

# Carbono da biomassa microbiana em Latossolos determinado por oxidação úmida e combustão a temperatura elevada

Leandro Moraes de Souza<sup>(1)</sup>, Djalma Martinhão Gomes de Sousa<sup>(2)</sup>,  
Fábio Bueno dos Reis Júnior<sup>(2)</sup> e Ieda de Carvalho Mendes<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup>Universidade de Brasília, Caixa Postal 04508, CEP 70910-970 Brasília, DF, Brasil. E-mail: leandroms83@yahoo.com.br

<sup>(2)</sup>Embrapa Cerrados, BR-020, Km 18, CEP 73310-970 Planaltina, DF, Brasil. E-mail: djalma.sousa@embrapa.br, fabio.reis@embrapa.br, ieda.mendes@embrapa.br

**Resumo** – O objetivo deste trabalho foi avaliar as relações entre os métodos de oxidação úmida e combustão a alta temperatura, utilizados em determinações do carbono da biomassa microbiana, e verificar a necessidade do uso de fatores de correção entre os dois métodos. Foram utilizadas 96 amostras de solo, coletadas à profundidade de 0–10 cm em Latossolos Vermelhos argilosos de Cerrado, sob cultivos anuais, pastagens, eucalipto e vegetação nativa. O carbono da biomassa microbiana foi determinado a partir de extratos de K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, pelo método de fumigação-extração, por meio de oxidação úmida com dicromato de potássio com aquecimento externo, e por combustão a alta temperatura em analisador de C orgânico total. Observou-se relação linear positiva e significativa entre os teores de C orgânico determinados pelos dois métodos. O método de combustão a alta temperatura detecta, em média, 6,3% mais C orgânico do que o método por oxidação úmida.

**Termos para indexação:** analisador de carbono, bioindicadores, carbono orgânico, fumigação-extração, qualidade do solo.

## Microbial biomass carbon in Oxisol determined by wet oxidation and combustion at high temperature

**Abstract** – The objective of this work was to evaluate the relationships between the methods of wet oxidation and the combustion at high temperature, used in determinations of microbial biomass carbon, and to verify the necessity of using correction factors between the two methods. Ninety-six soil samples, collected at 0–10-cm soil depth in clayey Oxisol of the Cerrado region, under annual crops, pastures, eucalyptus, and native vegetation were used. The microbial biomass carbon was determined from K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> extracts, using the fumigation-extraction method, by wet oxidation with potassium dichromate and external heating, and by combustion at high temperature in a total organic C analyser. A significant, positive, linear relationship between the contents of organic C, determined by the two methods, was observed. The combustion at high temperature method detects, on average, 6.3% more organic C than the wet oxidation method.

**Index terms:** carbon analyzer, bioindicators, organic carbon, fumigation-extraction, soil quality.

## Introdução

A biomassa microbiana representa a parte viva e mais ativa da matéria orgânica do solo, constituída, principalmente, por fungos, bactérias e arqueas (Oliveira et al., 2001; Mendes et al., 2009; Kaschuk et al., 2010). Esses microrganismos atuam nos processos de decomposição e síntese da matéria orgânica do solo, formação e estabilização de agregados, intemperização de rochas, biorremediação de áreas afetadas por poluentes e metais pesados e, no controle e supressão biológica de fitopatógenos (Reis Júnior & Mendes, 2007). Por todas essas razões, a biomassa

microbiana é um componente importante para manter a qualidade do solo e a produtividade das plantas (Nogueira et al., 2006; Reis Júnior & Mendes, 2007). Em três experimentos de longa duração, conduzidos em Latossolo Vermelho argiloso de Cerrado, Lopes et al. (2013) relataram sobre a relação significativa e direta entre o carbono da biomassa microbiana (CBM), a matéria orgânica do solo e o rendimento acumulado de grãos de soja e milho.

Uma das principais vantagens do uso do CBM e da atividade enzimática, como bioindicadores de qualidade de solo, é a sensibilidade dos parâmetros microbiológicos para detectar os efeitos de diferentes

manejos do solo, em estágio anterior ao das alterações dos teores de matéria orgânica (Chaer & Tótola, 2007; Hungria et al., 2009; Silva et al., 2009). Porém, diferentemente dos indicadores químicos de fertilidade, cujos valores de referência já estão relativamente bem definidos para cada elemento e tipo de solo, é difícil medir e interpretar indicadores microbiológicos, independentemente de um controle ou referencial de comparação (Mendes et al., 2009). Com base nos princípios das curvas de calibração de nutrientes, Lopes et al. (2013) desenvolveram um método para a interpretação de atributos microbiológicos e bioquímicos, em Latossolos Vermelhos de textura argilosa do Cerrado, que incluiu o CBM determinado pelo método fumigação-extração com oxidação úmida. Como resultado, foi publicada a primeira aproximação da Tabela de interpretação desse bioindicador nos Latossolos argilosos do Cerrado.

O método de fumigação-extração (Vance et al., 1987) é baseado na esterilização parcial (fumigação) de amostras de solo, com clorofórmio, e posterior extração do C orgânico (Joergensen, 2010). A determinação é feita com base nas diferenças entre os teores de C orgânico, extraídos com sulfato de potássio, de amostras de solo fumigadas com clorofórmio e não fumigadas. Após a extração com sulfato de potássio, o C dissolvido no extrato é oxidado por via úmida, por aquecimento com uma mistura de dicromato de potássio, ácido sulfúrico e ácido fosfórico concentrados, com aquecimento externo por 30 min, a aproximadamente 150°C, em sistema de refluxo. O excesso de dicromato é titulado com sulfato ferroso amoniacal (Brookes & Joergensen, 2005).

