INFLUÊNCIA DA VEGETAÇÃO SOBRE A POPULAÇÃO MICROBIANA E FERTILIDADE DOS SOLOS DE CERRADO

JOSÉ MARIA GUSMAN FERRAZ

Biólogo-EMBRAPA

Orientador: Dr. Paulo de Campos Torres de Carvalho

Dissertação apresentada à Escola Superior de
Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universi-
dade de São Paulo, para obtenção do título
de Mestre em Microbiologia Agrícola.

P I R A C I C A B A

Estado de São Paulo - Brasil

Abril, 1978

Aos meus pais e irmãos,

Aos meus avós,

À minha esposa Suely,

dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS

- Ao Dr. Paulo Campos Torres de Carvalho, pela orientação na realização do presente trabalho.

- À Dra. Elke J. Bran Nogueira Cardoso, pelas sugestões apresentadas e pela revisão dos originais.

- Ao Dr. Luiz A. Rochelle pela classificação das plantas de cerrado.

- Ao colega de curso Henry Even Bajungu pela ajuda na versão para o inglês do Resumo.

- Ao Departamento de Fitopatologia da ESALQ-USP, pela permissão do uso de seus laboratórios.

- À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) que colaborou para a realização do curso de pós-graduação.

- À minha esposa pela sua compreensão, dedicação e ajuda durante a realização deste trabalho.

- Às pessoas e instituições que por lapso involuntário aqui não menciono, os meus agradecimentos.

ÍNDICE

	<u>página</u>
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Generalidades	3
2.2. Influência do pH	8
2.3. Aeração	9
2.4. Toxidez	10
2.5. Ciclo do Carbono	12
2.5.1. Amilólise	12
2.5.2. Decomposição da celulose e hemicelulose	13
2.6. Ciclo do Nitrogênio	19
2.6.1. Amonificação	20
2.6.2. Nitrificação	22
2.6.3. Denitrificação	26
2.6.4. Fixação do nitrogênio	29
2.7. Fósforo	32
3. MATERIAL E MÉTODOS	39
3.1. Roteiro	39
3.2. Solo	39
3.3. Matéria Orgânica	40
3.4. Meios de Cultura	43
3.5. Coleta do solo, da matéria orgânica e incubação dos vários tratamentos	44

3.6. Bio ensaio	46
3.7. Incubação com adição de fosfato natural	46
4. RESULTADOS	47
4.1. Avaliação do número mais provável de microrganismos	47
4.2. Micro-Neubauer	53
4.3. Avaliação de fósforo solúvel	54
4.4. Análise da fertilidade dos solos	55
5. DISCUSSÃO	57
5.1. Número mais provável de microrganismos (ciclo do carbono e nitrogênio)	57
5.2. Micro-Neubauer	63
5.3. Análise da fertilidade dos solos	64
5.4. Avaliação do fósforo solúvel	66
6. RESUMO E CONCLUSÕES	67
7. SUMMARY AND CONCLUSIONS	69
8. LITERATURA CITADA	71
APÊNDICE	89

1. INTRODUÇÃO

Os solos de cerrado no Brasil representam aproximadamente 2 milhões de km², área que expressa a sua importância. Conforme o manuseio destas terras, dependerá a sua melhoria ou empobrecimento, pois processos inadequados as levarão a um empobrecimento ainda maior, ou até mesmo a sua inutilidade total para o aproveitamento agronômico.

O cerrado natural apresenta um equilíbrio entre a vegetação, solo, microrganismos e clima e, uma substituição da vegetação natural por outra poderia levar a alterações no ecossistema, que poderiam se refletir negativamente.

A natureza e decomposição dos resíduos orgânicos desempenham um papel importante na formação do solo, e na determinação de suas características, que dependem de sua constituição mineral, fração orgânica e de atividade microbiana dentre outros. Sabe-se que a aplicação de adubos inorgânicos, matéria orgânica, defensivos agrícolas, e mesmo as mais simples técnicas de cultivo e mudanças no tipo de vegetação, irão resultar numa

modificação da flora microbiana do solo. A reciclagem dos nutrientes depende, essencialmente, da decomposição do liter, que é o principal responsável pelo equilíbrio do ecossistema.

O frequente fracasso da agricultura em certas regiões, é um exemplo da necessidade de se levar em conta estas alterações. Muitas vezes, alguns anos de boa colheita são seguidos de um declínio na produtividade, e este fracasso se deve ao fato que mecanismos biológicos de retorno, que existiam no ecossistema original, não foram conectados ao sistema organizado pelo homem.

O solo de cerrado, sendo um solo senil, ácido, com carências nutricionais e alta concentração de alumínio, merece além de estudos edafológicos e nutricionais, pesquisas microbiológicas, onde seja levada em consideração a dinâmica microbiana, visando um aumento de sua fertilidade.

O objetivo de nosso trabalho é o de analisar comparativamente os diversos grupos funcionais do ciclo do carbono e do nitrogênio, em solos suplementados com diferentes tipos de matéria orgânica vegetal. Certas áreas de cerrado estão sendo usadas para implantação de reflorestamento, daí nosso interesse na utilização de matéria orgânica proveniente da vegetação nativa, comparada com espécies exóticas utilizadas em reflorestamentos. Os mesmos resíduos orgânicos foram utilizados para verificação de sua influência na solubilização de fosfato natural (fosfato de Olinda), em solos incubados.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Generalidades

O estudo dos processos de degradação da matéria orgânica pode ser entendido como o conjunto de numerosos fatores, de natureza química, física e biológica que, interagindo, determinam certas características no solo em que ocorrem. As transformações das várias substâncias de origem animal e vegetal em produtos gasosos e residuais, incluindo humus, minerais, água e produtos de síntese são dependentes primariamente, das condições em que ocorrem e dos microrganismos envolvidos, *QUERO (1943)*, *BACON (1968)*, *BROWN, JACKSON e BURLINGHAM (1968)*. A matéria orgânica presente no solo é variada, compreendendo um grande número de moléculas. A fonte principal é de resíduos vegetais que caem no solo e que sofrem transformações sucessivas, *DOMMERGUES e MANGENOT (1970)*, *BACON (1968)*. Desta forma, grandes quantidades de nutrientes podem permanecer em formas orgânicas não disponíveis às plantas até a sua mineralização completa que é levada a cabo pelos microrganismos, e que pode ser retardada ou acelerada por vários fatores, *GREENWOOD (1968)*, *SWABY (s/d)* e *BACON (1968)*.

Uma modificação no ecossistema, segundo *CALLE e LOZANO* (1972), quase sempre altera o processo de humificação em função das peculiaridades da decomposição dos resíduos orgânicos.

A microfauna do solo, tais como microartrópodos, protozoários, anelidos etc., são de grande importância no processo de degradação da matéria orgânica, que além de revolver o material húmico e o próprio solo aumentando a aeração e drenagem, eliminam metabólitos que complementam as necessidades alimentares dos microrganismos, *MACFADYEN* (1968). A adição de quitina ao solo, por exemplo, é relatada por *MITCHELL, ALEXANDER* (1963) como incrementadora do número total de bactérias, actinomicetos e organismos produtores de quitinase, além de levar a uma redução de *Fusarium* em raízes de feijão em experimentos de casa de vegetação. O micélio e esporos de muitos fungos desaparecem rapidamente quando em contacto com o solo, evidenciando a sua utilização por outros microrganismos, *ALEXANDER* (1964), *LOCKWOOD* (1959), *LOCKWOOD e LINDAPA* (1963), *STEVENSON* (1956), *KRASILNIKOV* (1968) e *MITCHELL, ALEXANDER* (1963).

No decorrer da decomposição dos restos orgânicos formam-se substâncias coloidais que têm um papel importante no estabelecimento da estrutura e estabilidade do solo, *DOMMERGUES e MANGENOT* (1970), *BACON* (1968) e *LOVRES, CONDÉ e ALENCAR* (1976). Uma grande importância é dada à participação dos microrganismos na agregação dos solos, que tem como causas principais: produção e excreção de mucilagem que funciona como agente de cimentação, emaranhado de hifas de fungos e actinomicetos no solo, adsorção na qual as bactérias funcionam como partículas coloidais e com carga negativa, *LOVRES, CONDÉ e ALENCAR* (1976).

A vegetação é um fator ~~essencial~~, determinando a longo prazo a quantidade e a qualidade do humus. Sendo a decomposição dos resíduos ~~ve~~getais e a mineralização do C e N, dependentes do estado do material adicionado: material fresco, sêco, fresco e picado, picado e sêco, influenciam diferentemente o processo, sendo citado que a adição de matéria fresca estimula a germinação de esporos bacterianos *SCHREVEN (1964)*, *MISHUSTIN e MIRSOEVA (1968)* e *CALLE e VELASCO (1971)*.

A maioria dos autores concorda sobre o efeito inibidor que algumas plantas apresentam ao desenvolvimento microbiano de certos grupos funcionais, sendo certo que taninos inibem seletivamente os celulolíticos, *CALLE e VELASCO (1971)*, *VELASCO, VILLALBA e CALLE (1974)*, *VELASCO e CALLE (s/d)* e *BOWEN (1961)*. Os efeitos de taninos na decomposição de compostos orgânicos são maiores em solos sob florestas do que sob gramíneas, pois a vegetação de floresta contém muito mais tanino do que as de gramíneas, *RICE (1964)*.

Vários trabalhos evidenciaram alterações na microflora de vários grupos funcionais, influenciados pela vegetação: *VELASCO, VILLALBA e CALLE (1974)*, constataram a influência de *Juniperus thurifera* L. e *Quercus ilex* L. sp *rotundifolia* (LANK) Schwartz, na microflora. Utilizando extratos hidrossolúveis destes vegetais, os autores verificaram que em pequenas concentrações eles estimulam o crescimento microbiano, e em concentrações mais altas, inibem, chegando inclusive a ser nula para os fixadores aeróbicos de nitrogênio. Estes resultados confirmam a hipótese de inibição de microrganismos por diversos compostos fenólicos, abordada por *CALLE (1968)*.

Certos tipos de liter são inibidores de microrganismos, agindo principalmente sobre as bactérias nitrificantes e fixadoras de nitrogênio, pertencentes aos gêneros *Azotobacter* e *Beijerinckia*, sendo particularmente marcante nas coníferas, *BAUZON et alii* (1969), citado por *TOSIN* (1977), *GALLE e VELASCO* (1972), estudaram as alterações na população microbiana em um solo onde havia um povoamento antigo de *Quercus toza*, reflorestado com *Pinus pinaster*, e usaram como testemunha o plantio remanescente de *Quercus toza*. Neste trabalho, evidenciou-se uma influência negativa da nova vegetação de *P. pinaster* sobre a flora total de actinomicetos e, ao contrário, a forte acidificação do solo devido à implantação de espécie resinosa, provocou uma maior proliferação de fungos. Foram observadas também, alterações nos grupos funcionais dos ciclos do C e N. Outro exemplo é dado por *TOSIN et alii* (1976) e *TOSIN* (1977) analisando a influência da vegetação sobre a microflora do solo, e concluíram que a substituição da mata nativa por *Araucaria angustifolia* e *Pinus elliottii* induziu alterações na fertilidade do solo, resultando num aumento acentuado de alumínio e redução da matéria orgânica, cálcio, magnésio e potássio. O pH do solo foi também diminuído em comparação com a mata nativa. No ciclo do nitrogênio, nos plantios de *Pinus* e *Araucaria*, as microfloras nitrificantes e denitrificantes diminuíram, e observou-se um aumento da microflora amonificante.

POCHON et alii (1959), analisando a influência do plantio de *Eucalyptus camaldulensis* e *Eucalyptus gomphocephala* no Marrocos, verificaram que os resultados da referida implantação, foram desfavoráveis à microflora do solo. As análises (microflora total, microflora dos grupamentos fisiológicos do ciclo do nitrogênio e do carbono) mostraram uma profunda

perturbação do equilíbrio microbiológico. Foi observada a ausência de fixadores aeróbios de nitrogênio (*Azotobacter*) e de anaeróbios (*Clostridium*), a presença de uma microflora celulolítica aeróbia (*Cytophaga* principalmente, e *Cellvibrio*) extraordinariamente ativa no liter e imediatamente abaixo, levando a uma mineralização violenta da matéria orgânica, com formação insignificante de humus, o que, segundo os autores, se deve relacionar com o desequilíbrio da microflora do solo. O pH durante os estudos oscilou entre 6 a 7.

Segundo DOMMERGUES e MANGENOT (1970), existem polifenóis que interferem na resistência de plantas e fungos parasitas, e o fenômeno de uma planta interferir no desenvolvimento de outras plantas também é relacionado a este fator.

CALLE e VELASCO (1972) relataram serem ainda escassas as informações sobre os processos em que atua a população microbiana na decomposição do novo liter e na biossíntese de substâncias húmicas, quando se implantam espécies resinosas sobre as antigas matas. No caso de coníferas estes restos são ricos em polifenóis e taninos catéquicos condensados não hidrolizáveis que, complexando as proteínas e tornando-as não utilizáveis pelos microrganismos e impregnando as membranas, retardam sua decomposição. Por outro lado, podem também arrastar os elementos minerais verticalmente nos solos, lixiviando e acidificando o solo, e a insuficiência de bases impede a polimerização e insolubilização destes compostos hidrolizáveis e agressivos.

Uma das características essenciais das substâncias húmicas é

a resistência à biodegradação. Mas esta resistência não é absoluta e varia segundo as condições do meio, e em particular à presença de colóides argilosos, *DABAN (1976)*.

Uma vez que as comunidades microbianas do solo apresentam uma estabilidade na sua estrutura fundamental e em seu equilíbrio interno, fazendo parte integrante do ecossistema solo-planta, a troca de vegetação provocará alterações entre os microrganismos e a nova associação vegetal, cuja natureza interessa conhecer para poder explicar as trocas que se produzem no processo de humificação, na dinâmica do perfil e na ciclagem de nutrientes, *DOMMERGUES e MANGENOT (1970)* e *SANTOS (1977)*.

2.2. Influência do pH

DOMMERGUES e MANGENOT (1970) consideram que a microflora influi sobre o pH do solo por intermédio dos seus produtos de metabolismo, que podem ser acidificantes (ác. minerais e orgânicos) ou alcalinizantes (por exemplo, amoníaco). A acidificação pode se dar pela produção de gás carbônico, que é o mais abundante produto do metabolismo microbiano. Outra maneira de acidificação pode ser pela produção de ácidos orgânicos como o fórmico, acético, butírico, oxálico, succínico, que refletem a pobreza do solo em certos elementos minerais e em nitrogênio, *ALEXANDER (1967)*. Segundo *SMITH e BURNS (1965)*, a modificação se dá no microhabitat e o pH do solo é praticamente inalterado, a não ser que sejam impostas alterações drásticas no ecossistema.

O pH do solo é determinado por diversos fatores, incluindo

concentração de sais, gás carbônico na solução do solo e os cátions trocáveis presentes. Como estes fatores flutuam, o mesmo ocorre com o pH, e com o movimento da água através do solo, há tendência das bases serem lixiviadas e substituídas por íons hidrogênio. Desta forma uma lixiviação constante leva à formação de um solo ácido. Sob condições ácidas muitas substâncias se tornam mais solúveis e algumas como Ca e P, podem ser lixiviadas, resultando em deficiências nutricionais. Aumentos na solubilização do Al, Fe, Ni e outros compostos, resultam que os seus níveis na solução do solo se tornam tóxicos para os microrganismos e plantas, como ressaltam *HOLDING e JEFFREY (1968)*.

Os fungos desenvolvem-se melhor em solos ácidos que em solos neutros ou alcalinos. Esta predominância em solos com pH menor que 5,0 não é devido ao fato de que eles encontrem condições ótimas de crescimento, mas à redução da concorrência de actinomicetos e bactérias pois, estes últimos suportam menos a acidez, *DOMMERGUES e MANGENOT (1970)*.

2.3. Aeração

Os gases no solo encontram-se em três estados: no estado livre nos poros do solo, dissolvidos na fase aquosa e adsorvidos na fase sólida, *CURRIE (1962)*. Geralmente a atmosfera do solo difere da atmosfera livre pelo alto conteúdo de CO_2 , *SHIELDS e DURRIELL (1964)*. A porcentagem de água no solo é um fator de grande importância, principalmente em solos de textura fina, por apresentarem maior teor de umidade e baixa disponibilidade de oxigênio para o desenvolvimento microbiano, afetando principalmente os aeróbios obrigatórios, *RHAN (1913)*, citado por *MACLAREN e SKUJINS (1968)*,

ALEXANDER (1971), GREENWOOD (1961), GREENWOOD (1968) e TESAROVA (1971). Temporária ou permanentemente, o alagamento do solo leva a carência de oxigênio, que suprime organismos aeróbios obrigatórios, bem como a maioria dos animais e fungos, RUSSELL (1968), SWABY (s/d) e CURRIE (1962); e os anaeróbios que persistem, além de pouco eficientes na decomposição de resíduos, se auto inibem pela produção de ácidos orgânicos, SWABY (s/d), CURRIE (1962) e SKINNER (1968).

A atividade microbiana aumenta com o incremento da umidade até cerca de 60 a 80% da capacidade de campo, e decresce em solos saturados com água, SEIFERT (1960 e 1961), GONDO (1961), citados por MACLAREN e SKUJINS (1968).

A ausência de fauna em áreas áridas é um sério problema, desde que resíduos orgânicos podem persistir sem se decompor durante anos. BONEMISSA (1960), citado por SWABY (s/d), sugeriu a introdução de besouros do esterco em áreas de pastagens, onde o estrume permanecia sem se decompor por vários anos, ainda que, BRISTOL (1919) e MACLAREN e SKUJINS (1968), tenham relatado que alguns microrganismos consigam sobreviver durante períodos variáveis em solos secos ao ar, inclusive bactérias não formadoras de esporos.

2.4. Toxidez

Grande número de elementos são tóxicos ao desenvolvimento da vegetação do solo, DÖBEREINER e ALVAHYDO (1966), HOLDING e JERFFREY (1968), BERTRAN (1972), GRANS (1975) e MOKWUNYE (1975). O alumínio é indicado como causa principal da toxidez em solos de cerrado, e de toxidade a muitas

plantas. A presença de alumínio no solo tende a diminuir a disponibilidade de: fósforo, cálcio, magnésio, nitrogênio, potássio e possivelmente outros elementos, *GOODLAND (1971)*, *TESAROVA (1971)*, *MOKWUNYE (1975)*. O efeito inibidor do alumínio sobre a atividade microbiana se manifesta somente nos solos ácidos, onde o conteúdo de ions Al^{+++} trocáveis é elevado. As bactérias e actinomicetos são notadamente inibidos, os fungos são menos sensíveis, segundo *YOSHIDA e SAKAY (1963)*, citados por *DOMMERGUES e MANGENOT (1970)*.

