

## POPULAÇÃO E BIOMASSA MICROBIANA EM SOLO DO PANTANAL MATOGROSSENSE

Ana C. Stieven<sup>(1)\*</sup>  
 Daniela T. da S. Campos<sup>(2)</sup>  
 Carolina H. Malheiros<sup>(3)</sup>  
 Maria B. R. C. da Silva<sup>(4)</sup>  
 Marta A. F. Ferreira<sup>(5)</sup>  
 Evaldo F. de Oliveira<sup>(6)</sup>  
 Nicolau E. Neto<sup>(7)</sup>

**RESUMO:** Este trabalho objetivou avaliar a população microbiana do solo em três áreas distintas, sendo elas, mata nativa, pastagem nativa e pastagem cultivada, no Pantanal mato-grossense. O solo foi coletado no mês de abril, final do período chuvoso, nas profundidades de 0-0,05 m, 0,05-0,1 m e 0,1-0,15 m. O número total de bactérias, actinomicetos e fungos cultiváveis foi maior na mata nativa, com destaque para o número de bactérias que diferiu estatisticamente das outras duas áreas. Na população de bactérias, as gram negativas e em formato de bastonete predominaram. O carbono da biomassa microbiana foi quantificado por dois métodos e em ambos os valores na mata nativa e pastagem nativa não diferiram entre si e foram superiores. Para a respiração basal a pastagem cultivada apresentou os menores valores. Este estudo demonstra que os solos da região pantaneira que ainda não sofreram alterações antrópicas conseguiram manter a população microbiana em franca atividade.

**Palavras-chave:** Carbono da biomassa microbiana, Respiração basal, Bactérias e fungos

## POPULATION AND MICROBIAN BIOMAS IN GROUND OF MATOGROSSENSE'S PANTANAL

**ABSTRACT:** This work objectified to evaluate the microbial population of the ground in three distinct ground, native forest, native pasture and cultivated pasture, in the matogrossense's Pantanal. The ground was collected in April, end of the rainy period, in the depths of 0-0,05 m, 0,05-0,1 m and 0,1-0,15 m. The total bacteria number, cultivating actinomicetos and fungus was bigger in the native forest, with prominence for the bacteria number that statistical differed from the others two areas. At the bacteria population had predominated negative gram and in rod format. The carbon of the microbial biomass was quantified by two methods and in both the values in the native forest and native pasture had not differed between itself and had been up. For the basal breath the cultivated pasture presented the lesser values. This study it demonstrates that the ground of the pantaneira region that had not yet suffered alterations had obtained to keep the microbial population in frank activity.

**Key-words:** Microbial biomass carbon, Basal breath, Bacteria and fungus.

<sup>(1,5,6)</sup> Alunos do Programa de Pós Graduação em Agricultura Tropical, Universidade Federal de Mato Grosso. Av. Fernando Corrêa, 2367, Boa Esperança, Cuiabá, MT, CEP: 78060-900. E-mail: \* correspondente: [anastieven@yahoo.com.br](mailto:anastieven@yahoo.com.br); [martafurquim@pop.com.br](mailto:martafurquim@pop.com.br); [evaldof@ufmt.br](mailto:evaldof@ufmt.br)

<sup>(2)</sup> Professor Adjunto do Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade, Universidade Federal do Mato Grosso. Laboratório de Microbiologia do Solo, Av. Fernando Corrêa da Costa, 2367, Campus de Cuiabá, Cuiabá, MT, CEP 78060-900

<sup>(3,5)</sup> Alunas do Programa de Pós Graduação em Recursos Hídricos, Universidade Federal de Mato Grosso, Av. Fernando Corrêa, 2367, Boa Esperança, Cuiabá, MT, CEP: 78060-900. E-mail: [chmalheiros@gmail.com](mailto:chmalheiros@gmail.com); [mariarocchi@hotmail.com](mailto:mariarocchi@hotmail.com)

<sup>(7)</sup> Professor Contratado do Programa de Pós Graduação em Agricultura Tropical, Universidade Federal do Mato Grosso. Av. Fernando Corrêa da Costa, 2367, Boa Esperança, Campus de Cuiabá, Cuiabá, MT, CEP 78060-900. E-mail: [nicolaueliasneto@gmail.com](mailto:nicolaueliasneto@gmail.com)

## INTRODUÇÃO

Os solos da planície do Pantanal desenvolveram-se a partir de sedimentos carreados de regiões mais elevadas. Suas características são muito influenciadas pelo regime de inundação periódica a que estão submetidos. Dessa forma, o hidromorfismo, processo que ocorre quando o arejamento é deficiente devido ao excesso de água, condiciona uma lenta decomposição da matéria orgânica (EMBRAPA, 2001).

