

ECILA MERCÊS DE ALBUQUERQUE VILLANI

**CARBONO, NITROGÊNIO E FÓSFORO DA BIOMASSA
MICROBIANA: MÉTODOS DE AVALIAÇÃO E INFLUÊNCIA
DA ADUBAÇÃO FOSFATADA EM PLANTACÕES DE EUCALIPTO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2003

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

V716c Villani, Ecila Mercês de Albuquerque, 1963-
2003 Carbono, nitrogênio e fósforo da biomassa microbiana :
métodos de avaliação e influência da adubação fosfatada
em plantações de eucalipto / Ecila Mercês de Albuquerque
Villani. – Viçosa : UFV, 2003
56p. : il.

Orientador: Nairam Félix de Barros
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Viçosa

1. Solos - Biomassa. 2. *Eucalyptus grandis* - Adubação
fosfatada. 3. Solos - Teor de carbono. 4. Solos - Teor de
nitrogênio. 5. Solos - Teor de fósforo. I. Universidade
Federal de Viçosa. II. Título.

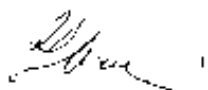
CDD 19.ed. 631.41
CDD 20.ed. 631.41

ECILA MERCÊS DE ALBUQUERQUE VILLANI

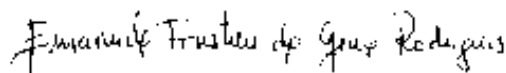
**CARBONO, NITROGÊNIO E FÓSFORO DA BIOMASSA
MICROBIANA: MÉTODOS DE AVALIAÇÃO E INFLUÊNCIA
DA ADUBAÇÃO FOSFATADA EM PLANTAÇÕES DE EUCALIPTO**

Tese apresentada à Universidade Federal
de Viçosa, como parte das exigências do
Programa de Pós Graduação em Solos e
Nutrição de Plantas, para obtenção do
título de *Doctor Scientiae*.

Aprovada: 25 de fevereiro de 2003.




Prof. Roberto Ferreira de Novais
(Conselheiro)



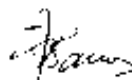
Prof. Emanuela Forestier da
Gama-Rodrigues



Prof. Maurício Dutra Costa



Prof. Ivo Ribeiro da Silva



Prof. Nairam Félix de Barros
(Orientador)

*Embora ninguém possa voltar atrás
e fazer um novo começo,
qualquer um pode começar agora
e fazer um novo fim.*

Chico Xavier.

AGRADECIMENTO

À Deus, mesmo que eu não consiga defini-lo, por todas as oportunidades de aprimoramento intelectual e espiritual.

À minha família, em especial, a minha mãe, Maria das Mercês, à Andréa e à Natalia, pelo apoio incondicional.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realizar o Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Ensino Superior (CAPES), pelo auxílio financeiro.

Ao Professor Nairam Félix de Barros, pela valiosa orientação, pela amizade e pelo incentivo durante a realização deste trabalho.

Ao Professor Roberto Ferreira de Novais, pelas lições transmitidas, pela paciência e, sobretudo, por ter sido, em muitos momentos, mais pai que mestre.

Aos Professores Maurício Dutra Costa, Emanuela Forestieri da Gama-Rodrigues e Ivo Ribeiro da Silva pelas valiosas críticas e sugestões.

Aos Professores Liovando M. da Costa, Luiz Eduardo Dias e Victor Hugo Alvarez V. pela amizade e pelo apoio em todos os momentos.

Ao Professor Eduardo de Sá Mendonça pela amizade, pelas críticas e sugestões e por ter possibilitado a execução de parte deste trabalho no Laboratório de Matéria Orgânica do Solo.

À empresa Votorantim Celulose e Papel, nas pessoas da Eng^a Celina Ferraz Valle, do Eng. Lenine Corradine e do Técnico Walmir Franciscatti pelo apoio logístico nas atividades de campo.

Ao Geraldo Magela Pires Jr. por ter permitido que eu me elegesse sua eterna amiga.

Às colegas e amigas Deise Oliveira e Marcell Lázari e, ainda, ao colega Airton Bortoluzzi, pelas discussões a respeito dos métodos e filosofia do trabalho.

Ao Alcides Gatto, pela amizade e convivência, e por ter sido, em muitos momentos, amigo e irmão; ao Emerson Ribeiro Jr. pelo carinho e trocas constantes; ao Helder Quadros pela amizade e paciência nos meus picos de estresse e pela enorme boa vontade em trocar informações.

Aos acadêmicos de Agronomia, Alexandre Gustavo Oberhauser e Eduardo da Silva Matos, pela amizade, pelo apoio e pelo companheirismo no transcorrer das análises laboratoriais.

Aos amigos Gabriela e Oscar, Rosângela Auzier, Judicael, Tsutomu, Eliana Vianna, Milza Lanna, Marcelo Rolim, Gil Horta Barbosa, Sérgio Figueiredo e Carlos A. Martins que, mesmo distantes, torceram por mim.

Às amigas Fátima, Jane e Alessandra, pela amizade.

À turma da casa 24 na Vila Gianetti, em especial, Eliana e Antônio Augusto, pelo auxílio nos momentos de dúvidas e pelos cafezinhos acolhedores.

Ao Gilsiano Nogueira pelo auxílio nas análises estatísticas

Aos funcionários do Departamento de Solos e Nutrição de Plantas, incluindo o Hernando, pela colaboração durante os trabalhos.

Às secretárias Sônia e Luciana pela amizade e por todos os serviços prestados.

A todas as pessoas que passaram pela minha vida e tentaram me ensinar a Amar.

BIOGRAFIA

ECILA MERCÊS DE ALBUQUERQUE VILLANI, filha de Rômulo Villani e Maria das Mercês de Albuquerque Villani, nasceu em 21 de setembro de 1963, em Juiz de Fora, MG.

Graduou-se em Agronomia pela Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, Minas Gerais, em janeiro de 1988.

Em fevereiro de 1990, concluiu o Programa de Aperfeiçoamento em Solos e Nutrição de Plantas, na UFRV.

Em agosto de 1994, concluiu o Programa de Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas, área de Fertilidade do Solo, na UFRV.

No período de outubro de 1995 a dezembro de 1996 participou do programa SHIFT (Studies of Human Impact in Forest and Floodplains in the Tropics), como bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, junto ao Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Ocidental – CPAA, em Manaus, Amazonas.

Em março de 1997, ingressou no Programa de Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas, área de Solos Florestais, na UFRV, submetendo-se à defesa de tese em fevereiro de 2003.

ÍNDICE

	Página
RESUMO	viii
ABSTRACT	xi
INTRODUÇÃO GERAL	1
CAPÍTULO 1.....	3
AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO DE FÓSFORO DA BIOMASSA MICROBIANA EM SOLOS FLORESTAIS	3
RESUMO	3
INTRODUÇÃO.....	4
MATERIAL E MÉTODOS	8
Fósforo da biomassa microbiana do solo	9
Método fumigação - extração	10
Método irradiação com microondas - extração	11
Método extração com membrana de troca aniônica	12
Cálculos para a determinação do PBM	13
Análises estatísticas	13

RESULTADOS E DISCUSSÕES	14
Fósforo da biomassa microbiana	14
Considerações sobre os métodos testados	19
CONCLUSÕES	21
LITERATURA CITADA	21
CAPÍTULO 2.....	26
BIOMASSA MICROBIANA EM PLANTAÇÕES DE EUCALIPTO INFLUENCIADA POR FONTES DE FÓSFORO	26
RESUMO	26
INTRODUÇÃO.....	27
MATERIAL E MÉTODOS	31
Carbono, nitrogênio e fósforo da biomassa microbiana	32
Análises estatísticas	35
RESULTADOS E DISCUSSÕES	35
Carbono da biomassa microbiana e carbono orgânico do solo	35
Nitrogênio da biomassa microbiana e nitrogênio total do solo	39
Relações entre carbono microbiano e carbono orgânico do solo, carbono e nitrogênio microbianos e nitrogênio microbiano e nitrogênio total do solo	41
Fósforo da biomassa microbiana e relação entre fósforo microbiano e fósforo total do solo	44
CONCLUSÕES	47
LITERATURA CITADA	47
APÊNDICE	54

RESUMO

VILLANI, Ecila Mercês de Albuquerque, D.S., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2003. **Carbono, Nitrogênio e Fósforo da Biomassa Microbiana: Métodos de Avaliação e Influência da Adubação Fosfatada em Plantações de Eucalipto**. Orientador: Nairam Félix de Barros. Conselheiros: Roberto Ferreira de Novais e Eduardo de Sá Mendonça.

No Brasil, as plantações de eucalipto ocupam, de modo geral, solos de baixa fertilidade e com limitada reserva de nutrientes, o que torna a fertilização mineral prática comum. Além disso, são escassos os trabalhos relacionados à biomassa microbiana do solo (BMS) em plantações florestais nos trópicos. Com o intuito de avaliar métodos de determinação do P da biomassa microbiana do solo e estimar o C, o N e o P deste compartimento, dois ensaios foram conduzidos. Inicialmente, procurou-se avaliar três métodos para determinação do P da biomassa microbiana do solo (PBM): fumigação-extração (FE), irradiação com microondas-extração (IE) e irradiação com microondas-extração com membrana de troca aniônica (EMTA). Amostras de um Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico muito argiloso (LVAd) foram coletadas nas profundidades de 0 - 5 e de 5 - 10 cm, em áreas com pínus, eucalipto e floresta nativa. Em

termos gerais, menores teores de PBM foram obtidos com o método IE, os quais corresponderam a 30 % do obtido pelo método FE, nas áreas com eucalipto e floresta nativa, especialmente na camada superficial, e, apenas 17 %, na área com pínus. O PBM encontrado com o método EMTA foi ligeiramente superior ao observado com FE, na camada superficial, nas áreas com pínus (9,8 %) e floresta nativa (10,4 %), enquanto, com eucalipto, foram, em média, 46 % inferiores, nas duas camadas. Independente do método utilizado, o PBM variou significativamente entre as coberturas vegetais (1,74 a 8,93 mg kg⁻¹ de P no solo), decrescendo em profundidade. Entre métodos, menores coeficientes de variação (CV) foram obtidos com o FE, retratando maior precisão do método. Porém, para as condições estudadas, o método IE mostrou-se, em termos operacionais, o mais adequado à determinação do PBM quando se tem maior número de amostras a serem analisadas. Com relação às coberturas vegetais, a grande variabilidade observada nos CV obtidos para cada cobertura, nos três métodos testados, inviabiliza a escolha de um único método que apresente maior precisão na avaliação do PBM. Para a estimativa do C, do N e do P da biomassa microbiana do solo (CBM, NBM, PBM), amostras de dois Latossolos Vermelhos, um de textura média (Lvd1) e outro argiloso (LVd2), nas profundidades de 0 - 5 e 5 - 10 cm, foram coletadas em plantações de *Eucalyptus grandis* que receberam, na primeira rotação, os tratamentos: (a) testemunha - sem adição de P; (b) 500 kg ha⁻¹ de fosfato natural de Carolina do Norte (FCN); (c) 600 kg ha⁻¹ de fosfato de Araxá (FA); e (d) 334 kg ha⁻¹ de superfosfato triplo (ST), os quais equivalem a 150 kg ha⁻¹ de P₂O₅. Menores valores de CBM foram encontrados no LVd1, textura média, porém, observou-se aumento da biomassa microbiana com a adubação fosfatada. Com relação às fontes de P aplicadas, não foi observada diferença significativa no CBM nas parcelas que receberam ST e FCN. No LVd2, argiloso, na parcela testemunha, o CBM foi superior e, entre fontes, não foram observadas diferenças significativas entre as de menor

reatividade. O NBM seguiu as mesmas tendências, de acréscimos ou decréscimos, do CBM, nos dois solos, nas profundidades avaliadas. No LVd1, o PBM foi superior na parcela com FCN, entretanto, nas parcelas com ST e FA, não foi observada diferença significativa entre os valores encontrados, nas duas profundidades. No LVd2, apesar do PBM ser superior na parcela com FCN, esses valores não diferiram significativamente daqueles encontrados com FA. Nessa área, o PBM não diferiu significativamente entre tratamento, na camada subsuperficial. As relações entre o CBM e o PBM mostraram que o teor de P imobilizado na BMS foi, de modo geral, superior no LVd1, especialmente na camada subsuperficial. Todavia, maior percentagem do P total do solo encontrava-se incorporado à biomassa microbiana, no LVd2. Nas condições avaliadas, os resultados obtidos não permitem concluir sobre a influência da adubação fosfatada na BMS. Contudo, os maiores teores de C, N e P da biomassa microbiana foram observados no solo argiloso (LVd2) evidenciando a proteção física exercida pela argila sobre a BMS.

ABSTRACT

VILLANI, Ecila Mercês de Albuquerque, D.S., Universidade Federal de Viçosa, February 2003. **Carbon, Nitrogen, And Phosphorus In The Microbial Biomass: Evaluation Methods and Influence of Phosphate Fertilization in Eucalypt Plantations.** Adviser: Nairam Felix de Barros. Committee members: Roberto Ferreira de Novais and Eduardo de Sá Mendonça.

Usually, soils of low fertility with a restricted nutrient potential that require mineral fertilization are used for plantations of eucalypt in Brazil. Moreover, research into the microbial biomass of soils (MBS) in tropical forest plantations is rare. For an evaluation of the methods used to determine the P and to estimate the C, N, and P contents of the microbial soil biomass, two experiments were conducted. At an initial stage, three methods determination of the microbial biomass P content in the soil (PMB) were evaluated: fumigation-extraction (FE); radiation with microwave-extraction (RE); and radiation by microwave-extraction with a membrane for anionic exchange (EMAE). Samples of a very clayey dystrophic Red-Yellow Latosol (LVAd) were collected at depths of 1 - 5 cm and 5 - 10 cm in soils under pine and, eucalypt plantations, and native forest. In general, lower PMB contents were obtained by the RE than by the FE method; 30 % in the areas with eucalypt plantations and

native forest, especially in the surface layer and only 17 % in the area with pine. The PMB contents established by the EMAE method were slightly higher than those determined by FE in the areas with pine (9.8 %) and native forest (10.4 %), while for eucalypt they were 46 % lower in both layers. Independent of the method in use, the PMB values varied significantly among the stands (1,74 to 8,93 mg kg⁻¹ of P in the soil) and decreased with depth. The smallest coefficients of variation (CV) were obtained by FE, expressing the greater precision of this method. Under the studied conditions, however, where a large-scale analysis of samples is required, the RE method turned out to be, in terms of functionality, most adequate for the PMB determination. In relation to the stands, none of the three tested methods could be indicated as uniquely most precise method for the evaluation of the MPB, due to the great variability of the CV's for each forest type. To estimate the C, N, and P of the microbial soil biomass (CMB, NMB, PMB), samples of two Red Latosols a medium texture (LVd1) and a clayey (LVd2), were collected at depths of 0 - 5 and 5 - 10 cm in plantations of *Eucalyptus grandis*, treated in the first rotation with: a) control with no additional P; b) 500 kg ha⁻¹ of natural phosphate from North Carolina (PCN); c) 600 kg ha⁻¹ of phosphate from Araxá (PA); and d) 334 kg ha⁻¹ of triple superphosphate (TS), with 150 kg ha⁻¹ of P₂O₅. Lower CMB values were found in the LVd1 of medium texture, although the phosphate fertilization entailed an increase of the microbial biomass. In relation to the applied P sources, no significant differences of the PMB were observed in the plots where TS and PCN had been applied. In the control treatment of the clayey LVd2, the PMB was higher, and no significant differences were observed among the sources of lower reactivity. NMB followed the same behavior pattern in relation to increases and decreases as observed for CMB in both soils and evaluated soil depths. In the LVd1, the PMB was higher in the PCN plot, while in the plots with TS and PA, no significant differences were observed among the observed values at both soil depths. These values did not differ

significantly from those found with PA in the LVd2, although the PMB was higher in the plot with PCN. There was no significant difference among the treatments in the surface layer in this area. The relations between the CMB and the PMB showed that, in general, the content of immobilized P in the MBS was higher in the LVd1, especially in the surface layer. Still, a higher percentage of total soil P was incorporated in the microbial biomass, in the LVd2. Under the studied conditions, the obtained results do not allow conclusions about the influence of the phosphate fertilization on the MBS. However, higher contents of C, N, and P of the microbial biomass were observed in the clayey soil (LVd2), indicating the physical protection that clay exerts on the MBS.