O C orgânico de amostras de solo também pode ser analisado por combustão, em fornos de alta temperatura (acima de 700°C), com detecção por cromatografia gasosa, espectrometria de infravermelho e gravimetria. Com os atuais equipamentos automatizados a preços relativamente acessíveis, surge também a possibilidade de uso de uma química mais limpa para as avaliações, não só do CBM, mas também da própria matéria orgânica do solo, por dispensar o uso do oxidante que contém cromo, além dos ácidos fosfórico e sulfúrico, utilizados como catalisadores.

O objetivo deste trabalho foi avaliar as relações entre os métodos de oxidação úmida e combustão a alta temperatura, utilizados em determinações do carbono da biomassa microbiana, e verificar a necessidade do uso de fatores de correção entre os dois métodos.

## Material e Métodos

O estudo foi realizado no campo experimental da Embrapa Cerrados, em Planaltina, DF (15°36'7"S e 47°42'33"W, à altitude de 980 m). Para avaliar as relações entre os métodos de determinação analítica do CBM, utilizaram-se dois grupos de amostras de solo, ambos coletados à profundidade de 0–10 cm de um Latossolo Vermelho argiloso de Cerrado.

O primeiro grupo foi formado por 72 amostras, coletadas de 24 tratamentos provenientes de três experimentos de longa duração, em delineamento de blocos ao acaso e três repetições. Na safra 2012/2013, as parcelas desses experimentos estavam sob o cultivo de milho. Nesses 24 tratamentos, diferentes doses e formas de aplicação de superfosfato triplo possibilitaram a formação de um gradiente de P extraível, que produziu um gradiente de diferentes rendimentos acumulados de grãos de soja e de milho (RAG). Em razão dos diferentes aportes de biomassa da parte aérea e raízes das culturas, também foi estabelecido um gradiente de matéria orgânica do solo. A descrição detalhada do histórico desses três experimentos de longa duração e dos 24 tratamentos foi feita por Lopes et al. (2013).

O segundo grupo foi formado por 24 amostras, coletadas de um experimento de integração lavoura-pecuária-floresta (ILPF) iniciado em janeiro de 2009, em uma área de pastagem degradada e em cinco áreas sob vegetação nativa de Cerrado. No experimento de ILPF, foram selecionadas duas áreas sob eucalipto e pastagem. Os renques de *Eucalyptus cloeziana* têm sete linhas, e o espaçamento entre os renques é de 22 metros. No período de 2009 a 2012, foram realizados cultivos anuais entre os renques de eucalipto, constituídos por sorgo em março de 2009, adubados com 350 kg ha<sup>-1</sup> da fórmula NPK 8-20-15, e soja, adubada com 400 kg ha<sup>-1</sup> da fórmula 0-20-20, nas safras 2009/2010, 2010/2011 e 2011/2012. Em fevereiro de 2012, após a colheita da soja, foi iniciado o ciclo de pastagem com o cultivo de sorgo granífero 'BRS 330', adubado com 350 kg ha<sup>-1</sup> da fórmula 8-20-15, em consórcio com a *Urochloa brizantha* 'BRS Piatã' (syn. *Brachiaria brizantha* 'BRS Piatã'). Também foi incluída nas avaliações uma área de pastagem degradada (*U. brizantha* 'BRS Piatã'), distante aproximadamente 3 km do experimento de ILPF, formada em 2005/2006 pela integração lavoura-pecuária. A última adubação nessa área foi realizada em 2009, quando foram aplicados 100 kg ha<sup>-1</sup> de ureia.

Cinco áreas sob vegetação nativa de Cerrado – quatro áreas de Cerrado sensu stricto e uma de Cerradão – foram utilizadas como referência das condições originais do solo. As áreas do experimento de ILPF (eucalipto, pastagem), a pastagem degradada e as áreas sob vegetação nativa foram divididas em três talhões de 10x10 m, que totalizaram 24 amostras.

Em todos os locais, as amostras de solo foram coletadas da camada de 0-10 cm, nos meses de janeiro e fevereiro de 2013 (época chuvosa), com uso de um trado holandês de 5 cm de diâmetro. Das parcelas dos 24 tratamentos que estavam sob cultivo de milho, foram coletadas 20 subamostras, tendo sido três no centro

das linhas de plantio e 17 nas entrelinhas. Das áreas sob Cerrado nativo, eucalipto, pastagem e pastagem degradada, cada amostra de solo foi composta por nove subamostras, que foram homogeneizadas para a obtenção de uma amostra composta por parcela. No total, foram obtidas 96 amostras – 72 amostras dos três experimentos de longa duração e 24 das áreas sob Cerrado nativo, ILPF (eucalipto e pastagem) e pastagem degradada; suas características químicas estão apresentadas na Tabela 1.

Após a coleta, as amostras foram acondicionadas em sacos de plástico, transportadas para o laboratório e armazenadas a 4°C até o momento da realização das

**Tabela 1.** Propriedades químicas do solo (camada 0–10 cm) utilizado nas avaliações dos métodos de oxidação úmida e combustão a alta temperatura, para determinações do C da biomassa microbiana.