As transformações de substâncias orgânicas e inorgânicas levadas a cabo pela ação dos microrganismos no solo, afetam direta e indiretamente a solubilidade e o estado do alumínio, assim os processos microbianos de oxidação do S solubilizam quantidades consideráveis de alumínio, o mesmo pode-se dizer de ácidos nitrosos em solos de escassas bases, *QUERO (1943)*. Um pequeno aumento na matéria orgânica leva a uma redução substancial no alumínio trocável, possibilitando uma melhoria das colheitas quando se adiciona matéria orgânica, *GRANS (1975)*.

No solo, o efeito depressivo indireto do alumínio sobre a atividade microbiológica se exerce pelo complemento:

- da acidificação, que vai paralela com o teor elevado de alumínio trocável, *GOODLAND (1971)* e *GRANS (1975)*.

- da formação de complexos matéria orgânica-alumínio, dificilmente biodegradáveis, *QUERO (1943)*, *DOMMERGUES e MANGENOT (1970)* e *MOKWUNYE (1975)*.

- de bloqueio de certos elementos indispensáveis, *TESAROVA*

(1971), *GOODLAND (1971) e MOKWUNYE (1975)*.

A riqueza do solo em quantidades consideráveis de um elemento não deve ser considerada apesar que seus níveis tóxicos, como capaz de uma esterilização do solo. Em todos os solos estudados encontrou-se uma flora resistente. Isto se deve provavelmente a uma produção natural de substâncias quelantes que moderam a ação tóxica dos metais aos microrganismos, *BERTRAND (1972)*.

2.5. Ciclo do Carbono

2.5.1. Amilólise

Segundo *ALEXANDER (1967)*, o amido é, após a celulose, o mais comum das hexoses nas plantas, sendo a maior reserva de carboidratos para as mesmas. O amido está presente transitoriamente nas folhas, sobretudo nas dicotiledôneas, sendo acumulado nos órgãos de reserva (raízes, rizomas, tubérculos e grãos), mas também nos caules e partes aéreas. Em condições normais ele é mobilizado antes da morte das células, vindo ao solo em quantidades mais ou menos reduzidas. O amido é uma mistura de proporções variáveis, segundo as espécies e variedades constituintes, de amilose e amilopectina. Os microrganismos podem também acumular amido em suas células. Ele desaparece rapidamente quando sujeito à atividade da população do solo, e sua decomposição prossegue até seu desaparecimento, e somente então, ocorre em taxas elevadas a hidrólise da celulose e hemicelulose, *ALEXANDER (1965)*.

CHALVIGNAC (1953) afirma que a adição de amido ao solo não estimula o desenvolvimento de uma microflora especial. Conclui que a degra-

dação no solo ocorre em duas fases: primeiramente amido é convertido à dextrina e posteriormente ocorre fermentação destas substâncias simples. *BAR-JAC e CHALVIGNAC (1954)* mostraram que a degradação do amido ocorre rapidamente em solos férteis, menos rápido em solos não férteis e vagarosamente em solos turfosos.

ALEXANDER (1961) cita que as bactérias, fungos e actinomicetos têm a capacidade de hidrolizar amido nas mais variadas condições ambientais, e os solos frequentemente contém 10^6 a 10^7 ou mais microrganismos por grama de solo. Os microrganismos são particularmente numerosos nas proximidades das raízes das plantas, mas a sua incidência proporcional não é significativamente diferente daquela do solo tomado a distância da planta. Há evidências, segundo *LYNCH e COINOIR (1956)*, citados pelo mesmo autor, de que as enzimas usadas por microrganismos na decomposição do amido, não são apreciavelmente afetadas pelas argilas.

2.5.2. Decomposição da celulose e hemicelulose

A decomposição da celulose tem um significado biológico especial no ciclo do carbono, cerca de 10×10^6 toneladas de carbono são fixadas anualmente na forma de celulose pela vegetação, quantidade que deverá ser decomposta no mesmo espaço de tempo. Desta maneira, uma especial atenção tem sido dada à atuação de microrganismos na degradação deste composto, *DOMMERGUES e MANGENOT (1970)*, *REESE (1952)* e *OLUTIOLA (1968)*

A aptidão para degradar celulose se encontra em uma grande diversidade de microrganismos: bactérias, actinomicetos, fungos filamento-

ses, mixomicetos, protozoários, e nunca foi encontrada em leveduras e algas, *IMSHENETSKY (1968)*. A ação dos fungos sobre a celulose é sem dúvida menos rápida e menos espetacular que a das mixobactérias, porém como a sua distribuição é mais ampla e seu poder de penetração mais elevado, admite-se que seu papel na natureza seja mais importante que das bactérias, *ALEXANDER (1961)*.

Os fatores ecológicos mais importantes na decomposição da celulose parecem ser, o potencial de óxido redução, a estrutura e umidade, o pH, a temperatura e o teor de nitrogênio assimilável, porém com variações de intensidade de um solo para outro, *IMSHENETSKY (1968)*, *GRAY e WILLIAMS (1971)*, *CLARK (1968)* e *ESCOBAR et alii (1972)*. O aumento da temperatura é acompanhado de um aumento de enzimas celulolíticas, até aproximadamente 50°C, *ESCOBAR et alii (1972)*.

As bactérias que decompõem a celulose anaerobicamente são principalmente aquelas formadoras de esporos, *IMSHENETSKY (1968)*, *MISHUSTIN e MIRSOEVA (1968)*. A fixação de nitrogênio atmosférico por microrganismos é favorável à decomposição da celulose. Isto porque, fungos e actinomicetos celulolíticos produzem geralmente, a partir de celulose, intermediários solúveis que podem ser utilizados por *Azotobacter*. Quando *Sporocytophaga* e *Azotobacter* crescem simultaneamente em celulose, um bom crescimento de *Azotobacter* pode ser obtido por protocooperação com decompositores aeróbios de celulose, quando os dois são inoculados juntos em meio apropriado, *IMSHENETSKY (1968)*. Por isso, em condições de solo, na decomposição da celulose não se acumulam glicose nem celobiose em quantidades apreciáveis, uma vez que são rapidamente utilizados como fonte de carbono também pela microflora

secundária, que sempre acompanha a dos microrganismos degradadores da celulose, onde também encontramos as bactérias fixadoras do nitrogênio, *QUERO (1943) e IMSHENETSKY (1968)*.

A relação C/N nos microrganismos é mais baixa que nos vegetais superiores. Portanto, quando se adiciona matéria orgânica em um solo, a microflora que a decompõe sente um deficit de nitrogênio, deficit que os microrganismos tendem a compensar, recorrendo às reservas do solo, que são geralmente pequenas, *DOMMERGUES e MANGENOT (1970), GREENWOOD (1968) e ESCOBAR et alii (1972)*. A flutuação dos microrganismos degradadores da celulose é relacionada com a dinâmica do N solúvel no solo, *NAPLEKOVA (1964)*, citado por *DOMMERGUES e MANGENOT (1970), BIRCH (1958), VERONA (1972), KUBISTA (1972), SZEMBER et alii (1972) e TODOROVA e BENEVSKY (1971)*. A forma de nitrogênio incorporado ao solo é um fator que afeta marcadamente a decomposição da celulose. Nitrogênio orgânico ou mineral adicionado leva a um aumento da microflora anaeróbia e aeróbia, respectivamente, *TESAROVA (1971)*. A presença de nitrogênio, principalmente na forma amoniacal, facilita a decomposição da celulose em solos neutros e alcalinos, *QUERO (1943) e CLARK (1968)*.

Um outro fator limitante à celulólise parece ser a deficiência de fósforo, e o nitrogênio o é para toda a decomposição de material orgânico, *KONG e DOMMERGUES (1973a), KONG e DOMMERGUES (1973b)*. A degradação da celulose parece ser também influenciada por outros grupamentos funcionais, *BAREA (1970) e KONG e DOMMERGUES (1972)*.

O ótimo de umidade para a decomposição da celulose é cerca

de 60% da capacidade de campo, entretanto, fungos e bactérias podem iniciar a decomposição da celulose em umidades baixas, *FEHER (1946)*, citado por *IMSHENETSKY (1968)*. O autor relata ainda a presença de bactérias celulolíticas em areias do Saara, onde virtualmente não chove. *NOVOGRADSKY (1946)*, citado pelo mesmo autor, observou *Penicillium* crescendo em solos onde a umidade era cerca de 3,3%. A temperatura onde ocorre celulólise pode variar de 15°C até 65°C, *BONISCHOVA et alii (1970)* e *DOMMERGUES e MANGENOT (1970)*. Os que agem em temperaturas altas são os termófilos, como a maior parte dos *Clostridium* anaeróbios para os quais o crescimento é escasso abaixo de 50°C; são considerados também como termófilos os actinomicetos *Streptomyces*, *Micromonospora*, e os fungos dos gêneros *Chaetomium* e *Humicola*, porém eles podem agir como mesófilos, crescendo em temperaturas de 20°C, segundo *COONEY e EMERSON (1964)*, citados por *DOMMERGUES e MANGENOT (1970)*. Mas os celulolíticos do solo são em sua grande maioria mesófilos, com exigências muito variáveis, segundo as espécies ou raças, *ALEXANDER (1967)* e *BONISCHOVA et alii (1970)*.

BASU e GHOSE (1960) notaram que a produção de celulase por fungos é estimulada pela presença de hemicelulose. O termo hemicelulose designa um conjunto heterogêneo de substâncias variáveis segundo as espécies e as variedades, difíceis de analisar quimicamente. Análises de materiais vegetais mostraram que a hemicelulose pode constituir uma fração importante da matéria orgânica. Assim, os xilanos que são os glucídios secundários mais abundantes na natureza, representam 15 a 30% nas palhas, 20 a 25% na madeira das dicotiledôneas e 7 a 12% na madeira das coníferas, *DOMMERGUES e MANGENOT (1970)*. *GRAY e WILLIAMS (1971)* evidenciam que as hemiceluloses ocorrem nas paredes espessas das células, nos troncos, raízes, folhas e sementes de

plantas. Elas são de dois tipos distintos, poliuronóides, que consiste de repetidas unidades de açúcares e ácido urônico, e celulosanas, que consiste somente de açúcares. Quimicamente, elas não são relacionadas com a celulose pelo seu conteúdo com 5 carbonos açúcares e 6 carbonos açúcares, por exemplo, xilose, arabinose, galactose e manose. Entre os tipos mais comuns estão as pectinas, pentosanos, mananos, xilanos e galactanos.

A taxa de hemicelulose diminui rapidamente nos restos vegetais colocados no solo, quando se compara com celulose. No período de três meses, segundo *SCHOBINGER (1968)*, citado por *DOMMERGUES e MANGENOT (1970)*, no caso de palha inoculada com solução de solo, 95% de holocelulose (celulose + hemicelulose) foram destruídos, enquanto que para a celulose sozinha, as perdas atingiram 96 a 98%. Isto parece indicar que existe um período de decomposição bastante ativa seguida de uma nítida diminuição. Se por exemplo, 60% das pantosanas são decompostas em dois meses, precisamos de quatro anos para que elas sejam decompostas inteiramente. Assim, o nível de hemicelulose tende a se estabilizar nas condições naturais, e pode mesmo, posteriormente, ser elevado em pequena quantidade, de modo que nos solos orgânicos ele se estabiliza entre 10 e 15%. Estes fatos podem ter duas explicações, que não se excluem as diferentes substâncias classificadas entre as hemiceluloses e que são desigualmente lábeis: os xilanos e mananos são frágeis e desaparecem primeiro, enquanto o galactanos parecem mais resistentes, mesmo "in vitro". A decomposição de xilanos purificados torna-se extremamente lenta após algum tempo, segundo *SORENSEN (1957)*, citado por *DOMMERGUES e MANGENOT (1970)*.

Ao mesmo tempo que as hemicelulosas dos resíduos vegetais

são degradadas, a microflora sintetiza outras substâncias pertencentes à mesma categoria: glucanos e pentosanos das membranas esqueléticas dos fungos filamentosos, mananos das leveduras e glucanos e levanos das cápsulas bacterianas, *ALEXANDER (1967)*. Consequentemente, ocorre o enriquecimento em áciurônicos que certos autores observaram no solo, mas a sua dosagem em material complexo é difícil, segundo *DEVEL et alii (1960)*, citados por *DOMMERGUES e MANGENOT (1970)*. A atividade hemicelulolítica é mais amplamente distribuída que a atividade celulolítica, embora em geral, a hemicelulolise se desenvolva paralelamente à celulolise, ocorrendo em intensidades diferentes mesmo que fatores externos exerçam efeitos semelhantes nos dois fenômenos, *ALEXANDER (1967)*, *GRAY e WILLIAMS (1971)* e *BACON (1968)*. A decomposição das hemiceluloses é diminuída em anaerobiose. Os fungos desempenham o papel principal em meio ácido e travam concorrência com as bactérias nos solos neutros. A temperatura ótima para ação das xilanases é de 37°C com tendência termófila dos actinomicetos, que preferem 45 a 50°C, *DOMMERGUES e MANGENOT (1970)*.

Como na celulolise, a decomposição da hemicelulose está na dependência de um teor suficiente de nitrogênio. Em palhas enriquecidas em nitrogênio e sais minerais, as hemiceluloses são degradadas cinco vezes mais rápido que no mesmo produto não enriquecido. Os tecidos jovens são atacados mais rapidamente que os velhos pois, a natureza das hemiceluloses modifica com a idade, pelo seu estado físico transformado ou pelo estabelecimento de ligações com outros componentes da parede. Assim, no caso da madeira, as pentosanas livres são atacadas primeiro, a seguir a degradação das hemiceluloses progride paralelamente aquela da celulose, qualquer que seja o tipo de

podridão, *DOMMERGUES e MANGENOT (1970)*.

2.6. Ciclo do Nitrogênio

Nitrogênio, fósforo e potássio são os principais nutrientes das plantas, derivados do solo, e daí a importância que assume a disponibilidade biológica destes elementos. O nitrogênio é o mais dependente das transformações microbianas, ao passo que o carbono é reciclado com liberação de CO_2 para a atmosfera, o nitrogênio tem ponto crítico na transformação de N gasoso e do N dos resíduos vegetais e animais, em formas assimiláveis pelas plantas superiores, *ALEXANDER (1961) e CLARK (1968)*. O nitrogênio é o elemento chave da molécula das proteínas, base de toda a vida. Sua deficiência reduz marcadamente a produção agrícola, em quantidade e qualidade. Sua disponibilidade no solo é matéria de constante preocupação, especialmente devido ao fato que é um dos poucos nutrientes do solo perdido por volatilização e lixiviação, *FREIRE (1975), DELWICHE e BRYAN (1976) e GREENWOOD (1968)*.

O nitrogênio pode ser incorporado ao solo de várias maneiras: água de chuva, fixação não simbiótica, fixação simbiótica, fertilizantes nitrogenados (orgânicos e inorgânicos). A maior parte dos nitrogenados do solo, ou a eles adicionados, está na forma orgânica não assimilável, além disso, uma parte do N mineral encontra-se numa forma não trocável, "amoníaco fixado" nos minerais argilosos. A mobilização e a liberação do elemento é essencial portanto, para a fertilidade do solo, *ALEXANDER (1961), DOMMERGUES e MANGENOT (1970) e BACON (1968)*.

A mineralização do N é análoga à liberação do CO_2 dos mate-

riais carbonados, pelo fato de ambos os processos resultarem em formas inorgânicas, e de constituírem os únicos meios de regenerarem os nutrientes em forma utilizável pelos vegetais verdes. Pela mineralização, o nitrogênio orgânico desaparece e acumula-se amônia e nitrato em duas fases distintas, amonificação e nitrificação, ALEXANDER (1961), DOMMERGUES e MANGENOT (1970) e SWABY (s/d).

2.6.1. Amonificação

A amônia é tipicamente um subproduto do metabolismo microbiano, cujo acúmulo representa a sobra da demanda de nitrogênio do desenvolvimento de vasta parte da microflora. Estimativas da população de amonificantes em diversos solos, revelam aproximadamente 10^5 a 10^7 organismos por grama de solo, o que, entretanto, é altamente variável com o substrato adicional, ALEXANDER (1961).

Quase todas as bactérias, fungos e actinomicetos atacam algum composto de nitrogênio, sendo variável a rapidez e os compostos utilizados, de acordo com os gêneros e espécies envolvidas. A diversidade fisiológica dessa flora faz com que o nitrogênio seja mineralizado nas mais extremas condições, ALEXANDER (1961) e BACON (1968). A adição de proteínas ao solo favorece o desenvolvimento das bactérias *Bacillus*, *Pseudomonas*, assim como de *Clostridium*, *Serratia* e *Micrococcus*, HIRTE (1972). Muitos fungos decompõem proteínas, aminoácidos e outros nitrogenados como fonte de carbono e nitrogênio, sendo que os aminoácidos também podem ser fontes de enxofre. A liberação de amônia é frequentemente menor do que a resultante da decomposição pelas bactérias pois, mais N é usado na síntese celular. Sem dúvida, os

fungos predominam na proteólise em certos solos, especialmente em ambientes ácidos. Após a degradação inicial pelos proteolíticos, outros organismos aprecem utilizando os produtos metabólicos dos primeiros. A produção de N inorgânico é maior em solos neutros, entretanto, a acidez deprime, mas não altera a produção, *ALEXANDER (1961), BIEDERBECK e CAMPBELL (1973)*.

A umidade, pH, aeração, temperatura e suprimento de nutrientes inorgânicos governam a velocidade de mineralização, além de existir o efeito benéfico da argila e lignina, *ALEXANDER (1961), DOMMERGUES e MANGENOT (1970) e CAMPBELL e BIEDERBECK (1972)*. Melhor mineralização ocorre em temperaturas próximas dos 35°C, *STANFORD e SCHWANINGER (1973)*.