INTRODUÇÃO GERAL

O setor florestal brasileiro tem ocupado posição de destaque no mercado internacional pela qualidade dos seus produtos, especialmente, papel, celulose e chapas de madeira. Esses produtos são oriundos de florestas plantadas de eucalipto e de pínus, as quais têm se espalhado por todo país, do Amapá ao Rio Grande do Sul, ocupando áreas com grande diversidade edafoclimática.

As plantações de eucalipto, de modo geral, ocupam áreas de baixa fertilidade natural, nas quais a fertilização mineral é essencial. Estudos relacionados à adubação fosfatada têm procurado elucidar questões referentes às fontes, às doses e aos métodos mais eficientes de utilização destes insumos.

Apesar do grande número de trabalhos relacionados à dinâmica nutricional, poucas são as informações com relação à sustentabilidade das plantações de eucalipto tanto no aspecto produtivo, no sentido de manter e, ou, melhorar o potencial produtivo destas áreas, como no aspecto ecológico, aqui considerando os possíveis efeitos das técnicas de manejo nas características físicas, químicas e biológicas dos solos.

Para monitorar as mudanças ambientais geradas pela implantação de florestas plantadas, um número considerável de indicadores ambientais

tem sido selecionado, abrangendo todos os aspectos da produção. Aqueles relacionados à qualidade do solo têm recebido atenção especial, pois permitem acompanhar os impactos causados ao ecossistema, ao longo do tempo, e, com isso, redefinir técnicas de manejo mais apropriadas. Dentre esses, a biomassa microbiana é considerada indicador altamente sensível às mudanças provocadas pelo uso do solo.

Dentre as técnicas de manejo, a adubação influencia positivamente no crescimento e na atividade da população microbiana do solo. No caso da adubação fosfatada, diferenças tanto no teor de P microbiano como no número de microrganismos têm sido observadas, especialmente com relação à fonte de P adicionada.

Neste contexto, este trabalho teve como objetivos estimar o carbono, o nitrogênio e o fósforo da biomassa microbiana do solo em plantações de *Eucalyptus grandis*, adubados com diferentes fontes de P, e avaliar métodos de determinação de P da biomassa microbiana em áreas com diferentes coberturas florestais.

CAPÍTULO 1

AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO DE FÓSFORO DA BIOMASSA MICROBIANA EM SOLOS FLORESTAIS

RESUMO

Avaliaram-se os métodos fumigação-extração (FE), irradiação com microondas-extração (IE) e irradiação com microondas-extração com membrana de troca aniônica (EMTA), na quantificação do fósforo da biomassa microbiana (PBM) em solos com diferentes coberturas florestais. Amostras de um Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico muito argiloso (LVAd) foram coletadas nas profundidades de 0 - 5 e de 5 - 10 cm, em áreas com pinus, eucalipto e floresta nativa. Em termos gerais, menores teores de PBM foram obtidos com o método irradiação-extração. Esses teores corresponderam a 30 % do obtido pelo método FE, nas áreas com eucalipto e floresta nativa, especialmente na camada superficial, e, apenas 17 %, na área com pinus. O PBM encontrado com o método EMTA foi ligeiramente superior ao observado com FE, na camada superficial, nas áreas com pinus (9,8 %) e floresta nativa (10,4 %), enquanto, com eucalipto, foram, em média, 46 % inferiores, nas duas camadas. Independente do método utilizado, o PBM variou significativamente entre as coberturas vegetais (1,74 a 8,93 mg kg⁻¹ de P no solo), decrescendo em profundidade. Entre métodos, menores coeficientes de variação (CV) foram obtidos com o FE, retratando maior precisão do método. Porém, para as condições estudadas, o método IE mostrou-se, em termos operacionais, o mais adequado à determinação do PBM quando se tem maior número de amostras a serem analisadas. Com relação às coberturas vegetais, a grande variabilidade observada nos CV obtidos para cada cobertura, nos três métodos testados, inviabiliza a escolha de um único método que apresente maior precisão na avaliação do PBM.

INTRODUÇÃO

A matéria orgânica tem se destacado como indicador da qualidade do solo por englobar atributos que influenciam em suas propriedades físicas, químicas e biológicas (Theng et al., 1989). A biomassa microbiana do solo (BMS), parte viva da matéria orgânica, é constituída por bactérias, fungos, actinomicetos e microfauna que formam comunidades diversas no solo (Paul & Clark, 1989). Algumas características desta microbiota têm despertado o interesse de pesquisadores dentre as quais destacam-se os teores de carbono e nitrogênio (Stockdale & Rees, 1994; Gama-Rodrigues et al., 1997; Smolander et al., 1998; Vesterdal, 1998; Aslam et al., 1999; Marchiori Jr. & Mello, 1999; Goyal et al., 1999; Vargas & Scholles, 2000; Oliveira et al., 2001). Entretanto, são escassos, na literatura, os trabalhos relacionados ao fósforo e ao enxofre microbianos (Guerra et al., 1995; He et al., 1997; Chowdhury et al., 1999; Barroti & Nahas, 2000; Schneider et al., 2001).

No Brasil, é crescente a área de florestas plantadas, especialmente com eucalipto, em que predominam solos de baixa fertilidade natural e limitada reserva de nutrientes. Atualmente, o uso de adubos fosfatados mais ou menos reativos é generalizado (Barros & Novais, 1990), porém ainda permanece em aberto qual proporção do P aplicado é ciclado pelos microrganismos ou encontrado na forma orgânica (Lukito et al., 1998). De acordo com McLaughlin (1996), o P orgânico tem papel importante na sustentabilidade do crescimento de culturas perenes, como as florestais.

Há uma série de trabalhos que determinam as formas predominantes do elemento no solo, quantificando as inorgânicas (Pi) e orgânicas (Po) por métodos de fracionamento (Hedley et al., 1982; Kelly et al., 1983; Cross & Schlesinger, 1995), ou identificando sua estrutura, por cromatografia ou ressonância magnética nuclear (Condrón et al., 1985; Gil-Sotres et al., 1990). Contudo, poucos trabalhos avaliam o P imobilizado pelas populações microbianas (Lukito et al., 1998; Barroti & Nahas, 2000).

É consenso geral que essas populações atuam ora como fonte ora como dreno do elemento no sistema e que têm fundamental importância no processo de mineralização do P, pela ação das enzimas fosfatases por elas produzidas. A atividade e a concentração de P dessas comunidades têm sido avaliadas com o intuito de complementar as informações sobre o ciclo biogeoquímico do elemento no sistema solo-planta. Bowman & Cole (1978) foram os pioneiros na determinação do P microbiano, submetendo as amostras de solo ao tratamento com tolueno. A diferença na concentração de P extraído com NaHCO_3 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, pH 8,5, entre as amostras tratadas e as não tratadas representou o P microbiano. Pressupondo que a proporção P_i e P_o depende da concentração do elemento na solução do solo, da porcentagem de P na célula microbiana, da idade da célula e que existem diferenças entre células fúngicas e bacterianas quanto à composição e conteúdo de P, Hedley & Stewart (1982) propuseram algumas modificações no método mencionado. Segundo esses autores, a remoção do P_i lábil com membrana de troca aniônica, anterior à adição de clorofórmio e NaHCO_3 , e a alteração no tempo de extração de 30 min para 16 h permitiram maior exatidão na quantificação do P microbiano.

Com o intuito de desenvolver um método alternativo, Brookes et al. (1982) enfatizaram a adsorção de P inorgânico à superfície dos colóides do solo, durante o período de extração, e procuraram corrigir essa perda estimando o P adsorvido em amostras não fumigadas. Os trabalhos posteriores adotaram esse método como padrão. Entretanto, McLaughlin et al. (1986), procurando esclarecer questionamentos sobre algumas etapas estipuladas no método precedente, testaram os biocidas: clorofórmio, etanol, propanol, hexanol, β -propiolactona e formaldeído (forma líquida e de vapor), óxido de etileno e brometo de metila (forma gasosa) e glutaraldeído (forma líquida); o tempo de fumigação: 24 e 36 h para evaporação do biocida em capela de exaustão; os extratores: NaHCO_3 $0,1$ e $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ pH 8,5, NaOH $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, H_2SO_4

0,05 mol L⁻¹, NH₄F 0,03 mol L⁻¹ + HCl 0,1 mol L⁻¹ e membrana de troca aniônica; o tempo de agitação: 30 min e 16 h, a 20 °C; além do fator de correção K_p, que considera a proporção do P recuperado no processo de extração após a fumigação. Os autores definiram que, apesar de clorofórmio e hexanol terem desempenho semelhante como biocidas, o último seria o mais indicado por não apresentar características carcinogênicas; NaHCO₃ 0,5 mol L⁻¹, pH 8,5 foi o extrator recomendado, na relação solo:extrator de 1:20, em 30 min de agitação, e ressaltaram a importância da determinação do fator K_p para cada amostra, haja vista os solos analisados apresentarem proporções distintas entre populações e, dentro das populações, diferenças quanto às espécies predominantes. De modo geral, os trabalhos publicados ou aplicam, na íntegra, o método proposto por Brookes et al. (1982) ou fazem combinações entre dois métodos, por exemplo, Brookes et al. (1982) e McLaughlin et al. (1986) ou McLaughlin et al. (1986) e Hedley & Stewart (1982) e assim sucessivamente.

O ponto chave dos métodos já mencionados, mais conhecidos por métodos da fumigação-extração (FE), é a utilização do clorofórmio como biocida. Porém, muitas restrições são feitas ao seu uso em decorrência dos cuidados que exige por ser um produto altamente tóxico. Esse fato estimulou a busca de alternativas às técnicas existentes. A eficiência da irradiação com microondas como biocida, comprovada em alguns estudos (Vela & Wu, 1979; Ferris, 1984), serviu de suporte ao trabalho desenvolvido por Speir et al. (1986), no qual avaliou-se o tempo de exposição das amostras de solo à irradiação com microondas em substituição à fumigação com clorofórmio. Segundo esses autores, a irradiação com microondas em 25 g de solo, durante 90 s, foi efetiva como biocida, equivalendo ao obtido com clorofórmio. Contudo, o P extraível foi subestimado, provavelmente por inativação das fosfatases intracelulares em resposta ao aquecimento provocado pela irradiação.

O extrato obtido da agitação do solo com NaHCO_3 apresenta, geralmente, coloração escura devido à solubilização de substâncias húmicas durante a extração, interferindo na determinação colorimétrica do P. Kouno et al. (1995), procurando contornar esse aspecto negativo do método proposto por Bowman & Cole (1978), desenvolveram um método no qual uma membrana de troca aniônica foi empregada como extrator do P microbiano. Os autores encontraram correlação positiva altamente significativa do P microbiano pelos dois métodos, sugerindo o emprego do novo método em substituição ao tradicional. Além disso, a adsorção pelo solo do P liberado dos microrganismos, durante os períodos de fumigação e extração pelo método FE, seria minimizada com o uso da membrana.

Brookes et al. (1982) não consideraram as reações de adsorção que ocorriam durante o período de fumigação por acreditarem que a maior parte do P microbiano liberado, após a ruptura celular, permanecia no interior ou próximo da célula, não interagindo com o solo. Essa questão foi estudada por Morel et al. (1996), que avaliaram as reações de adsorção do P adotando o seguinte procedimento: soluções contendo doses crescentes de P (0, 2, 5, 10, 20 e 50 mg kg^{-1} de P adicionado na forma de KH_2PO_4 , denominado P adicionado - Pad) foram adicionadas tanto em amostras de solo submetidas à fumigação, por 135 min, como nas não fumigadas, e após um período de 40 h, foi medida a concentração de P em cada amostra (P na solução - Ps), ajustando-se uma equação com os valores de Ps e Pad. Os valores encontrados de P microbiano pelo método convencional representaram cerca de 22 a 50 % daqueles obtidos com a nova proposta, o que validou a hipótese de que a quantificação da fração adsorvida durante a fumigação permite que se tenha maior exatidão na determinação do P microbiano. Contudo, os solos testados apresentavam baixa a média capacidade de adsorção de P, permanecendo a incógnita com relação a solos com elevada capacidade de adsorção. Essa dúvida fez com que Oberson et al. (1997) testassem o método proposto por Morel e colaboradores em solos tropicais altamente intemperizados da Colômbia

(Oxisols e Ultisols), com média a elevada capacidade de adsorção de P. Apesar de não conseguirem detectar variações do Ps nesses solos, os autores fizeram uma série de adaptações que viabilizaram a aplicação do método proposto em tais solos. Entre as adaptações apresentadas, a substituição do extrator NaHCO_3 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, pH 8,5, por NH_4F $0,03 \text{ mol L}^{-1}$ + HCl $0,025 \text{ mol L}^{-1}$ tem sido bastante utilizada (He et al., 1997; Gijsman et al., 1997; Wu et al., 2000).

Considerando a importância da biomassa microbiana do solo na ciclagem de nutrientes e como indicador de qualidade do solo, duas questões são relevantes: (1) Que método é o mais adequado à determinação do P microbiano nas condições tropicais? e (2) A cobertura florestal influencia a eficiência do método?

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivos comparar a eficiência de três métodos: fumigação-extração, irradiação com microondas-extração e irradiação com microondas-extração com membrana de troca aniônica, na quantificação do fósforo microbiano em solos com diferentes coberturas florestais.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de solo foram coletadas em áreas cultivadas com *Pinus taeda*, *Eucalyptus grandis* e floresta nativa, com aproximadamente 20 anos de idade, em um Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico muito argiloso - LVAd, no município de Viçosa (MG).

Sob cada cobertura, estabeleceu-se uma parcela de 600 m^2 de onde se obteve uma amostra composta de solo a partir de 10 subamostras simples, nas profundidades de 0 a 5 e de 5 a 10 cm. Essas amostras foram homogeneizadas, secas ao ar e peneiradas em malha de 2 mm, procedendo-se às caracterizações físicas e químicas que consistiram na análise granulométrica (EMBRAPA, 1979) e determinação de: pH em

água; Ca, Mg e Al trocáveis, extraídos com KCl 1 mol L⁻¹; K e P, pelo extrator Mehlich-1; N total pelo método Kjeldahl (EMBRAPA, 1997); carbono orgânico, por oxidação da matéria orgânica, conforme Tedesco et al. (1995) (Quadro 1).

Concomitantemente, foi coletada uma amostra composta de solo para a avaliação de sua biomassa microbiana. Essas amostras foram destorroadas, peneiradas em malha de 2 mm, homogeneizadas, os resíduos vegetais retirados, acondicionadas em potes plásticos e armazenadas sob refrigeração (aproximadamente 4 °C), até o momento das análises. A umidade dessas amostras foi ajustada para 60 % da capacidade de retenção de água.

Quadro 1. Teor de argila e características químicas do solo com *Pinus taeda*, *Eucalyptus grandis* e floresta nativa, coletado em duas profundidades

Cobertura vegetal	Profundidade	Argila	pH H ₂ O	C.O.	N	P	K	Ca	Mg	Al	SB	CTC efet.	m
	cm	g kg ⁻¹		— g kg ⁻¹ —		— mg dm ⁻³ —		————— cmolc dm ⁻³ —————				%	
<i>Pinus taeda</i>	0 - 5	740	4,36	35,9	1,70	4,78	32,4	0,19	0,54	2,4	0,81	3,21	75
	5 - 10	740	4,22	26,0	1,35	2,79	23,0	0,00	0,35	2,8	0,41	3,21	87
<i>Eucalyptus grandis</i>	0 - 5	730	3,47	39,5	1,74	3,75	39,8	0,08	0,76	2,4	0,94	3,34	72
	5 - 10	730	3,32	30,4	1,45	2,98	30,9	0,00	0,52	3,0	0,60	3,60	83
Floresta nativa	0 - 5	740	4,41	36,9	2,34	3,56	51,2	6,04	2,91	0,8	9,09	9,89	8
	5 - 10	740	3,81	22,2	1,49	2,16	33,9	1,49	1,61	1,1	3,18	4,28	26

Fósforo da biomassa microbiana do solo

Para estimar o fósforo da biomassa microbiana do solo (PBM), foram avaliados três métodos: (1) o primeiro consistiu da adaptação dos métodos propostos por Brookes et al. (1982) e Hedley & Stewart (1982),

conhecidos como métodos da fumigação - extração (FE); (2) o segundo método foi adaptado de Islam & Weil (1998) e consistiu da substituição do processo de fumigação das amostras com clorofórmio pela irradiação em forno de microondas, denominado método da irradiação - extração (IE); (3) o terceiro foi proposto por Kouno et al. (1995), no qual empregasse membrana de troca aniônica na extração do PBM, denominado neste trabalho por EMTA. As amostras de solo foram retiradas do refrigerador, pelo menos uma hora antes das pesagens.

