

BIOMASSA MICROBIANA EM AMOSTRAS UMEDECIDAS APÓS SECAGEM AO AR DE SOLOS DE TOPOSEQUÊNCIA DE PASTAGENS

ANTONIO SAMARÃO GONÇALVES¹; MARCELA TEIXEIRA MONTEIRO²; JOSÉ GUILHERME MARINHO GUERRA³; ALEJANDRO OSCAR COSTANTINI⁴ & HELVÉCIO DE-POLLI³

¹Av. Raja Gabaglia 245, Cidade Jardim-BH, MG. samarao@ig.com.br

²PEC-COPPE/UFRJ. Centro de Tecnologia, Laboratório de Geotecnia-Cidade Universitária, Ilha do Fundão, Rio de Janeiro/RJ. marcela@coc.ufrj.br

³EMBRAPA-Agrobiologia. BR 465, km 7, Seropédica, RJ, Brasil. gmguerra@cnpab.embrapa.br;depolti@cnpab.embrapa.br

⁴Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires. Cátedra de Edafología. Av. San Martín 4453. CP 1417. Buenos Aires, Argentina. costanti@agro.uba.ar. Autor para correspondência.

Recibido: 10/08/06

Aceptado: 16/03/07

RESUMO

Neste experimento avaliou-se o carbono da biomassa microbiana do solo (C-BMS) em diferentes solos sob toposequência de pastagem e a viabilidade de utilizar amostras condicionadas na forma de terra fina seca ao ar (TFSA). Observou-se para C-BMS, separação dos conteúdos entre os diferentes tipos de solo. A época de inverno favoreceu a C-BMS, elevando-se em 60% em relação ao verão. Na comparação realizada entre os solos preparados na forma de TFSA e com a metodologia de fumigação-extração não se detectou diferença significativa, encontrando-se correlações significativas para os dois métodos de preparo das amostras, o que estabelece um panorama promissor no uso desta metodologia, embora seja necessário maior aprofundamento neste aspecto.

Palabras clave. respiração microbiana do solo, carbono de biomassa microbiana, preparo de amostra de solo, diferenças sazonais, tipos de solos

MICROBIAL BIOMASS IN AIR DRIED AND MOISTURIZED SOIL SAMPLES FROM TOPOSEQUENCES OF PASTURE

ABSTRACT

In this experiment we evaluated microbial biomass carbon (C-SMB) from different soils under toposequences of pasture and the viability of the use of air dried soil samples (ADSS). C-SMB showed separation of values between different soil types. Winter season favored C-SMB being 60% higher in relation to summer. In comparison between the two soil sample preparation methods, ADSS and the classical one, there was no statistical. Significant correlations were observed between the two methods. This gives a positive perspective to the use of this new approach, even though more study is necessary.

Key words. soil microbial respiration, microbial biomass carbon, soil samples preparation, seasonal differences, soil types.

INTRODUÇÃO

A biomassa microbiana de solo (BMS) é definida como a parte viva da matéria orgânica do solo, com organismos menores do que 5.000 μm^3 , e é o componente que regula as transformações da matéria orgânica e o armazenamento de nutrientes através dos processos concomitantes de imobilização e mineralização. Como principal componente do subsistema de decompositores regula a ciclagem de nutrientes, fluxo de energia e a produtividade das culturas e do ecossistema, contendo de 1 a 3% do carbono orgânico total do solo com relevância para a conservação dos solos (Jenkinson & Ladd, 1981; Smith & Paul, 1990; Wardle, 1998; De-Polli & Guerra, 1999).

A BMS tem um caráter dinâmico e é estreitamente correlacionada com a dinâmica da matéria orgânica do solo, sendo diretamente influenciada por fatores bióticos e abióticos, portanto, sensível às mudanças ocorridas no sistema. Carter (1986) afirmou ser a biomassa microbiana um ótimo índice para diagnosticar as alterações nas características biológicas do solo. Nesse sentido, o estudo da interação dos fatores intrínsecos do solo, com a biomassa microbiana torna-se de relevante importância.

