

# BIOMASSA MICROBIANA DO SOLO E PRODUÇÃO DE ALFACE EM FUNÇÃO DA DOSE DE N E ADUBO ORGÂNICO

## SOIL MICROBIAL BIOMASS AND PRODUCTION OF LETTUCE IN FUNCTION OF DOSE OF N AND ORGANIC FERTILIZER

Cícero Célio de Figueiredo<sup>1</sup>; Maria Lucrécia Gerosa RAMOS<sup>2</sup>

1. Doutorando em Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, Brasil. [cceliofigueiredo@yahoo.com.br](mailto:cceliofigueiredo@yahoo.com.br);

2. Professora, Doutora, Faculdade de Agronomia e Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, DF, Brasil.

**RESUMO:** O objetivo deste trabalho foi estudar a biomassa microbiana do solo e a produção de alface em função da dose de N e adubo orgânico. Utilizou-se o delineamento estatístico de blocos ao acaso com quatro repetições totalizando vinte parcelas. Cada parcela experimental que ocupou uma área de 2m<sup>2</sup> recebeu 10 kg de esterco bovino de curral curtido (50 Mg ha<sup>-1</sup>). Além da adubação orgânica, as parcelas receberam doses de nitrogênio mineral (0, 25, 50, 100 e 200 g m<sup>-2</sup> de sulfato de amônio). Independentemente da dose de adubação nitrogenada adicionada ao esterco, o solo apresentou alto quociente metabólico e baixa razão porcentual Cmic:Corg. A adição de 10 kg N ha<sup>-1</sup> ao esterco promoveu maiores valores do carbono da biomassa microbiana do solo. A adição de 20 kg N ha<sup>-1</sup> promoveu maior massa fresca e as doses de N não afetaram a altura, o diâmetro e a massa seca da alface. De maneira geral, doses entre 10 e 20 kg N ha<sup>-1</sup> promoveram aumento da massa fresca aliado aos maiores valores de biomassa microbiana.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Lactuca sativa*. Nitrogênio. Matéria orgânica.

### INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa* L.) é a hortaliça folhosa mais produzida e consumida no Brasil, possui baixo valor calórico, sendo boa fonte de vitaminas e de sais minerais (OSHE et al., 2001). Esta cultura apresenta grande resposta à adubação nitrogenada e possui grande potencial de produção com adubos orgânicos (SANTOS et al., 2001; MORAES et al., 2006).

Kiehl (1985) afirma que os adubos orgânicos aplicados ao solo sempre proporcionam resposta positiva sobre a produção das culturas, chegando a igualarem ou até mesmo a superarem os efeitos dos fertilizantes químicos. Entretanto, dependendo de sua composição química, taxa de mineralização e teor de nitrogênio, que por sua vez sofrem influências das condições climáticas, os adubos orgânicos em doses elevadas tornam-se prejudiciais às culturas.

Porto et al. (1999) verificaram que o diâmetro e o número de folhas por planta de alface aumentaram com as doses de matéria orgânica, atingindo o máximo em 80 Mg ha<sup>-1</sup>. Verificaram ainda que a máxima produção de matéria fresca da parte aérea (g planta<sup>-1</sup>) foi obtida na dosagem de 63,4 Mg ha<sup>-1</sup> de esterco bovino. Santos et al. (1994) observaram máxima produção de alface com a dose de 65 Mg ha<sup>-1</sup> de composto orgânico, com pequenos decréscimos em doses mais elevadas.

Santos et al. (2001a) verificaram efeito residual de adubo orgânico sobre a produtividade de

alface, enquanto que este efeito não foi verificado pela adubação mineral; a adubação com adubo orgânico promove ainda menor perda de matéria fresca, após a colheita (SANTOS et al., 2001b). Já para o coentro, o rendimento máximo estimado de massa verde foi obtido com 3,9 kg m<sup>-2</sup> de esterco bovino na presença de adubo mineral (OLIVEIRA et al., 2002).

