

**BIOMASSA E ATIVIDADE MICROBIANA  
COMO INDICADORAS DA REABILITAÇÃO  
DE ÁREAS CONTAMINADAS POR  
ELEMENTOS-TRAÇO**

**JESSÉ VALENTIM DOS SANTOS**

**2010**

**JESSÉ VALENTIM DOS SANTOS**

**BIOMASSA E ATIVIDADE MICROBIANA COMO  
INDICADORAS DA REABILITAÇÃO DE ÁREAS  
CONTAMINADAS POR ELEMENTOS-TRAÇO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, área de concentração Microbiologia Agrícola, para a obtenção do título de Mestre.

Orientador

Prof. Dr. Cláudio Roberto Fonsêca Sousa Soares

LAVRAS  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2010

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca Central da UFLA**

Santos, Jessé Valentim dos.

Biomassa e atividade microbiana como indicadoras da  
reabilitação de áreas contaminadas por elementos-traço / Jessé  
Valentim dos Santos – Lavras : UFLA, 2010.

47 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2010.

Orientador: Cláudio Roberto Fonsêca Sousa Soares.

Bibliografia.

1. Metal pesado. 2. Atributos biológicos. 3. Atividade  
enzimática. 4. Poluição do solo. I. Universidade Federal de Lavras.  
II. Título.

CDD – 631.46

**JESSÉ VALENTIM DOS SANTOS**

**BIOMASSA E ATIVIDADE MICROBIANA COMO INDICADORAS DA  
REABILITAÇÃO DE ÁREAS CONTAMINADAS POR ELEMENTOS-  
TRAÇO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, área de concentração Microbiologia Agrícola, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 26 de janeiro de 2010

Prof. Dr. Fatima Maria de Souza Moreira UFLA

Profa. Dra. Dulcineia de Carvalho UFLA

Prof. Dr. Romildo da Silva UFLA

Prof. Dr. Cláudio Roberto Fonsêca Sousa Soares  
(Orientador)

LAVRAS  
MINAS GERAIS – BRASIL

*Aos meus pais,  
João Batista dos Santos (in memoriam)  
&  
Fernandina Valentim dos Santos,*

**Ofereço**

*Aos meus irmãos,  
João Fernandes, Jeane, Pedro, Rita,  
Rosimeire, Jaqueline e Jaciane  
&  
Sobrinhos,*

**Dedico**

## AGRADECIMENTOS

A Deus acima de tudo.

À UFLA por meio do Programa de Pós-graduação em Microbiologia Agrícola, pela oportunidade de cursar o mestrado e a Capes pela concessão da bolsa.

À minha amiga Maryeimy que compartilhou os prazeres e as dificuldades de analisar as amostras de Três Marias.

Aos amigos Alagoanos em Lavras, Edvânia, Jessé Marques, Vanderley e Willian pelo aprendizado e convivência em Lavras.

Aos amigos em Lavras, especialmente à Alessandra, Amanda, Carol, Lisiane, Luana, Marcela, Jerusa Bazzo, Jerusa Schneider, Márcia, Maryeimy, Paula, Plínio, Romário, Thiago, Tida e Wesley pela convivência.

Aos meus amigos Álvaro, Aristóteles, Hully, Ludmilla, Rafael e Renato que mesmo distante se fizeram presente pela lembrança dos bons momentos vividos em Alagoas.

À Fernanda Karina pelo apoio e companheirismo durante o início do curso.

Aos meus amigos Márcia, Maryeimy, Jerusa Schneider e Wesley que me ajudaram diretamente durante as análises.

Aos técnicos Manoel e Marlene pela atenção prestada durante a execução do trabalho.

À Tânia Marta Carvalho dos Santos por ter me dado a oportunidade inicial na Microbiologia Agrícola, ainda na Universidade Federal de Alagoas.

Aos Professores Romildo da Silva, Dulcineia de Carvalho, Fatima Maria de Souza Moreira e Cláudio Roberto Fonsêca Sousa Soares que compondo a banca examinadora, deram importantes contribuições para a confecção final da dissertação.

Ao meu Orientador Professor Cláudio Roberto Fonsêca Sousa Soares pela oportunidade concedida.

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	i
LISTA DE FIGURAS.....	ii
RESUMO .....	iii
ABSTRACT.....	v
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	4
2.1 Elementos-traço no solo .....	4
2.2 Reabilitação de áreas contaminadas com elementos-traço.....	6
2.3 Carbono da biomassa microbiana ( <i>C<sub>mic</sub></i> ) e carbono orgânico total ( <i>C<sub>org</sub></i> ) .....	7
2.4 Respiração basal (RB) e induzida (RI).....	10
2.5 Quociente metabólico ( <i>qCO<sub>2</sub></i> ).....	11
2.6 Atividades enzimáticas .....	12
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	16
3.1 Área de estudo.....	16
3.2 Antecedentes das áreas de estudo.....	16
3.3 Coleta e preparação das amostras.....	18
3.4. Análises químicas e bioquímicas.....	20
3.4.1 Análises químicas.....	20
3.4.2 Análises bioquímicas.....	20
3.5 Análises estatísticas.....	22
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
4.1 Propriedades químicas do solo.....	23
4.2 Atributos biológicos em áreas reabilitadas.....	25
4.2.1 Biomassa microbiana, respiração basal e induzida e quociente metabólico.....	25

4.2.2 Atividades enzimáticas.....	30
4.3 Relação entre atributos biológicos e elementos-traço no solo.....	31
5 CONCLUSÕES.....	37
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38



## LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Características químicas de solos de áreas reabilitadas, (A1-L, A1-EL, A2-L e A2-EL) solo contaminado sem vegetação (SV), solo de pastagem (P) e de cerrado (C) no município de Três Marias-MG.....	24
TABELA 2	Atributos biológicos em áreas contaminadas submetidas a programas de reabilitação (A1-L, A1-EL, A2-L e A2-EL) e áreas de referência, contaminada sem vegetação (SV) e sem contaminação (C e P) em Três Marias-MG.....	29
TABELA 3	Correlação de Pearson obtida entre atributos biológicos e elementos-traço do solo de áreas contaminadas submetidas à reabilitação e áreas de referência em Três Marias-MG.....	34

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	Mapa da área de estudo, destacando as áreas contaminadas submetidas à reabilitação (A1 e A2), área contaminada sem vegetação (SV) e áreas sem contaminação Cerrado (C) e Pastagem (P), localizadas a 6 e 7 Km, respectivamente, de distância da empresa (Imagem obtida a partir do Google earth, 2009).....	17
FIGURA 2	Áreas estudadas correspondentes aos diferentes programas de reabilitação (Área 1 e Área 2), áreas sem contaminação (cerrado e pastagem) e com contaminação (sem vegetação).	19
FIGURA 3	Análise de componentes principais para elementos-traço e atributos biológicos do solo em áreas contaminadas por elementos-traço, submetidas a reabilitação (A1-L, A1-EL, A2-L e A2-EL), áreas sem contaminação (C e P) e área contaminada sem vegetação (SV) em Três Marias-MG.....	35

## RESUMO

SANTOS, Jessé Valentim dos. **Biomassa e atividade microbiana como indicadores da reabilitação de áreas contaminadas por elementos-traço.** 2010. 47p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG\*.

A fitorremediação tem sido uma das técnicas adotadas para amenizar a toxicidade dos elementos-traço em áreas contaminadas em decorrência de atividades antrópicas, como a mineração. É importante conhecer os efeitos do uso dessas técnicas sobre a comunidade microbiana do solo, pois seus processos bioquímicos, quando alterados, podem comprometer a ciclagem de nutrientes e a fertilidade dos solos. A microbiota edáfica é sensível a mudanças no seu ambiente e os parâmetros biológicos, como carbono da biomassa (*Cmic*), respiração basal (RB) e induzida (RI), quociente metabólico ( $qCO_2$ ) e a razão *Cmic/C* orgânico (*Cmic/Corg*) e atividades enzimáticas, têm sido empregados no monitoramento de uso do solo. Este trabalho foi realizado com o objetivo de estudar a biomassa e a atividade microbiana como indicadores da reabilitação de áreas contaminadas por elementos-traço. Sete áreas foram estudadas: área revegetada 1: plantio de *Eucalyptus camaldulensis*, nas linhas (A1-L) e sem cobertura nas entrelinhas (A1-EL); área revegetada 2: plantio de *E. camaldulensis*, nas linhas (A2-L) e *Brachiaria decumbens* nas entrelinhas (A2-EL); área contaminada sem vegetação (SV); pastagem (P) e vegetação nativa de cerrado (C). Determinaram-se *Cmic* pela técnica da fumigação-extração; RB pela liberação do  $CO_2$  e captura por solução de NaOH, após três dias de incubação; RI semelhante a RB, porém, com adição de glicose (0,5 %) e  $qCO_2$  pela razão RB/*Cmic*. As atividades da  $\beta$ -glicosidase, da fosfatase ácida e da arilsulfatase foram determinadas por colorimetria, quantificando-se p-nitrofenil liberado. A urease foi determinada a partir da destilação do N-amoniaco liberado pela atividade da enzima. Os ambientes SV, A1-EL e A1-L, que apresentaram os mais elevados teores de Zn, Cu, Cd e Pb, tiveram os mais baixos de *Cmic* (39,4; 57,5 e 73,6 mg carbono  $g^{-1}$  de solo, respectivamente), indicando relação inversa entre os teores de elementos-traço e esse atributo biológico. Na área revegetada 2 (A2-L, A2-EL), os valores de *Cmic* foram mais elevados (124,68 e 141,98 mg carbono  $g^{-1}$  de solo, respectivamente), não diferindo dos ambientes P (190,04 mg carbono  $g^{-1}$  de solo) e C (148,01 mg carbono  $g^{-1}$  de solo). Embora essas áreas estejam contaminadas, a reabilitação promoveu incrementos sobre as atividades e biomassa microbiana.

---

\*Comitê orientador: Cláudio Roberto Fonsêca Sousa Soares – UFLA (orientador)  
Fatima Maria de Souza Moreira - UFLA

As áreas não contaminadas (P e C) apresentaram baixos valores de  $qCO_2$ , enquanto nas áreas com elevados teores de elementos-traço houve interferência neste atributo; as atividades enzimáticas refletiram as condições de contaminação e cobertura de solo, sendo as áreas revegetadas A2-L e A2-EL, junto com P e C, as que apresentaram as maiores atividades enzimáticas. Por meio da análise de componentes principais verificou-se que as áreas reabilitadas agruparam-se com áreas livres de contaminação, demonstrando que a substituição do solo, associada à implantação de cobertura vegetal, permitiu melhorias na atividade e nos processos microbianos.

**Palavras-chave:** 1. Metais pesados, 2. Atributos biológicos, 3. Atividade enzimática, 4. Poluição do solo.

## ABSTRACT

SANTOS, Jessé Valentim dos. **Microbial biomass and activity as indicators of rehabilitation of areas contaminated by trace elements.** 2010. 47p. Dissertation (Masters in Agricultural Microbiology) - Universidade Federal de Lavras - Lavras, MG.\*

Phytoremediation has been one of the techniques adopted to mitigate the toxicity of trace elements in contaminated areas resulting from human activities such as mining. It is important to know the effects of using these techniques on soil microbial community, since their biochemical processes, when altered, can compromise nutrient cycling and soil fertility. The soil microbiota is sensitive to environmental changes and biological parameters such as biomass carbon (*Cmic*), basal (BR) and induced (RI) respiration, metabolic quotient ( $qCO_2$ ) and the ratio *Cmic*/organic carbon (*Cmic/Corg*) and enzymatic activities, have been used in the monitoring of land use changes and diverse types of management practices. The objective of this work was to study the microbial biomass and activity as an indicator of the rehabilitation of areas contaminated by trace elements. Seven areas were studied: revegetated area 1: *Eucalyptus camaldulensis*, planted in rows (A1-L) and no coverage between the rows (A1-EL); revegetated area 2: *E. camaldulensis* planted in rows (A2-L) and *Brachiaria decumbens* in between the rows (A2-EL). These areas were compared to a contaminated area without vegetation (SV), and areas with no contamination: pasture (P) and native vegetation of cerrado (C). The *Cmic* was determined by fumigation-extraction technique; RB by release of  $CO_2$  and capture by NaOH solution, after three days of incubation, RI similar to RB, but with glucose (0.5%), the  $qCO_2$  by the ratio  $RB/Cmic$ . The activities of  $\beta$ -glucosidase, acid phosphatase and arilsulfatase were determined by colorimetry, quantifying the *p*-nitrophenyl released. Urease was determined from the distillation of ammonia-N released. Environments SV, A1-EL and A1-L which had the highest concentration of Zn, Cu, Cd and Pb had the lowest *Cmic* (39.4, 57.5 and 73.6 mg carbon  $g^{-1}$  soil, respectively), indicating an inverse relationship between levels of trace elements and these biological attributes. In the area replanted 2 (A2-L, A2-EL) *Cmic* values were higher (124.68 and 141.98 mg carbon  $g^{-1}$  soil, respectively), with no difference regarding the environments P (190.04 mg carbon  $g^{-1}$  soil) and C (148.01 mg carbon  $g^{-1}$  soil),

---

\* Guidance committee: Cláudio Roberto Fonsêca Sousa Soares (UFLA) (orientador)  
Fatima Maria de Souza Moreira -UFLA

although these areas are contaminated, rehabilitation promoted positive increments on activities and microbial biomass. The non-contaminated areas (P and C) showed lower values of  $qCO_2$ , while in the areas with high levels of trace elements there was no interference with this attribute; the enzymatic activities reflected the conditions of contamination and soil cover. The revegetated areas A2-L and A2-EL, together with P and C had the highest enzymatic activities. Principal components analysis showed that the rehabilitated areas were grouped with non contaminated areas, indicating that the replacement of the soil, along with revegetation has made improvements in microbial activity.