A uréia, além de fertilizante químico, ocorre no solo pela decomposição dos ácidos nucleicos, e nos excrementos dos animais, o que lhe dá grande importância. Bactérias, fungos e actinomicetos sintetizam urease e portanto, podem utilizar uréia como fonte de N. Em geral, a degradação da uréia é realizada mais ativamente em condições aeróbias, *ALEXANDER (1961) e ROSS e BRIDGER (1977)*, e uma maior mineralização foi observada por *ROSS e BRIDGER (1977)*, ocorrendo a uma profundidade de 0-4 cm que de 0-8 cm. A adição de proteínas de origem animal ou vegetal não é estimulante para todas as espécies proteolíticas "in vitro", mas apenas eles são capazes de competir pelo substrato neste ambiente. A adição de substâncias naturais altamente nitrogenadas, como os alimentos vegetais, caseína hidrolizada e uréia, tem sido usadas para estudos de fatores que controlam a amonificação, e como enriquecimento para amonificantes, *POCHON (1968)*. A adição de NH_4 aumenta o número de bactérias e actinomicetos, mas não influi significativamente no número de fungos, *BIEDERBECK e CAMPBELL (1973)*.

2.6.2. Nitrificação

A mineralização do N termina com a formação de amônia, forma mais reduzida do N inorgânico. É o ponto de partida para o processo de nitrificação, ou seja, formação biológica de nitrito e nitrato, *ALEXANDER (1961), DOMMERGUES e MANGENOT (1970) e CLARK (1968)*.

A importância dos microrganismos nitrificantes está na capacidade de produzir nitrato, a maior fonte de N para as plantas superiores, *GRAY e WILLIAMS (1971)*. A nitrificação biológica tem sido também usada como indicadora da fertilidade de solos, e um bom crescimento de plantas é consideravelmente dependente da transformação, *CHASE, CORKE e ROBINSON (1968)*. Os autores ainda consideram a sugestão de vários pesquisadores a cerca da assimilação preferencial de amônia pelas coníferas, e de nitratos pelas decíduas.

A proporção de NH_4 convertido em NO_3 tende a decrescer com a profundidade e com o decréscimo da temperatura de incubação do solo, *ROSS e BRIDGER (1977)*. O pH também exerce uma grande influência na nitrificação. Em ambientes ácidos a marcha é lenta, mesmo com o aumento de NH_4 , estando o pH ótimo em torno de 7,8, *THEOBALDI e SMITH (1974), CALLE e VELASCO (1972), WEBER e GAINER (1962), CHASE, CORKE e ROBINSON (1968), ALEXANDER (1961) e ALEXANDER (1968)*. Sendo alcalina, a amônia inicialmente eleva o pH do solo, na faixa de aplicação, tendo-se constatado valores de até 9,5, *SMILEY e PAPENDICK (1967) e KIEHL e ROCHA FILHO (1972)*. Uma vez iniciada a nitrificação, o pH sofre um decréscimo que leva a uma forte acidificação local, *KIEHL e ROCHA FILHO (1972)*, sem contudo alterar substancialmente a relação

do solo como um todo. Solos de textura arenosa apresentam maior variação de pH, devido o seu baixo poder tamponante, *KIEHL e COBRA NETTO (1976)*.

O oxigênio é um fator limitante na nitrificação, que cessa em condições de ausência de O_2 . Assim, a estrutura do solo afeta o acúmulo de nitrato; a umidade do solo afeta especialmente pela relação com a aeração pois, o encharcamento limita a difusão de O_2 , *GRAY e WILLIAMS (1971)*, *BRANDT, WOLCOTT e ERICKSON (1964)*, *GREENWOOD (1968)*, *ROSS e BRIDGER (1977)*, *CAMPBELL e BIEDERBECK (1972)* e *STANFORD e SCHWANINGER (1973)*. Por outro lado, é citado que em pressões normalmente elevadas de O_2 , a produção de nitratos é também baixa, *DOMMERGUES e MANGENOT (1970)*, *CARK (1968)* e *GREENWOOD (1962)*.

A adição de fosfato pode aumentar a taxa de proliferação de bactérias nitrificantes, *CHASE, CORKE e ROBINSON (1968)*, sugerindo que em solos deficientes em fósforo, a população de nitrificantes pode ser baixa pela limitação de fosfatos.

O tipo de cobertura vegetal afeta o número e a atividade de microrganismos nitrificantes. Com muitas culturas não há preferência, entretanto, uma mesma espécie tem influência variável conforme o solo. Raízes de *Pinus* (*Pinus* spp) em solos ácidos possuem baixa atividade de nitrato redutase, e esta atividade depende do nível de NO_3 e pH da solução nutritiva, *THEOBALDI e SMITH (1974)* e *RUSSELL (1968)*. A nitrificação tem lugar entre 5 e 45°C, sendo muito lenta fora destes limites, estando o seu ótimo situado entre 30 e 35°C, *ALEXANDER (1961)*. Há evidências que a nitrificação é proporcional à capacidade de troca de cátions. Ela tem lugar na película de água que envolve as partículas do solo, *ALEXANDER (1961)* e *RUSSELL (1968)*.

Nitrosomonas e *Nitrobacter* são autótrofos obrigatórios, CHASE, CORKE e ROBINSON (1968), e sem estágio heterótrofo em seu ciclo de vida, utilizam somente CO_2 e carbonatos como fonte de carbono, DOMMERGUES e MANGENOT (1970). Em geral, *Nitrosomonas* e *Nitrobacter* são achadas juntas, se assim não fôsse, os nitritos se acumulariam a níveis tóxicos para as plantas e microrganismos, BERTRAND (1972), DOMMERGUES e MANGENOT (1970). *Nitrobacter* é citada como sendo mais sensível às condições adversas como baixas e altas temperaturas, e secas, do que *Nitrosomonas*, JUSTICE e SMITH (1962).

A evidência de que a oxidação da amônia excede as quantidades de nitritos formados foi confirmada em alguns casos; na natureza, em solos neutros ou alcalinos, toda a amônia oxidada é recobrada como nitrito ou nitrato, ALEXANDER (1961) e HEILMAN (1974).

O incremento da tensão osmótica e da concentração salina são apontados como causadoras do decréscimo na nitrificação, embora a atividade microbiana total seja pouco afetada, JOHNSON e GUENZI (s/d). A adição de glucose e caseína hidrolizada ao solo e em meios de cultura inibe a nitrificação. Esta inibição não é causada pela toxidez direta desta adição, mas provavelmente resulta de um efeito estimulador em organismos heterotróficos, e o aumento da amônia seria produto de seus metabolismos, THEOBALDI e SMITH (1974). Isto se deve, provavelmente, à sensibilidade de *Nitrobacter* aos sais de amônia em ambientes alcalinos, RUSSELL (1962) e STOJANOVIC e ALEXANDER (1958).

HEILMAN (1974) explica que a baixa capacidade de nitrifica-

ção de alguns solos resulta primariamente da baixa população de organismos nitrificantes, e que o aumento do nível de nitrato, resultante do tratamento com uréia, está relacionado com o crescimento da população de organismos nitrificantes, em resposta à adição de nitrogênio amoniacal. *ROBINSON (1963)* mostrou que algumas gramíneas removem rapidamente ions amônia do solo, portanto competindo diretamente com bactérias nitrificantes do solo. É conhecido ainda que diversas plantas, incluindo gramíneas e flores de verão, produzem substâncias antimicrobianas, como ácido clorogênico e taninos, que suprimem a nitrificação, *BOUGHY et alii (1964)*, *RICE (1965)* e *STIVEN (1952)*. *WELCH e SCOTT (1960)* citam que bentonita e illita fixam a amônia, que é nitrificada vagarosamente. A adição de K^+ pode também reduzir o processo.

A habilidade em produzir nitrito em pequenas quantidades é relativamente frequente entre bactérias e actinomicetos, e frequentemente este nitrito desaparece através de assimilação, especialmente porque a demanda de nitrogênio é grande, devido a níveis excessivos de carbono. A nitrificação por organismos heterotróficos é hoje um fato comprovado. Existe uma dificuldade em seu isolamento, pois não podem ser isolados por enriquecimento preferencial, já que outros heterotróficos serão também estimulados no meio com substratos orgânicos, *CUTLER e MUKERJI*, citados por *ALEXANDER (1961)*. A evidência presente é de que os heterotrofos sejam de reduzida responsabilidade na produção de nitritos e nitratos no solo, podendo porém se destacar em ambientes atípicos, *ALEXANDER (1961)*. Segundo *CROCOMO (1967)*, a nitrificação heterotrófica foi observada em fungos por *SCHMIDT (1954)* em *Aspergillus flavus* e por *MALAVOLTA et alii (1955)* em *Aspergillus wentii*. Esta oxidação de NH_4^+ a NO_3^- heterotroficamente pode ser seguida ma-

nométricamente e quimicamente. A formação de NO_2^- a partir de NH_4^+ é de ocorrência mais geral que a nitrificação. Tem-se sugerido que a enzima peroxidase está comprometida nessa oxidação. ARZOLLA (1959), trabalhando com *Aspergillus wentii* Whermam, observou que o ótimo de temperatura para o desenvolvimento do fungo, e da nitrificação heterotrófica, estava entre 25 e 35°C.

Propõe-se que o termo nitrificação seja definida como: a conversão de nitrogênio em compostos orgânicos ou inorgânicos a partir de uma forma mais reduzida para uma mais oxidada, NICHOLAS (1963), citado por CROCOMO (1967).

2.6.3. Denitrificação

O trabalho dos microrganismos no solo, transformando o nitrogênio orgânico em inorgânico, imobilizando-o outra vez em forma não disponíível, ou oxidando-o pela nitrificação, leva muitas vezes à perda pela ocorrência de certas transformações que conduzem à volatilização, isto é, N gasoso, DELWICHE e BRYAN (1976), YUFERA e DORRIEN (1973) e SKINER (1968). Esta perda tem efeito maléfico com respeito à produção vegetal, pois diminui a reserva de nitrogênio no solo, e é ocasionada pela redução do nitrato, e liberação do N molecular ou óxido nitroso, ALEXANDER (1961) e DOMMERGUES e MANGENOT (1970). Cerca de 1/3 do N aplicado como fertilizante no solo pode ser perdido por denitrificação, SMITH (1977). A aplicação de N em formas de mais lenta transformação, como compostos de formaldeído de uréia, tem sido usados para diminuir as perdas de nitrogênio, KOIKE (1961) e YUFERA e

DORRIEN (1973).

A denitrificação pode ser biológica ou química, *DELWICHE e BRYAN (1976)*. Na denitrificação biológica, o nitrogênio é volatilizado para a atmosfera através do mecanismo respiratório de certos microorganismos, ou da utilização do nitrato ou nitrito para o seu desenvolvimento, o que seria uma assimilação, *CADY e BARTOLOMEU (1960)*, citados por *ALEXANDER (1961)*. A verdadeira denitrificação é limitada a certas bactérias; fungos e actinomicetos não são implicados. Contudo, qualquer organismo que cause mudança no pH em meio de cultura, suficiente para permitir volatilização da amônia, de composição de nitritos, ou reação não enzimática de amônia ou aminados com nitritos, será causa de perda gasosa. Este fato tem sido observado em laboratório. Entre os fatores que influenciam a denitrificação estão: nível de O_2 , pH, fatores de crescimento e temperatura, *DELWICHE e BRYAN (1976)* e *GREENWOOD (1968)*. Outros fatores são também apontados como influenciadores: vegetação, natureza e quantidade de matéria orgânica, *ALEXANDER (1961)* e *DOMMERGUES e MANGENOT (1970)*.

O oxigênio afeta de duas formas a denitrificação, de um lado há denitrificação quando O_2 é insuficiente à demanda microbiológica, ao mesmo tempo O_2 é necessário para produção de nitratos e nitritos, os quais são essenciais para a denitrificação, *ALEXANDER (1961)*. A denitrificação é tida como ocorrendo apenas em condições anaeróbicas, *ALEXANDER (1961)*, *SKINER (1968)*, *DELWICHE e BRYAN (1976)*, embora este fato seja atualmente sujeito a sérias controvérsias, *BOLLAG, ORCUTT e BOLLAG (1970)*, *DELWICHE e BRYAN (1976)* e *SKINER (1968)*. Se não há adição de nitratos, deve haver microambientes aeróbios para os nitrificadores, e sítios anaeróbios para os deni-

trificadores, ou durante períodos chuvosos intermitentes, formação de nitratos e redução posterior BREMER e SHAW, citados por GREENWOOD (1968), LOEWENSTEIN *et alii* (1957). Similarmente, denitrificação poderá ocorrer em solos de arrozais recebendo sais amoniacais pois, a amônia é oxidada na zona superior de penetração do O_2 e a lixiviação do nitrato formado leva-o para a zona anaeróbia inferior, ALEXANDER (1961). A denitrificação é desta forma relacionada diretamente com a umidade, devido ao fator de difusão do O_2 , DELWICHE (1966) citado por SKINER (1968), ALEXANDER (1961), DOMMERGUES e MANGENOT (1970), YUFERA e DORRIEN (1973) e SMITH (1977).

A denitrificação é um processo neutrófilo, pois seu pH se situa entre 7,0 e 8,6, DOMMERGUES e MANGENOT (1970), e é inibida em altas concentrações de hidrogênio. O pH do solo influi não somente sobre a quantidade total de produtos gasosos formados, mas também na sua proporção relativa, BOWMAN e FOCHT (1974), DOMMERGUES e MANGENOT (1970), DELWICHE e BRYAN (1976) e THEOBALDI e SMITH (1974). Próximo de pH 7,0 algum N_2O é formado, mas ele é pouco reabsorvido, obtendo-se boa denitrificação. Esta reação é aparentemente afetada por condições ácidas, NO é produzido a baixos níveis entre pH 6,0 e 7,0, mas sob condições mais ácidas, NO é produzido em altos níveis. Aproximadamente 20% do nitrogênio envolvido a pH 5,0 é perdido em temperaturas próximas dos $30^{\circ}C$, geralmente, mas não sempre, favorece os denitrificadores, DELWICHE e BRYAN (1976). Para BREMER e SHAW (1958), citados pelos mesmos autores anteriores, o ótimo de temperatura para a denitrificação situa-se entre 60 e $65^{\circ}C$, mas altas temperaturas usualmente citadas, são provavelmente resultantes de reações não biológicas, DELWICHE e BRYAN (1976) e SKINER (1968).

O cultivo reduz a denitrificação, devido à assimilação pelas plantas de NO_3^- disponível, *ALEXANDER (1961)*, ao passo que a denitrificação pode ser estimulada pela adição de substâncias doadoras de elétrons ao nível da rizosfera, ou por intermédio de resíduos aéreos (liter) ou subterrâneos (raízes), *DOMMERGUES e MANGENOT (1970)*. A relação C/N em torno de 2 mostrou-se boa para promover alta taxa de denitrificação. Taxas altas de relação C/N ou alta concentração de glicose, retarda a denitrificação, com o crescimento de fungos e subsequente queda do pH, *BOWMAN e FOCHT (1974)*.

A extensão em que as reações não biológicas contribuem para a denitrificação observada é de difícil avaliação. A conversão de ions nitratos em produtos gasosos em condições estéreis é geralmente favorecida pelo ion hidrogênio mas, mesmo a pH 7,0, apreciável reação pode ser observada, *DELWICHE e BRYAN (1976)*, *CLARK, BEARD e SMITH (1960)*, citados por *ALEXANDER (1961)*.

2.6.4. Fixação do nitrogênio

A fixação do N pode ser de natureza biológica (fixadores simbioses e fixadores de vida livre) ou através de meteoritos, adsorção de amônia atmosférica ou processos industriais, *DOMMERGUES e MANGENOT (1970)* e *FAHRAEUS e LJUNGGREN (1968)*. O nitrogênio é um dos elementos mais importantes à vida como a conhecemos. É o material essencial na construção das proteínas e outras moléculas da célula viva. Entretanto, apesar de sua abundância na atmosfera, ele é pouco disponível pois, pode ser incorporado na maioria dos sistemas de vida, através de suas formas "fixadas", isto é, combinado com outros elementos. No ar atmosférico, o nitrogênio existe prin-

principalmente na forma diatônica de gás (N_2) inerte, para que ele se combine a outros elementos ou substâncias, uma ou outra forma de energia é imprescindível, *ALEXANDER (1961)*.

Os organismos clássicos fixadores de vida livre são espécies de *Azotobacter*, *Clostridium* e muitas algas verde azuladas. Mas muitos gêneros de microrganismos foram descritos como fixadores, *ALEXANDER (1961)* e *DOMMERGUES e MANGENOT (1970)*. Para *DÖBEREINER (1977)*, os cerrados brasileiros constituem uma área promissora à implantação de sistemas agrícolas economicamente viáveis, onde estudos sobre a fixação biológica do nitrogênio são fundamentais. Autores como *PERES et alii (1977)* e *SILVA (1977)* têm constatado entre as dificuldades para o uso eficiente dos cerrados, a sua pequena capacidade em reter potássio e nitrogênio.

Uma série de fatores restringe a fixação do nitrogênio pelos microrganismos não simbióticos, entre eles: necessidade de produtos energéticos (carboidratos necessários para o processo), luminosidade (fator essencial para os organismos fototróficos), condições ambientais desfavoráveis, principalmente temperatura, pH baixos e teores tóxicos de elementos, como o alumínio no solo, *ALEXANDER (1961)*. *Clostridium* é mais tolerante à concentrações de H que os outros fixadores, *DOMMERGUES e MANGENOT (1970)* e *ALEXANDER (1961)*.

Segundo *DOMMERGUES e MANGENOT (1970)*, o fósforo estimula notadamente a fixação de N, este estímulo é reduzido na presença de potássio, e muitos nutrientes inorgânicos são necessários ao metabolismo do N_2 , molibdênio, cálcio e ferro, são elementos críticos para as reações de fixação,

ALEXANDER (1961). O pH exerce uma grande influência na microflora fixadora, tendo VELASCO e CALLE (s/d) relatado que em locais onde a altitude e a acidez aumentavam, os solos tornavam-se *Azotobacter* negativos, embora se tornassem favoráveis ao desenvolvimento de fixadores anaeróbios. A fixação não simbiótica de maneira geral desenvolve-se melhor em pH próximo ao neutro, condição que dificilmente ocorre em solos sob liter de coníferas. Espécies de *Beijerinckia* crescem em pH ácidos, chegando mesmo a crescer em pH 3,0, *Clostridium* tem uma exigência intermediária, ou seja, pH 5,0. Certas espécies de *Pseudomonas* são responsáveis pela fixação de nitrogênio em solos florestais ácidos, DOMMERGUES e MANGENOT (1970).

