

O EMPREGO DOS TESTES MICROBIOLÓGICOS NA EXTRAÇÃO
DO ZINCO EM SOLOS DE PIRACICABA

Walter de Alencar Benevides*
Moacyr de O. C. do Brasil Sobrinho **
Nelly Rahme Neder ***
Humberto de Campos ****
Rubens L.C. Braga Junior ****

RESUMO

Foram feitas avaliações do zinco no solo através do teste microbiológico do Aspergillus niger (WALLACE, 1961) em amostras de solo colhidas dos horizontes de 8 perfis de solos de 8 séries de solos do município de Piracicaba, Estado de São Paulo, Brasil. De cada sub horizonte foram tomados 0,25 g de solo onde se adicionou 50 ml de solução nutritiva sem zinco deixando-se em incuba

* IBGE . Entregue para publicação em 13/02/87.

** Departamento de Solos, Geologia e Fertilizantes, ESALQ/USP

*** Departamento de Tecnologia Rural, ESALQ/USP

**** Departamento de Matemática e Estatística ESALQ/USP

ção em estufa adequada, à temperatura de 28°C , por um período de 7 dias. Passado este período colheu-se o micélio produzido e pesou-se após ser seco a $70 - 80^{\circ}\text{C}$. Estes testes foram comparados com provas em branco e soluções (adições) contendo doses diferentes de zinco.

No ensaio microbiológico fez-se, também, em amostras correspondentes ao Ap dos solos, a aplicação de doses crescentes de zinco (0 a 16 microgramas de zinco), nas mesmas condições usadas do teste, para se verificar as reações de cada solo à adição do zinco.

Nas mesmas amostras colhidas dos perfis determinou-se em extratos, zinco solúvel, respectivamente de HCl 0,1 N de EDTA- $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ e de Ditizona-acetato de amônio.

Foram estudadas as correlações entre os resultados do Zinco das soluções extratoras e do teste microbiológico.

O trabalho permitiu as seguintes conclusões:

- O teste microbiológico do Aspergillus niger revelou-se eficiente na avaliação do zinco do solo.
- Das 3 solúveis extratoras apenas a ditizona mostrou correlação com o teste microbiológico.
- O teste microbiológico permitiu sepa-

rar os solos em 3 grupos; segundo a sua reação a aplicação de zinco: Bem suprida em Zinco "Luiz de Queiroz"; medianamente supridas: Quebra-Dente, Bairrinho e Lageadinho; mal supridas: Iracema, Monte Olimpo, Guamium e Paredão Vermelho.

INTRODUÇÃO

Apesar do enorme destaque atribuído ao zinco como nutriente no nosso país, são relativamente poucos os trabalhos desenvolvidos em relação à sua presença ou ao seu comportamento em nossos solos.

BRASIL SOBRINHO (1973), JACINTHO *et alii* (1971) e VALADARES (1972), trabalhando em solos do Estado de São Paulo e LOPES (1983) em solos de Cerrado, realizaram os primeiros trabalhos a respeito de sua presença e de seu posicionamento em relação aos perfis desses solos, procurando extrair o micronutriente por diversos extratores, químicos, sendo que o primeiro dos autores citados, procurou, também, comparar esses resultados com métodos biológicos e microbiológicos, visando obter parâmetros capazes de melhor explicar o comportamento do referido elemento no solo.

O fato se mostra de grande importância quando se sabe que inúmeras são as soluções extratoras propostas para a extração do zinco capaz de ser absorvido pelas plantas, necessitando o incentivo de pesquisas em torno desse assunto, para que se tenha uma melhor seleção dessas soluções em relação aos solos brasileiros.

Assim, as principais finalidades do presente trabalho, foram as seguintes:

1- Conhecer melhor a ocorrência e distribuição do zinco nos perfis de diversas séries de solos da região de Piracicaba, procurando-se determinar os teores de zinco solúvel através de 3 extratores comumente usados.

2- Extração do zinco por processo microbiológico, através do Aspergillus niger.

3- Estudos de correlações entre os processos químicos de extração do zinco e a produção de micélio do Aspergillus niger.

4- Reação dos solos estudados à adição de zinco através do método do Aspergillus niger.

REVISÃO DE LITERATURA

A parte da revisão referente a processos químicos de extração do zinco disponível ou do zinco total se encontram em BENEVIDES et alii, 1986, trabalho contido neste mesmo volume, e BENEVIDES (1983).

Durante várias décadas tem-se feito consideráveis pesquisas com o objetivo de se estabelecer um processo capaz de detectar deficiências de zinco em solos por métodos microbiológicos. STEINBERG (1935) e VANDEN-CAVEYE (1948), mostraram que o Aspergillus niger é sensível à deficiência de certos elementos traços. Afirmaram que o método tem tido interesse especial, sendo os resultados obtidos relacionados com respostas a cultura e comparáveis aos métodos químicos.

NICHOLAS (1950), na Inglaterra, afirmou que o método de determinação do zinco e outros elementos, como o cobre e o magnésio disponíveis, pelo Aspergillus niger, era um indicador muito sensível para pequenas quantida-

des de zinco em solos ingleses.

TUCKER et alii (1953), em vários tipos de solos de Illinois, Estados Unidos, determinaram teores de zinco pelo Aspergillus niger na faixa de 0,60 a 2,15 ppm com uma média de 6,72 ppm para todos os solos. Afirmaram que os testes mostraram uma afinidade positiva entre o bio-ensaio de zinco no solo e a resposta à planta.

TUCKER e KURTZ (1955), em vários solos de Illinois, Estados Unidos, determinaram teores de zinco disponível pelo Aspergillus niger entre 5,2 e 21,7 ppm com uma média de 21,0 ppm, encontrando correlação significativa entre os teores de zinco total e zinco disponível pelo Aspergillus niger.

No Estado de Wisconsin, Estados Unidos, MARTENS et alii (1966), encontraram teores de zinco disponível pelo Aspergillus niger na faixa de 3,0 a 43,2 ppm com uma média de 20,2 ppm, obtendo boa correlação entre a absorção de zinco por plantas de milho e o micélio do Aspergillus niger. Os dados de correlação simples, parcial e múltipla indicaram que o fungo extraía uma porção fixa do zinco total do solo, conseqüentemente, a extração do zinco pelo Aspergillus niger foi aproximadamente igual na absorção de zinco pelas plantas.

No Brasil, BRASIL SOBRINHO (1973), foi o primeiro a pesquisar deficiências de zinco pelo método proposto por WALLACE (1961) usando o Aspergillus niger como indicador. Os dados obtidos mostraram uma resposta de cada uma das Séries representadas pelo horizonte Ap à aplicação de doses diferentes de zinco que foram de zero até 16 µg de zinco por 0,25 g de solo. A dose zero representou a contribuição do zinco existente no próprio solo. Encontrou diferenças dentro das Séries e diferenças de comportamento entre as mesmas.

BRASIL SOBRINHO et alii (1980), pesquisando o zinco pelo método de Aspergillus niger em várias séries de solos do Município de Piracicaba, São Paulo, observaram que o processo funcionou bem na separação das séries em função do comportamento delas em relação ao desenvolvimento do fungo. Os solos que revelaram maiores teores de zinco não reagiram à adição de doses crescentes do mesmo nutriente ao contrário das demais séries.