Tratamento <sup>(1)</sup>	COS (g kg <sup>-1</sup> )	pH H <sub>2</sub> O	Al (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	H+Al (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	P (mg dm <sup>-3</sup> )	K (mg dm <sup>-3</sup> )	Ca (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	Mg (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )
1	13,30	5,42	0,23	5,67	0,93	77,00	1,98	0,54
2	13,30	5,66	0,09	5,12	1,05	92,67	2,20	0,74
3	14,40	5,47	0,21	5,77	1,02	57,00	2,25	0,75
4	14,20	5,59	0,14	5,33	1,16	84,67	2,12	0,79
5	14,60	5,55	0,16	5,30	1,29	78,00	2,24	0,77
6	19,70	5,65	0,10	5,77	9,68	99,33	3,67	1,39
7	19,40	5,59	0,07	5,82	10,90	71,67	3,37	1,19
8	19,90	5,52	0,16	6,23	10,44	77,33	3,75	1,23
9	17,00	5,21	0,40	6,50	5,46	79,67	2,31	0,79
10	20,00	5,24	0,24	6,76	11,50	64,67	3,47	1,10
11	19,20	5,28	0,27	7,08	32,87	56,67	3,47	1,07
12	17,80	5,35	0,25	7,09	3,62	95,33	2,75	1,19
13	20,70	5,37	0,13	6,68	11,87	88,00	3,97	1,83
14	20,60	5,33	0,23	6,79	33,10	61,33	3,97	1,61
15	15,90	5,09	0,58	6,94	2,75	79,33	1,89	0,73
16	18,10	5,33	0,30	6,60	8,50	61,00	3,23	1,13
17	17,00	5,22	0,44	6,99	14,89	52,67	2,65	1,34
18	13,60	5,00	0,64	6,13	1,12	75,00	1,27	0,47
19	19,70	5,19	0,29	6,76	8,75	63,00	3,18	1,12
20	15,30	5,06	0,52	6,93	1,39	82,00	1,88	0,90
21	20,40	5,21	0,28	6,96	17,46	52,67	3,07	0,93
22	18,00	5,25	0,25	6,57	6,91	81,33	2,88	1,14
23	20,70	5,30	0,25	6,69	8,17	54,33	3,01	0,90
24	16,48	5,19	0,39	6,41	2,70	61,00	2,44	0,93
ILPF e Cerrados								
Eucalipto	18,12	5,12	0,18	5,33	1,16	52,67	2,00	1,19
Pastagem	19,36	5,49	0,08	4,32	2,93	122,00	2,70	1,39
Pastagem degradada	17,03	4,83	0,46	6,20	4,28	116,00	1,25	0,61
Cerrado 1	19,56	4,99	1,04	7,85	1,03	37,67	0,54	0,35
Cerrado 2	19,21	4,96	1,38	7,53	0,96	32,33	0,25	0,16
Cerrado 3	23,91	4,95	1,70	9,29	1,43	43,67	0,23	0,33
Cerrado 4	22,86	5,14	1,21	8,98	0,74	28,00	0,04	0,15
Cerrado 5	27,15	3,85	2,63	11,92	1,47	64,67	0,07	0,21

<sup>(1)</sup>Os tratamentos 1 a 24 pertencem a três experimentos de longa duração, em Latossolo Vermelho argiloso de cerrado, descritos em Lopes et al. (2013).

análises. No laboratório, as amostras foram passadas por peneira de malha de 4 mm, e os resíduos de plantas e raízes foram retirados manualmente.

Para a estimativa do CBM, utilizou-se o método de fumigação-extração (FE), proposto por Vance et al. (1987). Para cada amostra, realizaram-se três repetições analíticas fumigadas e três não fumigadas de 20 g cada uma. Quando necessário, o teor de umidade das amostras foi ajustado, para que 55% do espaço poroso do solo fosse preenchido por água. Estas amostras foram pré-incubadas, no escuro, à temperatura ambiente, por um período de sete dias. Em seguida, metade das amostras foi fumigada por 48 horas, em um dessecador que continha uma placa de Petri com 25 mL de clorofórmio sem álcool. Durante este período, as amostras não fumigadas foram mantidas em condição ambiente. O CBM foi extraído pela adição de 50 mL de uma solução de sulfato de potássio ( $K_2SO_4$  a  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ ) às amostras de solo que foram, em seguida, submetidas à agitação horizontal (150 rpm) por 40 min. Depois disso, as amostras foram filtradas em papel-filtro Whatman nº2.

Com os extratos de  $K_2SO_4$ , foram utilizados dois métodos para a determinação do CBM: oxidação úmida com dicromato de potássio, sob aquecimento externo, e subsequente titulação do agente oxidante não consumido na oxidação da matéria orgânica, durante a oxidação úmida com sulfato ferroso amoniacal (Vance et al., 1987, descrito em detalhes em Oliveira et al., 2001); e combustão a alta temperatura, com o analisador de C orgânico total (vario TOC cube, Elementar Analysensysteme GmbH, Hanau, Alemanha) com detector de infravermelho. Para a determinação no analisador de C orgânico, 4 mL do extrato de sulfato de potássio foram transferidos para frascos de vidro (10 mL) e, em seguida foram diluídos a 1:1 com água destilada. Utilizou-se o módulo TOC/TNb precise (C orgânico total e N total combinado) de 1-100 ppm, e a calibração foi realizada com uma solução padrão de biftalato ácido de potássio a 50 ppm. A injeção das amostras foi automática (200 uL) com uso de um carrossel com capacidade para 50 frascos.

Em ambos os métodos, o CBM foi estimado pela diferença entre o C extraído das amostras fumigadas e não fumigadas ( $E_C$ ), com um fator de correção  $k_{EC}$  de 0,35 (Voroney et al., 1991).