DARBYHIRE (1964), citado por FAHRAEUS e LJUNGGREN (1968) notou que duas espécies de *Rhizobium* estudadas eram retardadas na nodulação pela adição de nitrato e nitrito, embora isto não fosse constante pela adição de amônia. BJALFVE (1962) observou que *Rhizobium* pode agir como estimulador de fixação de nitrogênio em *Nostoc*.

A incidência e efetividade de bactérias fixadoras de nitrogênio tem sido estudadas em muitos outros solos, e alguns resultados indicam que há uma correlação entre a cultura e o organismo ativo, tendo DÖBEREINER (1959) verificado influência favorável da vegetação de cana-de-açúcar sobre bactérias fixadoras do N atmosférico, em especial *Beijerinckia* DERX. Segundo a autora, tais bactérias usando exsudatos das raízes como alimento, fixam o N atmosférico que é aproveitado pelas plantas as quais se associam. O enriquecimento nitrogenado dos solos pelo emprego de fixadores de vida livre tem sido extensivamente explorado. É de interesse o estudo feito por TABOADA *et alii* (1973) que verificaram a capacidade da bactéria *Agrobacterium*

azotophilum de fixar o nitrogênio no solo, tanto em aerobiose como anaerobiose, usando fontes de carbono variadas como massa de milho e sub-produtos da indústria açucareira. ASCENÇÃO *et alii* (1977) ao testarem o poder de sobrevivência de *Derxia gummosa* e *Spirillum lipoferum* em solos de cerrado, verificaram que solos autoclavados tiveram efeito drástico na diminuição de tais bactérias e a adição de fertilizantes promoveu um aumento na sobrevivência. Vários trabalhos afirmam que a introdução de *Azotobacter* aumentou o N do solo pela fixação do mesmo, BROWN, JACKSON e BURNINGHAN (1968). MISHUTIN e NAUMOVA (1962), citados pelos autores acima, em um trabalho utilizando ^{15}N , mostraram que não houve uma grande fixação em rizosfera de trigo inoculada com 10^6 talos bacterianos de *Azotobacter* por grama de solo, quanto comparada com a rizosfera não inoculada.

2.7. Fósforo

O fósforo é um elemento essencial, entrando na constituição de todas as células vivas, e está implicado na construção de moléculas orgânicas, na síntese de material genético, e nos processos de acúmulo e transferência de energia. ALEXANDER (1961) e HODSON (1973).

No solo ele pode se apresentar na forma orgânica ou mineral. As formas orgânicas provêm de resíduos vegetais e animais, assim como das células microbianas, as principais formas orgânicas são: fitina, nucleoproteínas, ácidos nucleicos, fosfolipídios e açúcares fosforilados, e representam de 15 a 80% do fósforo total do solo, PEARSON (1941), citado por HODSON (1973), DOMMERGUES e MANGENOT (1970). Na forma mineral pode apresentar-se nas seguintes formas: ions $\text{PO}_4^{=}$ da solução do solo, formas assimiladas por

desabsorção, que são os ions $\text{PO}_4^{\equiv}$ adsorvidos às superfícies dos colóides do solo por intermédio dos cátions Ca^{++} , Fe^{+++} , Al^{+++} , e nas formas não assimiláveis tais como: fosfato tricálcico $(\text{PO}_4)_2 \text{Ca}_3$, hidroxi-apatita $(3(\text{PO}_4)_2 \text{Ca}_3, \text{Ca}(\text{OH})_2)$, carbonato-apatita $(3(\text{PO}_4)_2 \text{Ca}_3, \text{CO}_3 \text{Ca})$. Os vegetais só absorvem o fósforo na forma de ions $\text{PO}_4^{\equiv}$, que provem de solubilização de formas minerais insolúveis ou pela mineralização de formas orgânicas. Os microrganismos telúricos atuam na disponibilidade do fósforo de várias formas: solubilização de compostos inorgânicos do fósforo, mineralização de compostos orgânicos, imobilização de anions inorgânicos disponíveis pela conversão em constituintes do protoplasma microbiano, e pela oxidação ou redução dos compostos orgânicos do solo, *ALEXANDER (1961) e DOMMERGUES e MANGENOT (1970)*.

A solubilização biológica do fósforo é um fato comprovado, *ASKINAZI (1958), TAHA et alii (1969), HODSON (1973) e MADAN (1974)*. A origem biológica da solubilização dos fosfatos insolúveis decorre assim de um estímulo da microflora telúrica, levando a um aumento do fósforo assimilável. Este estímulo da microflora é induzido, não somente por um aporte de matéria orgânica, mas também como evidenciou *TARDIEUX e ROCHE (1966)*, citados por *DOMMERGUES e MANGENOT (1970)*, pela incorporação de fosfatos naturais e insolúveis. Os fosfatos naturais são usados como forma de adubação, porém respostas das culturas a esta adição são variáveis e dependem de vários fatores, tais como: biológicos, ambientais e edáficos, *CARVALHO et alii (1969)*. Os microrganismos responsáveis pela solubilização pertencem a diversas espécies e são relativamente abundantes no solo, *EIRA e CARVALHO (1970), DOMMERGUES e MANGENOT (1970), HODSON (1973)*, e podem representar uma

fração abundante da população, 10 a 15%, SPERBER (1958), SWABY e SPERBER (1958), KATSNELSON *et alii* (1962), ou porcentagens ainda maiores de até 95% em certos solos, KUBUS (1962), citado por DOMMERGUES e MANGENOT (1970).

TARDIEUX e ROCHE (1966), citados por DOMMERGUES e MANGENOT (1970), enumeraram algumas bactérias ativas na solubilização, espécies de *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Aerobacter*, *Escherichia*, *Brevibacterium*, *Micrococcus*, *Flavobacterium* e certos actinomicetos e fungos como *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Sclerotium* são também solubilizadores. ASKINAZI (1958) isolou do solo, vinte e cinco espécies de bactérias, das quais doze tinham ação solvente sobre fosfatos de rocha e fosfatos bi e tricálcicos. JAYARAMAN e PRASAD (1972), estudando a produção de fosfatase em *Aspergillus* isolados do solo, constataram que linhagens de *A. niger*, foram mais ativas na produção desta enzima. Resultado semelhante havia sido obtido por CARVALHO *et alii* (1969) em experimentos onde foi avaliada quantitativamente a solubilização de fosfatos por espécies dos gêneros de *Penicillium* e *Aspergillus*, onde *A. niger* solubilizou quantidades apreciáveis de fosfatos. EIRA e CARVALHO (1970), estudaram a solubilização de 8 fosfatos insolúveis: fosfato tricálcio, fosfato bicálcio, escoria de Thomas, hiperfosfato, fosforita de Olinda, apatita de Araxá, fosfato de ferro e fosfato de alumínio. Os microrganismos usados no trabalho foram isolados de raízes e rizosfera de cana-de-açúcar de quatro grandes grupos de solos do Estado de São Paulo. Também *A. niger* mostrou uma melhor solubilização, seguido de algumas espécies de *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Fusidium* e *Fusarium*. Foram isoladas também duas linhagens *Thielavia terricola* e os gêneros *Stachybotrys* e *Cunninghamella*, que ainda não haviam sido descri

tos como solubilizadores.

Em solos ácidos o fósforo da solução do solo é fixado por pre cipitação em forma de fosfato de ferro e de alumínio, formando a fração não trocável de fósforo do solo, *EIRA e CARVALHO (1970)*, *TESAROVA (1971)*, *YUFERA e DORRIEN (1973)* e *HAYMAN (1975)*, o qual por sua vez pode ser solubi lizado por ação microbiana, *EIRA e CARVALHO (1970)*. Em meios ácidos, os fosfatos de ferro e alumínio são solubilizados somente por ácidos que se- questram os cátions Fe^{+++} e Al^{+++} , o ácido que é ativo neste ponto de vis- ta, é o ácido cítrico, seguido pelos ácidos succínico, málico, oxálico, tar tárico e láctico, *DOMMERGUES e MANGENOT (1970)*.

A adição de matéria orgânica influencia favoravelmente a so- lubilização de fósforo e diminui a sua fixação por alumínio e ferro, *BRA- DLEY e SIELING (1953)*. Admite-se que esta solubilização seja devido à ati- vação da flora microbiana, *CASIDA (1959)*. *EIRA e CARVALHO (1970)* observa- ram que em solos inoculados e adicionados de matéria orgânica (palha de ca- na e torta de algodão), o pH elevou-se em níveis significativos em relação ao solo estéril. A glicose por outro lado, levou a uma acidificação do so- lo. Concluíram ainda os autores que após a seleção inicial, os microrganis mos ao degradarem a matéria orgânica, influenciaram diretamente a acidez, de tal forma que esta passou a ser efeito e não causa. As produções de cafeei ro são aumentadas visivelmente pelo uso de "mulch" (aplicação de capim sêco ao solo). Este tratamento, além de outras vantagens, aumenta a concentra- ção de fósforo nas folhas do cafeeiro, este aumento foi diretamente propor- cional à quantidade de capim usado, *LOTT et alii (1956)*. *CARVALHO et alii (1977)*, num trabalho onde utilizaram solos tratados com diferentes fontes

de carbono (resíduo de café, linhito e sacarose) e fosfato natural (apatita de araxá) constataram que na primeira semana de incubação obteve-se o máximo nível de solubilização, o qual baixou nas semanas seguintes, os autores sugeriram que este fenômeno ocorreu à imobilização microbiana, ou adsorção como fosfato trocável. No que diz respeito à utilização do fósforo pelas plantas, obtiveram resultados estatisticamente significativos, tanto no peso como no nível total do fósforo nas plantas. Por ordem decrescente, os melhores tratamentos foram: solo + apatita + resíduo de café, solo + apatita, solo + apatita + linhito, solo + resíduo de café, solo + apatita + sacarose, solo + sacarose e solo + linhito, sendo que a sacarose apresentou problemas de fitotoxicidade.

Segundo *NAPLEKOVA (1966)*, citado por *DOMMERGUES e MANGENOT (1970)*, os microrganismos celulolíticos estavam em associação com as bactérias solubilizadoras de fosfato, e assim se beneficiariam em solos pobres em fósforo assimilável, sem adubo fosfatado. Em solos podzólicos, a competição por fósforo é um fator importante, mas não suficiente para explicar a limitação à celulolise, isto pode ser atribuído à presença de produtos tóxicos de plantas ou de origem microbiana, *KONG e DOMMERGUES (1973b)*. A presença de certos elementos, mesmo em quantidades mínimas como traços (25 μ g/g solo) levam a uma inibição da atividade da fosfatase no solo. Os elementos que mostraram maior inibição à fosfatase ácida foram: Ag, As, W, e Mo. Os maiores inibidores das fosfatases alcalinas foram: Ag, Cd, N, As, etc, *JUMA e TABATABAI (1977)*.

Em certas espécies microbianas que são capazes de assimilar diretamente os fosfatos insolúveis, eles acumulam no interior de suas células

las grandes quantidades de fósforo, parte sob a forma mineral (polifosfatos) e parte em formas orgânicas. O fósforo permanece assim imobilizado transitoriamente nas células microbianas, e é posteriormente liberado por diversos mecanismos: excreção do ortofosfato pelas células que acumularam ortofosfatos, *HAYMAN (1975)*, ou pela autólise das células bacterianas. Este fósforo pode ser colocado à disposição das plantas, pela degradação dos ions ortofosfato proveniente de polifosfatos, pelas enzimas fosfatases do solo, em moléculas fosfóricas; certos complexos fosfóricos orgânicos que podem penetrar no vegetal sem uma prévia mineralização. Este mecanismo de solubilização em duas etapas, foi evidenciado por *TARDIEUX-ROCHE (1966)* e confirmado por *NAPLEKOVA (1967)*, citados por *DOMMERGUES e MANGENOT (1970)*. A solubilização de fosfatos naturais não apresenta exigências ecológicas precisas, esta é uma das razões da existência de um grande número de espécies de microrganismos envolvidos no processo. A microflora solubilizadora de fosfato é sensível ao fator pH, sendo citado como influência favorável pHs elevados (7,8 a 7,9) para estas microfloras, *DOMMERGUES e MANGENOT (1970)*, embora a literatura aponte o abaixamento do pH, como um dos fatores da solubilização, inclusive pela adição de enxofre, que incrementará a ação dos *Thiobacillus*, *ALEXANDER (1961)*, *DOMMERGUES e MANGENOT (1970)* e *FREIRE (1975)*.

Em meio hidromórfico os teores de ácido orgânico é elevado, em todo o solo e não somente no interior de micro-habitats; é devido à abundância destes ácidos de origem microbiana que *GASSER e BLOMFELD (1955)*, citados por *DOMMERGUES e MANGENOT (1970)*, atribui o aumento da solubilização de fósforo férrico, pela decomposição de vegetais em anaerobiose. *TA-*

DIEUX-ROCHE (1966), citados por *DOMMERGUES e MANGENOT (1970)*, evidenciou que o teor no solo de matéria orgânica humificada não influencia a densidade de microrganismos solubilizadores de fosfato. A contrário, a adição de matéria orgânica fresca age favoravelmente na proliferação destes microrganismos e induzem a ativação da solubilização. A microflora solubilizadora de fosfato é sensivelmente estimulada pela rizosfera, *TARDIEUX-ROCHE (1966)*, citados por *DOMMERGUES e MANGENOT (1970)*, *HAYMAN (1975)* e *SPERBER (1958)*; mas este estímulo nem sempre apresenta uma característica preferencialmente marcante, *DOMMERGUES e MANGENOT (1970)*.

O fósforo é um fator limitante no desenvolvimento da microflora. A adição de fósforo em ambiente escasso no elemento, estimula as atividades microbianas, ao contrário do que se passa quando há reserva natural do elemento. A decomposição da matéria orgânica adicionada ao solo exige fósforo, se o material é pobre em fósforo (C/P alta), há exaurimento dos fosfatos disponíveis no solo, e redução da produção, a menos que seja feita fertilização, *PURCHASE (1974)*, *HAYMAN (1975)* e *HODSON (1973)*. *PURCHASE (1974)* observou que a deficiência de P restringia a nitrificação e provocava respostas desprezíveis dos oxidantes de nitrato à aplicação de sais de amônia, pela inibição de seu crescimento.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Roteiro

No presente trabalho foram avaliados os diversos grupamentos funcionais do ciclo do carbono e do nitrogênio em solos de cerrado, onde foram adicionados resíduos vegetais de espécies nativas e exóticas. Juntamente com a avaliação do número mais provável de microrganismos dos vários grupos funcionais, foram realizadas análises de fertilidade do solo, por análises químicas e através do método de micro-Neubauer. Paralelamente foi montado um experimento onde além dos resíduos vegetais, adicionou-se também fosfato de rocha e após incubação foi avaliado o fósforo solúvel em água e em ácido.

3.2. Solo

O solo utilizado no presente experimento foi proveniente de uma área pertencente à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, localizada no Município de Itirapina, S.P., a uma altitude de 830m, com

uma área total de 16 alqueires, apresentando vegetação típica de cerrado.

O local foi escolhido por nunca ter sido usado para estabelecimento anterior de lavouras. A área é protegida contra devastações através de cerca de arame, e aço em toda a sua extensão. Esta proteção existe a aproximadamente 25 anos. E as únicas alterações que possam ter ocorrido, antes de serem tomadas as medidas de proteção, seriam eventuais queimadas.

A análise do solo na ocasião da coleta é mostrada no Quadro 1.

QUADRO 1. Análise de fertilidade do solo usado no presente estudo, logo após sua coleta.

Acidez pH	M.O. %C	Fósforo e.m.g. PO_4	Potássio e.m.g. K%	Ca + Mg e.m.g.	Al e.m.g.
5,05	0,93	0,02	0,12	0,64	1,36

3.3. Matéria Orgânica

A matéria orgânica adicionada foi de origem vegetal, sendo usadas 3 espécies nativas de cerrado selecionadas entre as mais frequentes na área e 2 espécies exóticas em reflorestamento.

Quadro 2. Espécies vegetais usadas.

Nome científico	
<i>Rhynchospora exaltata</i>	nativa de cerrado
<i>Caesalpinha</i> spp.	nativa de cerrado
<i>Caesalpinha bracteosa</i> , TULL	nativa de cerrado
<i>Eucalyptus robusta</i> , S.M.	exótica
<i>Pinus alliotii</i> Elgen var. <i>elliotti</i>	exótica

O Quadro 2 mostra as espécies vegetais usadas, e a análise química dos resíduos destes vegetais se encontra no Quadro 3 da página seguinte.