MATERIAL E MÉTODO

Solos

Foram usadas 32 amostras representando 8 séries de solos colhidos dos horizontes e subhorizontes dos perfis das séries de solos que fazem parte da Carta de Solos do Município de Piracicaba, mapeados a nível de série por RANZANI et alii (1966).

As propriedades físicas e químicas dos solos, bem como as características morfológicas dos perfis das séries foram descritas por RANZANI et alii (1966).

As características químicas e físicas das amostras estudadas se encontram nas Tabelas 1 e 2. Para a execução das análises químicas empregou-se os métodos descritos por MELLO et alii (1965). As análises granulométricas foram feitas segundo KEMPER et alii (1965). O fósforo foi determinado no extrato de H_2SO_4 0,05 N.

As séries estudadas foram as seguintes:

- 1- Iracema
- 2- Bairrinho
- 3- Paredão Vermelho
- 4- Quebra-Dente
- 5- Luiz de Queiroz

- 6- Monte Olimpo
- 7- Guamium
- 8- Lageadinho

Coleta e preparo das amostras de solo.

De cada perfil foram colhidas amostras de todos os horizontes com o auxílio de uma espátula de madeira. Depois de secas ao ar, foram passadas em peneira de 2 mm de cobertura, sendo armazenadas em sacos de polietileno para as análises físicas e químicas.

Determinação química do zinco

Zinco solúvel no HCl 0,1 N

O método para determinar o zinco solúvel em HCl 0,1 N foi o usado por TRIERWEILER & LINDSAY (1969), com ligeiras modificações, quanto ao tempo de agitação. No processo usado tratou-se 2 gramas de terra com 50 ml de solução HCl 0,1 N. Após o repouso durante uma noite, a suspensão foi agitada por trinta minutos e filtrada.

No extrato foi feita a determinação do zinco por espectrofotometria de absorção atômica PERKIN ELMER, modelo 303, no comprimento da onda 213,9.

Zinco solúvel na solução de EDTA-(NH₄)₂CO₃.

O zinco solúvel em EDTA-(NH₄)₂CO₃ 1 M foi determinado pelo processo TRIERWEILER & LINDSAY (1969). O método consiste no ataque de 10 gramas de terra por 20 ml de uma solução extratora preparada de EDTA 0,01 M (ácido etileno - diamino - tetracético + (NH₄)₂CO₃ 1 M a pH 8,6. Os padrões de zinco continham as mesmas concentrações de EDTA-(NH₄)₂CO₃ da solução extratora. No extrato procedeu-se a determinação do zinco pelo mesmo processo do item anterior.

Tabela 1 - Características químicas das séries de solos utilizados na análise de zinco

Amostra	SÉRIE DE SOLO	Horizonte (cm)	pH	Carbono Orgânico %	Matéria Orgânica %	PC Solúvel em H ₂ SO ₄ 0,05N	e. mg/100 ml T.F.S.A.				
							K ⁺ trocável	Ca ⁺⁺ trocável	Mg ⁺⁺ trocável	Al ³⁺ trocável	H ⁺ trocável
01	Itacena	Ap (0-20)	5,3	2,16	3,72	0,03	3,12	4,40	1,20	0,24	7,58
02	Itacena	R ₂₁ (20-50)	5,5	1,02	1,76	0,02	0,02	3,20	0,90	0,16	2,60
03	Itacena	R ₂₂ (50-70)	5,6	1,68	1,86	0,02	0,01	2,54	0,56	0,24	2,52
04	Itacena	R ₂₃ (70-90)	5,2	0,93	1,60	0,01	0,01	1,36	0,32	0,55	6,24
05	Bairrinho	Ap (0-25)	5,6	0,56	0,65	0,03	0,15	7,20	1,44	0,12	3,63
06	Bairrinho	A ₃ (25-55)	6,1	0,90	1,55	0,01	0,11	8,00	1,68	0,15	2,96
07	Bairrinho	B ₁ (21 (55-85)	6,2	0,66	1,14	0,03	0,10	12,00	2,88	0,12	3,36
08	Bairrinho	B ₂ (85-110)	6,2	0,45	0,78	0,03	0,11	11,40	2,96	0,08	3,28
09	Bairrinho	B ₃ (110-140)	6,3	0,30	0,52	0,03	0,10	9,76	2,80	0,12	2,72
10	Paredão Vermelho	A ₁₁ (9-20)	6,1	0,21	0,36	0,02	0,02	0,13	0,05	0,32	2,00
11	Paredão Vermelho	A ₁₂ (20-50)	5,9	0,24	0,41	0,02	0,01	0,32	0,08	0,24	2,00
12	Paredão Vermelho	C ₁ (50-100)	5,9	0,18	0,31	0,03	0,01	0,15	0,16	0,24	1,58
13	Paredão Vermelho	C ₂ (100-150)	5,8	0,96	0,10	0,03	0,01	0,15	0,08	0,20	1,58
14	Quebra-Dente	A ₅ (0-20)	5,5	0,18	0,31	0,04	0,04	0,45	0,20	0,24	2,08
15	Quebra-Dente	A ₃ (20-65)	5,5	0,50	0,26	0,01	0,02	0,15	0,08	0,16	1,28
16	Quebra-Dente	B ₁ (65-85)	4,9	0,03	0,05	0,01	0,03	1,12	0,32	1,63	3,76
17	Quebra-Dente	B ₂ (85-105)	4,9	0,15	0,26	0,01	0,03	0,64	0,16	2,05	4,00
18	Quebra-Dente	B ₃ (105-125)	4,7	0,36	0,10	0,01	0,03	0,32	0,24	2,24	3,92
19	Quebra-Dente	B ₄ (125-165)	4,7	0,36	0,10	0,01	0,04	0,16	0,16	2,32	3,92
20	Luiz de Queiroz	A ₂ (0-20)	5,4	1,34	2,48	0,04	0,15	4,48	1,44	0,12	3,92
21	Luiz de Queiroz	B ₁ (20-40)	5,6	0,99	1,71	0,02	0,06	4,68	1,44	0,08	3,44
22	Luiz de Queiroz	B ₂ (40-60)	5,7	0,62	1,45	0,03	0,04	3,12	1,12	0,09	3,28
23	Luiz de Queiroz	B ₃ (60-120)	5,8	0,95	0,77	0,03	0,04	2,96	0,96	0,08	2,80
24	Luiz de Queiroz	Ap (0-25)	5,7	0,97	1,50	0,05	0,11	2,72	0,96	0,16	3,76
25	Ponte Olímpo	A ₃ (81 (25-45)	5,1	0,33	0,57	0,02	0,01	1,64	0,64	0,72	3,76
26	Ponte Olímpo	B ₂ (45-65)	4,8	0,33	0,27	0,01	0,02	0,58	0,32	1,82	5,12
27	Ponte Olímpo	B ₃ (65-105)	4,6	0,24	0,41	0,01	0,02	0,58	0,32	2,64	5,28
28	Guamium	Ap (0-20)	4,5	1,86	3,20	0,01	0,10	0,28	0,35	2,56	10,00
29	Guamium	B ₂₁ (20-40)	4,3	1,32	2,27	0,01	0,04	0,08	0,16	2,24	7,28
30	Guamium	B ₂₂ (40-60)	4,5	0,84	1,45	0,01	0,02	0,05	0,05	1,40	6,00
31	Guamium	B ₂₃ (60-80)	4,6	0,84	1,45	0,01	0,06	0,05	0,16	1,12	6,00
32	Lagedinho	A ₁ (0-25)	5,1	1,14	1,96	0,05	0,17	3,20	1,28	0,56	4,88