Método fumigação - extração

Seis porções equivalentes a 1,5 g de solo seco foram pesadas em frasco de 50 mL (três destinadas à fumigação e três não fumigadas). As amostras destinadas à fumigação foram colocadas em dessecador contendo um frasco com 30 mL de clorofórmio (isento de álcool), em ambiente escurecido e com temperatura ambiente. O clorofórmio foi removido por aspirações sucessivas, após 24 h, e o PBM extraído com 30 mL de NaHCO_3 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, pH 8,5. Após agitação por uma hora, a 150 rpm, os extratos foram centrifugados a 5.000 rpm, por 10 min, e filtrados em papel de filtragem lenta. Do extrato filtrado, efetuou-se a transferência de 20 mL para um frasco (150 mL), com posterior adição de 2,0 mL de HCl 10 mol L^{-1} . A mistura foi agitada lentamente (ocorre liberação de CO_2), manualmente, e, após 30 min, foi novamente filtrada para descarte do resíduo formado (essa etapa tem por finalidade promover a clarificação da solução pela precipitação de ácidos húmicos solubilizados durante o processo de extração). Paralelamente ao processo de fumigação - extração das amostras de solo, estimou-se a fração de P liberada com a fumigação e adsorvida durante a extração. Três porções de 1,5 g de solo seco foram pesadas em frascos de 50 mL e a elas adicionado 1,0 mL de solução contendo 25 mg L^{-1} de P e 30 mL da solução de NaHCO_3 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, pH 8,5. Após agitação por 60 min, as amostras foram centrifugadas (5.000 rpm, 10 min) e filtradas (papel de filtragem lenta). Nas três etapas,

determinou-se o P por espectrofotometria a 882 nm, de acordo com Murphy & Riley (1962).

Método irradiação com microondas - extração

O método irradiação - extração (IE) difere do método FE apenas no que diz respeito à etapa de irradiação das amostras de solo. A irradiação consiste em expor as amostras de solo a uma determinada quantidade de energia (em $J g^{-1}$ de solo), utilizando-se o forno de microondas para uso doméstico, modelo UM 31 A, tensão de alimentação 120 V (60 Hz), frequência de alimentação de 2.450 MHz e concentração de energia de 1,35 KW. Determinou-se a quantidade de energia emitida na cavidade interna do forno de microondas conforme Islam & Weil (1998): 1000 mL de água deionizada foram adicionados em erlenmeyer de 2,0 L, medindo-se a temperatura da água (T_i). O recipiente foi acomodado no centro da bandeja giratória do forno de microondas, aplicando-se potência máxima, por dois min, após os quais o recipiente foi retirado do forno, e a temperatura da água medida (T_f), calculando-se a diferença entre elas ($\Delta T = T_f - T_i$). Para uma faixa de 0 a 100 °C, a capacidade calorífica da água ($cal g^{-1} °C^{-1}$) é aceita como 1,0 (O'Connor, 1977). A energia absorvida, pela água, por segundo, aqui denominada de potência útil do forno de microondas, foi estimada pela fórmula:

$$P = (Cp * K * \Delta T * m) t^{-1}$$

em que P é a potência útil ($J s^{-1}$); Cp é a capacidade calorífica da água ($cal g^{-1} °C^{-1}$); K é um fator, tabelado em 4,184, usado para converter a unidade de energia (caloria térmica) dada em caloria por joules ($cal g^{-1} °C^{-1}$); ΔT é a diferença entre a temperatura final e inicial da água (°C); m é a massa de água ou seu volume (g ou mL); e t é o tempo de duração da aplicação de energia para aquecimento da água (s). A potência útil obtida foi de $732,2 J s^{-1}$ ($Cp = 1,0$; $K = 4,184$; $\Delta T = 21 °C$; $m = 1.000 mL$; $t = 120 s$).

O tempo necessário para irradiação de cada amostra de solo foi obtido empregando-se a fórmula:

$$t (s) = (r * m * n) P^{-1}$$

em que r é a energia aplicada; m é a massa da amostra de solo; n é o número de amostras irradiadas; e P é a potência útil do forno de microondas ($732,2 \text{ J s}^{-1}$). Nesse trabalho adotou-se $r = 800 \text{ J g}^{-1}$ de solo, aplicados como indicado por Islam & Weil (1998). Porções equivalentes a 1,5 g de solo seco foram colocadas em frascos de 100 mL, sendo três submetidas à irradiação e três não. A umidade das amostras foi controlada, pesando-as antes e depois da irradiação, e corrigida quando necessário. Aguardou-se o esfriamento das amostras à temperatura ambiente. A solução extratora foi, então, adicionada, efetuando-se todas as etapas do processo de extração do PBM de modo semelhante ao método FE.

Método extração com membrana de troca aniônica

O método EMTA consiste na agitação de 1,5 g de solo seco, em água deionizada, adicionando-se ou não clorofórmio (amostras fumigadas e não fumigadas, em triplicata), e adição de uma lâmina de membrana de troca aniônica - MTA (tipo 204 UZRA 435, produzida por Ionics Incorporated, Watertown, MA, USA). As lâminas de MTA, possuindo 10 cm^2 ($2,0 \times 5,0 \text{ cm}$), foram saturadas com cloreto, utilizando NaCl 1 mol L^{-1} . Tanto o pré-condicionamento como a extração do P da membrana foram realizados conforme Cooperband & Logan (1994). Após 16 h de agitação a 150 rpm, as lâminas foram retiradas com o auxílio de uma pinça, lavadas com jatos de água deionizada para remoção da argila aderida, imersas em 30 mL de solução de HCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, e agitadas, por 60 min, a 150 rpm. O mesmo procedimento foi realizado na avaliação da fração adsorvida. Nesse método, não houve necessidade de realizar a clarificação do extrato. O P no extrato foi determinado pelo método de Murphy & Riley (1962).

Cálculos para a determinação do PBM

A concentração de P da biomassa microbiana (mg kg^{-1} de P no solo) nos extratos das amostras fumigadas/irradiadas (P_{FUMIG} ou P_{IRRAD}) e não fumigadas/não irradiadas (P_{NFUMIG} ou P_{NIRRAD}) foi calculada da seguinte forma:

$$P \text{ líquido} = (P_{FUMIG} \text{ ou } P_{IRRAD}) - (P_{NFUMIG} \text{ ou } P_{NIRRAD})$$

$$\text{PBM} (\text{mg kg}^{-1} \text{ de P no solo}) = (P \text{ líquido} / 0,40) \times (100 / \% P \text{ rec})$$

em que, 0,40 é a fração de PBM convertido a P_i pela fumigação ou irradiação (Brookes et al., 1982).

Porcentagem de P recuperado (P rec)

$$\% P \text{ rec} = (P \text{ adicionado} - P_{NFUMIG} \text{ ou } P_{NIRRAD}) / 16,67 \times 100$$

em que, P adicionado corresponde a 1,0 mL de solução contendo 25 mg L^{-1} de P, equivalendo a $16,67 \text{ mg kg}^{-1}$ de P no solo.

Análises estatísticas

Os dados foram submetidos à análise de variância, utilizando o programa estatístico SAEG (Sistema para Análises Estatísticas versão 8.0/1999). O experimento constituiu-se de um fatorial 3×3 , correspondendo, respectivamente, às três coberturas de solo (pínus, eucalipto e floresta nativa) e aos três métodos de determinação de P da biomassa microbiana (FE, IE e EMTA). O delineamento usado foi o inteiramente casualizado, com três repetições. Para comparação entre os teores de PBM, foram testados os seguintes contrastes: Floresta nativa vs (Pínus + Eucalipto) e Pínus vs Eucalipto; FE vs (IE+EMTA) e IE vs EMTA, em cada cobertura de solo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Fósforo da biomassa microbiana

Em termos gerais, entre os três métodos avaliados, menores teores de PBM foram obtidos com o método irradiação-extração (IE) e similares entre os outros dois métodos, exceto nas amostras das áreas com eucalipto (Quadro 2). Os teores de PBM obtidos com o método IE corresponderam a 30 % daqueles obtidos pelo método fumigação-extração (FE), nas áreas com eucalipto e floresta nativa, especialmente na camada superficial, e, apenas 17 %, na área com pínus.

Quadro 2. Fósforo da biomassa microbiana (PBM) avaliado pelos métodos fumigação-extração, irradiação-extração e irradiação-extração com membrana de troca aniônica (EMTA), em solo com *Pinus taeda*, *Eucalyptus grandis* e floresta nativa, em duas profundidades

Cobertura vegetal	Profundidade	Método						Média da cobertura
		PBM	C.V.	PBM	C.V.	PBM	C.V.	
	cm	mg kg ⁻¹	%	mg kg ⁻¹	%	mg kg ⁻¹	%	mg kg ⁻¹
<i>Pinus taeda</i>	0 - 5	2,68 ± 0,28	10,5	2,24 ± 0,04	1,7	2,97 ± 0,15	5,2	2,63
	5 - 10	2,66 ± 0,34	12,7	3,47 ± 0,35	10,2	2,56 ± 0,25	10,0	2,90
<i>Eucalyptus grandis</i>	0 - 5	5,61 ± 0,11	2,0	1,74 ± 0,20	11,6	3,16 ± 0,04	1,3	3,65
	5 - 10	4,04 ± 0,28	7,0	1,90 ± 0,04	2,0	2,05 ± 0,26	11,9	2,66
Floresta nativa	0 - 5	8,00 ± 0,43	5,4	2,61 ± 0,27	10,4	8,93 ± 0,75	8,4	6,51
	5 - 10	4,58 ± 0,15	3,3	3,03 ± 0,09	3,1	7,84 ± 0,37	4,7	5,15
Média do método	0 - 5	5,43 ± 2,32	5,6	2,19 ± 0,41	9,0	5,02 ± 2,96	8,8	
	5 - 10	3,76 ± 0,89	7,2	2,76 ± 0,65	7,5	4,20 ± 2,75	7,1	

±: Desvio-padrão da média; C.V.: Coeficiente de variação.

Apesar de pouco difundido, a irradiação de amostras de solo com microondas tem fornecido resultados satisfatórios tanto na determinação do C e N microbianos como na quantificação do P extraível (Speir et al., 1986; Hendricks & Pascoe, 1988). No trabalho desenvolvido por Hendricks & Pascoe (1988), no qual foram aplicados seis níveis de energia, correspondendo, respectivamente, a 0, $4,2 \cdot 10^4$, $2,1 \cdot 10^5$, $4,2 \cdot 10^5$, $6,3 \cdot 10^5$, e $8,5 \cdot 10^5$ J, o teor de P inorgânico foi determinado em amostras de solo sem e com aplicação de irradiação e clorofórmio; contudo, os resultados foram bastante contraditórios, pois somente no solo com maior fertilidade foi possível detectar alterações no teor de P inorgânico em resposta à aplicação de energia. No solo menos fértil, verificou-se maior teor de P extraível no menor nível de irradiação, o qual correspondeu a 140 J g^{-1} de solo, decrescendo com o aumento da mesma. Por outro lado, no mais fértil, teores mais elevados foram observados quando foram aplicados 960 J g^{-1} de solo. Segundo esses autores, há uma série de fatores que interferem na determinação da BMS e chamam atenção para a diversidade em número e tipos de organismos que compõem esse compartimento, os quais apresentam sensibilidade diferenciada aos tratamentos aplicados. Questão semelhante foi abordada por Speir et al. (1986) ao testarem a eficiência da irradiação com microondas em populações de eucariotas e procariotas. As populações foram igualmente sensíveis ao novo biocida. Todavia, as bactérias mostraram-se menos sensíveis à irradiação, sendo necessário maior tempo de exposição à irradiação para se obter maior eficiência do método. A taxa respiratória de fungos decresceu significativamente após exposição a 6.000 J g^{-1} de solo, e, de bactérias, a 12.000 J g^{-1} . Aumentos significativos foram observados no teor de P, extraído com NaHCO_3 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, após exposição à irradiação de 1.200 J g^{-1} de solo, tanto para P inorgânico como para P total, porém, em proporções inferiores ao esperado devido, segundo os autores, à inativação da fosfatase pelo aquecimento, provocado pela irradiação.

Neste trabalho, as amostras foram expostas a 800 J g^{-1} de solo (correspondendo a $2,1 \cdot 10^5 \text{ J}$), quantidade de irradiação testada por Islam & Weil (1998) e considerada adequada para se obter rápida redução da atividade microbiana e máxima liberação de C microbiano. Considerando-se os valores de irradiação mencionados nos trabalhos já citados, provavelmente, os 800 J g^{-1} de solo aqui empregados não foram suficientes para provocar o rompimento completo da parede celular da população microbiana, impedindo que o extrator retirasse o Pi intracelular, o que explicaria os baixos teores de P microbiano detectados. Dois outros aspectos podem ser considerados: a irradiação poderia estar liberando P de fontes distintas daquelas liberadas com a fumigação, e, dependendo da concentração de Pi, e mesmo de Po, na solução extratora, o Pi estimado poderia ser tanto sub como superestimado. Tais afirmativas baseiam-se nos resultados obtidos por Puri & Barraclough (1993) e Dick & Tabatabai (1977). Os primeiros autores determinaram o nitrogênio da biomassa microbiana (NBM), pelos métodos da FE e IE, expondo amostras de solos tratadas com ^{15}N à irradiação correspondente a 731 e 3.188 J g^{-1} de solo. Os autores verificaram que os teores de NBM obtidos pelos métodos empregados não se originavam das mesmas fontes orgânicas de N, e que a irradiação mais intensa estaria liberando formas mais lábeis de compostos orgânicos ligados à matéria orgânica do solo e não exclusivamente da população microbiana. Dick & Tabatabai (1977) propuseram um novo método colorimétrico para determinação de P e verificaram, ao compararem os teores de P obtidos com o método proposto àqueles encontrados empregando o método preconizado por Murphy & Riley (1962), que a recuperação de P, na forma de ortofosfato, foi extremamente influenciada pela concentração de compostos orgânicos e inorgânicos de P presentes em solução. Conforme esses autores, essa diferença pode ser atribuída à hidrólise das formas mais lábeis de P, em ambos os compostos, que, por sua vez, é influenciada pela concentração de ortofosfatos, acidez e temperatura do meio. Segundo Tabatabai (1994), a hidrólise de polifosfatos

pode ocorrer em decorrência de uma série de reações bioquímicas, catalisadas por enzimas, ou quimicamente, por soluções ácidas ou básicas, especialmente na presença de certos cátions (Ca^{2+} e Mg^{2+}).

Os teores de PBM encontrados com o método EMTA foram ligeiramente superiores aos observados com o método FE, na camada superficial, nas áreas com pinus (9,8 %) e floresta nativa (10,4 %), enquanto, com eucalipto, foram, em média, 46 % inferiores, nas duas camadas (Quadro 2). Com relação ao método IE, o PBM determinado com a MTA foi inferior apenas na camada de 5-10 cm, com pinus. Essas variações assemelham-se às encontradas por Myers et al. (1999) que, ao analisarem amostras de 18 solos com diferentes características físicas e químicas, detectaram grande variação entre os teores de PBM determinados pelos métodos FE e EMTA. Kouno et al. (1995) recomendaram o uso da membrana de troca aniônica (MTA) na avaliação do PBM, principalmente em solos que apresentam elevada capacidade de adsorver P, e justificaram essa recomendação baseando-se no fato de que a MTA mantém, durante o período de extração, o P em solução em baixas concentrações, favorecendo, assim, a liberação do P das células microbianas para a solução e, com isso, inibindo a adsorção do elemento pelo solo. Essa proposição foi considerada por Lukito et al. (1998) ao estimarem o PBM em dois solos com capacidade de adsorção de P discrepantes. Eles empregaram o método FE em um Regossolo, cuja capacidade máxima de adsorção de P (CMAP) era de $1,49 \text{ mg g}^{-1}$ de solo, e o método EMTA em um Andossolo, com CMAP de $10,26 \text{ mg g}^{-1}$. Segundo esses autores, o método EMTA foi empregado no Andossolo com a intenção de minimizar tanto a fixação de P como a interferência de substâncias húmicas solubilizadas pelo NaHCO_3 , que produzem coloração escura ao extrato e dificultam a quantificação do elemento pelo processo colorimétrico. Neste trabalho, a CMAP, estimada utilizando-se a isoterma de Langmuir, foi $1,044 \text{ mg g}^{-1}$ de solo, com energia de adsorção de $0,42 \text{ L mg}^{-1}$ de solo, características que parecem ter sido minimizadas empregando-se a MTA.

