



**RECUPERAÇÃO DO SOLO EM CRONOSEQUÊNCIA DE REVEGETAÇÃO  
DE DUNAS LITORÂNEAS MINERADAS NO NORDESTE DO BRASIL**

**INDRA ELENA COSTA ESCOBAR**

**RECIFE  
MARÇO/2013**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**  
**DEPARTAMENTO DE MICOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE FUNGOS**

**RECUPERAÇÃO DO SOLO EM CRONOSEQUÊNCIA DE REVEGETAÇÃO  
DE DUNAS LITORÂNEAS MINERADAS NO NORDESTE DO BRASIL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos do Departamento de Micologia do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Biologia de Fungos.

**Área de Concentração**  
Micologia aplicada

**NOME**  
Indra Elena Costa Escobar

**Orientadora**  
Leonor Costa Maia

**Co-orientadora**  
Uided Maaze T. Cavalcante

**RECIFE**  
**MARÇO/2013**

Catálogo na Fonte:  
Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia, CRB-4/1788

Escobar, Indra Elena Costa

Recuperação do solo em cronosequência de revegetação de dunas litorâneas mineradas no Nordeste do Brasil / Indra Elena Costa Escobar. – Recife: O Autor, 2015.

75 f.: il.

Orientadores: Leonor Costa Maia, Uided Maaze T. Cavalcante  
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de  
Ciências Biológicas. Pós-graduação em Biologia de Fungos, 2015.  
Inclui referências

1. Revegetação 2. Solos – Correção 3. Dunas I. Maia, Leonor Costa (orient.) II. Cavalcante, Uided Maaze (coorient.) III. Título.

631.64

CDD (22.ed.)

UFPE/CCB-2015-100

**RECUPERAÇÃO DO SOLO EM CRONOSEQUÊNCIA DE REVEGETAÇÃO  
DE DUNAS LITORÂNEAS MINERADAS NO NORDESTE DO BRASIL**

**INDRA ELENA COSTA ESCOBAR**

Data da defesa: 14/03/2013

**COMISSÃO EXAMINADORA**

**MEMBROS TITULARES**

---

Dra. Leonor Costa Maia (Orientadora)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Dra. Adriana Mayumi Yano-Melo – Examinador Interno  
Universidade Federal do Vale do São Francisco

---

Dr. Guilherme Montandon Chaer – Examinador Externo  
Embrapa Agrobiologia

---

Dr. Marcelo Ferreira Fernandes – Examinador Externo  
Embrapa Tabuleiros Costeiros

---

Dr. Everardo Valadares de Sá Barreto Sampaio – Examinador Externo  
Departamento de Energia Nuclear (DEN) - UFPE

**Aos meus pais,  
Arturo e Fátima,  
Dedico.**

## **Agradecimentos**

A CAPES pela concessão da bolsa e pelo financiamento do projeto e à UFPE pelo apoio logístico;

Ao Departamento de Micologia e ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos da Universidade Federal de Pernambuco, em especial a Profa. Elaine Malosso pela dedicação e a Anna Karolina pela disponibilidade em ajudar;

A Embrapa Tabuleiros Costeiros e a Embrapa Agrobiologia pela logística na realização das análises;

A Profa. Leonor Costa Maia, pela orientação, ensinamentos, sugestões, incentivo, confiança, apoio e dedicação à ciência;

A Profa. Uided Maaze Tiburcio Cavalcante, pela orientação, incentivo, ensinamentos, apoio e amizade;

Aos Drs. Marcelo Ferreira Fernandes e Guilherme M. Chaer pela colaboração, disponibilidade, atenção, paciência e abertura de novos conhecimentos;

Aos colegas do laboratório de microbiologia do solo em especial a Dra. Erika Anjos por todo apoio;

Aos professores do Departamento de Micologia e do PPGBF pelos ensinamentos;

A Empresa Millenium Inorganic Chemicals – a Cristal Company, pelo apoio logístico, e em especial a Virgílio Gadelha, Rodrigo Costa, Patricia, Ivanildo, Rizonaldo, José Maria pelo apoio e atenção.

Aos companheiros da longa jornada que me acompanharam durante os anos de faculdade, mestrado e doutorado;

À equipe do Laboratório de Micorrizas pelo companheirismo e bons momentos compartilhados.

Aos meus pais, Maria do Rosário de Fátima Escobar e José Arturo Escobar, por tudo;

Aos meus irmãos Arturo Escobar, Narayana Escobar, Surya Escobar e Arjuna Escobar por estarem sempre comigo em todos os momentos da minha vida, perto ou longe;

Ao meu companheiro de todas as horas, Silvio Monte, por todo amor, carinho e compreensão;

Aos meus queridos tios e primos pelo apoio durante toda minha jornada pessoal e acadêmica;

A minha avó Neusa de Medeiros, cujo apoio foi essencial em minha vida;

A Neide Muhlert, Alessandra Arcoverde, Reginaldo Romero e Marcelo Costa por todo carinho;

A Antônia Silva e Maria José Cordeiro por toda dedicação;

Em especial aos companheiros Vilma Santos, Danielle Karla e Nicácio Freitas pela amizade e grandes momentos compartilhados;

À Energia Superior que rege todos os planetas, DEUS;

E finalmente a todas as pessoas que participaram ou participam, de alguma forma, da minha formação pessoal e profissional.

## RESUMO GERAL

A mineração é uma atividade que afeta um número cada vez maior de áreas naturais. A recomposição das características edáficas está relacionada ao estabelecimento das comunidades vegetais e da atividade biológica do solo. No presente estudo foram avaliadas mudanças nas propriedades do solo (químicas, físicas e biológicas) em uma cronosequência de três locais de dunas litorâneas pós-minerados e revegetados em 1989, 2001 e 2009 e uma duna com vegetação nativa (referência) em dois períodos do ano (seco e chuvoso), nos anos de 2010, 2011 e 2012. Em geral, os menores valores das variáveis químicas foram registrados em RV09. A revegetação das áreas promoveu a recuperação das propriedades, físicas, químicas e biológicas com o aumento da idade das áreas. Foi possível concluir que a recuperação dos processos biológicos em função do tempo de revegetação mostra a recuperação do funcionamento microbiano a partir de 20 anos de revegetação e que as propriedades biológicas do solo são mais influenciadas pelas varrições sazonais do que as propriedades físicas e químicas. Além desses aspectos também foram avaliadas as mudanças no funcionamento microbiano (FM) e na estrutura das comunidades microbianas (ECM) foram estudadas em áreas de dunas mineradas para extração de ilmenita, rutilo e zirconita, revegetadas em 1989, 2001 e 2009 e em uma duna natural com vegetação de restinga (referência). A composição da comunidade microbiana foi determinada por ésteres metílicos de ácidos graxos (FAMES). O tempo de revegetação vem promovendo a recuperação gradual da estrutura e do funcionamento microbiano do solo. As propriedades microbianas e a estrutura da comunidade são influenciadas pelo período de coleta, apresentando maior atividade microbiana no período chuvoso. Em geral, a área de duna natural apresentou maior proporção de biomarcadores para fungos sapróbios. Nas áreas revegetadas a distribuição dos biomarcadores para os principais grupos microbianos foi influenciada pelo tempo de reabilitação, com maiores proporções de biomarcadores de FMA e Bactérias Gram+ nas áreas revegetadas em 1989 e 2001 e de Bactérias Gram- na área revegetada em 2009. Os benefícios da revegetação em áreas de mineração são diferenciados em função do atributo avaliado, do período de coleta e principalmente do tempo de reabilitação. Nosso estudo mostrou que a revegetação é um método eficiente em recuperar a estrutura e as propriedades do solo, e que, embora o tempo de revegetação resulte em uma estrutura da comunidade em geral mais próxima à da duna original, não há um restabelecimento total da estrutura da comunidade de micro-organismos quando as áreas



revegetadas são comparadas à duna natural. A revegetação das áreas mineradas também promove a recuperação das propriedades químicas, físicas e biológicas nas áreas; entretanto, os benefícios da revegetação são diferenciados em função do tempo de reabilitação das dunas.

**Palavras chaves:** cronosequência, dunas litorâneas, propriedades do solo, solo minerado.

## ABSTRACT

Mining is an activity that affects an increasing number of natural areas. The recovery of soil characteristics is related to the establishment of plant communities and soil biological activity. The present study evaluated changes in soil properties (chemical, physical and biological) in a chronosequence of three places of post-mined coastal sand dunes and revegetated in 1989, 2001 and 2009 and a dune with native vegetation (reference) twice during the year (dry and wet) in the years 2010, 2011 and 2012. In general, the lowest values of the chemical variables were recorded on RV09. The replanting of areas promoted the recovery of, physical, chemical and biological properties with increasing age of the areas. It can be concluded that the recovery of biological processes due to the revegetation time shows the recovery of microbial operation from 20 years of revegetation and biological properties of the soil are affected by seasonal varrições more than the physical and chemical properties. In addition to these aspects were also assessed changes in microbial function (FM) and the structure of microbial communities (ECM) were studied in areas of sand dunes after mining for ilmenite extraction, rutile and zircon, revegetated in 1989, 2001 and 2009 and on a dune with natural salt marsh vegetation (reference). The microbial community composition was determined by fatty acid methyl esters (FAMES). The revegetation of time has been promoting the gradual recovery of the structure and microbial soil functioning. Microbial properties and the community structure are influenced by the collection period, with higher microbial activity in the rainy season. In general, the natural dune area showed a higher proportion of biomarkers saprobes fungi. In areas recomposed the distribution of biomarkers for the main microbial groups was influenced by the rehabilitation time, higher proportions of AMF biomarkers Gram + and replanted in the areas 1989 and 2001 and Gram- bacteria in the area replanted in 2009. The benefits of revegetation in mining areas are differentiated according to the attribute evaluated, the collection period, and particularly the rehabilitation time. Our study showed that the replanting is an efficient method to recover the structure and soil properties, and although the revegetation of time results in a community structure in general closer to the original dune, there is not a full restoration of the structure the microorganisms community when the revegetated areas are compared to the natural dune. The revegetation of mined areas also promotes the recovery of chemical, physical and

biological properties in the area; however, the benefits of revegetation are differentiated according to the time of rehabilitation of the dunes.

Keywords: chronosequence, coastal dunes, soil properties, soil mined.

## Lista de figuras

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |             |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| <b>Capítulo 1</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | <b>Pág.</b> |
| Figura 1 - Fitofisionomias das dunas de restingas, Mataraca, PB: A) restinga praiana reptante; B) restinga arbustiva; C) restinga arbórea.....                                                                                                                                                                                                    | 17          |
| Figura 2 - Processo de mineração, Mataraca, PB: a) camada superficial do solo removida antes do processo de mineração; b) extração dos minérios em draga flutuante.....                                                                                                                                                                           | 18          |
| Figura 3. Processo de reconstituição das dunas, Mataraca, PB: A) dunas de areia lavada (rejeito) após a mineração; B) cobertura do rejeito com a camada superficial do solo retirado dos locais antes do processo de mineração; C) plantio de mudas após a reconstituição da duna.....                                                            | 19          |
| <br><b>Capítulo 3</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |             |
| Figura 1 – Média dos índices pluviométricos (mm) correspondente aos três anos de coleta (2009, 2010 e 2011) na região das áreas de coleta, Mataraca, PB.....                                                                                                                                                                                      | 31          |
| Figura 2 – Carbono da biomassa microbiana (CBM), respiração basal (RES), quociente metabólico ( $qCO_2$ ) e atividade das enzimas desidrogenase (DES), hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA), arilsulfatase (ARIL), fosfatase (FOS) e $\beta$ -glicosidase (BETA) em áreas de dunas revegetadas após mineração e área de duna natural..... | 37          |
| Figura 3 – Diferenças entre as propriedades físicas e químicas do solo (A); e entre as propriedades biológicas do solo (B) em uma cronosequência de dunas revegetadas e uma área de duna natural (referência), de acordo com a ordenação NMS.....                                                                                                 | 38          |
| Figura 4 – Mudanças nas propriedades físicas e químicas do solo (A); e nas propriedades biológicas do solo (B) em resposta a variações sazonais e diferentes tempos de revegetação, de acordo com a ordenação NMS.....                                                                                                                            | 40          |
| <br><b>Capítulo 4</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |             |
| Figura 1 – Diferenças entre a estrutura da comunidade microbiana em solos de duna nativa e dunas revegetadas em resposta a variações temporais e diferentes tempos de revegetação, de acordo com a ordenação NMS.....                                                                                                                             | 53          |

|                                                                                                                                                                                                                        |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 2 – Mudanças na estrutura da comunidade microbiana em solos de duna nativa e dunas revegetadas em resposta a diferentes idades vegetacionais, de acordo com a ordenação NMS.....                                | 55 |
| Figura 3 – Diferenças entre o funcionamento microbiano microbiana em solos de duna nativa e dunas revegetadas em resposta a variações temporais e diferentes tempos de revegetação, de acordo com a ordenação NMS..... | 58 |
| Figura 4 – Mudanças no funcionamento microbiológico em solos de duna nativa e dunas revegetadas em resposta a diferentes idades vegetacionais, de acordo com a ordenação NMS.....                                      | 59 |

## Lista de tabelas

| <b>Capítulo 3</b>                                                                                                                                                                                                                        | <b>Pág.</b> |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| Tabela 1 – Propriedades físicas do solo em áreas de dunas revegetadas após mineração e área de duna natural. Os valores correspondem às médias das amostras coletadas durante os três anos de avaliação nas estações seca e chuvosa..... | 35          |
| Tabela 2 – Propriedades químicas do solo das áreas de dunas revegetadas após mineração e de duna natural. Os valores correspondem às médias das amostras coletadas durante os três anos de avaliação nas estações seca e chuvosa.....    | 36          |
| Tabela 3 – Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre as propriedades físicas e químicas (A) e propriedades microbiológicas (funcionamento microbiano) (B) e os scores do eixo 1 e 2 da ordenação NMS (A e B), respectivamente..... | 39          |
| Tabela 4 – Valores de $p$ por comparações da MRPP das propriedades físicas e químicas e propriedades microbiológicas de amostras de solos de áreas de dunas revegetadas e de duna natural em duas épocas do ano, seca e chuvosa.....     | 41          |
| <b>Capítulo 4</b>                                                                                                                                                                                                                        |             |
| Tabela 1 – Caracterização química dos solos das áreas estudadas: dunas com vegetação natural (DN) e diferentes tempos de revegetação (um, nove e 21 anos), em Mataraca, PB                                                               | 49          |
| Tabela 2 – Valores de $p$ por comparações da MRPP do perfil da comunidade microbiana obtida a partir dos FAMES de amostras de solos de dunas natural e revegetadas em duas épocas do ano, seca e chuvosa.....                            | 54          |
| Tabela 3 – Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre os grupos microbianos e os escores do eixo 1 e 2 da ordenação NMS no período seco e chuvoso.....                                                                              | 56          |
| Tabela 4 – Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre as propriedades do funcionamento microbiano e os scores do eixo 1 e 2 da ordenação NMS nos período seco e chuvoso.....                                                        | 57          |
| Tabela 5 – Valores de $p$ por comparações da MRPP do funcionamento microbiano do solo em áreas de dunas natural e revegetadas em duas épocas do ano, seca e chuvosa.....                                                                 | 58          |
| Tabela 6 – Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre as propriedades do funcionamento microbiano e os scores do eixo 1 e 2 da ordenação NMS nos períodos seco e chuvoso.....                                                       | 60          |

## SUMÁRIO

|                                                                                                                                                                        | <b>Pág.</b> |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| 1. INTRODUÇÃO.....                                                                                                                                                     | <b>14</b>   |
| 2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....                                                                                                                                          | <b>16</b>   |
| 2.1. Dunas e restingas.....                                                                                                                                            | <b>16</b>   |
| 2.2. Recuperação de áreas degradadas por mineração.....                                                                                                                | <b>17</b>   |
| 2.3. Efeitos da revegetação na recuperação de áreas degradadas por mineração.....                                                                                      | <b>19</b>   |
| 2.4. Comunidade microbiana do solo.....                                                                                                                                | <b>21</b>   |
| 2.5. Indicadores de qualidade do solo.....                                                                                                                             | <b>21</b>   |
| 3. MUDANÇAS NAS PROPRIEDADES QUÍMICAS, FÍSICAS E BIOLÓGICAS DO SOLO EM CRONOSEQUÊNCIA DE DUNAS MINERADAS E REVEGETADAS EM CONDIÇÕES TROPICAIS NO NORDESTE DO BRASIL... | <b>29</b>   |
| Resumo.....                                                                                                                                                            | <b>29</b>   |
| Introdução.....                                                                                                                                                        | <b>30</b>   |
| Material e métodos.....                                                                                                                                                | <b>31</b>   |
| Resultados.....                                                                                                                                                        | <b>35</b>   |
| Discussão.....                                                                                                                                                         | <b>41</b>   |
| Conclusões.....                                                                                                                                                        | <b>44</b>   |
| 4. MUDANÇAS NA ESTRUTURA E FUNCIONAMENTO DA COMUNIDADE MICROBIANA EM ÁREAS DE DUNAS MINERADAS COM DIFERENTES IDADES DE REVEGETAÇÃO.....                                | <b>46</b>   |
| Resumo.....                                                                                                                                                            | <b>46</b>   |
| Introdução.....                                                                                                                                                        | <b>47</b>   |
| Material e métodos.....                                                                                                                                                | <b>48</b>   |
| Resultados.....                                                                                                                                                        | <b>53</b>   |
| Discussão.....                                                                                                                                                         | <b>60</b>   |
| Conclusões.....                                                                                                                                                        | <b>64</b>   |
| 5. CONSIDERAÇÕES GERAIS.....                                                                                                                                           | <b>66</b>   |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....                                                                                                                                        | <b>68</b>   |

## 1. INTRODUÇÃO

Áreas Costeiras sofrem pressões antrópicas constantemente como ocupação urbana irregular, turismo, desmatamento e extração de recursos minerais. A vegetação exerce papel fundamental na estabilização dos sedimentos e na manutenção da drenagem natural de ecossistemas arenosos (Escaray *et al.*, 2010) como áreas de dunas marítimas, naturalmente sujeitas a estresses ambientais intensos, devido principalmente à baixa disponibilidade de água e nutrientes (Graham e Haynes, 2004; Rajaniemi e Allisson, 2009).

Práticas extrativistas, como a mineração, afetam áreas extensas comprometendo diretamente o equilíbrio ambiental. A intensa atividade mineradora além de degradar a estrutura do solo, promove perdas na composição e abundância de comunidades vegetais, animais e microbianas (Izquierdo *et al.*, 2005; Mummey *et al.*, 2002). Essas perturbações ecológicas dificultam a recuperação desses locais, o que vem se tornando uma preocupação global (Claassens *et al.*, 2012). No Brasil, a restauração das condições ambientais e da diversidade de espécies em áreas mineradas é exigida por lei (Lei 12.727/2012).

A reabilitação dos locais pós-minerados é importante para recompor os processos essenciais do solo e ajudar na retomada do equilíbrio nesses ambientes (Cunha *et al.*, 2007; Baldrian *et al.*, 2008; Claassens *et al.*, 2008; Banning *et al.*, 2011). Dentre as estratégias utilizadas para recuperação de áreas degradadas, a prática de revegetação é considerada um dos procedimentos mais eficazes (Barreto *et al.*, 2008; Souza *et al.*, 2010; Banning *et al.*, 2011). A revegetação é capaz de recompor as características do solo, afetando a estrutura e o funcionamento das comunidades microbianas, responsáveis por intermediar eventos importantes como a ciclagem de carbono, nitrogênio e fósforo (Rogers e Tate, 2001).

As propriedades do solo (químicas, físicas e biológicas) têm sido avaliadas para medir a conservação e/ou processos de degradação no solo (Chaer e Tótola, 2007), decorrentes de ações humanas ou de mudanças sazonais. No entanto, devido ao papel dos micro-organismos e de suas atividades no funcionamento do solo, as variações na dinâmica bioquímica e na estrutura das comunidades microbianas do solo, têm sido os principais indicadores utilizados para monitorar esses processos (Hinojosa *et al.*, 2004; Huang *et al.*, 2011).

No presente estudo foram avaliadas mudanças nas propriedades do solo (químicas, físicas e biológicas) em uma cronosequência de três locais de dunas litorâneas pós-



minerados e revegetados em 1989, 2001 e 2009 e uma duna com vegetação nativa (referência) em dois períodos do ano (seco e chuvoso), nos anos de 2010, 2011 e 2012 (Capítulo 3). Além desses aspectos também foram avaliadas as mudanças no funcionamento microbiano (FM) e na estrutura das comunidades microbianas (ECM) foram estudadas em áreas de dunas mineradas para extração de ilmenita, rutilo e zirconita, revegetadas em 1989, 2001 e 2009 e em uma duna natural com vegetação de restinga (referência) (Capítulo 4).

O trabalho foi conduzido para testar as hipóteses de que a mineração afeta a comunidade microbiana e suas atividades no solo e que a revegetação é um método eficiente para restabelecer o funcionamento e a estrutura da comunidade microbiana, sendo esta eficiência dependente do tempo de recuperação.

## 2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1. Dunas e restingas

O litoral brasileiro apresenta regiões com características distintas quanto à fauna, flora, clima e solos, as quais definem ecossistemas específicos (Santos *et al.*, 2000). Dunas e restingas litorâneas são formações arenosas recentes, edificadas a partir de depósitos marinhos retrabalhados. As sucessivas flutuações do nível do mar durante o período Quaternário foram responsáveis pela configuração e distribuição da maior parte deste tipo de ecossistema na costa brasileira (Britto *et al.*, 1993; Freire, 1996).

O termo restinga refere-se originalmente à formação geomorfológica, referindo-se a vários tipos de depósitos arenosos costeiros, tendo se estendido a cobertura vegetal dessas áreas (Oliveira-Filho e Carvalho, 1993). As restingas são consideradas extensões da Floresta Atlântica, “*hotspot*” da biodiversidade mundial, caracterizadas por grande complexidade de formações vegetais, topografia e por inter-relações diversificadas (Freire, 1996). Apresentam diferentes composições vegetais que variam desde os tipos herbáceos até os arbóreos. Além de receberem influência do domínio da Mata Atlântica ao longo de praticamente toda a costa, as dunas e restingas formadas no extremo norte do Brasil são influenciadas, também, pela Caatinga (Freire, 1996).

As dunas litorâneas, formações pioneiras com influência marinha, são observadas desde as praias até pontos mais internos da planície costeira. Ambientes aparentemente homogêneos, as dunas litorâneas são classificadas com base nos estádios crescentes de estabilização, em três tipos: 1) duna embrionária, aquela constituída por estreita faixa de areia, e sujeita aos efeitos diretos e periódicos da maré; o solo é ondulado com elevações irregulares e as comunidades vegetais são geralmente dominadas por vegetação pioneira, caracterizada por plantas halofílicas, rizomatosas e estoloníferas perenes; 2) antedunas, que possuem solos com baixos teores de matéria orgânica e plantas de pequeno porte, estão sujeitas a períodos de seca frequentes e, 3) duna fixa, nas quais o solo apresenta maior compactação e teores mais elevados de matéria orgânica e argila do que os demais tipos de dunas; é estável, não estando sujeita à movimentação pelo vento, com manchas mais densas de vegetação (Moreno-Casasola e Espejel (1986) apud Córdoba *et al.*, 2002).

As dunas de restingas são ambientes naturalmente sujeitos a estresse, como a alta insolação, os fortes ventos, a baixa disponibilidade de água e de nutrientes e da alta salinidade dos solos. Em função dessa fragilidade, a vegetação exerce papel fundamental

para a estabilização dos sedimentos e para a manutenção da drenagem natural desses ecossistemas (Escaray *et al.*, 2010), sendo adaptada as condições de solo e clima desses locais.

No Brasil, devido à variabilidade geomorfológica, climática e edáfica nos sistemas de dunas costeiras, é possível observar diferenças nas formações vegetais desses locais, que além de apresentarem adaptações às condições extremas, também variam no sentido praia continente, caracterizando diferentes fisionomias vegetacionais (Stürmer *et al.*, 2010; Yamato *et al.*, 2012).

O extremo norte do litoral da Paraíba, por exemplo, caracteriza-se por dois tipos principais de vegetação: o tabuleiro e a restinga. A vegetação de restinga reveste as dunas costeiras variando desde o tipo herbáceo reptante praiano ao florestal fechado, ocorrendo sobre as praias estreitas e dunas fixas no litoral norte da Paraíba (Oliveira-Filho e Carvalho, 1993; Britto *et al.*, 1993) (Figura 1).

As áreas de dunas de restinga estudadas nesse trabalho estão situadas em área de intensa atividade mineradora. Para a extração dos minérios é necessários o desmatamento e a retirada da camada orgânica do solo, causando impactos que dão origem a áreas degradadas nesses ambientes naturalmente frágeis (Graham e Haynes, 2004).

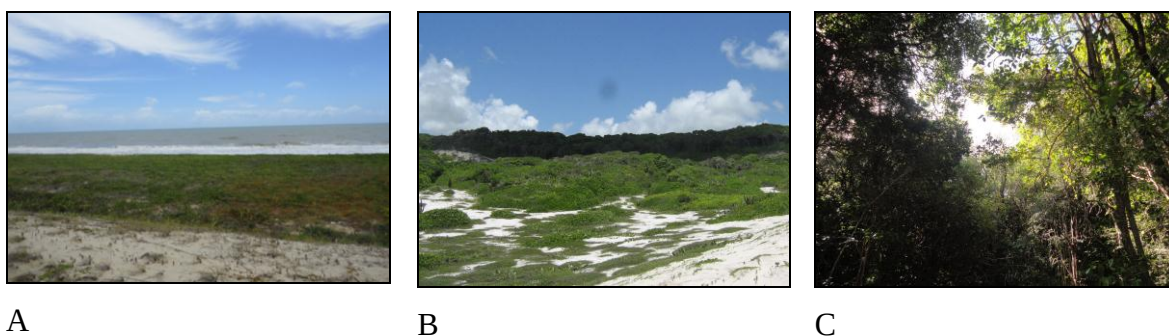


Figura 1. Fitofisionomias das dunas de restingas, Mataraca, PB: A) restinga praiana reptante; B) restinga arbustiva; C) restinga arbórea.

## 2.2. Recuperação de áreas degradadas por mineração

A mineração é considerada uma das atividades antrópicas que mais afetam os ecossistemas, proporcionando impactos diretos e indiretos de diferentes natureza sobre as áreas exploradas, e áreas do entorno, na forma de alterações estéticas, físicas, químicas e biológicas. O grau de degradação nos solos, na vegetação e nos recursos hídricos presentes no sistema depende da intensidade da interferência e das características dos locais, tais

como tipo de solo, formação geológica, vegetação, relevo, tipo de lavra, minério a ser extraído e tipo de rejeito produzido (Carneiro *et al.*, 2008; Longo *et al.*, 2011).

No Brasil, as operações de lavra a céu aberto foram iniciadas a partir do final da década de 1970 em Porto Trombetas (PA) para extração de bauxita (Stürmer *et al.*, 2010). No Litoral Norte da Paraíba, a extração de minérios pesados (ilmenita, zirconita e rutilo) em dunas começou no final dos anos 80 e atualmente é realizada pela Companhia Millenium Inorganic Chemicals (MIC), no município de Mataraca (Zeppelini *et al.*, 2009; Souza *et al.*, 2010).

Durante a extração dos minerais na área estudada, as dunas naturalmente vegetadas e fixas são transformadas em dunas de areia lavada, formadas pela deposição do rejeito pós-mineração. Antes da lavra, a camada superficial do solo (0-30 cm), é removida da duna a ser minerada e, às vezes, temporariamente estocada. As dunas são mineradas a uma profundidade de aproximadamente 50 m e os minerais extraídos são separados por gravidade em uma draga flutuante sobre uma área de mina inundada (Figura 2).



A



B

Figura 2. Processo de mineração, Mataraca, PB: a) camada superficial do solo removida antes do processo de mineração; b) extração dos minérios em draga flutuante.

A reconstrução de novas dunas acontece sobre o rejeito (areia lavada isenta de nutrientes e matéria orgânica), posteriormente ao processo de mineração. As dunas de areia lavada são recobertas com o solo de cobertura, retirado das áreas desmatadas (0-30 cm) e replantadas com espécies nativas da restinga local (Figura 3).



Figura 3. Processo de reconstituição das dunas, Mataraca, PB: A) dunas de areia lavada (rejeito) após a mineração; B) cobertura do rejeito com a camada superficial do solo retirado dos locais antes do processo de mineração; C) plantio de mudas após a reconstituição da duna.

A restauração das condições ambientais e da diversidade de espécies em áreas mineradas é feita principalmente por meio de revegetação (Graham e Haynes, 2004; Chodak *et al.*, 2009; Carneiro *et al.*, 2008; Chodak e Niklinska, 2010; Souza *et al.*, 2010; Banning *et al.*, 2011; Claassens *et al.*, 2012). No entanto, a revegetação de áreas de rejeitos e locais de descarte de minas é dificultada pelas más condições das características físicas e químicas do solo, associadas às perturbações causadas pela exploração (Claassens *et al.*, 2012). Para o sucesso da revegetação em áreas mineradas é necessário o desenvolvimento de um solo funcional, indispensável para o restabelecimento das comunidades microbianas (Banning *et al.*, 2011).

A reposição da camada de matéria orgânica durante a reconstrução das dunas é uma estratégia essencial para o restabelecimento da vegetação, tanto para àquelas plantadas na forma de mudas, como para as que se estabelecerão nas áreas durante o processo de regeneração. Desta forma, apesar da qualidade limitante do rejeito (areia lavada) formado durante a mineração em dunas litorâneas, o preparo do solo e a incorporação de matéria orgânica dão condições iniciais para a recuperação das comunidades microbianas, essenciais para a sustentabilidade dos ecossistemas em desenvolvimento (Banning *et al.*, 2011).

### 2.3. Efeitos da revegetação na recuperação de áreas degradadas por mineração

A revegetação visa recompor o equilíbrio e a produtividade do ecossistema de modo que ele seja capaz de recuperar suas funções originais. O processo de reversão dessas áreas degradadas vai desde a reabilitação, onde há uma recuperação dos processos

biólogicos, até a restauração, quando as áreas se aproximam da estrutura ecológica original ou inicial (Cunha *et al.*, 2003).

Durante a reabilitação de áreas degradadas o uso de espécies vegetais como facilitadoras no processo de recuperação é feito muitas vezes com plantas exóticas de rápido crescimento (Sampaio *et al.*, 2000; Silva *et al.*, 2011); porém, para áreas de proteção natural como dunas de restinga é permanentemente proibido o uso dessas espécies no processo de revegetação (Lei 12.727/2012). Nas dunas litorâneas da Paraíba as espécies mais comumente utilizadas para revegetação são: “caju”, *Anacardium occidentale* L. (Anacardiaceae); “peroba”, *Tabebuia roseo-alba* (Ridl.) Sandw. (Bignoniaceae); “jenipapo bravo”, *Tocoyena selloana* Schum. (Rubiaceae); “juazeiro”, *Ziziphus joazeiro* Mart. (Rhamnaceae) e “mutamba”, *Guazuma ulmifolia* Lam. (Sterculiaceae) (Souza *et al.*, 2010; Zeppelini *et al.*, 2009), entre mais de 150 espécies originárias da flora local.

A recuperação da diversidade de plantas pode levar tempos variados para acontecer, uma vez que depende de muitos fatores como o clima, banco de sementes, habilidade em colonizar o ambiente, funcionamento biológico do solo, entre outros. Estudo avaliando a recuperação da diversidade de espécies vegetais em área duna em Santa Catarina mostrou que o incremento na riqueza de espécies vegetais ocorreu 10 anos após o início do processo de revegetação (Zanella *et al.*, 2010). No entanto, a recuperação da diversidade vegetal demorar mais tempo para se assemelhar aos locais de referência, Emery e Rudgers (2010) observaram a recuperação da diversidade vegetal em dunas, com relação à área de referência natural, após 30 anos do início do processo.

Em estudo avaliando a recuperação da diversidade de colêmbolas em área de duna revegetadas na Paraíba com diferentes idades, Zeppelini *et al.* (2009) observaram que a área de revegetação mais antiga com 16 anos foi mais similar à área de referência, quando comparada às áreas mais jovens. Porém, a riqueza de espécies foi menor na área revegetada com 16 anos quando comparada à área controle. Esse estudo demonstra que a recuperação pode ocorrer de forma parcial, e mesmo após anos, a diversidade original pode não ser recuperada. Além disso, o sucesso na recuperação depende ainda da capacidade de resistência e resiliência das comunidades atingidas pela perturbação.

Além de recompor as comunidades acima do solo, a recuperação de áreas mineradas a partir da revegetação é importante também para recuperar a diversidade das comunidades microbianas abaixo do solo e de todos os processos por elas desenvolvidos, como a estruturação do solo e o acúmulo de nutrientes e de matéria orgânica. Solos de dunas mineradas após 25 anos de revegetação apresentaram teores de matéria orgânica e

atividade microbiana semelhante às áreas não perturbadas (Graham e Haynes 2004). Assim, a formação do solo é decisiva para a restauração das funções do ecossistema, sendo o acúmulo de matéria orgânica e o incremento da atividade microbiana, funções importantes no desenvolvimento desse processo (Frouz e Nováková, 2005).

## **2.4. Comunidade microbiana do solo**

No ambiente edáfico, a comunidade microbiana do solo desempenha funções indispensáveis, como decomposição dos resíduos orgânicos, fluxo de energia e ciclagem de nutrientes. Essas funções influenciam por sua vez as transformações da matéria orgânica e a estocagem de carbono e de nutrientes minerais no solo (Paul, 2007). A atividade biológica do solo acontece principalmente nos primeiros 20 cm de profundidade da camada superficial, onde ocorre maior acúmulo de matéria orgânica pela deposição da serapilheira, e na rizosfera, região que sofre influência direta do sistema radicular das plantas (Moreira e Siqueira, 2002).

A retirada completa da vegetação e da camada superficial do solo durante a mineração modificam as propriedades físicas e químicas do solo. Esses fatores interagem influenciando as condições de umidade, temperatura e aeração, afetando a composição e a população das comunidades microbianas, principalmente aquelas associadas à decomposição de componentes orgânicos e à ciclagem de nutrientes (Claassens *et al.*, 1992; Kennedy e Smith, 1995; Gil-Sotres *et al.*, 2005).

As mudanças na atividade e na composição dos micro-organismos em locais minerados e/ou em processo de recuperação podem indicar o estado de reabilitação das áreas mineradas em resposta ao processo de revegetação (Izquierdo *et al.*, 2005; Carneiro *et al.*, 2008; Chodak *et al.*, 2009). Dessa forma, entender as variações nos números de indivíduos ou na dinâmica bioquímica natural das comunidades de micro-organismos, decorrentes de mudanças no solo, pode ser útil como indicador da qualidade do solo (Baldrian *et al.*, 2008).

## **2.5. Indicadores de qualidade do solo**

### *Aspectos gerais*

O solo é um recurso fundamental para o funcionamento dos ecossistemas. No entanto, vem sendo degradado por atividades humanas. Os processos de degradação do solo têm afetado de forma alarmante diferentes regiões do mundo, o que tem despertado interesse no que diz respeito à proteção e manutenção da qualidade e funcionamento desse

recurso natural (Doran e Parkin, 1994). A qualidade do solo é conceituada como “a capacidade de um solo funcionar, dentro dos limites do ecossistema, sustentando a produtividade biológica, mantendo a qualidade ambiental e promovendo a saúde vegetal e animal” (Doran e Parkin, 1994).

A qualidade do solo não pode ser medida diretamente, sendo necessário o uso de indicadores mensuráveis dos atributos do solo para as avaliações de mudanças no sistema. Os indicadores de qualidade do solo são definidos como propriedades, processos e características físicas, químicas e biológicas que podem ser mensuradas (De-Polli e Guerra, 2008). Assim, as propriedades do solo podem ser utilizadas para monitorar alterações ambientais decorrentes do uso do solo ou de perturbações ambientais (Tótola e Chaer, 2002).

Os estudos de qualidade do solo podem ser feitos a partir da análise de indicadores químicos, físicos e biológicos, sendo os indicadores biológicos os mais eficientes em fornecer informações rápidas em função das mudanças ocorridas no solo. Além disso, a análise de indicadores bioquímicos e microbiológicos de qualidade do solo é relevante quando se deseja obter informações sobre o desempenho de funções do solo, como a capacidade de ciclar e armazenar nutrientes. Devido às rápidas respostas, os micro-organismos e seus atributos têm sido bastante utilizados como indicadores eficientes, tanto em situações de estresse (conversão de florestas naturais em áreas agrícolas ou degradadas) como nos processos de restauração de áreas impactadas (Bandick e Dick, 1999; Badiane *et al.*, 2001; Mummey *et al.*, 2002).

A relação entre a revegetação e as propriedades biológicas do solo em áreas mineradas em processo de recuperação pode ser avaliada utilizando-se uma grande variedade de métodos que, comumente, incluem o monitoramento de mudanças nas quantidades de C (Carbono), P (Fósforo) e N (Nitrogênio) da biomassa microbiana, respiração basal (Carneiro *et al.*, 2008), atividade de diferentes enzimas relacionadas aos principais ciclos biogeoquímicos (Izquierdo *et al.*, 2005; Baldrian *et al.*, 2008; Banning *et al.*, 2011) e mudanças na estrutura da comunidade microbiana do solo (Brokktet *et al.*, 2012). Essas informações podem ser capazes de refletir as mudanças que estão ocorrendo a longo ou curto prazo, uma vez que a microbiota existente no solo modifica rapidamente suas taxas de atividade e desempenho energético em condições de mudanças ambientais (Schloter *et al.*, 2003).

Em áreas de dunas, os indicadores de qualidade do solo têm sido utilizados para indicar a degradação e/ou eficiência dos processos de recuperação do solo em função do



tempo, do tipo de cobertura vegetal utilizada, das variações sazonais, fatores abióticos, etc (Mohammad *et al*, 2003; Graham e Haynes, 2004; Jangid *et al*, 2010; Banning *et al*, 2011). Em áreas mineradas têm sido utilizados para monitorar a recuperação de solos degradados de forma eficiente em diferentes partes do mundo (Graham e Haynes, 2004; Izquierdo *et al*, 2005; Banning *et al*, 2008; Carneiro *et al*, 2008; Chodak *et al*, 2009; Souza *et al*, 2013).

#### - Biomassa Microbiana

A biomassa microbiana é constituída por micro-organismos que vivem no solo, archeas, bactérias, fungos, protozoários, algas e microfauna geralmente menores que 10 µm representando, em média, de 2 a 5 % do C do solo (Paul e Clark, 1989; Alef & Nannipieri, 1995). A biomassa microbiana representa o compartimento central dos ciclos biogeoquímicos representando um atributo fundamental para a ciclagem de nutrientes em diferentes ecossistemas (Gama-Rodrigues e Gama-Rodrigues, 2008). A biomassa exerce função catalisadora de fonte e/ou reserva de nutrientes de acordo com as condições edafoclimáticas e a qualidade da matéria orgânica disponível, principalmente a serapilheira (Paul e Clark, 1989).

Os micro-organismos do solo são responsáveis por inúmeras funções-chaves do solo, participando de processos importantes no sistema solo-planta, como a mineralização e o acúmulo de matéria orgânica e de nutrientes (Paul, 2007; Araújo & Monteiro, 2007). Dentre os grupos microbianos, os fungos e as bactérias são os mais importantes no que se refere à transferência de nutrientes e energia nos ecossistemas terrestres. Esses grupos são responsáveis por 87% da atividade metabólica nos solos e atuam como fonte e dreno dos nutrientes necessários ao crescimento das plantas, uma vez que podem fornecer fluxos de relevante importância na nutrição das plantas devido ao rápido processo de ciclagem da biomassa microbiana (Scholter *et al.*, 2003; Fernández *et al.*, 2008; Mummey *et al.*, 2010).

Representando uma das frações lábeis da matéria orgânica do solo, a biomassa microbiana é facilmente alterada por fatores bióticos e abióticos (Gama-Rodrigues *et al.*, 2008), e é capaz de refletir as mudanças no ambiente antes mesmo que essas ocorram nos níveis de matéria orgânica, respondendo rapidamente as flutuações sazonais de umidade e temperatura e as práticas de manejo (Gama-Rodrigues *et al.*, 2005; Mummey *et al.*, 2010).

A biomassa microbiana pode ser mensurada a partir de métodos indiretos como fumigação-incubação (FI), respiração induzida pelo substrato (SIR), conteúdo de ATP e fumigação-extração (FE) (Brandão-Júnior *et al.*, 2008). A quantificação de C-microbiano por fumigação-incubação (Jenkinson e Powlson, 1976) é estimado pela diferença entre as

quantidades de CO<sub>2</sub> liberadas durante a incubação (10 dias) do solo fumigado e não fumigado. Na fumigação-extração (Vance *et al.*, 1987) os métodos para a quantificação do CBM são baseados na esterilização parcial (fumigação) das amostras de solos com clorofórmio, que rompe a membrana celular dos micro-organismos liberando os constituintes internos.

A avaliação da biomassa microbiana fornece informações importantes para o entendimento da ciclagem de nutrientes, sendo um parâmetro importante para determinar a sustentabilidade em ecossistemas (Schloter *et al.*, 2003). Estudos em áreas mineradas em processo de reabilitação com diferentes idades na Polônia mostraram um aumento no carbono microbiano após 6 anos de recuperação, diminuindo posteriormente nas áreas com maior tempo de recuperação (20 e 28 anos) (Chodack *et al.*, 2009). Aumento na biomassa microbiana foi observado em áreas em processo de reabilitação após mineração de bauxita em Minas Gerais logo após um ano de recuperação (Carneiro *et al.*, 2008). Em dunas mineradas na África do Sul, Graham e Haynes (2004) observaram que a biomassa microbiana atingiu os níveis descritos para área de referência natural 20 anos após a revegetação. Esses diferentes estudos mostram que os conteúdos de CBM de solos em processo de recuperação podem variar, e essas flutuações podem ocorrer tanto por mudanças na comunidade microbiana, em resposta ao desenvolvimento da vegetação, como por variações sazonais ao longo do processo de recuperação (Chodak *et al.*, 2009).

Estimativas da biomassa microbiana no solo devem ser utilizadas como um parâmetro complementar nas avaliações de qualidade do solo, uma vez que ela não consegue mensurar a atividade biológica no solo (Gama Rodrigues e Gama Rodrigues, 2008).

#### - *Respiração Microbiana*

A respiração microbiana reflete a atividade da microbiota responsável pela degradação de compostos orgânicos presentes no solo e é definida como a liberação do CO<sub>2</sub> pelas bactérias, fungos e algas no solo, incluindo as trocas gasosas que resultam do metabolismo aeróbico e anaeróbico (Anderson e Domsch, 1978; De-Polli e Guerra, 2008). É utilizada como um indicador de atividade microbiana do solo, pois está associado aos processos de decomposição da matéria orgânica (Anderson e Domsch, 1990).

A atividade metabólica dos micro-organismos é um dos principais processos reguladores das transformações de nutrientes no solo. Altas taxas de respiração são indicativas de alta atividade biológica. Essa atividade biológica pode ser resultado tanto de

um reservatório de substratos orgânico lábeis, como da rápida decomposição de um pequeno reservatório de C ou como resultado da incorporação momentânea de resíduos orgânicos (Tótolá e Chaer, 2002; Adachi *et al.*, 2006).

Em florestas naturais, a ciclagem de C e nutrientes, principalmente por meio da ação microbiana e suas interações, acontece de forma dinâmica e equilibrada. Após a retirada da floresta, as quantidades e a diversidade dos compostos de C utilizados pelos micro-organismos como fontes de energia são reduzidos, afetando os ciclos biogeoquímicos no solo (Badiane *et al.*, 2001; Adachi *et al.*, 2006).

Avaliando a respiração em um ecossistema de floresta tropical em Bangladesh, Islam e Weill (2000) observaram que as taxas respiratórias aumentaram nos locais reflorestados, quando comparados com áreas de gramíneas. Em dunas costeiras mineradas para extração de bauxita na Austrália, Banning *et al.* (2011) encontraram as maiores taxas respiratórias nas áreas de referência, quando comparadas as áreas de rejeito. Aumento na respiração microbiana em resposta ao estresse foi constatado por Helingerová *et al.* (2010) em áreas mineradas submetidas ao processos de revegetação e áreas não mineradas em processo de recuperação espontânea. Esses autores observaram maiores taxas respiratórias nas áreas não revegetadas, quando comparadas às áreas revegetadas com as mesmas idades, menores taxas na respiração microbiana também foram observadas com o aumento da idade sucessional.

A eficiência da atividade metabólica pode ser medida a partir do quociente metabólico, razão entre o CO<sub>2</sub> produzido pela respiração microbiana e o CBM, esse indicador tem sido utilizado para avaliar efeitos das mudanças ocorridas no solo sobre a biomassa microbiana do solo (Wardle & Ghani, 1995; Banning *et al.*, 2011). Segundo a teoria bioenergética de Odum, as comunidades microbianas submetidas a situações de estresse (bióticos ou abióticos) diminuem a eficiência na conversão do C em biomassa, aumentando a perda de C na forma de CO<sub>2</sub>. Os valores no qCO<sub>2</sub> indicam a maturidade do ecossistemas, baixos valores de qCO<sub>2</sub> indicam um ambiente estável ou próximo ao estado de equilíbrio (Wardle e Ghani *et al.*, 1995).

A eficiência celular na utilização do carbono é influenciada por fatores como o pH e a disponibilidade de água e nutrientes, sendo um parâmetro eficiente em indicar situações de estresse ou limitantes para a comunidade microbiana (Helingerová *et al.*, 2010). Segundo Banning *et al.* (2011), o rápido declínio no quociente metabólico como aumento da idade de áreas em processo de recuperação esteve relacionada a diminuição do

pH nesses locais (9,9 para 7,7), constatando que a diminuição dos níveis de estresse sobre a comunidade microbiana refletem positivamente no quociente microbiano.

#### *-Enzimas Microbianas*

As enzimas são catalisadores biológicos que aceleram reações químicas. Além de estarem intimamente ligadas aos ciclos bioquímicos do solo, são sintetizadas e excretadas por animais, plantas e, principalmente, por fungos e bactérias. No solo, podem ser acumuladas, inativadas e/ou decompostas, atuando na conversão de moléculas de elevado peso molecular em moléculas orgânicas menores (Fernández *et al.*, 2008).

As atividades enzimáticas resultam de enzimas intra e extracelulares (endo e exoenzimas, respectivamente). Essas últimas são liberadas durante o metabolismo de células vivas e/ou morte celular, e podem permanecer ativas por um período variável de tempo. Também, podem estar imobilizadas ou complexadas em coloides minerais e orgânicos do solo (Schloter *et al.*, 2003; Tótola e Chaer, 2002) atuando quando as condições ambientais tornam-se favoráveis.

As enzimas atuam sobre substratos específicos e podem ser classificadas dentro de quatro grupos: hidrolases, oxiredutases, transferases e liases. As hidrolases, como a  $\beta$ -glicosidase, a arilsulfatase e as fosfatases são as mais estudadas, pois catalisam a quebra de substratos em compostos orgânicos de menor peso molecular, facilitando sua mineralização (Fernández *et al.*, 2008).

Nos solos, as glicosidases estão presentes como enzimas livres adsorvidas na superfície de partículas do solo (Alef e Nannipieri, 1995; Böhme e Böhme, 2005). As  $\beta$ -glicosidases são as mais importantes dentre as glicosidades. Essas enzimas quebram a celulose e outros polímeros em monômeros de glicose (Alef e Nannipieri, 1995). Relações positivas entre a atividade da  $\beta$ -glicosidase e conteúdo de matéria orgânica foram descritas em solos de pousio na Savana africana (Badiane *et al.*, 2001), sugerindo que a atividade dessa enzima depende da qualidade do material orgânico disponível.

As arilsulfatases são enzimas extracelulares fundamentais na ciclagem do enxofre do solo, pois catalisam a hidrólise ésteres de sulfato orgânico, liberando  $\text{SO}_4$  como nutriente disponível para as plantas (Bandick e Dick, 1999). A arilsulfatase pode ser ainda um indicador indireto da biomassa de fungos no solo, uma vez que apenas os fungos possuem ésteres de sulfato, principal substrato de ação dessa enzima (Bandick & Dick, 1999).

As fosfatases têm sido estudadas no solo por catalisarem a hidrólise de monoésteres de fosfato orgânico e fósforo inorgânico, os quais podem ser então utilizados pelas plantas (Melo et al., 2010). De acordo com o pH ótimo, as fosfatases podem ser classificadas em ácidas, neutras e alcalinas. As duas primeiras têm sido detectadas em animais, plantas e micro-organismos. As fosfatases alcalinas são encontradas apenas em micro-organismos e animais e são reportadas correlacionando-se com fatores bióticos, devido provavelmente as suas relações com a biomassa microbiana (Badiane et al., 2001).

A hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA) é um método bastante utilizado para avaliação indireta da atividade heterotrófica do solo. Este substrato é hidrolisado por diversas enzimas (esterases, proteases e lipases) e organismos, quantificando a atividade extracelular de uma grande quantidade de decompositores primários, como as bactérias e fungos. Este método é utilizado para estimar atividade microbiana em diferentes habitats (Bandick e Dick, 1999).

As ureases são envolvidas na hidrólise de substratos típicos de ureia, e são enzimas essenciais na transformação de fertilizantes à base de ureia, sua origem é basicamente microbiana e a atividade é extracelular (Alef e Nannipieri, 1995; Yao et al., 2006).

Dentre as oxiredutases, as desidrogenases são as mais frequentemente estudadas. As desidrogenases são ativas no interior de células vivas e refletem a taxa da respiração e a extensão das atividades oxidativas da microbiota do solo, fornecendo informações importantes sobre a porção ativa dessa comunidade. A atividade da desidrogenase está relacionada com o conteúdo de matéria orgânica do solo, variando de acordo com o período do ano e com a profundidade do solo (Tótola e Chaer, 2002; Fernández et al., 2008).

Devido a dificuldade de extração, a presença das enzimas no solo é estimada pela avaliação de sua atividade, a qual pode ser influenciada por diversos fatores ambientais como temperatura, pH e umidade (Badiane et al., 2001), tipo de cobertura vegetal (Silva et al., 2009), teor de matéria orgânica e condições temporais (Gama-Rodrigues et al., 2005), textura do solo (Chodak e Niklinska, 2010), sazonalidade (Baldrian et al., 2008), entre outros.

Alison et al. (2007), por exemplo, examinando as atividades enzimáticas em diferentes solos em cronosequência observaram que a atividade da fosfatase foi negativamente correlacionada com o teor de P, enquanto que as atividades das enzimas que hidrolisam o C, N e S não foram fortemente influenciadas pela concentração de nutrientes.

Os efeitos da época de amostragem também devem ser considerados, uma vez que as atividades enzimáticas podem ser positivamente influenciadas em períodos de alta umidade edáfica. Isso porque as reações químicas são favorecidas em meio aquoso. Considerando quatro parcelas de solo (4, 12, 21 e 45 anos de idade) após mineração de carvão, Baldrian et al. (2008) verificaram, por exemplo, que a atividade da fosfatase e da quitinase foi fortemente influenciada pela sazonalidade. Os autores também concluíram que a atividade enzimática do solo é incrementada ao longo do tempo em função da sucessão.

A atividade das enzimas é uma das primeiras propriedades a ser alterada quando o solo é perturbado (Acosta-Martínez et al., 2011) sendo, por isso, investigada na pesquisa agrônômica. Por outro lado, não possui tanto destaque quanto as análises de carbono da biomassa microbiana e respiração basal, os quais são amplamente documentados nos mais variados solos (Chodak et al., 2009; Helingerová et al., 2010).

Embora não haja consenso sobre quais atividades enzimáticas devem ser avaliadas e em que situação, comumente, são consideradas ferramentas valiosas em estudos de solo e são destinadas, por exemplo, a avaliar os efeitos de diferentes sistemas de cultivo na dinâmica da matéria orgânica e nos processos de transformações dos nutrientes edáficos (Bandick e Dick, 1999).

Avaliando o impacto da mineração de bauxita em solo do sudeste brasileiro, Carneiro et al. (2008) observaram que a prática provocou grande impacto nos atributos estudados (carbono orgânico, N, biomassa microbiana e a atividade enzimática), os quais apresentaram reduções de até 99% nos valores. A biomassa microbiana e atividade enzimática aumentaram com as diferentes estratégias de reabilitação, apresentando respostas em função da idade da revegetação. A atividade das enzimas apresentou rápida recuperação no solo impactado atingindo valores similares aos das áreas de referências a partir do primeiro ano.

No entanto, não é sempre que se observa o sucesso na recuperação da atividade enzimática em curtos prazos. Monitorando as mudanças do solo por meio das atividades enzimáticas ao longo do tempo Badiane et al. (2001), por exemplo, verificaram que a atividade da  $\beta$ -glicosidase e da amilase foi significativamente alta em áreas de recuperação natural mais velhas (21 anos), quando comparadas as áreas com quatro e 11 anos de idade.

É importante ressaltar que estudos direcionados a compreender a dinâmica das enzimas do solo em ambientes impactados são necessários quando se pretende recuperar ou manter o funcionamento por mais tempo.

### **3. MUDANÇAS NAS PROPRIEDADES QUÍMICAS, FÍSICAS E BIOLÓGICAS DO SOLO EM CRONOSEQUÊNCIA DE DUNAS MINERADAS E REVEGETADAS EM CONDIÇÕES TROPICAIS NO NORDESTE DO BRASIL<sup>1</sup>**

#### **Resumo**

A revegetação de áreas degradadas por mineração é capaz de recompor as características do solo, sendo o tempo de revegetação um fator importante na recuperação das características físicas, químicas e biológicas do solo. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi avaliar as mudanças nas propriedades químicas, físicas e microbiológicas do solo, em três áreas de dunas litorâneas mineradas revegetadas nos anos de 1989, 2001 e 2009 e em uma área de duna com vegetação nativa (referência), nos períodos seco e chuvoso de 2010, 2011 e 2012. Em geral, os menores valores das variáveis químicas foram registrados em RV09. A revegetação das áreas promoveu a recuperação das propriedades, físicas, químicas e biológicas com o aumento da idade das áreas. As variações sazonais afetaram mais fortemente as propriedades biológicas do que as físicas e químicas, as quais não apresentaram diferenças entre os períodos seco e chuvoso a partir dos 10 anos de revegetação. A partir dos resultados foi possível concluir que a recuperação dos processos biológicos em função do tempo de revegetação, mostra a recuperação do funcionamento microbiano a partir de 20 anos de revegetação e que as propriedades biológicas do solo são mais influenciadas pelas variações sazonais do que as propriedades físicas e químicas.

Palavras chaves: revegetação, restinga, enzimas microbianas.

---

<sup>1</sup> Artigo a ser submetido como: Escobar, I.E.C., Santos, V.M., Chaer, G.M., Silva, D.T., Cavalcante, U.M.T., Maia, L.C. Mudanças nas propriedades químicas, físicas e biológicas do solo em cronosequência de dunas mineradas e revegetadas em condições tropicais no nordeste do Brasil. Microbial Ecology.

## Introdução

O aumento de áreas degradadas por atividade mineradora tem ocasionado graves distúrbios ao meio ambiente (Gil-Sotres *et al.*, 1992; Mendes Filho, 2009). A mineração promove perda de diversidade, afetando diretamente os micro-organismos edáficos, responsáveis por processos importantes na formação do solo, como a decomposição de matéria orgânica, formação do húmus, ciclagem e solubilização de nutrientes (Kaschuk *et al.*, 2010). Essa prática diminui ainda os conteúdos de matéria orgânica e a atinge a estrutura do solo, aumentando o risco de erosão nas áreas mineradas e nos locais próximos aos sítios de exploração (Izquierdo *et al.*, 2005).

Para minimizar os impactos causados pela mineração, a revegetação tem sido a alternativa eficaz para restaurar os processos essenciais de ecossistemas alterados. O restabelecimento da vegetação em áreas pós-mineração contribui para o processo de reconstituição das funções do solo como o acúmulo de matéria orgânica e o desenvolvimento e atividade da comunidade microbiana (Izquierdo *et al.*, 2005; Chodak e Niklińska, 2010). O sucesso no estabelecimento de comunidades vegetais depende da recuperação da atividade biológica do solo, considerando que a conversão de nutrientes, principalmente C, N, P e S pela comunidade microbiana é indispensável às plantas. O tempo de revegetação e as estratégias de recuperação são fatores importantes para a melhoria da estrutura e o funcionamento dessas comunidades (Rogers e Tate, 2001).

Indicadores ecológicos, além de refletirem o funcionamento dos solos, são úteis para o monitoramento de distúrbios e/ou recuperação dos ecossistemas (Hinojosa, 2004). As propriedades físicas, químicas e microbiológicas do solo podem ser indicadoras importantes na avaliação dos processos de restauração. Devido a importância dos micro-organismos no funcionamento do solo, as comunidades microbianas e suas atividades têm sido reconhecidas como elementos essenciais para avaliar os impactos e/ou recuperação ocorridos em ambientes degradados (Claassens *et al.*, 2008). Sendo assim, podem ser utilizadas como indicadoras eficientes para estimar alterações na qualidade do solo durante a reabilitação de locais em recuperação (Claassens *et al.*, 2005).

Este trabalho foi conduzido para testar as hipóteses de que (i) o tempo de revegetação promove a recuperação das propriedades químicas, físicas e biológicas do solo e (ii) o efeito sazonal sobre as propriedades biológicas do solo é maior em áreas mineradas e revegetadas recentemente do que em áreas mais antigas. Para isso foram avaliadas as mudanças nas propriedades químicas, físicas e microbiológicas do solo, em três áreas de

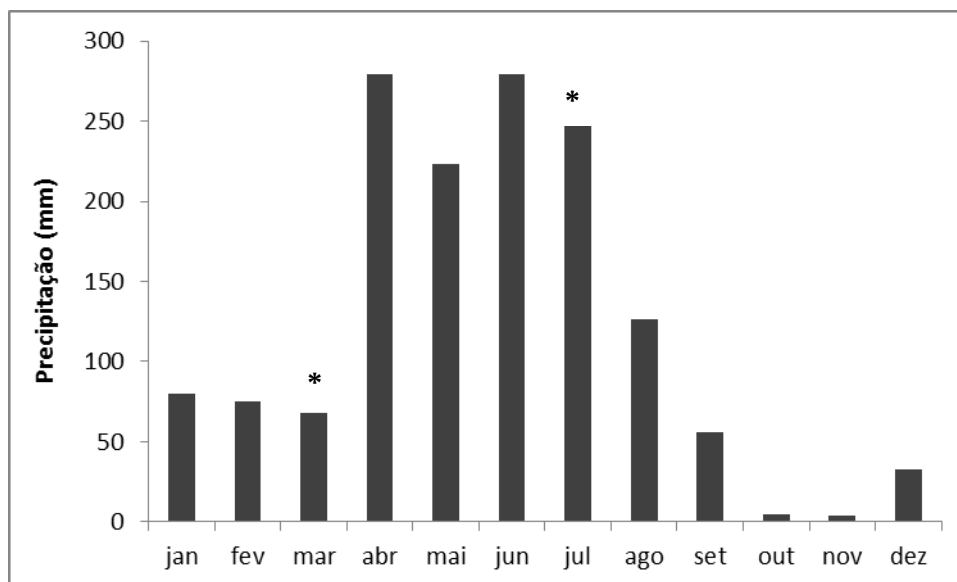


dunas litorâneas mineradas revegetadas nos anos de 1989, 2001 e 2009 e em uma área de duna com vegetação nativa (referência), nos períodos seco e chuvoso de 2010, 2011 e 2012.

## Material e métodos

### Local de coleta

O estudo foi realizado em áreas de dunas de propriedade da Empresa “Millennium Inorganic Chemicals Mineração”, localizada no Município de Mataraca, no norte do Estado da Paraíba (6°28'20"- 6°30'00"S, 34°55'50"- 34°57'10"W). O clima do local é tropical chuvoso do tipo Am, segundo a classificação de Köppen, com temperatura média anual de 25,5°C. A precipitação média anual de 1.795 mm, com a maior parte das chuvas concentradas nos meses de abril a agosto (Figura 1). O solo é do tipo Neossolo Quartzarênico, com formação geológica predominante composta por rochas sedimentares argilo-arenosas, sobrepostas por dunas fixas, onde são encontrados minerais de interesse econômico, como ilmenita ( $\text{FeO TiO}_2$ ), zirconita ( $\text{ZrO}_2 \text{ SiO}_2$ ) e rutilo ( $\text{TiO}_2$ ) (Souza *et al.*, 2010).



**Figura 1.** Média dos índices pluviométricos (mm) correspondente aos três anos de coleta (2009, 2010 e 2011) na região das áreas de coleta, Mataraca, PB. \* meses de coleta. Fonte: Millenium Inorganic Chemicals Mineração.

Para a extração dos minerais foi feita a remoção da vegetação nativa e o solo superficial dessas áreas (camada 0-30 cm) foi transportado e posteriormente utilizado para recobrir áreas replantadas. No processo de mineração, as dunas foram desmontadas e os minérios separados da areia por densidade. O rejeito (areia quartzosa), depositado ao lado dos locais minerados, foi utilizado para remontagem física das dunas. Após a remontagem, as dunas foram recapeadas com o solo superficial antes do plantio das mudas (Souza *et al.*, 2010). Em todas as áreas revegetadas o plantio foi feito em covas de 70 × 20 x 20 cm, com distâncias aproximadas de 2 m entre plantas e entre linhas. O solo das áreas mais jovens (revegetadas em 2001 e 2009) foi adubado, apenas na ocasião do plantio, com uma mistura orgânica de bagaço de cana e esterco de gado (pH (H<sub>2</sub>O) = 7,3; N = 1,4 g kg<sup>-1</sup>; C = 147,2 g kg<sup>-1</sup>; P = 0,4 g kg<sup>-1</sup> e K = 1,5 g kg<sup>-1</sup>). A área com 21 anos foi adubada com N-P-K (4-14-8).

As áreas de dunas estudadas foram revegetadas com espécies nativas das famílias Leguminosae, Anacardiaceae, Bignoniaceae, Rhamnaceae, Myrtaceae, Rubiaceae, Chrysobalanaceae, Annonaceae, Malvaceae, Sapotaceae. Os levantamentos florísticos, realizados pela Empresa, indicam que há uma mudança gradativa da cobertura vegetal de acordo com o tempo de revegetação, ou seja, há uma sucessão vegetal ocorrendo naturalmente durante o período de estudo nas áreas revegetadas. As diferenças entre as formações florísticas nas áreas revegetadas foram encontradas, principalmente, quando as áreas mais velhas (formação vegetal arbórea com espécies das famílias mencionadas acima) foram comparadas com a área mais jovem, onde predominam espécies herbáceas das famílias Leguminosae, Poaceae, Rubiaceae, Malvaceae, Lamiaceae, Passifloraceae, Loganiaceae, Turneraceae, Euphorbiaceae, Violaceae e Asteraceae.

## **Amostragem**

### **Coleta das amostras**

O estudo considerou a cronosequência de três locais pós-minerados e revegetados em 1989, 2001 e 2009 (RV89, RV01, RV09) e em uma área de duna preservada (duna natural – DN), adjacente aos locais revegetados, considerada área de referência. Os solos foram amostrados durante os anos de 2010, 2011 e 2012, em duas épocas do ano (seca e chuvosa). Em cada área foram estabelecidas quatro parcelas de 5 × 20 m e em cada parcela foram retiradas seis subamostras de solo, na camada de 0-10, para formar uma amostra composta. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos, conduzidas ao laboratório e mantidas em refrigeração (±4°C) até as análises bioquímicas e microbiológicas. O conteúdo de areia nesses solos variou de 94,3 a 96,5% e os conteúdos

de silte e argila foram menores que 5,5%. Todos os solos analisados apresentaram textura similar, sendo classificados como arenosa.

### **Análises das propriedades do solo**

#### *Propriedades físicas e químicas*

Nas amostras de solo foram determinadas a umidade (Debosz *et al.*, 1999), a macroporosidade, a microporosidade, a densidade (Embrapa, 1999), o pH do solo, medido em solução de solo/água destilada (1:2,5 v/v) e os teores de P, K, Ca, Mg, Na e carbono orgânico (CO), a acidez potencial (H + Al), a soma de base (SB) e a capacidade de troca catiônica (CTC) foram determinadas segundo metodologia da Embrapa (1999). O teor de nitrogênio foi determinado segundo Bezerra e Barreto (2004).

#### *Propriedades microbiológicas*

O carbono da biomassa microbiana (CBM) foi avaliado pelo método de fumigação-extração (Vance *et al.*, 1987), utilizando clorofórmio livre de etanol como agente fumigante e sulfato de potássio (0,5 M) como extrator. A oxidação foi feita com dicromato de potássio (0,66 mM) em meio ácido concentrado e a quantificação do carbono foi realizada pela titulação com sulfato ferroso amoniacal (0,033 N), usando difenilamina 1% como indicador (De-Polli e Guerra, 1997). Os valores de CBM foram calculados pela diferença do C nas amostras de solo fumigadas e não fumigadas, considerando-se  $K_C = 0,41$  (Babuija *et al.*, 2010). A respiração basal (RES) foi estimada a partir da captura, em NaOH (0,5 M), do CO<sub>2</sub> liberado de amostras de solo (50 g) incubadas em sistema fechados durante sete dias. O C-CO<sub>2</sub> foi quantificado por titulação com HCl 0,1 N (Alef e Nannipieri, 1995). O quociente metabólico microbiano ( $qCO_2$ ) foi determinado pela razão entre o C-CO<sub>2</sub> liberado pela respiração microbiana e o carbono da biomassa microbiana do solo (Anderson e Domsch, 1985). A atividade das enzimas  $\beta$ -glicosidase (BETA), arilsulfatase (ARIL) e fosfatase ácida (FOS) foram baseadas na determinação colorimétrica do p-nitrofenol liberado em 1 g de solo após incubação por 1 h a 37 °C. Para cada enzima foram utilizados substratos específicos em soluções tamponadas (1 ml), as soluções de p-nitrofenil- $\beta$ -D-glucosídeo (25 mM) e p-nitrophenil-sulfato (0,05 M) foram utilizadas para estimar a atividade da  $\beta$ -glicosidase e da arilsulfatase, respectivamente (Tabatabai e Bremmer, 1970) e a solução de p-nitrofenil-fosfato (0,05 M) foi utilizada para avaliar a atividade da fosfatase ácida (Tabatabai e Bremmer, 1969). O p-nitrofenol liberado foi extraído por filtração e determinado a 400 nm. Para a atividade da desidrogenase (DES),

amostras de solo (3 g) foram incubadas com 3 ml de TTC 1% (2,3,5 cloreto de trifeniltetrazólio) em banho-maria (37 °C) por 24 h, a reação foi interrompida com 10 mL de metanol e o TTF (trifenilformazan) formado pela ação da desidrogenase na redução do TTC foi medido em espectrofotômetro a 485 nm (Casida *et al.*, 1964). A hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA) foi estimada em amostras de 5 g de solo incubadas com 20 ml de tampão fosfato de potássio (66 mM; pH 7,6) e 200 µL de solução de diacetato de fluoresceína (0,02 g/10 mL de acetona) por 30 min, a reação foi interrompida pela adição de 20 ml de acetona e as leituras realizadas a 490 nm (Swisher e Carrol, 1980).

### **Análise dos dados**

As análises univariadas foram realizadas para avaliar os dados dos três anos de amostragem sem considerar os períodos de coleta (seco e chuvoso). Os dados das variáveis químicas, físicas e biológicas dos três anos de coleta foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As análises foram realizadas com auxílio do programa Assistat 7.6 beta (2011).

Técnicas de análise multivariada foram usadas para avaliar os efeitos do tempo de revegetação e das mudanças sazonais nas propriedades químicas e físicas do solo e nas propriedades microbiológicas (funcionamento da comunidade microbiana) em áreas de dunas mineradas e reabilitadas. Essas diferenças foram representadas graficamente pela técnica de ordenação de NMS (non-metric multidimensional scaling) (Sokal, 1979; McCune e Grace, 2002), empregando-se a medida de distância de Sorensen. Ordenações foram realizadas para visualizar o efeito da cronosequência e da sazonalidade sobre as propriedades do solo. Para a análise da cronosequência foram utilizadas as médias dos três anos de coleta (2009, 2010 e 2011) das áreas revegetadas e da duna natural (referência) independente da época amostragem. Para avaliar o efeito da sazonalidade foram utilizadas as médias dos três anos de coleta (2009, 2010 e 2011) das áreas revegetadas e da duna natural em cada período de amostragem (seco e chuvoso). Antes da análise dos dados, as matrizes principais: a) matriz de dados das propriedades físicas e químicas do solo (pH, P, Ca, Mg, Na, K, CO, N, H+Al, SB, CTC, Ds, MAC, MIC) e b) matriz composta pelas variáveis microbiológicas (CBM, RES, qCO<sub>2</sub>, BETA, ARIL, FOS, DES e FDA) foram relativizadas pelos seus respectivos totais, nas colunas, para eliminar as diferenças nas unidades das variáveis.

As variações nas propriedades físicas e químicas e nas propriedades microbiológicas entre os locais revegetados nos três anos avaliados foram caracterizadas pelos coeficientes de correlação de Pearson ( $r$ ) entre as propriedades físicas e químicas e biológicas avaliadas e os escores dos eixos da ordenação por NMS. Diferenças estatísticas da qualidade física e química do solo e o funcionamento microbiano, nas condições de revegetação e duna natural dos três anos de coleta, foram atribuídas utilizando-se o procedimento de permutação multi-resposta (MRPP) que foi baseado na distância de Sørensen ( $p < 0,05$ ). Os valores de  $p$  foram ajustados (correção de Bonferroni) dependendo do número de combinações pareadas. Todos os testes multivariados foram feitos utilizando o programa estatístico PC-ORD versão 6.0 (McCune e Mefford, 2011).

## Resultados

### *Caracterização física e química do solo*

Dentre as propriedades físicas do solo avaliadas, apenas a microporosidade apresentou diferença entre as áreas (Tabela 1), com os menores valores encontrados na área de revegetação mais recente (RV09).

**Tabela 1.** Propriedades físicas do solo em áreas de dunas revegetadas após mineração e área de duna natural. Os valores correspondem às médias das amostras coletadas durante os três anos de avaliação nas estações seca e chuvosa.

|      | Ds    | MACROP<br>% | MICROP<br>% |
|------|-------|-------------|-------------|
| DN   | 1,3 a | 49,2 a      | 8,4 a       |
| RV89 | 1,2 a | 48,9 a      | 10,9 a      |
| RV01 | 1,3 a | 49,6 a      | 9,0 a       |
| RV09 | 1,3 a | 46,1 a      | 7,3 a       |
| CV%  | 3,82  | 5,46        | 12,36       |

DN – duna natural; RV89, RV01, RV09 - áreas revegetadas em 1989, 2001 e 2009; Ds – densidade do solo; MACROP - macroporosidade; MICROP – microporosidade.

As análises das características químicas do solo mostraram diferenças significativas entre os solos de algumas das áreas revegetadas e o solo da área de duna natural (Tabela 2). Não foram encontradas diferenças significativas entre as áreas avaliadas e a duna natural apenas para o teor de K e para a soma de bases (SB) (Tabela 2).

A área revegetada em 1989 (RV89) apresentou características mais próximas à DN diferindo apenas quanto ao pH, e aos teores de P, N e H+Al do solo. O solo da DN apresentou os maiores valores de Ca, Mg, Na, CO, CTC e H+Al. Os maiores teores de P e N foram encontrados em RV89, não sendo registradas diferenças entre RV01, RV09 e a DN. Em geral, os menores valores das variáveis químicas foram registrados em RV09,

com exceção do pH e do H+Al, que foram menores na DN e em RV01, respectivamente. Apesar das diferenças entre os locais, o pH é considerado levemente ácido em todos eles (Tabela 2).

**Tabela 2.** Propriedades químicas do solo das áreas de dunas revegetadas após mineração e de duna natural. Os valores correspondem às médias das amostras coletadas durante os três anos de avaliação nas estações seca e chuvosa.

|      | pH               | P                   | Ca     | Mg                                 | Na     | K      | CO                 | N                  | S.B   | CTC                                | H+Al  |
|------|------------------|---------------------|--------|------------------------------------|--------|--------|--------------------|--------------------|-------|------------------------------------|-------|
|      | H <sub>2</sub> O | mg.dm <sup>-3</sup> |        | cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> |        |        | g.Kg <sup>-1</sup> | g.Kg <sup>-1</sup> |       | cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> |       |
| DN   | 5,3 b            | 6,2 b               | 2,1 a  | 0,7 a                              | 0,07 a | 0,08 a | 13,9 a             | 0,6 b              | 2,9 a | 5,2 a                              | 2,3 a |
| RV89 | 6,0 a            | 14,4 a              | 2,0 a  | 0,6 a                              | 0,06 a | 0,08 a | 13,5 a             | 1,2 a              | 2,8 a | 5,0 a                              | 1,9 b |
| RV01 | 6,2 a            | 6,7 b               | 1,7 ab | 0,4 b                              | 0,04 b | 0,07 a | 9,2 b              | 0,5 b              | 2,1 a | 3,5 b                              | 1,2 c |
| RV09 | 5,9 ab           | 3,2 b               | 1,3 b  | 0,4 b                              | 0,05 b | 0,02 a | 10,2 b             | 0,5 b              | 1,8 a | 4,0 b                              | 2,3 a |
| CV%  | 1,81             | 30,25               | 15,67  | 12,83                              | 22,85  | 16,21  | 9,79               | 39,52              | 13,15 | 7,82                               | 8,71  |

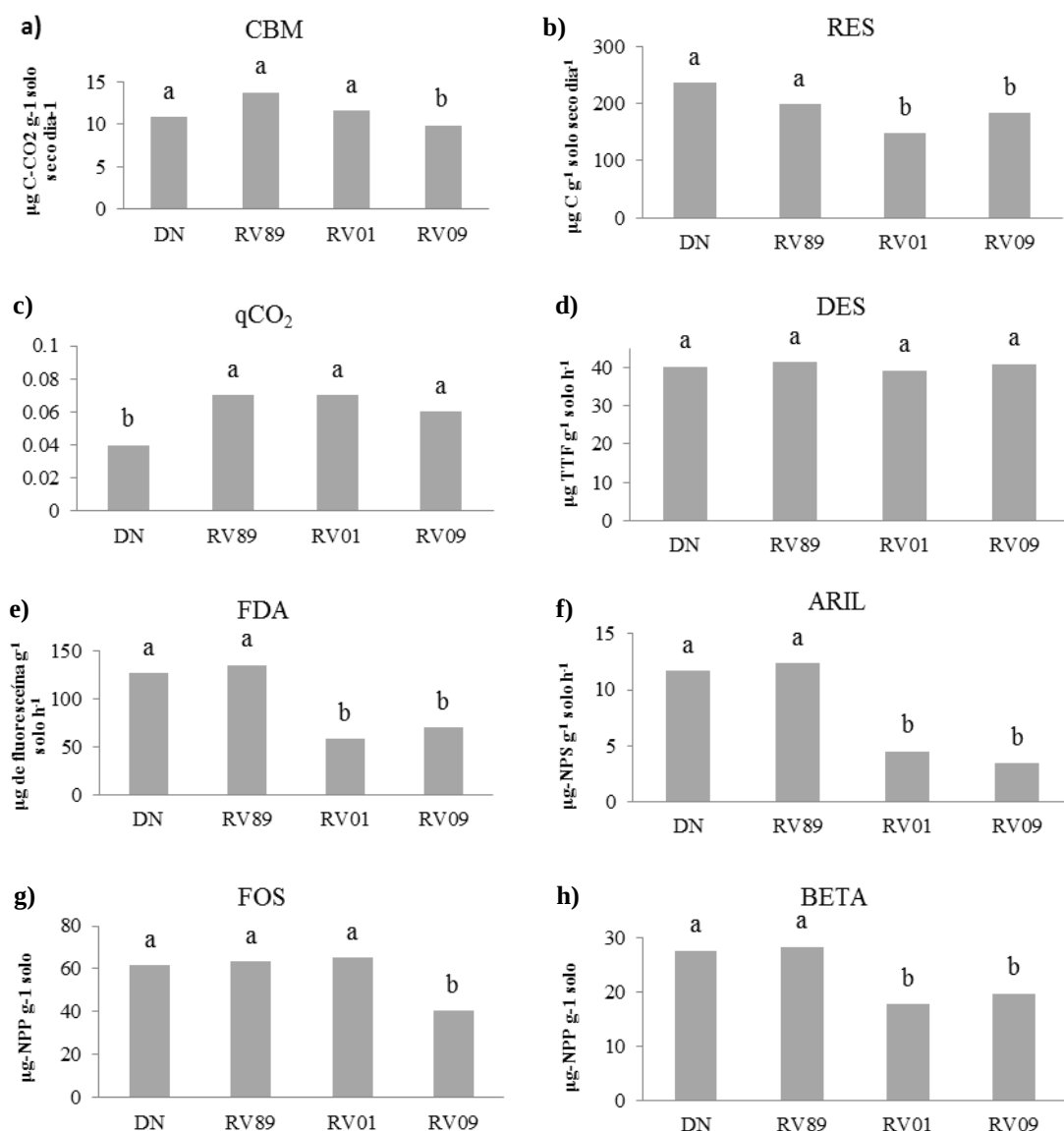
DN – duna natural; RV89, RV01, RV09- áreas revegetadas em 1989, 2001 e 2009; P – fosforo; Ca – cálcio; Mg – magnésio; Na – sódio; K – potássio; C – carbono; N – nitrogênio; SB – soma de bases; CTC – capacidade de troca catiônica; H+Al – acidez potencial.

### *Propriedades biológicas*

As propriedades biológicas (funcionamento microbiano) do solo variaram significativamente ( $p < 0,05$ ) em função do tempo de revegetação (Figura 2). Os maiores valores absolutos de CBM foram encontrados nas áreas com mais tempo de revegetação (RV89 e RV01) e na DN (Figura 2a).

Para a respiração microbiana, os maiores valores foram encontrados em RV89 e DN e os menores em RV01 e RV09 (Figura 2b). O quociente metabólico ( $qCO_2$ ) (C da respiração/ C biomassa) foi utilizado para avaliar a eficiência do uso dos substratos pelos micro-organismos do solo. Os menores valores de  $qCO_2$  foram observados na área de DN; entre as áreas revegetadas não foram observadas diferenças (Figura 2c).

Dentre as enzimas avaliadas, apenas a atividade da desidrogenase (DES) não apresentou diferença entre a área de DN e pelo menos uma das áreas revegetadas (Figura 2d). A maior atividade da hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA) e da atividade das enzimas arilsulfatase (ARIL), fosfatase ácida (FOS) e beta glicosidase (BETA) foram registradas em DN e RV89 (Figura 2e, 2f, 2g e 2h). Menores valores da atividade do FDA e das enzimas ARIL e BETA foram registradas nas áreas de revegetação mais recentes RV01 e RV09 (Figura 2e, 2f, e 2h), a atividade da FOS foi menor apenas em RV09.



**Figura 2.** Médias do Carbono da biomassa microbiana (CBM), respiração basal (RES), quociente metabólico ( $qCO_2$ ) e atividade das enzimas desidrogenase (DES), hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA), arilsulfatase (ARIL), fosfatase (FOS) e  $\beta$ -glicosidase (BETA), referentes a seis coletas de solo nos anos de 2010, 2011 e 2012, nas estações seca e chuvosa em áreas de dunas revegetadas após mineração e área de duna natural. DN – duna natural; RV89, RV01 RV09- áreas revegetadas em 1989, 2001 e 2009

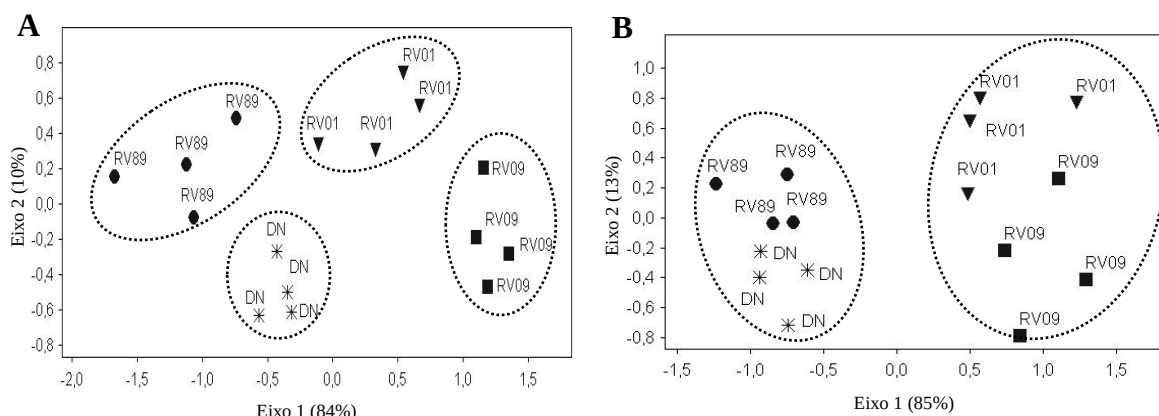
### *Propriedades físicas e químicas do solo e funcionamento microbiano em uma cronosequência de dunas revegetadas*

As ordenações geradas a partir das propriedades físicas e químicas do solo e aquela gerada a partir das propriedades biológicas da cronosequência de áreas revegetadas e área natural foram muito similares com relação à percentagem da variabilidade total dos dados

expressada nos dois eixos. Os gráficos explicaram 94% da variação dos dados das propriedades físicas e químicas e 98% das propriedades microbiológicas (Figura 3 A e B). Nos dois casos, a variabilidade representada foi de 84% e 85% ao longo do eixo 1 e de 10% e 13% ao longo do eixo 2 para as propriedades físicas e químicas e propriedades microbiológicas, respectivamente (Figura 3 A e B). No que se refere ao posicionamento das áreas nos gráficos apresentados, observou-se que em ambos a área de duna nativa e a RV09 (área mais jovem) foram localizadas predominantemente na parte inferior do gráfico e as áreas revegetadas mais antigas (RV89 e RV01) permaneceram na parte superior do gráfico.

O conjunto de propriedades físicas e químicas, o qual é definido aqui como qualidade química do solo, foi diferente entre todas as áreas amostradas de acordo com a análise de MRPP (Figura 3A).

Já para a qualidade microbiológica, a área RV89 foi similar à área de DN as quais foram diferentes das áreas revegetadas há menos tempo (RV01 e RV09) (Figura 3B). A análise mostrou também que não houve diferença entre as áreas RV01 e RV09, mesmo existindo uma diferença de oito anos no tempo de revegetação entre essas áreas (Figura 3B).



**Figura 3.** Diferenças entre as propriedades físicas e químicas do solo (A); e entre as propriedades biológicas do solo (B) em uma cronosequência de dunas revegetadas e uma área de duna natural (referência), de acordo com a ordenação NMS. Áreas incluídas na mesma elipse não diferem a 5% de probabilidade pela análise de MRPP. DN- duna natural; RV89, RV09, RV01 - áreas revegetadas em 1989, 2001 e 2009

O eixo 1 apresentou correlações negativas com o Ca, Mg, K, CO, N, CTC, MACROP, MICROP e Ds (Tabela 3), portanto as variações ocorridas ao longo do eixo 1, para a maioria das propriedades químicas e físicas, mostra o incremento dessas variáveis



no sentido da área RV09 em direção a DN. No que se refere às propriedades químicas e físicas associadas ao eixo 2, observou-se um gradiente positivo das variáveis Mg, CO, Na e SB em direção as áreas DN e RV09 localizadas na parte inferior do gráfico (Figura 3A; Tabela 3).

**Tabela 3.** Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre as propriedades físicas e químicas (A) e propriedades microbiológicas (funcionamento microbiano) (B) e os scores do eixo 1 e 2 da ordenação NMS (A e B), respectivamente.

| Propriedades físicas e químicas (A) | R         |            |
|-------------------------------------|-----------|------------|
|                                     | Eixo1 NMS | Eixo 2 NMS |
| pH                                  | -0,21ns   | 0,29ns     |
| P                                   | -0,21ns   | 0,30ns     |
| Ca                                  | -0,74***  | -0,05ns    |
| Mg                                  | -0,75***  | -0,51*     |
| Na                                  | -0,14ns   | -0,61**    |
| K                                   | -0,83***  | -0,40ns    |
| CO                                  | -0,74***  | -0,57*     |
| N                                   | -0,76***  | 0,09ns     |
| S.B.                                | 0,03ns    | -0,75***   |
| CTC                                 | -0,60**   | 0,60**     |
| H+Al                                | -0,43ns   | 0,13ns     |
| Ds                                  | -0,62**   | 0,39ns     |
| MACROP                              | -0,71***  | -0,29ns    |
| MICROP                              | -0,79***  | -0,07ns    |

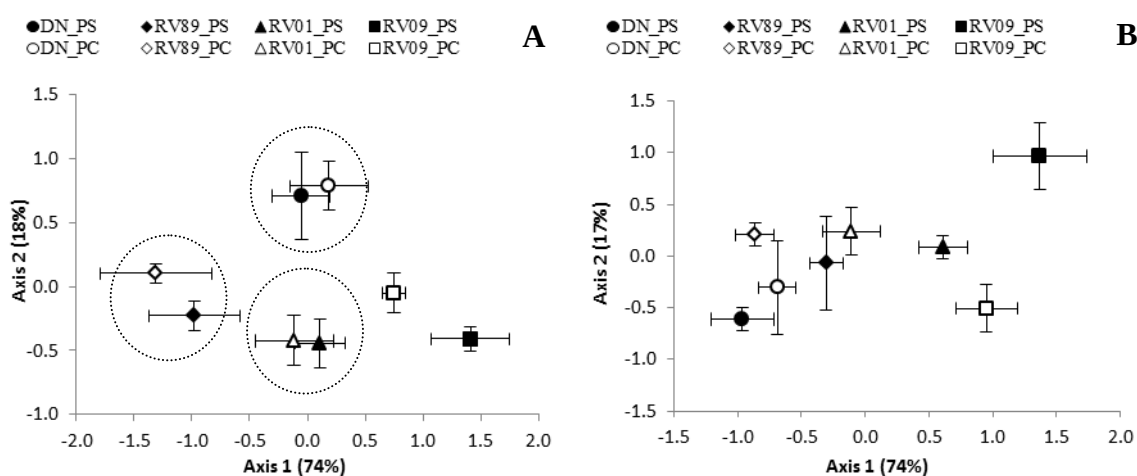
| Propriedades microbiológicas (B) | R         |            |
|----------------------------------|-----------|------------|
|                                  | Eixo1 NMS | Eixo 2 NMS |
| CBM                              | -0,50*    | 0,64**     |
| RES                              | -0,70***  | -0,65 **   |
| qCO <sub>2</sub>                 | -0,26ns   | 0,02ns     |
| DES                              | -0,21ns   | 0,03ns     |
| FDA                              | -0,94***  | -0,02ns    |
| ARIL                             | -0,94***  | 0,12ns     |
| BETA                             | -0,90***  | -0,04ns    |
| FOS                              | -0,51*    | 0,68**     |

P – fosforo; Ca – cálcio; Mg – magnésio; Na – sódio; K – potássio; CO – carbono orgânico; N – nitrogênio; SB – soma de bases; CTC – capacidade de troca catiônica; H+Al – acidez potencial; Ds – densidade do solo; MACROP - macroporosidade; MICROP – microporosidade; CBM - Carbono da biomassa microbiana; RES - respiração basal; qCO<sub>2</sub> - quociente metabólico; enzimas: DES – desidrogenase; FDA - hidrólise do diacetato de fluoresceína; ARIL – arilsulfatase; BETA - β-glicosidase; FOS - fosfatase. ns - não significativo; \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$

As correlações negativas entre as propriedades microbiológicas e o eixo 1 indicaram um incremento no CBM, na RES, na hidrólise de FDA e na atividade das enzimas ARIL, BETA e FOS da área mais jovem (RV09) em direção a DN (Figura 3B; Tabela 3).

*Efeito da sazonalidade sobre as propriedades do solo em áreas de dunas revegetadas e duna natural*

Para avaliar o efeito sazonal sobre as propriedades do solo, as variáveis químicas e físicas foram analisadas separadamente das biológicas (Figura 4 A e B). As ordenações que representam as mudanças nas propriedades do solo nas diferentes áreas e nos períodos seco e chuvoso, mostram que nas duas ordenações a maior parte da variação dos dados (74%) foi associada ao eixo 1, enquanto o eixo 2 representou 17% para as propriedades físicas e químicas e 18% para as propriedades microbiológicas (Figura 4 A e B).



**Figura 4.** Mudanças nas propriedades físicas e químicas do solo (A); e nas propriedades biológicas do solo (B) em resposta a variações sazonais e diferentes tempos de revegetação, de acordo com a ordenação NMS. Os símbolos representam o centroide das amostras sob cada condição de revegetação e época de amostragem ( $n = 4$ ). As barras de erro horizontais e verticais indicam o desvio padrão das amostras em relação aos respectivos centroides ao longo dos eixos 1 e 2, respectivamente. DN: duna natural; PS: período seco; PC: período chuvoso; RV89, RV01, RV09- áreas revegetadas em 1989, 2001 e 2009

As propriedades físicas e químicas avaliadas não apresentaram diferenças em função da época de amostragem (seca ou chuvosa) nas áreas de DN e RV89, de acordo com a técnica do MRPP ( $p < 0,05$ ). Apenas a área mais jovem (RV09) apresentou diferença entre os períodos amostrados (Tabela 4). É possível observar também que ambientes mais jovens estão sujeitos a maiores variações dessas características em função da sazonalidade.

De acordo com as propriedades microbiológicas avaliadas nos períodos seco e chuvoso, todas as áreas diferem entre si pela análise de MRPP ( $p < 0,05$ ). Ao contrário do que aconteceu para as propriedades físicas e químicas, que variaram apenas na área mais jovem as propriedades microbiológicas foram mais afetadas pelas variações sazonais, independente da idade da revegetação ou ainda na área natural (Tabela 4).

**Tabela 4.** Valores de *p* por comparações da MRPP das propriedades físicas e químicas e propriedades microbiológicas de amostras de solos de áreas de dunas revegetadas e de duna natural em duas épocas do ano, seca e chuvosa.

| Áreas_períodos      | Valores de <i>p</i>             |                              |
|---------------------|---------------------------------|------------------------------|
|                     | Propriedades físicas e químicas | Propriedades microbiológicas |
| DN_PS vs DN_PC      | 0,837                           | 0,006*                       |
| RV89_ PS vs RV89_PC | 0,210                           | 0,005*                       |
| RV01_PS vs RV01_PC  | 0,635                           | 0,006*                       |
| RV09_PS vs RV09_PC  | 0,006*                          | 0,005*                       |

DN: duna natural; PS: período seco; PC: período chuvoso; RV89, RV09, RV01 - áreas revegetadas em 1989, 2001 e 2009; \*  $p < 0,05$ .

## Discussão

Dentre as propriedades físicas do solo avaliadas, apenas a microporosidade apresentou diferença entre as áreas, com os menores valores encontrados em RV09. A textura dos solos afeta o acúmulo de carbono e as propriedades microbianas no solo (Chodak e Niklinska, 2010a). Em solos de textura arenosa, como no caso de dunas praieiras, o acúmulo de material vegetal é essencial, pois proporciona melhor agregação e proteção do C e da biomassa microbiana. Em dunas mineradas na Europa, Chodak e Niklinska (2010a) constataram que solos arenosos com maiores percentagens de silte e argila apresentavam maior capacidade no armazenamento de C e N do que solos arenosos com teores de silte e argila menores do que 10%.

O conteúdo de carbono orgânico do solo variou significativamente entre as áreas revegetadas e natural. As áreas mais jovens (RV01 e RV09) apresentaram menores teores de C, o que está relacionado com as perdas de matéria orgânica durante a retirada do material vegetal e a remoção do solo de cobertura utilizado para a reconstrução das dunas. O processo de remoção do solo pode ter contribuído para a diminuição do conteúdo de carbono orgânico na área recentemente vegetada. Em áreas recentemente vegetadas a entrada de carbono via material vegetal (serapilheira, rizodeposição) é menor. Após a retirada da floresta, as quantidades e a diversidade dos compostos de C utilizados pelos micro-organismos como fontes de energia são reduzidos, o que pode afetar a biomassa microbiana e, conseqüentemente, os processos por ela mediados (Badiane *et al.*, 2001; Adachi *et al.*, 2006). As similaridades encontradas nos conteúdos de C entre a duna RV89 e a DN mostram que o restabelecimento da vegetação em áreas pós-mineração contribui para o processo de restauração da matéria orgânica dando início a formação de um novo solo.

O acúmulo progressivo de matéria orgânica favorece o desenvolvimento e atividade da comunidade microbiana (Graham e Haynes, 2004; Izquierdo *et al.*, 2005; Chodak e Niklinska, 2010). Por exemplo, com o aumento do tempo de revegetação (RV89 e RV01) foi possível observar um aumento no CBM. Mudanças na biomassa microbiana também foram observadas em áreas mineradas em processo de recuperação espontânea, após extração de carvão na República Tcheca (Baldrian *et al.*, 2008) e em florestas de coníferas nos Estados Unidos (Mummey *et al.*, 2010).

Assim como no CBM e a taxa de respiração microbiana (RES) foram maiores na área RV89 e DN. Maiores taxas respiratórias podem indicar aumento na degradação da MOS ou altos níveis de produtividade na área com maior tempo de revegetação (Islam e Weill, 2000; Gama-Rodrigues *et al.*, 2005). Não foram observadas diferenças entre as áreas mais jovens (RV01 e RV09). A respiração (C-CO<sub>2</sub>) é um indicativo de alta atividade biológica e pode ser uma característica desejável quando se considera que ela é um sinal da rápida decomposição de resíduos orgânicos em nutrientes disponíveis para as plantas (Chaer e Tótola, 2007).

Os valores encontrados para o  $qCO_2$  mostraram que a área de duna natural foi a mais estável em termos de funcionamento metabólico microbiano, e que as áreas revegetadas, mesmo a área mais velha (RV89), ainda se encontram em processo de recuperação. Menores valores de  $qCO_2$  são associados a ecossistemas maduros e mais estáveis. Ao contrário, valores mais elevados estão normalmente associados com ecossistemas jovens (Anderson e Domsch, 1990). Esse índice supostamente declina em processos de sucessão quando há recuperação após distúrbios, indicando eficiência microbiana na conservação do C do solo (Wardle e Ghani, 1995). Assim como nesse estudo, Carneiro *et al.* (2008) observaram que os maiores valores de  $qCO_2$  foram registrados nas áreas mineradas, indicativo do estresse provocado pela atividade mineradora. Segundo esses autores, nessas áreas ocorre um maior gasto de energia para a manutenção da comunidade microbiana.

Os menores valores de atividades enzimáticas registradas nas áreas mais jovens, principalmente em RV09, indicam mudanças na atividade microbiana total no solo em função das perturbações impostas pelo processo de mineração. Porém, o aumento da atividade dessas enzimas, nas áreas com mais idade, mostra a recuperação do funcionamento do solo em relação ao tempo de revegetação. As mudanças vegetacionais

afetaram a maioria das enzimas avaliadas, com exceção da desidrogenase. Maior atividade da desidrogenase em solos sob vegetação nativa tem sido retratada em outras áreas (Chaer e Tótola, 2007; Longo *et al.*, 2010).

Maiores atividades enzimáticas em função da idade vegetacional também foram registradas em outros estudos de reabilitação de áreas mineradas. Em áreas de extração de carvão na República Tcheca, o aumento na atividade da arilsulfatase foi observado nos locais com mais tempo de revegetação, 21 e 45 anos, que tiveram suas atividades similares às encontradas nas áreas de referência (Baldrian *et al.*, 2008). Esses autores também registraram que a atividade da fosfatase foi afetada pelo tempo de sucessão, com as maiores atividades registradas nos solos de sucessão mais antigos (Baldrian *et al.*, 2008). Aumento na atividade da  $\beta$ -glicosidase de acordo com o aumento do tempo de reabilitação também foi observado por Badiane *et al.* (2001), em áreas de sucessão espontânea.

A hidrólise do FDA e as atividades da arilsulfatase e da  $\beta$ -glicosidase foram significativamente menores na área com revegetação mais recente (RV09). A atividade da fosfatase foi menor na área RV01. Menores atividades enzimáticas podem estar relacionadas aos menores conteúdos de biomassa microbiana e aos menores conteúdos de nutrientes nessas áreas. O aumento da atividade das enzimas nas áreas com mais idades demonstram a recuperação do solo em relação ao tempo de revegetação, uma vez que, a atividade de enzimas do solo pode aumentar em função do crescimento das plantas e, eventualmente, ao aumento nas quantidades totais de carbono do solo (Udawatta *et al.*, 2009).

Mudanças nas propriedades químicas e físicas entre as áreas nos dois períodos avaliados foram registradas apenas na área mais jovem (RV09), sugerindo que o solo com pouca cobertura vegetal sofre maior influência dos regimes de seca e chuva. A recuperação das propriedades químicas e físicas do solo, em geral, ocorre de forma mais gradual após grandes distúrbios, como os causados pela mineração nas áreas de dunas avaliadas.

Os resultados indicam que as propriedades microbiológicas do solo foram eficientes em indicar a recuperação do solo nas áreas de dunas revegetadas a partir de 20 anos de recuperação, uma vez que a área RV89 apresenta um funcionamento microbiano similar ao da área de referência (DN). O aumento na maior parte das variáveis biológicas avaliadas em direção a DN caracterizam essas propriedades como capazes de refletir a funcionalidade dos solos e orientar o sentido da recuperação desses solos degradados (Hinojosa *et al.*, 2004). Barreto *et al.* (2008) relatam similaridades nas propriedades

biológicas de áreas degradadas e áreas naturais a partir de 10 anos de recuperação. No entanto nesse estudo a recuperação das propriedades biológicas não foi observada na área com a idade média de 10 anos (RV01), uma vez que, essas áreas apresentaram atividade biológica similar à área mais jovem (RV09).

Quanto ao efeito da sazonalidade sobre as propriedades do solo, é importante entender de que forma os padrões sazonais interferem na variação dos parâmetros químicos, físicos e biológicos do solo, sendo um pré-requisito para sugerir indicadores que visem à avaliação de mudanças no funcionamento do solo em função de manejo ou estratégias de recuperação (Mendes *et al.*, 2012). As variações sazonais causaram mudanças entre as áreas no período seco e chuvoso, principalmente quando são avaliadas as propriedades biológicas (Figura 4; Tabela 5). Mudanças sazonais afetando o funcionamento biológico do solo, também foram registradas por Mendes *et al.* (2012).

Estudos conduzidos em área de mineração de carvão, na República Tcheca, mostraram que a atividade da fosfatase foi afetada pela sazonalidade e pelo tempo de sucessão (Baldrian *et al.*, 2008). Mudanças na atividade da fosfatase em função da sazonalidade também foram observadas em áreas de savana, na Venezuela (López-Gutierrez *et al.*, 2004). Mudança na atividade microbiana em função da sazonalidade, em geral, está relacionada aos conteúdos de umidade do solo, descrita como provável regulador na dinâmica temporal de diferentes atividades biológicas em diferentes condições de vegetação e processos de recuperação do solo (Criquet *et al.*, 2004; Baldrian *et al.*, 2010).

## **Conclusões**

A revegetação das áreas mineradas promove a recuperação das propriedades químicas, físicas e biológicas do solo em dunas litorâneas de extração de ilmenita, rutilo e zirconita; entretanto, os benefícios da revegetação são diferenciados em função das propriedades do solo avaliadas e do tempo de reabilitação das dunas;

Os indicadores microbiológicos foram mais eficientes em mostrar a recuperação das áreas em função do tempo de revegetação do que os indicadores químicos e físicos;

Os resultados evidenciam a recuperação dos processos biológicos em função do tempo de revegetação, mostrando a recuperação do funcionamento microbiano a partir de 20 anos de revegetação em relação à duna natural (referência);

As variáveis químicas e físicas são mais insensíveis às mudanças sazonais, não apresentando diferença entre os períodos seco e chuvoso a partir dos 10 anos de revegetação. Ao contrário, as respostas biológicas são mais influenciadas pelas variações sazonais e independem da idade vegetacional.

#### **4. MUDANÇAS NA ESTRUTURA E FUNCIONAMENTO DA COMUNIDADE MICROBIANA EM ÁREAS DE DUNAS MINERADAS COM DIFERENTES IDADES DE REVEGETAÇÃO <sup>2</sup>**

##### **Resumo**

O objetivo deste trabalho foi estudar a relação entre a revegetação e o restabelecimento da comunidade e do funcionamento microbiano em áreas afetadas por atividade de mineração (ilmenita, rutilo e zirconita). Amostras de solo foram coletadas em dois períodos (seco e chuvoso) em uma cronosequência de dunas revegetadas e em uma duna preservada (referência). Foram avaliadas a composição dos ésteres metílicos de ácidos graxos (FAMES) e propriedades microbianas do solo, como carbono da biomassa microbiana, respiração microbiana e atividade de enzimas do solo. Os resultados mostram que a estrutura da comunidade microbiana muda em função do período do ano, seco ou chuvoso (variação temporal) e a comunidade microbiana nas dunas naturais foi menos alterada pelas variações sazonais, do que nas dunas revegetadas, enquanto o contrário foi observado para o funcionamento microbiano. Em geral os fungos sapróbios aumentam na duna natural e as bactérias gram negativas nas áreas revegetadas mais jovens. Com o passar do tempo a estrutura e o funcionamento microbiano do solo são gradativamente recuperados.

**Palavras-chave:** biomassa microbiana, cronosequência, FAMES

---

<sup>2</sup> Artigo submetido como Escobar, I.E.C., Fernandes, M.F., Santos, V.M., Cavalcante, U.M.T., Maia, L.C. Mudanças na estrutura e funcionamento da comunidade microbiana em áreas de dunas mineradas com diferentes idades de revegetação. *Plant and Soil*.



## Introdução

Atividades de mineração causam alterações em um número cada vez maior de áreas naturais. Além de atingir a estabilidade do solo e diminuir o conteúdo de nutrientes e matéria orgânica, a mineração promove perdas significativas de biodiversidade nos compartimentos acima e abaixo do solo (Izquierdo *et al.*, 2005; Claassens *et al.*, 2012). Os distúrbios causados pelas atividades de mineração alteram ainda o funcionamento e a estrutura das comunidades microbianas, a transferência de energia, a ciclagem de nutrientes e o restabelecimento de plantas (Mummey *et al.*, 2002b).

A recomposição das características edáficas está diretamente relacionada ao estabelecimento das comunidades vegetais e da atividade biológica do solo (Claassens *et al.*, 2005). Assim, o desenvolvimento de estratégias que auxiliam o processo de restauração ao longo do tempo, como a revegetação e o uso do solo de cobertura antes do plantio são importantes, pois promovem o crescimento e o desenvolvimento da microbiota do solo nos locais pós-minerados. O monitoramento de áreas em processo de recuperação tem sido feito a partir de indicadores de qualidade físicos, químicos e biológicos, não apenas para avaliar o funcionamento, mas também para avaliar e orientar o progresso da restauração dos solos ao longo do tempo (Ramsey *et al.*, 2012; Silva *et al.*, 2012).

Devido ao papel fundamental dos micro-organismos e de suas atividades no funcionamento do solo, eles têm sido os principais indicadores utilizados para monitorar os processos de distúrbio e/ou recuperação nos solos (Hinojosa *et al.*, 2004; Chaer e Tótola, 2007; Huang *et al.*, 2011).

No presente estudo as mudanças na estrutura das comunidades microbianas (ECM) e do funcionamento microbiano (FM) em função das variações temporais foram estudados em uma cronosequência em áreas de dunas mineradas para extração dos minerais ilmenita, rutilo e zirconita. Como forma de avaliar a recuperação das áreas degradadas, dunas de restinga preservadas adjacentes aos locais alterados foram utilizadas como referência de condições naturais.

O trabalho foi conduzido para testar as hipóteses de que (i) após um período de 21 anos a revegetação por plantio de mudas nativas é um método eficiente para restabelecer a estrutura da comunidade e o funcionamento microbiano às suas condições originais e (ii) as comunidades de áreas não degradadas são mais estáveis às variações sazonais. Para isto foram avaliadas as mudanças na composição dos ésteres metílicos de ácidos graxos (FAMES) e nas propriedades microbianas do solo, em três áreas de dunas litorâneas mineradas e em processo de recuperação há um, nove e 21 anos e em uma duna com

vegetação nativa (controle) em períodos do ano diferenciados pelas condições de precipitação pluviométrica (seco e chuvoso).

## **Material e métodos**

### **Local de coleta**

O estudo foi realizado em áreas de dunas de propriedade da Empresa “Millennium Inorganic Chemicals Mineração”, localizada no Município de Mataraca, ao norte do Estado da Paraíba ( $6^{\circ}28'20''$ -  $6^{\circ}30'00''$ S,  $34^{\circ}55'50''$ -  $34^{\circ}57'10''$ W). O clima do local é tropical chuvoso (tipo Am de Köppen) com temperatura média anual de  $25,5^{\circ}\text{C}$ , variando de  $23,7^{\circ}\text{C}$ , em julho, a  $26,8^{\circ}\text{C}$  em dezembro. A precipitação média anual é de 1.795 mm, com 80% das chuvas concentradas nos meses de abril a agosto. O solo das áreas é do tipo Neossolo Quartzarênico. A formação geológica predominante é composta por rochas sedimentares argilo-arenosas, sobrepostas por dunas fixas, onde são encontrados minerais de interesse econômico, como ilmenita ( $\text{FeO TiO}_2$ ), zirconita ( $\text{ZrO}_2 \text{ SiO}_2$ ) e rutilo ( $\text{TiO}_2$ ) (Souza *et al.*, 2010). Para extração dos minerais, a vegetação é removida e a camada superficial (30 cm) do solo é transportada e posteriormente utilizada para recobrir áreas que serão replantadas. No processo de mineração as dunas são desmontadas e os minérios são separados da areia por densidade. O rejeito (areia quartzosa) depositado ao lado dos locais minerados é utilizado para remontagem física das dunas. Após a remontagem, as dunas são recapeadas com o solo de cobertura para que se inicie o processo de revegetação desses locais (Souza *et al.*, 2010). O plantio das mudas em todas as áreas foi feito em covas medindo aproximadamente 70 x 20 x 20 cm, a distância de plantio utilizada foi de aproximadamente 2 m entre plantas e entre linhas. Apenas as áreas com um e nove anos foram adubadas no momento do plantio com uma mistura orgânica de bagaço de cana e esterco de gado ( $\text{pH (H}_2\text{O)} = 7,3$ ;  $\text{N} = 1,4 \text{ g kg}^{-1}$ ;  $\text{C} = 147,2 \text{ g kg}^{-1}$ ;  $\text{P} = 0,4 \text{ g kg}^{-1}$  e  $\text{K} = 1,5 \text{ g kg}^{-1}$ ) por cova. A área com 21 anos foi adubada com N-P-K (4-14-8). O estudo foi conduzido em três áreas de dunas mineradas com um ano, nove anos e 21 anos de revegetação. Como área de referência foi utilizada uma duna com vegetação de restinga arbórea preservada (duna natural). A revegetação das áreas estudadas foi feita com espécies de plantas nativas representadas principalmente pelas famílias Leguminosae, Anacardiaceae, Bignoniaceae, Rhamnaceae, Myrtaceae, Rubiaceae, Chrysobalanaceae, Annonaceae, Malvaceae e Sapotaceae. Porém, levantamentos florísticos desses locais realizados pela Empresa indicam que há uma mudança gradativa da cobertura vegetal de acordo com o tempo de revegetação, não tendo, as áreas estudadas a mesma formação

vegetal nos diferentes tempos de recuperação, devido principalmente à sucessão ocorrida por dispersão de sementes. As diferenças entre as formações florísticas nas áreas revegetadas acontecem principalmente quando as áreas mais velhas, com formação predominantemente arbórea de espécies das famílias mencionadas são comparadas com a área mais jovem, onde predominam espécies herbáceas das famílias Leguminosae, Poaceae, Rubiaceae, Malvaceae, Lamiaceae, Passifloraceae, Loganiaceae, Turneraceae, Euphorbiaceae, Violaceae, Asteraceae, entre outras.

### Amostragem

Amostras de solo foram coletadas em março (período seco) e julho (período chuvoso) de 2010, a uma profundidade de 0-10 cm. Em cada área foram traçadas quatro parcelas de 5 × 20 m, e em cada parcela foram coletadas seis subamostras para formar uma amostra composta. As amostras de solo foram acondicionadas em sacos plásticos, conduzidas ao laboratório e mantidas em refrigeração (4 °C) até o processamento para as análises bioquímicas e microbiológicas. As características químicas do solo estão apresentadas na Tabela 1. Todos os solos analisados apresentaram textura similar e foram incluídos na classe textural de solos arenosos. O conteúdo de areia nesses solos variou de 94,3 a 96,5% e os conteúdos de silte e argila foram menores que 5,5%.

**Tabela 1.** Caracterização química dos solos das áreas estudadas: dunas com vegetação natural (DN) e diferentes tempos de revegetação (um, nove e 21 anos), em Mataraca, PB.

| Áreas   | P    | Fe   | Cu                  | Zn  | Mn   | K   | Na  | Al                                 | Ca  | Mg  |
|---------|------|------|---------------------|-----|------|-----|-----|------------------------------------|-----|-----|
|         |      |      | mg dm <sup>-3</sup> |     |      |     |     | cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> |     |     |
| DN      | 3,5  | 66,5 | 0,1                 | 1,8 | 19,9 | 0,1 | 0,1 | 0,1                                | 1,8 | 0,6 |
| 1 ano   | 3,3  | 46,5 | 0,1                 | 0,5 | 10,2 | 0,0 | 0,0 | 0,1                                | 1,1 | 0,5 |
| 9 anos  | 10,0 | 83,0 | 0,1                 | 2,5 | 17,8 | 0,1 | 0,1 | 0,1                                | 2,0 | 0,6 |
| 21 anos | 18,3 | 59,6 | 0,1                 | 3,1 | 22,5 | 0,1 | 0,1 | 0,1                                | 1,8 | 0,7 |

DN: duna natura; anos: tempo de revegetação.

### Análises das propriedades biológicas do solo

O carbono da biomassa microbiana (CBM) foi estimado pelo método de fumigação-extração (Vance *et al.*, 1987). A fumigação foi realizada com clorofórmio livre de etanol em 10 g solo, seguido da extração do carbono com sulfato de potássio (0,5 M) e oxidação com dicromato de potássio (0,66 mM) em meio ácido concentrado. A quantificação do carbono foi realizada pela titulação com sulfato ferroso amoniacal (0,033 N) usando difenilamina 1% como indicador (De-Polli e Guerra, 1997). Os valores de CBM

foram calculados pela diferença do C nas amostras de solo fumigadas e não fumigadas, considerando-se  $K_C = 0,41$  (Babuija *et al.*, 2010). A respiração basal (RES) foi estimada a partir da incubação de amostras de solo (50 g) em sistema fechado com 10 mL de NaOH (0,5 M), por sete dias. O CO<sub>2</sub> capturado pela solução de NaOH (0,5 M) foi quantificado por titulação com HCl 0,1 N (Alef e Nannipieri, 1995). A atividade das enzimas  $\beta$ -glicosidase (BETA) e arilsulfatase (ARIL) foi determinada de acordo com Tabatabai e Bremner (1970), exceto pelo uso de tolueno, que foi excluído durante os ensaios. A atividade da fosfatase ácida (FOS) foi determinada de acordo com Tabatabai e Bremner (1969), omitindo-se o tolueno. A atividade dessas enzimas é baseada na determinação colorimétrica do p-nitrofenol liberado em 1 g de amostras de solo após incubação por 1 h a 37 °C. Para cada enzima foram utilizados substratos específicos em soluções tamponadas. Foram utilizados 1 ml das soluções de *p*-nitrofenil- $\beta$ -D-glucosídeo (25 mM), *p*-nitrophenil-sulfato (50 mM) e *p*-nitrofenil-fosfato (50 mM) para a atividade da  $\beta$ -glicosidase, arilsulfatase e fosfatase, respectivamente. O *p*-nitrofenol liberado foi extraído por filtração e determinado colorimetricamente a 400 nm. A atividade da desidrogenase (DES) foi realizada seguindo a metodologia de Casida *et al.* (1964). Em resumo, amostras de solo (3 g) foram incubadas com 3 ml de TTC 1% (2,3,5 cloreto de trifeniltetrazólio) em banho-maria (37 °C) por 24 h. Após esse período, a reação foi interrompida com 10 mL de metanol e o TTF (trifenilformazan), formado pela ação da desidrogenase na redução do TTC, foi medido em espectrofotômetro (485 nm). A atividade da urease foi mensurada por determinação da amônia liberada após a incubação de 2,5 g de solo em solução de ureia (0,2 M) a 37 °C por 2 horas, a leitura das amostras foi feita em espectrofotômetro (690 nm) (Kandeler e Geber, 1988). A hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA) foi estimada de acordo com Swisher e Carrol (1980) em amostras de 5 g de solo incubadas com 20 ml de tampão fosfato de potássio (66 mM; pH 7,6) e 200  $\mu$ L de solução de diacetato de fluoresceína (0,02 g 10 mL<sup>-1</sup> acetona) por 30 min. Após este período, a reação foi interrompida pela adição de 20 ml de acetona e as leituras realizadas em espectrofotômetro (490 nm).

### **Extração de Ácidos Graxos com Ligações Éster (EL-FAME)**

A estrutura da comunidade microbiana foi investigada por meio da técnica dos perfis de ácidos graxos de ligação éster extraídos do solo, de acordo com Schutter e Dick (2000). Em resumo, amostras de 3 g de solo na umidade de campo foram pesadas em tubos de vidro de centrífuga (35 mL) com tampa revestida de teflon. Adicionaram-se ao solo 15

mL de uma solução de KOH (0,2 M) preparada em metanol, sendo os tubos em seguida agitados por 15 s em agitador tipo vortex e incubados durante 1 h a 37 °C. A cada 10 min durante o período de incubação, os frascos foram submetidos à agitação em vortex para aumentar a eficiência de extração dos ácidos graxos e formação de suas formas metiladas (ésteres metílicos de ácidos graxos, FAME). Após a incubação adicionaram-se 3 mL de ácido acético (1 M) às amostras, que foram homogeneizadas; a seguir, 10 mL de hexano foram acrescentados aos tubos para promover a partição das fases orgânica e aquosa. As amostras foram centrifugadas por 10 min (480 × g). A fase orgânica com o hexano, a qual contém os FAMES, foi transferida com uma pipeta para tubos de ensaio e seca em atmosfera de N<sub>2</sub> ultrapuro a 37 °C. Após a secagem, os FAMES foram ressuspensos em hexano e transferidos para tubos de cromatografia âmbar (GC vials). Amostras de 1 µL foram injetadas em cromatógrafo a gás equipado com coluna capilar (5% bifênil-95% dimetilpolisiloxano, 25 m) e detector de ionização de chama (FID). O equipamento foi programado para promover um incremento de 4 °C por minuto, desde 120 a 270 °C. As temperaturas do injetor e do detector foram de 250 °C e 280 °C, respectivamente (Fernandes *et al.*, 2011). Os picos cromatográficos foram identificados com base na comparação entre os tempos de retenção de FAMES microbianos das amostras e de padrões comerciais (BAME e FAME 37, Supelco). Variações na estrutura da comunidade microbiana foram interpretadas pela análise da concentração dos FAMES característicos de cada grupo relativo ao total destes compostos nas amostras. Os seguintes grupos microbianos, com respectivos biomarcadores identificados entre parênteses, foram analisados: bactérias gram-positivas (15:0i + 15:0a + 16:0i + 17:0i + 17:0a), bactérias gram-negativas (16:1ω7c + 18:1 ω7c + 17:0cy + 19:0cy), actinomicetos (16:0 10 Me), FMA (16:1 ω5c) e fungos sapróbios (18:2ω6c + 18:1ω9c). A relação entre biomarcadores de fungos e bactérias (F/B) foi calculada pela razão entre a massa dos FAMES de origem fúngica (18:2ω6c + 18:1ω9c) (Kaiser *et al.*, 2010) e bacteriana (15:0i + 15:0a + 16:0i + 17:0i + 17:0a + 17:0cy, 18:1ω7c + 19:0cy) (Frostegård e Bååth, 1996). A razão entre o 19:0cy e o seu precursor (18:1ω7c) foi utilizada para avaliar o estado de estresse microbiano da comunidade de bactérias (Guckert *et al.*, 1986).

### **Análise dos dados**

Técnicas de análise multivariada foram usadas para avaliar os efeitos do tempo de revegetação sobre a estrutura e o funcionamento da comunidade microbiana nas duas estações (seca e chuvosa). Diferenças na estrutura da comunidade microbiana foram

representadas graficamente pela técnica de ordenação de NMS (non-metric multidimensional scaling) (Sokal, 1979; McCune e Grace, 2002), empregando-se a medida de distância de Sorensen. Antes da análise dos dados, a matriz principal com os dados de comunidade microbiana foi relativizada na linha para eliminar diferenças das quantidades totais de ácidos graxos obtidos nas amostras. Esta relativização também faz com que o foco da análise seja a composição relativa dos FAMES dos diferentes grupos de micro-organismos na comunidade microbiana das amostras. Os FAMES que ocorreram em quantidades menores do que 2% das do ácido graxo 16:0 foram excluídos da matriz de dados, previamente à relativização pelo total de FAMES em cada amostra.

As análises da estrutura da comunidade microbiana e do funcionamento microbiano foram realizadas conjuntamente para as duas épocas de amostragem e também para cada época separadamente.

As ordenações obtidas foram submetidas ao procedimento de rotação de modo a permitir o posicionamento das amostras da duna natural ao lado esquerdo do eixo 1. As variações na estrutura das comunidades microbianas entre os locais e os tempos avaliados foram caracterizadas pelos coeficientes de correlação de Pearson ( $r$ ) entre a contribuição percentual dos FAMES dos grupos microbianos nas amostras e os escores dos eixos da ordenação por NMS. Análises de correlações de Pearson também foram realizadas para descrever as relações das variáveis biológicas com a estrutura da comunidade microbiana (escores das amostras nos eixos das ordenações por NMS) e com os biomarcadores dos grupos microbianos, individualmente.

Diferenças estatísticas na estrutura das comunidades microbianas entre as condições de revegetação e estações amostradas foram atribuídas utilizando o procedimento de permutação multi-resposta (MRPP) baseado na distância de Sørensen ( $p < 0,05$ ). Uma matriz composta pelos dados de nove variáveis microbiológicas (CBM, RES, FOS, BETA, ARIL, FDA, DES, URE e a relação 19:0cy/18:1 $\omega$ 7, descritora do estresse bacteriano), relativizadas pelos respectivos totais nas colunas, foi empregada para descrever as diferenças entre as amostras quanto ao funcionamento das comunidades microbianas.

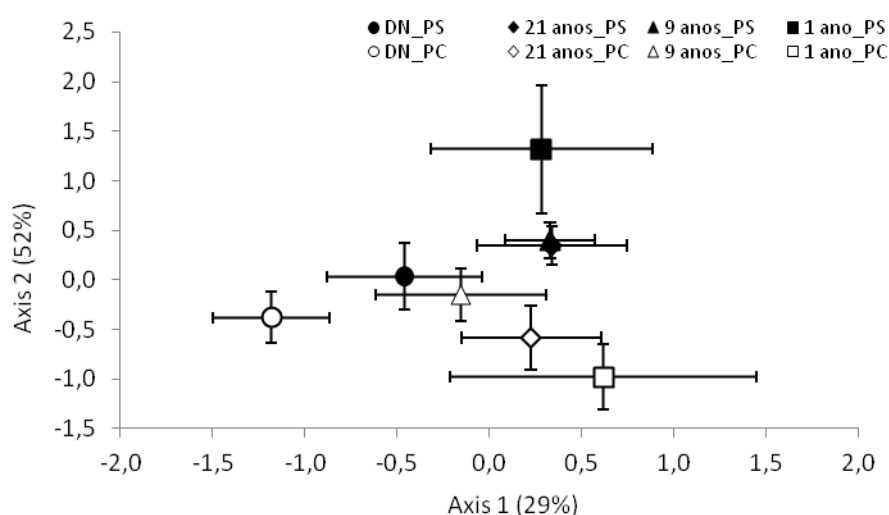
O teste de Mantel foi empregado para testar a hipótese nula de não correlação entre a estrutura das comunidades microbianas e o funcionamento microbiológico do solo, nos dois períodos conjuntamente e em cada um dos períodos. Para este teste, as matrizes descritas, contendo os dados de composição de ácidos graxos e os dados das nove variáveis microbiológicas, foram utilizadas para descrever a estrutura da comunidade microbiana e o

funcionamento microbiológico, respectivamente. Para todos os testes multivariados utilizou-se o programa estatístico PC-ORD versão 6.0 (McCune e Mefford, 2011).

## Resultados

### Influência temporal na estrutura das comunidades microbianas

Um gráfico bidimensional de ordenação por NMS representou 81% do total de variabilidade dos dados originais da estrutura das comunidades microbianas investigada pela técnica de EL-FAME (Figura 1). A maior parte da variação dos dados (52%) foi associada ao eixo 2, enquanto o eixo 1 representou 29% da variabilidade dos dados (Figura 1).



**Figura 1.** Diferenças entre a estrutura da comunidade microbiana em solos de duna nativa e dunas revegetadas em resposta a variações temporais e diferentes tempos de revegetação, de acordo com a ordenação NMS. Os símbolos representam o centroide das amostras sob cada condição de revegetação e época de amostragem ( $n = 4$ ). As barras de erro horizontais e verticais indicam o desvio padrão das amostras em relação aos respectivos centroides ao longo dos eixos 1 e 2, respectivamente. DN: duna natural; PS: período seco; PC: período chuvoso; 1 ano; 9 anos e 21 anos: tempo de revegetação.

As comunidades estabelecidas nos dois períodos do ano (seco e chuvoso) diferiram entre si ( $p < 0,001$ ), de acordo com a técnica do MRPP. No entanto, não foi observado incremento na estabilidade das comunidades microbianas nas variações temporais em função do tempo de revegetação das áreas previamente mineradas (Tabela 2).

As diferenças na estrutura das comunidades microbianas entre os períodos amostrais foi fortemente representada ao longo do eixo 2, com as áreas do período seco posicionadas na parte superior do gráfico e as do período chuvoso na parte inferior (Figura 1). Correlações positivas foram observadas entre os escores deste eixo e os biomarcadores

de bactérias gram positivas 15:0i ( $r = 0,74$ ;  $p < 0,001$ ) e 16:0i ( $r = 0,82$ ;  $p < 0,001$ ), indicando um incremento relativo destes micro-organismos nas amostras da época seca. Por sua vez, bactérias gram negativas foram relativamente favorecidas na época chuvosa, como indicado pelas correlações negativas entre dois de seus biomarcadores, 16:1 $\omega$ 7c ( $r = -0,63$ ;  $P < 0,01$ ) e 17:0cy ( $r = -0,59$ ;  $P < 0,05$ ), e os escores do eixo 2.

**Tabela 2.** Valores de  $p$  por comparações da MRPP do perfil da comunidade microbiana obtida a partir dos FAMES de amostras de solos de dunas natural e revegetadas em duas épocas do ano, seca e chuvosa.

| Áreas/períodos                         | Valores de $p$ |
|----------------------------------------|----------------|
| Duna Natural - PS vs Duna Natural – PC | 0,023*         |
| 21 anos - PS vs 21 anos – PC           | 0,005**        |
| 9 anos - PS vs 9 anos – PC             | 0,007**        |
| 1 ano - PS vs 1 ano – PC               | 0,009**        |

PS: período seco; PC: período chuvoso; ano(s): tempo de revegetação. \*, \*\*:  $p < 0,05$  e  $p < 0,01$ , respectivamente, pelo MRPP.

### Estrutura da comunidade microbiana na cronosequência

Em função da forte influência sazonal sobre as bactérias gram positivas e gram negativas, a resposta desses dois grupos microbianos às diferentes idades de revegetação não pôde ser investigada na análise conjunta das duas épocas de amostragem. Deste modo, para melhor interpretação das mudanças nos componentes da estrutura das comunidades microbianas e suas relações com as propriedades biológicas dos solos em função da idade das áreas, os períodos seco e chuvoso foram analisados separadamente.

As ordenações das comunidades microbianas em ambos os períodos foram muito similares com relação à percentagem da variabilidade total dos dados de ácidos graxos representadas pelos dois eixos e à partição desta variabilidade entre eles. Nos dois casos, a variabilidade representada ao longo do eixo 1 (55 e 56%) nos períodos seco e chuvoso, respectivamente, foi expressivamente maior que a do eixo 2 (32 e 30%) nos mesmos períodos, respectivamente. Independentemente do período avaliado, as estruturas das comunidades das áreas revegetadas há nove e 21 anos não diferiram entre si, mas foram distintas das estabelecidas nas dunas naturais e nas áreas com um ano de revegetação, ocupando posições intermediárias entre essas ao longo do eixo 1 (Figura 2).

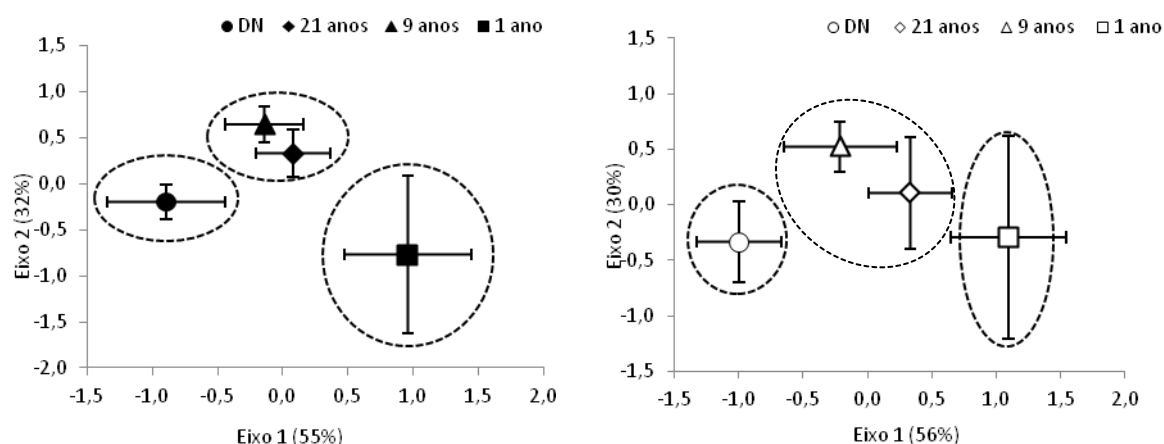
No período seco, a distribuição das amostras ao longo do eixo 1 apresentou correlação negativa com FMA ( $r = -0,87$ ;  $P < 0,001$ ) e correlação positiva com bactérias gram negativas (BGN) ( $r = 0,65$ ;  $P < 0,01$ ) (Tabela 3). No período chuvoso, variações de FMA e BGN ao longo do eixo 1 foram similares às observadas na estação seca. No



entanto, apenas no período chuvoso, gradientes de concentrações de biomarcadores de fungos sapróbios e actinomicetos também foram observados ao longo deste eixo (Tabela 3). Neste caso, incrementos de fungos sapróbios foram verificados no sentido da duna natural em relação à área com um ano de revegetação, enquanto os de actinomicetos tiveram comportamento oposto.

Em relação aos componentes microbianos associados ao eixo 2, observou-se que na época seca as áreas de dunas nativas e as revegetadas há um ano foram localizadas na parte inferior do gráfico e apresentaram maior similaridade entre si do que com as de revegetação mais antiga, localizadas na parte superior do gráfico. Na estação seca, a distribuição das amostras no sentido ascendente deste eixo foi correlacionada positivamente com os biomarcadores de bactérias gram positivas (BGP) e FMA, e negativamente com os de fungos sapróbios. Ainda que com o tempo de revegetação a similaridade geral entre áreas mineradas e dunas naturais tenha sido incrementada, áreas revegetadas há mais tempo (nove e 21 anos) apresentaram, durante a época seca, condições mais favoráveis ao estabelecimento de bactérias gram positivas e FMA, e menos favoráveis ao de fungos sapróbios em relação às dunas naturais e às áreas recém-revegetadas (Tabela 3).

Na época chuvosa, BGP e fungos sapróbios apresentaram os mesmos padrões de variação observados no período seco, em relação ao eixo 2 na época seca (Tabela 3). No entanto, diferentemente da estação seca, a distribuição das amostras ao longo do eixo 2 na época chuvosa não foi associada às concentrações do biomarcador de FMA (Tabela 3).



**Figura 2.** Mudanças na estrutura da comunidade microbiana em solos de duna nativa e dunas revegetadas em resposta a diferentes idades vegetacionais, de acordo com a

ordenação NMS. Os símbolos representam o centroide das amostras sob cada condição de revegetação e época de amostragem ( $n = 4$ ). As barras de erro horizontais e verticais indicam o desvio padrão das amostras em relação aos respectivos centroides ao longo dos eixos 1 e 2, respectivamente. DN: duna natural; PS: período seco; PC: período chuvoso; 1 ano; 9 anos e 21 anos: tempo de revegetação.

Destaca-se que no período chuvoso, os fungos sapróbios foram negativamente correlacionados com os dois eixos, indicando que o estabelecimento desse grupo microbiano foi especialmente favorecido nas áreas de duna nativa, em oposição às áreas degradadas, independentemente do tempo de revegetação.

**Tabela 3.** Coeficientes de correlação de Pearson ( $r$ ) entre os grupos microbianos e os escores do eixo 1 e 2 da ordenação NMS no período seco e chuvoso.

| Variáveis                | Seco       |            | Chuvoso    |            |
|--------------------------|------------|------------|------------|------------|
|                          | Eixo 1 NMS | Eixo 2 NMS | Eixo 1 NMS | Eixo 2 NMS |
| Bactérias gram-positivas | 0,16ns     | 0,65**     | 0,25ns     | 0,73***    |
| Bactérias gram-negativas | 0,65**     | 0,01ns     | 0,75***    | 0,01ns     |
| Actinomicetes            | 0,11ns     | -0,14ns    | 0,77***    | 0,46ns     |
| FMA                      | -0,87***   | 0,61**     | -0,79***   | 0,13ns     |
| Fungos                   | -0,13ns    | -0,86***   | -0,65**    | -0,81***   |
| F/B                      | -0,28ns    | -0,76***   | -0,68**    | -0,68**    |

\* $P < 0,05$ ; \*\* $P < 0,01$ ; \*\*\* $P < 0,001$ ; FMA: fungos micorrízicos arbusculares; F/B: taxa fungo/bactéria.

As propriedades biológicas do funcionamento microbiano no solo foram correlacionadas com as mudanças na estrutura da comunidade microbiana nas áreas de dunas mineradas e revegetadas (Tabela 4). As correlações negativas entre as propriedades biológicas e os escores do eixo 1 indicaram um incremento na atividade das enzimas fosfatase ácida ( $P < 0,001$ ) e arilsulfatase ( $P < 0,05$ ) em direção a área de referência durante o período seco (Figura 2; Tabela 4). O aumento no indicador de estresse 19:0cy/18:1 $\omega$ 7 nesse período ocorreu em direção a área de revegetação mais jovem. Como indicado pela correlação positiva entre os escores do eixo 1 (Figura 2; Tabela 4). No período chuvoso, as correlações entre o eixo 1 e o estresse bacteriano, FOS e ARIL foram similares às observadas na época seca. No entanto, na estação chuvosa, o CBM e BETA também foram associados à estrutura da comunidade microbiana, com incrementos destas variáveis sendo observados em direção às comunidades das áreas de dunas nativas, ao longo do eixo 1 (Tabela 4).

Com relação aos componentes da estrutura da comunidade associados ao eixo 2, observaram-se correlações positivas com FOS e BETA no período seco, indicando gradiente de aumento da atividade potencial destas enzimas em direção às amostras localizadas na parte superior do gráfico. No entanto, não foram encontradas correlações

entre as variáveis do funcionamento microbiológico e os escores do eixo 2 da estrutura das comunidades microbianas na época chuvosa (Figura 2; Tabela 4).

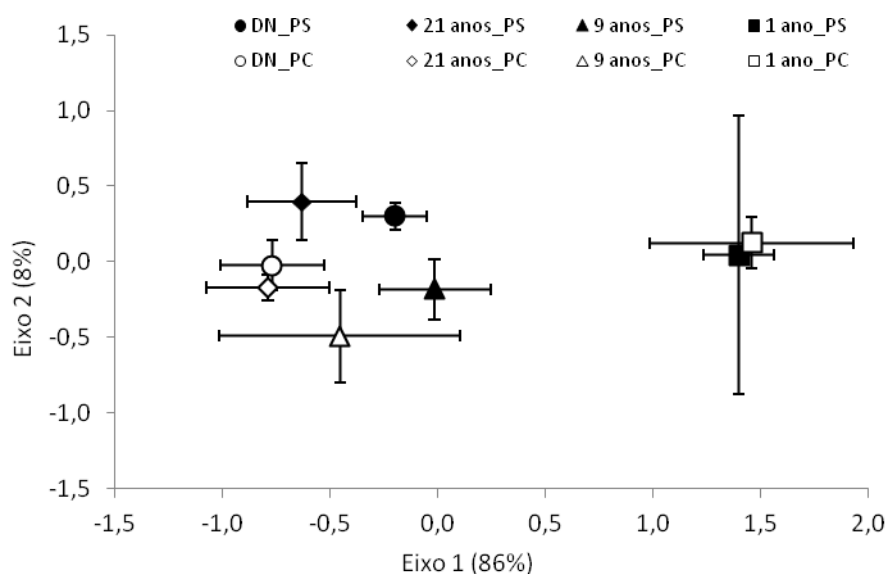
**Tabela 4.** Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre as propriedades do funcionamento microbiano e os scores do eixo 1 e 2 da ordenação NMS nos períodos seco e chuvoso.

| Variáveis     | Seco      |            | Chuvoso   |           |
|---------------|-----------|------------|-----------|-----------|
|               | Eixo1 NMS | Eixo 2 NMS | Eixo1 NMS | Eixo2 NMS |
| 19:0cy/18:1ω7 | 0,50*     | -0,34ns    | 0,68**    | -0,33ns   |
| FOS           | -0,74***  | 0,62**     | -0,66**   | -0,11ns   |
| CBM           | -0,25ns   | 0,47ns     | -0,50*    | -0,23ns   |
| ARIL          | -0,57*    | 0,28ns     | -0,73***  | 0,07ns    |
| BETA          | -0,26ns   | 0,66**     | -0,68**   | 0,07ns    |
| FDA           | -0,48ns   | 0,38ns     | -0,39ns   | 0,21ns    |
| DES           | 0,32ns    | -0,22ns    | -0,43ns   | 0,01ns    |
| RES           | 0,18ns    | 0,24ns     | -0,29ns   | 0,38ns    |
| URE           | -0,01ns   | 0,45ns     | -0,49ns   | 0,16ns    |

\* $P < 0,05$ ; \*\* $P < 0,01$ ; \*\*\* $P < 0,001$ ; FOS: fosfatase; CBM: carbono da biomassa microbiana do solo; ARIL: arilsulfatase; BETA: betaglicosidase; FDA: hidrólise do diacetato de fluoresceína; DES: desidrogenase; RES: respiração microbiana; URE: urease.

### Influência da cronosequência no funcionamento microbiano do solo

Para caracterizar o efeito temporal sobre o funcionamento microbiano (FM) nos períodos seco e chuvoso, as duas épocas foram analisadas em conjunto. A Figura 3 representa as diferenças entre o FM das áreas de dunas revegetadas nos dois períodos. A maior parte da variação dos dados (86%) foi associada ao eixo 1, enquanto o eixo 2 representou apenas 8% da variabilidade dos dados (Figura 3).



**Figura 3.** Diferenças entre o funcionamento microbiano em solos de duna nativa e dunas revegetadas em resposta a variações temporais e diferentes tempos de revegetação, de acordo com a ordenação NMS. Os símbolos representam o centroide das amostras sob cada condição de revegetação e época de amostragem ( $n = 4$ ). As barras de erro horizontais e verticais indicam o desvio padrão das amostras em relação aos respectivos centroides ao longo dos eixos 1 e 2, respectivamente. DN: duna natural; PS: período seco; PC: período chuvoso; 1 ano; 9 anos e 21 anos: tempo de revegetação.

O FM não diferiu ( $p=0,061$ ) entre os períodos, seco e chuvoso, independentemente do estado vegetacional avaliado, de acordo com a técnica do MRPP. No entanto, quando as áreas nas mesmas condições vegetacionais foram comparadas entre si, nos dois períodos, foi possível observar diferença no FM entre esses locais ( $p < 0,01$ ) (Tabela 5).

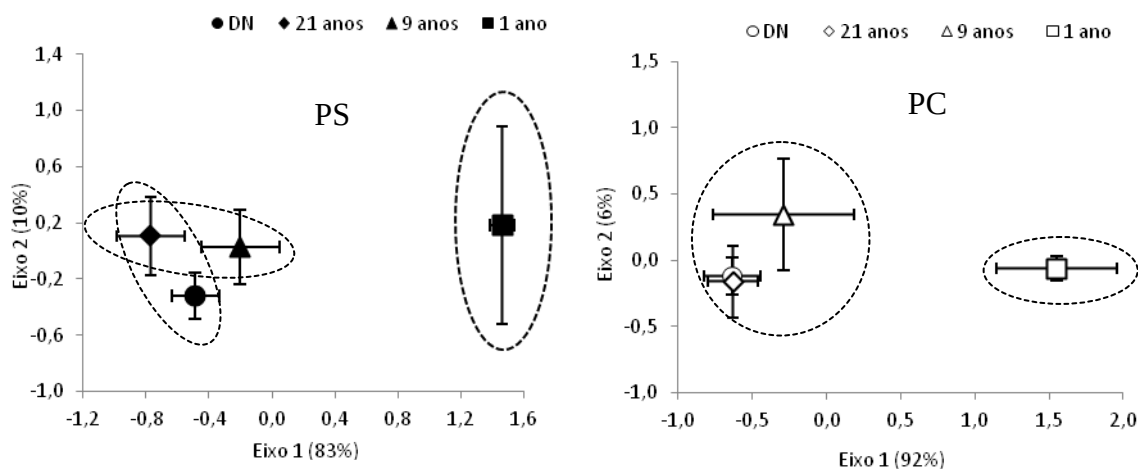
**Tabela 5.** Valores de  $p$  por comparações da MRPP do funcionamento microbiano do solo em áreas de dunas natural e revegetadas em duas épocas do ano, seca e chuvosa.

| Áreas/períodos   | Valores de $p$ |
|------------------|----------------|
| DN_PS vs DN_PC   | 0,009**        |
| 21a_PS vs 21a_PC | 0,007**        |
| 9a_PS vs 9a_PC   | 0,050*         |
| 1a_PS vs 1a_PC   | 0,012*         |

DN: duna natural; PS: período seco; PC: período chuvoso; a: tempo de revegetação em ano(s). \*, \*\*:  $p \leq 0,05$  e  $p < 0,01$ , respectivamente, pelo MRPP.

Assim como as mudanças na estrutura da comunidade microbiana (ECM) áreas de dunas revegetadas, o FM também foi comparado entre os estados vegetacionais nos períodos seco e chuvoso, separadamente. O FM da área revegetada há um ano foi diferente das demais áreas nos dois períodos avaliados. Diferenças no FM entre a duna natural e as áreas revegetadas mais velhas foram percebidas apenas no período seco. Durante o período

chuvoso não houve diferenças no FM da duna natural quando comparado às áreas revegetadas há nove e 21 anos.



**Figura 4.** Mudanças no funcionamento microbológico em solos de duna nativa e dunas revegetadas em resposta a diferentes idades vegetacionais, de acordo com a ordenação NMS. Os símbolos representam o centroide das amostras sob cada condição de revegetação e época de amostragem ( $n = 4$ ). As barras de erro horizontais e verticais indicam o desvio padrão das amostras em relação aos respectivos centroides ao longo dos eixos 1 e 2, respectivamente. DN: duna natural; PS: período seco; PC: período chuvoso; 1 ano; 9 anos e 21 anos: tempo de revegetação.

As propriedades biológicas do solo foram correlacionadas com as mudanças no funcionamento microbiano nas áreas de dunas mineradas e revegetadas nos dois períodos estudados. As correlações negativas entre as propriedades biológicas e os escores do eixo 1 indicaram um incremento na hidrólise de FDA ( $P < 0,001$ ) e na atividade das enzimas fosfatase ácida e arilsulfatase, ( $P < 0,001$ ), betaglicosidase ( $P < 0,01$ ) e urease ( $P < 0,05$ ) em direção a área de referência durante o período seco. No período chuvoso, todas as propriedades biológicas avaliadas, com exceção do indicador relação  $19:0\text{cy}/18:1\omega7$  foram negativamente correlacionadas com o eixo 1, o que significa um incremento dessas propriedades em direção às áreas de duna natural e revegetadas com nove e 21 anos. O aumento da taxa de estresse no período chuvoso ocorreu em direção à área revegetada mais jovem, como indicado pela correlação positiva entre os escores eixos 1 e a relação  $19:0\text{cy}/18:1\omega7$  ( $r = 0,91$ ;  $P < 0,001$ ) (Figura 4; Tabela 6).

Com relação às propriedades biológicas do solo associados ao eixo 2 no período seco, o aumento da taxa de estresse ocorreu em direção às áreas revegetadas, situadas na parte superior do gráfico, como indicado pela correlação positiva entre os escores eixos 2 e a taxa  $19:0\text{cy}/18:1\omega7$  ( $r = 0,73$ ;  $P < 0,001$ ). O eixo 2 correlacionou-se negativamente com a

respiração ( $r=-0,64$ ;  $P<0,01$ ) e positivamente com as enzimas desidrogenase ( $r=0,75$ ;  $P<0,001$ ) e urease ( $r=0,53$ ;  $P<0,05$ ), indicando gradiente de aumento da atividade potencial destas enzimas em direção às amostras localizadas na parte superior do gráfico (Figura 4; Tabela 6). No período chuvoso não foram observadas correlações entre as propriedades biológicas do solo e o eixo 2 (Tabela 6).

**Tabela 6.** Coeficientes de correlação de Pearson ( $r$ ) entre as propriedades do funcionamento microbiano e os scores do eixo 1 e 2 da ordenação NMS nos períodos seco e chuvoso.

| Variáveis              | Seco      |            | Chuvoso   |            |
|------------------------|-----------|------------|-----------|------------|
|                        | Eixo1 NMS | Eixo 2 NMS | Eixo1 NMS | Eixo 2 NMS |
| 19:0cy/18:1 $\omega$ 7 | 0,41ns    | 0,73***    | 0,91***   | -0,23ns    |
| FOS                    | -0,97***  | 0,12ns     | -0,85***  | -0,10ns    |
| CBM                    | -0,47ns   | 0,04ns     | -0,65**   | -0,47ns    |
| ARIL                   | -0,86***  | 0,13ns     | -0,90***  | -0,21ns    |
| BETA                   | -0,69**   | 0,44ns     | -0,88**   | -0,31ns    |
| FDA                    | -0,86***  | 0,35ns     | -0,62**   | 0,49ns     |
| DES                    | 0,18ns    | 0,75***    | -0,75***  | -0,22ns    |
| RES                    | 0,22ns    | -0,64**    | -0,69**   | -0,14ns    |
| URE                    | -0,52*    | 0,53*      | -0,78***  | 0,26ns     |

\* $P<0,05$ ; \*\* $P<0,01$ ; \*\*\* $P<0,001$ ; FOS: fosfatase; CBM: carbono da biomassa microbiana do solo; ARIL:

arilsulfatase; BETA: betaglicosidase; FDA: hidrólise do diacetato de fluoresceína; DES: desidrogenase; RES: respiração microbiana; URE: urease.

## Discussão

### Efeito temporal sobre a estrutura da comunidade microbiana do solo

A análise das áreas considerando os dois períodos, seco e chuvoso, mostrou que houve um forte efeito sazonal sobre a ECM, especialmente um favorecimento na comunidade de BGP no período seco, ocorrendo o inverso para as BGN. Os regimes de umidade do solo têm sido propostos como fatores de grande influência sobre a comunidade microbiana em casos significativos de diferenças sazonais (Bardgett *et al.*, 1999; Swallow *et al.*, 2009; Claassens *et al.*, 2012).

As mudanças observadas na estrutura da comunidade microbiana devido às condições de baixa umidade nos períodos de estiagem, neste estudo, favoreceu o aumento de BGP, como também encontrado por Harrison e Bardgett (2010) e Stursová e Baldrian (2011). Quando as limitações de água diminuíram em decorrência do período chuvoso as houve uma diferença nas proporções das populações de bactérias, diminuindo o número de BGP e aumentando o de BGN. Estudos têm evidenciado que áreas que sofrem maior

estresse tendem a apresentar um incremento na população de BGP (Bardgett *et al.*, 2001). No entanto, quando o estresse é minimizado, as populações de BGP tendem a diminuir, sendo substituídas muitas vezes por populações de BGN (Bardgett *et al.*, 2001; Romaniuk *et al.*, 2011).

Ao se comparar as áreas do presente estudo entre si nos dois períodos foi possível observar que a ECM nas áreas de dunas naturais foi menos alterada pelas variações entre as épocas seca e chuvosa do que nas áreas revegetadas, o que sugere maior estabilidade destas comunidades que das áreas revegetadas, provavelmente pelo maior desenvolvimento da comunidade vegetal nas áreas naturais (Tabela 2). Comunidades microbianas amostradas de solos de florestas naturais foram mais resistentes às mudanças ambientais (pH, temperatura e umidade do solo) do que as encontradas nos solos em processo de recuperação (Hahn e Quideau, 2013); segundo esses autores, as diferenças se devem a um sistema complexo e indireto de interações que ocorrem entre solo e planta.

### **Efeito da revegetação na estrutura da comunidade microbiana do solo**

Mesmo considerando que a revegetação contribui para recompor a comunidade microbiana, os resultados deste estudo evidenciaram que as áreas revegetadas, independente do tempo de revegetação e do período do ano, continuam diferindo da área de duna natural em termos de composição microbiana. Estudos comparando perfis de ácidos graxos microbianos entre solos de campos nativos e campos restaurados mostraram que as quantidades de PLFA nas áreas restauradas aumentaram em função da idade desses locais; porém, mesmo após 24 anos do início da restauração, os perfis microbianos nessas áreas ainda foram diferentes dos perfis nas áreas nativas (McKinley *et al.*, 2005). Diferenças na composição da comunidade microbiana em áreas revegetadas quando comparadas com áreas naturais também foram observadas por Hahn e Quideau (2013) durante sete anos; no entanto, com o aumento da idade, a composição da comunidade microbiana se torna mais semelhante à encontrada nas áreas naturais.

Embora haja evidências de que houve recuperação e estabilização da ECM após um determinado tempo, a ECM não chega a ficar idêntica à registrada nas dunas naturais. Na realidade alguns componentes microbianos (associados ao eixo 2) ficam até mais diferentes das dunas naturais nas áreas mais antigas que na área com um ano de revegetação. Alguns estudos relatam que, dependendo da história e do uso do solo, a ECM de solos restaurados pode nunca mais ser similar a comunidade microbiana encontrada em

solos nativos (Jangid *et al.*, 2010; Huang *et al.*, 2011), mesmo que essas comunidades microbianas se estabilizem.

Além de mostrar efeitos positivos sobre as comunidades microbianas nos solos de dunas mineradas, a revegetação contribuiu para recuperação da atividade biológica desses locais. A recuperação do funcionamento microbiano não acontece imediatamente, uma vez que todas as áreas se mostraram diferentes do encontrado da área com um ano de revegetação, que ficou posicionada no gráfico mais distante da área de duna natural (Figura 4). O tempo exato requerido para a recuperação total da microbiota do solo, seguida da reconstrução do solo, em áreas que sofreram impactos por mineração é difícil de prever e depende tanto das condições ambientais como do ecossistema em processo de recuperação (Hahn e Quideau, 2013).

No presente estudo, com exceção do grupo dos actinomicetos, que apresentou aumento em direção à área mais jovem apenas durante o período chuvoso, houve aumento relativo de grupos microbianos específicos nas mesmas áreas, nos dois períodos avaliados. Quanto aos actinomicetos, avaliações feitas em locais com diferentes formações vegetais mostraram que o perfil dos fosfolípidos indicador desse grupo foi encontrado preferencialmente na área de coníferas decíduas, mais úmida e mais rica em matéria orgânica (Swallow *et al.*, 2009). O solo de cobertura remanescente das áreas de mata natural, utilizado para cobertura das dunas em processo de revegetação, é rico em resíduos vegetais (troncos, folhas e raízes), o que pode ter favorecido o aumento da população de actinomicetos no período chuvoso. Além das mudanças temporais, outros fatores como o tempo de revegetação dos locais e possíveis diferenças em função do desenvolvimento vegetal estão relacionados com as mudanças na composição da comunidade microbiana do solo.

O incremento na quantidade de FMA em direção à duna natural e áreas com maior tempo de revegetação, observado neste estudo, indica que a simbiose micorrízica pode ter sido gradualmente restabelecida nas áreas revegetadas (Zhang *et al.*, 2012). A comunidade de FMA é descrita como tendo um importante papel na atividade das plantas, assim como na canalização do C rizodepositado para a comunidade microbiana do solo (Balasooriya *et al.*, 2012).

As BGP foram mais marcantes no período de baixa precipitação, quando as condições de umidade eram limitantes, o aumento de BGP ocorreu nas áreas em processo de restauração mais antigas, nos dois períodos, e não na área mais jovem, a abordagem dos



períodos, em separado, mostra as mudanças na ECM e suas relações com as propriedades do solo em função da idade das áreas. A análise conjunta dos períodos explica as variações da ECM no solo, com as diferenças baseadas nos fatores limitantes de umidade do solo.

A resposta observada em relação às bactérias gram negativas, cuja população aumentou na área de revegetação mais jovem, confirma que são capazes de se adaptarem rapidamente a diferentes condições de adversidade, sendo mais tolerantes a distúrbios do solo (manejo, fertilização e mineração) do que os fungos (Bardgett *et al.*, 2001; Carrasco *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2012). Mudanças na composição da comunidade de bactérias são descritas como decorrentes de mudanças significativas na comunidade vegetal (Jangid *et al.*, 2011), o que também se observou no presente estudo.

O aumento da razão fungo/bactéria (F/B) em direção à duna com mais tempo de revegetação e à duna natural deve-se ao aumento relativo dos fungos em virtude das melhores condições do solo nessas áreas. Aumento relativo de fungos em razão da diminuição nos níveis de perturbação foram reportados por Allisson *et al.* (2005) em áreas de pradaria em processo de recuperação, nos Estados Unidos. Estudos em áreas de pastagens manejadas mostraram que a proporção de F/B varia gradativamente com a intensidade do manejo, sendo mais elevada nas áreas não fertilizada e mais baixa nas áreas fertilizadas; nesse caso, a diminuição na quantidade de fungos ocorreu com a intensidade do manejo e foi responsável pelas variações na razão F/B (Bardgett *et al.*, 1999). Estudo conduzido por Claassens *et al.* (2012), evidenciou que em áreas de mineração o estresse foi maior nos locais de descarte de carvão e amianto do que nas áreas de referência. Em áreas de revegetação, a taxa de estresse 19:0cy/18:1ω7 diminuiu significativamente com o tempo após a revegetação e com a melhoria das condições de nutrientes do solo (Zhang *et al.*, 2012). Em áreas revegetadas a taxa F/B aumentou consistentemente com o tempo de revegetação e foi correlacionada com o aumento do C orgânico, P total, N total, P disponível, porosidade e outras propriedades que indicam melhorias na qualidade do solo dos locais revegetados (Zhang *et al.*, 2012).

### **Efeito da revegetação nas propriedades biológicas do solo e a relação com a estrutura da comunidade microbiana do solo**

As correlações negativas entre as propriedades biológicas e os escores do eixo 1 indicam que houve incremento na atividade enzimática e biomassa microbiana em direção à área de referência durante os períodos estudados. Esse aumento correspondeu ao aumento relativo de fungos sapróbios, FMA e da taxa F/B em direção a essas áreas.

Segundo Baldrian *et al.* (2010), existe alta correlação entre o aumento na atividade de enzimas hidrolases e a taxa F/B, mesmo quando não há correlação com o aumento da comunidade de fungos. Os principais fatores que afetam a produção de enzimas no solo são a presença de micro-organismos e de substratos e indutores da expressão da enzima (Baldrian *et al.*, 2010); a qualidade do solo, a serapilheira e os efeitos da rizosfera também são fatores importantes que podem regular a atividade enzimática nos solos. O incremento da atividade microbiana acompanhando a sucessão vegetal reflete um provável aumento na complexidade e diversidade da comunidade microbiana em solos de áreas em processo de recuperação (Fioretto *et al.*, 2009). Junto às mudanças sucessionais, essas comunidades microbianas e respectivas atividades são afetadas por flutuações sazonais ao longo do ano (Baldrian *et al.*, 2008).

Considerando os períodos separadamente, as mudanças do FM foram mais acentuadas no período seco do que durante o período chuvoso, com as diferenças sendo percebidas apenas quando as áreas de duna natural e revegetadas há mais tempo foram comparadas com a área mais jovem. Deste modo, observou-se uma recuperação do FM das áreas mineradas com o tempo de revegetação. Os micro-organismos desempenham papéis fundamentais que determinam a produtividade e a disponibilidade de nutrientes em ecossistemas florestais, sendo importantes no estabelecimento e manutenção dos solos em ecossistemas sustentáveis (Badiane *et al.*, 2001; Brockett *et al.*, 2012). Isso torna necessário o conhecimento de como as comunidades microbianas, sua estrutura e função mudam ou podem indicar mudanças em função dos fatores ambientais (Brockett *et al.*, 2012), do estresse, e/ou do processo de restauração (Claassens *et al.*, 2012).

Os processos microbianos do solo podem ser influenciados pelas mudanças na ECM ocorridas em função de variações sazonais (Bardgett *et al.*, 1999). Acredita-se que a redundância de funções acontece com frequência nos solos e, devido a isso, a redução de qualquer grupo microbiano teria pouco efeito sobre as funções específicas realizadas por aquele grupo no solo, desde que outros micro-organismos possam continuar realizando essas mesmas funções (Claassens *et al.*, 2012; Brockett *et al.*, 2012).

## **Conclusões**

A revegetação é um método eficiente em recuperar a estrutura e o funcionamento microbiano do solo. Embora o tempo de revegetação resulte em uma estrutura da comunidade em geral mais próxima à da duna original, esta nova comunidade parece se

estabilizar sem, no entanto, restabelecer a diversidade microbiana encontrada na duna natural.

A recuperação das áreas estudadas é perceptível, pelos métodos utilizados, a partir dos dez anos de revegetação. A recuperação gradativa do funcionamento microbiano de acordo com a idade das áreas é claramente observada durante o período seco.

As variações sazonais afetam a estrutura da comunidade microbiana e o funcionamento microbiano, tanto na área natural como nas áreas revegetadas.

## 5. CONSIDERAÇÕES GERAIS

Áreas de dunas litorâneas no município de Mataraca (Paraíba) vêm sendo utilizadas para extração de minerais pesados há aproximadamente 25 anos pela Empresa Milenium. O programa de revegetação dessas áreas, mantido até hoje pela Empresa, foi iniciado um ano após o início da atividade mineradora e esforços vêm sendo desenvolvidos para determinar a eficiência do processo para recuperação das áreas mineradas.

Em geral, a avaliação da recuperação em áreas impactadas por mineração leva em consideração apenas as comunidades acima do solo, não considerando as comunidades abaixo do solo, as quais desempenham funções chave para o equilíbrio e funcionamento dos ecossistemas terrestres.

Estudos que consideraram as comunidades microbianas em áreas de dunas em processos de reabilitação após mineração foram realizados em diversos países, como África do Sul, Taiwan, República Tcheca e Polônia. De maneira geral, foi observado que as áreas de dunas marítimas necessitam de cerca de 20 anos para recuperarem a funcionalidade das comunidades microbianas do solo. No Brasil, este constitui um dos primeiros estudos em áreas de dunas litorâneas mineradas que avaliam o funcionamento e a estrutura das comunidades microbianas considerando o tempo de reabilitação das áreas e a influência sazonal sobre essas variáveis.

Nosso estudo mostrou que a revegetação é um método eficiente em recuperar a estrutura e as propriedades do solo, e que, embora o tempo de revegetação resulte em uma estrutura da comunidade em geral mais próxima à da duna original, não há um restabelecimento total da estrutura da comunidade de micro-organismos quando as áreas revegetadas são comparadas à duna natural. A revegetação das áreas mineradas também promove a recuperação das propriedades químicas, físicas e biológicas nas áreas; entretanto, os benefícios da revegetação são diferenciados em função do tempo de reabilitação das dunas. Dentre os indicadores avaliados, os microbiológicos foram mais eficientes em mostrar a recuperação das áreas em função do tempo de revegetação.

As análises multivariadas evidenciam a recuperação dos processos biológicos em função do tempo de reabilitação, mostrando a recuperação do funcionamento microbiano a partir de 20 anos de revegetação em relação à duna natural. As variáveis químicas e físicas são mais invariáveis às mudanças sazonais, não apresentando diferença entre os períodos

seco e chuvoso a partir dos 10 anos de revegetação, enquanto as respostas biológicas são mais influenciadas pelas variações sazonais e independente da idade vegetacional.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adachi, M., Bekku, Y.S., Rashidah, W., Okuda, T., Koizumi, H. 2006. Differences in soil respiration between different tropical ecosystems. *Applied Soil Ecology* 34: 258-265.
- Alef, K., Nannipieri, P. 1995. *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*. San Diego, Academic Press.
- Allison, V.J., Miller, R.M., Jastrow, J.D., Matamala, R., Zak D.R. 2005. Changes in soil microbial community structure in a tallgrass prairie chronosequence. *Soil Science Society of America Journal* 69: 1412-1421.
- Allison, V.J., Condron, L.M., Peltzer, D.A., Richardson, S.J., Turner, B.L. 2007. Changes in enzyme activities and soil microbial community composition along carbon and nutrient gradients at the Franz Josef chronosequence, New Zealand. *Soil Biology and Biochemistry* 39: 1779-1781.
- Anderson, J.P.E., Domsch, K.H. 1978. A Physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. *Soil Biology and Biochemistry* 10: 215-221.
- Anderson, T.H., Domsch, K.H. 1985. Determination of ecophysiological maintenance carbon requirements of soil microorganisms in a dormant state. *Biology and Fertility of Soils* 1: 81-89.
- Anderson, J.P.E., Domsch, K.H. 1990. Application of eco-physiological quotients (qCO<sub>2</sub> and qD) on microbial biomasses from soils of different cropping histories. *Soil Biology and Biochemistry* 22: 251-255.
- Andrés, P., Mateos, E. 2006. Soil mesofaunal responses to post-mining restoration treatments. *Applied Soil Ecology* 33: 67-78.
- Babuija, L.C., Hungria, M., Franchini, J.C., Brookes, P.C. 2010. Microbial biomass and activity at various soil depths in a Brazilian oxisol after two decades of no-tillage and conventional tillage. *Soil Biology and Biochemistry* 42: 2174-2181.
- Badiane, N.N.Y., Chotte, J.L., Pate, E., Masse, D., Rouland, C. 2001. Use of soil enzymes to monitor soil quality in natural and improved fallows in semi-arid tropical regions. *Applied Soil Ecology* 18: 229-238.
- Baldrian, P., Merhautová, V., Cajthaml, T., Petránková, M., Šnajdr, J. 2010. Small-scale distribution of extracellular enzymes, fungal, and bacterial biomass in *Quercus petraea* forest topsoil. *Biology Fertility of Soils* 46: 717-726.
- Baldrian, P., Trogl, J., Frouz, J., Šnajdr, J., Valášková, V., Merhautová, V., Cajthaml, T., Herinková, J. 2008. Enzyme activities and microbial biomass in topsoil layer during spontaneous succession in spoil heaps after brown coal mining. *Soil Biology and Biochemistry* 40: 2107-2115.
- Bandick, A.K., Dick, R.P. 1999. Field management effects on soil enzyme activities. *Soil Biology and Biochemistry* 31: 1471-1479.

- Banning, N.C., Phillips, I.R., Jones, D.L., Murphy, D.V. 2011. Development of microbial diversity and functional potential in bauxite residue sand under rehabilitation. *Restoration Ecology* 19: 78-87.
- Bardgett, R.D., Cook, R., Yeates, G.W., Denton, C.S. 1999. The influence of nematodes on below-ground processes in grassland ecosystems. *Plant and Soil* 212 (1): 23-33.
- Bardgett, R.D., Jones, A.C., Jones, D. L., Kemmitt, S.J., Cook, R. Hobbsq, P.J. 2001. Soil microbial community patterns related to the history and intensity of grazing in sub montane ecosystems. *Soil Biology and Biochemistry* 33 (12-13): 1653-1664.
- Barreto, P.A.B., Gama-Rodrigues, E.F., Gama-Rodrigues, A.C., Barros, N.F., Fonseca, S. 2008. Atividade microbiana, carbono e nitrogênio da biomassa microbiana em plantações de eucalipto, em sequência de idades. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 32: 611-619.
- Böhme, L., Böhme, F. 2005. Soil microbiological and biochemical properties affected by plant growth and different long-term fertilization. *European Journal of Soil Biology* 42: 1-12.
- Brandão-Junior, O., Hungria, M., Franchini, J.C., Espíndola, C.R. 2008. Comparação entre os métodos de fumigação-extração e fumigação-incubação para determinação do carbono da biomassa microbiana em um latossolo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 32: 1911-1919.
- Britto, I.C., Queiroz, L.P., Guedes, M.L.S., Oliveira, N.C., Silva, L.B. 1993. Flora fanerogâmica das dunas e lagoas do Abaeté, Salvador, Bahia. *Sitientibus* 11: 31-46.
- Brockett, B.F.T., Prescott, C.E., Grayston, S.J. 2012. Soil moisture is the major factor influencing microbial community structure and enzyme activities across seven biogeoclimatic zones in western Canada. *Soil Biology and Biochemistry* 44: 9-20.
- Caldwell, B.A. 2005 Enzyme activities as a component of soil biodiversity: A review. *Pedobiologia* 49: 637-644.
- Carneiro, M.A.C., Siqueira, J.O., Moreira, F.M.S., Soares, A.L.L. 2008. Carbono orgânico, nitrogênio total, biomassa microbiana e atividade microbiana do solo em duas cronosequências de reabilitação após mineração de bauxita. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 32: 621-632.
- Carrasco, L., Gattinger, A., Fließbach, A., Roldán, A., Schlöter, M., Caravaca, F. 2010. Estimation by PLFA of Microbial Community Structure Associated with the Rhizosphere of *Lygeum spartum* and *Piptatherum miliaceum* Growing in Semiarid Mine Tailings. *Microbial Ecology* 60 (2): 265-271.
- Casida, L.E., Klein, D.A., Santoro, T. 1964. Soil dehydrogenase activity. *Soil Science* 98: 371-376.
- Chaer, G.M., Tótola, M.R. 2007. Impacto do manejo de resíduos orgânicos durante a reforma de plantios de eucalipto sobre indicadores de qualidade do solo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 31: 1381-1396.
- Chodak, M., Niklinska, M. 2010. Effect of texture and tree species on microbial properties of mine soils. *Applied Soil Ecology* 46: 268-275.

- Chodak, M.; Niklińska, M. 2010. The effect of different tree species on the chemical and microbial properties of reclaimed mine soils. *Biology and Fertility of Soils*, 46:555–566
- Chodak, M., Pietrzykowski M., Niklinska, M. 2009. Development of microbial properties in a chronosequence o sandy mine soils. *Applied Soil Ecology* 41: 259–268.
- Claassens, S., Riedel, K.J., van Rensburg, L., Morgenthal, T.L., Jansen van Rensburg, P.J. 2005. Soil microbial properties in coal mine tailings under rehabilitation. *Applied Ecology and Environmental Research* 4(1): 75-83.
- Claassens, S., Jansen van Rensburg, P., Liebenberg, D., van Rensburg, L. 2012. A Comparison of microbial community function and structure in rehabilitated asbestos and coal discard sites. *Water, Air and Soil Pollution* 223 (3): 1091-1100.
- Claassens, S., van Rensburg, J., Maboeta, M.S., van Rensburg, L. 2008. Soil microbial community function and structure in a post-mining chronosequence. *Water, Air and Soil Pollution* 194: 315-329.
- Córdoba, A.S., Mendonça, M., Araújo, F. 2002. Avaliação da diversidade genética de fungos micorrízicos arbusculares em três estádios de estabilização de dunas. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 26: 931-937.
- Cunha, G.M., Gama-Rodrigues, A.C., Costa, G.S., Velloso, A.C.X. 2007. Fósforo orgânico em solos sob florestas montanas, pastagens e eucalipto no norte fluminense. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 31: 667-672.
- Cunha, L.O., Fontes, M.A.L., Oliveira, A.D., Oliveira-Filho, A.T. 2003. Análise multivariada da vegetação como ferramenta para avaliar a reabilitação de dunas litorâneas mineradas em Mataraca, Paraíba, Brasil. *Revista Árvore* 27: 503-515.
- Dajoz, R. 2005. *Princípios de Ecologia*, Artmed. Ed 7. 519p.
- Debosz, K., Ramussen, P.H., Pedersen, A.B. 1999. Temporal variations in microbial biomass C and cellulolytic enzyme activity in arable soils: effects of organic matter imput. *Applied Soil Ecology* 13: 209-218.
- De-Polli, H., Guerra J.G.M. 1997. *Determinação do carbono da biomassa microbiana do solo: Método da fumigação-extração*. Seropédica, Embrapa-CNPAB (Série Documentos, 37).
- De-Polli, H., Guerra, J.G.M. Carbono, nitrogênio e fósforo da biomassa microbiana do solo. In: Santos, G. de A., Silva, L.S. da, Canellas, L.P., Camargo, F. de O. (Ed.). *Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais*. 2.ed. Porto Alegre: Metrópole, 2008. p.263-276.
- Embrapa. 1999. *Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes*. Embrapa Solos, Embrapa Informática Agropecuária. Fábio César da Silva (Org.), Brasília. 370p.
- Escaray, F.J., Rosique, F.J.C., Scambato, A.A., Bilenca, D., Carrasco, P., Matarredona, A.V., Ruiz, O.A., Menéndez, A.B. 2010. Evaluation of a technical revegetation action performed on foredunes at devesa de la albufera. *Land Degradation and Development* 21: 239-247.



- Fernandes, M.F., Barreto, A.C., Mendes, I.C., Dick, R.P. 2011. Short-term response of physical and chemical aspects of soil quality of a kaolinitic Kandudalfs to agricultural practices and its association with microbiological variables. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 142 (3-4): 419-427.
- Fernández, M.T.H., Izquierdo, C.G., Stamford, N.P., Moreno, M.C.M. 2008. Enzimas que actúan en la materia orgánica del suelo. In: Figueiredo, M.V.B., Burity, H.A., Stamford, N.P., Silva Santos, C.E.R. *Microrganismos e agrobiodiversidade: o novo desafio para a agricultura*. Agrolivros. p. 351-375.
- Fillip, Z. 2002. International approach to assessing soil quality by ecologically-related biological parameters. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 88: 169-174.
- Fioretto, A., Papa, S., Pellegrino, A., Ferrigno, A. 2009. Microbial activities in soils of a Mediterranean ecosystem in different successional stages. *Soil Biology and Biochemistry* 41: 2161-2068.
- Fließbach, A., Oberholzer, H.R., Gunst, L., Mäder, P. 2007. Soil organic matter and biological soil quality indicators after 21 years of organic and conventional farming. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 118: 273-284.
- Freire, E.M.X. 1996. Estudo ecológico zoogeográfico sobre a fauna de lagartos (*Sauria*) das dunas de Natal, Rio Grande do Norte e da restinga de Ponta Campina, Cabedelo, Paraíba, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia* 13: 903-921.
- Frostegård, A., Bååth, E. 1996. The use of phospholipid fatty acid analysis to estimate bacterial and fungal biomass in soil. *Biology and Fertility of Soils* 22 (1-2): 59-65.
- Frouz, J., Nováková, A. 2005. Development of soil microbial properties in topsoil layer during spontaneous succession in heaps after brown coal mining in relation to humus microstructure development. *Geoderma* 129: 54-64.
- Gama-Rodrigues, E.F., Barros, N.F., Gama-Rodrigues, A.C., Santos, G.A. 2005 Nitrogênio, carbono e atividade da biomassa microbiana do solo em plantações de eucalipto. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 29: 893-901.
- Gama-Rodrigues, E.F., Gama-Rodrigues, A.C. 2008. Biomassa microbiana e ciclagem de nutrientes. In: Santos, G.A., Silva, L., Canellas, L.P., Camargo, F.A.O. (eds.) *Fundamentos da Matéria Orgânica no solo: Ecossistemas tropicais e subtropicais*. 2º edição, Porto Alegre, Metropole, pp. 159-168.
- Gama-Rodrigues, A.C., Gama-Rodrigues, E., Barros, N.F. 2008. Balanço de carbono e nutrientes em plantio puro e misto de espécies florestais nativas no sudeste da Bahia. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 32: 1165-1179.
- Gil-Sotres, F., Trasar-Cepeda, C., Leirós, M.C., Seoane, S. 2005. Different approaches to evaluating soil quality using biochemical properties. *Soil Biology and Biochemistry* 37: 877-887.
- Graham, M.H., Haynes, R.J. 2004. Organic matter status and the size, activity and metabolic diversity of the soil microflora as indicators of the success of rehabilitation of mined sand dunes. *Biology and Fertility of Soils* 39: 429-437.

- Guckert, J.B., Hood, M.A., White, D.C. 1986. Phospholipid ester-linked fatty-acid profile changes during nutrient deprivation of vibrio-cholerae - increases in the trans cis ratio and proportions of cyclopropyl fatty-acids. *Applied and Environmental Microbiology* 52 (4): 794-801.
- Hahn, A.S., Quideau, S.A. 2013. Long-term effects of organic amendments on the recovery of plant and soil microbial communities following disturbance in the Canadian boreal forest. *Plant and Soil* 363: 331-344.
- Harrison, K.A., Bardgett, R.D. 2010. Influence of plant species and soil conditions on plant-soil feedback in mixed grassland communities. *Journal of Ecology* 98: 384-395.
- Hinojosa, M.B., Carreira, J.A., García-Ruiz, R., Dick, R.P. 2004. Soil moisture pre-treatment effects on enzyme activities as indicators of heavy metal contaminated and reclaimed soils. *Soil Biology and Biochemistry* 36: 1559-1568.
- Huang, Yi-mei, Michel, K. An, Shao-shan, Zechmeister-Boltenstern, S. 2011. Changes in microbial-community structure with depth and time in a chronosequence of restored grassland soils on the Loess Plateau in northwest China. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 174: 765-774.
- Islam, K.R., Weil, R.R. 2000. Land use effects on soil quality in a tropical forest ecosystem of Bangladesh. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 79: 9-16.
- Izquierdo, I., Caravaca, F., Alguacil, M.M., Hernández, G., Roldán, A. 2005. Use of microbiological indicators for evaluating success in soil restoration after revegetation of a mining area under subtropical conditions. *Applied Soil Ecology* 30: 3-10.
- Jangid, K., Williams, M.A., Franzluebbers, A.J., Blair, J.M., Coleman, D.C., Whitman, W.B. 2010. Development of soil microbial communities during tallgrass prairie restoration. *Soil Biology and Biochemistry* 42: 302-312.
- Jangid, K., Williams, M.A., Franzluebbers, A.J., Schmidt, T.M., Coleman, D.C., Whitman, W.B. 2011. Land-use history has a stronger impact on soil microbial community composition than aboveground vegetation and soil properties. *Soil Biology and Biochemistry* 43: 2184-2193.
- Jenkinson, D.S., Powlson, D.S. 1976. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil -I. Fumigation with chloroform. *Soil Biology and Biochemistry* 8: 167-177.
- Jin, K., Sleutel, S., Buchan, D., De Neve, S., Cai, D.X., Gabriels, D., Jin, J.Y. 2009. Changes of soil enzyme activities under different tillage practices in the Chinese Loess Plateau. *Soil and Tillage Research* 104: 115-120.
- Kandeler, E., Gerber, H. 1988. Short-term assay of soil urease activity using colorimetric determination of ammonium. *Biology and Fertility of Soils* 6: 68-72.
- Kennedy, A.C., Smith, K.L. 1995. *Soil microbial diversity and the sustainability of agricultural soils*. Kluwer Academic Publishers, Amsterdam.
- Laik, R., Kumar, K., Das, D.K., Chaturvedi O.P. 2009. Labile soil organic matter pools in a calciorthent after 18 years of afforestation by different plantations. *Applied Soil Ecology* 42: 71-78.

- Longo, R.M., Ribeiro, A.Í., Melo, W.J. 2011. Recuperação de solos degradados na exploração mineral de cassiterita: biomassa microbiana e atividade da desidrogenase. *Bragantia* 70 (1): 132-138.
- Mccune, B., Grace, J.B. 2002. *Analysis of ecological communities*. MjM Software Design. Gleneden Beach, Oregon.
- McCune, B., Mefford, M.J. 2011. PC-ORD. Multivariate Analysis of Ecological Data. Version 6. MjM Software, Gleneden Beach, Oregon, U.S.A.
- Melo, W.J., Melo, G.P., Araújo, A.S.F., Melo, V.P. 2010. Avaliação da atividade enzimática em amostras de solo. In: Figueiredo, M.B.V., Burity, H.A., Oliveira, J.P., Santos, C.E.R.S., Stanford, N.P. (eds.) *Biotecnologia aplicada à agricultura: textos de apoio e protocolos experimentais*, Vol. 1. Brasília, Embrapa, pp. 153-187.
- Moreira, F.M.S.; Siqueira, J.O. *Microbiologia e bioquímica do solo*. Lavras, Universidade Federal de Lavras, 2002. 625p.
- Mummey D.L.; Clarke, J.T.; Colle, C. A.; O'Connor, B.G.; Gannon J.E.; Ramsey, P.W. 2010. Spatial analysis reveals differences in soil microbial community interactions between adjacent coniferous forest and clearcut ecosystems. *Soil Biology and Biochemistry* 42: 1138-1147.
- Mummey, D.L.; Stahl, P.D.; Jeffrey S.B. 2002. Soil microbiological properties 20 years after surface mine reclamation: spatial analysis of reclaimed and undisturbed sites. *Soil Biology and Biochemistry* 34: 1717–1725.
- Nogueira, M.A., Albino, U.B., Brandão-Júnior, O., Braun G., Cruz M. F., Dias, B.A., Duarte, R.T.D., Gioppo, N.M.R., Menna, O., Orlandi, J.M., Raimam, M.P., Rampazo, L.G.L., Santos, M.A., Silva, M.E.Z., Vieira, F.P., Torezan, J.M.D., Hungria, M., Andrade, G. 2006. Promising indicators for assessment of agroecosystems alteration among natural reforested and agricultural land use in southern Brazil. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 115: 237-247.
- Oliveira-Filho, A.T., Carvalho, D.A. 1993. Florística e fisionomia da vegetação no extremo norte do litoral da Paraíba. *Revista Brasileira de Botânica* 16: 115-130.
- Paul, E.A. 2007. *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry*. 3 ed. Academic Press. 535 p.
- Paul, E.A., Clark, F.E. 1989. *Soil Microbiology and Biochemistry*. Academic Press. 273p.
- Rajaniemi, T.K., Allison, V.J. 2009. Abiotic conditions and plant cover differentially affect microbial biomass and community composition on dune gradients. *Soil Biology and Biochemistry* 41: 102-109.
- Ramsey, P.W., Gibbons, S.M. Rice, P., Mummey, D.L., Feris, K.P., Moore, J.N., Rillig, M.C., Gannon, J.E. 2012. Relative strengths of relationships between plant, microbial, and environmental parameters in heavy-metal contaminated floodplain soil. *Pedobiologia* 55: 15-23.
- Resolução Conama nº 261, de 30 de junho de 1999, Publicada no DOU no 146, de 2 de agosto de 1999, Seção 1, pp. 29-31.

- Rogers, B.F., Tate, R.L., 2001. Temporal analysis of the soil microbial community along a toposequence in Pineland soils. *Soil Biology and Biochemistry* 33: 1389-1401.
- Romaniuk, R., Giuffré, L., Costantinia, A., Nannipieri, P. 2011. Assessment of soil microbial diversity measurements as indicators of soil functioning in organic and conventional horticulture systems. *Ecological Indicators* 11: 1345-1353.
- Santos, M., Rosado, S.C.S., Oliveira Filho, A.T., Carvalho, D. 2000. Correlações entre variáveis do solo e espécies herbáceo-arbustiva de dunas em revegetação no litoral norte da Paraíba. *Cerne* 6(1): 19-29.
- Schlöter, M., Dilly, O., Munch, J.C. 2003. Indicators for evaluating soil quality. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 98: 255-262.
- Schutter, M.E., Dick, R.P. 2000. Comparison of Fatty Acid Methyl Ester (FAME) methods for characterizing microbial communities. *Soil Science Society of America Journal* 64: 1659-1668.
- Silva, D.K.A., Freitas, N.O., Souza, R.G., Silva, F.S.B., Araujo, A.S.F., Maia, L.C. 2012. Soil microbial biomass and activity under natural and regenerated forests and conventional sugarcane plantations in Brazil. *Geoderma* 189-190: 257-261.
- Sokal, R.R. 1979. Testing statistical significance of geographic-variation patterns. *Systematic Zoology* 28 (2): 227-232.
- Souza, R.G., Goto, B.T., Silva, D.K.A., Silva, F.S.B., Sampaio, E.V.S.B., Maia, L.C. 2010. The role of arbuscular mycorrhizal fungi and cattle manure in the establishment of *Tocoyena selloana* Schum. in mined dune areas. *European Journal of Soil Biology* 46:237-242.
- Stürmer, S.L., Melloni, R., Caproni, A.L. 2010. Micorrizas arbusculares em dunas marítimas e em áreas de mineração. PP. 341-360. In: J.O. Siqueira, F.A. de Souza, E.J.B.N. Cardoso, S.M. