec) diferenciados entre as épocas do ano, conforme observado por Ross (1990).

A ausência de um efeito mais acentuado das épocas de amostragem no CBMS pode estar relacionada com o fato de que as amostras coletadas na época seca e na chuvosa foram padronizadas quanto à umidade. Entretanto, outra hipótese estaria relacionada com a 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 estes serem quantitativos.

Quadro 5. Interação épocas x métodos na avaliação do carbono da biomassa microbiana em solos nativos

	Solo nativo			
	Agosto 1998	Janeiro 1999	Agosto 1999	Janeiro 2000
	— mg C kg ⁻¹ de solo —			
CFI	757 b	847 a	771 b	799 ab
CFE	826 b	833 b	712 c	1.091 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%.

Tanto nas áreas cultivadas como nas áreas nativas, a interação profundidade x métodos foi significativa (Quadro 6). Nas áreas cultivadas, não houve diferença entre as profundidades de 0-5 cm e 5-20 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 de 0-5 cm foram, em média, 1,3 vez superior aos da profundidade de 5-20 cm (Quadro 6). Nas áreas nativas, independentemente do método testado, os níveis de C na biomassa da profundidade de 0-5 cm foram superiores aos da profundidade de 5-20 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 dos de Rodrigues et al. (1994) que não observaram diferenças nos teores do CBMS entre as profundidades de 0-5 cm e 5-20 cm, em estudo realizado na região de Itaguaí (RJ), em solos sob cultivo de hortaliças (Podzólico Vermelho-Amarelo), pousio (Gley Pouco Húmico) e pastagem (Planossolo).

As interações profundidade x método, observadas nas áreas nativas e cultivadas (Quadro 6), podem estar relacionadas com a extração de frações de C que não estejam associadas à biomassa microbiana. Esse efeito seria mais acentuado na profundidade de 0-5 cm pelo acúmulo de resíduos vegetais, passíveis de extração com K_2SO_4 , que ocorre na superfície do solo. Merckx & Martin (1987) e Badalucco 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 pelo método CFE, o que só poderia ser corrigido pela utilização de coeficientes de extração (Kec) diferenciados para as duas profundidades. Esse efeito não ocorre com o método CFI, uma vez que ele se baseia num processo fisiológico relacionado com a liberação de CO_2 .

Quadro 6. Interação profundidades x métodos na avaliação do carbono da biomassa microbiana em solos nativos e sob cultivo

	Solo cultivado	
	0-5 cm	5-20 cm
	— mg C kg ⁻¹ de solo —	
CFI	267 a	298 a
CFE	431 a	344 b
	Solo nativo	
CFI	900 a	674 b
CFE	1.002 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%.

Nas amostras de solo sob cultivo, os valores de CBMS obtidos pelo método CFE foram, em geral, superiores aos estimados pelo método CFI (Quadro 3). Resultados semelhantes também foram observados por Ferreira et al. (1999). Isto se deve, em parte, ao fato de que os dois métodos utilizam coeficientes de correção (Kc) e extração (Kec) diferenciados. O Kec utilizado no cálculo da biomassa no método CFE (0,35) é menor que o Kc utilizado no 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 Kc e Kec 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, em vez de expressarem os valores de biomassa microbiana em termos de mg C kg⁻¹ de C no 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 dos problemas relacionados com a adoção de valores diferenciados de Kc e Kec, 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 (Quadro 3). Isto poderia ser atribuído ao fato de que cada um dos solos sob vegetação nativa apresenta um Kec diferenciado, em decorrência de 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 Kec específicos a 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 Kec 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 de acordo com os tratamentos, épocas e profundidades amostrados.

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 Kec 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, concluiu-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 métodos padronizados, desde a coleta e preparo até à análise das amostras, constituiu condição básica para validar tais estudos.

CONCLUSÕES

1. Os resultados indicaram que os métodos CFI e CFE foram apropriados para determinação do carbono da biomassa microbiana de solos de cerrado sob cultivo e sob vegetação nativa.

2. Nos solos sob cultivo, independentemente do método utilizado, as pastagens consorciadas apresentaram maiores teores de carbono da biomassa microbiana que as áreas sob culturas anuais, sendo tais diferenças mais acentuadas na profundidade de 0-5 cm.

3. Nos solos nativos, independentemente do método utilizado, a mata de galeria apresentou níveis de carbono da biomassa microbiana superiores aos do cerrado e campo sujo.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos o valioso auxílio dos técnicos dos Laboratórios de Microbiologia do Solo e Química do Solo da Embrapa-Cerrados.