Para a avaliação da distribuição dos dados de C orgânico extraído das amostras fumigadas e não

fumigadas, foram gerados gráficos do tipo boxplot, em que foram avaliados as medianas, as médias e os valores mínimos e máximos das determinações. Para avaliar se as medidas apresentavam distribuição normal, utilizou-se um histograma com a distribuição das diferenças observadas entre os dois métodos. Posteriormente, realizou-se um teste de pareamento e aplicou-se o teste t de Student, para avaliar se as diferenças entre os métodos foram significativas ou não.

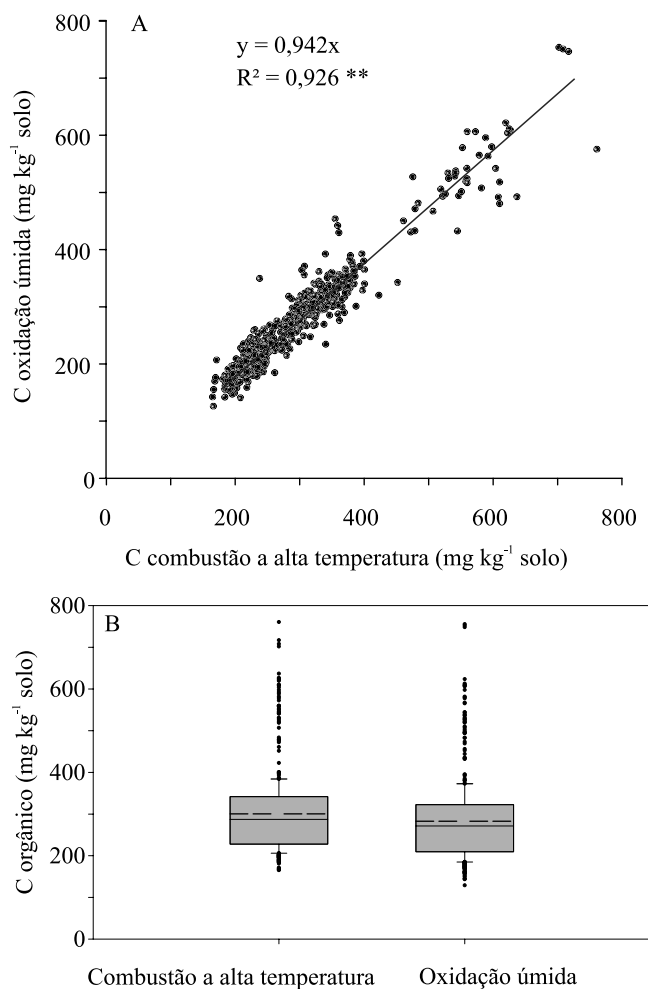
As relações entre os métodos de oxidação úmida e combustão a alta temperatura foram determinadas por meio de análises de regressão com os teores de C orgânico extraído das amostras fumigadas e não fumigadas e, também, com os valores de CBM. Em ambos os casos, os valores obtidos pelo método de combustão a alta temperatura foram utilizados como variável independente (x). Os fatores de correção dos teores obtidos no TOC, para o método de oxidação úmida, foram calculados por meio do ajuste de uma equação linear com intersecção na origem. As equações e os coeficientes de determinação ( $R^2$ ), bem como a significância dos modelos e dos parâmetros dos modelos, foram obtidos com auxílio do procedimento PROC REG do programa SAS (SAS Institute, Cary, NC, EUA), com o valor do intercepto igual a zero.

## Resultados e Discussão

Observou-se relação linear positiva e significativa entre os teores de C orgânico, extraído das amostras fumigadas e não fumigadas pelos dois métodos – oxidação úmida e combustão a alta temperatura (Figura 1 A). A equação que descreveu essa relação foi a de um modelo linear ( $y = 0,942x$ ), com  $R^2 = 0,926$  ( $p < 0,0001$ ). O coeficiente angular da regressão linear, 0,942, mostra que a relação entre os dois métodos foi bastante próxima de 1, o que indica que os teores de C, determinados a partir da oxidação úmida, foram inferiores aos obtidos por combustão no analisador de C orgânico.

O teor médio geral de C orgânico de todas as amostras (fumigadas e não fumigadas) determinadas por combustão a alta temperatura (301 mg de C por kg solo) foi 6,3% maior do que o de todas as amostras determinadas por oxidação úmida (283 mg de C por kg de solo) (Tabela 2). O teste de pareamento dos valores de C orgânico, obtidos via analisador de C orgânico e oxidação úmida, mostrou que essa diferença entre

as duas determinações foi significativa pelo teste t de Student ( $p=0,0001$ ). As diferenças entre os valores de C orgânico, obtidos pelos dois métodos, apresentaram distribuição normal pelo teste Kolmogorov-Smirnov ( $p<0,01$ ).



**Figura 1.** Relação entre os valores de C orgânico extraído das amostras fumigadas e os das não fumigadas – determinados por oxidação úmida e combustão a alta temperatura (A) – e boxplot com a distribuição desses valores (B), em que: o ponto inferior refere-se ao menor valor encontrado; o ponto superior representa o maior valor encontrado; a linha contínua representa a mediana; e a linha tracejada refere-se à média. Os pontos (A) representam os valores das três repetições de cada um dos 32 tratamentos, referentes a experimentos de longa duração em Latossolos Vermelho argilosos de cerrado. **\*\***Significativo a 0,01% de probabilidade.

Verificou-se que, no total das 96 amostras avaliadas, os métodos de determinação via combustão a alta temperatura e via oxidação úmida apresentaram, para os teores de C orgânico de origem microbiana, resultados médios, mínimos, máximos e medianas muito próximos (Figura 1 B). Os coeficientes de variação foram similares.