Os valores dos coeficientes de variação (CV) dos teores de PBM, determinados pelos três métodos avaliados, foram bastante distintos entre coberturas do solo (1,3 a 12,7 %). Entre métodos, apenas o CV obtido com o método FE foi inferior aos demais, na camada superficial, retratando maior precisão do método (Quadro 2). Na camada subsuperficial, esses valores foram semelhantes. O resultado encontrado contradiz aquele apresentado por Ferreira et al. (1999), ao compararem os métodos FE e IE. Esses autores encontraram menores valores de CV nas amostras irradiadas, sugerindo que o método da irradiação-extração fosse indicado como o mais adequado para estimar o C e o N da biomassa microbiana do solo. Com relação às coberturas do solo, a grande variação observada nos valores de CV obtidos, inviabiliza a escolha de um único método que apresente maior precisão na avaliação do PBM. Por exemplo, na profundidade de 0-5 cm, as seqüências observadas, levando-se em consideração o CV, foram: com pínus, IE < EMAT < FE; com eucalipto, EMTA < FE < IE; e, com floresta nativa, FE < EMTA < IE.

Observou-se que, nos trabalhos encontrados na literatura que avaliaram métodos para determinação do PBM, nenhuma inferência foi feita com relação à influência ao tipo de vegetação presente nas áreas amostradas (Hendricks & Pascoe, 1988; Kouno et al., 1995; Ferreira et al., 1999). A grande variação encontrada nos valores estimados, provavelmente, reflita a composição da BMS e a qualidade da matéria orgânica nas áreas estudadas. Essa premissa encontraria suporte nos teores de PBM encontrados nas três coberturas do solo. Independente do método utilizado, o PBM variou significativamente entre as coberturas florestais (1,74 a 8,93 mg kg⁻¹ de P no solo), decrescendo em profundidade (Quadro 2). Sob floresta nativa, foram encontrados os maiores teores, 8,93 mg kg⁻¹ de P no solo, enquanto nas áreas com pínus e eucalipto, a concentração de PBM foi de 2,97 e 5,61 mg kg⁻¹ de P no solo, respectivamente, nos 5 cm superficiais. Apesar do reduzido número de trabalhos que quantificam o PBM em ecossistemas florestais e, mais especificamente, em condições tropicais, os valores

encontrados são bastante inferiores aos de Sparling et al. (1994) que foram de 52,3 e 32,4 mg kg⁻¹ de P no solo, respectivamente, na biomassa microbiana em áreas de floresta nativa e plantações de *Pinus radiata*, na Nova Zelândia. Na área com eucalipto, os valores de PBM apresentaram tendência semelhante aos resultados apresentados por Polglase et al. (1992) ao quantificarem o PBM em plantações de *Eucalyptus regnans*, na Austrália, com várias idades. Esses autores verificaram que o PBM aumentou com a idade do povoamento. O PBM variou de 1,8 mg kg⁻¹ de P no solo, na época do plantio, a 98,7 mg kg⁻¹ de P no solo, aos 80 anos. Nos povoamentos com cinco anos, o PBM era de 28,7 mg kg⁻¹ de P no solo, cerca de cinco vezes superior ao encontrado neste trabalho, cujos povoamentos estavam com 20 anos de idade.

Considerações sobre os métodos testados

Ao avaliar os três métodos de determinação do PBM do solo, procurou-se observar as diferenças operacionais de cada um, tais como, o tempo gasto em cada etapa, particularidades na aplicação do biocida, na extração e, ou, na determinação do P. Dentre os aspectos observados, a aplicação do biocida destaca-se. A etapa de fumigação é demorada, não apenas pelo período necessário à fumigação (24 h), mas pela limitação operacional, pois um dessecador comporta um número restrito de béqueres. A agitação com MTA, por 16 h, também torna o processo demorado. Uma vantagem do método IE: o tempo consumido na etapa de irradiação das amostras é bastante reduzido, se comparado à fumigação (cerca de 20 s para irradiar nove amostras de solo de 1,8 g). Observou-se certa dificuldade ao transferir a amostra de solo úmido, após fumigação, para o recipiente usado na etapa de extração, tornando-se necessária a lavagem do primeiro recipiente com um pouco de NaHCO₃. A solubilização de substâncias húmicas, provocada pela solução de NaHCO₃, escurece os extratos oriundos da FE e IE, dificultando a determinação colorimétrica

do P, fato que não ocorre no método EMTA. A acidificação do extrato com HCl 10 mol L⁻¹ torna-se essencial, pois precipita ácidos húmicos, clarificando-o. Com relação ao método da EMTA, em ensaio preliminar, observou-se que os teores de P extraídos eram muito baixos quando se adicionava clorofórmio posterior à adição de água destilada ou deionizada. Quando o clorofórmio foi adicionado diretamente sobre o solo, com posterior adição da água e da membrana, os resultados foram satisfatórios. Outro ponto negativo do método EMTA foi a etapa de lavagem das lâminas com água destilada, após agitação e precedente à extração do P, para remoção de argila que tenha ficado aderida à membrana. Essa etapa consome, para uma bateria de 40 lâminas, em média, 90 min, principalmente se o solo é argiloso.

Considerando-se as vantagens e desvantagens operacionais de cada método, as características químicas do solo com cada cobertura vegetal e os resultados obtidos neste estudo, verifica-se que o método FE foi o que apresentou maior precisão na determinação do PBM. Entretanto, considerando-se apenas os aspectos operacionais, o método IE mostrou-se mais apropriado quando se tem maior número de amostras a serem analisadas, pela redução no tempo gasto na execução do método, como um todo, e, especialmente, na etapa de aplicação do biocida. Todavia, ressalta-se que, apesar de os três métodos serem comprovadamente eficientes na determinação do C e N microbianos, fazem-se necessárias análises mais minuciosas que proporcionem melhor ajuste nas determinações do PBM, especialmente com relação ao método IE. Além disso, a aplicabilidade dos métodos deve ser avaliada com maior cautela em solos altamente intemperizados, com elevada capacidade de retenção de P, procurando-se minimizar os efeitos dessa característica sobre a referida fração.

CONCLUSÕES

1. Maiores teores de PBM foram obtidos com o método fumigação-extração, o qual mostrou-se mais adequado para as condições estudadas.

2. O método irradiação-extração mostrou-se, em termos operacionais, o mais adequado à determinação do PBM quando se tem maior número de amostras a serem analisadas.

3. Com relação às coberturas do solo, dada a grande variabilidade nos coeficientes de variação obtidos para cada cobertura, nos três métodos testados, não foi possível definir qual dos métodos apresenta maior precisão na avaliação do PBM.

LITERATURA CITADA

ASLAM, T.; CHOUDHARY, M.A. & SAGGAR, S. Tillage impacts on soil microbial biomass C, N and P, earthworms and agronomy after two years of cropping following permanent pasture in New Zealand. *Soil Till. Res.*, 51:103-111, 1999.

BARROS, N.F.; NOVAIS, R.F. & NEVES, J.C.L. Fertilização e correção do solo para o plantio de eucalipto. In: BARROS, N.F. & NOVAIS, R.F., eds. *Relação solo-eucalipto*. Viçosa, Folha de Viçosa, 1990. p.127-186.

BARROTI, G. & NAHAS, E. População microbiana total e solubilizadora de fosfato em solo submetido a diferentes sistemas de cultivo. *Pesq. Agropec. Bras.*, 35:2043-2050, 2000.

BAUHUS, J. & KHANNA, K.P. The significance of microbial biomass in forest soils. In: RASTIN, N. & BAUHUS, J., eds. *Going underground – Ecological studies in forests soils*. Trivan, India: Research Signpost, 1999. p.77-110.

BOWMAN, R.A. & COLE, C.V. Transformations of organic phosphorus substrates in soils evaluated by NaHCO₃ extraction. *Soil Sci.*, 125:49-54, 1978.

- BROOKES, P.C.; POWLSON, D.S. & JENKINSON, D.S. Measurement of microbial biomass phosphorus in soil. *Soil Biol. Biochem.*, 14:319-329, 1982.
- CONDRON, L.M.; GOH, K.M. & NEWMAN, R.H. Nature and distribution of soil phosphorus as revealed by sequential extraction method followed by ^{31}P nuclear magnetic resonance analysis. *J. Soil Sci.*, 36:199-207, 1985.
- COOPERBAND, L.M. & LOGAN, T.J. Measuring in situ changes in labile soil phosphorus with anion-exchange membranes. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 58:105-114, 1994.
- CHOWDHURY, M.A.H.; KOUNO, K. & ANDO, T. Correlation among microbial biomass S, soil properties, and other biomass nutrients. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 45:175-186, 1999.
- CROSS, A.F. & SCHLESINGER, W.H. A literature review and evaluation of the Hedley fractionation: Applications to the biogeochemical cycle of soil phosphorus in natural ecosystems. *Geoderma*, 64:197-214, 1995.
- DICK, W.A. & TABATABAI, M.A. Determination of orthophosphate in aqueous solutions containing labile organic and inorganic phosphorus compounds. *J. Environ. Qual.*, 6:82-85, 1977
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Manual de métodos de análise de solo. Rio de Janeiro, 1997. 212p. (EMBRAPA-CNPS. Documentos, 1)
- 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.
- FERRIS, R.S. Effects of microwave oven treatment on microorganisms in soil. *Phytopathology*, 74:121-126, 1984.
- GAMA-RODRIGUES, E.F.; GAMA-RODRIGUES, A.C. & BARROS, N.F. Biomassa microbiana de carbono e de nitrogênio de solos sob diferentes coberturas florestais. *R. Bras. Ci. Solo*, 21:361-365, 1997.
- GIJSMAN, A.J.; OBERSON, A.; FRIESEN, D.K.; SANZ, J.I. & THOMAS, R.J. Nutrient cycling through microbial biomass under rice-pasture rotations replacing native savanna. *Soil Biol. Biochem.*, 29:1433-1441, 1997.

- GIL-SOTRES, F.; ZECH, W. & ALT, H.G. Characterization of phosphorus fractions in surface horizons of soils from Galicia (N.W. Spain) by ^{31}P NMR spectroscopy. *Soil Biol. Biochem.*, 22:75-79, 1990.
- GOYAL, S.; CHANDER, K.; MUNDRA, M.C. & KAPOOR, K.K. Influence of inorganic fertilizers and organic amendments on soil organic matter and soil microbial properties under tropical conditions. *Biol. Fertil. Soils*, 29:196-200, 1999.
- GUERRA, J.G.M.; FONSECA, M.C.C.; ALMEIDA, D.L.; DE-POLLI, H. & FERNANDES, M.S. Conteúdo de fósforo da biomassa microbiana de um solo cultivado com *Brachiaria decumbens* Staff. *Pesq. Agropec. Bras.*, 30:543-551, 1995.
- HE, Z.L.; WU, J.; O'DONNELL, A.G. & SYERS, J.K. Seasonal responses in microbial biomass carbon, phosphorus and sulphur in soils under pasture. *Biol. Fertil. Soils*, 24:421-428, 1997.
- HEDLEY, M.J. & STEWART, J.W.B. Method to measure microbial phosphate in soils. *Soil Biol. Biochem.*, 14:377-385, 1982.
- HENDRICKS, C.W. & PASCOE, N. Soil microbial biomass estimates using 2450 MHz microwave irradiation. *Plant Soil*, 110:39-47, 1988.
- ISLAM, K.R. & WEIL, R.R. Microwave irradiation of soil for routine measurement of microbial biomass carbon. *Biol. Fertil. Soils*, 27:408-416, 1998.
- KELLY, J.; LAMBERT, M.J. & TURNER, J. Available phosphorus forms in forest soils and their possible ecological significance. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 14:1217-1234, 1983.
- KOUNO, K.; TUCHIYA, Y. & ANDO, T. Measurement of soil microbial biomass phosphorus by an anion exchange membrane method. *Soil Biol. Biochem.*, 27:1353-1357, 1995.
- LUKITO, H.P.; KOUNO, K. & ANDO, T. Phosphorus requirements of microbial biomass in a regosol and an andosol. *Soil Biol. Biochem.*, 30:865-872, 1998.
- MARCHIORI Jr., M. & MELO, W.J. Carbono, carbono da biomassa microbiana e atividade enzimática em um solo sob mata natural, pastagem e cultura do algodoeiro. *R. Bras. Ci. Solo*, 23:257-263, 1999.
- McLAUGHLIN, M.J.; ALSTON, A.M. & MARTIN, J.K. Measurement of phosphorus in the soil microbial biomass: a modified procedure for field soils. *Soil Biol. Biochem.*, 18: 437-443, 1986.

- MOREL, C.; TIESSSEN, H. & STEWART, J.W.B. Correction for P-sorption in the measurement of soil microbial biomass P by CHCl₃ fumigation. *Soil Biol. Biochem.*, 28:1699-1706, 1996.
- MURPHY, J. & RILEY, J.P. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chim. Acta*, 27:31-36, 1962
- MYERS, R.G.; THIEN, S.J. & PIERZYNSKI, G.M. Using an ion sink to extract microbial phosphorus from soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 63:1229-1237, 1999.
- OBERSON, A.; FRIESEN, D.K.; MOREL, C. & TIESSSEN, H. Determination of phosphorus released by chloroform fumigation from microbial biomass in high P sorbing tropical soils. *Soil Biol. Biochem.*, 29:1579-1583, 1997.
- O'CONNOR, R. Introdução à química. São Paulo, Harper & Row do Brasil, 1077. 409p.
- OLIVEIRA, J.R.A.; MENDES, I.C. & VIVALDI, L. Carbono da biomassa microbiana em solos de cerrado sob vegetação nativa e sob cultivo: avaliação dos métodos fumigação-incubação e fumigação-extração. *R. Bras. Ci. Solo*, 25:863-871, 2001.
- PAUL, E.A. & CLARK, F.E. Soil microbiology and biochemistry. Califórnia, Academic Press, 1989. 275p.
- POLGLASE, P.J.; ATTIWILL, P.M. & ADAMS, M.A. Nitrogen and phosphorus cycling in relation to stand age of *Eucalyptus regnans* F. Muell. III. Labile inorganic and organic P, phosphatase activity and P availability. *Plant Soil*, 142:177-185, 1992.
- PURI, G. & BARRACLOUGH, D. Comparison of 2450 MHz microwave radiation and chloroform fumigation-extraction to estimate soil microbial biomass nitrogen using ¹⁵N-labelling. *Soil Biol. Biochem.*, 25:521-522, 1993.
- SCHNEIDER, K.; TURRION, M-B.; GRIERSON, P.F. & GALLARDO, J.F. Phosphatase activity, microbial phosphorus, and fine root growth in forest soils in the Sierra de Gata, western central Spain. *Biol. Fertil. Soils*, 34:151-155, 2001.
- SISTEMA PARA ANÁLISES ESTATÍSTICAS – SAEG (software). Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 1999.
- SMOLANDER, A.; PRIHA, O.; PAAVOLAINEN, L.; STEER, J. & MÄLKÖNEM, E. Nitrogen and carbon transformations before and

- after clear-cutting in repeatedly N-fertilized and limed forest soil. *Soil Biol. Biochem.*, 30:477-490, 1998.
- SPARLING, G.P.; HART, P.B.S.; AUGUST, J.A. & LESLIE, D.M. A comparison of soil and microbial carbon, nitrogen, and phosphorus contents, and macro-aggregate stability of a soil under native forest and after clearance for pastures and plantation forest. *Biol. Fertil. Soils*, 17:91-100, 1994.
- SPEIR, T.W.; COWLING, J.C.; SPARLING, G.P.; WEST, A.W. & CORDEROY, D.M. Effects of microwave radiation on the microbial biomass, phosphatase activity and levels of extractable N and P in a low fertility soil under pasture. *Soil Biol. Biochem.*, 18:377-382, 1986.
- STOCKDALE, E.A. & REES, R.M. Relationships between biomass nitrogen and nitrogen extracted by other nitrogen availability methods. *Soil Biol. Biochem.*, 26:1213-1220, 1994.
- TEDESCO, M.J.; BOHNEM, H.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A. & VOLKWEISS, S.J. Análise de solo, plantas e outros materiais. 2 ed. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. 174p. (Boletim Técnico, 5)
- THENG, B.K.G.; TATE, K.R.; SOLLINS, P.; MORIS, N.; NADKARNI, N. & TATE III, R.L. Constituents of organic matter in temperate and tropical soils. In: COLEMAN, D.C.; OADES, J.M. & UEHARA, G., eds. *Dynamics of Soil Organic Matter in Tropical Ecosystems*. Honolulu, Hawaii: NifTal Project. 1989. p.5-31.
- VARGAS, L.K. & SCHOLLES, D. Biomassa microbiana e produção de C-CO₂ e N mineral de um Podzólico Vermelho-Escuro submetido a diferentes sistemas de manejo. *R. Bras. Ci. Solo*, 24:35-42, 2000.
- VELA, G.R. & WU, J.F. Mechanism of lethal action of 2450 MHz radiation on microorganisms. *Appl. Environ. Microbiol.*, 37:550-553, 1979.
- VESTERDAL, L. Potential microbial nitrogen and phosphorus availability in forest floors. *Soil Biol. Biochem.*, 30:2031-2041, 1998.
- WU, J.; HE, Z.L.; WEI, W.X.; O'DONNELL, A.G. & SYERS, J.K. Quantifying microbial biomass phosphorus in acid soils. *Biol. Fertil. Soils*, 32:500-507, 2000.