Quadro 3. Análise química dos resíduos vegetais usados no presente trabalho

Amostras	N%	P%	K%	S ₄ %	ppm Ca	ppm Mg	ppm Na	ppm Fe	ppm Cu	ppm Zn	ppm Mn
<i>C. bracteosa</i>	2,093	0,173	7,424	2,031	935,19	710,36	46,13	189,36	2,23	8,67	49,65
<i>P. ellioti</i>	1,260	0,228	3,889	1,310	4.274,35	1.302,33	133,24	253,19	4,26	16,25	232,48
<i>R. exaltata</i>	1,172	0,108	6,919	1,720	377,73	1.006,34	32,21	489,89	2,76	9,93	385,36
<i>E. robusta</i>	1,114	0,135	6,667	1,851	9.840,95	2.782,24	1.153,36	210,64	5,75	13,73	465,35
<i>Caesalpinia</i> spp.	1,773	0,179	3,636	1,989	1.491,05	1.124,74	46,19	270,47	4,26	9,93	74,79

3.4. Meios de cultura

Para as análises dos grupos funcionais foram usados os seguintes meios de cultura:

Fixação aeróbia, Meio de TCHAN, citado por *AUGIER, J. (1956)*: manitol (10g), carbonato de cálcio (0,5g), solução salina (50 cc), extrato de terra (10 cc), solução de oligoelementos (1 cc), água destilada (c.e.); fixação anaeróbia, *AUGIER, J. (1957)*: fosfato monopotássico (0,75 g), glicose (10 g), soda 1/10 N (33 ml), solução salina (50 ml), extrato de terra (10 ml), solução de oligoelementos (1 ml), água destilada c.e. (1.000 ml); proteólise, *LAJUDIE e CHALVIGNAC (1956)*: solução salina (50 ml), gelatina (30 g), solução de oligoelementos (1 ml), água q.s.p. (1.000 ml); amonificação, *POCHON e TARDIEUX (1962)*: asparagina (0,2 g), solução salina (50 ml), solução de oligoelementos (1 ml), água destilada (950 ml); nitrificação, *COPPIER e BARJAC (1952)*: meio para nitrosação - sulfato de amônia (0,5 g), carbonato de cálcio (1 g), solução salina (50 ml), água destilada (950 ml), meio para nitrificação - nitrito de sódio (1 g), carbonato de cálcio (1 g), solução salina (50 cc), água destilada (950 cc); denitrificação, *BARJAC (1952)*: nitrato de potássio (2 g), carbonato de cálcio (5 g), glicose (10 g), solução salina (50 ml), solução de oligoelementos (1 ml), água destilada (950 ml). Amilólise, *GIRARD, R. (1964)*: nitrato de amônia (1 g), amido (1,5 g), extrato de terra (10 ml), solução salina (50 ml), solução de oligoelementos (1 ml), água destilada q.s.p. (1.000 ml); hemicelulólise, *POCHON e TARDIEUX (1962)*; solução salina (50 ml), extrato de terra (3 ml), solução de oligoelementos (1 ml), nitrato de potássio (0,3 g), hemicelulose (1 g), carbonato de cálcio (1 g), água destilada q.s.p. (1.000 ml); celulólise

se aeróbia, *POCHON e TRADIEUX (1962)*: nitrato de amônia (1 g), extrato de terra (20 ml), solução salina (50 ml), solução de oligoelementos (1 cc), água destilada q.s.p. (1.000 cc); celulólise anaeróbia, *POCHON e TARDIEUX (1962)*: nitrato de amônia (2 g), carbono de cálcio (3 g), extrato de terra (20 ml), solução salina (30 ml), peptona (1 g), água destilada q.s.p. (1.000 ml).

3.5. Coleta do solo, da matéria orgânica e incubação dos vários tratamentos

O solo foi coletado a uma profundidade de 0 - 10 cm, utilizando-se uma colher de jardinagem, a qual era desinfetada após cada amostra. As amostras foram tomadas em vários pontos da área (cerca de 60 amostras), formando assim uma única amostra composta. O solo foi levado para o laboratório, onde foi feita a secagem à sombra e à temperatura ambiente.

Foram coletados ramos e folhas no campo e colocados em estufa a uma temperatura variando entre 50 a 60°C, durante 3 dias. Em seguida as amostras foram trituradas em moinho e a sua granulometria padronizada em peneiras de furos com aproximadamente 0,2 mm de diâmetro. A matéria orgânica foi adicionada em uma proporção de 2% do peso do solo, o qual foi incubado em copos plásticos de 90 g, distribuídos em blocos casualizados. Tal proporção foi conseguida através do peso seco de matéria orgânica e do solo.

Para cada tipo de vegetal foram feitos dois tratamentos no processo de incubação: condições aeróbias (60% da c.c.) e anaeróbias (110% da c.c.) sendo que cada um com 15 repetições. Os mesmos tratamentos foram

feitos com solos sem adição de M.O., que serviu como testemunha.

Os vasos foram pesados após a adição do material e de água, cobertos com polietileno, e a água perdida por evaporação repostada periodicamente, pela diferença de peso.

Durante o período de incubação a temperatura oscilou entre 27° a 34°C.

Foram realizadas leituras para verificação da atividade dos grupamentos microbianos funcionais que foram avaliadas segundo as técnicas de *POCHON e TARDIEUX*, e os resultados transformados em número mais provável de microrganismos por grama de solo, utilizando-se a tabela de Maccrady.

Foram avaliados os seguintes grupos: hemicelulolíticos, celolíticos (aeróbios e anaeróbios), Amilolíticos, Proteolíticos, Nitrificantes (nitritação e nitratação), Denitrificação, Fixação (aeróbia e anaeróbia) de Nitrogênio e Flora total.

Para a inoculação foram retirados ao acaso 5 vasos de cada tratamento, que foram em seguida colocados em moinho de bola, marca NORTON, homogeneizadas e pesadas. De cada amostra de solo foram pesadas 20 g e dissolvidas em frascos contendo 180 ml de H₂O destilada esterilizada, deixadas em agitador durante 10' para homogeneizar. Em seguida procedia-se a diluição em série.

As amostras para análise foram colhidas antes da incubação, e após três e seis meses de incubação.

3.6. Bio Ensaio

Paralelamente as determinações microbiológicas nos mesmos pe
ríodos foram feitos ensaios visando-se avaliar a fertilidade dos solos. Es
tes ensaios foram feitos utilizando-se a técnica de Neubauer modificada por
CATANI e BERGAMIN (1961), com 5 repetições para cada tratamento.

A avaliação foi feita através de pêso seco do material. O ar
roz utilizado no experimento foi a variedade IAC 435.

Análise de Fertilidade do solo

Foram realizadas análises do solo, levando-se em conta o pH,
carbono orgânico %, Fósforo, Potássio, Cálcio, Magnésio, Alumínio e Hidro-
gênio. Estas análises foram realizadas nos mesmos períodos das análises mi
crobibiológicas (antes da incubação e após 3 e 6 meses).

3.7. Incubação com Adição de Fosfato Natural

Solo com uma adição de 2% de M.O. de peso do solo, onde tam-
bém foi adicionado 0,2% de fosfato (fosfato de Olinda). E incubados em va-
sos com aproximadamente 90 g de cada um e cobertos com plásticos (polietile-
no), e em condições aeróbias e anaeróbias com 10 repetições, 5 para cada
leitura.

Os períodos de incubação foram de 7 a 15 dias após o qual
foram feitas análises químicas de fósforo solúvel em ácido (H_2SO_4 0,5 N) e
em água, e os resultados comparados com o solo sem adição de M.O., mas adi
cionado fosfato e inbucado nas mesmas condições que os solos com M.O..

4. RESULTADOS

4.1. Avaliação do número mais provável de microrganismos

Quadro 1. Influência de resíduo vegetal e de incubação do solo após 3 e 6 meses em condições de aerobiose e anaerobiose sobre o n° de microrganismos hemicelulolíticos por grama de solo. População inicial: $2,5 \times 10^{12}$ microrg. /grama de solo.

Tratamento	Incubação em Aerobiose		Incubação em Anaerobiose	
	3 meses	6 meses	3 meses	6 meses
<i>C. bracteosa</i>	250×10^{12}	250×10^{12}	250×10^{12}	250×10^{12}
<i>P. elliottii</i>	250×10^{12}	250×10^{12}	95×10^{12}	250×10^{12}
<i>R. exaltata</i>	95×10^{12}	250×10^{12}	250×10^{12}	250×10^{12}
<i>E. robusta</i>	250×10^{12}	$9,5 \times 10^{12}$	250×10^{12}	$95,0 \times 10^{12}$
<i>Caesalpinia</i> spp.	30×10^{12}	250×10^{12}	250×10^{12}	250×10^{12}
Sem M.O.	20×10^{12}	$9,5 \times 10^{12}$	$4,0 \times 10^{12}$	$2,0 \times 10^{12}$

Quadro 2. Influência de resíduo vegetal e da incubação do solo após 3 e 6 meses em condições de aerobiose e anaerobiose sobre o n° de microrganismos amilolíticos por grama de solo. População inicial: $2,5 \times 10^{10}$ microrg./grama de solo.

Tratamento	Incubação em Aerobiose		Incubação em Anaerobiose	
	3 meses	6 meses	3 meses	6 meses
<i>C. bracteosa</i>	$0,01 \times 10^{10}$	45×10^{10}	$2,5 \times 10^{10}$	95×10^{10}
<i>P. elliottii</i>	$0,11 \times 10^{10}$	95×10^{10}	$1,5 \times 10^{10}$	95×10^{10}
<i>R. exaltata</i>	$1,5 \times 10^{10}$	80×10^{10}	$0,2 \times 10^{10}$	20×10^{10}
<i>E. robusta</i>	$0,01 \times 10^{10}$	250×10^{10}	$2,0 \times 10^{10}$	$1,5 \times 10^{10}$
<i>Caesalpinia</i> spp.	$0,1 \times 10^{10}$	250×10^{10}	$1,1 \times 10^{10}$	95×10^{10}
Sem M.O.	$0,01 \times 10^{10}$	$4,5 \times 10^{10}$	$0,1 \times 10^{10}$	20×10^{10}

Quadro 3. Influência de resíduo vegetal e da incubação do solo após 3 e 6 meses em condições de aerobiose e anaerobiose sobre o n° de microrganismos celulolíticos aeróbios por grama de solo. População inicial: 95 microrg./grama solo.

Tratamento	Incubação em Aerobiose		Incubação em Anaerobiose	
	3 meses	6 meses	3 meses	6 meses
<i>C. bracteosa</i>	40	200	30	150
<i>P. elliottii</i>	40	150	90	250
<i>R. exaltata</i>	30	150	90	250
<i>E. robusta</i>	40	200	0	30
<i>Caesalpinia</i> spp.	110	95	140	20
Sem M.O.	90	75	70	45

Quadro 4. Influência de resíduo vegetal e da incubação do solo após 3 e 6 meses em condições de aerobiose e anaerobiose sobre o nº de microrganismos celulolíticos anaeróbios por grama de solo. População inicial: 150 microrg./grama de solo.

Tratamento	Incubação em Aerobiose		Incubação em Anaerobiose	
	3 meses	6 meses	3 meses	6 meses
<i>C. bracteosa</i>	7	9	zero	450
<i>P. elliottii</i>	zero	11	zero	140
<i>R. exaltata</i>	zero	200	11	35
<i>E. robusta</i>	zero	4	zero	4
<i>Caesalpina</i> spp.	3	zero	zero	4
Sem M.O.	4	zero	zero	7

Quadro 5. Influência de resíduo vegetal e da incubação do solo após 3 e 6 meses em condições de aerobiose e anaerobiose sobre o nº de microrganismos da flora total por grama de solo. População inicial: 20×10^7 microrg./grama de solo.

Tratamento	Incubação em Aerobiose		Incubação em Anaerobiose	
	3 meses	6 meses	3 meses	6 meses
<i>C. bracteosa</i>	$35,0 \times 10^7$	$3,0 \times 10^7$	$35,0 \times 10^7$	$2,5 \times 10^7$
<i>P. elliottii</i>	$0,5 \times 10^7$	$1,4 \times 10^7$	14×10^7	$1,4 \times 10^7$
<i>R. exaltata</i>	14×10^7	$1,4 \times 10^7$	17×10^7	$1,1 \times 10^7$
<i>E. robusta</i>	60×10^7	$2,0 \times 10^7$	$11,0 \times 10^7$	$1,7 \times 10^7$
<i>Caesalpina</i> spp.	20×10^7	$1,1 \times 10^7$	$0,4 \times 10^7$	$0,7 \times 10^7$
Sem M.O.	$9,5 \times 10^7$	$0,5 \times 10^7$	2×10^7	

Quadro 6. Influência de resíduo vegetal e da incubação do solo após 3 e 6 meses em condições de aerobiose e anaerobiose sobre o nº de microrganismos proteolíticos por grama de solo. População inicial: $0,95 \times 10^8$ microrg./grama de solo.

Tratamento	Incubação em aerobiose		Incubação em anaerobiose	
	3 meses	6 meses	3 meses	6 meses
<i>C. bracteosa</i>	250×10^8	250×10^8	250×10^8	250×10^8
<i>P. elliottii</i>	250×10^8	250×10^8	95×10^8	250×10^8
<i>R. exaltata</i>	250×10^8	250×10^8	$11,0 \times 10^8$	250×10^8
<i>E. robusta</i>	15×10^8	250×10^8	$1,15 \times 10^8$	250×10^8
<i>Caesalpina</i> spp.	250×10^8	250×10^8	250×10^8	250×10^8
Sem M.O.	20×10^8	20×10^8	$0,15 \times 10^8$	25×10^8

Quadro 7. Influência de resíduo vegetal e da incubação do solo após 3 e 6 meses em condições de aerobiose e anaerobiose sobre o nº de microrganismos amonificantes por grama de solo. População inicial: $0,25 \times 10^{10}$ microrg./grama de solo.

Tratamento	Incubação em Aerobiose		Incubação em Anaerobiose	
	3 meses	6 meses	3 meses	6 meses
<i>C. bracteosa</i>	25×10^{10}	$0,09 \times 10^{10}$	$9,5 \times 10^{10}$	$0,04 \times 10^{10}$
<i>P. elliottii</i>	25×10^{10}	$0,04 \times 10^{10}$	25×10^{10}	zero
<i>R. exaltata</i>	25×10^{10}	zero	25×10^{10}	zero
<i>E. robusta</i>	25×10^{10}	$0,07 \times 10^{10}$	15×10^{10}	$0,04 \times 10^{10}$
<i>Caesalpina</i> spp.	$9,5 \times 10^{10}$	$4,5 \times 10^{10}$	$9,5 \times 10^{10}$	$1,4 \times 10^{10}$
Sem M.O.	$9,5 \times 10^{10}$	zero	$1,5 \times 10^{10}$	zero

Quadro 8. Influência de resíduo vegetal e da incubação do solo após 3 e 6 meses em condições de aerobiose e anaerobiose sobre o nº de microrganismos nitrificantes (nitritação) por grama de solo. População inicial: 25×10^3 /grama de solo.

Tratamento	Incubação em Aerobiose		Incubação em Anaerobiose	
	3 meses	6 meses	3 meses	6 meses
<i>C. bracteosa</i>	zero	$0,4 \times 10^3$	5×10^3	$0,5 \times 10^3$
<i>P. elliottii</i>	zero	zero	zero	zero
<i>R. exaltata</i>	zero	$0,2 \times 10^3$	zero	zero
<i>E. robusta</i>	$17,0 \times 10^3$	$0,7 \times 10^3$	$9,0 \times 10^3$	$0,9 \times 10^3$
<i>Caesalpina</i> spp.	zero	$0,5 \times 10^3$	zero	$0,7 \times 10^3$
Sem M.O.				

Quadro 9. Influência de resíduo vegetal e da incubação do solo após 3 e 6 meses em condições de aerobiose e anaerobiose sobre o nº de microrganismos nitrificantes (nitritação) por grama de solo. População inicial: 2 microrg./grama de solo.

Tratamento	Incubação em Aerobiose		Incubação em Anaerobiose	
	3 meses	6 meses	3 meses	6 meses
<i>C. bracteosa</i>	1400	700	zero	zero
<i>P. elliottii</i>	60	200	zero	zero
<i>R. exaltata</i>	500	200	zero	zero
<i>E. robusta</i>	zero	zero	zero	zero
<i>Caesalpina</i> spp.	4	200	zero	zero
Sem M.O.	9	zero	2	zero

Quadro 10. Influência de resíduo vegetal e da incubação do solo após 3 e 6 meses em condições de aerobiose e anaerobiose sobre o nº de microrganismos denitrificantes por grama de solo. População inicial: $2,0 \times 10^5$ microrg./grama de solo.

Tratamento	Incubação em aerobiose		Incubação em Anaerobiose	
	3 meses	6 meses	3 meses	6 meses
<i>C. bracteosa</i>	250×10^5	$0,04 \times 10^5$	$25,0 \times 10^5$	$0,25 \times 10^5$
<i>P. elliotii</i>	25×10^5	$0,11 \times 10^5$	$3,0 \times 10^5$	$0,07 \times 10^5$
<i>R. exaltata</i>	$3,0 \times 10^5$	$0,15 \times 10^5$	25×10^5	$0,09 \times 10^5$
<i>E. robusta</i>	$7,5 \times 10^5$	$20,0 \times 10^5$	$3,0 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5$
<i>Caesalpinia</i> spp.	250×10^5	$0,2 \times 10^5$	$25,0 \times 10^5$	$0,2 \times 10^5$
Sem M.O.	30×10^5	$0,3 \times 10^5$	250×10^5	$0,15 \times 10^5$

Quadro 11. Influência de resíduo vegetal e da incubação do solo após 3 e 6 meses em condições de aerobiose e anaerobiose sobre o nº de microrganismos fixadores aeróbios de nitrogênio por grama de solo. População inicial: zero microrg./grama de solo.

Tratamento	Incubação em Aerobiose		Incubação em Anaerobiose	
	3 meses	6 meses	3 meses	6 meses
<i>C. bracteosa</i>	zero	4	25	8
<i>P. alleottii</i>	95	12	35	9
<i>R. exaltata</i>	250	7	25	2
<i>E. robusta</i>	35	14	7	8
<i>Caesalpinia</i> spp	5	11	25	7
Sem M.O.	20	7	13	5

Quadro 12. Influência de resíduo vegetal e da incubação do solo após 3 e 6 meses em condições de aerobiose e anaerobiose sobre o nº de microrganismos fixadores anaeróbios de nitrogênio por grama de solo. População inicial: $0,025 \times 10^3$ microrg./grama de solo.

Tratamento	Incubação em aerobiose		Incubação em Anaerobiose	
	3 meses	6 meses	3 meses	6 meses
<i>C. bracteosa</i>	zero	$3,5 \times 10^3$	$5,0 \times 10^3$	$0,025 \times 10^3$
<i>P. elliottii</i>	$17,0 \times 10^3$	$1,7 \times 10^3$	25×10^3	$8,0 \times 10^3$
<i>R. exaltata</i>	$0,35 \times 10^3$	$0,8 \times 10^3$	$0,14 \times 10^3$	25×10^3
<i>E. robusta</i>	$0,02 \times 10^3$	$1,1 \times 10^3$	$0,02 \times 10^3$	13×10^3
<i>Caesalpina</i> spp.	zero	$0,35 \times 10^3$	zero	$3,0 \times 10^3$
Sem M.O.	$0,02 \times 10^3$	$0,04 \times 10^3$	$0,02 \times 10^3$	$1,6 \times 10^3$

4.2. Micro-Neubauer

Quadro 13. Método de Neubauer modificado por CATANI e BERGAMIN (1961). Resultado expresso em gramas de peso seco de plantas de arroz cultivadas em solos incubados com e sem adição de resíduo de várias espécies vegetais, durante 3 e 6 meses, em condições de aerobiose e anaerobiose.