Com a adição ao solo de um material rico em carbono orgânico (Corg), como o esterco bovino, parte deste é utilizada pelos microrganismos como fonte de energia, o que promove aumento na atividade microbiológica e conseqüente liberação de CO<sub>2</sub> e aumento do carbono da biomassa microbiana do solo (CBMS). A respiração microbiana reflete a atividade microbiológica do solo e é medida através da quantificação de CO<sub>2</sub> liberado e/ou de O<sub>2</sub> absorvido, resultante da atividade dos microrganismos (PAUL e CLARK, 1989), e também reflete a atividade de microrganismos aeróbios quanto anaeróbios (GAMA-RODRIGUES, 1999). O CBMS é a fração viva da matéria orgânica do solo e representa entre 1 a 5% do carbono orgânico do solo e a biomassa microbiana é a principal responsável pelas transformações dos nutrientes e o fluxo de energia no solo (WARDLE, 1992), além de ser considerada uma indicadora sensível às alterações que ocorrem no solo (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002) e funcionar como um reservatório lábil de carbono e de nutrientes para as plantas (JOERGENSEN e SCHEU, 1999). A razão entre o carbono da biomassa microbiana e o

carbono orgânico do solo (Cmic:Corg) é uma medida da qualidade da matéria orgânica do solo (WARDLE, 1994), quando esta razão é alta, representa que a matéria orgânica é de boa qualidade (WARDLE 1992); as variações dessa relação, fornecem informações sobre a eficiência da conversão do Corg em CBMS, estabilização do Corg na fração mineral do solo e as suas perdas (SPARLING, 1992).

Através da razão entre a respiração microbiana e o carbono da biomassa microbiana, obtém-se o quociente metabólico ( $qCO_2$ ) e valores altos de  $qCO_2$  indicam que a eficiência da atividade microbiana do solo é baixa e que os microorganismos do solo estão sob estresse ambiental (WARDLE e GHANI, 1995), pois uma biomassa microbiana eficiente libera menos carbono na forma de  $CO_2$  pela respiração e incorpora mais carbono em sua constituição, aumentando assim a sua biomassa (GAMA-RODRIGUES, 1999). O  $qCO_2$  reflete também as variações na proporção do carbono da biomassa microbiana do solo metabolicamente ativa e em crescimento e quanto maior a proporção da biomassa microbiana ativa, maior será o quociente metabólico (FISKE FAHEY, 2001).

Este trabalho teve como objetivo avaliar o impacto da adição de doses crescentes de adubo nitrogenado em solo adubado com esterco de gado, nos indicadores microbiológicos do solo e no desenvolvimento e na produtividade da alface.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi instalado no campo experimental da Fazenda Morada Nova da Faculdade de Ciências e Tecnologia de Unaí – MG (15°59'53,57"S e 46°38'55,93"W), em agosto de 2005. A análise do solo, classificado como Latossolo Vermelho, indicou a seguinte composição química: pH = 6,9; P = 3,4  $cmol_c \cdot dm^{-3}$ ;  $K^+$  = 1,0  $cmol_c \cdot dm^{-3}$ ;  $Al^{+3}$  = 0,0  $cmol_c \cdot dm^{-3}$ ;  $H^+ + Al^{+3}$  = 0,0  $cmol_c \cdot dm^{-3}$ ;  $Mg^{+2}$  = 1,7  $cmol_c \cdot dm^{-3}$ ; matéria orgânica = 2,7 dag  $\cdot kg^{-1}$ ; argila = 42 %; areia = 17% e silte = 41 %. Foram utilizados cinco tratamentos (0, 5, 10, 20 e 40 g  $m^{-2}$  de N). Cada parcela experimental que ocupa uma área de 2m<sup>2</sup> recebeu 10 kg de esterco bovino de curral curtido (50 Mg  $ha^{-1}$ ), conforme indicação de adubação para o estado de Minas Gerais (FONTES, 1999). O esterco utilizado apresentou a seguinte composição química: pH (água) = 8,4; Matéria orgânica total = 43,8 dag  $kg^{-1}$ ; Carbono orgânico total = 25,4 dag  $kg^{-1}$ ; Nitrogênio total = 16,2 g  $kg^{-1}$ ; Relação C/N = 15,7; P = 4,3 g

$kg^{-1}$ ; K = 12,3 g  $kg^{-1}$ ; Ca = 7,8 g  $kg^{-1}$ ; Mg = 3,6 g  $kg^{-1}$ .