Tabela 2 - Resultados da análise granulométrica das Séries de Solos (Método da pipeta de Robinson, Colgate)

HORIZONTES		Esqueto (mm)									
Identificação	Espessura (cm)	2-76		75-20		20-75		75-150		150-300	
		Área muito fina (Z-1)	Área média (1-0,5)	Área fina (0,5-0,25)	Área muito fina (0,25-0,10)	Área fina (0,10-0,05)	Área muito fina (0,05-0,002)	Área fina (0,002-0,00075)	Área muito fina (0,00075-0,0002)	Área fina (0,0002-0,000075)	Área muito fina (0,000075-0,00002)
Beirinho											
1	0 - 25	27,6	0,4	1,3	5,0	13,9	7,0	43,8	28,6		
2	25 - 55	25,6	0,6	1,2	4,4	12,5	6,9	41,3	33,1		
3	55 - 85	16,2	0,3	0,5	2,7	8,3	4,8	22,0	61,8		
4	85 - 110	15,6	0,3	0,6	2,7	7,7	4,3	23,6	60,8		
5	110 - 140	18,1	0,3	0,6	2,4	6,8	4,0	23,5	58,4		
Tracema											
6	0 - 20	21,3	0,2	1,2	3,9	9,9	6,1	36,9	63,8		
7	20 - 50	16,9	0,2	0,6	2,8	8,0	5,1	28,9	57,6		
8	50 - 70	19,7	0,1	0,5	2,9	10,1	6,3	20,7	50,2		
9	70 - 90	21,6	0,1	0,7	3,5	11,0	6,3	26,3	54,1		
Monte Ollimp											
10	0 - 25	42,2	0,5	2,0	9,2	20,7	9,8	29,6	28,2		
11	25 - 45	36,9	0,2	1,3	7,5	18,9	9,0	23,7	39,4		
12	45 - 65	24,5	0,1	0,9	4,4	12,3	6,8	17,4	58,1		
13	65 - 105	32,0	0,2	1,2	6,7	16,3	8,1	17,2	50,8		
Luz de Quatro											
14	0 - 20	35,6	0,1	1,1	6,6	21,0	7,8	27,1	36,2		
15	20 - 40	32,7	0,1	0,9	4,6	17,0	6,7	26,1	43,2		
16	40 - 60	25,9	0,1	0,9	4,6	13,0	6,5	20,2	33,9		
17	60 - 120	25,8	0,2	0,9	4,4	13,0	6,5	17,0	37,2		
Guim											
18	0 - 20	16,9	0,1	0,6	4,3	7,9	4,0	18,3	64,8		
19	20 - 40	14,7	0,1	0,5	2,9	6,9	4,3	13,9	71,4		
20	40 - 60	13,9	0,1	0,6	2,7	6,3	4,2	16,7	71,4		
21	60 - 80	13,9	0,1	0,5	2,6	6,7	4,0	18,8	71,3		
Paradeio Vermelho											
22	0 - 20	94,8	0,2	2,3	58,0	29,4	4,9	3,4	1,8		
23	20 - 50	31,7	0,2	0,8	7,4	16,5	2,5	4,5	1,8		
24	50 - 100	31,6	0,1	0,8	7,4	16,2	4,7	17,9	18,3		
25	100 - 150	70,4	-	0,5	15,5	45,1	9,3	12,9	16,7		
Quebra-Dente											
26	0 - 20	83,2	-	0,5	14,8	55,1	12,8	16,2	0,6		
27	20 - 65	81,5	0,1	0,8	16,6	54,5	11,5	14,9	0,6		
28	65 - 85	92,0	0,3	2,5	33,9	47,8	7,5	3,2	1,6		
29	85 - 105	33,3	0,9	3,4	7,0	16,0	5,8	45,9	20,8		
30	105 - 125	69,2	0,1	0,5	14,0	45,9	8,7	14,3	16,5		
31	125 - 165	67,4	0,1	0,5	11,0	45,3	10,5	14,3	18,3		
Legendinho											
32	0 - 25	67,7	0,1	0,5	12,5	44,7	9,9	14,6	17,7		

Zinco solúvel na solução de ditizona-acetato de amônio

O zinco solúvel na solução de ditizona-acetato de amônio foi determinado pelo processo semelhante ao usado por SHAW E DEAN (1952) com um período de agitação de duas horas.

Duas e meia gramas de terra foram agitadas por duas horas com uma mistura de 25 ml de acetato de amônio 1 M a pH 7,0. A fase aquosa foi, em seguida, retirada por sucção e descartada. Uma alíquota de 25 ml da fase orgânica, contendo zinco, foi agitada com 5 ml de HCl 0,1 N a fim de transferir o zinco para a fase aquosa. Os padrões foram preparados e extraídos da mesma maneira.

Na determinação do zinco foi usado o mesmo processo descrito nos itens anteriores.

Avaliação do zinco disponível do solo pelo método microbiológico

O zinco disponível do solo foi avaliado pelo método microbiológico do Aspergillus niger, proposto por WALLACE (1961) e usado por BRASIL SOBRINHO (1973) com ligeiras modificações, face às condições de trabalho.

Preparo do material

As amostras de solo foram secas em estufa a 110°C, pesadas e postas em Erlenmeyer de 250 ml. Todo o material de vidro usado foi lavado segundo o método desenvolvido por SARRUGE (1975), isto é, em seqüência, com detergente, com água desmineralizada, com HCl 1:4, com água deionizada, com EDTA a 10% e o pH ajustado a 7,0 com NaOH 1 N, com água deionizada e, finalmente, deixados a secar.

Microrganismos

Foi escolhida a linhagem nº 9 do fungo Aspergillus niger L., pertencente a micoteca do Instituto Zimotécnico, da E.S.A. "Luiz de Queiroz" - USP, Piracicaba, SP.

Meio de cultura

O meio de cultura foi o mesmo empregado por WALLACE (1961) e modificado por BRASIL SOBRINHO (1966), apresentando pH a 4,5 e 5,0 com a seguinte composição:

<u>Componentes</u>	<u>ml/litro de solução</u>
KNO ₃ 1 M	69,00
KH ₂ PO ₄ 1 M	11,00
MgSO ₄ .7H ₂ O	2,8
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O 1M	3,5
Glucose	50,0 g
FeCl ₂ 1 M	1,0
Na ₂ MoO ₄ 1 M	1,0
CuSO ₄ 1 M	1,0
MnSO ₄ 1 M	1,0
H ₂ O deionizada	1.000,0

As soluções estoques dos sais usados na preparação do meio de cultura foram purificadas para zinco, através de uma solução 0,05 % de ditizona em tetracloreto de carbono previamente purificada segundo o método de HEWITT (1952).

Do meio de cultura preparado usou-se 50 ml para cada frasco Erlenmeyer de 250 ml, correspondendo a 0,25 g de solo.

Inoculação do meio de cultura

Procedeu-se à inoculação do meio com uma suspensão de cultura de Aspergillus niger dissolvido em tubos

de ensaio. Foi adicionado 0,2 ml da suspensão para cada frasco Erlenmeyer de 250 ml. Foram feitas 3 repetições para todos os horizontes e subhorizontes dos perfís. A incubação se deu em estufa com temperatura regulada para 28°C. Em todos os ensaios, inclusive, o de aplicação de doses crescentes de zinco no solo, foi estabelecido o período de 7 dias como prazo para o desenvolvimento do micélio.