CAPÍTULO 2

BIOMASSA MICROBIANA EM PLANTAÇÕES DE EUCALIPTO INFLUENCIADA POR FONTES DE FÓSFORO

RESUMO

No Brasil são escassos os trabalhos relacionados à avaliação da biomassa microbiana do solo em plantações de eucalipto e sua contribuição na disponibilização de nutrientes no solo. Com o objetivo de estimar C, N e P da biomassa microbiana do solo em plantações de *Eucalyptus grandis*, amostras de dois Latossolos foram coletadas em áreas que receberam, na primeira rotação, os tratamentos: (a) testemunha - sem adição de P; (b) 500 kg ha⁻¹ de fosfato natural de Carolina do Norte (FCN); (c) aplicação de 600 kg ha⁻¹ de fosfato de Araxá (FA); e (d) aplicação de 334 kg ha⁻¹ de superfosfato triplo (ST), os quais equivalem a 150 kg ha⁻¹ de P₂O₅. Menores valores de CBM foram encontrados no LVd1, textura média, porém, observou-se aumento da biomassa microbiana com a adubação fosfatada. Com relação às fontes de P aplicadas, não foi observada diferença significativa no CBM nas parcelas que receberam ST e FCN. No LVd2, argiloso, na parcela testemunha, o CBM foi superior e, entre fontes, não foram observadas diferenças significativas entre as de menor reatividade. O NBM seguiu as mesmas tendências, de acréscimos ou decréscimos, do CBM, nos dois solos, nas profundidades avaliadas. No LVd1, o PBM foi superior na parcela com FCN, entretanto, nas parcelas com ST e FA, não foi observada diferença significativa entre os valores encontrados, nas duas profundidades. No LVd2, apesar do PBM ser superior na parcela com FCN, esses valores não diferiram significativamente daqueles encontrados com FA. Nessa área, o PBM não diferiu significativamente entre tratamento, na camada

subsuperficial. As relações entre o CBM e o PBM mostraram que o teor de P imobilizado na BMS foi, de modo geral, superior no LVd1, especialmente na camada subsuperficial. Todavia, maior percentagem do P total do solo encontrava-se incorporado à biomassa microbiana, no LVd2. Nas condições avaliadas, os resultados obtidos não permitem concluir sobre a influência da adubação fosfatada na BMS. Contudo, os maiores teores de C, N e P da biomassa microbiana foram observados no solo argiloso (LVd2) evidenciando a proteção física exercida pela argila sobre a BMS.

INTRODUÇÃO

A rápida taxa de crescimento de espécies de eucalipto e de pinus no Brasil impõe elevada demanda de recursos do solo, em especial, água e nutrientes, fato que leva a questionamentos quanto à sustentabilidade da exploração florestal quando intensivamente manejada. Tais questionamentos estimulam a adoção de indicadores que permitam monitorar mudanças no ecossistema. As propriedades físicas, químicas e biológicas do solo, indicadores de sua qualidade, têm recebido especial atenção (Santana & Bahia Filho, 1999). De acordo com Doran & Parkin (1996), a qualidade do solo refere-se à capacidade que tem para exercer suas funções, dentre elas sustentar a produtividade biológica e manter a qualidade ambiental, quando submetido a diferentes tipos de uso ou técnicas de manejo. A avaliação de indicadores de qualidade do solo, em florestas plantadas, ao longo do tempo, permite acompanhar os impactos causados ao ecossistema, e, com isso, redefinir as técnicas de manejo mais apropriadas (Poggiani et al., 1998).

A matéria orgânica do solo (MOS) tem se destacado como indicador da qualidade do solo por englobar um grupo de componentes que influenciam intensamente as propriedades mencionadas (Theng et al., 1989). Dentre os

vários componentes da MOS, a biomassa microbiana (BMS) é considerada indicador altamente sensível às mudanças provocadas pelo uso do solo. Por ser um componente ativo da MOS, a BMS pode ser influenciada pela textura (Hassink, 1994; Bosatta & Ågren, 1997), conteúdo de água e temperatura (Wardle & Parkinson, 1990; Grisi et al., 1998; Verburg et al., 1999), sistemas de manejo (Catellan & Vidor, 1990; Balota et al., 1998; Vargas & Scholles, 2000), fertilização orgânica e, ou, mineral (Polglase et al., 1992; Grierson et al., 1997; Gunapala & Scow, 1998; Fliessbach & Mader, 2000; Svensson & Pell, 2001) e aplicação de corretivos (Andrade et al., 1995; Gijsman et al., 1997; Smolander et al., 1998).

Usualmente, a BMS é determinada tomando-se por base a concentração de alguns elementos (carbono, nitrogênio, fósforo e enxofre) e de substâncias celulares (concentração de ATP, carboidratos e fosfolipídeos), a taxa de respiração em resposta à adição de glicose ou por observação direta, por microscopia (Grisi, 1984; De-Polli & Guerra, 1999). A maior parte dos trabalhos avalia as concentrações de C e N microbianos e, em menor número, P e S. As concentrações de C e N e, em particular, a relação entre C e N microbianos e entre C e N orgânicos totais do solo podem ser consideradas como indicadores das mudanças dos solos dos ecossistemas, pois refletem o nível de fertilidade e a qualidade da matéria orgânica do solo (Bauhus & Khanna, 1999).

No Brasil, as plantações de eucalipto ocupam, de modo geral, solos de baixa fertilidade e com limitada reserva de nutrientes, e para o aumento de sua produtividade, a fertilização mineral é prática comum (Barros & Novais, 1990; Gonçalves et al., 1997). O P é um dos nutrientes mais limitantes nas áreas de reflorestamento. Em decorrência da sua dinâmica no solo, que torna sua recuperação pela planta pouco eficiente, as pesquisas com fertilizantes fosfatados têm procurado mais bem definir as fontes, as doses e os métodos mais eficientes de utilização destes insumos (Novais & Smyth, 1999).

Questões envolvendo o processo de adsorção, com ênfase na velocidade da passagem do P-lábil para P não-lábil, suas implicações e sua possível reversibilidade, já foram abordadas (Gonçalves et al., 1989; Moreira et al., 1989; Campello et al., 1994). Tais resultados levaram ao questionamento da eficiência da aplicação de fertilizantes fosfatados solúveis como única fonte de P para as plantas, em especial, aquelas de ciclo longo, impulsionando uma série de trabalhos com objetivo de avaliar fontes fosfatadas em plantações florestais.

Devido à limitada mobilidade do P no solo, as fontes solúveis são usadas, predominantemente, em aplicações mais localizadas, na cova ou no sulco de plantio. Entretanto, a adição de fosfatos naturais mostra-se promissora. Segundo Barros & Novais (1990), numa fase mais jovem, quando a demanda por P é maior, as fontes solúveis supririam esta demanda, enquanto que, os fosfatos naturais, de solubilidade mais lenta, atenderiam as exigências das plantas numa fase mais avançada de crescimento.

Vários trabalhos sobre a aplicação de P em plantações de eucalipto mostram ganho significativo na produção e no conteúdo de P total (Dantas, 1988; Leal et al., 1988). Rezende et al. (1982) avaliaram os efeitos dos fosfatos de Araxá e de Patos de Minas, complementada ou não com mistura NPK + BZn, em plantações de *Eucalyptus grandis*, e encontraram acréscimos na produtividade para ambas as fontes. Leal et al. (1988) também observaram ganhos significativos na produtividade em plantações de *Eucalyptus grandis*, com cinco anos de idade, com a aplicação de fosfatos naturais, associada ou não a uma mistura NPK. Entretanto, a avaliação da fração orgânica de P de solos sob florestas tem sido menos freqüente, especialmente se relacionada à produtividade florestal (Kabeda & Boyle, 1978; Turner & Lambert, 1985). McLaughlin (1996), baseando-se em uma série de trabalhos realizados em florestas da Austrália e de outros países, afirmou ser a forma orgânica de P aquela que predomina nesses solos.

O acúmulo de material vegetal na superfície do solo em plantações de eucalipto é considerável e varia de acordo com a espécie, idade do povoamento, taxa de crescimento, qualidade do sítio, condições climáticas e propriedades do solo (Reis & Barros, 1990). Esse material representa um grande reservatório de nutrientes e de C, e determina a quantidade de matéria orgânica aportada ao solo (O'Connell & Sankaran, 1997). Por outro lado, a liberação de nutrientes da manta orgânica depende de sua taxa de decomposição e conseqüente mineralização, que, por sua vez, depende da atividade microbiana. Segundo McLaughlin (1996), seria mais apropriado estimar o P disponível em solos florestais empregando-se índices biológicos, tais como atividade enzimática ou taxa de mineralização, os quais medem facilmente o P orgânico ou estimam o P microbiano. Em plantações de *Eucalyptus regnans*, Polglase et al. (1992) utilizaram esses índices biológicos. Esses autores verificaram que os teores de P orgânico, de P microbiano e da atividade de fosfatase aumentaram com a idade do povoamento, enquanto o teor de P inorgânico decresceu.

Conforme já mencionado, a aplicação de fertilizantes e corretivos exerce influência tanto sobre o crescimento como sobre a atividade da população microbiana do solo. Entretanto, a resposta à aplicação dependerá da espécie vegetal em estudo, da composição do fertilizante, dentre outros. Barroti & Nahas (2000) avaliaram o efeito de fontes de fósforo (superfosfato simples - SS e fosfato de rocha - FR) e calagem sobre a população microbiana total e solubilizadora de fosfato em Latossolo Vermelho-Escuro textura arenosa. Esses autores verificaram que a calagem favoreceu o crescimento de bactérias e fungos, sendo as primeiras em maior proporção; a fonte de P que proporcionou maior crescimento microbiano, com calagem e em relação ao controle, foi o SS. Esses resultados mostram como as modificações ambientais, de origem antrópica, refletem sobre as populações microbianas.

Apesar da grande importância das plantações de eucalipto no Brasil, são escassos os trabalhos relacionados à avaliação da BMS em plantações de eucalipto e à contribuição dessa biomassa na disponibilização de nutrientes no solo (Gama-Rodrigues et al., 1997; Lazari, 2001). Neste contexto, este trabalho teve como objetivo estimar C, N e P da biomassa microbiana do solo em plantações de *Eucalyptus grandis*, adubadas com diferentes fontes de P.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de solos foram coletadas em plantações de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden, reformadas, com dez meses de idade, localizadas no município de Luís Antônio (SP), que receberam na primeira rotação os seguintes tratamentos: (a) testemunha - sem adição de P (Sem P); (b) aplicação de 500 kg ha⁻¹ de fosfato natural de Carolina do Norte (FCN - 30 % P₂O₅); c) aplicação de 600 kg ha⁻¹ de fosfato de Araxá (FA - 25 % P₂O₅); e d) aplicação de 334 kg ha⁻¹ de superfosfato triplo (ST - 45 % P₂O₅), os quais equivalem a 150 kg ha⁻¹ de P₂O₅. Os tratamentos foram repetidos três vezes e dispostos em blocos casualizados.

O estudo foi conduzido em dois Latossolos, um Vermelho distrófico textura média (LVd1) e outro Vermelho distrófico argiloso (LVd2), ambos em relevo plano e suave ondulado.

Todos os fosfatos foram aplicados, antes do plantio (abril/1993), em faixa de 1,0 m de largura e incorporados a 20 cm de profundidade, sobre a qual as mudas foram plantadas. Em maio/1999, efetuou-se a derrubada da floresta e, em outubro/1999, novas mudas foram plantadas. Em todos os tratamentos foram aplicados fertilizantes contendo N, K, S e micronutrientes, segundo a análise de solo e recomendação baseada no NUTRICALC (Barros et al., 1995).

As amostras de solo foram coletadas em agosto de 2000, em parcelas com 600 m². Em cada parcela foi obtida uma amostra composta de solo a partir de 20 subamostras simples (10 subamostras na linha de plantio, entre árvores, e 10 subamostras na entrelinha de plantio, a 1,5 m de distância da árvore), nas profundidades de 0 a 5 e de 5 a 10 cm. Essas amostras foram divididas em duas porções, uma destinada às caracterizações físicas e químicas, e outra à avaliação da biomassa microbiana do solo, imediatamente acondicionada em caixa de isopor com gelo. No laboratório, as amostras destinadas à avaliação da biomassa microbiana do solo foram passadas em peneiras com malha de 2 mm, retirando-se os resíduos vegetais, homogeneizadas, acondicionadas em potes plásticos e armazenadas em condições de refrigeração (aproximadamente 4 °C), até o momento das análises. A umidade dessas amostras foi ajustada para 60% da capacidade de retenção de água. As amostras destinadas às caracterizações físicas e químicas foram secas ao ar, passadas por peneira com malha de 2 mm e submetidas à análise, determinando-se: granulometria; pH em água (1:2,5); Ca e Al trocáveis extraídos com KCl 1 mol L⁻¹; P, pelo extrator Mehlich-1; N total pelo método Kjeldahl (EMBRAPA, 1997); carbono orgânico, por oxidação da matéria orgânica, conforme Tedesco et al. (1995). O fósforo total foi determinado de acordo com Brookes et al. (1982).

Carbono, nitrogênio e fósforo da biomassa microbiana

O carbono da biomassa microbiana do solo (CBM) foi estimado conforme Tate et al. (1988), modificando-se a relação solo:extrator, e Islam & Weil (1998). Pesou-se o equivalente a 10 g de solo seco em frascos de vidro de 100 mL, para amostras irradiadas e não irradiadas, ambas em triplicata. A irradiação consistiu em expor as amostras de solo a uma determinada quantidade de energia (em J g⁻¹ de solo), utilizando-se o forno de microondas para uso doméstico, modelo UM 31 A, tensão de alimentação 120 V (60 Hz), frequência de alimentação de 2.450 MHz e

concentração de energia de 1,35 KW. Aplicaram-se 800 J g^{-1} de solo, sendo o tempo de irradiação definido conforme Islam & Weil (1998). A umidade das amostras foi controlada pesando-as antes e depois da irradiação, e corrigida quando necessário. Após a irradiação, 30 mL de K_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, pH 6,5 a 6,8, foram adicionados às amostras e a mistura agitada por 60 min, a 150 rpm. Finalizada a agitação, as amostras foram centrifugadas a 4.000 rpm, por 10 min, filtradas em papel de filtragem lenta, acondicionadas em frascos plásticos e refrigeradas (aproximadamente $10 \text{ }^\circ\text{C}$) até o momento da análise. Imediatamente após a filtragem, duas gotas de H_2SO_4 concentrado foram adicionadas ao extrato para inibir a decomposição microbiana do C orgânico. Uma alíquota do extrato (5 mL) foi transferida para erlenmeyer de 125 mL, adicionando-se, em seguida, 1,0 mL de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ $0,066 \text{ mol L}^{-1}$, 5,0 mL de H_2SO_4 concentrado e 1,0 mL de H_3PO_4 concentrado. A mistura foi homogeneizada e, 30 min depois, diluída com 40 mL de água deionizada. O dicromato residual foi quantificado, titulando-se a amostra com $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $0,06 \text{ mol L}^{-1}$ em H_2SO_4 concentrado (Tedesco et al., 1995). O CBM foi calculado pela expressão: $\text{CBM} = C_{\text{IE}}/K_{\text{IE}}$, em que C_{IE} é diferença entre o C orgânico extraído das amostras de solo irradiadas e não irradiadas e $K_{\text{IE}} = 0,213$ (Islam & Weil, 1998), fator de correção que representa a fração do C microbiano extraído do solo.