A equação de regressão que representou a relação entre os teores de CBM, determinados pelo método oxidação úmida (y) e combustão a alta temperatura (x), foi  $y = 0,938x$ , com  $R^2 = 0,879$  ( $p<0,0001$ ), o que evidencia a relação linear positiva e significativa entre os dois métodos (Figura 2). Verifica-se que, na determinação por combustão a alta temperatura, a média geral dos valores de CBM (380 mg C kg<sup>-1</sup> solo) foi 5,55% maior do que na oxidação úmida (360 mg C kg<sup>-1</sup> solo), valor similar ao obtido para os teores de C orgânico das amostras fumigadas e não fumigadas (Tabela 3).

Alguns autores compararam ambos os métodos utilizados no presente trabalho e verificaram que o de combustão a alta temperatura recupera mais C orgânico do solo do que o de oxidação úmida com dicromato de potássio (Rheinheimer et al., 2008; Segnini et al., 2008; Tivet et al., 2012). A subestimação do C orgânico pelo método com oxidação úmida ocorre porque esta não é capaz de oxidar as formas de C do solo que se encontram mais protegidas em microagregados ou complexadas com a fração mineral do solo; assim, ocorre apenas uma oxidação parcial da matéria orgânica (Rheinheimer et al., 2008; Tivet et al., 2012). Quando as determinações do C orgânico – por oxidação úmida com dicromato – utilizam uma fonte externa de calor (método de Mebius), utiliza-se um fator de correção de 1,12 para os solos subtropicais (Tedesco et al., 1995), para compensar os problemas relacionados à recuperação incompleta do C orgânico e à concomitante subestimação desses valores.

Nos Latossolos argilosos do Cerrado, embora as condições em que o C orgânico de origem microbiana, determinado pelo método de oxidação úmida com aquecimento externo, sejam suficientes para quantificar praticamente a totalidade do C solúvel presente no extrato de sulfato de potássio, uma pequena parte desse C não é quantificada, e os valores obtidos pelo método de combustão a alta temperatura, em analisador de C orgânico, são 6,3% maiores.

Wu et al. (1990) trabalharam com uma variedade maior de solos, cujos teores de C orgânico variaram de 0,9 a 4,16%, e observaram 19,44% mais C orgânico medido em um analisador UV-persulfato do que pela oxidação úmida, apesar da forte relação linear ( $r = 0,997$ ) entre os métodos. Por essa razão, os autores propuseram que, para determinações em analisadores de C, todos os valores fossem divididos por 1,194,

para uma melhor comparação com dados obtidos por oxidação úmida. A aplicação do fator 1,194 ao valor do  $k_{EC}$  adotado pelos autores (0,38) deu origem ao valor de 0,45, que tem sido usado como  $k_{EC}$  quando as determinações do C orgânico são feitas de forma automatizada (Cai et al., 2011).

No presente estudo, o método de combustão em forno de alta temperatura detectou, em média, 6,3%

**Tabela 2.** Carbono orgânico das amostras de solo (camada 0-10 cm), fumigadas e não fumigadas, determinado por oxidação úmida e combustão a alta temperatura.

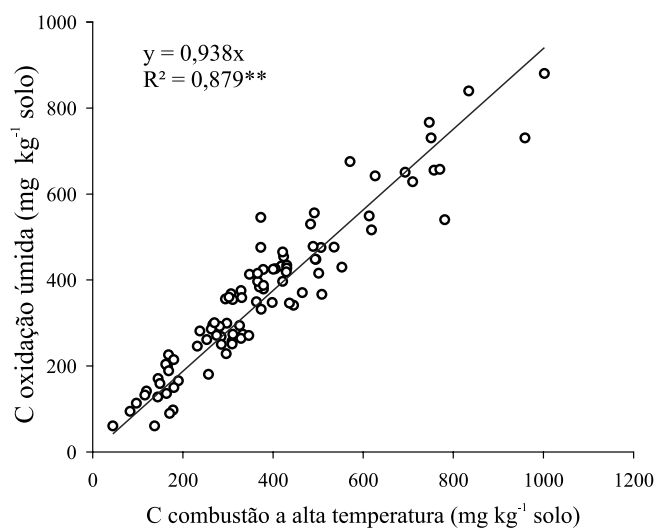
Tratamento <sup>(1)</sup>	Fumigadas		Não fumigadas	
	Oxidação úmida	Combustão a alta temperatura	Oxidação úmida	Combustão a alta temperatura
------(mg C kg <sup>-1</sup> solo)-----				
1	249,2	275,7	220,2	237,6
2	267,7	273,6	219,5	231,0
3	271,9	293,3	235,9	236,6
4	275,7	291,7	226,1	239,5
5	269,8	286,4	226,6	232,2
6	318,6	336,4	223,1	225,8
7	313,3	334,4	223,5	230,4
8	333,6	358,6	207,2	222,3
9	306,2	318,5	203,4	210,8
10	303,7	326,6	186,5	211,4
11	306,8	323,9	186,4	205,0
12	336,6	340,6	188,0	211,2
13	308,9	343,9	177,4	201,8
14	341,2	366,1	177,2	202,0
15	305,7	318,1	217,2	236,5
16	289,9	296,0	181,8	198,0
17	314,0	327,1	196,8	219,5
18	262,5	281,0	209,5	231,8
19	345,4	361,7	200,8	229,8
20	304,9	317,4	231,9	241,0
21	353,8	375,8	199,3	225,4
22	350,1	374,0	207,4	240,3
23	354,2	386,1	213,4	226,3
24	318,9	337,3	226,5	230,5
ILPF e Cerrados				
Eucalipto	290,6	345,3	171,8	187,0
Pastagem	298,9	339,9	183,6	184,8
Pastagem degradada	319,8	358,1	172,0	192,3
Cerrado 1	503,1	579,8	289,1	315,9
Cerrado 2	483,1	509,1	282,9	284,4
Cerrado 3	532,4	532,4	296,3	313,5
Cerrado 4	578,1	628,4	319,7	332,4
Cerrado 5	617,9	601,9	363,9	323,5
Média	344,6	366,9	220,8	234,8
Relação combustão a alta temperatura / oxidação úmida	1,065		1,063	