LITERATURA CITADA

ANDERSON, J.P. & DOMSCH, K.H. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. *Soil Biol. Biochem.*, 10:215-221, 1978.

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

BANDICK, A.K. & DICK, R.P. Field management effects on soil enzyme activities. *Soil Biol. Biochem.*, 31:1471-1479, 1999.

CATTELAN, A.J. & VIDOR, C. Flutuações na biomassa, atividade e população microbiana do solo, em função de variações ambientais. *R. Bras. Ci. Solo*, 14:133-142, 1990.

CHAUSSOD, R. & NICOLARDOT, B. Measure de la biomasse microbienne dans les sols cultivés. I. Approche cinétique et estimation simplifiée du carbone facilement minéralisable. *R. Ecol. Biol. Solo*, 19:501-512, 1982.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – 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 Biol. Biochem.*, 27:1467-1472, 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, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1998. 488p.

FERREIRA, A.S.; CAMARGO, F.A.O. & VIDOR, C. Utilização de microondas na avaliação da biomassa microbiana do solo. *R. Bras. Ci. Solo*, 23:991-996, 1999.

FRANZLUEBBERS, A.J. & ARSHAD, M.A. Soil organic matter pools during early adoption of conservation tillage in Northwestern Canada. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 60:1422-1427, 1996.

FRANZLUEBBERS, A.J.; HANEY, R.L. & HONS, F.M. Relationships of chloroform fumigation-incubation to soil organic matter pools. *Soil Biol. Biochem.*, 31:395-405, 1999.

HINKELMAN, K. & KEMPTHORNE, O. Design and analysis of experiments: introduction to experimental design. New York, John Wiley & Sons, 1994. v.1. 495p.

JENKINSON, D.S. & POWLSON, D.S. The effect of biocidal treatment on metabolism in soil. V. A method of measuring soil biomass. *Soil Biol. Biochem.*, 8:209-213, 1976a.

JENKINSON, D.S. & POWLSON, D.S. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil - I. Fumigation with chloroform. *Soil Biol. Biochem.*, 8:167-177, 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. *Biol. Fertil. Soils*, 23:38-42, 1996.

MARTENS, R. Current methods for measuring microbial biomass C in soil: Potentials and limitations. *Biol. Fertil. Soils*, 19:87-99, 1995.

- MERCKX, R. & MARTIN, J.K. Extraction of microbial biomass components from rhizosphere soils. *Soil Biol. Biochem.*, 19:371-376, 1987.
- MILLIKEN, G.A.E. & JOHNSON, D.E. Analysis of messy data: designed experiments. New York, Chapman & Hall, 1992, v.1. 473p.
- 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. *R. Bras. Ci. Solo*, 16:31-37, 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. p.3-20.
- RIBEIRO, J.F.R. & WALTER, B.M.F. Fitofisionomias do bioma cerrado. In: SANO, S.M. & ALMEIDA, S.P. Cerrado: ambiente e flora. Planaltina, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1998. 556p.
- 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. *R. Bras. Ci. Solo*, 18:427-432, 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 Biol. Biochem.*, 22: 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. Brasília, Universidade de Brasília 1999, 99p. (Tese de Mestrado)
- SAS INSTITUTE. SAS/STAT user's guide, version 6. 12 ed., Cary, 1996. 1686p.
- SATTERTHWAITE, F.E. An approximate distribution of estimates of variance components. *Biomet. B.*, 2:110-114, 1946.
- SPARLING, G.P. Ratio of microbial biomass carbon to soil organic carbon as a sensitive indicator of changes in soil organic matter. *Aust. J. Soil Res.*, 30:195-207, 1992.
- SPARLING, G.P. & ROSS, D.J. Biochemical methods to estimate soil microbial biomass: Current developments and applications. In: MULONGOY, K. & MERCKX, R., eds. Soil organic matter dynamics and sustainability of tropical agriculture. Leuven, Wily-Sayce, 1993. p.21-37.
- SPARLING, G. & ZHU, C. Evaluation and calibration of biochemical methods to measure microbial biomass C and N in soils from western Australia. *Soil Biol. Biochem.*, 25:1793-1801, 1993.
- VANCE, E.D.; BROOKES, P.C. & JENKINSON, D.S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biol. Biochem.*, 19:703-707, 1987.
- WARDLE, D.A. & GHANI, A. Why is the strength of relationships between pairs of methods for estimating soil microbial biomass often so variable? *Soil Biol. Biochem.*, 27:821-828, 1995.