Coleta e peso do micélio

Os micélios desenvolvidos foram cuidadosamente retirados dos frascos Erlenmeyer com o auxílio de uma alça de platina, lavados com água deionizada, postos em uma cápsula de alumínio previamente tarada, levados à estufa para secagem a peso constante e depois pesados.

Série de padrões

Foram preparadas séries de padrões contendo doses crescentes de zinco no meio nutritivo com o fito de se permitir uma melhor calibração dos resultados colhidos. As soluções de zinco utilizadas foram preparadas a partir de outra de maior concentração. Utilizou-se três repetições para todos os ensaios. As soluções de zinco foram preparadas a partir de sulfato de zinco e usadas nas seguintes proporções, em microgramas de zinco por frasco (microgramas de zinco por 0,25 g de terra): 0,0; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 8,0 e 16,0.

Adição do solo ao meio de cultura

Em todas as amostras dos horizontes dos oito perfís foram aplicados testes microbiológicos. Usou-se 0,25 g de amostra de terra moída em almofariz de ágata, e colocada nos frascos com o meio nutritivo e autoclavada durante 10 minutos com o objetivo de reduzir eventuais contaminações por microorganismos estranhos. Feita a inoculação, os frascos foram transportados para a estufa à temperatura controlada de 25°C, por um período

de sete dias, necessários ao desenvolvimento do micélio. Findo esse período, os micélios foram fotografados, colhidos e levados à estufa, à temperatura de 70-80°C, até o peso permanecer constante. Para os padrões procedeu-se do mesmo modo descrito no item anterior.

Aplicação de doses crescentes de zinco em amostras colhidas nos horizontes superficiais.

Em amostras de todos os horizontes superficiais empregou-se as mesmas doses da série de padrões do meio nutritivo com o fito de se obter dados, para cada um dos solos, correspondentes à aplicação de quantidades crescentes de zinco medida pelo desenvolvimento do micélio do Aspergillus niger. Os períodos de incubação foram iguais para todos os testes, resultando na produção de um micélio abundante, de coloração peculiar ao fungo.

As doses zero da série de padrões representam a contribuição do zinco existente no solo.

Análise estatística

Os resultados de extração de zinco, em número de três, foram analisados estatisticamente e testados entre si, usando-se os horizontes dos perfis como blocos e como tratamentos os contrastes ortogonais $M_1 \times (M_2 + M_3)$, em relação a todas as séries de solos.

$M_1 = \text{HCl } 0,1 \text{ N}$

$M_2 = \text{ditizona-acetato de amônio}$

$M_3 = \text{EDTA}-(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$

Foram feitas, também, correlações simples entre o zinco extraído por extratores químicos e o sulfato microbiológico.

Procedeu-se as análises de variância, nos testes

microbiológicos com doses crescentes de zinco, para cada série de solo, e, em seguida, análises de regressão polinomial através dos polinômios ortogonais, segundo NOGUEIRA (1980), até a quarta ordem. A partir das regressões foram encontradas as equações para cada série de solo, segundo o modelo

$$\bar{Y} = \hat{a} + \hat{b}x + \hat{c}x^2 + \hat{d}x^3 + \hat{e}x^4$$

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Distribuição do zinco no solo

Zinco extraído pelo método microbiológico do Aspergillus niger

O zinco extraído pelo processo microbiológico do Aspergillus niger se encontra na Tabela 4, em mg de micélio seco, média de 3 repetições. Amostras de todos os horizontes foram submetidas a ação do Aspergillus niger sem adição de zinco.

Procedeu-se a estudos de correlação entre os teores de zinco extraído pelos três extratores utilizados no trabalho e o processo microbiológico do Aspergillus niger medidos em miligramas do micélio seco em estufa à temperatura de 70-80°C. Observou-se que somente a solução extratora de ditizona-acetato de amônio mostrou correlação positiva, ao nível de 5% pelo teste de F, com o processo microbiológico. Os outros dois métodos químicos não apresentaram correlação significativa. Os resultados se acham na Tabela 5.

BRASIL SOBRINHO (1973) trabalhando com a solução de ditizona acetato de amônio também obteve idêntica correlação. Apesar de extrair menos zinco do que as ou-

tras duas soluções, foi a única a obter correlação, indicando uma maior aproximação com o processo microbiológico.

Não houve a preocupação nesta parte do trabalho, de se estabelecer valores correspondentes a teores de zinco, estimados pelo desenvolvimento do micélio do fungo em meios de culturas sem solo, em coleção de padrões de zinco, devido ao fato de não se ter ainda uma linhagem de Aspergillus niger já bem adaptada para tal finalidade. BRASIL SOBRINHO (1973) encontrou como condições boas de desenvolvimento da linhagem usada (I.Z.52 A.T. C.C.), 5 a 6 microgramas de zinco por 0,25 g de solo (20 a 24 microgramas de zinco por grama de solo). Infelizmente, houve dificuldade em se obter a referida linhagem no presente trabalho, sendo substituída por outra.

STEINBERG (1935), VANDECAVEYE (1948), NICHOLAS (1950) e outros autores, quando usaram o processo de Aspergillus niger o fizeram de tal maneira que apenas pelo exame visual poder-se-ia dizer a quantos microgramas de zinco correspondia o solo em relação ao meio de cultura padrão.

Por essa razão, enquanto não se disponha de tais condições, pode-se fazer como foi mencionado na parte referente ao estudo dos horizontes superficiais do solo. Usou-se para cada amostra de solo a sua própria série de padrões.

Em relação ao desenvolvimento do micélio em miligramas da sua matéria seca, observou-se pelos dados expostos na Tabela 4, que a série Luiz de Queiroz foi a que apresentou melhor produção, obtida no seu Ap (1005,3 mg). Nos demais horizontes, os teores diminuíram bastante ficando entre os limites de 335,8 a 282,7 mg, com pequena variação: A série Bairrinho mostrou maiores produções de micélio nos horizontes superficiais (Ap

Tabela 4 - Peso em mg do micélio seco do teste microbiológico do Aspergillus niger (média de 3 repetições).

<u>Série de Solos</u>	<u>Peso do micélio seco (mg)</u>
<u>Iracema</u>	
0 - 20 Ap	295,7
20 - 50 B ₂₁	305,7
50 - 70 B ₂₂	288,1
70 - 90 B ₂₃	292,9
<u>Bairrinho</u>	
0 - 25 Ap	441,7
25 - 55 A ₃	433,3
55 - 85 B _{t21}	256,7
85 - 110 B _{t22}	338,1
110 - 140 B ₃	322,3
<u>Paredão Vermelho</u>	
0 - 20 A ₁₁	353,4
20 - 50 A ₁₂	382,8
50 - 100 C ₁	309,3
100 - 150 C ₂	355,3
<u>Quebra-Dente</u>	
0 - 20 Ap	367,6
20 - 65 A ₂	362,2
65 - 85 B ₁	391,7
85 - 105 B ₂₁	483,2
105 - 125 B ₂₂	431,1
125 - 165 B ₃	382,4
<u>Luiz de Queiroz</u>	
0 - 20 Ap	1005,3
20 - 40 B ₁	335,8
40 - 60 B _{t22}	263,7
60 - 120 B _{t23}	282,7

Cont.

Cont. Tabela 4.

<u>Série de Solos</u>	<u>Peso do micélio seco (mg)</u>
<u>Monte Olimpo</u>	
0 - 25 Ap	441,5
25 - 45 A ₃ /B ₁	462,6
45 - 65 B _{q21}	412,0
65 - 105 B _{g22}	361,2
<u>Guanium</u>	
0 - 20 Ap	356,9
20 - 40 B ₂₁	390,9
40 - 60 B ₂₂	426,4
60 - 80 B ₂₃	429,1
<u>Lageadinho</u>	
0 - 25 Ap	359,2

441,7 e A₃ 433,3 mg) decrescendo os valores nos demais (256,7 a 322,3 mg). As Séries Iracema (292,9 a 305,7 mg) e Monte Olimpo (361,2 a 462,6 mg) e a Paredão Vermelho (309,3 a 382,8 mg) mostraram certa uniformidade no desenvolvimento dos micélios indicando pouca diferenciação do zinco ao longo dos horizontes do perfil.

Dentre todas, a Série Iracema foi a que mostrou os menores valores. Quanto às Séries Quebra-Dente (362,2 a 483,2 mg) e Guanium (356,9 a 429,1 mg), mostraram maior desenvolvimento do micélio nos horizontes mais profundos (B₂₁ e B₂₂). Essa pequena variação ao longo do perfil contribuiu para a correlação obtida com os teores encontrados com a solução de ditizona-acetato de amônio.

Considerando as médias obtidas para o confronto entre métodos químicos (Tabela 3), e, considerando cada horizonte como bloco, foi feito um estudo de correlação entre os teores obtidos em cada um dos extratores quími-

cos e a produção de micélio em miligramas pelo Aspergillus niger no estudo das correlações, como se encontra na Tabela 5.

Pelos dados da Tabela 5 verifica-se que a única solução extratora que mostrou correlação positiva com o micélio seco do Aspergillus niger foi a solução de ditizona, com o valor de \bar{r} igual a 0,338*, significativo a 5% pelo teste F.

Embora fosse desejável uma correlação significativa entre o processo microbiológico e os processos químicos, não se obteve a mesma em relação aos outros dois extratores.

A equação que representa a reta de correlação entre a solução de ditizona e a produção de micélio seco é a seguinte:

$$\bar{Y} = 224,936 + 46,311 X_i$$

X_i = solução de ditizona em ppm de zinco.

\hat{Y} = peso do micélio seco.

MARTENS et alii (1966), encontraram boas correlações entre o zinco extraído por métodos químicos e pelo Aspergillus niger tendo o fungo alcançado bom desempenho como se pode ver:

Aspergillus niger > HCl 0,1 N > Ditizona > MgSO₄ 0,2 M, indicando que o fungo extrai uma fração fixa de zinco total.

O processo microbiológico apresenta grande importância também pelo fato de não se ter encontrado uma planta superior, com exceção do milho, que dê respostas seguras à falta ou à adição do zinco no solo. Mesmo o milho, quando usado para testes de zinco, os resultados

Tabela 5 - Valores de r correspondentes às correlações entre métodos químicos e o peso do micélio do Aspergillus niger.

Correlações simples	mg de micélio seco (r)	F (sign.)
Zinco solúvel em HCl 0,1 N	- 0,119	-
Zinco solúvel em Ditizona-Acetato de amônio	0,338	*
Zinco solúvel em EDTA	0,264	-

são expressos com maior segurança nos teores de zinco encontrados na análise química da planta. BRASIL SOBRI-NHO (1973) trabalhando com o Aspergillus niger, com o milho e com o girassol e doses crescentes de zinco, obteve boa eficiência para o Aspergillus niger.

Resposta dos solos à adição de doses crescentes de zinco pelo teste microbiológico.

Avaliação do efeito da adição de zinco pelo peso dos micélios

Os dados de peso de micélio seco a 70-80°C em miligramas, médias de 3 repetições, colhidos de testes microbiológicos em amostras de terra do horizonte superficial encontram-se na Tabela 6. Esses dados se referem às produções observadas, acompanhadas das d.m.s. de Tukey a 5% e 1% de probabilidade.

O processo microbiológico, constituído do micélio do Aspergillus niger, apresenta, de modo geral, boa uniformidade, mostrando bom desenvolvimento do micélio, principalmente nas doses mais altas de zinco, constituídas por 8 e por 16 microgramas de zinco por 0,25 g de solo. Houve, entretanto, maior destaque para os solos das Séries Luiz de Queiroz (944,6 miligramas de micélio), Paredão Vermelho (927,9 miligramas de micélio) e Monte Olimpo (966,7 miligramas) que alcançaram os mais altos valores na dose de 16 microgramas de zinco.

A série de padrões, usando-se apenas o meio nutritivo, mostrou excelente desenvolvimento, apresentando uma produção de micélios bastante homogênea e crescente de acordo com as doses de zinco fornecidas; entre tanto, na dose zero de zinco produziu quantidade de micélio maior do que a esperada já que chegou a superar alguns solos (Iracema, Guamium e Quebra-Dente). Os resultados obtidos com o método de Aspergillus podem ser relacionados com respostas à cultura e comparados com o

método químico ou com outros métodos utilizados. Uma boa produção de micélio seria aquele capaz de representar a dose de zinco exigida pela planta e que corresponde nos padrões utilizados pelo micélio desenvolvido nas doses de 5 a 6 microgramas de zinco; isso representaria no presente ensaio, cerca de 815 a 864 miligramas de micélio. Esse resultado realmente é bastante próximo daquele encontrado por BRASIL SOBRINHO (1973) (724 a 852 miligramas de micélio). Realmente é necessário que se obtenha uma seleção entre diferentes linhagens visando a escolha de uma que apresente boa sensibilidade ao zinco. Os micélios produzidos na dose zero dos padrões produziram quantidades relativamente altas de micélio (525,2 a 598,9 miligramas) superando os próprios solos, que levam normalmente quantidades variáveis de zinco.

A Série Luiz de Queiroz teve, entre as séries, destaque especial, produzindo na dose zero (882,6 miligramas), quantidade de micélio equivalente à mais alta dose de zinco produzido (16 miligramas). As produções de micélio nesta série representam uma variação entre os valores observados (Tabela 6) de 882,3 miligramas na dose zero para 944,6 miligramas na dose de 16 microgramas de zinco. Apesar de não haver diferença pelo teste de Tukey, nesses intervalos, houve diferenças estatísticas entre doses (dose 1 micrograma de zinco em relação às demais) (Tabela 6). No estudo de regressão (Tabela 10) feita até o quarto grau houve significância na regressão quadrática. No entanto, pode-se, para fins práticos, desprezar esses efeitos, considerando a Série Luiz de Queiroz como suficientemente provida de zinco pelo teste microbiológico e considerando os valores observados.

A análise de variância de todas as séries está apresentada na Tabela 7 e na Tabela 8. Os valores calculados para as regressões linear ou quadrática de todas foram determinados pelos processos de polinômios ortogonais. PIMENTEL GOMES (1966) e NOGUEIRA (1980).

A mesma amostra de solo (Ap) da Série Luiz de Queiroz analisada quimicamente mostrou entre as oito séries os mais altos teores de zinco solúvel nas soluções extratoras do HCl 0,1 N, EDTA-(NH₄)₂CO₃ e da Ditizona-acetato de amônio. O mesmo teste microbiológico aplicado nos perfis de solo revelou para o referido solo um micélio bem desenvolvido e bem esporulado.