O desenvolvimento microbiano têm sido mais evidente nas camadas superiores do que nas camadas inferiores do solo e Geraldtes *et al.* (1995) confirmaram essas indicações quando encontraram redução de 72 e 56% nos

valores, de biomassa C e N, respectivamente, quando se compararam as camadas de 0-10 cm com a de 20-30 cm.

A granulometria do solo também tem mostrado relacionamento com o conteúdo de biomassa microbiana. Pfenning *et al.* (1992) relatam que maior quantidade de BMS é encontrada nos solos com maior teor de argila.

Alguns trabalhos têm sido desenvolvidos no intuito de determinar a quantidade de carbono da biomassa microbiana do solo (Gerald *et al.* 1995; Pfenning *et al.*, 1992; Catelan & Vidor, 1990; Campbell & Bierdebreck, 1976), contudo alguns fatores que afetam o seu conteúdo devem ser observados, tomando-se avanços metodológicos que facilitem a análise desse importante reservatório que é o solo.

Os objetivos deste trabalho foram: a) avaliar a biomassa microbiana e a respiração microbiana basal em diferentes solos sob topossequência de pastagem no Estado do Rio de Janeiro e b) analisar a viabilidade do uso de amostras condicionadas na forma de terra fina seca ao ar (TFSA) para as determinações de C-BMS.

MATERIAIS E MÉTODOS

As amostragens dos solos foram realizadas em janeiro (verão) e julho (inverno), em uma topossequência sob pastagem, sendo formada na posição superior por Podzólico Vermelho-Amarelo (PV), na posição intermediária superior por Podzólico Amarelo (PA), na posição intermediária inferior por Planossolo Arenoso (PL) e na posição inferior por Glei Pouco Húmico (GPH).

As amostras foram coletadas em Seropédica, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. A área coletada está localizada a 22° 46' de latitude sul e 43° 41' de longitude oeste. A região climática caracteriza-se pela concomitante elevação da temperatura média do ar e início do período chuvoso em outubro, estendendo-se até março. Nos meses de junho, julho e agosto nota-se uma queda na temperatura, porém, mantendo-se amena; a precipitação, neste período, cai para valores muito baixos (Guerra, 1993). A coleta foi feita nas camadas de 0-5 cm e de 5-20 cm de profundidade, sendo as amostras homogêneas e acondicionadas em sacos de polietileno. O solo de cada posição, aproximadamente 1 ha, foi representado por quatro amostras compostas, constituídas cada uma por cinco amostras simples.

Determinou-se o carbono da biomassa microbiana do solo (C-BMS) pelo método da fumigação-extração conforme Vance *et al.* (1987) e Tate *et al.* (1988). Determinou-se também a respiração microbiana basal (RB), obtida pela incubação das amostras com retenção de CO₂ por NaOH 1N durante cinco dias, através de adaptação do método da fumigação-incubação, elaborado por Jenkinson & Powlson (1976). As análises de fertilidade do solo e granulométrica foram realizadas como descrito no Manual de Métodos de Análise de Solo (Embrapa, 1979) e encontram-se na Tabela 1.

Na coleta realizada no período de inverno parte das amostras foi utilizada para a determinação do C-BMS, segundo a metodologia já mencionada, enquanto uma outra parte foi seca ao ar, destorroada, peneirada para a obtenção de terra fina seca ao ar (TFSA) e armazenada durante 1 mês a temperatura ambiente. As amostras condicionadas na forma de TFSA, no momento de serem analisadas, foram reumedecidas, acrescentando-se água até atingir a capacidade máxima de retenção de água. Os dados foram analisados mediante análise de variância e a diferença das médias determinada pelo teste de Tukey. Usou-se também em um caso análise de correlação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Variações em C-BMS e RB segundo tipos de solos e localização na topossequência