Os organismos presentes nos solos desempenham um importante papel na decomposição da matéria orgânica, catalisando transformações únicas e indispensáveis no ciclo global do carbono. A população microbiana existente nos solos representa a forma de vida mais abundante e diversificada no planeta (WHITMAN et al., 1998).

A comunidade microbiana nos solos é influenciada pelo ambiente, assim as alterações ambientais provocadas pela flutuação estacional das condições climáticas também podem influenciar as populações da comunidade microbiana (PEREIRA et al., 1999). Nos ecossistemas naturais, a cobertura vegetal permanente proporciona proteção contínua do solo, além de adicionar grandes quantidades de nutrientes principalmente pela deposição de resíduos. Seus efeitos sobre a comunidade microbiana podem interagir com os efeitos provocados pelas flutuações hídricas e térmicas que ocorrem durante o ano, influenciando em menor ou maior grau essas populações (TSAI et al., 1992).

A biomassa microbiana do solo (BMS) é a parte viva da matéria orgânica excluindo-se as raízes e animais maiores do que aproximadamente  $5 \times 10^3 \mu\text{m}$  e, funcionalmente, atua como agente de transformação da matéria orgânica, no ciclo de nutrientes e no fluxo de energia (WARDLE, 1992).

Um outro indicador importante para avaliação da qualidade do solo é a respiração basal (RB), que reflete a atividade da microbiota do solo responsável pela degradação de compostos orgânicos (TÓTOLA & CHAER, 2002).

E o quociente metabólico ( $qCO_2$ ) que é obtido pela razão entre a respiração basal e a biomassa microbiana que pode ser utilizado como um indicador de impacto do solo uma vez que retrata o quanto este meio pode ou não estar impactado (MESQUITA, 2005).

Os indicadores microbiológicos devem regular os processos ecológicos do solo e refletir as condições dos manejos atuais. Desta maneira são úteis para determinação dos efeitos positivos e negativos sobre a qualidade do solo e a sustentabilidade das práticas agrícolas (TÓTOLA & CHAER, 2002).

O entendimento atual do conceito de qualidade de solo compreende o equilíbrio entre os condicionantes geológicos, hidrológicos, químicos, físicos e biológicos. Esse termo, muitas vezes utilizado como sinônimo de saúde do solo, refere-se a sua capacidade de sustentar a produtividade biológica dentro das fronteiras do ecossistema, mantendo o equilíbrio ambiental e promovendo a saúde de plantas e animais e do próprio ser humano (SPOSITO & ZABEL, 2003).

Entendendo o solo como um corpo vivo acredita-se que a qualidade pode influenciar não só na fertilidade, mas também na biodiversidade de organismos vivos presentes nele (MESQUITA, 2005).

Sendo assim, este trabalho teve como objetivo quantificar a população de bactérias, actinomicetos e fungos totais, determinar a carbono da biomassa microbiana (C-BM) e a atividade respiratória basal e em solos sob mata nativa, pastagem nativa e pastagem cultivada no Pantanal matogrossense, município de Poconé-MT.

## MATERIAL E MÉTODOS

### A. Local de coleta e armazenamento das amostras

O trabalho foi desenvolvido com solo coletado na Fazenda Piuval, localizada no município de Poconé, a 150 km de Cuiabá-MT, no mês de abril de 2009, durante a estação chuvosa. Os índices pluviométricos para a região, na ocasião da coleta variaram entre 70 a 90 mm, segundo informações da CONAB (2009). Os dados da análise química do solo encontram-se na Tabela 1.

As amostras de solo foram coletadas em três áreas distintas, no que se refere ao tipo de vegetação e ao uso do solo, sendo elas: área sob vegetação de mata nativa (MN), entre as coordenadas: S 16°22'19,6" W 56°37'5,6", pastagem cultivada (PC), entre as coordenadas: S 16°22'23" W 56°37'7,7" e pastagem nativa (PN), entre as coordenadas: S 16°21'56,6" W 56°38'23,4". Para cada área de coleta determinou-se um quadrado de 1 há, onde foram realizadas cinco amostragens, compostas de 3 amostras simples para formar uma amostra composta. As amostras foram coletadas em três profundidades: 0-0,05 m, 0,05-0,1 m e 0,1-0,15 m. O solo coletado foi armazenado em sacos plásticos previamente identificados e acondicionados em caixas térmicas para o transporte até o Laboratório de Microbiologia do Solo da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade Federal de Mato Grosso, Campus de Cuiabá, MT, onde foram acondicionadas em câmara fria à 4 °C, até o seu processamento.