A determinação do nitrogênio da biomassa microbiana do solo (NBM) seguiu o método proposto por Joergensen & Brookes (1990). Para a determinação do NBM, uma alíquota de 0,75 mL do extrato obtido para estimar o CBM foi transferida para tubo de ensaio de 20 mL adicionando-se, nessa ordem, 1,75 mL de solução tampão-ácido cítrico, pH 5,0, e 1,25 mL de reagente de ninhidrina. Os tubos foram agitados, manualmente, e levados ao banho-maria, a $90 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$, por 25 min. Aguardou-se que as amostras esfriassem à temperatura ambiente e acrescentaram-se 4,50 mL de uma mistura etanol:água (1:1), agitando-se a amostra. Após 5 min, efetuou-se a leitura das amostras em espectrofotômetro a 570 nm. O NBM

foi considerado como a diferença entre as quantidades de N reativo com ninhidrina extraído das amostras de solo irradiadas e não irradiadas. Neste método, o fator de correção K_N não é empregado.

Para a determinação do fósforo da biomassa microbiana (PBM), porções equivalentes a 1,5 g de solo seco foram colocadas em frascos de 100 mL, sendo três submetidas à irradiação e três não. A umidade das amostras foi controlada pesando-as antes e depois da irradiação, e corrigida quando necessário. Aguardou-se o esfriamento das amostras à temperatura ambiente. O PBM foi extraído com 30 mL de NaHCO_3 0,5 mol L^{-1} , pH 8,5. Após agitação por uma hora, a 150 rpm, os extratos foram centrifugados a 5.000 rpm, por 10 min, e filtrados em papel de filtragem lenta. Do extrato filtrado, efetuou-se a transferência de 20 mL para um frasco de 150 mL, com posterior adição de 2,0 mL de HCl 10 mol L^{-1} . A mistura foi agitada lentamente (ocorre liberação de CO_2), manualmente, e, após 30 min, foi novamente filtrada para descarte do resíduo formado (para clarificar a solução com a precipitação de ácidos húmicos solubilizados durante o processo de extração). Paralelamente ao processo de irradiação-extração das amostras de solo, estimou-se a fração de P que é liberada com a fumigação e adsorvida durante a extração. Três porções de 1,5 g de solo seco foram pesadas em frascos de 50 mL e a elas adicionado 1,0 mL de solução contendo 25 mg L^{-1} de P e 30 mL da solução de NaHCO_3 0,5 mol L^{-1} , pH 8,5. Após agitação por 60 min, as amostras foram centrifugadas (5.000 rpm, 10 min) e filtradas (papel de filtragem lenta). Nas três etapas, determinou-se o P por espectrofotometria a 882 nm, de acordo com Murphy & Riley (1962). A concentração de P da biomassa microbiana (mg kg^{-1} de P no solo) nos extratos das amostras irradiadas (P_{IRRAD}) e não irradiadas (P_{NIRRAD}) foi calculada da seguinte forma:

$$P \text{ líquido} = (P_{IRRAD}) - (P_{NIRRAD})$$

$$PBM \text{ (mg kg}^{-1} \text{ de P no solo)} = (P \text{ líquido}/0,40) \times (100/\% \text{ P rec})$$

em que 0,40 é a fração de PBM convertido a P_i pela fumigação ou irradiação (Brookes et al., 1982).

Porcentagem de P recuperado (P rec)

$$\% P \text{ rec} = (P \text{ adicionado} - P_{NIRRAD})/16,67 \times 100$$

em que P adicionado corresponde a 1,0 mL de solução contendo 25 mg L⁻¹ de P, equivalendo a 16,67 mg kg⁻¹ de P no solo.

Análises estatísticas

Os dados foram submetidos à análise de variância, utilizando o programa estatístico SAEG (Sistema para Análises Estatísticas versão 8.0/1999). Os dados foram analisados separadamente, por solo, e em conjunto. Em cada solo, foram comparados os resultados das três fontes de P, com uma dose (150 kg ha⁻¹ de P₂O₅), e um tratamento adicional, sem adição de P. As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste Tukey a 5 %. Foram estimadas as seguintes relações: C microbiano e C orgânico do solo, C e N microbianos, N microbiano e N total do solo, C e P microbianos e P microbiano e P total do solo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Carbono da biomassa microbiana e carbono orgânico do solo

Em ambos os solos, os valores de pH e teores de nutrientes são baixos, porém, no LVd2, argiloso, a concentração de nutrientes é maior que no LVd1, textura média, o que, provavelmente, interferiu no estabelecimento e na atividade das populações microbianas (Quadro 1). Essa premissa baseia-se no fato de que os teores de C, N e P da biomassa microbiana do solo (CBM, NBM e PBM) no LVd2 foram significativamente superiores ($P < 0,01$) aos do LVd1, nas duas profundidades analisadas (Quadro 2). Tem sido observada menor atividade da microbiota em solos com baixa fertilidade natural, especialmente em áreas cultivadas com

eucalipto (Fialho et al., 1991; Gama-Rodrigues et al., 1997). Mesmo quando ocorre fertilização mineral, essa tendência se mantém, como foi constatado por Bruna et al. (1991). Esses autores, ao compararem a atividade microbiana, quantificada pelo desprendimento de C-CO₂, em solo com floresta natural e com eucalipto, tanto na ausência como na presença de fertilizantes (N e P) e corretivo, observaram que a fertilização propiciou aumentos da atividade microbiana, porém, nas áreas com eucalipto, originalmente menos férteis, essa atividade foi, em média, 40 % inferior à observada com floresta natural.

Quadro 1. Teor de argila e características químicas de amostras de solos, coletadas em diferentes profundidades, em plantações de *Eucalyptus grandis*, adubadas com diferentes fontes de fósforo

Tratamento	Profundidade	Argila	pH H ₂ O	CO	N	C:N	P	P total	Ca	Al	SB	CTC efet.
	cm	g kg ⁻¹		g kg ⁻¹	mg kg ⁻¹		— mg kg ⁻¹ —		cmol _c dm ⁻³			
Latossolo Vermelho distrófico textura média – LVd1												
Sem P	0 - 5	140	4,84	22,6	903,03	25,0	5,84	194,6	0,62	0,39	1,03	1,42
	5 - 10	140	4,46	12,2	472,17	25,8	3,04	182,8	0,10	0,65	0,25	0,90
FCN	0 - 5	140	4,68	18,9	690,56	27,4	5,47	186,6	0,54	0,46	0,92	1,38
	5 - 10	140	4,47	12,6	460,37	27,5	3,75	178,8	0,09	0,61	0,21	0,82
ST	0 - 5	150	4,54	22,4	867,62	25,9	6,71	182,5	0,39	0,61	0,72	1,33
	5 - 10	150	4,41	17,1	460,37	37,0	3,70	164,2	0,05	0,68	0,16	0,84
FA	0 - 5	150	4,82	20,4	796,80	25,7	6,82	202,2	0,59	0,42	0,97	1,39
	5 - 10	150	4,57	12,2	424,96	28,7	4,00	170,1	0,10	0,65	0,29	0,94
Latossolo Vermelho distrófico argiloso – LVd2												
Sem P	0 - 5	390	4,47	18,6	1.058,46	17,3	7,44	365,4	4,03	1,09	4,26	5,35
	5 - 10	390	4,39	15,1	739,74	20,4	4,57	298,0	0,70	1,05	0,83	1,88
FCN	0 - 5	400	4,60	21,9	1.117,48	19,7	18,99	393,2	5,71	1,13	5,95	7,08
	5 - 10	400	4,45	13,0	676,78	19,3	3,32	296,2	1,11	0,92	1,23	2,15
ST	0 - 5	480	4,56	23,2	1.306,47	17,7	10,40	280,9	4,78	1,14	5,13	6,27
	5 - 10	440	4,44	16,4	584,32	28,1	4,44	255,8	0,97	1,09	1,14	2,23
FA	0 - 5	400	4,61	23,6	1.074,19	21,9	9,90	356,0	5,50	1,08	5,75	6,83
	5 - 10	410	4,49	13,3	672,91	19,7	3,29	283,2	1,61	0,81	1,74	2,55

FCN: Fosfato de Carolina do Norte; ST: Superfosfato triplo; FA: Fosfato de Araxá.

Quadro 2. Carbono, nitrogênio e fósforo da biomassa microbiana do solo (CBM, NBM, PBM) determinados em duas profundidades, em plantações de *Eucalyptus grandis*, adubadas com diferentes fontes de P

Tratamento	Profundidade	CBM	NBM	PBM
	cm	mg kg ⁻¹ de solo		
Latossolo Vermelho distrófico textura média – LVd1				
Sem P	0 - 5	31,05 b	15,96 a	3,46 b
	5 - 10	85,59	23,68	0,96 C
FCN	0 - 5	46,76 ab	7,83 b	5,02 a
	5 - 10	93,52	22,08	2,78 A
ST	0 - 5	60,50 a	20,14 a	2,91 b
	5 - 10	89,92	30,81	1,62 B
FA	0 - 5	35,97 b	9,64 b	3,32 b
	5 - 10	100,71	27,56	1,22 BC
Latossolo Vermelho distrófico argiloso – LVd2				
Sem P	0 - 5	288,05 a	23,17 a	10,47 ab
	5 - 10	138,69	5,25 C	15,89
FCN	0 - 5	98,95 c	8,18 b	17,28 a
	5 - 10	142,93	13,83 C	19,44
ST	0 - 5	219,89 b	28,42 a	8,52 b
	5 - 10	159,42	66,85 B	19,91
FA	0 - 5	126,44 c	20,93 a	14,57 a
	5 - 10	192,40	35,27 A	18,30

FCN: Fosfato de Carolina do Norte; ST: Superfosfato triplo; FA: Fosfato de Araxá.

Na coluna, médias seguidas de pelo menos uma letra minúscula não diferem entre si pelo teste Tukey ($P < 0,05$), para a profundidade de 0 - 5 cm; na coluna, médias seguidas de pelo menos uma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste Tukey ($P < 0,05$), para a profundidade de 5 - 10 cm.

Os valores de CBM variaram de 31,05 a 288,05 mg kg⁻¹, nos dois solos, nas duas profundidades (Quadro 2). Menores valores de CBM foram encontrados no LVd1, porém, observou-se que a adição de P promoveu aumento no CBM. Grierson et al. (1997) também verificaram aumento significativo do CBM em plantações de *Pinus taeda* e *P. elliottii*, com a adição de fosfato diamônio. Com relação às fontes de P aplicadas, não foi observada diferença significativa ($P < 0,05$) entre os valores de CBM nas parcelas que receberam ST e FCN. Entretanto, comparativamente àquelas que receberam FA, essa diferença foi mais acentuada, cerca de

40 % inferior ao ST. Esses resultados divergem dos encontrados no LVd2. Nessa área, maiores valores de CBM foram obtidos nas parcelas sem aplicação de adubo fosfatado (Sem P), os quais, na camada superficial, diferiram significativamente das demais ($P < 0,05$). Entre as fontes testadas, o CBM foi superior nas parcelas com ST; contudo, entre as fontes menos reativas, seus teores não diferiram estatisticamente. Resultado semelhante foi obtido por Ross et al. (1995) ao verificarem decréscimo no CBM com a aplicação de ST em plantações de *Pinus radiata*, na Austrália. Independente da adição de P, os valores de CBM, em ambas as áreas, não diferiram entre si, na camada subsuperficial (Quadro 2). Os menores valores de CBM encontrados na camada de 0 - 5 cm de profundidade, provavelmente, resultam do menor teor de umidade do solo, além da maior exposição à irradiação solar e conseqüente aquecimento, o que pode ter restringido o estabelecimento de algumas comunidades microbianas.

São bastante contraditórias as informações encontradas na literatura que comentam o efeito da adubação fosfatada sobre a BMS. Bauhus & Khanna (1999) mencionaram que, em plantações de eucalipto, o CBM não é influenciado pela adubação fosfatada, porém, tais resultados são pouco conclusivos, dado o reduzido número de trabalhos que abordam o efeito da aplicação de P, em plantações florestais, sobre a biomassa microbiana. Muitos desses trabalhos abordam, com maior ênfase, a adubação nitrogenada, sendo o P adicionado como adubação básica.

Os teores de carbono orgânico do solo (CO) não diferiram significativamente entre solos, nas camadas de 0 - 5 cm (DMS = 2,93) e de 5 - 10 cm (DMS = 1,96). De modo geral, menores teores de CO foram observados no LVd1, nas duas camadas. Entre as fontes, o teor de CO da parcela com ST foi superior às demais. No LVd2, solo argiloso, o teor de CO na parcela com FCN foi inferior, às demais fontes, nas duas profundidades (Quadro 1). Provavelmente, a diferença textural entre os solos foi a responsável pelos resultados encontrados. De acordo com

Spain (1990), maiores teores de C e de N são encontrados em solos com maior teor de argila, em decorrência da proteção física que a argila exerce sobre a MOS, pela formação de complexos organo-minerais, dificultando a decomposição do material orgânico, ou, ainda, pela proteção aos microrganismos contra predadores ou desidratação (Hassink, 1994).

Gama-Rodrigues (1997) encontrou correlação positiva entre os teores de CBM e de CO com o teor de argila, ao estimar o C e a atividade da biomassa microbiana do solo e da serapilheira de povoamentos de eucalipto. Tendência de aumento na biomassa microbiana, estimada pelo teor de CBM, em solos com maior teor de argila, também foi observada por Haynes (2000), ao avaliar dois solos com usos diversos (agrícolas e pastagens).

Em termos gerais, florestas de eucalipto produzem grande quantidade de resíduos (folhas, galhos e casca). Entretanto, a taxa de decomposição desse material depende de uma série de fatores, entre eles, o conteúdo de nutrientes da serapilheira e do solo e a atividade microbiana (Reis & Barros, 1990). Leite (2001) encontrou valores de CO de 13,7 a 36,4 g kg⁻¹, ao avaliar o efeito do cultivo sucessivo do eucalipto em algumas características relacionadas à fertilidade de solos da região do Vale do Rio Doce (MG). Maiores teores de CO foram observados nos sítios que apresentavam, de modo geral, menor nível de fertilidade. Além dos fatores já mencionados, que podem interferir na decomposição do resíduo florestal, O'Connell & Sankaran (1997) ainda consideraram as elevadas concentrações de polifenóis e lignina e a baixa diversidade e densidade de organismos decompositores nesses ambientes.

Nitrogênio da biomassa microbiana e nitrogênio total do solo

O NBM seguiu a mesma tendência, de acréscimo ou decréscimo, do CBM, nos dois solos e profundidades, com teores variando de 5,25 a 66,85 mg kg⁻¹ (Quadro 2). Os valores encontrados foram inferiores

àqueles observados por Gama-Rodrigues (1997) e Costa (1995), em plantações comerciais de eucalipto, exceto nas parcelas com ST, na camada subsuperficial.

Diferenças significativas foram observadas entre solos ($P < 0,05$), nas camadas de 0 - 5 cm (DMS = 5,66) e de 5 - 10 cm (DMS = 6,25). No LVd1, na camada de 0 - 5 cm, os valores de NBM foram significativamente inferiores nas parcelas que receberam as fontes menos reativas de P, FCN e FA, correspondendo, respectivamente, a 39 e 48 % daqueles encontrados nas parcelas com ST; no LVd2, apenas nas parcelas com FCN os valores de NBM foram menores, diferindo significativamente das demais fontes, nas duas profundidades (Quadro 2). Menores valores de NBM foram detectados por Gama-Rodrigues (1997) em plantações de eucalipto, nos solos mais arenosos. Esses resultados reforçam os comentários feitos para o CBM com relação à influência da argila no acúmulo de C e de N no solo; influência essa que se confirma observando-se os teores de N total (Nt) dos solos, os quais foram superiores no LVd2, especialmente nas parcelas com ST. De acordo com Bosatta & Ågren (1997), solos com maior teor de argila tendem a acumular mais N que os mais arenosos. Esse acúmulo é resultante de mudanças tanto na qualidade do material orgânico do solo, que se torna mais resistente ao ataque microbiano, como nas características das populações decompositoras, cuja taxa de crescimento também é dependente da qualidade desse material.

Gonçalves et al. (2001), avaliando 16 sítios florestais do estado de São Paulo, atribuíram as variações observadas nos teores de Nt e N mineralizável ao teor e à qualidade da MOS e sua textura. Segundo esses autores, os teores de argila e de MOS correlacionaram, significativamente, com os teores de N potencialmente mineralizável (No), haja vista os maiores teores de No terem sido determinados nos sítios com maior teor de argila e de MOS, proveniente da decomposição de raízes e da incorporação ao solo de parte da serapilheira, pela atividade microbiana. Essa afirmativa confirma-se quando os valores referentes à relação C

orgânico e N total (C/N) são observados (Quadro 1). Menores relações C/N foram encontradas no LVd2, com valores variando de 17,3 a 28,1; no LVd1, essa variação foi de 25,0 a 37,0. Partindo da premissa que a relação C/N da MOS permite inferir quanto à taxa de mineralização desses elementos, os valores apresentados retratam situações completamente distintas em cada área estudada. No LVd2, de textura argilosa, as relações C/N encontradas caracterizam o predomínio do processo de mineralização ($C/N < 25$), enquanto no LVd1, de imobilização ($C/N > 25$).