Tratamento	Solo Incubado em Aerobiose		Solo Incubado em Anaerobiose	
	3 meses	6 meses	3 meses	6 meses
<i>C. bracteosa</i>	3,69	6,92	4,53	8,73
<i>P. elliottii</i>	4,20	7,95	4,23	6,19
<i>R. exaltata</i>	5,55	6,36	4,07	5,10
<i>E. robusta</i>	5,17	5,73	3,70	6,19
<i>Caesalpina</i> spp.	3,75	3,79	3,30	4,43
Sem M.O.	3,39	4,13	3,47	4,26

4.3. Avaliação de fósforo solúvel

Quadro 14. e.m.g. de PO_4^{-3} por 100 g de solo, solúvel em ácido/solução 0,05 N de H_2SO_4 / e água, após incubação com e sem adição de resíduo vegetal, e com e sem adição de fosfato de rocha.

sem fosfato		Com fosfato		Com fosfato		Com fosfato		Com fosfato		Com fosfato		Com fosfato	
e sem M.O		sem M.O.		c/P.elliottii		c/R.exaltata		c/C.bracteosa		c/E.robusta		c/Caesalpina spp.	
Sol.	Sol.	Sol.	Sol.	Sol.	Sol.	Sol.	Sol.	Sol.	Sol.	Sol.	Sol.	Sol.	Sol.
ácido	H2O	ácido	H2O	ácido	H2O	ácido	H2O	ácido	H2O	ácido	H2O	ácido	H2O
7 dias													
0,024	0,005	2,88	0,0007	2,32	0,0010	2,84	0,0012	2,32	0,0006	2,56	0,0019	2,28	0,0005
15 dias													
0,020	0,0005	2,56	0,0005	2,04	zero	2,32	0,0007	2,12	zero	2,12	0,0010	1,88	0,0042

4.4. Análise da Fertilidade dos solos

Quadro 15. Análise de fertilidade dos solos, incubados com e sem adição de matéria orgânica, durante 3 meses, em condições de aerobiose e anaerobiose.

Tratamentos		pH	C orgânico		Fósforo PO ₄	Potássio K%	Cálcio e.m.g.	Magnésio e.m.g.	Alumínio e.m.g.	Hidrogênio H ⁺
			co	C%						
<i>C. bracteosa</i>	Aerobiose	5,1	1,44		0,05	0,32	0,40	0,32	0,53	3,92
	Anaerobiose	4,9	1,59		0,06	0,32	0,40	0,32	0,62	3,52
<i>P. elliotii</i>	Aerobiose	5,3	1,44		0,09	0,40	0,80	0,32	0,37	2,88
	Anaerobiose	5,3	1,44		0,08	0,40	0,80	0,32	0,45	3,20
<i>R. exaltata</i>	Aerobiose	5,0	1,38		0,04	0,44	0,24	0,24	0,48	2,80
	Anaerobiose	5,3	1,17		0,04	0,44	0,24	0,24	0,46	2,72
<i>E. robusta</i>	Aerobiose	5,3	1,50		0,06	0,48	1,60	0,64	0,24	3,20
	Anaerobiose	5,3	1,56		0,07	0,44	1,60	0,64	0,26	3,20
<i>Caesalpinia</i> spp.	Aerobiose	4,6	1,35		0,04	0,28	0,36	0,21	0,96	4,32
	Anaerobiose	4,5	1,50		0,05	0,30	0,35	0,21	1,44	4,96
Sem M.O.	Aerobiose	4,2	0,45		0,03	0,10	0,19	0,05	1,04	3,20
	Anaerobiose	4,9	0,30		0,03	0,40	0,18	0,06	0,78	2,80

Quadro 16. Análise da fertilidade dos solos, incubados com e sem adição de matéria orgânica, durante 6 meses, em condições de aerobiose e anaerobiose.

Tratamentos		C orgânico										Hidro	
		pH	nico	C%	Fósforo	Potássio	Cálcio	Magnésio	Alumínio			gênio	H ⁺
					e.m.g. PO ₄	e.m.g. K%	e.m.g. Ca%	e.m.g. Mg%	e.m.g. Al%				
<i>C. bracteosa</i>	Aerobiose	5,0	1,35		0,04	0,38	0,49	0,51	0,72			4,88	
	Anaerobiose	5,2	1,80		0,06	0,40	0,48	0,40	0,61			4,19	
<i>P. elliotii</i>	Aerobiose	5,5	1,59		0,08	0,42	0,91	0,37	0,26			3,28	
	Anaerobiose	6,0	1,71		0,06	0,38	0,80	0,40	0,24			2,96	
<i>R. exaltata</i>	Aerobiose	5,2	0,99		0,03	0,44	0,24	0,24	0,64			3,52	
	Anaerobiose	5,5	1,35		0,05	0,52	0,24	0,24	0,42			3,28	
<i>E. robusta</i>	Aerobiose	5,7	1,11		0,05	0,52	1,60	0,72	0,16			2,56	
	Anaerobiose	5,9	1,44		0,06	0,52	1,76	0,72	0,16			2,56	
<i>Caesalpina</i> spp.	Aerobiose	4,3	1,30		0,05	0,32	0,45	0,19	1,28			6,16	
	Anaerobiose	4,8	1,35		0,05	0,42	0,40	0,32	1,12			5,84	
Sem M.O.	Aerobiose	4,0	0,66		0,03	0,06	0,16	0,01	1,45			3,84	
	Anaerobiose	5,3	0,72		0,02	0,09	0,16	0,08	1,04			3,84	

5. DISCUSSÃO

5.1. Número mais provável de microrganismos (ciclo do carbono e nitrogênio)

Para realização do presente trabalho foram escolhidas cinco espécies vegetais, três espécies nativas do cerrado e que eram representativas no local da coleta, e duas exóticas a este ecossistema, mas que tem sido introduzidas nestes solos com frequência, em projetos de reflorestamento.

O solo utilizado, e onde foi incorporado a matéria orgânica, foi incubado em condições de 60% de capacidade de campo, que chamaremos de aerobiose, onde existe uma boa difusão de gases, e nestas condições, grande parcela da população microbiana é beneficiada, menos as extritamente anaeróbias, *SEIFERT (1960), (1961) e GONDO (1961)* citados por *MACLAREN e SKUJINS (1968)*. E em condições de 110% da capacidade de campo, que chamaremos de anaerobiose, visto que a carência de oxigênio é acentuada nestas condições, e suprime os aeróbios obrigatórios, bem como a maioria da microflora e fungos, *RUSSELL (1968), SWABY (s/d), CURRIE (1962)*. Estes termos servem também

para facilitar a citação dos tratamentos.

Na incubação de solos foram mantidas constantes as condições de umidade, e as de temperatura com pouca variação (27 a 34°C). No solo estas condições variam com a estação do ano e com as variações diurnas, fato que deve ser levado em consideração nas comparações feitas com dados obtidos por outros autores.

Avaliando-se as populações nos grupamentos funcionais, notou-se que a população inicial de microrganismos amilolíticos é alta, comparando-se com referências citadas por ALEXANDER (1961), TOSIN *et alii* (1976) e TOSIN (1977). De modo geral houve um pequeno aumento após seis meses de incubação, quando comparado com três meses. Fato que pode ser aceito, levando-se em consideração que a degradação do amido não envolve uma microflora específica, CHALVIGNAC (1953), e adicionando-se resíduo vegetal teríamos sem dúvida um aumento da população microbiana do solo, ALEXANDER (1961), DOMMERGUES e MANGENOT (1970). Ainda segundo observações feitas por BARJAC e CHALVIGNAC (1954), o amido é degradado rapidamente em solos férteis, menos rápido em solos não férteis, e vagarosamente em solos turfosos.

Todos os resíduos adicionados aumentaram a população de hemicelulolíticos, em comparação com o solo sem adição de matéria orgânica. Em *E. robusta*, notou-se uma diminuição acentuada na população após seis meses de incubação, evidenciando uma rápida mineralização, TOSIN (1977). Fato que deveria levar a um incremento dos degradadores da celulose, o que não ocorreu no presente estudo, onde observou-se uma população original baixa, comparando-se com dados encontrados por ALEXANDER (1961) e TOSIN *et alii*

(1976). E mesmo após adição de resíduos vegetais nos vários tratamentos, não houve aumento significativo. A população de celulolíticos na incubação em anaerobiose, foi menor ainda evidenciando uma baixa população de *Clostridium* spp.

O baixo número de celulolíticos encontrados pode estar associado ao baixo teor do nitrogênio, que é um dos fatores críticos na degradação da celulose, *IMSHENETSKY (1968)*, *GRAY e WILLIAMS (1971)*, *CLARK (1968)*, *KONG e DOMMERGUES (1973a)*, *BIRCH (1958)*, *KUBISTA (1972)* e *SANTOS (1977)*. Existem também evidências de que a produção de celulose é marcadamente inibida pela microflora do nitrogênio, *KONG e DOMMERGUES (1973b)*, e foram observadas baixas populações de nitrificadores, e os amonificantes e proteolíticos apareceram em número elevado, embora estes dois últimos grupamentos funcionais não sejam específicos, e com o enriquecimento do solo, deve ter havido também um aumento da população total. A deficiência em fósforo pode também ser um fator limitante à celulolise, *KONG e DOMMERGUES (1973a)*, e comprovadamente, (ver análise de fertilidade Quadros 15 e 16) o fósforo nestes solos é muito baixo. Um aumento na degradação da celulose foi conseguido, pela adição de N e P usados em conjunto por *TODOROVA e BENEVSKY (1971)*.

O número de microrganismos proteolíticos aumentou significativamente em relação ao solo original, e ao solo incubado sem adição de matéria orgânica, após seis meses de incubação, fato que é marcante no solo incubado anaerobicamente (Quadro 6). Ocorrência inversa foi observada nos amonificantes, onde a maior população foi encontrada após 3 meses. O que contradiz observações feitas por *KENDRICK e BURGESS (1962)*, citados por *TOSIN*

(1977), e também o último autor que afirma que as acículas de *Pinus* ficam aproximadamente intactas por seis meses, quando se inicia sua decomposição. Contradição onde se deve levar em conta que no presente trabalho, a matéria orgânica de *Pinus*, assim como as demais, foram trituradas após secagem, antes de serem incorporadas ao solo, e colocadas em temperatura de incubação variando entre 27 a 34°C, que diferem das condições temperadas citadas.

O aumento verificado no pH do solo (Quadro 15 e 16), pode estar associado à alta amonificação inicial, SMILEY e PAPENDICK (1967) e KIEHL e ROCHA FILHO (1972), e este aumento manteve-se devido à baixa atividade nitrificadora, observada em todos os tratamentos. Aliado ao fato que, sendo o solo em estudo de textura *arenosa*, a variação do pH é mais afetada devido ao seu baixo poder tamponante, KIEHL e COBRA NETTO (1976).

A adição de matéria orgânica não incrementou o desenvolvimento de uma microflora nitrificante, que era inicialmente baixa. Sendo os solos de cerrado extremamente pobres, este fato coincide com a afirmação de CHASE *et alii* (1968), de que a nitrificação biológica é usada como indicadora da fertilidade, ALLISON e STERLING (1949), citados por ALEXANDER (1961), demonstraram uma correlação entre o conteúdo de N total e a liberação de nitrito da fração orgânica do solo, sendo a magnitude do processo depende do conteúdo de N do liter. A baixa capacidade de nitrificação de alguns solos resulta primariamente da baixa população de organismos nitrificantes, HEILMAN (1974). O pH exerce uma grande influência na nitrificação, em ambientes ácidos, a marcha é lenta, como atestam experimentos realizados

em solos ácidos de florestas, mesmo com o aumento de NH_4 , *THEOBALDI e SMITH* (1974), *CALLE e VELLASCO* (1972) e *SANTOS* (1977), o que poderia explicar a baixa população nitrificadora encontrada no solo em estudo. Em culturas de enriquecimento a nitrificação dificilmente ocorre em pH abaixo de 6,0, *WEBER e GAINER* (1962). O pouco nitrito produzido pode desaparecer através de assimilação por microrganismos, *CUTLER e MUKERJI* (1931), citados por *ALEXANDER* (1961). É conhecido ainda que diversas plantas, incluindo gramíneas e flores de verão produzem substâncias antimicrobianas, como ácido clorogênico e taninos, que suprimem a nitrificação *BOUGHY et alii* (1964), *RICE* (1965) e *STIVEN* (1952).

Se o liter de uma vegetação inibe a microflora nitrificadora, e não a amonificação, a inibição da nitrificação, pode ter as mesmas consequências favoráveis que a aplicação de inibidores de síntese de nitratos, o que beneficiaria a vegetação, principalmente as coníferas que utilizam o N amoniacal, ao passo que plantas decíduas preferem nitratos, *CHASE et alii* (1968).

Certos tipos de liter são inibidores de microrganismos, agindo principalmente sobre as bactérias nitrificantes e fixadoras de nitrogênio, pertencentes aos gêneros *Azotobacter* e *Beijerinckia*, sendo particularmente marcante nas coníferas, *BAUZON et alii* (1969), citado por *TOSIN* (1977).

Regra geral a denitrificação foi maior após três meses, decrescendo aos seis meses, sendo sensivelmente mais baixa em tratamentos onde foram adicionados resíduos vegetais de *P. elliottii*, *R. exaltata* e *E.*

robusta. O que confirma observações de *DOMMERGUES e MANGENOT (1970)*, de que a denitrificação é afetada pela natureza da matéria orgânica adicionada, e que a denitrificação biológica é favorecida pela adição de resíduos. A denitrificação em anaerobiose não apresentou diferenças significativas em relação aos solos incubados em aerobiose, o que concide com informações recentes, *BOLLAG et alii (1970)*, *DELWICHE e BRYAN (1976)* e *SKINER (1968)*. Não existe uma especificidade dos organismos responsáveis pela denitrificação, então em meio de cultura para avaliação de denitrificantes, na verdade, podem estar presentes uma grande variedades de microrganismos. A temperatura de incubação, que permaneceu próxima dos 30°C, é favorável à denitrificação, segundo observações feitas por *DELWICHE e BRYAN (1976)*.

A conversão de ions nitritos em produtos gasosos, em condições estéreis, é geralmente favorecida pelo ion hidrogênio. NO é produzido em baixos níveis em pH, entre 6,0 e 7,0, mas sob condições mais ácidas, NO é produzido em altos níveis, *DELWICHE e BRYAN (1976)*.

A fixação assimbiótica de nitrogênio é extremamente baixa, e não responde à adição de matéria orgânica. Fato que não surpreende, visto as condições desfavoráveis encontradas para os fixadores nestes solos, pH baixo, teores tóxicos de elementos como alumínio, *ALEXANDER (1961)*. É conhecida que a associação entre bactérias celulolíticas e fixadoras de nitrogênio é benéfica aos dois processos, o que provavelmente não ocorre nestes solos, pois os dois grupos funcionais são escassos. Espécies de *Beijerinckia* crescem bem em pH ácido, chegando mesmo a se desenvolver em pH 3,0, *Clostridium* apresenta uma exigência intermediária, *DOMMERGUES e MANGENOT*

(1970). Um outro fator limitante talvez seja a escassa presença de substâncias energeticamente ricas, que são essenciais à fixação, *ALEXANDER (1961)*, *DÖBEREINER (1959)*, *ASCENÇÃO et alii (1977)*. Não foi avaliada a fixação simbiótica no presente estudo, mas *SILVA (1977)* salienta que a abundância de leguminosas entre a vegetação nativa de cerrado, evidencia que espécies de *Rhizobium* estejam adaptadas às condições de solos de cerrado, apesar de seu baixo pH e toxidez por alumínio.

5.2. Micro Neubauer

No método de Neubauer modificado por *CATANI e BERGAMIN (1961)*, Quadro 13, notou-se que houve diferença significativa entre os tratamentos. No solo incubado em aerobiose, após 3 meses observou-se 3 grupos distintos: Um grupo onde a produtividade foi maior, composta de *R. exaltata* e *E. robusta*, evidenciando uma mineralização mais rápida, *P. elliottii* com uma produtividade intermediária, e um grupo composto de *C. bracteosa*, *Caesalpina* spp. e o solo sem adição de matéria orgânica. Resultados que confirmam observações de *SCHREVEN (1964)*, *MISHUSTIN e MIRSOEVA (1968)*, *CALLE e VELASCO (1971)*, *VELASCO et alii (1974)* de que a taxa de mineralização depende do tipo de resíduo adicionado. Após seis meses, os melhores tratamentos foram os de *P. elliottii* e *C. bracteosa* cujo conteúdo de C tendeu a aumentar neste período quando comparado com o anterior (Quadros 15 e 16), em seguida estão os tratamentos com *R. exaltata* e *E. robusta*, cujo C% diminuiu neste período, evidenciando a sua rápida mineralização e imobilização, o solo tratado com resíduo de *Caesalpina* spp., teve sua produtividade mais baixa que o solo testemunha, provavelmente devido ao toxidez de Al, Quadros 15 e 16.

Em anaerobiose, *C. bracteosa* manteve-se com maior produtividade nos três e seis meses. Aos três meses a diferença entre os tratamentos foi muito pequena. Observa-se, pelos dados, que a decomposição do resíduo é mais lenta, confirmando afirmação de *RHAN* (1913), citado por *MACLAREN* e *SKUJINS* (1968), *ALEXANDER* (1971), *GREENWOOD* (1961), *GREENWOOD* (1968) e *SWABY* (s/d).

5.3. Análise da fertilidade dos solos

Na análise da fertilidade dos solos, foi utilizado para fins comparativos, os níveis citados por *CATANI* e *JACINTO* (1974), após 3 meses notou-se um maior aumento no pH em *E. robusta*, o que coincide com um teor em Ca trocável maior que nos outros solos. Todos os tratamentos apresentam acidez média, com excessão do solo sem adição de resíduo vegetal e do tratamento com *Caesalpina* spp. Após 6 meses não houve uma modificação brusca no pH, notando-se em anaerobiose uma tendência de aumento do pH no solo.

O aumento do pH no solo onde foi adicionado matéria orgânica, deve-se provavelmente ao aumento da amonificação. E a redução do Al trocável, quando comparado com o solo sem adição de resíduo vegetal, e o que recebeu resíduo *Caesalpina* spp. (Quadro 16).

Logo após 3 meses de incubação, o C% mostrou-se alto, e aumentou em todos os tratamentos, comparando-se com a testemunha. Após 6 meses, manteve-se este quadro, observando-se uma tendência de, em anaerobiose, haver um maior aumento de C%, tendência esta já esboçada aos três meses. Talvez devido ao fato de que em anaerobiose os compostos carbonados são me-

tabolizados parcialmente, resultando compostos orgânicos intermediários, SWABY (s/d), SKINER (1968).

O fósforo mostrou-se muito baixo, reforçando a hipótese de que o mesmo seja limitante a vários grupos funcionais do solo. Observou-se um nível um pouco acima dos demais, mas que ainda assim é baixo, em solos onde foi adicionado *Pinus*. Esta provavelmente é uma das causas para uma maior produção após 6 meses no solo incubado em aerobiose. O potássio foi incrementado, atingindo níveis altos nos solos tratados com matéria orgânica, e no solo testemunha manteve-se baixo. O cálcio trocável foi baixo em todos os tratamentos no decorrer dos 6 meses de incubação, sendo mais elevado em *E. robusta*, o que talvez explique o maior aumento do pH neste tratamento.

O nível de magnésio foi médio em *E. robusta*, talvez pela maior riqueza do referido metal neste resíduo (ver análise da M.O.), nos demais tratamentos foi baixo, embora diferindo do solo sem adição de matéria orgânica.

O alumínio foi baixo em solo de *E. robusta* desde o início, e também em *Pinus* após 6 meses de incubação, foi alto no solo original e com adição de *Caesalpinia* spp. após 3 meses e de *C. bracteosa* após 6 meses, nos demais manteve-se médio.

O teor mais elevado de Al nestes tratamentos deve-se ao fato que os vegetais são típicos de cerrado, são plantas perenes e acumulam alumínio durante o seu desenvolvimento, ARENS *et alii* (1958).

O nível de prótons foi médio em todos os tratamentos, mesmo para o solo testemunha, e em *E. robusta* tendendo para baixo.

5.4. Avaliação de fósforo solúvel

Na avaliação de fósforo solúvel em água após incubação por 7 e 15 dias não se obteve diferenças significativas, apresentando um alto coeficiente de variação (Quadro nº 14), o que impede qualquer conclusão.

Na extração do fósforo por ácido, aos 7 dias de incubação, não houve diferenciação entre os tratamentos, a não ser quando comparado com o solo testemunha. Após 15 dias de incubação, notou-se uma pequena solubilização no solo com resíduo de *E. robusta*, mas não diferindo significativamente do solo sem resíduo vegetal e com fósforo. Observou-se também uma pequena imobilização de fósforo nos tratamentos com resíduo vegetal.

6. RESUMO E CONCLUSÕES

No presente trabalho, foram avaliados os grupamentos funcionais do ciclo do carbono: amilolíticos, celulolíticos, e hemicelulolíticos, e os do ciclo do nitrogênio: proteolíticos, amonificantes, nitrificantes, denitrificantes e fixadores de nitrogênio, em solos de cerrado onde foram adicionados resíduos vegetais de espécies nativas: *Rhynchospora exaltata*, *Caesalpinia bracteosa* e *Caesalpinia* spp., assim como espécies comumente utilizadas em reflorestamentos: *Eucalyptus robusta* s.m., *Pinus elliottii* Elgen var. *elliottii*. A incubação foi feita em condições de 60% e 110% da capacidade de campo, em temperatura que oscilou entre 27 e 34°C. Foram realizadas análises de fertilidade e produtividade do solo durante o período de incubação, que foi até 6 meses. Paralelamente foram realizados experimentos com adição de fosfato de rocha nos tratamentos citados, em períodos de incubação de 7 e 15 dias.

Baseados nos resultados obtidos de avaliação do número mais provável de microrganismos nos grupos funcionais do ciclo do carbono e ni-

trogênio, método de micro-Neubauer (produtividade), análise de fertilidade dos solos e incubação do solo com fosfato de rocha, foram obtidas as seguintes conclusões:

a. a incubação do solo com diferentes resíduos vegetais, alterou os vários grupos funcionais de microrganismos do solo, tanto em aerobiose como em anaerobiose. Consequentemente houveram alterações nas populações, fertilidade e produtividade dos solos;

b. no ciclo de nitrogênio, em todos os tratamentos, foram observadas alterações nos grupos funcionais, onde uma baixa população de nitrificantes está associada a uma alta população de amonificantes, o que sugere a possibilidade de acúmulo de N amoniacal no solo.

c. no ciclo do carbono houve diferenças entre a incubação aeróbia e anaeróbia, nesse último havendo um acúmulo de compostos intermediários. Em todos os casos a população de celulolíticos foi muito baixa.

d. a adição de resíduo vegetal, levou a uma melhoria na produtividade e na fertilidade do solo, avaliados respectivamente pelos métodos de micro-Neubauer e análise química do solo, aumentando o pH e reduzindo o Al livre, evidenciando sua importância na reciclagem de nutrientes, principalmente em solos carentes, como são os de cerrado.

7. SUMMARY AND CONCLUSIONS

In this work, microbial functional groups in the carbon cycle - viz: amylolytics, cellulolytics, hemicellulolytics; and those of the nitrogen cycle - proteolytics, ammonificants, nitrificants, denitrificants and nitrogen fixers were analysed in the "cerrado" type of soil in which plant residues of *Rhynchospora exaltata*, *Caesalpinia bracteosa*, *Caesalpinia* spp. (all native species), and *Eucalyptus robusta* s.m., *Pinus elliottii* Elgen var. *elliottii* (varieties that are normally used in reforestation), had been added.

Incubation was done at 60 and 110% field capacity at temperatures that varied between 27 and 34°C. Fertility and productivity of the soil were analysed during an incubation period that lasted 6 months. At the same time similar experiments were realised but with the addition of rock phosphate to the soil and incubation period of 7 to 15 days.

Based on the results obtained from the evaluation of the most probable number of microorganisms in both carbon and nitrogen cycles,

the method of micro-Neubauer (for productivity), the analysis of fertility of soils and the incubation of soil rock phosphate, the following conclusions were arrived at:

a. Incubating the soil with different plant residues altered the microbial functional groups both aerobic and anaerobic. As a result, there was a change in the microbial populations, fertility and productivity of the soils.

b. In the nitrogen cycle like in all other treatments, alterations in functional groups were observed where low nitrificant populations are associated with a high population of ammonificants - suggesting a possible accumulation of ammoniacal nitrogen in the soil.

c. As to the carbon cycle there was a difference between aerobic and anaerobic incubations; in the latter there was a accumulation of intermediary compounds. In all cases the populations of cellulolytic microorganisms was quite low.

d. Addition of plant residues to the soil resulted in higher fertility and productivity (as demonstrated by chemical and micro-Neubauer analyses of the soil), increased pH, and reduction of free aluminium. All the above showed their importance in nutrient recycling principally in deficient soils like the "cerrado" type.

8. LITERATURA CITADA

ADAMCZYC-WINIARSK, Z.; M. KROL e J.P. KOBUS, 1975. Microbial oxidation of elemental sulfur in brown soil. *Plant Soil*, 43(1): 95-100.

ALEXANDER, M., 1961. *Introduction to soil microbiology*. U. States, editor JOHN WILEY & SONS, INC., 472 p.

ALEXANDER, M., 1964. Biodegradation: problems of molecular recalcitrante and microbial fallibility. *Adv. Appl. Microbiol.*, 7: 35-80.

ALEXANDER, M., 1968. Degradation of particides by soil bacteria. In: Gray, T.R.G. e D. Parkinson, Ed. *The ecology of soil bacteria*. Liverpool, Liverpool University Press, p. 270-284.

ARENS, K.; M.G. FERRI e L.M. COUTINHO, 1958. Papel do fator nutricional na Economia d'água de plantas do cerrado. *Rev. Biol. Lisboa*, 1:313-324.

ARZOLLA, J.D.P., 1959. Contribuição ao estudo da nitrificação de *Aspergillus wentii*, Whemer. Piracicaba, ESALQ/USP, 74 p. (Tese de Livre-Docência).

ASCENÇÃO, A.R.; L. DE VASCONCELOS; M.F.F. FARIA e A. DROZDOWICZ, 1977.

Survival of nitrogen fixing bacteria in cerrado soils. In: International Symposium on the limitations and potentials of biological nitrogen fixation in the tropics. Ed. by DÖBEREINER, J.; R.H. BURRIS; D.B. SCOTT e A. HOLLAENDER. p. 85. Universidade de Brasília, Brasil.

ASKINAZI, D.L., 1958. The possible role of microorganisms in increasing. The effectiveness of ground rock phosphate as a fertilizer. *Soviet Soil Science*, 4: 372-379.

AUGIER, J., 1956. A propos de la enumeration des *Azotobacter* en mileu liquide. *ANN. INST. PASTEUR*. 91: 759.

AUGIER, J., 1957. A propos de la fixation biologique de l'azote atmosphérique, et la numeration des *clostridium* fixateurs dans les sols. *ANN. INST. PASTEUR*. 92: 817-824.

BACON, J.S.D., 1968. The chemical enviroment of bacteria in soil. In: GRAY, T.R.G. e D. PARKINSON, Ed. *The ecology of soil bacteria*. Liverpool, Liverpool University Press, p. 25-43.

BAREA, J.M.; A. RAMOS e V. CALLAO, 1970. Incidence of phosphate-mineralizing microorganisms in soils of Granada. *Microbiologia esp.* 23: 149-156.

BARJAC, H., 1952. La puissance denitrifiante du sol mise au point d'une technique d'evaluation. *ANN. INST. PASTEUR*. 83: 118-125.

BARJAC, H. e M.A. CHALVIGNAC, 1954. Nouve essai sur la determinación du pouvoir amylolytique. *Annls. Inst. Pasteur*. Paris, 87: 84-89.

- BASU, S.N. e S.N. GHOSE, 1960. The production of cellulase by fungi on mixed cellulosic substrates. *Can. J. Microbiol.*, 6: 265-282.
- BERTRAND, D., 1972. Interactions between mineral elements and soil microorganisms. *Revue d'Ecologie et de Biologie du Sol.* 9(3): 349-396.
- BIEDERBECK, V.O. e C.A. CAMPBELL, 1973. Soil microbial activity as influenced by temperature trends and fluctuations. *Can J. Soil Sci.*, 53: 363-376.
- BIRCH, H.F., 1958. The effect of soil drying on humus decomposition and nitrogen availability. *Plant and Soil*, 10: 9-31.
- BJÄLLFAVE, G., 1962. Nitrogen fixation in cultures of algae and other organisms. *Physiologia Pl.*, 15: 122.
- BOLLAG, J.M.; M.L. ORCUTT e B. BOLLAG, 1970. Denitrification by isolated soil bacteria under various enviromental conditions. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 34: 875-879.
- BÖNISCHOVÁ-FRANKLOVÁ, S. e B. NOVÁK, 1970. The effect of different temperatures on the transformation of organic matter by soil microflora. *Pedobiologia*, 10: 373-380.
- BOUGHY, A.S.; P.E. MUNRO; J. MEIKLEJOHN; R.M. STRANG e J.M. SWIFT, 1964. Antibiotic reactions between Africa savanna species. *Nature*, Lond., 203: 1302-1303.

- BOWMAN, R.A. e D.D. FOCHT, 1974. The influence of glucose and nitrate concentrations upon denitrification rates in sandy soils: *Soil Biology & Biochemistry*, 6(5): 297-301.
- BOWEN, G.D., 1961. The toxicity of legume seed diffusates toward *rhizobia* and other bacteria. *Pl. Soil.*, 15: 155.
- BRADLEY, D.B. e D.H. SIELING, 1953. Effect of organic anions and sugar on phosphats precipitations by pH. *Soil Sci.*, 76: 175.
- BRANDT, G.M.; A.R. WOLCOTT e A.E. ERICKSON, 1964. Nitrogen transformations in soils as related to structure, moisture and oxygen difusion rate. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, 28: 71.
- BRISTOL, B.M., 1919. On the retention of vitality by algae from old stored soils. *New Phytol.*, 18: 92.
- BROWN, M.E.; R.M. JACKSON e S.K. BURLINGHAM, 1968. Growth and effects of bactéria introduced into soil. In: GRAY, T.R.G. e D. PARKINSON, Ed. *The ecology of soil bacteria*. Liverpool, Liverpool University Press, p. 531-551.
- CALLE, J.M.L., 1968. Influência de diversos factores ambientales y edaficos, sobre la actividad microbiana. *Anales de Edafologia y Agrobiologia*. Madrid, 27 (11-12).
- CALLE, J.M.L., e F. VELASCO, 1971. Microbial population and humus types in semiarid soils. *Anales de Edafologia y Agrobiologia*. Madrid, 30 (3/4): 285-292.

- CALLE, J.M.L. e F. VELASCO, 1972. Alteraciones sinecológicas de la población microbiana en um antigo bosque de *Quercus toza* Bash., repoblado con *Pinus pinaster* Sol. *Anales de Edafologia y Agrobiologia*. Madrid, 31 (7/8): 615-624.
- CAMPBELL, C.A.; V.O. BIEDERBECK e F.G. WARDER, 1970. Stimulated early spring thaw conditions infusious to soil microflora. *Can. J. Soil Sci.*, 50: 257-259.
- CAMPBELL, C.A. e V.O. BIEDERBECK, 1972. Influence of flutuating temperatures and constant soil moistures on nitrogen changes in amended and unamended loam. *Can. J. Soil. Sci.*, 52: 323-336.
- CARVALHO, P.C.T.; A.F. EIRA e O. PELLEGRINO, 1969. Solubilização quantitativa de fosfatos insolúveis, por algumas espécies dos gêneros, *Aspergillus* e *Penicillium*. *Anais da ESALQ-USP*. Piracicaba, SP, 26: 173-185.
- CARVALHO, P.C.T.; J.M. SALGADO e E.P. DE SANTANA, 1977. Biotransformação da apatita de Araxã em solo suplementado com diferentes fontes de carbono. *Revista O Solo*. Piracicaba, 69: (11) 30-34.
- CASIDA, L.E. Jr., 1959. Phosphatase activity of some common soil fungi. *Soil Sci.*, 87: 305-310.
- CATANI, R.A. e A.O. JACINTO. 1974. Avaliação da fertilidade do solo. *Métodos de análise*. Piracicaba. Livroceres, 61 p.
- CATANI, R.A. e H. BERGAMIN Fº, 1961. Sobre uma modificação do método de Neubauer. *Anais da ESALQ*. Piracicaba, 18: 287-300.

- CHALVIGNAC, M.A., 1953. Mesure des pouvoirs amylolytique at protéolytiques des terres en aërobose. *Ann. Inst. Pasteur.* Paris, 84: 816-819.
- CHASE, F.E.; C.T. CORKE e J.B. ROBINSON, 1968. Nitrifying bacteria in soil. In: GRAY, T.R.G. e D. PARKINSON, Ed. *The ecology of soil bacteria*. Liverpool, Liverpool University Press, p. 591-611.
- CLARK, F.E., 1968. The growth of bacteria in soil. In: GRAY, T.R.E. e D. PARKINSON. *The ecology of soil bacteria*. Liverpool, Liverpool University Press, p. 441-457.
- COOPIER, O. e H. BARJAC, 1952. De la ríchease d'un sol en microorganismes nitrificateurs. *Ann. Inst. Pasteur*, 83: 118-125.
- CROCOMO, J.O., 1967. *Transformações metabólicas em microorganismos*. Curitiba, Instituto de Bioquímica da Universidade Federal do Paraná. 165 p.
- CURRIE, J.A., 1962. The importance of aeration in providing the right conditions for plant growth. *J. Sci. Food Agric.*, 13: 380.
- DABAN, B., 1976. Composição química e formação dos produtos húmicos no solo. In: *1º Colóquio sobre matéria orgânica no solo*. Piracicaba.
- DE, S.K.; S. ALI e S. CHANDRA, 1972. Changes in the quantities of soil organic carbon in presence of ammonium salts. *Indian J. Agric. Chem.*, 5: 61-68.
- DEL WICHE, C.C. e B.A. BRYAN, 1976. Denitrification. *Ann. Rev. Microbiol.* 30: 241-262.

- DÖBEREINER, J., 1959. Influência da cana-de-açúcar na população de *Beijerinckia* no solo. *Rev. Brasil. Biol.*, 19(3): 251-258.
- DÖBEREINER, J. e R. ALVAHYDO, 1966. Eliminação da toxidez de manganês em solo "gray hidromórfico" pela matéria orgânica. *Pesq. Agropec. Bras.*, 1: 243-248.
- DÖBEREINER, J., 1977. Potential for nitrogen fixation in legumes and grasses. In: International Symposium on the limitations and potentials of biological nitrogen fixation in the tropics. Ed. by DÖBEREINER, J.; R.H. BURRIS; D.B. SCOTT e A. HOLLAENDER. p. 34. Universidade de Brasília, Brasil.
- DOMMERGUES, Y. e F. MANGENOT, 1970. *Écologie microbienne du sol*. Paris, Masson et Cie, Éditeurs. 796 p.
- EIRA, F.A. e P.C.T. CARVALHO, 1970a. A decomposição da matéria orgânica pelos microorganismos do solo, e sua influência nas variações do pH. *Revista de Agricultura*, 45: 15-21.
- EIRA, A.F. e P.C.T. CARVALHO, 1970b. Levantamento de microorganismos solubilizadores de fosfato. *Rickia*, 5: 111-124.
- ESCOBAR, E.; M. NESTOR e M. BLASCO, 1972. Mineralizacion del carbono y nitrógeno en los suelos del Putumayo, Amazonas Colombiano. Efectos de la celulosa y temperatura. *Turrialba*, 22(1): 47-52.

- FAHRAUES, G. e H. LJUNGGREEN, 1968. Pré-infection phases of the legume symbiosis. In: GRAY, T.R.G. e D. PARKINSON, Ed., *The ecology of soil bacteria*. Liverpool, Liverpool University Press, p. 396-421.
- FREIRE, J.R.J., 1975. Microbiologia do solo. Faculdade de Agronomia. U.F.R.G.S. Porto Alegre, 234 p.
- GIRARD-ROGIEUX, 1964. *Técnicas de Microbiologia agrícola*. Zaragoza, editorial Acríbia. 267 p.
- GOODLAND, R.J.A., 1971. Oligotrofismo e alumínio no cerrado. In: Ferri. M.G. Coord. *Simpósio sobre cerrado*. 3a. ed. São Paulo, Ed. Edgard Blücher, p. 45-60.
- GRANS, W.T., 1975. The relation between organic matter content and exchangeable aliminium in acid soil. *Soil Sci. Amer. Proc.*, 39(1): 591.
- GRAY, T.R.S. e S.T. WILLIAMS, 1971. *Soil microorganism*. University Reviews in Botany. Ed. by Professor V.H. Heywood, Ph.D, D. Sc., 240 p.
- GREENWOOD, D.J., 1961. The effect of oxygen concentration of the decomposition of organic materials in soil. *Plant Soil*, 14: 360-376.
- GREENWOOD, D.J., 1962. Nitrification and nitrate dissimilation in soil. II. Effect of oxygen concentration. *Plant Soil*, 17: 378-391.

- GREENWOOD, D.J., 1968. Measurement of microbial metabolism in soil. In: GRAY, T.R.G. e D. PARKINSON, Ed. *The ecology of soil bacteria*, Liverpool, Liverpool University Press, p. 138-157.
- HAYMAN, D.S., 1975. Phosphorus cycling by soil microorganisms and plant roots. In: WALKER, N., Ed. *Soil microbiology*. A critical review, London, p. 67-91.
- HIRTE, W.F., 1972. Influence of organic matter on the heterotrophic bacteria in different soils. In. Proceedings of the Symposium on soil microbiology. Symposia Biologica Hungarica, 11: 221-227.
- HEILMAN, D., 1974. Effect of urea fertilization on nitrification in forest soils of the Pacific North West. Soil Sci. Soc. Amer. Proc., 38 (4): 664-667.
- HODSON, P.H., 1973. The role of phosphorus in bacteria and viroses. In: Environmental phosphorus Hand Book. John Willey & Sons ed. p. 451-474.
- HOLDING, A.J. e D.C. JEFFREY, 1968. Effects of metallic ions on soil bacteria. In: GRAY, T.R.G. e D. PARKINSON, Ed. *The ecology of soil bacteria*. Liverpool, Liverpool University Press, p. 516-530.
- IMSHENETSKY, A.A., 1968. Decomposition of cellulose in the soil. In: GRAY, T.R.G. e D. PARKINSON. Ed. *The ecology of soil bacteria*. Liverpool, Liverpool University Press, p. 256-269.
- JAYARAMAN, K.N. e N.N. PRASAD, 1972. Production of phosphatase by soil *Aspergilli*. Madras Agricultural Journal, 59: 640-641.

- JOHNSON, D.D. e W.D. GUENZI, (s/d). Influence of salts on ammonium oxidation and carbon dioxide evolution from soil. *Proc. Soil Sci. Soc. Amer.*, 27: 663.
- JUMA, N.G. e M.A. TABATABAI, 1977. Effects of trace elements on phosphatase activity in soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 41: 343-346.
- JUSTICE, J.K. e R.L. SMITH, 1962. Nitrification of ammonium sulfate in a calcareous soil as influenced by combinations of moisture, temperature and levels of added nitrogen. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, 26:246.
- KIEHL, J.C. e J.V.C. ROCHA FILHO, 1972. Adubação do trigo com amônia anidra. *Revista de Agricultura*, 47(2): 75-80.
- KIEHL, J.C. e A. COBRA NETO, 1976. Nitrificação da amônia em alguns solos do município de Piracicaba. *Revista O Solo*, 68 (2): 32-39.
- KOIKE, H., 1961. The effects of fumigantes on nitrate production in soil. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, 25: 204.
- KONG, K.T. e Y. DOMMERGUES, 1973a. Cellulolysis limitation in organic soils. II. A study of soil enzymes. *Revue d'Ecologie et de Biologie du sol*, 9: 629-640.
- KONG, K.T. e Y. DOMMERGUES, 1973b. Limited cellulolysis in organic soils. III. Competition between cellulolytic and non-cellulolytic microflora in organic soils. *Revue d'Ecologie et de Biologie du sol*, 10: 45-53.
- KRASILNIKOV, N.A., 1968. Sanitation of soil by microorganisms. In: GRAY,

- T.R.G. e D. PARKINSON, Ed. *The ecology of soil bacteria*. Liverpool, Liverpool University Press, p. 422-438.
- KUBISTA, K., 1972. Effect of organic matter, aeration and bentonite on microorganisms and plants. In: Proceedings of the Symposium on soil microbiology. *Symposia Biologica Hungarica*, 11: 229-235.
- LAJUDIE, J. e M.A. CHALVIGNAC, 1956. Appréciation de l'activité protéolytique de la microflora du sol. *Ann. Inst. Pasteur*, 90: 359-361.
- LOCKWOOD, J.L., 1959. *Streptomyces* spp. as a cause of natural fungitoxicity in soils. *Phytopathology*, 49: 327.
- LOCKWOOD, J.L. e B.T. LINDAPA, 1963. Fungitoxicity of sterilized soil incubated with soil microflora. *Phytopathology*, 53: 917.
- LOEWENSTEIN, H.; L.E. ENGELBERT; O.J. ATTOE e O.N. ALLEN, 1957. Nitrogen loss in gaseous forms soils as influenced by fertilizers and management. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, 21: 397.
- LOTT, W.L.; J.P. NERY; J.R. GALLO e J.C. MEDCALE, 1956. A técnica de análise foliar aplicada ao cafeeiro. IBEC Research Institute, nº 9.
- LOURES, E.G.; A.R. CONDE e J. ALENCAR, 1976. Efeito de uma *Pseudomonas* sp. oligonitrofila na estabilidade de agregados do solo. *Revista Ceres*, 23 (129): 364-373.
- MACFADYEN, A., 1968. The animal habitat of soil bacteria. In: GRAY, T.R. G. e D. PARKINSON, Ed. *The ecology of soil bacteria*. Liverpool, Liver-

pool University Press, 66-76.

MACLAREN, A.D. e J. SKUJINS, 1968. The physical environment of micro-organisms in soil. In: GRAY, T.R.G. e D. PARKINSON, Ed. *The ecology of soil bacteria*. Liverpool, Liverpool University Press, p. 3-24.

MACURA, J., 1968. Physiological studies of rhizosphere bacteria. In: GRAY, T.R.G. e D. PARKINSON, Ed. *The ecology of soil bacteria*, Liverpool, Liverpool University Press, p. 379-395.

MADAN, M., 1974. Microbial dissolution of phosphates. *Indian J. Microbiol.* 14(4): 167-172.

MISHUSTIN, C.N. e V.A. MIRSOEVA, 1968. Spore forming bacteria in the soils of the USSR. In: GRAY, T.R.G. e D. PARKINSON, Ed. *The ecology of soil bacteria*. Liverpool, Liverpool University Press, 458-473.

MITCHELL, R. e M. ALEXANDER, 1963. Lysis of soil fungi by bacteria. *Can. J. Microbiol.*, 9: 169.

MOKWUNEY, UZO, 1975. The influence in pH of soils from savannah zones of Nigéria. *Soil Sci. Soc. Proc.*, 39 (2): 1100-1102.

OLUTIOLA, P.O., 1968. Cellulase enzymes in culture filtrates of *Ceratocystis paradoxa*. *Mycologia*, 68(5): 1083-1092.

PERES, J.R.R.; A.R. SUHET e D.M.G. DE SOUZA, 1977. Biological fixation of atmospheric nitrogen in some brazilian cerrado soils, preliminary observations. In: International Symposium on the limitations and potentials of biological nitrogen fixation in the tropics. Ed. by

- DÖBEREINER, J.; R.H. BURRIS; D.B. SCOTT e A. HOLLAENDER. p. 107. Universidade de Brasília, Brasil.
- POCHON, J. e P. TARDIEUX, 1962. *Techniques d'analyse on microbiologie du sol*. Editions de la Tourelle, Paris, III, 111 pg.
- POCHON, J. e P. TARDIEUX, 1968. Enrichement and the elective cultivation of bacteria. In: GRAY, T.R.G. e D. PARKINSON Ed. *The ecology of soil bacteria*. Liverpool, Liverpool University Press, p. 123-137.
- PURCHASE, B.S., 1974. The influence of phosphate deficiency on nitrification. *Plant and Soil*, 41 (3): 541-547.
- QUERO, F.G., 1943. Compendio de microbiologia del suelo. Processos biológicos do solo. Instituto Florestal de Investigaciones y Experiências. Madrid.
- REESE, E.T. e H.S. LEVINSON, 1952. Comparative study of breakdown of cellulose by microorganisms. *Physiol. Plantarum*, 5: 345-366.
- RICE, E.L., 1964. Inhibition of nitrogen-fixing nitrifying bacteria by seed plants. I. *Ecology*, 45: 824.
- RICE, E.L., 1965. Inhibition of nitrogen-fixing and nitrifying bacteria by seed plants. II. Characterization and identification of inhibitors. *Physiol. Plant.*, 18: 255-268.
- ROBINSON, J.D., 1963. Nitrification in a New Zealand Grassland soil. *Pl. Soil*, 19: 173-183.

- ROSS, J.D. e B.A. BRIDGER, 1977. Factors influencing nitrogen mineralization in Taita hill soil, a central yellow-brown earth under grazed pasture. *N.Z. Journal of Agricultural Research*, 20 (2): 193-203.
- ROVATT, J.W., 1968. Nutritional classifications of soil bacteria and their value in ecological studies. In: GRAY, T.R.G. e D. PARKINSON, Ed. *The ecology of soil bacteria*. Liverpool, Liverpool University Press. p. 360-376.
- ROVIRA, A.D. e E.H. RIDGE, 1973. Exudation of ^{14}C -labelled compounds from wheath roots: influence of nutrients, microorganisms and added organic compounds. *New Phytol.*, 72: 1081-1087.
- RUSSELL, E.W., 1968. The agricultural environment of soil bacteria. In: GRAY, T.R.G. e D. PARKINSON. *The ecology of soil bacteria*. Liverpool, Liverpool University Press, p. 77-89.
- SANTOS, O.M., 1977. Biodinâmica de um ecossistema de solo de tabuleiro da região sul do Estado da Bahia. Universidade Federal da Bahia, 87 p. (Tese de mestrado).
- SCHREVEN, D.A. VAN, 1964. A comparison between the effect of fresh and dried organic materials added to soil on carbon and nitrogen mineralization. *Plant and soil*, 20: 149.
- SHIELDS, L.M. e H. DURRIEL, 1964. Algae aeration to soil fertility. *Bot. Rev.*, 30: 92.

- SILVA, A.R. da, 1977. Cerrado: region of high agricultural potential and requiring nitrogen. In: International symposium on the limitations and potentials of biological nitrogen fixation in the tropics. Ed. by OÖBEREINER, J.; R.H. BURRIS; D.B. SOTT e A. HOLLAENDER, p. 5-14. Universidade de Brasília, Brazil.
- SKINER, F.A., 1968. The anaerobic bacteria of soil. In: GRAY, T.R.G. e D. PARKINSON, Ed. *The ecology of soil bacteria*. Liverpool, Liverpool University Press, p. 573-592.
- SMILEY, R.W. e R.I. PAPENDICK, 1967. A portable injector for dispersing liquid anhydrous NH_3 in the field. *Soil Sci. Soc.*, 32: 729-731.
- SMITH, J.H. e G.R. BURNS, 1965. Ion gradients and nitrification associated with decomposition of plants material layer in soil. *Soil Sci. Soc. Proc.* 29: 179-181.
- SMITH, K.A., 1977. Soil aeration. *Soil Science*, 123(5): 284-291.
- SPURR, S.H., 1940. The influence of two juniperus species on soil reaction. *Soil Science*, 50: 289-294.
- STANFORD, G.; M.H. FRERE e D.H. SCHWANINGER, 1973. Temperature coefficient of soil nitrogen mineralization. *Soil Sci.*, 115: 321-323.
- STENVENSON, I.L., 1956. Antibiotic activity of actinomycets in soil as demonstrated by direct observation techniques. *J. Gen. microbiol.*, 15: 372.

- STIVEN, G., 1952. Production of antibiotic substances by the roots of a grass *Trachypogon phimorus* (H.B.K.) Nus. and of *Pentanisia variabilis* (E. Mey.) Harv. (rubiaceae). *Nature*. Lond., 170: 712-713.
- STOJANOVIC, B.J. e M. ALEXANDER, 1958. Effect of inorganic nitrogen on nitrification. *Soil Sci.*, 86: 208.
- SWABY, R.J., (s/d). Stability of soil inorganic matter and its significance in practical agriculture. In: Organic matter and soil fertility. JOHN WILEY & SONS, Inc., New York, USA, 583-604.
- SZEMBER, A.; B. WOYTOWICZ e W. JASKIEWICZ, 1972. The influence of light soil fertilization with bentonite on the growth of cellulolytic fungi. *Polish Journal of Soil Science*, 5: 77-83.
- TABOADA, J.; M. ULLOA e T. HERRERA, 1973. Fijación de nitrógen in vitro por *Agrobacterium azotophilum* en diversos substratos, principalmente tierra y derivados de la industria azucarera. *Rev. Lat. amer. Microbiol.*, 15: 143-146.
- TAHA, S.M.; M.A.Z. MAHMOUD e A. EL-DAMATY, 1969, Activity of phosphate dissolving bacteria in Egyptian Soils. *Plant. Soil*, 31: 149-160.
- TESAROVA, M., 1971. Effect of nitrogen form on cellulose decomposition at different levels os soil moisture. *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasiten Kunde, infektionskhankheiten und Hygiene, Zweite Abteihung*, 126 (4): 409-419.

- TESAROVA, M. 1971. Utilization of N, P and S additions by the cellulolytic microflora of some grassland soils. *Folia microbiologica*, 16: 514.
- THEOBALDI, W.F. e W.H. SMITH, 1974. Nitrate production in two soils and nitrate reducing in Pine. *Soil Sci. Soc. Amer.*, 38: 668-672.
- TODOROVA, B. e M. BENEVSKI, 1971. Changes in the cellulose decomposing activity of leached chernozem-somonitza in the presence of various forms of nitrogen and phosphorus fertilizers. *Pochv. Agrokhim.*, 5(5): 57-63.
- TOSIN, J.C.; J.M.G. FERRAZ; E. DE ASSUMPTÃO; O.C.R. GOMES e P.C.T. CARVALHO, 1976. Influência do *Pinus elliottii* Engelm, *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze e da mata nativa sobre a atividade microbiana do solo . In: VII Congresso Brasileiro de Microbiologia, Porto Alegre, RS. 1976.
- TOSIN, J.C., 1977. Influência do *Pinus elliottii* Engelm., *Araucaria angustifolia* Bert.) O. Ktze. e da mata nativa sobre a atividade microbiana do solo. Universidade Federal de Curitiba. 105 p. (Tese de Mestrado).
- VELLASCO, F. e J.M.L. CALLE, (s/d). Processos de humificación, dinamica y catenas de suelos en la Sierra de Guadarrama. *Anales de Edafologia y Agrobiologia*. 347-358.
- VELLASCO, F., L. VILLALBA e J.M.L. CALLE, 1974. Influência del extrato hidrosoluble de *Juniperus thurifera* L. sobre diversos microorganismos te luricos. *Anales de Edafologia y Agrobiologia*, 32 (1-2): 83-89.
- VERONA, O. e A.A. LEPIDI, 1972. Decomposition of the outward waxy film of straw by soil micro-organisms. In: Proceedings of the Symposium on

soil microbiology. *Symposia Biologica Hungarica*, 11: 55-58.

WEBER, D.F. e P.L. GAINER, 1962. Relative sensitivity of nitrifying organisms to hydrogen ions in soils and solutions. *Soil Sci.*, 94, 138-145.

WELCH, L.F. e A.D. SCOTT, 1960. Nitrification of fixed ammonium in clay minerals as affected by added potassium. *Soil Sci.*, 90: 79.

YUFERA, E.P. e J.M.C. DORRIEN, 1973. *Química agrícola, solos e fertilizantes*. Editorial Aluambra, Madrid, 472 p.

APENDICE

Quadro 1. Análise de variância do método de Micro-Neubauer aplicado às plantas de arroz cultivadas em solos incubados durante 3 meses em aerobiose.

Causas da variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	5	0,88	0,17	10,09
Resíduos	24	0,42	0,01	
Total	29	1,30		

C.V. = 15,29%

D. Padrão = 0,1324

D.M.S = 0,2588

QUADRO 2. Análise de variância do método de Micro-Neubauer aplicado às plantas de arroz cultivadas em solos incubados durante 6 meses em aerobiose.

Causas da Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	5	2,55	0,51	31,46
Resíduo	24	0,39	0,01	
Total	29	2,94		

C.V. = 10,91%

D. Padrão = 0,1275

D.M.S. = 0,2492

Quadro 3. Análise de variância do método de Micro-Neubauer aplicado à plantas de arroz cultivadas em solos incubados durante 3 meses em anaerobiose.

Causas da Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	5	0,22	0,04	5,77
Resíduo	24	0,18	0,00	
Total	29	0,40		

C.V. = 11,32%

D. Padrão = 0,0879

D.M.S. = 0,1718

Quadro 4. Análise de variância do método de Micro-Neubauer aplicado à plantas de arroz cultivadas em solos incubados durante 6 meses em anaerobiose.

Causas da Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	5	2,78	0,55	25,02
Resíduo	24	0,53	0,02	
Total	29	3,32		

C.V. = 12,87%

D. Padrão = 0,1492

D.M.S. = 0,2917

Quadro 5. Análise de variância do P solúvel em ácido do solo incubado por 7 dias com fosfato de rocha.

Causas da Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	6	28,83	4,80	23,96
Resíduo	28	5,61	0,20	
Total	34	34,45		

C.V. = 20,59%

D. Padrão = 0,4478

D.M.S. = 0,8992

Quadro 6. Análise de variância do P solúvel em ácido do solo incubado por 15 dias com fosfato de rocha.

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	6	25,66	4,27	42,52
Resíduo	28	2,81	0,10	
Total	34	28,47		

C.V. = 16,06%

D. Padrão = 0,3171

D.M.S. = 0,6368

Quadro 7. Análise de variância do P solúvel em água do solo incubado por 7 dias com fosfato de rocha.

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	6	0,00	0,00	3,07
Resíduo	28	0,00	0,00	
Total	34	0,00		

C.V. = 73,95%

D.Padrão = 0,0006

D.M.S. = 0,0013

Quadro 8. Análise de variância do P solúvel em água do solo incubado por 15 dias com fosfato de rocha.

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	6	0,00	0,00	0,00
Resíduo	28	0,00	0,00	
Total	34	0,00		

C.V. = 141,66%

D. Padrão = 0,0019

D.M.S. = 0,0039