O esterco foi incorporado ao solo 25 dias antes do transplantio. A fonte de N mineral utilizado foi o sulfato de amônio nas doses de 25, 50, 100 e 200 g  $m^{-2}$  (correspondendo às doses de 5, 10, 20 e 40 g  $m^{-2}$  de N, respectivamente), incorporados às parcelas um dia antes do transplantio. Utilizou-se o delineamento estatístico de blocos ao acaso com quatro repetições, totalizando vinte parcelas. As sementes de alface (americana) foram semeadas em bandejas de isopor contendo substrato comercial e as mudas foram transplantadas quando se encontravam com três folhas abertas em espaçamento de 0,25 x 0,25 m, totalizando 40 plantas por parcela. Como tratos culturais foram realizadas irrigações diárias por aspersão, de forma a manter o teor de umidade no solo próximo à capacidade de campo. Também foram feitas duas capinas manuais para controlar a ocorrência de ervas daninhas. Não foram realizadas adubações de cobertura.

As amostras de solo foram coletadas na camada de 0,0-0,10 m e levadas para o laboratório de biologia do solo da Universidade de Brasília, onde foram realizadas as análises microbiológicas. No transporte do campo para o laboratório as amostras foram acondicionadas em caixas de isopor com gelo. Até o momento das análises, as amostras ficaram armazenadas em câmara fria a uma temperatura de 4°C.

A respiração microbiana foi calculada, através da metodologia de Alef e Nannipieri (1995). As amostras foram tamisadas em peneiras com abertura de 8mm, retirando-se fragmentos de raízes e restos vegetais. Os teores de umidade das amostras foram corrigidos para 80% da capacidade máxima de retenção de água no solo. As amostras foram divididas em subamostras (triplicatas) de 20g de solo e colocadas no interior de vidros herméticos de 500mL, juntamente com um frasco de vidro contendo 10 mL de KOH 0,3 Mol  $L^{-1}$ . As amostras foram então incubadas por sete dias. Posteriormente, para quantificar o  $CO_2$  liberado durante a incubação, os frascos contendo o KOH 0,3 Mol  $L^{-1}$ , na presença de 3 mL de  $BaCl_2$  20% foram titulados com HCl 0,1 Mol  $L^{-1}$  em frascos de 100mL contendo duas gotas de fenolftaleína. A quantidade de  $CO_2$  liberado foi calculada pelo número de moles de KOH iniciais menos o número de moles de KOH que reagiu com o HCl 0,1 Mol  $L^{-1}$ . O teor de carbono orgânico do solo foi avaliado pelo método da oxidação por via úmida (WALKLEY e BLACK, 1934).

As análises para a determinação do carbono da biomassa microbiana do solo foram feitas pelo método da fumigação e extração, proposto por Vance et al. (1987). As amostras foram tamisadas em peneiras com abertura de 8mm, retirando-se fragmentos de raízes e restos vegetais. Antes do processo de fumigação, os teores de umidade das amostras foram corrigidos para 80% da capacidade máxima de retenção de água no solo. As amostras foram divididas em subamostras (triplicatas) de 20g de solo; parte das amostras foi submetida ao processo de fumigação seguida de extração e a outra parte, apenas ao processo de extração. As amostras foram fumigadas com clorofórmio isento de etanol por 24 horas, sendo posteriormente retiradas e extraídas, juntamente com as amostras não fumigadas. As amostras foram extraídas com  $K_2SO_4$  0,25 Mol  $L^{-1}$  por 40 minutos em agitador contínuo a uma velocidade de 150 rpm, sendo então filtradas. Retiraram-se alíquotas de 8 mL que foram transferidas para tubos de vidro com 15 mL da solução  $H_2SO_4$ :  $H_3PO_4$  na proporção 2:1 e 2 mL de  $K_2Cr_2O_7$  33 mMol  $L^{-1}$ . Os tubos foram colocados no bloco digestor a uma temperatura de 100°C por 30 min. Em seguida, o conteúdo dos tubos foi completado com água destilada para 50 mL e transferido para um erlenmeyer de 125 mL com 7 gotas de indicador ferroína. A quantidade de carbono extraída foi então calculada por titulação com  $Fe(NH_4)(SO_4)$  hexahidratado e  $H_2SO_4$  0,2 Mol  $L^{-1}$  revelando a quantidade de dicromato utilizado na oxidação. O carbono da biomassa microbiana foi determinado através da diferença entre o carbono extraído das amostras fumigadas e o das amostras não fumigadas. A fórmula para o cálculo do carbono da biomassa microbiana foi:  $B = C_F - C_{NF}/K_{EC}$ , onde  $C_F$  e  $C_{NF}$ , que representam o C extraído das subamostras fumigadas e não fumigadas respectivamente. O  $K_{EC}$  representa a proporção do total do carbono microbiano extraído após fumigação (WARDLE, 1994).

Uma amostra composta por 4 plantas da área útil da parcela, escolhida aleatoriamente, foi usada para determinação dos valores no estudo das características analisadas: altura de plantas em cm, medida do nível do solo até a extremidade das folhas mais altas (Altura); diâmetro de plantas, medindo-se a distância em centímetros das margens opostas do disco foliar (Diam) e a massa fresca total em gramas por planta (MF).

Os dados foram analisados através de curva de regressão e a melhor dose de nitrogênio, para os atributos do solo ou para a cultura, foi calculada através da derivada da equação encontrada pela regressão de cada parâmetro testado. Quando a equação de regressão apresentou o coeficiente de determinação não significativo, a comparação das médias foi feita pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Efeitos no carbono e na biomassa microbiana do solo

O carbono da biomassa microbiana do solo (CBMS) foi maior na dose 10 (356 mg  $kg^{-1}$  de C) e menor na dose 0 (281,3 mg  $kg^{-1}$  de C). As outras doses de N apresentaram valores intermediários de CBMS (entre 306,3 e 322,6 mg  $kg^{-1}$  de C) (Tabela 1). Estes valores são considerados altos, pois em trabalhos em condições de solo de cerrado, o CBMS variou entre 185 e 227 mg  $kg^{-1}$  de C em área de cerrado nativo e sob cultivo orgânico e semeadura direta de soja, variou entre 77 e 201 mg  $kg^{-1}$  de C (PEREZ et al., 2004); variou entre 152 a 241 mg  $kg^{-1}$  de C em solo cultivado com cevada em sistema de plantio direto e sob diferentes doses de nitrogênio (COSER, 2007) e entre mg  $kg^{-1}$  de C solo em cevada adubada com N via fertirrigação (FRANÇA, 2007).

**Tabela 1.** Carbono da biomassa microbiana, em solo cultivado com alface, sob diferentes doses de nitrogênio.

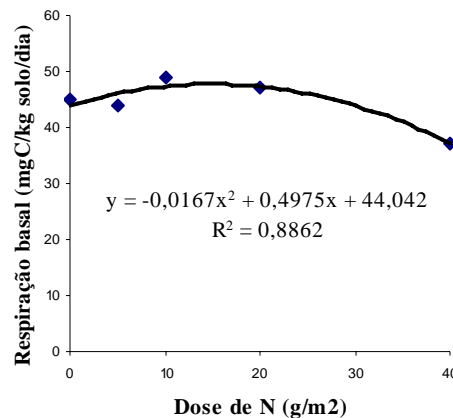
Dose de N (g $m^{-2}$ )	CBMS <sup>1</sup> (mg $kg^{-1}$ de C)
0	281,3b <sup>2</sup>
5	309,8ab
10	356,1a
20	306,3ab
40	322,6ab

<sup>1</sup> CBMS = Carbono da biomassa microbiana do solo; <sup>2</sup> valores seguidos de mesma letra na coluna não apresentam diferenças significativas pelo teste t a 5% de significância.