### B. Análises realizadas

Foram determinados o número de unidades formadoras de colônias (UFC) de bactérias, actinomicetos e fungos cultiváveis g solo seco<sup>-1</sup>. As avaliações foram realizadas por meio de diluições seriadas das suspensões de solo, seguindo metodologia descrita em WOLLUM, (1982), com contagens das UFC em placas de Petri contendo os seguintes meios de cultura - para bactérias: ágar nutriente (AN), para actinomicetos: extrato de solo (ES) e para fungos: batata dextrose ágar (BDA).

As placas foram incubadas em BOD, à temperatura de 28 °C, sendo as leituras realizadas após 48 h para bactérias, 7 dias para actinomicetos e 48 h para fungos. Após a contagem fez-se a purificação das colônias de bactérias que representavam visualmente a maior diversidade microbiana e posteriormente foi feita a coloração de Gram e caracterização quanto à forma das mesmas.

O carbono da biomassa microbiana foi determinado por dois métodos, o primeiro método utilizado foi o de fumigação-extração (VANCE et al., 1987), onde as amostras de solo foram fumigadas com clorofórmio, por 2 dias, a uma temperatura de 28 ±2 °C. Após extração do C orgânico este foi quantificado pela oxidação ácida com dicromato de potássio (JOERGENSEN, 1995). O fator de correção utilizado foi de 0,41 e o resultado expresso em mg C g<sup>-1</sup> de solo seco.

O segundo método utilizado foi o de fumigação-incubação, onde as amostras de solo foram fumigadas primeiramente com clorofórmio e posteriormente incubadas com NaOH, por 10 dias. O CO<sub>2</sub> liberado foi determinado por titulação, conforme ALEF (1995) e expresso em mg CO<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> de solo dia<sup>-1</sup>.

A avaliação da respiração basal foi realizada juntamente com a avaliação do C da BMS, sendo estimada pela quantidade de CO<sub>2</sub> liberado do solo não fumigado, durante os 10 dias de incubação. Os dados da respiração basal foram expressos em mg C g<sup>-1</sup> solo.

O quociente metabólico ( $q\text{-CO}_2$ ), foi calculado pela razão entre a taxa da respirometria basal e o C da BMS, segundo ANDERSON & DOMSCH (1993), sendo expresso em  $\text{mg C- CO}_2 \text{ mg Cmic}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ .

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa estatístico SAEG (RIBEIRO JÚNIOR, 2001).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise química do solo estudado Tabela 1 revela um acúmulo acentuado de fósforo, potássio, cátions trocáveis e matéria orgânica sob a mata nativa, confirmando-se o que se observa em literatura para estes solos em relação aos solos sob pastagem cultivada. A menor mobilização do solo na mata leva ao acúmulo de alguns nutrientes, especialmente o fósforo que é menos imobilizado pelo complexo coloidal do solo (Castro & Prado, 1993).

**TABELA 1 - Características química e física do solo sob pastagem cultivada (PC), pastagem natural (PN) e mata nativa (MN) na região de Poconé-MT.**

Local	pH		P ----mg/dm <sup>3</sup> ----	K	Ca + Mg	Ca	Mg	Al	H	M.	Areia	Silte	Argila
	Água	CaCl <sub>2</sub>											
PC	5,7	4,9	5,3	13	1,3	1,0	0,3	0,0	1,7	7,8	873	34	93
PN	5,4	4,7	6,7	48	1,5	1,1	0,4	0,3	2,6	12,8	653	150	197
MN	6,9	6,1	42,7	117	3,3	2,1	1,2	0,0	0,7	13,4	819	50	131

A matéria orgânica na pastagem nativa também apresentou-se elevada mostrando, que o solo mesmo apresentando um manejo diferenciado da mata nativa manteve suas qualidades. Segundo (Tótola & Chaer, 2002) a manutenção da matéria orgânica do solo é desejável para a sustentabilidade do uso da terra, em razão dos múltiplos benefícios sobre o status de nutrientes, sobre a capacidade de retenção de água e sobre a estrutura do solo.