Observou-se uma variação estatisticamente significativa ($P < 0,05$) nos valores de C-BMS quando se compararam os diferentes solos da topossequência (Tabela 2). O PL, que em geral, apresentou menores conteúdos de carbono orgânico e de argila (Tabela 1), também apresentou os menores valores de C-BMS enquanto o GPH apresentou os maiores teores de C-BMS na topossequência. Considerando a estação de inverno que o solo encontra-se com menor umidade em relação ao verão, o menor teor de umidade talvez tenha possibilitado maior atividade microbiana do material orgânico acumulado durante o verão, época em que o solo permaneceu saturado.

Gama-Rodrigues *et al.* (1994) também encontraram maiores valores de C-BMS e RB no mesmo tipo de solo, atribuindo às condições de saturação a maior propensão ao acúmulo de matéria orgânica. Em solos hidromórficos permanentes há maior estabilidade e por maior tempo porque há menor degradação microbiana da matéria orgânica (Tsai *et al.*, 1992).

Os elevados valores de C-BMS e RB do solo GPH, PV e PA quando comparados com o PL possivelmente estejam associados ao maior conteúdo de carbono (Tabelas 1 e 2) e manutenção de umidade no período de inverno, visto que, a umidade é um fator relevante sobre a atividade microbiana, regulando-a de várias formas: como componente do protoplasma, alterando as trocas gasosas e no transporte e dissolução dos nutrientes do solo (Alexander, 1977).

Variações sazonais em C-BMS e RB

Os valores de C-BMS revelam que as épocas (inverno e verão) e profundidades diferiram entre si, porém, não

Tabela 1. Descrição dos solos da topossequência.
Table 1. Soil topossequence description.

Tipo	Prof. (cm)	Classe	Vegetação	Granulometria (g kg ⁻¹)			pH	Trocável				Total		
				Areia	Silte	Argila		Al ⁺⁺⁺	Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	K ⁺	P	C	N
							(H ₂ O)	cmol _c dm ⁻³				g dm ⁻³		
PV	0-5	Podzólico Vermelho-Amarelo	<i>Sporobolus poiretti</i> , <i>Panicum maximum</i>	50,55	14,65	34,80	5,3	0,0	5,8	3,1	100	3,0	12,3	1,80
PV	5-20	Podzólico Vermelho-Amarelo	<i>Idem</i>	45,30	17,30	37,40	5,6	0,0	5,7	3,2	150	2,0	10,1	1,38
PA	0-5	Podzólico Amarelo	<i>Paspalum notatum</i> e <i>Sporobolus poiretti</i>	55,65	14,20	30,15	5,1	0,2	3,7	2,5	186	6,0	18,7	1,57
PA	5-20	Podzólico Amarelo	<i>Idem</i>	57,20	10,95	31,85	4,6	0,5	1,9	1,2	96	2,0	10,9	0,97
PL	0-5	Planossolo	<i>Paspalum notatum</i> e <i>Cynodon dactylon</i>	84,45	6,10	9,45	4,9	0,3	1,6	1,3	53	3,0	6,5	0,75
PL	5-20	Planossolo	<i>Idem</i>	86,75	6,20	7,05	4,2	0,5	1,1	0,9	42	1,0	5,3	0,56
GPH	0-5	Glei pouco húmico	<i>Paspalum notatum</i> , <i>Imperata brasiliensis</i> e <i>Sporobolus poiretti</i>	60,30	16,20	23,50	3,9	1,3	1,8	1,2	66	2,0	20,7	1,64
GPH	5-20	Glei pouco húmico	<i>Idem</i>	77,60	6,75	15,65	3,8	1,5	-	-	27	4,0	10,0	0,77

foram detectados efeitos interativos entre essas variáveis. A época de inverno favoreceu o C-BMS, onde se observou a elevação de 60% em relação à coleta realizada no verão (Figura 1). Nota-se na Tabela 2 que o solo PA apresentou valores superiores aos demais solos no verão e também aumentou no inverno, no entanto em proporção menor, sendo inferior ao solo GPH, não diferindo significativamente. O PL e o PV apresentaram um aumento de aproximadamente 70% no período de inverno. Se-

gundo Wardle (1998), em ecossistemas temperados os máximos valores de C-BMS são encontrados na primavera ou verão, ocorrendo declínio no inverno, indicando que diferenças entre temperaturas do verão e inverno podem ser importantes na determinação da variabilidade temporal em regiões de elevadas latitudes. Já nas regiões tropicais, ou locais muito quentes, o C-BMS não demonstra tendência temporal consistente, porém Catelan & Vidor (1990) observaram que a biomassa microbiana

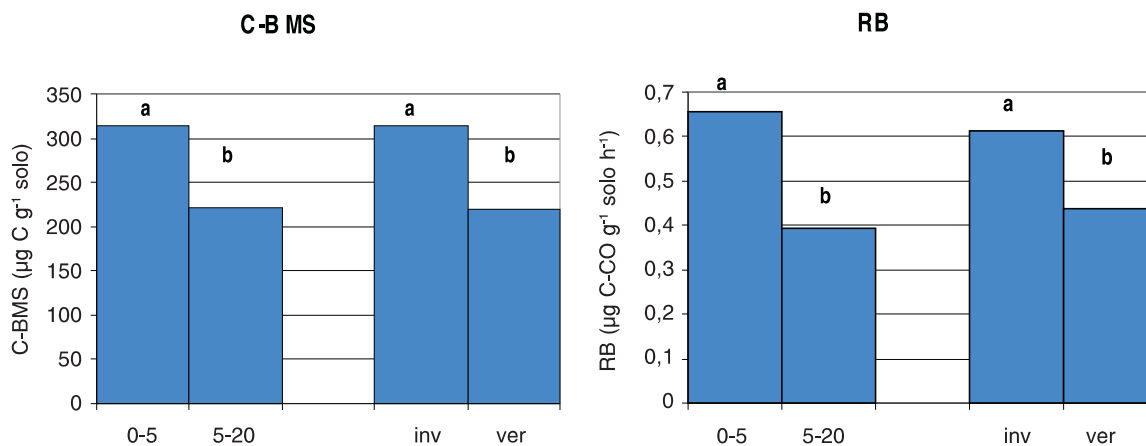


Figura 1. Conteúdo médio de carbono de biomassa microbiana (C-BMS) e respiração microbiana basal (RB) nas profundidades de 0-5 cm e de 5-20 cm no inverno e verão. Valores seguidos de letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). CV prof. = 25,56% - CV época = 37,42%.

Figure 1. Soil microbial biomass carbon (C-BMS) average content and soil microbial basal respiration (RB) at 0-5 cm and 5-20 cm depth in winter and summer. Figures followed by the same letters do not differ by Tukey Test ($p < 0,05$). CV depth = 25.56% - CV time = 37.42%

Tabela 2. Carbono de Biomassa Microbiana do Solo (C-BMS) e Respiração Microbiana Basal do Solo (RB) em duas épocas do ano e em duas profundidades.

Table 2. Soil microbial biomass carbon (C-BMS) and soil microbial basal respiration at two sampling times and two depths.

Solo	C-BMS (µgC g ⁻¹ solo)				RB (µgC-CO ₂ g ⁻¹ solo h ⁻¹)			
	Verão		Inverno		Verão		Inverno	
	0-5 cm	5-20 cm	0-5 cm	5-20 cm	0-5 cm	5-20 cm	0-5 cm	5-20 cm
PV	259b*	187b	440 ^a	230b	0,50b	0,17a	0,45bc	0,41a
PA	338a	257a	409 ^a	262ab	0,75a	0,30a	0,79ab	0,56a
PL	89c	88c	152b	151c	0,62ab	0,31a	0,36c	0,53a
GPH	284ab	258a	495 ^a	375a	0,66a	0,19a	1,13a	0,66a

* Valores seguidos de letras iguais na mesma coluna não diferem pelo teste de Tukey ($P = 0,05$). CV=37%. (Média de 4 repetições).

do solo (BMS) foi muito influenciada pela variação dos fatores climáticos, principalmente umidade e temperatura e Banerjee *et al.* (2000) afirmaram que o conteúdo de água no solo causa variações sazonais nas propriedades bioquímicas e da BMS e que o *turnover* é controlado pelo ciclo de secagem e reumedecimento do solo (Piao *et al.*, 2000).

Utilização de terra fina seca ao ar para determinações de C-BMS

Considerando as dificuldades que às vezes existem para analisar as amostras de C-BMS em aquelas recém coletadas, seja por disponibilidade de laboratórios, seja por quantidade de amostras a serem analisadas ou por necessidade de transporte, foi feito um teste trabalhando com amostras secas e armazenadas, segundo já foi descrito na seção materiais e métodos e conforme Gonçalves *et al.* (2002).

Na comparação realizada entre as amostras dos solos preparadas na forma de TFSA seguida de reumedecimento e com umidade natural não detectaram-se diferenças significativas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) (Tabela 3). Correlações positivas foram encontradas para os métodos de preparo das amostras, sendo significativas ($P < 0,01$) para as duas profundidades de amostragem, embora o coeficiente de correlação tenha sido mais elevado na profundidade de 0-5 cm ($r = 0,91$), do que para 5-20 cm ($r = 0,65$).

Críticas têm sido feitas ao preparo da amostra a partir da secagem e peneiramento do solo para determinação da BMS (Horwath & Paul, 1994), porque tornam parte da matéria orgânica do solo mais acessível aos microrganismos, devido à desestabilização da estrutura dos agregados (Robertson *et al.*, 1988). Também não estão em concordância com aqueles de Srivastava (1997), que encontrou uma diminuição de 25-30% na BMS com solo seco e reumedecido e incubado por 7 dias. A discordância pode ser atribuída ao período de incubação diferente.

A hipótese proposta para compreensão dos resultados obtidos a partir da TFSA com reumedecimento e imediatamente analisada em relação ao solo fresco, é que os organismos zimogênicos que morrem com a secagem servem como substratos para microrganismos mais tolerantes a dessecação, possivelmente fungos e actinomicetos. (Rosacker & Kieft, 1990). A secagem torna fontes de carbono não microbiano acessíveis à decomposição (Jenkinson & Powlson, 1976) e há grande espectro de microrganismos na BMS que são capazes de sobreviver ainda em condições extremamente baixas de potencial de umidade do solo (Botner, 1985). A reação desses organismos ao reumedecimento do solo seco pode ser extremamente rápida, até dobrado de valor em poucas horas, ou em poucos dias (Wardle, 1992). Jenkinson (1976) propôs que o componente ativo da BMS é eliminado na secagem, enquanto que o componente inativo é mais resiliente. Parte dos componentes ativos pode simplesmente tornar-se inativo durante extensos períodos de seca e o fluxo após a fumigação ser causado pela decom-

Tabela 3. Conteúdo de C-BMS, desvio padrão, coeficiente de variação e coeficiente de correlação entre amostras pré-condicionadas como terra fina seca ao ar (TFSA) e com umidade natural, nas profundidades de 0-5 cm e 5-20 cm. (Média de 4 tipos de solos da topossequência e 4 repetições).

Table 3. Soil microbial biomass carbon content, standard deviation, variation coefficient and correlation coefficient between soil samples preconditioned with dry fine earth and standard moisture content at 0-5 cm and 5-20 cm depth (Four-type soil mean of soil toposequence and 4 replicates).

	TFSA	Umidade Natural	TFSA	Umidade Natural
	0-5 cm	0-5 cm	5-20 cm	5-20 cm
Média ($\mu\text{g C.g solo}^{-1}$)	324a*	374a	245*	254a
Desvio-padrão	162	183	123	125
CV (%)	50	49	53	53
R	0,91***		0,65**	

*Valores seguidos de letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ($P = 0,05$). ** $P=0,05$ *** $P= 0,001$.

posição de organismos mortos. Porém, resultados aqui obtidos não corroboram com essas observações anteriores (Franzluebbbers *et al.*, 2000) e abrem novas perspectivas para utilização do pré-condicionamento na forma de TFSA, na estimativa do C-BMS, facilitando a rotina dessas análises. Andréa & Moreno Holweg (2004) mencionam que o método de Vance *et al.* (1987), mais freqüentemente citado na literatura, deve ser a opção para uma boa comparação da quantidade de C microbiano entre solos e dados da literatura, embora, outras metodologias possam ser usadas, sempre que comparadas entre elas, nem tanto para determinar a quantidade total de C-BMS, mas sim para fazer comparações entre diferentes situações e, portanto, serem usadas como indicadores.

CONCLUSÕES

Existiram diferenças em C-BMS e RB quanto ao tipo de solo, à localização na topossequência, à profundidade de amostragem e ao período do ano, neste último caso condicionado principalmente por condições de umidade do solo.

Os resultados obtidos neste trabalho, em relação ao preparo de amostras de solo na forma de TFSA, mostraram-se promissores, porém torna-se necessário o aprofundamento na avaliação de variáveis que possam, potencialmente, influenciar os resultados analíticos do C-BMS.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro do CNPq, FAPERJ e do Projeto Centros Associados financiado pela CAPES e SPU.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alexander, M. 1977. Introduction to Soil Microbiology, 2 ed. John Willey & Sons, New York. 467p.
- Andréa, MM & MJ Moreno Holweg. 2004. Comparação de métodos para determinação de biomassa microbiana em dois solos. *Rev. Bras. Ci. Solo* 28: 981-986.
- Banerjee, MR.; DL Burton; WP McCaughey & CA Grant. 2000. Influence of pasture management on soil biological quality. *Journal Range Manage* 53: 127-133.
- Botner, P. 1985. Response of microbial biomass to alternate moist and dry conditions in a soil incubated with ¹⁴C and ¹⁵N-labelled plant material. *Soil Biol. Biochem.* 17: 329-337.
- Campbell, CA & BO Biederbeck. 1976. Soil Bacterial Changes as Affected by Growing Season Weather Conditions: a Field and Laboratory Study. *Canadian Journal Soil Science* 56: 293-310.
- Carter, MR. 1986. Microbial biomass as an index for tillage-induced changes in soil biological properties. *Soil Till. Res.* 7: 29-40.
- Catelan, AJ. & C Vidor. 1990. Flutuações na biomassa, atividade e população microbiana do solo em função de variações ambientais. *Rev. Bras. Ci. Solo* 14: 133-142.
- De-Polli, H & JGM Guerra. 1999. C, N e P na biomassa microbiana do solo. *Em: Santos, GA & FAO Camargo (eds.). Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais.* pp 389-411. Editora Genesis, Porto Alegre.
- EMBRAPA. Serviço Nacional de Levantamento e Conservação de Solos (Rio de Janeiro, RJ). Manual de Métodos de análise de solo. Rio de Janeiro, 1979. Não paginado.
- Franzluebbbers, AJ; RL Haney; CW Honeycutt, HH Schomberg & FM Hons. 2000. Flush of carbon dioxide following rewetting of dried soil relates to active organic pools. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64: 613-623.
- Gama-Rodrigues, EF da; JGM Guerra; DL de Almeida & H De-Polli. 1994. Biomassa Microbiana de Carbono de Solos de Itaguaí (RJ). Comparação entre os métodos fumigação-Incubação e fumigação-extração. *Rev. Bras. Ci. Solo* 18: 427-432.
- Geraldes, APA.; CC Cerri & BJ Feigl. 1995. Biomassa microbiana de solo sob pastagens na Amazônia. *Rev. Bras. Ci. Solo* 19: 55-60.
- Gonçalves, AS; MT Monteiro; JGM Guerra & H De-Polli. 2002. Biomassa microbiana em amostras de solos secadas ao ar e reumedecidas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 37: 651-658.
- Guerra, JGM. 1993. Produção sazonal de *Brachiaria decumbens* STAPF, conteúdo de fósforo orgânico e microbiano em solos tropicais de baixa fertilidade natural. Tese de doutorado, ciência do solo. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil. 211p.
- Horwath, WR & EA Paul. 1994. Microbial Biomass. Methods of Soil Analysis. Part 2. Microbiological and Biochemical Properties – SSSA. p.753-773.
- Jenkinson, DS. 1976. The effects of biocidal on metabolism in soil-IV. The decomposition of fumigated of organisms in soil. *Soil Biol. Biochem.* 8: 203-208.
- Jenkinson, DS & DS Powelson. 1976. The effects of biocidal on metabolism in soil-V. Method for measuring soil biomass. *Soil Biol. Biochem.* 8: 209-213.
- Jenkinson, DS & JN Ladd. 1981. Microbial biomass in soil: Measurement and Turnover. *Em: Paul EA & JN Ladd (eds.) Soil Biochemistry, v.5. p. 415-71. New York.*
- Pfenning, L; B de P Eduardo & CC Cerri. 1992. Os Métodos de Fumigação-Incubação e Fumigação-Extração na Estimativa da Biomassa Microbiana de Solos da Amazônia. *Rev. Bras. Ci. Solo* 16: 31-37.
- Piao, HC; YT Hong & ZY Yuan. 2000. Seasonal changes of microbial biomass carbon related to climatic factors in soils from karst areas of southwest China. *Biology and Fertility of Soils* 30: 294-297.
- Robertson, K; J Schnürer; M Clarholm; TA Bonde & T Rosswall. 1988. Microbial biomass in relation to C and N mineralization during laboratory incubations. *Soil Biol. Biochem* 20: 281-286.

- Rosacker, LL & TL Kieft. 1990. Biomass and adenylate energy charge of a grassland soil during drying. *Soil Biol. Biochem.* 8: 1121-1127.
- Smith, JL & EA Paul. 1990. The Significance of soil biomass estimates. *Em: Bollag, J.M & G Stottzky (eds.). Soil Biochemistry.* Marcel Decker, New York. v.6, p. 357-396.
- Srivastava, SC. 1997. Microbial contribution to extractable N and P after air-drying of dry tropical soils. *Biology and Fertility of Soils* 26: 31-34.
- Tate, KR; D Ross; AJ Ramsay & CW Feltham. 1988. A direct extraction method to estimate soil microbial C: effects of experimental variables and some different calibration procedures. *Soil Biol. Biochem.* 20: 329-335.
- Tsai, SM; AVL Baraibar & VLM Romani. 1992. Efeito de fatores do solo. *Em: Cardoso; SM Tsai & MCP Neves (eds.). Microbiologia do solo.* SBCS. Campinas. 59-72.
- Vance, ED; PC Brookes & DS Jenkinson. 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biol. Biochem.* 19: 703-707.
- Wardle, DA. 1992. A Comparative Assessment of factors which influence microbial biomass carbon and nitrogen levels in soils. *Biological Reviews* 67: 321-358.
- Wardle, DA. 1998. Controls of temporal variability of the soil microbial biomass: A global-scale synthesis. *Soil Biol. Biochem.* 30: 1627-1637.