<sup>(1)</sup>Os tratamentos 1 a 24 pertencem a três experimentos de longa duração, em Latossolo Vermelho argiloso de cerrado, descritos em Lopes et al. (2013).

mais C orgânico do que o método de oxidação úmida, diferentemente do observado nos solos analisados por Wu et al. (1990), os quais apresentavam características químicas, físicas e mineralógicas distintas dos Latossolos argilosos de Cerrado. Ou seja, a diferença dos valores a mais de C orgânico dos dois estudos foi três vezes menor nos Latossolos de Cerrado (19,44/6,3). Para explicar essa diferença, fatores relacionados aos solos avaliados e às determinações analíticas utilizadas devem ser considerados.

A composição das comunidades microbianas, em diferentes tipos de solo, pode resultar em mudanças no C microbiano passível de extração com  $K_2SO_4$  (Dictor et al., 1998). Esses fatores resultariam em uma maior capacidade de detecção, por oxidação úmida, do C microbiano extraído com sulfato de potássio nos Latossolos de Cerrado, o que pode diminuir a diferença entre os teores de C microbiano pelos dois métodos (oxidação úmida e combustão a alta temperatura).

É importante observar, também, que no estudo de Wu et al (1990) foi utilizado um analisador UV-persulfato, aparelho em que o C orgânico, em presença de persulfato de potássio, é oxidado pela luz ultravioleta a  $CO_2$ , que é quantificado com um detector de infravermelho. Entretanto, conforme reportado



**Figura 2.** Relação entre o C da biomassa microbiana, determinado por oxidação úmida e combustão a alta temperatura. Os pontos representam os valores das três repetições de cada um dos 32 tratamentos, referentes a experimentos de longa duração em Latossolos Vermelho argilosos de Cerrado. \*\*Significativo a 0,01% de probabilidade.

por Joergensen & Brookes (1991), os analisadores UV/persulfato e os de combustão em fornos de alta temperatura possuem desempenho semelhantes, para os valores de Ec (diferença de C orgânico entre as amostras fumigadas e não fumigadas), o que elimina a possibilidade de interferências relacionadas aos aparelhos utilizados.

**Tabela 3.** Carbono da biomassa microbiana, determinado por oxidação úmida e combustão a alta temperatura, de amostras de solo (camada 0-10 cm).

Tratamento <sup>(1)</sup>	Oxidação úmida	Combustão a alta temperatura
	----- (mg C kg <sup>-1</sup> solo)-----	
1	82	108
2	137	121
3	134	162
4	141	149
5	152	154
6	255	380
7	256	297
8	424	389
9	293	307
10	351	327
11	316	340
12	424	369
13	375	405
14	468	469
15	240	236
16	308	279
17	334	307
18	165	143
19	413	376
20	208	218
21	462	429
22	384	383
23	402	456
24	329	303
ILPF e Cerrados		
Eucalipto	350	451
Pastagem	347	457
Pastagem degradada	428	473
Cerrado 1	571	641
Cerrado 2	639	617
Cerrado 3	766	848
Cerrado 4	725	795
Cerrado 5	608	753
Média	359	380
Relação combustão a alta temperatura / oxidação úmida		1,058

<sup>(1)</sup>Os tratamentos 1 a 24 pertencem a três experimentos de longa duração, em Latossolo Vermelho argiloso de Cerrado, descritos em Lopes et al. (2013).

A definição dos valores  $k_{EC}$  – taxa de recuperação do C microbiano após a extração com  $K_2SO_4$  – é, sem dúvida, um dos pontos críticos do método FE, pois depende das propriedades químicas e físicas dos solos. Martens (1995) revisou vários trabalhos em que o fator  $k_{EC}$  foi determinado por diferentes métodos, e obteve valores entre 0,1 e 0,98. Entretanto, conforme observado por Jenkinson et al. (2004), valores-padrão podem ser utilizados para diferentes tipos de solo, sem grandes erros. Voroney et al. (1991), por exemplo, sugeriram o valor de  $k_{EC}$  de 0,35 como um valor geral para determinações da eficiência de extração do C microbiano, enquanto Ross (1990) sugeriu um valor de 0,33.

No presente estudo, pelo fato de o método de combustão em forno de alta temperatura ter detectado 6,3% a mais de C microbiano, propõe-se que esse valor não seja incorporado diretamente ao  $k_{EC}$ , pois é evidente que essa quantidade pode variar de solo para solo. Assim, o cálculo da biomassa deve ser realizado normalmente, com base na diferença entre o C extraído das amostras fumigadas e não fumigadas ( $E_C$ ), com utilização de um fator de correção para estimar a taxa de recuperação do C microbiano após a extração com  $K_2SO_4$ . No presente estudo, optou-se pelo valor geral de  $k_{EC}$  de 0,35 (Voroney et al., 1991). Quando houver necessidade de conversão dos valores de CBM obtidos por combustão a alta temperatura, para oxidação úmida, os mesmos valores deverão ser multiplicados pelo coeficiente de regressão da equação  $y = 0,938x$ , em que  $x$  representa o método de combustão a alta temperatura, e  $y$ , o método de oxidação úmida (Figura 2).

O uso direto do  $k_{EC}$  de 0,45, que já traz embutida a quantidade de C a mais extraída pelo método da combustão, conforme proposto no trabalho de Wu et al. (1990), resulta em subestimação dos valores de C da biomassa microbiana, por não levar em consideração as variações da capacidade de detecção do C microbiano por oxidação úmida dos diferentes solos. No presente estudo, a aplicação do valor de  $k_{EC}$  de 0,45, que traz embutido a quantidade de C a mais extraída por combustão a alta temperatura, a um  $E_C$  hipotético de 100, obtido por combustão a alta temperatura, resultaria em um valor de CBM de 222 mg de C  $kg^{-1}$  de solo, 22% inferior ao valor obtido com o  $k_{EC}$  normal de 0,35, que resulta em um valor de CBM de 285 mg de C  $kg^{-1}$  de solo. Essa diferença entre as duas formas de cálculo é suficiente para influenciar a interpretação dos

valores do CBM, com base nas tabelas desenvolvidas por Lopes et al. (2013).

O lançamento de analisadores de C orgânico a preços mais acessíveis abre a perspectiva de que os laboratórios de pesquisa passem a utilizá-los de forma mais rotineira, em razão das vantagens com automação das análises (maximização da eficiência do uso de mão de obra laboratorial) e baixa geração de resíduos no meio-ambiente. Além desses fatos e da excelente relação com o método de oxidação úmida, o uso desses equipamentos evita erros de operação, como aqueles observados durante a titulação (técnica em que o erro no ponto final da titulação, feito de maneira visual, pode produzir resultados inconsistentes). Assim, nos Latossolos argilosos de Cerrado, recomenda-se o uso do  $k_{EC}$  normal, isto é, sem a incorporação do fator de correção de 1,194, conforme proposto por Wu et al. (1990). Deve-se destacar que os solos utilizados no presente estudo englobavam diferentes sistemas de uso (cultivos anuais sob PD e PC, pastagens, sistemas integrados com floresta e áreas sob vegetação nativa), por isso, para a utilização de equipamentos de combustão a alta temperatura para a determinação do CBM, recomenda-se a equação de regressão  $y = 0,938x$  ( $x = TOC$  e  $y =$  oxidação úmida), para a conversão dos valores para oxidação úmida, o que facilita a comparação de resultados e a sua interpretação.

## Conclusões

1. O método de combustão em forno de alta temperatura detecta, em média, 6,3% mais C orgânico do que o método de oxidação úmida.

2. A equação  $y = 0,938x$  é apropriada para a conversão dos valores de C da biomassa microbiana, determinados por combustão a alta temperatura ( $x$ ), em valores determinados pelo método de oxidação úmida ( $y$ ), para Latossolos argilosos de Cerrado.

## Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Distrito Federal (FAPDF), pelo financiamento parcial da pesquisa; a Lucas Ferreira Lima Sobreira Rolim, Clodoaldo Alves de Sousa, Osmar Teago Oliveira e Valmir Vieira de Sousa, pela valiosa contribuição na condução dos trabalhos; e à Dra. Karina Pulronik, responsável pelo experimento de ILPF.



## Referências

- BROOKES, P.C.; JOERGENSEN, R.G. Microbial biomass measurements by fumigation-extraction. In: BLOEM, J.; HOPKINS, D.W.; BENEDETTI, A. (Ed.). **Microbiological methods for assessing soil quality**. Wallingford: CABI, 2005. p.77-83. DOI: 10.1079/9780851990989.0077.
- CAI, Y.F.; PENG, C.; QIU, S.; LI, Y.T.; GAO, Y.H. Dichromate digestion-spectrophotometric procedure for determination of soil microbial biomass carbon in association with fumigation-extraction. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.42, p.2824-2834, 2011. DOI: 10.1080/00103624.2011.623027.
- CHAER, G.M.; TÓTOLA, M.R. Impacto do manejo de resíduos orgânicos durante a reforma de plantios de eucalipto sobre indicadores de qualidade do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.31, p.1381-1396, 2007. DOI: 10.1590/S0100-06832007000600016.
- DICTOR, M.-C.; TESSIER, L.; SOULAS, G. Reassessment of the  $K_{ec}$  coefficient of the fumigation-extraction method in a soil profile. **Soil Biology and Biochemistry**, v.30, p.119-127, 1998. DOI: 10.1016/S0038-0717(97)00111-9.
- HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J.C.; BRANDÃO-JUNIOR, O.; KASCHUK, G.; SOUZA, R.A. Soil microbial activity and crop sustainability in a long-term experiment with three soil-tillage and two crop-rotation systems. **Applied Soil Ecology**, v.42, p.288-296, 2009. DOI: 10.1016/j.apsoil.2009.05.005.
- JENKINSON, D.S.; BROOKES, P.C.; POWLSON, D.S. Measuring soil microbial biomass. **Soil Biology and Biochemistry**, v.36, p.5-7, 2004. DOI: 10.1016/j.soilbio.2003.10.002.
- JOERGENSEN, R.G.; BROOKES, P.C. Soil microbial biomass estimations by fumigation extraction. **Mitteilungen der Deutschen Bodenkundliche Gesellschaft**, v.66, p.511-514, 1991.
- JOERGENSEN, R.G. Organic matter and micro-organisms in tropical soils. In: DION, P. (Ed.). **Soil biology and agriculture in the tropics**. Berlin: Springer, 2010. p.17-44. (Soil Biology, 21). DOI: 10.1007/978-3-642-05076-3\_2.
- KASCHUK, G.; ALBERTON, O.; HUNGRIA, M. Three decades of soil microbial biomass studies in Brazilian ecosystems: lessons learned about soil quality and indications for improving sustainability. **Soil Biology and Biochemistry**, v.42, p.1-13, 2010. DOI: 10.1016/j.soilbio.2009.08.020.
- LOPES, A.A. de C.; SOUSA, D.M.G. de; CHAER, G.M.; REIS JUNIOR, F.B. dos; GOEDERT, W.J.; MENDES, I. de C. Interpretation of microbial soil indicators as a function of crop yield and organic carbon. **Soil Science Society of America Journal**, v.77, p.461-472, 2013. DOI: 10.2136/sssaj2012.0191.
- MARTENS, R. Current methods for measuring microbial biomass C in soil: potentials and limitations. **Biology and Fertility of Soils**, v.19, p.87-99, 1995. DOI: 10.1007/BF00336142.
- MENDES, I. de C.; HUNGRIA, M.; REIS-JUNIOR, F.B. dos; FERNANDES, M.F.; CHAER, G.M.; MERCANTE, F.M.; ZILLI, J.E. **Biocindicações para avaliação da qualidade dos solos tropicais: utopia ou realidade?** Planaltina: Embrapa Cerrados, 2009. 31p. (Embrapa Cerrados. Documentos, 246).
- NOGUEIRA, M.A.; ALBINO, U.B.; BRANDÃO-JUNIOR, O.; BRAUN, G.; CRUZ, M.F.; DIAS, B.A.; DUARTE, R.T.D.; GIOPPO, N.M.R.; MENNA, P.; ORLANDI, J.M.; RAIMAM, M.P.; RAMPAZO, L.G.L.; SANTOS, M.A.; SILVA, M.E.Z.; VIEIRA, F.P.; TOREZAN, J.M.D.; HUNGRIA, M.; ANDRADE, G. Promising indicators for assessment of agroecosystems alteration among natural, reforested and agricultural land use in southern Brazil. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.115, p.237-247, 2006. DOI: 10.1016/j.agee.2006.01.008.
- 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. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.25, p.863-871, 2001. DOI: 10.1590/S0100-06832001000400009.
- REIS JÚNIOR, F.B. dos; MENDES, I. de C. **Biomassa microbiana do solo**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2007. 40p. (Embrapa Cerrados. Documentos, 205).
- RHEINHEIMER, D. dos S.; CAMPOS, B.-H.C. de; GIACOMINI, S.J.; CONCEIÇÃO, P.C.; BORTOLUZZI, E.C. Comparação de métodos de determinação de carbono orgânico total no solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.32, p.435-440, 2008. DOI: 10.1590/S0100-06832008000100041.
- ROSS, D.J. Estimation of soil microbial C by a fumigation-extraction method: influence of seasons, soils and calibration with the fumigation-incubation procedure. **Soil Biology and Biochemistry**, v.22, p.295-300, 1990. DOI: 10.1016/0038-0717(90)90103-7.
- SEGNINI, A.; SANTOS, L.M. dos; SILVA, W.T.L. da; MARTIN-NETO, L.; BORATO, C.E.; MELO, W.J. de; BOLONHEZI, D. Estudo comparativo de métodos para a determinação da concentração de carbono em solos com altos teores de Fe (Latossolos). **Química Nova**, v.31, p.94-97, 2008. DOI: 10.1590/S0100-40422008000100020.
- SILVA, L.G. da; MENDES, I. de C.; REIS JUNIOR, F.B.; FERNANDES, M.F.; MELO, J.T. de; KATO, E. Atributos físicos, químicos e biológicos de um Latossolo de cerrado em plantio de espécies florestais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, p.613-620, 2009. DOI: 10.1590/S0100-204X2009000600010.
- TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S.J. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. 2.ed. Porto Alegre: UFRGS, 1995. 174p. (UFRGS. Boletim técnico, 5).
- TIVET, F.; SÁ, J.C. de M.; BORSZOWSKI, P.R.; LETOURMY, P.; BRIEDIS, C.; FERREIRA, A.O.; SANTOS, J.B. dos; INAGAKI, T.M. Soil carbon inventory by wet oxidation and dry combustion methods: effects of land use, soil texture gradients, and sampling depth on the linear model of C-equivalent correction factor. **Soil Science Society of America Journal**, v.76, p.1048-1059, 2012. DOI: 10.2136/sssaj2011.0328.
- VANCE, E.D.; BROOKES, P.C.; JENKINSON, D.S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biology and Biochemistry**, v.19, p.703-707, 1987. DOI: 10.1016/0038-0717(87)90052-6.

VORONEY, R.P.; WINTER, J.P.; GREGORICH, E.G. Microbe/plant/soil interactions. In: COLEMAN, D.C.; FRY, B. (Ed.) **Carbon isotope techniques**. San Diego: Academic Press, 1991. p.77-99. (Isotopic techniques in plant, soil, and aquatic biology, 1). DOI: 10.1016/B978-0-12-179730-0.50010-2.

WU, J.; JOERGENSEN, R.G.; POMMERENING, B.; CHAUSSOD, R.; BROOKES, P.C. Measurement of soil microbial biomass C by fumigation-extraction: an automated procedure. **Soil Biology and Biochemistry**, v.22, p.1167-1169, 1990. DOI: 10.1016/0038-0717(90)90046-3.

---

Recebido em 5 de março de 2015 e aprovado em 4 de setembro de 2015