Os solos do pantanal matogrossense em sua grande maioria ficam submersos durante um período do ano, e áreas com pastagens nativas são predominantes nesta região, uma vez que o sistema de cheias impossibilita o cultivo de outras culturas. Sendo assim, torna-se necessário um estudo mais detalhado sobre estes solos, que possuem teores de nutrientes e de matéria orgânica elevados.

Os resultados encontrados para o carbono da biomassa microbiana e respiração basal do solo seguiram o mesmo padrão para os da matéria orgânica, sendo superiores na mata e pastagem nativas e bem reduzidos na pastagem cultivada, Figura 1. A biomassa microbiana, a qual possui comparativamente uma taxa de formação e decomposição rápida, tem sido sugerida como uma medida mais sensível de aumento ou decréscimo na quantidade total da matéria orgânica do solo (Jenkinson & Ladd, 1981).

A taxa de respiração basal (RB) do solo sob a pastagem cultivada apresentou os menores valores na produção de CO<sub>2</sub>, que deve ter sido ocasionada pela redução na atividade metabólica dos microrganismos presentes nos solos ou ainda pela não adaptação dos mesmos às condições

de seca e alagamento em que a que os solos foram submetidos, uma vez que houve crescimento, ainda que reduzido, de bactérias, fungos e actinomicetos nestes solos.

A atividade dos microrganismos do solo é considerada um atributo positivo para a qualidade do solo, sendo a RB um indicador sensível da decomposição de resíduos, do giro metabólico do carbono orgânico do solo e de distúrbios no ecossistema, porém sua análise deve ser realizada com cautela (Tótolá & Chaer, 2002).

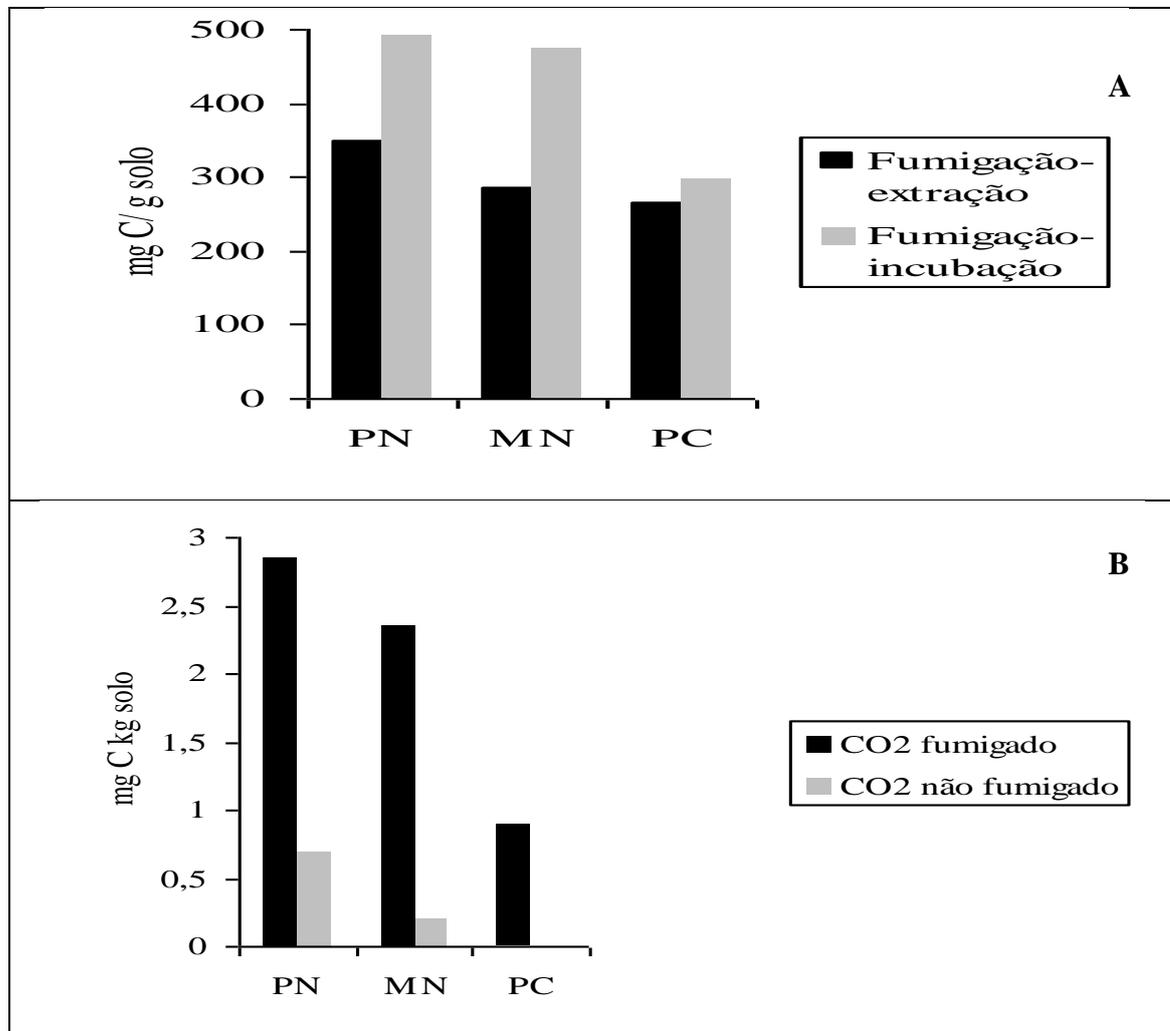


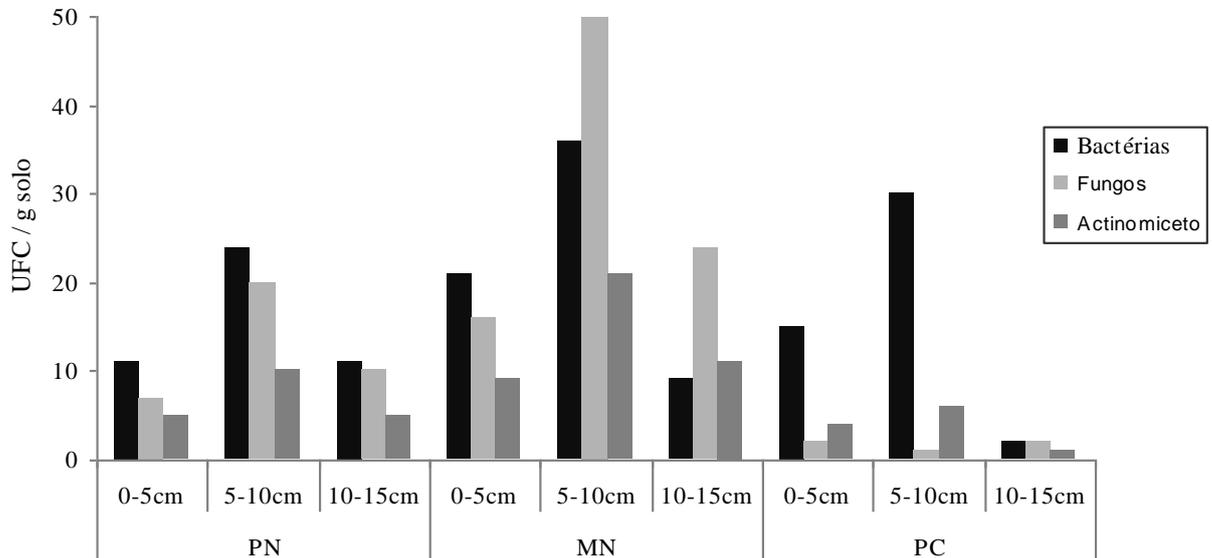
Figura 1 - (A) Carbono da biomassa microbiana e (B) Respiração basal em solos sob pastagem cultivada (PC), pastagem natural (PN) e mata nativa (MN) na região de Poconé-MT.

De maneira geral, a área de pastagem convencional apresentou resultados sempre inferiores aos cultivos naturais, ou seja, aquele que não sofreu a interferência do homem no manejo. Tal fato pode ser explicado pela adaptação ou não do material vegetal que foi utilizado para a formação da pastagem, e também dos microrganismos que estão presentes naquele solo, que pelo fato de ser um material vegetal diferente do que eles estão acostumados a degradar, o que pode ocasionar uma redução nos teores de nutrientes de matéria orgânica do solo.

O C-BM foi extraído por dois métodos citados e muito utilizados na literatura (Vance et al., 1987, Alef, 1995) e não apresentou diferenças estatísticas significativas, indicando que qualquer um dos métodos que for utilizado levará a um resultado confiável e que representará a realidade.

Os resultados do número de UFCs em cada local avaliado encontram-se na Figura 2. Observou-se que, a mata nativa diferiu estatisticamente ( $P > 0,05$ ) das demais áreas estudadas,

apresentando uma quantidade de UFCs de bactérias, fungos e actinomicetos maiores, principalmente na profundidade de 0,05 a 0,10 m, o que pode ser atribuído ao material vegetal que foi depositado e decomposto por estes microrganismos e ao alto teor de matéria orgânica que este solo possui.



**Figura 2 - Número de unidades formadoras de colônias (UFC) em solos sob pastagem cultivada (PC), pastagem natural (PN) e mata nativa (MN), para três profundidades na região de Poconé-MT.**

Observou-se que na pastagem nativa o número de UFCs foi menor que na área de MN, porém foi maior do que na PC, ocorrendo semelhante à MN, uma vez que o teor de matéria orgânica desse solo também é elevado.

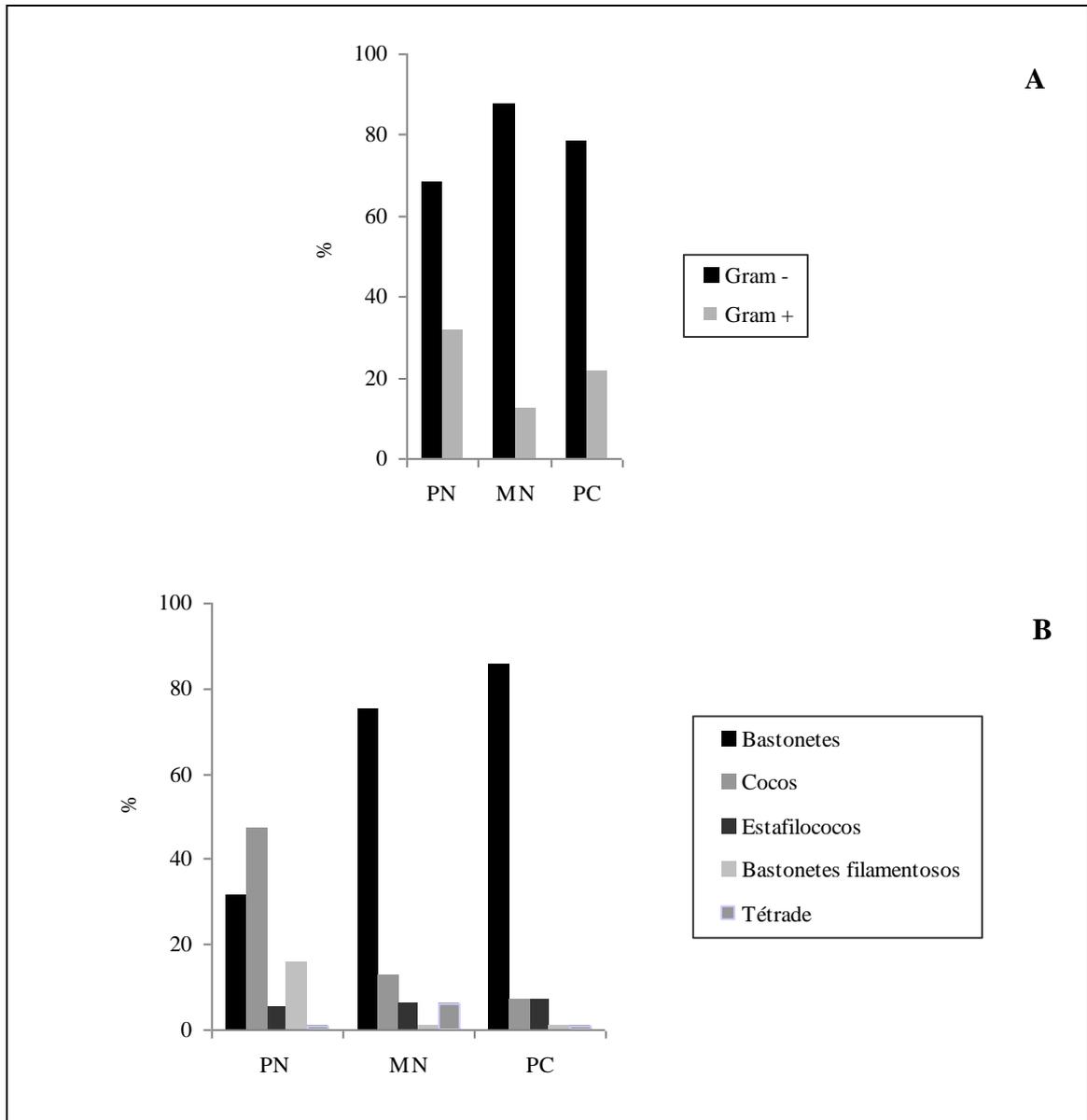
A ocorrência de maior UFCs em MN foi evidenciada também no trabalho de MELLONI et al. (2001), onde verificaram um aumento na comunidade microbiana no ecossistema de mata, quando comparado ao solo sob cultivo. Esse resultado deve-se pela maior ciclagem da matéria orgânica ou pela presença de resíduos orgânicos de maior relação C/N nesses ambientes.

A população de actinomicetos encontrada nos solos mesmo não sendo elevada, chamou a atenção durante a contagem dos microrganismos, uma vez que as colônias encontradas eram bem características e os mesmos foram encontrados em todos os solos e em todas as profundidades de estudo, com destaque para os solos sob MN, onde a população de actinomicetos foi maior, possivelmente por ter um pH alcalino.

Sabe-se que os actinomicetos possuem a capacidade de colonizar substratos sólidos, desenvolvem-se melhor em condições de pH alcalinos e possuem uma diversidade metabólica a qual os levou a uma evolução de mecanismos específicos de dispersão colaborando para a adaptação dos mesmos em qualquer tipo de ambiente (Araujo, 1998).

Com a caracterização das bactérias presentes nos solos foi possível observar que nas três áreas estudadas houve o predomínio de bactérias Gram negativa e quanto à forma, foram encontrados bastonetes e cocos, com arranjos em bastonetes filamentosos, estafilococos, e tetrade (Figura 3). Essas bactérias do solo formam o grupo de microrganismos que apresenta maior abundância e diversidade entre as espécies, sabe-se que o estudo da microbiota utilizando meios de cultura apresenta grandes limitações (Amann et al., 1995), já que somente uma pequena porcentagem (0,1 a 0,5%) dos microrganismos do solo podem ser cultivados em laboratório (Torsvik & Goksoyr, 1990).

As populações de microrganismos presentes nos solos, no geral são bem diversificadas e encontram-se em constantes mudanças, uma vez que apresentam uma elevada taxa de crescimento e alta capacidade de decomposição dos diferentes substratos contidos no solo, exercendo um importante papel na decomposição da matéria orgânica e na ciclagem dos elementos (Torsvik & Goksoyr, 1990).



**Figura 3 - Caracterização de bactérias encontradas em solos sob pastagem cultivada (PC), pastagem natural (PN) e mata nativa (MN) na região de Poconé-MT. (A) Coloração de Gram e (B) Formas e arranjos das bactérias.**

## CONCLUSÃO

1. No final do ciclo de cheia na região do Pantanal matogrossense os solos sob floresta nativa e pastagem nativa apresentaram um maior número de microrganismos e também de carbono da biomassa microbiana.

2. O cultivo da pastagem pode ter corroborado para a redução na população microbiana do solo, ocasionando redução nos atributos avaliados neste trabalho.

## AGRADECIMENTOS

À Fazenda Piuval, Poconé, MT, pela disponibilidade da área para coleta e ao curso de Pós-Graduação em Agricultura Tropical da Universidade Federal de Mato Grosso pelo apoio na realização das análises e coleta.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEF, K. Estimation of the hydrolysis of fluorescein diacetate. In: Alef, K., Nannipieri, P. (Eds.), **Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry**. Academic Press, London. p. 232–238. 1995.
- AMANN, R.I., LUDWIG, W. e SCHLEEIFER, K.H. **Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation**. *Microbiology Reviews*, v. 59. p. 143-169. 1995.
- ANDERSON, J.P.E. E DOMSCH, K.H. The metabolic quotient of CO<sub>2</sub> (q CO<sub>2</sub>) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental condition, such as pH, on the microbial of forest soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.10, p.215-221, 1993.
- ARAÚJO, J.M. Estratégias para isolamento seletivo de actinomicetos. In: MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. **Ecologia microbiana**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPMA. Cap. 14, p. 351-367.1998.
- CASTRO, O.M.; PRADO, H. Avaliação da atividade de microrganismos do solo em diferentes sistemas de manejo de soja. **Scientia Agrícola**, v. 50 (2), p. 212-219, 1993. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/sa/v50n2/07.pdf>, Acesso em: Janeiro 2010.
- CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Boletim Agrometeorológico**, 2009. 2p.
- EMBRAPA - **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**, 2001. [www.agroline.com.br](http://www.agroline.com.br), acesso em Agosto, 2009.
- JENKINSON, D.S.; LADD, J.N. Microbial biomass in soil: Measurement and Turnover. In: PAUL, E.A.; LADD, J.N., ed. **Soil Biochemistry**. New York: Marcel Dekker, v.5, p.415-471, 1981.
- JOERGENSEN, R. The fumigation extraction method. In: ALEF, K.; NANNIPIERI, P. (Ed.). **Methods in applied soil microbiology and biochemistry**. London: Academic Press. p.382-387.1995.

MELLONI, R., PEREIRA, E.G., TRANNIN, I.C.B., SANTOS, D.R., MOREIRA, F.M.S. SIQUEIRA, J.O. Características biológicas de solos sob mata ciliar e campo Cerrado no Sul de Minas Gerais. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v.25, n.1, p.7-13, 2001. Disponível em: [http://www.editora.ufla.br/revista/25\\_1/art01.pdf](http://www.editora.ufla.br/revista/25_1/art01.pdf), Acesso em: Janeiro 2010.

MESQUITA, C.M. **Avaliação integrada do impacto do uso de agrotóxicos na microbiota do solo**. Estudo de caso: Paty do Iferes – RJ. 2005, 104f., Dissertação – Escola Nacional de Saúde Pública, FIOCRUZ, Piracicaba-SP.

PEREIRA, J.C., NEVES, M.C.P. E DROZDOWICZ, A. Dinâmica das populações bacterianas em solos de Cerrados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, n.5, p.801-811, 1999. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/pab/v34n5/8426.pdf>, Acesso em: Janeiro 2010.

RIBEIRO JÚNIOR, J. I. **Análises estatísticas no SAEG**. Viçosa: UFV, 2001. 301p.

SPOSITO, G. & ZABEL, A. The assessment of soil quality. **Geoderma**, Amsterdam, v.114, n. 3/4, p. 143-144, 2003.

TÓTOLA, M.R. & CHAER, G.M. Microrganismos e processos microbiológicos como indicadores da qualidade dos solos. In: ALVAREZ V.,V.H.; SCHAEFER, C.E.G.R.; BARROS, N.F.; MELLO, J.W.V. & COSTA, L.M., eds. Tópicos em ciência do solo.Viçosa, MG, **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, v.2. p.195-276, 2002.

TORSVIK, V. & GOKSOYR, D.A.A.E. **High diversity in DNA of soil bacteria**. ; v. 56, p. 778-787, 1990.

TSAI, S.M.; BARAIBAR, A.V.L.; ROMANI, V.L.M. Efeito de fatores do solo. In: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P. (Eds.). **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, p.59-72, 1992.

VANCE, E.D.; BROOKES, P.C.; JENKINSON, D.S. An extraction method for measuring soil microbial biomass carbon. **Soil Biology and Biochemistry**, v.19, p.703-707, 1987.

WARDLE, D.A. A comparative assessment of factors which influence microbial biomass carbon and nitrogen levels in soil. In: LANNA, A. C. Impacto Ambiental de Tecnologias, Indicadores de Sustentabilidade e Metodologias de Aferição: Uma Revisão. **EMBRAPA**, Santo Antonio de Goias, GO, Dezembro, 2002. Disponível em: [http://www.cnpaf.embrapa.br/publicacao/seriedocumentos/doc\\_144.pdf](http://www.cnpaf.embrapa.br/publicacao/seriedocumentos/doc_144.pdf), ISSN 1678-9644, Acesso em: Janeiro 2010.

WHITMAN, W.B., COLEMAN, D.C. & WIEBE, W.J. Prokaryotes: The unseen majority. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.95, p.6578-6583, 1998. Disponível em: <http://www.bibsonomy.org/bibtex/229f5fd41b5bb0b5bb64786ee9862d4ae/svance>, Acesso em: Agosto 2009.

WOLLUM, A.G. Cultural methods for soil microorganisms. In: PAGE, A.L.; MILLER, R.H.; KEENEY, D.R. (Ed.). **Methods of soil analysis**. Madison : Soil Science Society of America, 1982.