**Key words:** 1. Heavy metals, 2. Biological parameters, 3. Enzymatic activity, 4. Soil pollution.

## 1 INTRODUÇÃO

Os elementos-traço são de ocorrência natural no solo e sua acumulação, atingindo teores elevados, em decorrência, principalmente, de atividades industriais relacionadas à mineração, tem merecido atenção crescente nas últimas décadas.

A recuperação de áreas degradadas, incluindo as contaminadas por metais, tem exigido a aplicação de diferentes tecnologias para amenizar os efeitos tóxicos desses elementos no solo. Dentre as várias estratégias de remediação, a fitorremediação, que tem por princípio a implantação de maciços florestais nestes ambientes contaminados, tem se mostrado bastante promissora. Porém, uma das dificuldades enfrentadas é a alta concentração do contaminante, impossibilitando o estabelecimento da vegetação (Soares et al., 2002). Uma solução adotada para reduzir esse efeito é a substituição do solo contaminado por solo não contaminado (Accioly, 2001).

Conhecer os efeitos dessa substituição do solo, associada ao estabelecimento vegetal, sobre a comunidade microbiana é de fundamental importância, uma vez que interferências nos processos bioquímicos do solo, intermediados por microrganismos, principalmente, podem causar sérias consequências para o funcionamento do ecossistema, em termos de ciclagem de nutrientes e fertilidade do solo. Poluição por elementos metálicos podem apresentar efeitos adversos não apenas para atributos relacionados com a qualidade de plantas e a produtividade, mas também causam alterações no tamanho, na composição e na atividade da comunidade microbiana (Giller et al., 1998)

Como consequência do declínio de muitos ecossistemas no mundo, além da carência de conhecimento das comunidades microbiana do solo, os

importantes papéis desempenhados pelos microrganismos nos ecossistemas terrestres têm recebido atenção crescente. Os microrganismos do solo podem controlar a disponibilidade de nutrientes e exercem importante papel na decomposição de resíduos de plantas, na ciclagem dos principais nutrientes, na estruturação do solo, na fixação biológica de nitrogênio e na redução na incidência de fitopatógenos, por meio de associações micorrízicas, influenciando direta e indiretamente o crescimento das plantas (Moreira & Siqueira, 2006). Além disso, são muito sensíveis a mudanças no meio ambiente e influenciam os níveis de fertilidade do solo, sendo importantes indicadores da sua qualidade. Portanto, conhecimento dos fatores que afetam os microrganismos no solo é fundamental para a sustentabilidade e manejo desse ambiente.

Diversos atributos biológicos, dentre os quais biomassa microbiana, respiração basal e induzida, atividades enzimáticas e estrutura da comunidade microbiana, têm sido utilizados como indicadores da qualidade do solo, sendo empregados em programas de monitoramento, incluindo aqueles envolvendo solos contaminados com metais (Vásquez-Murrieta et al., 2006; Renella et al., 2005; Dias-Júnior et al., 1998 ).

Concentrações elevadas de elementos-traço no solo afetam a produtividade, a biodiversidade e a sustentabilidade dos ecossistemas, comprometendo o equilíbrio biológico, químico e físico do solo (Moreira & Siqueira, 2006).

Embora os efeitos benéficos da presença de vegetação sobre a comunidade microbiana, bem como sua grande influência sobre os atributos bioquímicos do solo, tenham sido bem documentados, há carência de informações sobre a influência da cobertura vegetal na comunidade microbiana, em locais nos quais foram implantados programas de reabilitação de solos contaminados com metais.



Tendo em vista que os microrganismos e suas atividades são bastante influenciados por mudanças no ambiente solo e que a deposição de resíduos de mineração, normalmente contendo teores elevados de metais, interfere de maneira considerável na comunidade e nos processos microbianos, torna-se essencial o conhecimento do impacto das atividades relacionadas à mineração sobre o comportamento microbiano do solo.

Embora diversos estudos tenham mostrado que a comunidade microbiana do solo desempenha funções essenciais para o perfeito funcionamento do sistema solo-planta, a maioria desses estudos tem sido realizada em sistemas agrícolas. Por outro lado, estudos em áreas contaminadas por elementos-traços, bem como áreas em sistemas de reabilitação, têm se limitado a avaliar os efeitos tóxicos desses elementos sobre o crescimento de plantas e a saúde animal, dando menor ênfase aos seus efeitos sobre os microrganismos e processos bioquímicos no solo.

Nesse contexto este trabalho foi realizado com o objetivo de estudar os efeitos da reabilitação de áreas contaminadas por elementos-traço, em decorrência da deposição de resíduos do processamento de zinco, sobre as atividades da comunidade microbiana e processos bioquímicos do solo, no município de Três Marias, MG. Para isso, os seguintes atributos biológicos foram analisados: carbono da biomassa microbiana, respiração basal, respiração induzida, quociente metabólico, carbono orgânico total, relação C da biomassa/C orgânico e atividades enzimáticas.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Elementos-traço no solo

O termo metal pesado tem sido bastante utilizado em diversos trabalhos científicos e, segundo Alloway (1990), refere-se àqueles elementos metálicos que apresentam densidade atômica superior a  $5\text{g/cm}^3$ . Entretanto, de acordo com Guilherme & Marchi (2005), o termo elemento-traço seria o mais adequado pelo fato de a expressão metal pesado não ter sido definida por órgão oficial na área química. Os elementos associados com toxicidade ou poluição são Cd, Co, Cr, Cu, Pb, Hg, Mo, Ni e Zn (Nellesen & Fletcher, 1993). Alguns destes, dentre os quais Zn, Cu, Mo, Co e Ni, são essenciais ao crescimento das plantas, mas, quando em excesso, podem gerar um efeito negativo (Klauberg-Filho, et al., 2005).

Elementos-traço no solo estão associados a componentes orgânicos e inorgânicos, sendo o seu comportamento controlado por diversos processos físico-químicos que regulam sua mobilidade, tais como precipitação e dissolução de solutos, oxidação-redução, complexação com ligantes orgânicos e inorgânicos e troca de íons por adsorção (McBride, 1994).

Os problemas causados pelo excesso de metais dependem da quantidade e das formas químicas em que ocorrem nos solos. Por exemplo, formas lábeis associadas às frações solúveis, trocáveis e matéria orgânica podem representar pronta disponibilidade para movimentação em solos ou absorção por organismos (Nascimento et al., 2003; Accioly, 2001; Ribeiro-filho, 1999). A Companhia de Tecnologia de Sanamento de São Paulo (CETESB, 2005) estabelece três categorias de classificação do solo referentes a concentrações de elementos-traço contaminantes: o **valor de referência de qualidade (VRQ)**, para situações de não contaminação; o **valor de prevenção (VP)**, para possível alteração prejudicial à qualidade dos solos, sendo utilizado em caráter preventivo e,

quando esse valor no solo é excedido, o monitoramento dos impactos é exigido e o **valor de intervenção** (VI), que indica o limite de contaminação além do qual há riscos potenciais, diretos ou indiretos, à saúde humana e, quando excedido, a área é classificada como contaminada sob investigação, indicando a necessidade de ações de intervenção. Para os elementos Zn, Cu, Pb e Cd, esses valores são, respectivamente: 60, 35, 17 e  $<0,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ , para a categoria VRQ; 300, 60, 72 e  $1,3 \text{ mg.kg}^{-1}$  para VP e 450, 200, 180 e 3 em áreas agrícolas na categoria VI.

A contaminação de solos por elementos-traço compromete a sustentabilidade agrícola e ambiental, podendo trazer sérias consequências à saúde humana, em decorrência da contaminação da cadeia trófica via absorção vegetal, sendo necessárias soluções tecnológicas que mitiguem seus potenciais efeitos tóxicos ao meio ambiente (Soares & Siqueira, 2008; Galindo et al., 2005). Essa contaminação pode ser avaliada por meio de extrações sequenciais, que identificam as frações do solo nas quais os elementos encontram-se associados. Isso permite inferências sobre a origem, a forma de ocorrência, a biodisponibilidade e a mobilidade de metais. Uma das práticas disponíveis para tratamento de solos contaminados por elementos-traço é a adição de amenizantes químicos, visando imobilizar ou tornar os contaminantes menos disponíveis no solo (Soares et al., 2002), seja para absorção por plantas ou lixiviação para o lençol freático. Além da inativação dos metais, o material utilizado na remediação do solo deve possibilitar o crescimento de plantas e não apresentar toxicidade durante a sua aplicação. Compostos orgânicos, por sua vez, reduzem a disponibilidade de metais no solo pela formação de complexos insolúveis (Shuman, 1998). No entanto, a matéria orgânica pode também provocar aumento da disponibilidade de metais para as plantas, devido à formação de quelatos solúveis (McBride, 1994; Alloway, 1990).

Os elementos-traço interferem no funcionamento normal tanto das plantas como da biota do solo, inibindo uma variedade de processos fisiológicos

e bioquímicos, afetando a produtividade e a sustentabilidade dos ecossistemas e induzindo danos, às vezes irreversíveis, ao “status” biológico, químico e físico do solo (Klauber-Filho, et al., 2005). Em áreas contaminadas por esses elementos, são comuns danos como perda da cobertura vegetal, alteração na estrutura do solo, erosão, perda de nutrientes e de matéria orgânica, diminuição da densidade de propágulos e da atividade da microbiota (Liao & Xie, 2007; Vásquez-Murrieta et al., 2006; Ribeiro-Filho et al., 1999; Dias Junior et al., 1998).

As populações microbianas do solo sofrem acentuada influência do ambiente, podendo os microrganismos ou seus processos ser inibidos em até 100% por diversos fatores estressantes, como, por exemplo, a deposição de metais (Siqueira et al., 1994). Por esses motivos, atributos microbiológicos podem ser ferramentas bastante úteis no monitoramento da poluição do solo. No entanto, quando esses atributos são utilizados individualmente, não oferecem informações adequadas da ação de elementos contaminantes sobre a comunidade de microrganismos do solo (Jahnel et al., 1997), devendo, por isso, ser analisados em conjunto.

## **2.2 Reabilitação de áreas contaminadas com elementos-traço**

Os ecossistemas submetidos a processos degenerativos podem apresentar-se em diferentes níveis, atingindo até a desertificação. Grande parte da degradação pode ser reversível por meio do emprego de diferentes procedimentos de recomposição, incluindo: a **reabilitação**, que é definida como o retorno da área degradada a um estado biológico apropriado, constituindo um novo ecossistema; a **recuperação**, que se refere ao retorno a uma forma de utilização qualquer, conforme um plano preestabelecido para uso do solo que, com o tempo, pode ter as funções ecológicas restabelecidas e a **restauração**, que corresponde ao retorno às condições originais por meio de processos

espontâneos. Os dois primeiros processos geralmente consistem da adoção de práticas recuperadoras com fortes intervenções antrópicas, enquanto o terceiro abrange intervenções simples, como a proteção e o pousio da área (Lamb et al., 2005).

Nos programas de recuperação, deve-se buscar um procedimento de revegetação que seja sustentável, ou seja, deve-se implementar ações que garantam o estabelecimento da vegetação inicial (ajustar o solo, selecionar as plantas e selecionar organismos benéficos para inoculação) e que essa possa facilitar o processo da sucessão natural visando à completa cobertura vegetal e diversidade biológica e funcional no novo ecossistema (Siqueira et al., 2007).

Atividades biológicas, tais como respiração, mineralização de compostos orgânicos e atividade enzimática, associadas à quantificação da biomassa microbiana do solo, podem ser avaliadas por meio de técnicas bem estabelecidas. Combinando atividade microbiológica e estimativa do número de microrganismos, obtêm-se indicadores mais sensíveis da poluição do solo do que aqueles que seriam obtidos por meio de um único parâmetro (Brookes, 1995).

### **2.3 Carbono da biomassa microbiana (*C<sub>mic</sub>*) e carbono orgânico total (*C<sub>org</sub>*)**

Teores de biomassa microbiana têm sido utilizados para avaliar efeitos de elementos-traço no solo (Vásquez-Murrieta et al., 2006; Dahlin et al., 1997), bem como para a reabilitação de áreas degradadas (Carneiro et al., 2008; Silveira et al., 2006). Elevadas concentrações desses elementos causam a morte imediata dos organismos, ao passo que baixas concentrações daqueles considerados tóxicos causam uma mudança gradual em sua viabilidade (Vásquez-Murrieta et al., 2006). Os microrganismos de solos expostos, por longo período, ao estresse por elementos-traço, ainda que em baixas concentrações, não são hábeis para

manter a estabilidade da biomassa, comparando-se com solos não contaminados. No entanto, o desenvolvimento de tolerância e mudanças na estrutura da comunidade microbiana podem compensar perdas das populações mais sensíveis (Giller et al., 1998).

A biomassa microbiana é a principal fonte de enzima no solo, sendo assim responsável pela quase totalidade da atividade biológica desse ambiente. Apesar de representar pequena parte do carbono orgânico do solo, a biomassa é um indicador sensível de mudanças neste ecossistema e os menores valores são geralmente encontrados em áreas degradadas por atividades de mineração e contaminadas com metais pesados, em comparação com áreas bem preservadas e com vegetação natural (Moreira & Siqueira, 2006).

Turco et al. (1994) mencionaram que os organismos do solo contribuem para a manutenção da qualidade do solo pelo controle da decomposição de resíduos de animais e plantas, a participação nos ciclo de nutrientes e a formação da sua estrutura. Os autores consideram, ainda, que os microrganismos do solo são, potencialmente, um dos mais importantes marcadores biológicos disponíveis e úteis na classificação de sistemas contaminados e perturbados. Segundo Smith & Paul (1990), um sistema inicia sua recuperação não apenas devido à recolonização pelas plantas, mas é dependente da fertilidade promovida pelos microrganismos que acarretam mudanças físico-químicas nas propriedades do solo, necessárias para o crescimento das plantas.

Devido ao fato de a biomassa microbiana ser considerada parte viva da matéria orgânica do solo, ela pode ser utilizada como índice de qualidade na comparação de ecossistemas naturais e degradados. A biomassa microbiana está relacionada com o conteúdo de matéria orgânica no solo, em solos cultivados; por exemplo, de 2%-3% do carbono orgânico total pertence ao carbono da biomassa (Anderson & Domsch, 1978).

A avaliação da biomassa microbiana é útil para prover informações rápidas sobre mudanças nas propriedades orgânicas do solo, detectar mudanças causadas por cultivos ou devastação de florestas ou determinar a regeneração de solos após a remoção da camada superficial e avaliar os efeitos de contaminação por elementos-traço e pesticidas (Powlson et al., 1987). Dias Júnior (1996), estudando os efeitos da contaminação do solo por metais pesados, em área de rejeito do processamento de zinco, no município de Três Marias, MG, verificou redução acima de 80% nos valores do carbono da biomassa em solos contaminados, quando comparados com solo não contaminado adjacente.

Por essas razões, o carbono da biomassa microbiana tem sido apontado como um indicador de qualidade, com sensibilidade para detectar modificações no solo antes mesmo que teores de matéria orgânica sejam alterados significativamente.

A matéria orgânica do solo representa o principal reservatório de energia para os microrganismos e de nutrientes para as plantas. Seu declínio ou acréscimo serve para avaliar a preservação dos ecossistemas naturais e os desequilíbrios dos agroecossistemas, podendo ser utilizado como critério na avaliação da sustentabilidade desses ambientes (Kaiser et al., 1995). Ela afeta diretamente as características biológicas do solo, pois atua como fonte de carbono energia e nutrientes para os microrganismos quimio-heterotróficos (Mielniczuk, 1999).

O solo pode ser considerado um incinerador biológico, operado pelos organismos que nele se proliferam, tornando-se, dessa maneira, um importante regulador de processos globais, como trocas gasosas e fluxos de nutrientes nos sistemas solo-vegetação-atmosfera (Moreira & Siqueira, 2006). Por estas características, têm sido verificadas correlações entre os teores de carbono orgânico e diferentes atributos biológicos do solo, inclusive em ambientes

contaminados por elementos-traço (Vásquez-Murrieta et al., 2006; Dias-Júnior, 1998; Kuperman & Carreiro, 1997).

A razão entre carbono microbiano e carbono orgânico total indica a qualidade da matéria orgânica (Wardle, 1994). De acordo com Sparling (1992), pode-se monitorar a dinâmica da matéria orgânica do solo utilizando-se esta relação. Embora este atributo biológico tenha sido relatado como um importante fator da qualidade e fertilidade do solo (Reyes-Reyes et al., 2007), resultados contraditórios foram encontrados por outros autores, quando estudaram ambientes contaminados por elementos-traço (Dias-Júnior et al., 1998) e, em alguns casos, não foram encontradas diferenças significativas entre ambientes contaminados e não contaminados (Insan et al., 1996).

#### **2.4 Respiração basal (RB) e induzida (RI)**

A respiração basal é definida como a respiração sem adição de substratos orgânicos ao solo e pode ser avaliada por meio da produção de CO<sub>2</sub> ou consumo de O<sub>2</sub> (Alef, 1995). É um dos parâmetros mais antigos utilizados na quantificação da atividade metabólica nos solos (Moreira & Siqueira, 2006). Assim como outras atividades metabólicas, é dependente do estágio fisiológico da célula e é influenciada por diversos fatores no solo, tais como umidade, temperatura, estrutura do solo e disponibilidade de nutrientes, bem como pela presença de compostos tóxicos, como os elementos-traço (Renella et al., 2005; Dias-Júnior et al., 1998).

A decomposição de resíduos orgânicos envolve reações bioquímicas de oxidação por meio das quais os microrganismos, obtendo carbono e energia para seu crescimento e funções celulares, transformam os compostos orgânicos complexos em substratos mais simples e ou inorgânicos prontamente assimiláveis pelas plantas (Minhoni et al., 1990). Nas reações de oxidação, enquanto parte do carbono do substrato é utilizada na construção de um novo



protoplasma celular, parte é liberada na forma de CO<sub>2</sub>, a qual poderá ser quantificada (Parr, 1975). Medidas de respiração microbiana refletem diretamente a atividade de microrganismos heterotróficos (Nielsen & Winding, 2002).

Tanto a respiração basal quanto a induzida por substrato pode ser utilizada para avaliar a atividade da população microbiana em áreas degradadas, em solos que receberam adição de rejeitos de siderúrgicas ou, mesmo, em áreas mineradas (Melloni et al., 2001b; Dias Júnior, 1996). Melloni et al.(2001b) verificaram redução nos valores das respirações basal e induzida, com aumento na adição de pó de forno siderúrgico, contendo diferentes teores de metais tóxicos. Zimakowska-gnoinska et al. (2000), estudando solos contaminados por elementos-traço, na Espanha, verificaram alterações na taxa de consumo de oxigênio, tendo os menores valores ocorrido naqueles ambientes mais contaminados.

A taxa de liberação de CO<sub>2</sub> é um atributo biológico do solo que também pode ser utilizado para avaliar a reabilitação de áreas contaminadas por metais. Carneiro et al. (2008) verificaram aumento na taxa respiratória de solos de acordo com o tempo de reabilitação de áreas de mineração de bauxita em Poços de Caldas, MG.

## **2.5 Quociente metabólico ( $qCO_2$ )**

O quociente metabólico, razão entre C-CO<sub>2</sub> da atividade microbiana e o C da biomassa, representa, tal como a biomassa microbiana e a respiração, um indicador sensível de alterações no ecossistema (Anderson & Domsch, 1989).

Segundo Sparling (1992), as mudanças no quociente metabólico refletem o padrão de matéria orgânica no solo, a eficiência da conversão do C microbiano, as perdas do C do solo e a estabilização do C orgânico pela fração

mineral do solo. Dessa forma, seu valor pode indicar se está ocorrendo acúmulo ou perda de carbono no solo (Insam, 1990; Anderson & Domsch, 1989;).

Diversos trabalhos têm demonstrado o uso do  $qCO_2$  em avaliações de sistemas de uso do solo, bem como em solos contendo elevadas concentrações de elementos-traço, apresentando-o como um bom indicador da “qualidade” do solo (Moscatelli et al., 2007; Renella et al., 2005; Dias-Júnior et al., 1998; Brookes, 1995). Também tem sido relatado que o  $qCO_2$  é um indicador sensível à contaminação de solos, inclusive, em alguns casos, mais do que a biomassa microbiana e a respiração (Dias-Júnior et al., 1998; Brookes, 1995).

## **2.6 Atividades enzimáticas**

As enzimas têm participação essencial nos ciclos dos elementos no solo e, como são sintetizadas, principalmente, pelos microrganismos que nele vivem, as condições que inibem ou limitam a atividade microbiana, como a presença de elementos-traço ou componentes tóxicos no solo, também inibem ou limitam a atividade enzimática. Por serem sensíveis a mudanças no solo, as enzimas são consideradas bons indicadores de qualidade do solo e suas atividade específica ou global pode indicar o “estado de atividade” biológica do solo e, assim, sua funcionalidade no ecossistema (Moreira & Siqueira, 2006). Uma das aplicações dos índices de atividade enzimática é no monitoramento ou avaliação de reabilitação de áreas de mineração ou de solos contaminados, conforme estudos já realizados em vários países (Carneiro et al., 2008; Mora et al., 2005; Renella et al., 2005; Brookes, 1995).

Dentre as diferentes enzimas do solo,  $\beta$ -glicosidase, urease e fosfatases têm sido as mais estudadas. A atividade da arilsulfatase, embora em menor destaque, também tem sido avaliada em solos, relacionada à contaminação por metais (Renella et al., 2005; Kandeler et al., 1996).

Eivazi & Tabatabai (1988) descreveram que a atividade da  $\beta$ -glicosidase tem correlação significativa com a matéria orgânica do solo e atua tanto na hidrólise da celobiose como também de oligossacarídeos, liberando glicose que servirá como fonte de energia para os microrganismos. Como o produto da hidrólise dessa enzima é fonte importante de energia para os microrganismos do solo, alterações neste ambiente, que resultem em redução acentuada de sua atividade, podem retardar ou, mesmo, comprometer o processo de reabilitação de áreas contaminadas.

Kuperman & Carreiro (1997) encontraram valores de atividades da  $\beta$ -glicosidase, em ambientes contaminados por metais, equivalentes a 3,3% daqueles encontrados em áreas ausentes de contaminação. Dessa maneira, a  $\beta$ -glicosidase tem sido reportada, dentre outras atividades de enzimas hidrolíticas, como uma importante enzima indicadora da qualidade do solo (Carreiro et al., 2008; Dick et al., 1996; Tabatabai, 1994).

A urease pertence ao grupo das enzimas que agem na ligação C-N da ureia (Dick, 1997). O processo de mineralização do nitrogênio do solo é resultante da degradação de compostos orgânicos, contendo este elemento, decorrente da atividade dos microrganismos, os quais, por este motivo, desempenham papel significativo no ciclo do nitrogênio, sendo responsável pela transformação do N orgânico presente no tecido vegetal para formas inorgânicas simples. O primeiro processo de transformação do nitrogênio orgânico em mineral é denominado amonificação e é considerado limitante no processo de mineralização. Dentre as formas de nitrogênio orgânico encontradas, está a ureia, ocorrendo de forma natural, principalmente por meio de excreções de animais. Pelo processo de amonificação, a ureia é convertida, com o auxílio da urease, em amônio que, por sua vez, terá vários destinos, de acordo com as condições ambientais, podendo ser imobilizado pelos microrganismos,

absorvido pelos vegetais ou, ainda, adsorvido pelos minerais de argila (Victória et al., 1992).

Dentre os microrganismos que hidrolisam a ureia estão bactérias, fungos e actinobacterias (Roberge & Knowles, 1967). A mineralização do nitrogênio é influenciada pelos fatores que controlam o crescimento e a atividade microbiana no solo. Dessa maneira, condições de solo desfavoráveis, como as verificadas em solos contaminados por elementos-traço, podem interferir neste processo. Carneiro et al. (2008) verificaram que, embora atividade de mineração de bauxita tenha afetado significativamente a atividade da urease, processos de reabilitação dessas áreas promoveram aumento na atividade desta enzima.

Em muitos solos, a fração de fósforo orgânico é maior do que a inorgânica. Por essa razão, a disponibilidade deste elemento para as plantas torna-se dependente da mineralização dos compostos orgânicos, papel este desempenhado pelas fosfatases. Essas enzimas são excretadas tanto pelas raízes das plantas quanto pelos microrganismos, no entanto, as de origem microbiana são as que predominam nos solos. Elas enzimas são induzíveis e, portanto, são sintetizadas predominantemente em condições de baixa disponibilidade de fósforo no solo (Schinner et al., 1996).

Assim como as fosfatases, as sulfatases são enzimas do solo predominantemente de origem microbiana que desempenham importante papel no processo de mineralização dos compostos contendo enxofre e atuam na hidrólise de sulfatos orgânicos, de modo a disponibilizar enxofre para as plantas. No solo, podem ocorrer como exoenzimas e sua atividade tem sido correlacionada com teores de matéria orgânica. Na natureza, ocorrem diferentes tipos de sulfatases, sendo a arilsulfatase a mais estudada (Schinner et al., 1996; Tabatabai, 1982).

Kandeler et al. (1996), avaliando os efeitos de diferentes elementos-traço em solos contaminados, verificaram que a arilsulfatase foi, dentre as várias enzimas analisadas, aquela que apresentou a maior redução de atividade.

## 3 MATERIAL E MÉTODOS

### 3.1 Áreas de estudo

O experimento foi realizado em uma área da Companhia Mineira de Metais (CMM), localizada no município de Três Marias, MG, cujo solo é classificado como antropogênico. Segundo Panoso et al. (1978), pela classificação de Köppen, o clima da região se enquadra no tipo AW, que corresponde à savana, com inverno seco. A temperatura média anual varia de 19° a 22°C e a precipitação média anual é de 1.100 a 1.420 mm. Localiza-se à altitude de 539 m e apresenta relevo plano, vegetação original de cerrado, latitude 45,11°S e longitude 18,24°W.

### 3.2 Antecedentes das áreas de estudo

O local de estudo correspondeu a cinco áreas, sendo três consideradas contaminadas (A1, A2 e SV) e duas livres de contaminação (C e P) (Figura 1). Das três áreas contaminadas que apresentavam contaminação severa em profundidade pelos elementos Zn, Cu, Pb e Cd, duas (A1 e A2) foram submetidas a reabilitação, nos anos de 2001 e 2002, quando foram implantados projetos pilotos desenvolvidos pelo Departamento de Ciência do Solo da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Antes de desenvolver o programa de reabilitação foi desenvolvido o diagnóstico da contaminação. Na profundidade de 0-30 cm, foram feitas as análises químicas das áreas, avaliando-se os teores totais de Zn, Cd, Cu e Pb. Na área denominada de deposição de rejeito industrial (no presente estudo designada como Área 1), os teores totais, avaliados por Ribeiro-Filho et al. (1999), foram de 17.167, 584, 882 e 573 mg kg<sup>-1</sup> e, na área ustulação (no presente estudo designada como Área 2), foram de 1.844, 29, 145 e 278 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente. Vários estudos foram realizados com plantas nativas e

exóticas, para verificar a tolerância aos altos teores de elementos-traço (Marques et al., 2000; Cury et al., 1998).



FIGURA 1 Mapa da área de estudo, destacando as áreas contaminadas submetidas à reabilitação (A1 e A2), área contaminada sem vegetação (SV) e áreas sem contaminação cerrado (C) e pastagem (P), localizadas a 6 e 7 km, respectivamente, de distância da empresa (imagem obtida a partir do Google Earth, 2009).

A partir de testes na própria área a ser reabilitada, verificou-se que a espécie *Eucalypto camadulensis* se apresentou como uma das mais tolerantes, sendo por isso selecionada para ser implantada no programa de reabilitação. Diversos materiais com ação amenizadora da fitotoxidez foram avaliados. A aplicação de calcário ou de silicato de cálcio reduziu a disponibilidade dos elementos-traço no solo, facilitando o estabelecimento das plantas e representando uma alternativa para a fitoestabilização da área. A partir dos diversos estudos realizados nas áreas contaminadas, desenvolveu-se o modelo de reabilitação que consistiu em dois programas que tinham por princípio a substituição de solo contaminado por solo não contaminado. Para isso, valas de 10x1x1 m foram abertas e o solo retirado foi espalhado na própria área do

experimento, não gerando material para descarte. O solo utilizado para substituição foi retirado de uma área de empréstimo, da própria Companhia, e recebeu tratamento com calcário, matéria orgânica e fertilizante (4-14-8), para garantir o estabelecimento adequado da vegetação (Accioly, 2001).

O primeiro programa de reabilitação consistiu na implantação de mudas de eucalipto nas valas com solo substituído, definidas como linhas de plantio, não havendo cobertura nas entrelinhas. No segundo programa, além das linhas de plantio com eucalipto, nas entrelinhas foi adicionada uma camada de calcário de 2 cm, além de uma de 20 cm de solo não contaminado, onde, posteriormente, foram semeadas *Brachiaria decumbens*.

Em cada vala foram plantadas quatro mudas de eucalipto, com espaçamento de 2 m entre as plantas, totalizando, aproximadamente, 780 árvores na área.

### **3.3 Coleta e preparação das amostras**

No mês de fevereiro de 2009 foram coletadas amostras de solos, na profundidade de 0-20 cm, nas áreas submetidas aos programas de reabilitação. Além dessas áreas, para efeitos comparativos, também foram coletadas amostras de solos de uma área contaminada sem cobertura de solo, de uma área sob pastagem e outra sob cerrado nativo, totalizando cinco áreas (Figura 1).

Nos locais submetidos a programas de reabilitação foram coletadas amostras de solo nas linhas e nas entrelinhas. As seguintes designações foram adotadas para identificação das áreas: área 1: contaminada e reabilitada com plantio de *Eucalyptus camaldulensis* nas linhas (A1-L) e sem cobertura nas entrelinhas (A1-EL); área 2: contaminada e reabilitada com plantio de *Eucalyptus camaldulensis*, nas linhas (A2-L) e semeada *Brachiaria decumbens*, nas entrelinhas (A2-EL); área 3: cerrado (C); área 4: pastagem (P) e área 5: contaminada sem vegetação (SV) (Figura 2).



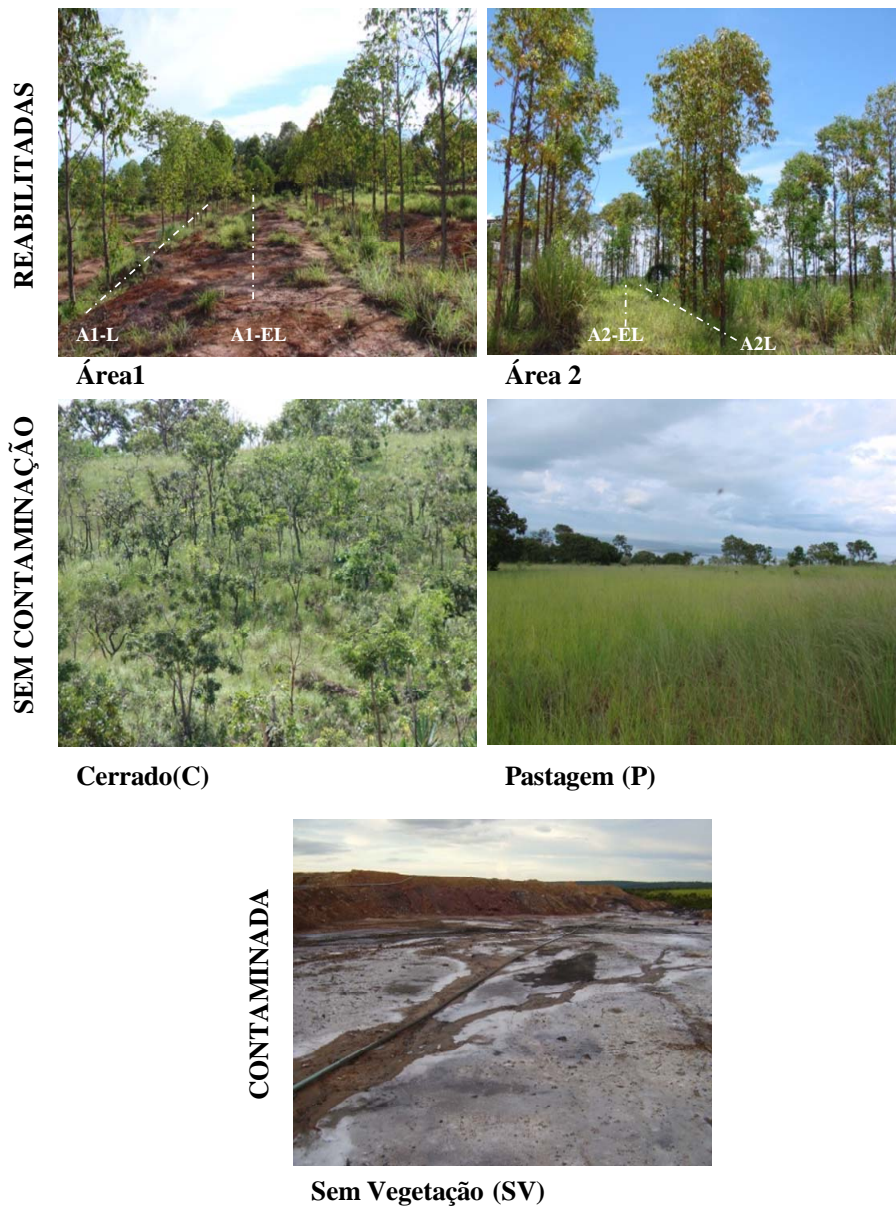


FIGURA 2 Áreas estudadas correspondentes aos diferentes programas de reabilitação (Área 1 e Área 2), áreas sem contaminação (cerrado e pastagem) e com contaminação (sem vegetação).

Das áreas reabilitadas foram coletadas 10 amostras compostas, tanto nas linhas quanto nas entrelinhas, a partir de 5 amostras simples. Nas áreas de cerrado e pastagem foram coletadas 5 amostras compostas, totalizando 55 parcelas experimentais. O delineamento foi inteiramente casualizado.

No momento da coleta foi observada a ocorrência de pouca ou nenhuma vegetação espontânea na área 1 (linha e entrelinha), ao passo que, na área 2, verificou-se intensa cobertura pela brachiária, bem como de vegetação espontânea. A área SV encontrava-se totalmente desprovida de cobertura vegetal e apresentava elevada umidade, decorrente da irrigação contínua, procedimento tomado para evitar espalhamento da contaminação pela ação do vento (Figura 2).

A coleta foi realizada utilizando-se trado holandês, por caminhamento em ziguezague. As amostras foram acondicionadas, em sacos plásticos, em caixa de isopor com gelo até o transporte para o Laboratório de Microbiologia do Solo da UFLA. No laboratório, as amostras foram peneiradas em malha de 2 mm, mantidas em sacos plásticos e armazenadas em câmara fria (4°C), até o momento das análises.

### **3.4. Análises químicas e bioquímicas**

#### **3.4.1 Análises químicas**

As análises químicas das amostras de solos foram efetuadas no Laboratório de Ciências do Solo da UFLA, e compreenderam análises de fertilidade e teores de metais pesados Zn, Cu, Pb e Cd, utilizando-se o extrator Mehlich I.

#### **3.4.2 Análises bioquímicas**

As análises bioquímicas consistiram na determinação da respiração basal (RB), respiração induzida (RI), carbono da biomassa microbiana (*Cmic*),

quociente metabólico ( $q\text{CO}_2$ ), carbono orgânico total ( $C_{org}$ ), relação  $C_{mic}/C_{org}$  e atividades enzimáticas ( $\beta$ -glicosidase, urease, fosfatase ácida e arilsulfatase).

A RB foi determinada de acordo com o método descrito por Alef (1995), por meio da captura e da quantificação do  $\text{CO}_2$  liberado no processo de respiração microbiana por um período de incubação de três dias. Para isso, subamostras de 20 g de solo foram transferidas para frascos de 2 L, juntamente com outro frasco contendo 10 mL de  $\text{NaOH}$   $0,05 \text{ mol L}^{-1}$  para a captura do C- $\text{CO}_2$  desprendido. Após a incubação, o  $\text{CO}_2$  capturado foi precipitado como  $\text{BaCO}_3$ , após adição de 5 mL de  $\text{BaCl}_2$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  e o excesso de  $\text{NaOH}$  foi titulado com solução de  $\text{HCl}$   $0,05 \text{ mol L}^{-1}$  na presença de fenolftaleína 0,1%. A taxa de evolução de  $\text{CO}_2$  de cada amostra foi expressa em:  $\text{mg CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ solo dia}^{-1}$ . A RI foi determinada seguindo esse mesmo procedimento, porém, com adição de glicose (0,5 %) às amostras.

O  $C_{mic}$  foi determinado pelo método da fumigação-extração (Vance et al., 1987), o qual consiste na oxidação do carbono orgânico pelo  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ , em amostras fumigadas e amostras não fumigadas por clorofórmio, sendo o C orgânico de cada amostra extraído por solução de  $\text{K}_2\text{SO}_4$  ( $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ ). Em presença de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ocorreu a oxidação do carbono presente nas amostras de solo e o  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  residual foi quantificado por meio de titulação com  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , em presença de difenilamina. O  $C_{mic}$  foi expresso em  $\mu\text{g C g}^{-1}$  de solo.

A partir dos resultados da RB das amostras de solo e do  $C_{mic}$ , foi calculado o  $q\text{CO}_2$ , que representa a quantidade de C- $\text{CO}_2$  evoluído por unidade de C microbiano (Anderson & Domsch, 1993). Os resultados foram expressos em  $\mu\text{g C-CO}_2 \text{ h}^{-1}/\mu\text{g C-biomassa g}^{-1} \text{ solo seco}$ .

O  $C_{org}$  foi determinado pelo método descrito no manual de métodos de análise de solo compilado pela Embrapa (Embrapa, 1997), que tem por princípio a oxidação da matéria orgânica via úmida pelo  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  em meio sulfúrico. O excesso de dicromato após a oxidação foi titulado com solução de

$\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ .

A partir dos valores do *Cmic* e do *Corg*, foi calculada a razão entre esses dois atributos. A *Cmic/Corg*, é dada em porcentagem, sendo uma medida da qualidade da matéria orgânica (Wardle, 1994).

Foram determinadas as atividades das enzimas  $\beta$ -glicosidase, uréase e fosfatase ácida, além da arilsulfatase. A atividade da  $\beta$ -glicosidase foi determinada de acordo com metodologia descrita por Eivazi & Tabatabai (1988), a urease por meio da técnica da destilação do N-amoniaco liberado pela ação da urease, descrita por Tabatabai & Bremner (1972), a fosfatase ácida de acordo com Dick et al. (1996) e a arilsulfatase por Tabatabai & Bremner (1970).

### **3.5 Análises estatísticas**

Foi realizada análise de variância (ANAVA) para verificar as diferenças entre as médias dos atributos biológicos do solo e, quando estas ocorreram, foi aplicado o teste de Scott-Knott (5%) (Ferreira, 2003). Realizou-se teste de correlação de Pearson (Sigmaplot 11.0) e, com os valores médios dos atributos químicos (*Corg*), biológicos (*Cmic*, RB, RI,  $q\text{CO}_2$ , *Cmic/Corg*,  $\beta$ -glicosidase, fosfatase ácida, arilsulfatase e urease) e teores de elementos-traço (Zn, Cu, Pb e Cd), procedeu-se à análise de componentes principais (PCA), utilizando-se o software CANOCO 4.5 (ter Braak & Smilauer, 2002).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Propriedades químicas do solo

Os valores médios de pH do solo (Tabela 1) variaram de 4,8 (SV) a 6,9 (A1-EL). Na área SV, o baixo valor do pH foi devido ao elevado valor de  $H^+Al$  ( $14,4 \text{ cmol}/\text{dm}^3$ ). As linhas de plantio das áreas reabilitadas (A1-L e A2-L) apresentaram valores de carbono orgânico (*Corg*) superiores aos de suas respectivas entrelinhas (A1-EL e A2-EL), demonstrando que a substituição do solo contaminado por solo não contaminado favoreceu o crescimento de plantas e, por consequência, o acúmulo de material orgânico no solo (Tabela 1). O menor teor de *Corg* na A1-EL é explicado pela ausência de vegetação, uma vez que, neste ambiente, não foi implantada cobertura vegetal, sendo o teor apresentado decorrente da presença de poucas plantas espontâneas ou por contribuição da deposição de material vegetal provenientes das linhas de plantio adjacentes. O teor de umidade mais elevado na área SV se deve à prática de irrigação diária, com a finalidade de diminuir os efeitos da dispersão dos contaminantes por ação do vento.

TABELA 1 Características químicas de solos de áreas reabilitadas, (A1-L, A1-EL, A2-L e A2-EL) solo contaminado sem vegetação (SV), solo de pastagem (P) e de cerrado (C) no município de Três Marias, MG.

Áreas	pH	P	Mn	K	Zn	Cu	Pb	Cd	Ca <sup>+2</sup>	Mg <sup>+2</sup>	Al <sup>+3</sup>	H+Al	UMD.	Corg
			-----mg/dm <sup>3</sup> -----						-----cmol <sub>e</sub> /dm <sup>3</sup> -----			%	g/kg	
A1-L	6,5	5,80	46,8	52,6	2866,5	138,6	35,3	80,5	1,6	1,7	0,0	1,5	15,3	3,8
A1-EL	6,9	11,2	56,6	56,8	6680,3	456,3	77,3	159,5	1,6	0,7	0,0	1,3	15,7	3,4
A2-L	6,3	8,8	55,8	80,8	688,8	14,0	15,6	13,0	2,2	1,0	0,1	2,0	19,1	5,3
A2-EL	6,3	2,7	83,5	72,7	331,5	8,1	16,6	18,1	2,5	1,2	0,1	2,0	21,1	4,8
C	5,5	0,7	24,4	123,4	1,8	1,4	<2,0	<0,02	0,4	0,6	1,6	4,9	9,4	3,6
P	5,7	1,0	30,9	80,4	3,4	2,6	<2,0	<0,02	0,7	0,3	0,2	2,7	7,2	5,6
SV	4,8	6,3	1446,3	40,8	13694,8	343,3	32,5	565,1	81,3	22,0	1,4	14,4	32,5	2,4

Valores médios obtidos a partir de dez repetições nos ambientes A1-L,A1-EL, A2-L, A2-EL e a partir de cinco repetições nos ambientes C, P e SV; UMD - umidade; Corg – carbono orgânico

Os teores médios dos elementos-traço Zn, Cu, Pb e Cd são apresentados na Tabela 1. Os valores de intervenção para atividades industriais estabelecidos pela CETESB (2005) são, respectivamente, de: 2.000, 600, 900 e 20 mg kg<sup>-1</sup>. Vale ressaltar que esses valores são para os teores totais. No presente trabalho, podemos considerar que, exceto P e C, todas as demais áreas estão em situação de contaminação, pois os valores encontrados são de teores disponíveis, os quais situam-se próximos ou acima daqueles estabelecidos como limite máximo, principalmente para o elemento Cd.

#### **4.2 Atributos biológicos em áreas reabilitadas**

Vários atributos biológicos do solo foram influenciados pelos programas de reabilitação, com exceção da RB e da relação *Cmic/Corg* (Tabela 3). A seguir, serão discutidos os atributos em cada área reabilitada, em comparação com as áreas referências não contaminadas (C e P) e contaminadas (SV).

##### **4.2.1 Biomassa microbiana, respiração basal e induzida e quociente metabólico**

A reabilitação contribuiu para a elevação nos valores do *Cmic*, efeito mais evidente nos ambientes A2-L e A2-EL (Tabela 2), tendo sido encontrados aumentos da ordem de 216% e 260%, em relação ao SV, respectivamente. Além disso, esses ambientes não diferiram das áreas não contaminadas (C e P), indicando elevada atividade microbiana, mesmo em solos com elevados teores de elementos-traço. Segundo Moreira & Siqueira (2006), o valor da biomassa encontrada no solo é, de certo modo, relacionado à quantidade de carbono que este recebe em determinado tempo, sendo a biomassa favorecida em solos com vegetação e, geralmente, encontrados baixos valores em solos contaminados com elementos-traço.

Assim, os teores elevados de metais contribuíram para os baixos valores

do *Cmic* nos ambientes A1-L e A1-EL, além do SV, enquanto os ambientes A2-L e A2-EL foram favorecidos pela substituição do solo no processo de reabilitação que reduziu os teores de metais nestas áreas, além da condição de cobertura vegetal da linha com eucalipto e entrelinha com brachiária. Dias-Júnior et al. (1998) encontraram acréscimos de 120% e 210 % em solo de área contaminada por rejeitos do processamento de zinco e com cobertura predominante de *Brachiaria decumbens*, quando comparadas com áreas de referências contaminadas e sem cobertura vegetal.

Diversos estudos têm relacionado os efeitos de metais à diminuição no *Cmic* em ambientes contaminados (Vásquez-Murrieta et al., 2006; Araújo et al., 2003; Dias-Júnior et al., 1998). Ao mesmo tempo, tem sido evidenciada a importância da cobertura vegetal para promover aumento ou manutenção dessa biomassa. Os resultados obtidos neste estudo corroboram essas informações.

Os valores de *Cmic/Corg* variaram de 1,9% a 4,3%, porém, não foi verificada diferença significativa entre as áreas, para este parâmetro. Segundo Jenkinson & Ladd (1981), a relação *Cmic/Corg* no solo varia entre 1% a 4%, de acordo com diferentes situações de cobertura do solo, porém, têm sido comumente encontrados valores entre 0,1% e 10%. Diferentes estudos demonstram que a presença de metais diminui esta relação, enquanto a manutenção de compostos orgânicos sobre a superfície do solo favorece a elevação dos valores deste parâmetro.

Dias-Júnior et al. (1998), trabalhando com solos contaminados por metais, encontraram valores entre 1,2% a 8,5%, e relataram que o uso deste atributo apresenta resultados contraditórios. Esta afirmativa tem corroborado o que foi relatado por outros autores (Insan et al., 1996; Valsecchi et al., 1995; Chander & Brookes, 1991). De acordo com Vásquez-Murrieta et al. (2006), essas variações podem ser decorrentes das diferenças nas características do



solo, da vegetação, das práticas de manejo ou, ainda, de variações durante a amostragem e de métodos analíticos.

Não houve diferenças significativas para a RB entre as áreas estudadas (Tabela 2). No entanto, após adição de uma fonte de carbono simples (glicose), a taxa de respiratória (RI) apresentou elevações em todas as áreas, sendo verificados incrementos de até 6,7 e 4,5 vezes nos ambientes A2-L e A2-EL, respectivamente, em relação à RB. Melloni et al. (2001a) verificaram aumento na liberação de CO<sub>2</sub> em resposta à adição de glicose, quando comparada com a respiração basal. Estes autores verificaram, ainda, que menores valores de RI ocorreram em áreas com os mais baixos teores de *Corg*. Neste estudo, o ambiente SV foi o que apresentou o menor valor de *Corg*, bem como a menor liberação de CO<sub>2</sub>, após adição de glicose.

Os ambientes com menores valores de  $qCO_2$  foram aqueles livres de contaminação com C e P e as áreas reabilitadas apresentaram os  $qCO_2$  mais elevados, demonstrando que a maior parte do carbono adicionado ao solo dos ambientes contaminados com elementos-traço é perdida como CO<sub>2</sub> e uma menor parte é direcionada para o aumento da biomassa. Esse comportamento se assemelha ao verificado por Dias-Júnior et al. (1998), que estudaram atributos biológicos de solos de áreas de rejeito de mineração de zinco e verificaram os maiores valores de  $qCO_2$  nos ambientes contaminados por metais e que apresentavam cobertura vegetal.

O  $qCO_2$  reflete, de certo modo, a eficiência na utilização do C pela biomassa, sendo esta mais eficiente quanto menos CO<sub>2</sub> é liberado pela respiração (Moreira & Siqueira, 2006). Dessa maneira, locais em condições mais estressantes, como a contaminação por metais, tendem a apresentar maiores valores de  $qCO_2$  (Dias-Júnior et al., 1998). Além disso, quando os microrganismos não morrem devido à exposição a elementos tóxicos, eles necessitarão de maior quantidade de *Corg* para a sua manutenção e, como

consequência, ocorre elevação de suas atividades biológicas diversas (Kandeler et al., 1996).

TABELA 2 Atributos biológicos em áreas contaminadas submetidas a programas de reabilitação (A1-L, A1-EL, A2,-L e A2-EL) e áreas de referência, contaminada sem vegetação (SV) e sem contaminação (C e P), em Três Marias, MG.

Áreas	<i>Cmic</i>	RB	RI	$qCO_2^{*+}$	<i>Cmic/Corg</i>	$\beta$ -glicosidase	Fos.Ac.	Arilsulfatase	Urease
	mgCg <sup>-1</sup> solo	mg CO <sub>2</sub> g <sup>-1</sup> solo dia <sup>-1</sup>			%	-----mg p-nitrofenol g <sup>-1</sup> solo h <sup>-1</sup> -----			mg N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> g <sup>-1</sup> solo h <sup>-1</sup>
A1-L	73,6b	23,7a	63,2b	24,86	2,3a	340,9a	98,3b	5,8a	4,2a
A1-EL	57,5b	20,1a	30,5b	18,08	1,9a	131,5b	68,2b	3,8b	2,3b
A2-L	124,7a	23,9a	159,1a	12,07	2,4a	505,6a	138,7a	8,2a	4,3a
A2-EL	142,0a	42,7a	191,2a	19,68	3,6a	600,1a	145,7a	3,1b	5,5a
C	148,0a	27,3a	118,6a	8,44	4,3a	405,0a	132,6a	8,0a	6,6a
P	190,0a	27,2a	65,7b	9,44	3,7a	441,9a	156,6a	7,3a	5,7a
SV	39,4b	11,8a	64,7b	21,4	2,2a	32,9b	62,3b	1,6b	0,6b

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5%

\* Valores expressos em  $\mu\text{g C-CO}_2 \text{ h}^{-1} / \mu\text{g C-biomassa g}^{-1} \text{ solo seco}$

+ Valores obtidos pela relação RB/ *Cmic*

Fos.Ac.: fosfatase ácida

#### **4.2.2 Atividades enzimáticas**

Foram detectadas diferenças significativas para todas as atividades enzimáticas avaliadas. Os ambientes SV e A1-EL apresentaram as mais baixas atividades para todas as enzimas (Tabela 2).

Quando se comparam as atividades das enzimas no ambiente C com os solos contaminados sem cobertura vegetal (A1-EL e SV), verificam-se reduções de 68% e 92% para  $\beta$ -glicosidase, de 49% e 53% para fosfatase ácida, de 52% e 80% para arilsulfatase e de 65% e 91% para a urease, respectivamente. Kandler et al. (1996) demonstraram que os efeitos da contaminação por metais sobre as diferentes enzimas reduziram a atividade da urease em 50%, da fosfatase alcalina em 14,8% e da arilsulfatase em 93%. Estes autores não encontraram diferenças significativas entre os níveis de contaminação por metais e a atividade da  $\beta$ -glicosidase.

Eivazi & Tabatabai (1990) verificaram reduções de 7% a 29% na atividade desta enzima a partir da adição direta dos elementos contaminantes sobre diferentes tipos de solos, em experimento de laboratório. Tem sido reportado que a presença de íons em teores elevados tendem a reduzir a solubilidade e a desnaturar enzimas, por meio de quebras na estrutura terciária da estrutura protéica, a qual é essencial para a atividade da enzima (Yuan et al., 2007). Neste estudo, no entanto, a presença de metais não foi o único fator que explicou os valores das atividades enzimáticas, mas também a presença ou ausência de cobertura vegetal, uma vez que os ambientes A2-L e A2-EL, embora possuam teores elevados de elementos-traço, não diferiram dos ambientes C e P, os quais são ausentes de contaminação. Isto é bem evidente nas atividades da  $\beta$ -glicosidase e da urease, pois as duas áreas sem cobertura de plantas (A1-EL e SV) apresentaram valores significativamente diferentes daqueles com cobertura.

A condição de cobertura proporcionou o aporte de matéria orgânica, fornecendo energia e nutrientes para a biomassa microbiana. Na ausência de

vegetação esse aporte não aconteceu e, conseqüentemente, a atividade microbiana como um todo ficou comprometida.

Os resultados deste trabalho corroboram os relatados por diversos autores, os quais têm demonstrado fortes diminuições nas atividades enzimáticas decorrentes da contaminação por metais associada a baixos teores de matéria orgânica no solo pela ausência de vegetação (Vásquez-Murrieta et al., 2006; Kuperman & Carreiro, 1997; Kandeler et al., 1996). Alguns desses autores também encontraram correlações negativas entre atividades enzimáticas e teores de metais. Neste estudo também se verificou este efeito, sendo mais acentuado nas atividades da  $\beta$ -glicosidase e da fosfatase ácida (Tabela 3).

#### **4.3 Relação entre atributos biológicos e elementos-traço no solo**

Na Tabela 3 são apresentados os coeficientes de correlações de Pearson entre características químicas e atributos biológicos de solos. A RB apresentou correlações negativas com os elementos-traço avaliados, exceto com o Pb, porém, essas correlações foram baixas, e correlação positiva média com o pH do solo. Este aspecto parece demonstrar que os efeitos dos metais sobre a atividade microbiana tendem a ser bloqueadores de atividades metabólicas ou, até mesmo letais aos microrganismos, enquanto os efeitos do pH seriam um fator de estresse que aumentaria o consumo energético para a manutenção da biomassa. Sendo assim, microrganismos em condições de pH mais elevado emitiriam mais CO<sub>2</sub>. Outro aspecto a ser considerado é que a população de microrganismos pode ser alterada com variações no pH e os grupos mais adaptados podem prevalecer sob a nova condição estabelecida. Zimakowska-gnoinska et al. (2000) encontraram baixas correlações positivas entre a respiração do solo e os metais Zn, Cu e Cd e alta correlação com o Pb.

A RI correlacionou-se positivamente com as atividades da  $\beta$ -glicosidase ( $r = 0,76$ ), enzima que participa da degradação de compostos simples de carbono

e com a atividade da fosfatase ácida ( $r = 0,61$ ), a qual está relacionada com a disponibilidade de fosfatos inorgânicos para a célula microbiana, portanto, enzimas envolvidas com a geração de energia no interior da célula. Essas altas correlações explicam a elevação da taxa respiratória em decorrência da adição da glicose durante a análise da RI, demandando maior atividade dessas enzimas. A RI apresentou baixas correlações positivas com o *Cmic* e o *Corg*, além de correlações negativas medianas com os metais contaminantes do solo.

O *Cmic* apresentou correlações negativas com os teores de elementos-traço e  $qCO_2$  e se correlacionou positivamente com todos os demais parâmetros biológicos avaliados (Tabela 3), evidenciando que a biomassa microbiana é resultado do somatório das diversas atividades metabólicas, apresentando-se como um bom atributo biológico para a avaliação dos ambientes em processos de reabilitação, seja por ter se correlacionado com todos os índices avaliados, seja por ter apresentado diferenças significativas entre seus valores nas áreas, conforme demonstrado na Tabela 2.

Todas as atividades enzimáticas avaliadas apresentaram correlações negativas significativas com os elementos-traço envolvidos no estudo, exceto a arilsulfatase com o elemento Cu. As atividades enzimáticas  $\beta$ -glicosidase e fosfatase ácida apresentaram as maiores correlações negativas com os elementos-traço. Sendo assim, a elevação nos teores dos metais tende a diminuir as atividades dessas enzimas, as quais estão relacionadas com a ciclagem de compostos orgânicos no solo, sendo responsáveis, respectivamente, pelas quebras de carboidratos de baixo peso molecular e pela conversão de formas orgânicas do fósforo para formas inorgânicas que serão utilizados no metabolismo microbiano (Schinner et al., 1996; Eivazi & Tabatabai, 1988).

Portanto, essas enzimas tendem a apresentar correlações positivas com o *Corg*. As correlações entre as atividades da urease e da arilsulfatase com os metais e com o *Cmic* foram consideradas baixas quando comparadas com as

atividades da  $\beta$ -glicosidase e da fosfatase ácida. Embora muitas das correlações tenham apresentado baixos valores, deve-se considerar que as interações entre fatores físicos, químicos e biológicos tornam o solo um ambiente complexo, cujos aspectos bioquímicos não devem ser analisados por parâmetros isolados (Dias-Junior et al., 1998; Insan et al., 1996; Anderson, 1994).

Verificou-se, por meio da análise de componentes principais (PCA), que os componentes principais 1 e 2 (CP1 e CP2) explicaram 61,1% das variações das características químicas e atributos biológicos dos ambientes estudados (Figura 3). Os teores de elementos-traço, o *Cmic*, a RI e as atividades enzimáticas foram separados pela CP1, que explica 41,5% das variações. A CP2 separa os atributos *Cmic/Corg* e  $qCO_2$  e explica 19,63% das variações.

Avaliando-se as separações das áreas, percebem-se três grupos distintos: A1-EL e SV ficaram agrupados por apresentarem concentrações elevadas de metais pesados; as áreas contaminadas por elementos-traço submetidas à reabilitação A2-L e A2-EL ficaram agrupadas com os ambientes livres de contaminação P e C e estão associadas às atividades enzimáticas e ao *Cmic*, enquanto o ambiente A1-L ficou isolado dos demais.

TABELA 3 Correlação de Pearson obtida entre atributos biológicos e elementos traços do solo de áreas contaminadas submetidas à reabilitação e áreas de referência, em Três Marias, MG.

	RB	RI	<i>Cmic</i>	<i>qCO<sub>2</sub></i>	<i>Corg</i>	% <i>Cmic/Corg</i>	$\beta$ -glicosidase	Urease	Fosf. Acid.	Arilsf.
RB	-									
RI	0,16ns	-								
<i>Cmic</i>	0,15ns	0,29*	-							
<i>qCO<sub>2</sub></i>	0,39**	-0,12 ns	-0,43**	-						
<i>Corg</i>	0,06ns	0,36**	0,25*	-0,14 ns	-					
% <i>Cmic/Corg</i>	0,10ns	0,14 ns	0,81**	-0,38**	-0,28*	-				
$\beta$ -glicosidase	0,14ns	0,76**	0,37**	-0,21 ns	0,58**	0,06 ns	-			
Urease	0,16ns	0,18 ns	0,32**	-0,18 ns	0,37**	0,08 ns	0,34**	-		
Fosf. acid.	0,16ns	0,61**	0,49**	-0,28*	0,48**	0,24**	0,77**	0,33**	-	
Arilsulf.	-0,03ns	0,09 ns	0,23*	-0,27*	0,15 ns	0,18 ns	0,22 ns	0,25*	0,25*	-
Zn	-0,27*	-0,36**	-0,42**	0,13 ns	-0,43**	-0,18 ns	-0,65**	-0,42**	-0,72**	-0,34**
Cu	-0,28*	-0,42**	-0,38**	0,06 ns	-0,21 ns	-0,22 ns	-0,58**	-0,24*	-0,76**	-0,20 ns
PB	-0,06 ns	-0,41**	-0,39**	0,19 ns	-0,38**	-0,17 ns	-0,52**	-0,26*	-0,66**	-0,23*
Cd	-0,26*	-0,31*	-0,39**	0,14 ns	-0,33**	-0,20 ns	-0,58**	-0,33**	-0,66**	-0,39**
pH	0,44**	-0,13 ns	-0,11 ns	0,34**	0,04 ns	-0,15 ns	-0,04 ns	0,02 ns	-0,19 ns	-0,06 ns
H+Al	-0,23*	0,05 ns	-0,12 ns	-0,09 ns	-0,29*	0,05 ns	-0,28*	-0,20 ns	-0,12 ns	-0,15 ns

Fosf. acid. (fosfatase ácida), Arilsf. (arilsulfatase), ns, \* e \*\*. Efeito não significativo e significativo, a 5% e 1%, respectivamente. Valores obtidos a partir de 55 amostras.



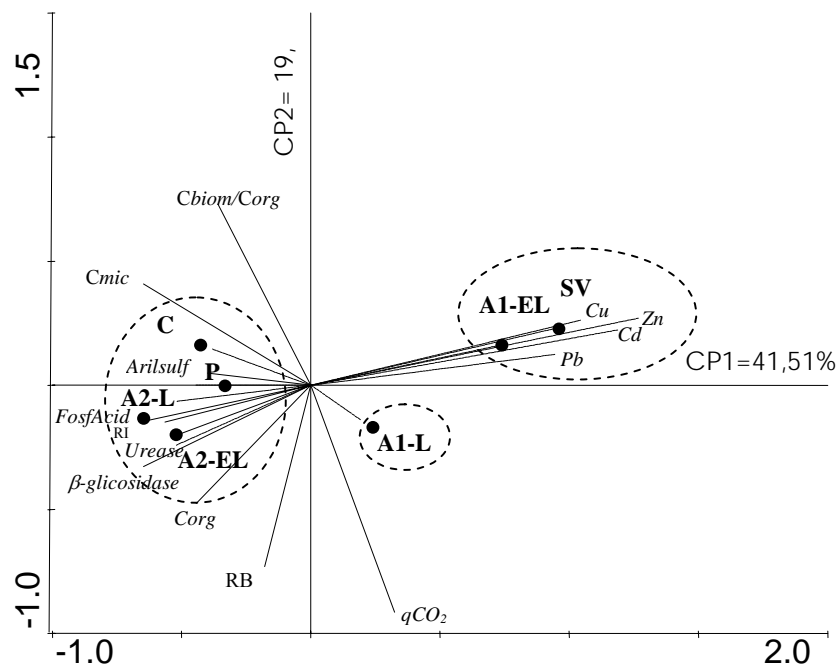


FIGURA 3 Análise de componentes principais para elementos-traço e atributos biológicos do solo em áreas contaminadas por elementos-traço, submetidas à reabilitação (A1-L, A1-EL, A2-L e A2-EL), áreas sem contaminação (C e P) e área contaminada sem vegetação (SV), em Três Marias, MG.

O agrupamento das áreas A2-L e A2-EL junto a P e ao C demonstrou que a reabilitação tendeu a “deslocar” os atributos biológicos para valores próximos aos encontrados em ambientes não contaminados, demonstrando melhores condições de estabelecimento da microbiota em direção as áreas P e C e condições menos favoráveis em direção ao ambiente SV.

Solos com menores teores de metais associados à presença de vegetação foram distinguidos daqueles mais contaminados. Esse comportamento demonstra que o fato de a entrelinha A1-EL não conter cobertura vegetal atuou de maneira a contribuir negativamente com os atributos biológico neste ambiente, fato confirmado quando compararam-se as áreas sob plantio de eucalipto nos dois sistemas de reabilitação (A1-L e A2-L), indicando efeito da cobertura da linha sobre a entrelinha. Portanto, a cobertura da entrelinha de plantio com brachiária parece ter sido um fator diferencial positivo para a reabilitação da área contaminada por metais nos ambientes estudados.

Vásquez-Murrieta et al. (2006) verificaram que solos com elevados teores de elementos-traço agruparam-se entre si, distanciando-se daqueles com menores teores ou ausentes de contaminação, os quais tenderem a se agrupar em função dos atributos biológicos, como *Cmic* e *Corg*. Os atributos estudados apresentam grande significado ecológico, evidenciado por funções armazenadora de nutrientes e regulação da ciclagem da matéria orgânica, papéis desempenhados pela biomassa microbiana. Estratégias que estimulem incrementos nesses atributos biológicos do solo representam o ponto-chave no sucesso dos processos de reabilitação de solos (Carneiro et al., 2008; Grisi, 1995), incluindo os contaminados por elementos-traço. Os resultados deste trabalho mostram que a substituição de solos contaminados, associada à implantação de cobertura vegetal, em áreas contaminadas por elementos-traço que foram submetidas à programa de reabilitação, é bem sucedida, pois favorece o estabelecimento e a manutenção de uma microbiota ativa.

## 5 CONCLUSÕES

Programas de reabilitação de solos contaminados por elementos-traço, por meio da revegetação do solo, promoveram melhorias na atividade microbiana do solo.

O carbono da biomassa mostrou-se um bom parâmetro para o monitoramento de ambientes contaminados por elementos-traço, por apresentar relação inversa com esses elementos e relação positiva com os demais parâmetros biológicos do solo.

A presença de vegetação em solos contaminados por elementos-traço favoreceu a comunidade microbiana, o que foi confirmado pela elevação do carbono da biomassa, respiração induzida e atividades enzimáticas.

Verificou-se elevada atividade das enzimas  $\beta$ -glicosidase e fosfatase ácida em ambientes contaminados após implantação de programas de reabilitação, principalmente nos ambientes A2-L e A2-EL.

A análise de componentes principais revelou que a distribuição dos ambientes em grupos está fortemente condicionada aos teores de elementos-traço, à presença de vegetação e aos atributos biológicos e bioquímicos do solo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACCIOLY, A. M. A. **Amenizantes e estratégias para o estabelecimento de vegetação em solos de áreas contaminadas por metais pesados.** 2001. 170 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

ACCIOLY, A. M. A.; SIQUEIRA, J. O. Contaminação química e biorremediação do solo. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. H.; SCHAEFER, C. E. (Ed.). **Tópicos em ciência do solo.** Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2000. p. 299-352.

ACCIOLY, A. M. A.; SIQUEIRA, J. O.; CURI, N.; MOREIRA, F. M. S. Amenização do calcário na toxidez de zinco e cádmio para mudas de *Eucalyptus camaldulensis* cultivadas em solo contaminado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 28, n. 4, p. 775-783, jul./ago. 2004.

ALEF, K. Estimation of soil respiration. In: ALEF, K.; NANNIPIERI, P. **Methods in applied soil microbiology and biochemistry.** New York: Academic, 1995. p. 464-470.

ALLOWAY, B. J. **Heavy metals in soils.** New York: Halsted, 1990. 339 p.

ANDERSON, J. P. E.; DOMSCH, K. H. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soil. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 10, n. 3, p. 215-221, 1978.

ANDERSON, T. H. Physiological analysis of microbial communities in soil: applications and limitations. In: RITZ, K. D.; GILLER, K. E. (Ed.). **Beyond the biomass.** London: British Society of Soil Science, 1994. p. 67-76.

ANDERSON, T. H.; DOMSCH, K. H. The metabolic quotient for CO<sub>2</sub> (q) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such pH, on the microbial biomass of forest soil. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 25, n. 3, p. 393-395, 1993.

ANDERSON, T. H.; DOMSCH, K. H. Ratios of microbial biomass carbon to total organic carbon in arable soils. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 21, n. 4, p. 471-479, 1989.

ARAÚJO, A. S. F.; MONTEIRO, R. T. R.; ABARKELI, R. B. Effect of glyphosate on the microbial activity of two Brazilian soils. **Chemosphere**, Oxford, v. 52, n. 5, p. 799–804, Aug. 2003.

BROOKES, P. C. The use of microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy metals. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 19, n. 4, p. 269-279, Mar. 1995.

CAMARGO, F. A.; GIANELLO, C.; TEDESCO, M. J. Nitrogênio orgânico do solo. In: CAMARGO, F. A.; SANTOS, F. A. (Ed.). **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre: Gênese, 1999. cap. 7, p. 117-137.

CARNEIRO, M. A. C.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S.; SOARES, A. L. L. S. Carbono orgânico, nitrogênio total, biomassa e atividade microbiana do solo em duas cronosequências de reabilitação após a mineração de bauxita. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 32, n. 2, p. 621-632, mar./abr. 2008.

CARVALHO, F. **Atributos bioquímicos como indicadores da qualidade de solo em florestas de araucária angustifolia (Bert.) O. Ktze. no Estado de São Paulo**. 2005. 79 p. Dissertação (Mestrado em Ecologia de Agroecossistemas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

CHANDER, K.; BROOKES, P. C. Effects of heavy metals from past applications of sewage sludge on microbial biomass and organic matter accumulation in a sandy loam and a silt loam UK soil. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 23, n. 10, p. 927-932, Sept. 1991.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. **Decisão da diretoria nº 195/2005 de 23/11/2005**. São Paulo: CETESB, 2005. 4 p. Disponível em: <[http://www.cetesb.sp.gov.br/Solo/relatorios/tabela\\_valores\\_2005.pdf](http://www.cetesb.sp.gov.br/Solo/relatorios/tabela_valores_2005.pdf)>. Acesso em: 6 jan. 2010.

CURY, J. C.; SIQUEIRA, J. O.; GRAZZIOTTI, P. H.; MOREIRA, F. M. S. Amenização da toxidez de metais pesados por calcário, solomax e vermicomposto em dez espécies de eucalipto. In: FERTBIO'98, 1., 1998, Caxambu. **Anais...** Lavras: UFLA/SBCS, 1998. p. 819-819.

DAHLIN, S.; WITTER, E.; MÅRTENSSON, A.; TURNER, A.; BÅÅTH, E. Where's the limit? Changes in the microbiological properties of agricultural soils at low levels of metal contamination. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 29, n. 9/10, p. 1405-1415, Sept./Oct. 1997.

DIACK, M. **Relationships between soil biological and chemical characteristics and surface soil structural properties for use in soil quality**. 1997. 221 p. Dissertation (Master in Soil Science) - Purdue University, West Lafayette.

DIAS JÚNIOR, H. E. **Densidade e atividade microbiana em solo contaminado com metais pesados**. 1996. 82 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

DIAS JÚNIOR, H. E.; MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O.; SILVA, R. Metais pesados, densidade e atividade microbiana em solos sob diferentes sistemas de preparo e sucessão de culturas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 22, n. 4, p. 631-640, nov. 1998.

DICK, R. P. Soil enzyme activities as integrative indicators of soil health. In: PANKHHURST, B. M.; DOUBE, B. M.; GUPTA, V. V. S. R. (Ed.). **Biological indicators of soil health**. Wallingford Oxon: CAB International, 1997. v. 6, p. 121-156.

DICK, R. P.; BREAKWELL, D. P.; TURCO, R. F. Soil enzyme activities and biodiversity measurements as integrative microbiological indicators. In: DORAN, J. W.; JONES, A. J. (Ed.). **Methods for assessing soil quality**. Madison: Soil Science Society of America, 1996. v. 2, p. 247-272.

EIVAZI, F.; TABATABAI, M. A. Factors affecting glucosidase and galactosidase and activities in soils. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 22, n. 7, p. 891-897, 1990.

EIVAZI, F.; TABATABAI, M. A. Glucosidases and galactosidases in soils. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 20, n. 5, p. 601-606, Sept. 1988.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Manual de métodos de análise de solo**. 2. ed. Rio de Janeiro: Centro Nacional de Pesquisa de Solos, 1997. 212 p.

FERREIRA, D. F. **Programa de análises estatísticas (Statistical Analysis Software) e planejamento de experimentos**. Lavras: UFLA, 2003.

GALINDO, I. C. L.; BEZERRA, S. A.; NASCIMENTO, C. W. A. do; ACCIOLY, A. M. A. Fertilizantes fosfatados e orgânicos e seus efeitos na imobilização de chumbo em solo contaminado. **Caatinga**, Mossoró, v. 18, n. 1, p. 58-65, jan./mar. 2005.

GILLER, K. E.; WITTER, E.; MCGRATH, S. P. Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soil: a review. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 30, n. 10, p. 1389–1414, Sept. 1998.

GOOGLE EARTH. Disponível em: <<http://maps.google.com.br/maps?hl=pt-BR&tab=wl>>. Acesso em: 8 fev. 2009.

GRISI, B. M. Biomassa e atividade de microrganismos do solo: revisão metodológica. **Revista Nordestina de Biologia**, João Pessoa, v. 10, n. 1, p. 1-22, jan. 1995.

GUILHERME, L. R. G.; MARCHI, G. Elemento-traço: os metais pesados no solo. **DBO Agrotecnologia**, São Paulo, v. 2, n. 5, p. 20-21, jul. 2005.

GUPTA, V. V. S. R.; GERMIDA, J. J. Distribution of microbial biomass and its activity in different soil aggregate size classes as affected by cultivation. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 20, n. 6, p. 777-786, 1988.

INSAM, H. Are the soil microbial biomass and basal respiration governed by the climatic regime? **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 22, n. 4, p. 525-532, July 1990.

INSAM, H.; HUTCHINSON, T. C.; REBER, H. H. Effects of heavy metal stress on the metabolic quotient of the soil microflora. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 28, n. 4/5, p. 691-694, Apr./May 1996.

JAHNEL, M. C. **Método de plaqueamento por gotas e outros parâmetros microbiológicos na avaliação da degradação de lodo ativado de curtume em solos**. 1997. 79 f. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

JENKINSON, R.; LADD, L. N. Microbial biomass in soil measurement and turnover. In: PAUL, E. A.; LADD, J. N. (Ed.). **Soil biochemistry**. New York: M. Dekker, 1981. v. 5, p. 415-471.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants**. Boca Raton: CRC, 2001. 413 p.

KAISER, E. A.; MARTENS, R.; HEINEMEYER, O. Temporal changes in soil microbial biomass carbon in an arable soil: consequences for soil sampling. **Plant and Soil**, The Hague, v. 170, n. 2, p. 287-295, Mar. 1995.

KANDELER, E.; KAMPICHLER, C.; HORAK, O. Influence of heavy metals on the functional diversity of soil microbial communities. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 23, n. 3, p. 299-306, Oct. 1996.

KLAUBERG FILHO, O.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S.; SOARES, C. R. F. S.; SILVA, S. Ecologia, função e potencial de aplicação de fungos micorrízicos arbusculares em condições de excesso de metais pesados. In: VIDAL-TORRADO, P.; ALLEONI, L. R. F.; COOPER, M.; SILVA, A. P.; CARDOSO, E. J. (Ed.). **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa, MG: UFV/Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2005. p. 85-144.

KUPERMAN, R. G.; CARREIRO, M. M. Soil heavy metal concentrations, microbial biomass and enzyme activities in a contaminated grassland ecosystem. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 29, n. 2, p. 179-190, Feb. 1997.

LAMB, D.; ERSKINE, P. D.; PARROTO, J. A restoration of degraded tropical forest landscapes. **Science**, Washington, v. 310, n. 5754, p. 1628-1632, Dec. 2005.

LIAO, M.; XIE, X. M. Effect of heavy metals on substrate utilization pattern, biomass, and activity of microbial communities in a reclaimed mining wasteland of red soil area. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 66, n. 2, p. 217-223, Feb. 2007.

MARQUES, T. C. L. L. S. M.; MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. Crescimento e absorção de metais em mudas de espécies arbóreas em solo contaminado com metais pesados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 1, p. 121-132, jan. 2000.

MCBRIDE, M. B. **Environmental chemistry of soils**. New York: Oxford University, 1994. 406 p.

MELLONI, R.; PEREIRA, E.; 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. **Cerne**, Lavras, v. 25, n. 1, p. 7-13, jan./fev. 2001a.



MELLONI, R.; SILVA, F. A. M.; MOREIRA, F. M. S.; FURTINI NETO, A. E. Pó de forno de aciaria elétrica na microbiota do solo e no crescimento de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 12, p. 1547-1444, dez. 2001b.

MIELNICZUK, J. Matéria orgânica e a sustentabilidade de sistemas agrícolas. In: SANTOS, G. A.; CAMARGO, F. A. O. (Ed.). **Fundamentos da matéria orgânica do solo, ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre: Genesis, 1999. p. 1-8.

MINHONI, M. T. A.; EIRA, A. F.; CARDOSO, E. J. B. N. Efeitos da adição de N e P sobre a decomposição de diferentes tipos de material orgânico no solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 14, p. 297-304, 1990.

MONTEIRO, R. T. R. Estimativa da atividade microbiana: método de hidrólise do diacetato de fluoresceína. In: \_\_\_\_\_. **Indicadores biológicos e bioquímicos da qualidade do solo**. Jaguariuna: EMBRAPA, 2000. p. 133-137.

MORA, M. L.; SHENE, C.; VIOLANTE, A.; DEMANET, R.; BOLANN, S. The effect of organic matter and soil chemical properties on sulfate availability in Chilean volcanic soils. In: HUANG, P. M.; VIOLANTE, A.; BOLLAG, J. M.; VITYAKON, P. (Ed.). **Soil abiotic and biotic interactions and the impact on the ecosystem and human welfare**. New Hampshire: Science, 2005. v. 13, p. 223-244.

MOREIRA, F. M. de S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: UFLA, 2006. 729 p.

MOSCATELLI, M. C.; TIZIO, A. D.; MARIANARI, S.; GREGO, S. Microbial indicators related to soil carbon in mediterranean land use systems. **Soil & Tillage Research**, Amsterdam, v. 97, n. 1, p. 51-59, Nov. 2007.

NASCIMENTO, C. W. A.; FONTES, R. L. F.; MELÍCIO, A. C. F. D. Copper availability as related to soil copper fractions in oxisols under liming. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 60, n. 1, p. 167-173, jan./fev. 2003.

NELLESEN, J. E.; FLETCHER, J. S. Assessment of published literature pertaining to the uptake/accumulation, translocation, adhesion and biotransformation of organic chemicals by vascular plants. **Environmental Toxicology and Chemistry**, New York, v. 12, n. 11, p. 2045-2052, Nov. 1993.

NIELSEN, M. N.; WINDING, A. **Microorganisms as indicators of soil health**. Denmark: National Environmental Research Institute, 2002.

PANOSO, L. A.; SANTANA, D. P.; BARUQUI, A. M.; BARUQUI, F. M.; ALMEIDA, J. R.; FERREIRA, M. B.; SOUZA, C. C. **Levantamento e reconhecimento detalhado dos solos da área sob influência do reservatório de Três Marias-Minas Gerais**. Belo Horizonte; EPAMIG, 1978. (Boletim Técnico, v. 57).

PARR, J. F. Chemical and biological considerations for land application of agricultural land municipal waste. In: \_\_\_\_\_. **Organic materials as fertilizers**. Roma: FAO, 1975. p. 227-251. (Soils Bulletin, 27).

POWLSON, D. S.; BROOKES, P. C.; CHRISTENSEN, B. T. Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in the total soil organic matter due to straw incorporation. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 19, n. 2, p. 159-164, 1987.

RENELLA, G.; MENCH, M.; LANDI, L.; NANNIPIERI, P. Microbial activity and hydrolase synthesis in long-term Cd-contaminated soils. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 37, n. 1, p. 133-139, Jan. 2005.

REYES-REYES, B. G.; ALCÁNTARA-HERNÁNDEZ, R.; RODRÍGUEZ, V.; OLALDE-PORTUGAL, V.; DENDOOVEN, L. Microbial biomass in a semi arid of the central highlands of Mexico cultivated with maize or under natural vegetation. **European Journal of Soil Biology**, Montrouge, v. 43, n. 3, p. 180-188, May/June 2007.

RIBEIRO FILHO, M. R.; CURI, N.; SIQUEIRA, J. O.; MOTTA, P. E. F. da. Metais pesados em solos de área de rejeitos de indústria de processamento de zinco. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 23, n. 2, p. 453-464, maio 1999.

ROBERG, M. R.; KNOWLES, R. The ureolytic microflora in a black spruce (*Picea mariana* Mill.) humus. **Journal Soil Science Society of America**, Madison, v. 31, n. 1, p. 76-79, Jan. 1967.

SCHINNER, F.; ÖHLINGER, R.; KANDELER, E.; MARGESIN, R. (Ed.). Indirect estimation of microbial biomass. In: \_\_\_\_\_. **Methods in soil biology**. Heidelberg: Springer Verlag, 1996. p. 47-75.

SHUMAN, L. M. Effect of organic waste amendments on cadmium and lead in soil fractions of two soils. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 29, n. 19/20, p. 2939-2952, Nov. 1998.

SILVEIRA, R. B.; MELLONI, R.; MELLONI, E. G. P. Atributos microbiológicos e bioquímicos como indicadores da recuperação de áreas degradadas em Itajubá/MG. **Cerne**, Lavras, v. 12, n. 1, p. 48-55, jan./mar. 2006.

SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S.; GRISI, B. M.; HUNGRIA, M.; ARAUJO, R. S. **Microrganismos e processos biológicos dos solo**: perspectiva ambiental. Brasília: EMBRAPA/CNPAP, 1994. 142 p. (Documentos, 45).

SIQUEIRA, J. O.; SOARES, C. R. F. S.; SANTOS, J. G. D.; SCHEIDER, J.; CARNEIRO, M. A. C. Micorrizas e degradação de solo: caracterização, efeitos e ação recuperadora. In: \_\_\_\_\_. **Tópicos ciência do solo**. Viçosa, MG: UFV, 2007. v. 5, p. 219-306.

SMITH, J. L.; PAUL, E. A. The significance of soil microbial biomass estimations. In: BOLLAG, J. M.; STOTZKY, G. (Ed.). **Soil biochemistry**. New York: M. Dekker, 1990. p. 357-396.

SOARES, C. R. F. S.; ACCIOLY, A. M. A.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S. Diagnóstico e reabilitação de área degradada pela contaminação por metais pesados. In: SIMPÓSIO NACIONAL SOBRE RECUPERAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS, 5., 2002, Belo Horizonte. **Anais...** Lavras: DCF/UFLA/SOBRAGE, 2002. p. 56-82.

SOARES, C. R. F. S.; SIQUEIRA, J. O. Mycorrhiza and phosphate protection of tropical grass species against heavy metal toxicity in multi-contaminated soil. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 44, n. 6, p. 833-841, July 2008.

SPARLING, G. P. Ratio of microbial biomass carbon to soil organic carbon as a sensitive indicator of changes in soil organic matter. **Australian Journal of Soil Research**, Melbourne, v. 30, n. 2, p. 195-207, 1992.

TABATABAI, M. A. Soil enzymes. In: WEAVER, R. W.; ANGLE, J. S.; BOTTOMLEY, P. S. (Ed.). **Methods of soil analysis microbiological and biochemical properties**. Madison: Soil Science Society of America, 1994. v. 2, p. 775-833.

TABATABAI, M. A. Sulfur. In: PAGE, A. L.; MILLER, R. H.; KEENEY, D. R. (Ed.). **Methods of soil analysis**. Madison: American Society of Agronomy, 1982. p. 501-538.

TABATABAI, M. A.; BREMNER, J. M. Arylsulfatase activity of soils. **Soil Science Society of America Proceedings**, Madison, v. 34, n. 2, p. 225-229, Mar. 1970.

TABATABAI, M. A.; BREMNER, J. M. Distribution of total and available sulfur in selected soils and soil profiles. **Agronomy Journal**, Madison, v. 64, n. 1, p. 40-44, Jan. 1972.

TER BRAAK, C. J. F.; ŠMILAUER, P. **CANOCO reference manual and CanoDraw for Windows user's guide: software for canonical community ordination**, version 4.5. Ithaca: Microcomputer Power, 2002. 500 p.

TURCO, R. F.; KENNEDY, A. C.; JAWSON, M. D. Microbial indicators of soil quality. In: DORAN, J. W.; COLEMAN, D. C.; BEZDICEK, D. F.; STEWART, B. A. (Ed.). **Defining soil quality for a sustainable environment**. Madison: Soil Science Society of America, 1994. p. 73-89.

VALSECCHI, G.; GIGLIOTTI, C.; FARINI, A. Microbial biomass, activity, and organic matter accumulation in soils contaminated with heavy metals. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 20, n. 4, p. 253-259, Sept. 1995.

VANCE, E. D.; BROOKES, P. C.; JENKINSON, D. S. An extraction method for measuring soil soil microbial biomass C. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 19, n. 6, p. 703-707, Nov. 1987.

VÁSQUEZ-MURRIETA, M. S.; GARDUÑO-MIGUELES, I.; FRANCO-HERNÁNDEZ, O.; GOVAERTS, B.; DENDOOVEN, L. C and N mineralization and microbial biomass in heavy-metal contaminated soil. **European Journal of Soil Biology**, Montrouge, v. 42, n. 2, p. 89-98, Apr./June 2006.

VICTÓRIA, R. L.; PICCOLO, M. C.; VARGAS, A. A. T. O. Ciclo do nitrogênio. In: CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. **Microbiologia do solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. cap. 8, p. 105-121.

WARDLE, D. A. Metodologia para quantificação da biomassa microbiana do solo. In: HUNGRIA, M.; ARAÚJO, R. S. (Ed.). **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Brasília: EMBRAPA/SPI, 1994. p. 419-436.

YUAN, B. C.; LI, Z. Z.; LIU, H.; AO, M.; ZHANG, Y. Y. Microbial biomass and activity in salt affected soils under arid conditions. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 35, n. 2, p. 319-328, Feb. 2007.

ZIMAKOWSKA-GNOIŃSKA, D.; BECH, J.; TOBIAS, F. J. Assessments of the heavy metal pollution effects on the soil respiration in the baix Llobregat. **Environmental Monitoring and Assessment**, Dordrecht, v. 61, n. 2, p. 301-313, Mar. 2000.