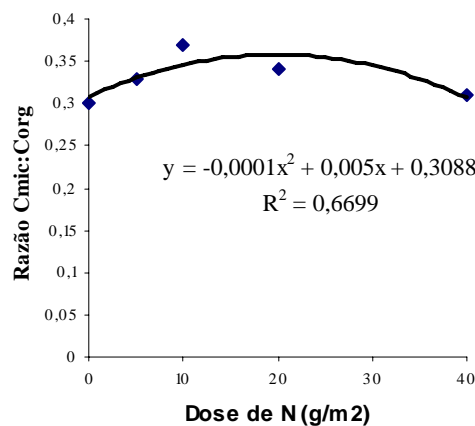
Foram obtidas regressões quadráticas entre as doses de N e a respiração basal (Figura 1) e a

razão porcentual  $C_{mic}:C_{org}$  (Figura 2). Os pontos de máxima foram 14,89 g  $m^{-2}$  de N e 25,00 g  $m^{-2}$  de

N para respiração basal e razão Cmic:Corg, respectivamente.



**Figura 1.** Regressão quadrática entre a adição de doses de N e respiração basal em solo cultivado com alface



**Figura 2.** Regressão quadrática entre a adição de doses de N e razão Cmic:Corg em solo cultivado com alface

Apesar do quociente metabólico ter sido semelhante entre os tratamentos, seus valores foram altos (entre 0,132 e 0,161 mg kg<sup>-1</sup> C dia<sup>-1</sup>), indicando uma alta atividade metabólica dos microrganismos ou que os microrganismos estavam sob estresse ambiental (WARDLE, 1992).

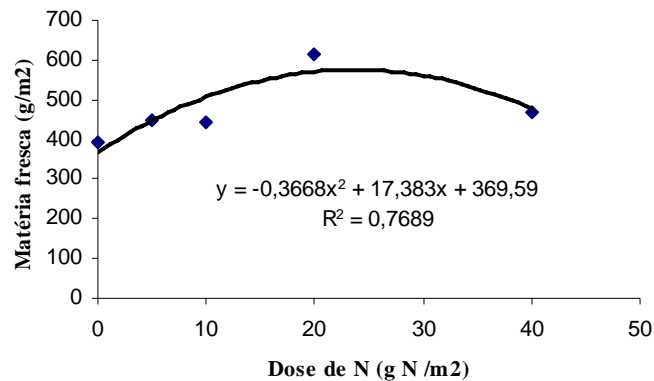
Os valores obtidos pela razão Cmic:Corg (Figura 2) confirmam estas observações, pois seus valores foram menores que 1, indicando uma matéria orgânica de baixa qualidade. Em trabalhos sob condições de solo de cerrado, estes valores têm variado de acordo com o manejo e a adubação. PEREZ et al. (2004) obtiveram valores entre 0,7 e 1,6 em solo sob agricultura orgânica e semeadura direta e COSER (2007) obtiveram valores entre 0,71 e 1,23 em solo sob plantio direto e adubação química.

### Efeitos na produção de Alface

Os valores de massa fresca total de plantas variaram de 392,4 a 616,9 g planta<sup>-1</sup> e obteve-se o ponto de máxima na dose de 23,69 g N m<sup>-2</sup>, com produção de matéria fresca de 576,99g m<sup>-2</sup> (Figura 3).

Valores semelhantes foram obtidos por Resende et al. (2005) após a aplicação de doses diferenciadas de fontes de potássio. Esta constatação evidencia que a dose de esterco recomendada para alface de 50 Mg ha<sup>-1</sup> (FONTES, 1999) pode ser favorecida pela adição de 200 kg de N ha<sup>-1</sup>. Como não foi verificado efeito adicional da adubação nitrogenada no diâmetro e na altura de plantas, este efeito positivo na massa fresca total pode ter se concentrado no maior número de folhas por planta ou aumento da consistência do caule. Santos et al. (2001a) não verificaram efeito adicional de

adubação nitrogenada na produção de matéria fresca de alface.



**Figura 3.** Regressão quadrática entre a adição de doses de N e a produção de matéria fresca de alface sob adubação orgânica.

## CONCLUSÕES

Independente da dose de adubação nitrogenada adicionada ao esterco, o solo apresentou alto quociente metabólico e baixa razão porcentual Cmic:Corg.

A adição de 10 kg N ha<sup>-1</sup>, promoveu maiores valores do carbono da biomassa microbiana

do solo. A adição de 20 kg N ha<sup>-1</sup> promoveu maior massa fresca da alface e as doses de N não afetaram a altura, o diâmetro e a massa seca da alface. De maneira geral, doses entre 10 e 20 kg N ha<sup>-1</sup> promoveram aumento da massa fresca de alface aliado aos maiores valores de biomassa microbiana.

**ABSTRACT:** The objective of this work was to study the soil microbial biomass and the lettuce production in function of the dose of N and organic fertilizer. The experiment was set up in a randomized block with four replications totaling twenty spots. Each experimental spot that occupied an area of 2m<sup>2</sup> received 10 kg of cattle manure (50 Mg ha<sup>-1</sup>). In addition to the organic fertilizer, the spots received doses of mineral nitrogen (0, 25, 50, 100 and 200 g m<sup>-2</sup> of ammonium sulfate). Independently of the dose of mineral nitrogen added to the organic fertilizer, the soil presented high metabolic quotient and low reason Cmic:Corg. The addition of 10 kg N ha<sup>-1</sup> to the cattle manure promoted higher values of soil microbial biomass carbon. The addition of 20 kg N ha<sup>-1</sup> promoted larger fresh mass and the doses of mineral nitrogen did not affect the height, the diameter and the dry mass of the lettuce. In general, doses between 10 and 20 kg N ha<sup>-1</sup> promoted higher fresh mass of lettece allied to higher values of soil microbial biomass.

**KEYWORDS:** *Lactuca sativa*. Nitrogen. Organic matter

## REFERÊNCIAS

ALEF, K., NANNIPIERI, P. **Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry**. Academic Press, 1995, 576p.

COSER, T. R. **Doses de nitrogênio e seu efeito nos indicadores microbiológicos de qualidade de solo na cultura da cevada**. 2006. 81 f. Dissertação (mestrado) - Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2007.

FISK, M. C., FAHEY, T. J. Microbial biomass and nitrogen cycling responses to fertilization and litter removal in young northern hardwood forests. **Biogeochemistry**, v. 53, p. 201-223, 2001.

- FONTES, P. C. R. Alface. In.: RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P. T. G. e ALVAREZ V. V. H. (Eds). **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais**. Viçosa: CFSEMG, 1999. 359p. (5ª. Aproximação).
- FRANÇA, L. V. **Efeitos da fertirrigação nitrogenada no carbono da biomassa microbiana do solo e nos componentes de produção de genótipos de cevada**. 2007. 78 f. Dissertação (mestrado) - Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2007.
- GAMA-RODRIGUES, E. F. Biomassa microbiana e ciclagem de nutrientes. In: SANTOS, G. A., CAMARGO, F. O. **Fundamentos da matéria orgânica do solo. Ecossistemas Tropicais e Subtropicais**. Porto Alegre, RS, p. 227-243, 1999.
- JENKINSON, D.S.; POWLSON, D.S. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 8, p. 209-213, 1976.
- JOERGENSEN, R. G., SCHEU, S. Response of soil microorganisms to the addition of carbon, nitrogen and phosphorus in a forest Rendzina. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 31 p. 859-866, 1999.
- KIEHL, E. F. **Fertilizantes orgânicos**. Piracicaba: Agronômica Ceres, 1985, 492 p.
- MORAES, S. R. G., CAMPOS, V. P., POZZA, E. A., FONTANETTI, A., CARVALHO, G. J. & MAXIMINIANO, C. Influência de leguminosas no controle de fitonematóides em cultivo orgânico de alface americana e repolho. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, p. 188-191. 2006.
- MOREIRA, F. M. S., SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: Editora UFLA, 2002. 625p.
- OSHE, S.; DOURADO-NETO, D.; MANFRON, P.A.; SANTOS, O.S. Qualidade de cultivares de alface produzidos em hidroponia. **Scientia Agricola**, v. 58, n. 1, p. 181-185, 2001.
- OLIVEIRA, A. P.; SILVA, V. R. F.; SANTOS, C. S.; ARAÚJO, J. S.; NASCIMENTO, J. T. Produção de coentro cultivado com esterco bovino e adubação mineral. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 3, p. 477-479, 2002.
- PAUL, E. A., CLARK, F. E. **Soil Microbiology and Biochemistry**. San Diego, CA, Academic Press, 1989. 275p.
- PEREZ, K. S. S.; RAMOS, M. L. G.; Mc Manus, C. Carbono da biomassa microbiana em solo cultivado com soja sob diferentes sistemas de manejo nos Cerrados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, p. 567-573, 2004.
- PORTO, V. C. N.; NEGREIROS, M. Z.; BEZERRA NETO, F.; NOGUEIRA, I. C. C. Fontes e doses de matéria orgânica na produção de alface. **Caatinga**, Mossoró, v. 12, n. 2, p. 7-11, 1999.
- RESENDE, G. M.; YURI, J. E.; RODRIGUES JÚNIOR, J. C.; SOUZA, R. J.; CARVALHO, J. G. Produção de alface americana em função de doses e épocas de aplicação de Supa Potássio. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 2, p. 174-178, 2005.
- SANTOS, R. H. S.; CASALI, V. W. D.; CONDE, A. R.; MIRANDA, L. C. G. Qualidade de alface cultivada com composto orgânico, **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 12, n. 1, p. 29-32, 1994.
- SANTOS, R. H. S.; SILVA, F.; CASALI, V. W. D.; CONDE, A. R. Efeito residual da adubação com composto orgânico sobre o crescimento e produção de alface. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 11, p. 1395-1398, 2001a.

- SANTOS, R. H. S.; SILVA, F.; CASALI, V. W. D.; CONDE, A. R. Conservação pós-colheita de alface cultivada com composto orgânico **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 3, p. 521- 525, 2001b.
- SPARLING, G. P. Ratio of microbial biomass carbon to soil organic carbon as a sensitive indicator of changes in soil organic matter. **Australian Journal Soil Research**, Victoria, n. 30, p. 195-207, 1992.
- VANCE, E. D., BROOKES, P. C., JENKINSON, D. S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 19, p. 703-707, 1987.
- WALKLEY, A.; BLACK I.A. An examination of the degtiareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. **Soil Science**, v. 37, p. 29-38, 1934.
- WARDLE, D. A. A comparative assessment of factors which influence microbial biomass carbon and nitrogen levels in soil. **Biology Review**, v. 67, p. 321-358, 1992.
- WARDLE, D. A. Metodologia para a quantificação da biomassa microbiana do solo. In: HUNGRIA, M., ARAÚJO, R. S. **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Embrapa, Brasília, DF. 1994, p. 419-436.
- WARDLE, D. A., GHANI, A. A. A critique of the microbial metabolic quotient as a bioindicator of disturbance and ecosystem development. **Soil Biology Biochemistry**, v. 27, n. 12, p. 1601-1610, 1995.