Relações entre carbono microbiano e carbono orgânico do solo, carbono e nitrogênio microbianos e nitrogênio microbiano e nitrogênio total do solo

As relações entre CBM e C orgânico do solo ($CBM/CO \times 100$) e entre NBM e N total do solo ($NBM/Nt \times 100$) mostram a proporção, em %, de C e de N que foram imobilizados pela população microbiana do solo. Ambas relações foram variáveis entre solos e, em cada solo, entre tratamentos e profundidades (Quadro 3). Os valores da relação CBM/CO variaram de 0,45 a 1,58 %, no LVd2, e de 0,14 a 0,83 %, no LVd1. Maior percentagem de CO encontra-se imobilizado na biomassa microbiana, na camada subsuperficial, em ambos os solos, exceto na parcela testemunha, no LVd2. Com relação à aplicação de P, os resultados foram bastante variáveis. Grande amplitude de variação na relação CBM/CO também foi observada por Costa (1995) que encontrou valores entre 0,18 a 2,38 %, na camada de 0 - 5 cm de profundidade, ao avaliar a atividade microbiana, por um período de até 24 meses, em povoamentos de eucalipto, no estado do Espírito Santo. Gama-Rodrigues (1997) encontrou, em plantações de eucalipto com sete anos e floresta natural, relação CBM/CO de 1,73 e 2,37 %, respectivamente, e atribuiu a baixa eficiência da biomassa microbiana do solo com eucalipto ao conteúdo nutricional da serapilheira com maior participação de C recalcitrante (galhos e cascas). Em

plantações de eucalipto com idades de seis meses a sete anos, situados no estado de Minas Gerais, Lazari (2001) obteve relação CBM/CO entre 0,32 e 1,72 %, sendo que, nas plantações com 12 meses, a relação foi de 1,10 %.

Essa amplitude de variação nos valores de CBM/CO observados foi comentada por Theng et al. (1989). Esses autores concluíram que relações CBM/CO inferiores a 1 e superiores a 3 % ocorriam devido fatores edafoclimáticos adversos (acidez do solo, baixas disponibilidades de nutrientes, umidade e temperatura, entre outros), e não necessariamente devido à qualidade da MOS. Observação semelhante foi relatada em extensa revisão feita por Bauhus & Khanna (1999), ao constatarem que, em solos com florestas tropicais, temperadas e boreais, a relação variou de 0,3 a 9,9 %. Conforme esses autores, valores inferiores a 0,5 % sugerem que a biomassa microbiana estaria sendo submetida a algum tipo de estresse, limitando, assim, sua atividade. Segundo Anderson & Domsch (1989), maior ou menor relação CBM/CO pode representar acúmulo ou perda de C do solo, respectivamente. Alguns pesquisadores consideram valores próximos a 2 % como o nível de equilíbrio entre a entrada e a saída de C, não havendo acúmulo ou decréscimo da MOS (Badalucco et al., 1992). Entretanto, esse valor deve ser considerado com cautela, haja vista ter sido obtido em áreas com condições edafoclimáticas totalmente distintas daquelas onde o presente trabalho foi desenvolvido e com plantações de espécies que não eucalipto.

As relações entre NBM e N total do solo ($NBM/N_t \times 100$) e entre CBM e NBM (CBM/NBM) expressam a incorporação de N à biomassa microbiana e estão relacionadas à disponibilidade tanto de C como de N no solo. As relações encontradas foram muito discrepantes entre os solos e as profundidades avaliadas (Quadro 3). Esses valores variaram de 1,13 a 6,48 % e 1,95 a 5,97 %, no LVd1, e de 0,68 a 9,29 % e 2,39 a 26,42 %, no LVd2, respectivamente, para as relações NBM/N_t e CBM/NBM . Bauhus (1996) sugeriu que a mineralização de N por unidade de biomassa pode ser maior em condições desfavoráveis, como valores extremos de pH do

solo. Essa hipótese se confirma quando a percentagem de N total do solo imobilizado na biomassa microbiana é correlacionada com o pH do solo (Costa, 1995; Gama-Rodrigues, 1997). Joergensen (1996) verificou que o pH do solo exercia grande influência na quantificação do NBM, sugerindo que, dependendo da magnitude do pH, algumas populações microbianas estariam predominando em detrimento de outras, o que alteraria o teor de NBM. Tal predomínio pode ter ocorrido nos tratamentos analisados em decorrência dos baixos valores de pH (4,39 a 4,84) encontrados.

Quadro 3. Relações entre C da biomassa microbiana e C orgânico do solo (CBM:CO), C e N da biomassa microbiana (CBM:NBM), NBM e N total (NBM:Nt), C e P da biomassa microbiana (CBM:PBM), PBM e P total do solo (PBM:Pt) determinados em duas profundidades, em plantações de *Eucalyptus grandis*, adubadas com diferentes fontes de P

Tratamento	Profundidade	CBM:CO	CBM:NBM	NBM:Nt	CBM:PBM	PBM:Pt
	cm	%		%		%
Latossolo Vermelho distrófico textura média – LVd1						
Sem P	0 - 5	0,14	1,95	1,77	8,97	1,78
	5 - 10	0,39	3,21	5,65	89,16	0,53
FCN	0 - 5	0,25	5,97	1,13	9,31	2,69
	5 - 10	0,74	4,24	4,80	33,64	1,56
ST	0 - 5	0,27	3,00	2,32	20,79	1,60
	5 - 10	0,53	2,92	6,07	55,51	0,99
FA	0 - 5	0,18	3,73	1,21	10,85	1,64
	5 - 10	0,83	3,65	6,48	82,55	0,72
Latossolo Vermelho distrófico argiloso – LVd2						
Sem P	0 - 5	1,58	12,43	2,19	27,52	2,87
	5 - 10	0,92	26,42	0,68	8,73	5,33
FCN	0 - 5	0,45	12,10	0,73	5,73	4,39
	5 - 10	1,10	10,33	1,92	7,36	6,56
ST	0 - 5	0,95	7,74	2,18	25,81	3,03
	5 - 10	0,97	2,39	9,28	8,00	7,78
FA	0 - 5	0,54	6,04	1,95	8,68	4,09
	5 - 10	1,45	5,46	4,39	10,51	6,46

FCN: Fosfato de Carolina do Norte; ST: Superfosfato triplo; FA: Fosfato de Araxá.

Em termos gerais, os fungos predominam na biomassa microbiana do solo e a relação fungo/bactéria pode variar de 1 a 11:1. Entretanto, valores na ordem de 2 a 3:1 são mais comuns (Anderson & Domsch, 1980). Além disso, preconiza-se que fungos têm maior relação C/N que bactérias (Marumoto et al., 1982). Dessa forma, os resultados sugerem, pelos valores de CBM/NBM, o predomínio de populações fúngicas, especialmente no LVd2.

Fósforo da biomassa microbiana e relação entre fósforo microbiano e fósforo total do solo

Os valores de PBM foram significativamente distintos (DMS = 0,34), nos dois solos, com teores variando de 0,96 a 5,02 mg kg⁻¹, no LVd1, e de 8,52 a 19,91 mg kg⁻¹, no LVd2, neste último, os teores foram de três a quatro vezes maiores que no LVd1, em todos os tratamentos e nas profundidades analisadas (Quadro 2). De acordo com Bauhus & Khanna (1999), o PBM, em solos florestais, encontram-se na faixa de 4 a 174 mg kg⁻¹. Polglase et al. (1992) encontraram valores de PBM de 1,80 e 98,7 mg kg⁻¹, em plantações de *Eucalyptus regnans*, na implantação e aos 80 anos de idade, respectivamente. Em plantações de *Pinus radiata* e floresta nativa, Sparling et al. (1994) detectaram valores de 32,4 e 52,3 mg kg⁻¹, respectivamente.

Em plantações de eucalipto, no Brasil, a adição de uma fonte solúvel, como o ST, permite elevar, em curto prazo, o teor de P disponível do solo, atendendo a demanda inicial da planta por P. Contudo, parte desse P transforma-se em formas não-lábeis, não sendo eficientemente utilizado. Para contornar essa perda, têm-se aplicado fontes menos solúveis, como o FA e o FCN, as quais liberariam P, para as plantas, em uma fase mais avançada do seu crescimento (Barros et al., 1990). Comparativamente ao FA, o FCN é mais reativo, assegurando a liberação de P mais rápida, porém não tão prontamente como o ST (Novais &

Smyth, 1999). Essa tendência de liberação de P dos adubos fosfatados pode ter influenciado na quantificação do PBM. No LVd1, o PBM foi superior na parcela com FCN, entretanto, nas parcelas com ST e FA, não foi observada diferença significativa entre os valores encontrados, nas duas profundidades. No LVd2, apesar do PBM ser superior na parcela com FCN, esses valores não diferiram significativamente daqueles encontrados com FA. Nessa área, o PBM não diferiu significativamente entre tratamento, na camada subsuperficial. Outros aspectos que devem ser considerados são a rápida ciclagem microbiana, cerca de 90 dias em solos tropicais (Paul & Clark, 1989), e o tempo decorrido entre a implantação do povoamento e a amostragem para a determinação do PBM. Segundo Oberson et al. (2001), a BMS responde positivamente à adição de fertilizantes fosfatados por um período de tempo curto, após o qual os drenos de P estariam competindo com a população microbiana pela aquisição do elemento. Os resultados obtidos não permitem concluir sobre o efeito das fontes de P sobre a BMS, nas condições avaliadas.

As relações entre C e P microbianos (CBM/PBM) e entre o PBM e o P total do solo ($PBM/P_t \times 100$) informam quanto do P do solo foi imobilizado pela população microbiana. Essas relações foram bastante variáveis em ambos os solos, nas duas profundidades (Quadro 3). No LVd1, a relação CBM/PBM foi bastante ampla, 8,97 a 89,16, com valores mais elevados na camada de 5 - 10 cm. No LVd2, essa relação foi mais estreita: 7,36 a 27,52. He et al. (1997) encontraram que a BMS enriquecida com P apresentou relação CBM/PBM mais estreita e maior potencial de liberação do elemento durante o processo de mineralização. Por outro lado, houve imobilização do P disponível do solo quando a relação CBM/PBM era mais larga.

A identificação das populações microbianas predominantes pode auxiliar na interpretação dos resultados, especialmente quando o P é analisado, dada a variação no conteúdo desse elemento em células bacterianas e fúngicas (Brookes et al., 1982; Hedley & Stewart, 1982;

Myers et al., 1999; Wu et al., 2000). Bactérias têm o conteúdo de P celular maior que fungos, porém, Brookes et al. (1982) e Hedley & Stewart (1982) verificaram que, se o conteúdo de P celular for similar entre bactérias e fungos, maior proporção de P é extraído das células fúngicas, quando NaHCO_3 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ pH 8,5 é empregado como extrator do PBM. Outro ponto a ser considerado é a presença de microrganismos do solo com capacidade de solubilizar fosfato. Nahas et al. (1994) verificaram que, para uma mesma faixa de pH (4,5 - 4,6), os fungos solubilizadores de fosfato predominaram em solos com plantações de eucalipto e pinus e, mesmo em menor número que as bactérias, o teor de P solubilizado pelos fungos foi superior ao solubilizado pelas bactérias. Esses resultados devem-se ao fato de que fungos crescem bem em ambientes ácidos, com ampla faixa de pH, ao contrário das bactérias que têm crescimento ótimo em pH próximo da neutralidade (Athas & Bartha, 1998). De modo geral, a adubação fosfatada influencia positivamente no crescimento e atividade microbianos (Bauhus & Khanna, 1999). Entretanto, diferenças são observadas tanto no teor de PBM quanto no número de microrganismos no solo conforme a fonte de P adicionada (Barroti & Nahas, 2000). Esses autores verificaram, nos tratamentos que não receberam calagem, que o teor de PBM e o número de fungos solubilizadores foram maiores nas amostras de solo que não receberam adubação fosfatada, e, entre as fontes aplicadas - fosfato de Araxá e superfosfato simples - esses números foram maiores nas amostras que receberam fosfato de Araxá.

Considerando-se as flutuações das populações microbianas, em número e em espécie, em resposta às variações das condições edafoclimáticas, ao longo do ciclo do eucalipto, e que a maioria das plantações de eucalipto no Brasil encontram-se em solos com baixos teores de P disponível e elevada adsorção deste elemento, a biomassa microbiana estaria atuando como um reservatório temporário de P, impedindo que parte do P adicionado ao solo, via fertilizante, se

transformasse em formas menos disponíveis para a cultura, ao longo de seu ciclo. Todavia, cabe salientar que o P oriundo da biomassa microbiana, após a mineralização, poderá ou ser disponibilizado para as plantas ou ser reutilizado pelos microrganismos na formação de novas populações ou, ainda, ser adsorvido aos colóides do solo.

CONCLUSÕES

1. Nas condições avaliadas, os resultados obtidos não permitem concluir sobre a influência da adubação fosfatada na BMS.

2. Maiores teores de carbono, nitrogênio e fósforo da biomassa microbiana foram observados no solo argiloso (LVd2) evidenciando a proteção física exercida pela argila sobre a BMS.

LITERATURA CITADA

- ANDERSON, J.P.E. & DOMSCH, K.H. Quantities of plant nutrients in the microbial biomass of selected soils. *Soil Sci.*, 130:211-216, 1980.
- ANDERSON, T-H. & DOMSCH, K.H. Ratios of microbial biomass carbon to total organic carbon in arable soils. *Soil Biol. Biochem.*, 21:471-479, 1989.
- ANDRADE, D.S.; COLOZZI-FILHO, A.; PAVAN, M.A.; BALOTA, E.L. & CHAVES, J.C.D. Atividade microbiana em função da calagem em um solo cultivado com cafeeiro. *R. Bras. Ci. Solo*, 19:191-196, 1995.
- ATLAS, R.M. & BARTHA, R. *Microbial ecology: fundamentals and applications*. Menlo Park, California. Addison Wesley Longman, 1998. 694p.
- BADALUCCO, L.; GELSOMINO, S.; DELL'ORCO, S.; GREGO, S. & NANNIPIERI, P. Biochemical characterization of soil organic compounds extracted by 0,5 M K₂SO₄ before and after chloroform fumigation. *Soil Biol. Biochem.*, 24:569-578, 1992.

- BALOTA, E.L.; COLOZZI-FILHO, A.; ANDRADE, D.S. & HUNGRIA, M. Biomassa microbiana e sua atividade em solos sob diferentes sistemas de preparo e sucessão de culturas. *R. Bras. Ci. Solo*, 22:641-649, 1998.
- BARROS, N.F.; NOVAIS, R.F. & NEVES, J.C.L. Fertilização e correção do solo para o plantio de eucalipto. In: BARROS, N.F. & NOVAIS, R.F., eds. *Relação solo-eucalipto*. Viçosa, Folha de Viçosa, 1990. p.127-186.
- BARROS, N.F.; NOVAIS, R.F.; TEIXEIRA, J.L. & FERNANDES FILHO, E.I. NUTRICALC 2.0 – Sistema para calculo del balance nutricional y recomendacion de fertilizantes para el cultivo de eucalipto. *Bosque*, 16:129-131, 1995.
- BARROS, N.F. & COMERFORD, N.B. Sustentabilidade da produção de florestas plantadas na região tropical. In: ALVAREZ V., V.H.; SCHAFFER, C.E.G.R.; BARROS, N.F.; MELLO, J.W.V. & COSTA, L.M., eds. *Tópicos em Ciência do Solo*. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2002. p.487-592.
- BARROTI, G. & NAHAS, E. População microbiana total e solubilizadora de fosfato em solo submetido a diferentes sistemas de cultivo. *Pesq. Agropec. Bras.*, 35:2043-2050, 2000.
- BAUHUS, J. C and N mineralization in an acid forest soil along a gap-stand gradient. *Soil Biol. Biochem.*, 28:923-932, 1996.
- BAUHUS, J. & KHANNA, K.P. The significance of microbial biomass in forest soils. In: RASTIN, N. & BAUHUS, J., eds. *Going underground – Ecological studies in forests soils*. Trivan, India: Research Signpost, 1999. p.77-110.
- BOSATTA, E. & ÅGREN, G.I. Theoretical analyses of soil texture effects on organic matter dynamics. *Soil Biol. Biochem.*, 29:1633-1638, 1997.
- BROOKES, P.C.; POWLSON, D.S. & JENKINSON, D.S. Measurement of microbial biomass phosphorus in soil. *Soil Biol. Biochem.*, 14:319-329, 1982.
- CATELLAN, A.J. & VIDOR, C. Sistemas de culturas e a população microbiana do solo. *R. Bras. Ci. Solo*, 14:125-132, 1990.
- COSTA, M.D. Atividade biológica e liberação de nutrientes em resíduos de exploração de povoamentos de eucalipto. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 1995. 91p. (Tese de Mestrado)

- DE-POLLI, H. & GUERRA, J.G.M. C, N e P na biomassa microbiana do solo. In: SANTOS, G.A. & CAMARGO, F.A.O., eds. Fundamentos da Matéria Orgânica do Solo: Ecossistemas Tropicais e Subtropicais. Porto Alegre, Gênese, 1999. p.389-411.
- DORAN, J.W. & PARKIN, T.B. Quantitative indicators of soil quality: A minimum data set. In: DORAN, J.W. & JONES, A.J., eds. Methods for assessing soil quality. SSSA, Spec. Publ. N° 49, Madison, Wisconsin, 1996. p.25-47.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Manual de métodos de análise de solo. Rio de Janeiro, 1997. 212p. (EMBRAPA-CNPS. Documentos, 1)
- FRIESSBACH, A. & MADER, P. Microbial biomass and size-density fractions differ between soils of organic and conventional agricultural systems. *Soil Biol. Biochem.*, 32:757-768, 2000.
- GAMA-RODRIGUES, E.F. Carbono e nitrogênio da biomassa microbiana do solo e da serapilheira de povoamentos de eucalipto. Seropédica, Universidade Federal de Rural do Rio de Janeiro, 1997. 108p. (Tese de Doutorado)
- GAMA-RODRIGUES, E.F.; GAMA-RODRIGUES, A.C. & BARROS, N.F. Biomassa microbiana de carbono e de nitrogênio de solos sob diferentes coberturas florestais. *R. Bras. Ci. Solo*, 21:361-365, 1997.
- GIJSMAN, A.J.; OBERSON, A.; FRIESEN, D.K. ;SANZ, J.I. & THOMAS, R.J. Nutrient cycling through microbial biomass under rice-pasture rotations replacing native savanna. *Soil Biol. Biochem.*, 29:1433-1441, 1997.
- GONÇALVES, J.L.M.; BARROS, N.F.; NAMBIAR, E.K.S. & NOVAIS, R.F. Soil and stand management for short-rotation plantations. In: NAMBIAR, S. & BROWN, A., eds. Management of soil, nutrients and water in tropical plantation forests. Canberra, ACIAR Austrália/CSIRO Austrália / CIFOR Indonésia, 1997. p.379-418.
- GONÇALVES, J.L.M.; MENDES, K.C.F.S. & MORAIS, A.R. Mineralização de nitrogênio em ecossistemas florestais naturais e implantados do estado de São Paulo. *R. Bras. Ci. Solo*, 25:601-616, 2001.
- GRIERSON, P.F.; COMERFORD, N.B. & JOKELA, E.J. Phosphorus mineralization and microbial biomass in a Florida Spodosol: effects of water potential, temperature and fertilizer application. *Biol. Fertil. Soils*, 28:244-252, 1999.

- GRISI, B. Metodologia da determinação de biomassa microbiana de solo. R. Bras. Ci. Solo, 8:167-172, 1984.
- GRISI, B.; GRACE, C.; BROOKES, P.C.; BENEDETTI, A. & DELL'ABATE, M.T. Temperature effects on organic matter and microbial biomass dynamics in temperate and tropical soils. Soil Biol. Biochem., 30:1309-1315, 1998.
- GUNALAPA, N. & SCOW, K.M. Dynamics of soil microbial biomass and activity in conventional and organic farming systems. Soil Biol. Biochem., 30:805-816, 1998.
- HAYNES, R.J. Labile organic matter as an indicator of organic matter quality in arable and pastoral soils in New Zealand. Soil Biol. Biochem., 32:211-219, 2000.
- HASSINK, J. Effects of soil texture and grassland management on soil organic C and N and rates of C and N mineralization. Soil Biol. Biochem., 9:1221-1231, 1994.
- HE, Z.L.; WU, J.; O'DONNELL, A.G. & SYERS, J.K. Seasonal responses in microbial biomass carbon, phosphorus and sulphur in soils under pasture. Biol. Fertil. Soils, 24:421-428, 1997.
- HEDLEY, M.J. & STEWART, J.W.B. Method to measure microbial phosphate in soils. Soil Biol. Biochem., 14:377-385, 1982.
- ISLAM, K.R. & WEIL, R.R. Microwave irradiation of soil for routine measurement of microbial biomass carbon. Biol. Fertil. Soils, 27:408-416, 1998.
- JENKINSON, D.S. Soil organic matter and its dynamics. In: WILD, A., ed. Russell's soil conditions and plant growth. Longman, Harlow, UK, 1988. p.564-607.
- JOERGENSEN, R.G. Quantification of the microbial biomass by determining ninhydrin-reactive N. Soil Biol. Biochem., 28:301-306, 1996.
- JOERGENSEN, R.G. & BROOKES, P.C. Ninhydrin-reactive nitrogen measurements of microbial biomass in 0,5M K₂SO₄ soils extracts. Soil Biol. Biochem., 22:1023-1027, 1990.
- LANDSBERG, J.J. & GOWER, S.T. Applications of physiological ecology of forest management. San Diego, Academic Press, 1997. 354p.

- LAZARI, M.F. Nitrificação em solos sob plantações de eucaliptos com diferentes idades. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 2001. 60p. (Tese de Mestrado)
- LEAL, P.G.L.; BARROS, N.F. & NOVAIS, R.F. Produção de biomassa e absorção de nutrientes em *Eucalyptus grandis* influenciados pela aplicação de fosfato natural em solos de cerrado. R. Árv., 12:165-182, 1988.
- LEITE, F.P. Relações nutricionais e alterações de características químicas de solos da região do Vale do Rio Doce pelo cultivo do eucalipto. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 2001. 72p. (Tese de Doutorado)
- MURPHY, J. & RILEY, J.P. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. Anal. Chim. Acta, 27:31-36, 1962
- MYERS, R.G.; THIEN, S.J. & PIERZYNSKI, G.M. Using an ion sink to extract microbial phosphorus from soil. Soil Sci. Soc. Am. J., 63:1229-1237, 1999.
- NAHAS, E.; CENTURION, J.F. & ASSIS, L.C. Microrganismos solubilizadores de fosfato e produtores de fosfatases de vários solos. R. Bras. Ci. Solo, 18:43-48, 1994.
- NOVAIS, R.F. & SMYTH, T.J. Fósforo em solo e planta em condições tropicais. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. 399p.
- OBERSON, A.; FRIESEN, D.K.; RAO, I.M.; BÜHLER, S. & FROSSARD, E. Phosphorus transformations in an Oxisol under contrasting land-use systems: the role of the soil microbial biomass. Plant Soil, 237:197-210, 2001.
- O'CONNELL, A.M. & SANKARAN, K.V. Organic matter accretion, decomposition and mineralisation. In: NAMBIAR, E.K.S. & BROWN, A.G., eds. Management of soil, nutrients and water in tropical plantation forests. Canberra, ACIAR, 1997. p.443-480.
- POGGIANI, F.; STAPE, J.L. & GONÇALVES, J.L.M. Indicadores de sustentabilidade das plantações florestais. IPEF, 12:33-44, 1998.
- POLGLASE, P.J.; ATTIWILL, P.M. & ADAMS, M.A. Nitrogen and phosphorus cycling in relation to stand age of *Eucalyptus regnans* F. Muell. III. Labile inorganic and organic P, phosphatase activity and P availability. Plant Soil, 142:177-185, 1992.

- REIS, M.G.F. & BARROS, N.F. Ciclagem de nutrientes em plantações de eucalipto. In: BARROS, N.F. & NOVAIS, R.F., eds. Relação solo-eucalipto. Viçosa, Folha de Viçosa, 1990. p.265-301.
- ROSS, D.J.; SPARLING, G.P.; BURKE, C.M. & SMITH, C.T. Microbial biomass C and N, and mineralizable-N, in litter and mineral soil under *Pinus radiata* on a coastal sand: influence of stand age and harvest management. *Plant Soil*, 175:167-177, 1995.
- SISTEMA PARA ANÁLISES ESTATÍSTICAS – SAEG - (software). Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 1999.
- SANTANA, D.P. & BAHIA FILHO, A.F.C. Indicadores de qualidade do solo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 27., Brasília, 1999. Anais. Brasília, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1999. CD ROM
- SMOLANDER, A.; PRIHA, O.; PAAVOLAINEN, L.; STEER, J. & MÄLKÖNEM, E. Nitrogen and carbon transformations before and after clear-cutting in repeatedly N-fertilized and limed forest soil. *Soil Biol. Biochem.*, 30:477-490, 1998.
- SPARLING, G.P.; HART, P.B.S.; AUGUST, J.A. & LESLIE, D.M. A comparison of soil and microbial carbon, nitrogen, and phosphorus contents, and macro-aggregate stability of a soil under native forest and after clearance for pastures and plantation forest. *Biol. Fertil. Soils*, 17:91-100, 1994.
- SVENSSON, K. & PELL, M. Soil microbial tests for discriminating between different cropping systems and fertiliser regimes. *Biol. Fertil. Soils*, 33:91-99, 2001.
- TATE, K.R.; ROSS, D.J. & FELTHAM, C.W. A direct extraction method to estimate soil microbial C: effects of experimental variables and some different calibration procedures. *Soil Biol. Biochem.*, 20:329-335, 1988.
- TEDESCO, M.J.; BOHNEM, H.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A. & VOLKWEISS, S.J. Análise de solo, plantas e outros materiais. 2.ed. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. 174p. (Boletim Técnico, 5)
- THENG, B.K.G.; TATE, K.R.; SOLLINS, P.; MORIS, N.; NADKARNI, N. & TATE III, R.L. Constituents of organic matter in temperate and tropical soils. In: COLEMAN, D.C.; OADES, J.M. & UEHARA, G., eds. Dynamics of Soil Organic Matter in Tropical Ecosystems. Honolulu, Hawaii: NifTal Project, 1989. p.5-31.

- VARGAS, L.K. & SCHOLLES, D. Biomassa microbiana e produção de C-CO₂ e N mineral de um Podzólico Vermelho-Escuro submetido a diferentes sistemas de manejo. R. Bras. Ci. Solo, 24:35-42, 2000.
- VERBURG, P.S.J.; VAN DAM, D.; HEFTING, M.M. & TIETEMA, A. Microbial transformations of C and N in a boreal forest floor as affected by temperature. Plant Soil, 208:187-197, 1999.
- WARDLE, D.A & PARKINSON, D. Interactions between microclimatic variables and the soil microbial biomass. Biol. Fertil. Soils, 9:273-280, 1990.
- WU, J.; HE, Z.L.; WEI, W.X.; O'DONNELL, A.G.; & SYERS, J.K. Quantifying microbial biomass phosphorus in acid soils. Biol. Fertil. Soils, 32:500-507, 2000.

APÊNDICE

Quadro 1A. Análise de variância dos teores de fósforo da biomassa microbiana do solo (PBM) em áreas com *Pinus taeda*, *Eucalyptus grandis* e floresta nativa, em duas profundidades

Fonte de variação	G.L.	Quadrado médio	
		PBM	
		0 - 5 cm	5 - 10 cm
Cobertura			
Floresta nativa vs (Eucalipto + Pínus)	1	71,22**	1,851**
Eucalipto vs Pínus	1	3,43**	0,032*
Método			
FE. vs (IE + EMTA) d/ Pínus	1	0,012 ^{ns}	0,026 ^{ns}
IE vs EMTA d/ Pínus	1	0,812*	0,140**
FE. vs (IE + EMTA) d/ Eucalipto	1	20,04**	0,833**
IE vs EMTA d/ Eucalipto	1	3,03**	0,006 ^{ns}
FE vs (IE + EMTA) d/ Floresta nativa	1	10,01**	0,008 ^{ns}
IE vs EMTA d/ Floresta nativa	1	59,94**	1,356**
Resíduo	18	0,109	0,007
C.V. (%)		15,71	13,75

** , * e ^{ns} = Significativos a 1,0, 5 % e não-significativo, respectivamente.

Quadro 2A. Análise de variância dos valores de carbono, nitrogênio e fósforo da biomassa microbiana do solo (CBM, NBM, PBM) e carbono e nitrogênio totais do solo (C.O., Nt), nas profundidades de 0 - 5 e de 5 - 10 cm, em plantações de *Eucalyptus grandis*, adubadas com diferentes fontes de fósforo

F.V.	G.L.	Quadrado médio				
		CBM	NBM	PBM	C.O.	N
Latossolo Vermelho distrófico textura média – LVd1						
0 - 5 cm						
Blocos	2	11,77 ^{ns}	14,77**	0,06 ^{ns}	0,95 ^{ns}	1253,84 ^{ns}
Fontes	3	511,33**	97,16**	2,56*	9,33*	26335,03**
Resíduo	6	39,98	3,29	0,29	2,78	836,14
C.V.		14,51	13,55	14,6	7,90	3,55
5 - 10 cm						
Blocos	2	1359,92*	5,56*	0,05 ^{ns}	1,26 ^{ns}	1672,10 ^{ns}
Fontes	3	122,92 ^{ns}	46,32 ^{ns}	1,92**	16,72**	1254,08 ^{ns}
Resíduo	6	252,23	10,32	0,03	1,60	836,06
C.V.		17,18	12,34	10,56	9,36	6,36
Latossolo Vermelho distrófico argiloso – LVd2						
0 - 5 cm						
Blocos	2	730,62 ^{ns}	5,06 ^{ns}	2,67 ^{ns}	5,26 ^{ns}	299,54 ^{ns}
Fontes	3	22660,14**	221,43**	49,65*	17,71*	39195,59**
Resíduo	6	368,57	14,19	7,62	2,21	3531,28
C.V.		10,47	18,67	21,72	6,83	5,22
5 - 10 cm						
Blocos	2	1418,54 ^{ns}	7,50*	8,95 ^{ns}	0,89 ^{ns}	896,47 ^{ns}
Fontes	3	1785,05 ^{ns}	2259,18**	9,64 ^{ns}	7,61**	12249,78*
Resíduo	6	493,15	10,27	2,98	0,49	2344,82
C.V.		14,02	10,58	9,36	4,83	7,24

** , * , e ^{ns} = Significativo a 1,0, 5,0 % e não-significativo, respectivamente.

Quadro 3A. Análise de variância dos valores de carbono, nitrogênio e fósforo da biomassa microbiana do solo (CBM, NBM, PBM) e carbono e nitrogênio totais do solo (CO, Nt), nas profundidades de 0 - 5 e 5 - 10 cm, em plantações de *Eucalyptus grandis*, adubadas com diferentes fontes de fósforo

F.V.	GL	Quadrado médio				
		CBM	NBM	PBM	CO	Nt
0 - 5 cm						
Blocos	4	0,0035 ^{ns}	5,73 ^{ns}	0,0056 ^{ns}	2,43 ^{ns}	161,8 ^{ns}
LVd1 vs LVd2	1	9,7742**	275,90**	8,8943**	2,77 ^{ns}	636098,8**
Fontes d/ LVd1	3	0,1225*	207,83**	0,4183**	8,62 ^{ns}	39191,5**
Fontes d/ LVd2	3	1,1956**	110,76**	0,0564 ^{ns}	1,84**	27626,3**
Resíduo	12	0,0268	10,13	0,0362	2,72	2376,8
C.V.		3,42	17,56	9,35	7,12	4,62
5 - 10 cm						
Blocos	4	228,76 ^{ns}	0,354 ^{ns}	2,32 ^{ns}	0,53 ^{ns}	106,4 ^{ns}
LVd1 vs LVd2	1	69947,90**	109,12*	1718,36**	5,16 ^{ns}	274696,8**
Fontes d/ LVd1	3	2759,88**	1356,43**	8,10 ^{ns}	21,07**	7435,2*
Fontes d/ LVd2	3	16468,95**	949,07**	2,76 ^{ns}	32,56 ^{ns}	6068,5 ^{ns}
Resíduo	12	385,69	12,35	3,11	1,22	1983,1
C.V.		12,55	11,55	16,44	7,33	7,34

** , * , e ^{ns} = Significativo a 1,0, 5,0 % e não-significativo, respectivamente.