As Séries Olimpo e Paredão Vermelho vêm a seguir (Tabela 6). Nota-se que esses dois solos mostraram a mais forte reação à aplicação do zinco crescendo os seus valores entre 469,0 (zero) e 927,9 (16 microgramas de zinco), no segundo. As doses de 8 microgramas de zinco produziram, respectivamente, 641,9 e 711,7 miligramas em ambos os solos. As diferenças entre doses nos dois solos chegaram a ser significativas ao nível de 1% pelo teste de Tukey (Tabela 6). As suas regressões também foram significativas (Tabela 7) e os seus valores calculados e as respectivas equações lineares e quadráticas na Tabela 8. Estes solos, mediante a adição de zinco, conseguiram produzir micélio até o nível da Série Luiz de Queiroz ou ao nível do Paredão Vermelho na dose de 16 microgramas de zinco.

Tanto o Paredão Vermelho quanto o Monte Olimpo, apresentaram os teores de zinco solúveis nas três soluções extratoras estudadas, mais baixos do que a série Luiz de Queiroz (Tabela 9).

A Série Bairrinho, com 413,4 miligramas de micélio na dose zero de 757,7 miligramas na dose de 16 microgramas de zinco, mostrou efeito linear significativo. As primeiras doses de zinco adicionadas (1, 2, 3 e 4 microgramas) não tiveram reação significativa pelo teste de Tukey a 5% (Tabela 6). Somente a dose 5 microgramas em relação a dose zero mostrou significância a 5%, o mesmo acontecendo com as doses de 8 e 16 microgramas de zinco. A dose 16 microgramas alcançou a produção de apenas

Tabela 6 Peso do micélio em miligramas médias de 3 repetições do teste microbiológico de adição de doses de zinco (Valores observados)

MICROGRA- MAS DE ZINCO	SÉRIES DE SOLOS mg de micélio seco										PADRÕES	
	Iracema	Bairrinho	Paredão Vermelho	Quebra- Dente	Luiz de Queiroz	Monte Olimpo	Guamium	Lageadinho	1	2		
0,0	294,4	413,4	498,0	356,0	882,3	469,0	327,0	336,0	476,3	494,0		
1,0	355,3	492,9	364,6	397,0	624,7	354,3	329,3	414,3	553,5	679,9		
2,0	339,3	493,2	393,7	374,8	530,4	311,6	319,2	522,2	578,1	640,5		
3,0	354,8	502,3	441,9	458,2	923,0	453,9	445,0	471,9	700,6	779,3		
4,0	459,5	427,4	446,7	465,8	935,7	366,4	378,0	492,3	781,7	828,2		
5,0	452,2	584,1	663,7	457,3	812,9	508,0	492,2	562,5	862,1	847,7		
6,0	434,6	473,6	676,4	504,0	953,9	524,1	701,2	636,0	854,4	872,1		
8,0	552,5	681,3	711,7	407,2	928,1	641,9	567,3	722,2	910,6	929,8		
16,0	750,6	757,7	927,9	710,7	944,6	966,7	719,7	665,9	945,5	1032,3		
S (m)	27,50	22,46	29,46	27,67	35,60	22,83	35,60	35,09	27,44	44,14		
Tukey												
d.m.s. a 1%	167,20	136,55	178,50	168,23	216,45	144,88	216,44	237,66	166,83	268,37		
d.m.s. a 5%	136,40	111,40	145,62	137,24	176,57	118,19	176,58	193,88	136,10	218,93		
F	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**		
C.V. %	10,54	7,25	9,06	10,58	6,98	8,07	12,96	12,62	6,42	9,68		

Tabela 7 - Análise da variância dos testes microbiológicos correspondentes à adição de doses crescentes de Zn.

FONTE DE VARIACÃO	GL	Q. U. A. D. R. A. D. O. S.										M. E. D. I. O. S.		PADRÕES	
		Iracema	Bairrinho	Paredão Vermelho	Quebra-Dente	Luiz de Queiroz	Monte Olimpo	Guamium	Lageadinho	1	2				
Regressão Linear	1	447678,00*	245792,0*	780956,3*	205170,0*	43686,2*	816052,3*	426548,2*	231324,6*	483307,1*	479787,8*				
Regressão Quadrática	1	1081,8	12,47	20786,5*	22619,0*	17530,0*	32380,6*	42951,0*	101868,3*	198108,6*	101874,8*				
Regressão Cúbica	1	987,6	8167,7*	18308,0*	4769,9	257,5	48407,0*	7532,7	6903,9	770,8	8210,6				
Regressão de 4º grau	1	7967,7	26820,0*	26230,0*	11455,0*	6059,0	11206,0*	32169,0*	11368,0*	8330,3	457,8				
Desvio das Regressões	4	8630,3*	10936,0*	3860,0	73933,0*	49927,0	9429,0*	20891,0*	4574,3	2559,3	5845,8*				
Resíduo	18	2264,2	1511,0	2580,7	2293,1	3793,8	1700,3	3793,9	1657,3	2355,0	1790,3				

757,7 miligramas de micélio. Parece ter havido dificuldade pelo Aspergillus niger no aproveitamento das primeiras doses de zinco produzindo pequenas quantidades de micélio. Mesmo com a produção das doses mais elevadas, não chegou a ser alcançada a produção plena de micélio como se deu nas Séries Paredão Vermelho e Monte Olimpo.

No estudo das regressões desta série somente a regressão linear foi significativa ao nível de 1% pelo teste de F, sendo a quadrática não significativa. Sendo assim, na Tabela 8, se encontram os valores calculados da regressão linear e a equação linear correspondente.

A Série Quebra-Dente, cuja dose zero produziu 396,3 miligramas de micélio apresenta diferença significativa a 5% pelo teste de Tukey apenas em relação à dose 16 microgramas (710,7 miligramas). Entretanto, o estudo das regressões lineares e quadráticas mostrou correlação significativa. Na Tabela 8 encontra-se a equação quadrática correspondente e seus valores calculados. Nesta série também as doses mais elevadas de zinco não produziram as quantidades esperadas de micélio (710,7 miligramas).

As séries restantes, Iracema (294,4 miligramas), Guamium (327,0 miligramas) e Lageadinho (336,0 miligramas) têm comportamento bastante semelhante à Quebra-Dente, não atingindo com a dose de 16 microgramas de zinco as altas produções de micélio.

Na Série Iracema, a resposta significativa a adição de zinco se deu na dose 4,0 microgramas (499,5 miligramas de micélio) pelo d.m.s. de Tukey a 5% (Tabela 6). O estudo de regressão mostrou para a série regressão quadrática e sua respectiva equação que se encontra na Tabela 8.

Na Série Guamium a dose zero resultou na produção de 327,0 miligramas de micélio e a dose 16 microgra

Tabela 8 - Produção calculada (mg/micélio seco) (y) dos solos submetidos ao teste de adição de doses de Zn.

S O L O	PRODUÇÃO CALCULADA (mg/micélio seco) (y)							EQUAÇÃO DE REGRESSÃO QUADRÁTICA OU LINEAR		
	DOSES DE ZN EM MICROGRAMAS (x)									
	0	1	2	3	4	5	6	7	16	
IRACEMA	300,0	332,8	364,7	396,0	426,8	457,0	486,7	544,5	754,0	$\hat{y} = 300,47 + 32,67x - 0,27x^2$
BAIRRINHO	431,2	452,2	473,2	494,2	515,2	536,2	557,2	599,2	767,1	$\hat{y} = 431,26 + 20,99x$
PAREDÃO VERMELHO	334,5	389,8	442,7	493,3	541,5	587,3	630,8	710,7	935,9	$\hat{y} = 337,50 + 56,47x - 1,18x^2$
QUEBRADENTE	359,5	400,0	403,0	408,5	416,4	426,7	472,6	703,2	703,2	$\hat{y} = 399,52 - 0,070x - 1,23x^2$
LUIZ DE QUEIROZ	837,5	846,4	855,2	864,1	872,9	881,8	890,6	908,3	979,1	$\hat{y} = 837,53 + 8,85x$
MONTE OLIMPO	370,9	386,8	405,2	427,6	452,4	480,2	610,9	523,6	981,1	$\hat{y} = 370,92 + 14,46x + 1,48x^2$
GUAMUMA	278,0	331,3	381,2	427,8	470,9	510,6	547,0	609,5	733,4	$\hat{y} = 277,97 + 55,04x - 1,70x^2$
LAGEADINHO	342,9	402,8	457,5	506,9	551,1	590,1	623,8	675,5	672,8	$\hat{y} = 342,91 + 62,154x - 2,62x^2$

mas de 719,7 miligramas, muito aquêm das produções da Monte Olimpo e da Luiz de Queiroz como se vê na Tabela 6. Neste solo, apesar de as primeiras doses apresentarem pouca produção de micélio mostram boa formação de esporos. O estudo de regressão revelou regressão quadrática significativa com a equação correspondente e as doses calculadas contidas na Tabela 8.

A Série Lageadinho (336,0 miligramas), também não atingiu as altas produções de micélio na dose de 16 microgramas de zinco, mas apresentou produção mais homogênea em relação às doses aplicadas. A análise estatística das regressões mostrou significância para a linear e para a quadrática. Os cálculos foram feitos para a quadrática com a ajuda da equação respectiva, contidos os valores calculados e a equação na Tabela 8. Entre as 8 séries estudadas, pode-se admitir, que a Luiz de Queiroz se mostrou bem suprida de zinco.

Consultando a Tabela 8 observa-se que as Séries Paredão Vermelho e Monte Olimpo, apresentam deficiência em zinco, com baixas produções de micélio na dose zero e excelentes respostas à aplicação do zinco, chegando a alcançar nas doses mais elevadas, produções equivalentes às da Luiz de Queiroz. Pode-se considerar que a carência de zinco foi corrigida com a aplicação do mesmo.

As Séries Iracema, Guamium, Lageadinho, igualmente, destacaram-se como mal supridas de zinco, com baixas produções de micélio no nível zero, e, que reagiram bem às aplicações de zinco, sem, entretanto, alcançar os mesmos níveis de respostas das Séries Paredão Vermelho e Monte Olimpo. Não houve nestes solos o desenvolvimento pleno do micélio como seria o esperado.

Quanto às Séries Bairrinho e Quebra-Dente produziram na dose zero valores intermediários (Tabela 8) de micélio, reagindo bem a aplicação do zinco, mas sem atingir, também, o nível alcançado pelas Séries Paredão Ver-

melho e Monte Olimpo, colocaram-se, portanto, entre os dois primeiros grupos.

Diversos autores, tais como STEINBERG (1935), NICHOLAS (1950), WALLACE (1961) e BRASIL SOBRINHO (1980), admitiram que nas condições do teste do Aspergillus niger, a dose de 5 ou 6 microgramas para 0,25 g de solo, como sendo suficiente para um bom desenvolvimento do micélio, e, conseqüentemente, como parâmetros do teor adequado de zinco no solo.

Admitindo-se no presente trabalho a dose 6 microgramas como parâmetro, teríamos, em relação aos solos, com exceção da Luiz de Queiroz, as produções de 439,6 a 630,8 miligramas de micélio, enquanto que, pelos padrões 1 e 2 microgramas, produziram 864 e 872 miligramas de micélio respectivamente. Os padrões mostraram ter produzido a mais enquanto alguns solos (o Quebradente, em especial) produziram menos do esperado.

Aplicação do efeito das doses aplicadas de zinco pela produção relativa dos micélios

A fim de tentar uma melhor interpretação dos efeitos da aplicação das doses de zinco nas amostras de solo, já apresentados no capítulo anterior em relação ao peso do micélio, resolveu-se discutir as doses de uma maneira diferente, através das produções relativas.

É usual, em estudos de fertilidade do solo (CATE e NELSON, 1965; VAN RAIJ, 1981), em ensaios de campo ou de casos, visando o estabelecimento de classes de fertilidade, com vistas a recomendações de adubação, o emprego da produção relativa (PR) representada pela equação:

$$PR = \frac{100 \times \text{tratamento com omissão de nutrientes}}{\text{tratamento completo}}$$

onde tratamento com omissão do nutriente representa a produção em espécie do ensaio de campo e de matéria seca e de vasos, recebendo todos os nutrientes menos o que está sendo pesquisado e o tratamento completo recebendo todos os nutrientes.

Esses valores são correlacionados com os teores químicos do solo correspondentes ao nutriente estudado. Colocando-se os dois valores em gráfico, é possível, quando se trabalha com grande número de solos, estabelecer os parâmetros de fertilidade para fins de recomendação de adubação. No caso presente, foi feita a transformação dos pesos de micélio em produção relativa, utilizando-se as doses zero (omissão) e a que deu melhor resposta na produção de micélio (completo). Sendo o número de solos muito pequeno (8) não se cogitou de fazer a correlação de teores químicos x produções relativas, procedendo-se apenas às comparações entre os dados apresentados na Tabela 9.

Os resultados foram obtidos dos valores calculados, com exceção da Série Luiz de Queiroz, cuja produção relativa (PR) foi calculada a partir dos resultados observados. Isso, porque, o referido solo na dose zero produziu uma quantidade de micélio (882,3 miligramas) cuja diferença para com a maior produção (953,9 miligramas) não foi significativa pelo teste de Tukey a 5%.

Considerando-se as produções relativas do micélio e os teores químicos extraídos pela ditizona-acetato de amônio, que foi o processo que deu correlação significativa com o teste microbiológico, agrupou-se os 8 solos, segundo as suas necessidades em zinco em 3 grupos:

Grupo I - Bem suprido em zinco:
Série Luiz de Queiroz

Tabela 9 - Produção relativa de micélios das séries de solos

Solos (Séries)	Produção Relativa	Zinco solúvel (ppm)		
		HCl 0,1 N	EDTA-(NH ₄) ₂ CO ₃	Ditizona-acetato de amônio
Luiz de Queiroz	92,4%	12,32	8,86	5,45
Quebra-Dente	57,0%	10,25	8,62	1,39
Bairrinho	56,0%	10,66	6,42	3,06
Lageadinho	51,0%	16,16	6,92	4,75
Iracema	40,0%	12,66	7,08	2,98
Monte Olimpo	38,0%	9,66	4,86	3,96
Guamium	38,0%	7,20	6,57	1,60
Paredão Vermelho	36,0%	10,66	6,68	2,67

Grupo 2 - Medianamente supridos em zinco:
Série Quebra-Dente
Série Bairrinho
Série Lageadinho

Grupo 3 - Mal supridos em zinco:
Série Iracema
Série Monte Olimpo
Série Guamium
Série Paredão Vermelho

CONCLUSÕES

As principais conclusões do trabalho são as seguintes:

1- Pelo teste microbiológico, nos perfis de solo somente as séries Luiz de Queiroz e Bairrinho mostraram maior concentração de zinco nos horizontes Ap. Nos demais perfis não houve diferenciação.

2- Somente a solução de ditizona mostrou correlação com o teste microbiológico.

3- O teste microbiológico foi eficiente na determinação de classes de solos em relação ao zinco.

Bem supridas:
Série Luiz de Queiroz

Moderadamente supridas:
Série Quebra-Dente, Série Bairrinho e Série Lageadinho

Mal supridas:
Série Iracema, Série Monte Olimpo, Série Gua-

mium e Série Paredão Vermelho.

SUMMARY

THE USE THE MICROBIOLOGICAL TESTS IN THE EXTRATION OF THE ZINC IN THE SOIL OF PIRACICABA MUNICIPALITY

This paper relates results obtained in the determination of available zinc by chemical and microbiological methods. The HCl 0,1 N, EDTA-(NH₄)₂CO₃, dithizone-ammonium acetate and Aspergillus niger (according WALLACE,1961) methods were applied to soil samples from profiles representing 8 soil series of Piracicaba Municipality, State of São Paulo, Brazil.

The evaluation of the available zinc by the Aspergillus niger was splited in two parts:

a- evaluation of available zinc in the samples soil from horizons of profiles of soils by microbiological method.

b- Addition of crescent dosis of zinc (0 to 16 micrograms of zinc /0,25 g of soil) were made in the samples soil of upper horizons (Ap) of the profiles of soils. The special nutritive solution without zinc and inoculum of Aspergillus were added to every treatment. After an week from inoculation to 28^oC of temperature, the mycelium of Aspergillus was collected, dried to 70-80^oC, weighed and registered the weights.

Statistical correlations were conducted between the Aspergillus methods and every one of the chemical methods. Only the dithizone-ammonium acetate method showed correlation with the Aspergillus method.

The results obtained by the Aspergillus niger method permitted to classify the studied soils according to the available zinc content, as follow low:

Well supplied - Luiz de Queiroz Series
Moderatly supplied - Bairrinho, Quebra-Dente and Lageadinho Series
Low supplied - Iracema, Guamium and Paredão Vermelho Series.

LITERATURA CITADA

BENEVIDES FILHO, V.A., 1982. Zinco em solos do município de Piracicaba. Piracicaba dissertação de mestrado (ESALQ).

BENEVIDES JR, V.A., BRASIL SOBRINHO, M.O.C., NEDER, N. R., CAMPOS, H. e BRAGA JR, R.L.C., 1986. O emprego das soluções de HCl 0,1 N, de EDTA-(NH₄)₂CO₃ e da ditizona-acetato de amônio na extração do zinco em solos de Piracicaba. Anais da E.S.A. "Luiz de Queiroz"

BRASIL SOBRINHO, M.O.C., 1973. Levantamento do teor de zinco em alguns solos do município de Piracicaba. Piracicaba, 96 p. (Tese do Concurso para Professor Catedrático - ESALQ).

BRASIL SOBRINHO, M.O.C.; FREIRE, O.; NEDER, N.R.; SILVEIRA, R.I., 1980. Zinco em alguns solos de Piracicaba. Avaliação por testes microbiológicos. In: Revista de Agricultura, Piracicaba, 55(2): 63-81, maio.

CATE, R.B.JR. & NELSON, L.A., 1965. A rapid method for correlation of soil test analysis with plant response data. In: North Carolina Agric. Exp. Stn., Inter-

national Soil Testing Series. Tech. Bull. Nº 1.

JACINTHO, A.O.; CATANI, R.A.; PIZZINATO, A., 1971. Extração e determinação do teor de zinco solúvel no solo. In: Anais. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 28:275-285.

KEMPER, W.D. & CHEPIL, W.S., 1965. Size distribution of aggregates. In: Methods of Soil analysis. Part 1. Madison, American Society of Agronomy, p. 499-510.

MARTENS, D.C. & CHESTERS, G., 1967. Comparison of chemical tests for estimation of the availability of soil zinc. In: Journal Science and Food Agriculture, London, 18: 187-193,

MARTENS, D.C.; CHESTERS, G.; MURDOCK, J.T., 1964. Available zinc status of Wisconsin soils as determined by *A. niger*. In: Agronomy Journal, Madison, 56(2): 262-265.

MARTENS, D.C.; CHESTERS, G.; PETERSON, L.A., 1966. Factors controlling the extractability of soil zinc. In: Proceedings. Soil Science Society of America, Ann Arbor, 30(1): 67-69.

MELLO, F.A.F. de; BRASIL SOBRINHO, M.O.C.; ARZOLLA, S., 1965. Apostilas de práticas de química agrícola, análises de solos. Piracicaba, Departamento de Química, ESALQ, 47 p.

NICHOLAS, D.J.D., 1950. Use of *Aspergillus niger* for determining magnesium, copper, zinc and molybdenum in soils. In: Journal of the Science of Food and Agriculture, London, 1: 339-334.

NOGUEIRA, C.S., 1980. Análise de regressão através da justaposição de submodelos polinomiais. Piracicaba, Departamento de Matemática e Estatística/ESALQ, 15p.

- PIMENTEL GOMES, F., 1973. Curso de estatística experimental. Piracicaba, Nobel, 430 p.
- RANZANI, G.; FREIRE, O.; KINJO, T., 1966. Carta de Solos do município de Piracicaba. Piracicaba, Centro de Estudos de Solos, ESALQ, 85 p.
- SARRUGE, J.R., 1975. Soluções nutritivas. In: Summa Phytopathologica, Piracicaba, 1(3):231-233.
- SHAW, E. & DEAN, L.A., 1952. Use of dithizone as an extractant to estimate the zinc nutrient status of soils. In: Soil Science, Baltimore, 73(4): 341-347.
- STEINBERG, R.A., 1935. Nutrient-solution purification for removal of heavy metals in deficiency investigations with Aspergillus niger. In: Journal of Agricultural Research, Washington, 51(5): 413-424.
- TRIERWEILER, J.F. & LINDSAY, W.L., 1969. EDTA-amonium carbonate soil test for zinc. In: Proceedings. Soil Science Society of America. Ann Arbor, 33(1): 49-53.
- TUCKER, T.C. & KURTZ, L.T., 1955. A comparison of several chemical methods with bio-assay procedure for extracting zinc from soil. In: Proceedings. Soil Science Society of America, Ann Arbor, 19(4): 477-481.
- TUCKER, T.C.; KURTZ, L.T.; KYNCH, D.L., 1953. Zinc status of some Illinois soils by an Aspergillus niger method. In: Proceedings. Soil Science Society of America, Ann Arbor, 17(2):111-114.
- VALADARES, J.M.A. de S., 1972. O zinco em Solos de São Paulo. Piracicaba. 72p. (Doutoramento-ESALQ).
- VAN RAIJ, B. Avaliação da fertilidade do solo. Instituto da Potassa & Fosfato (EUA). 1981. p. 62-68.

VANDECAVEYE, S.C., 1948. Biological methods of determining nutrients in soils. In: Diagnostic techniques for soils and crops. Washington, American Potash Institute. p. 199-230.

WALLACE, T., 1961. The diagnosis of mineral deficiencies in plants. London, Her Majesty's Stationery Office, 125 p.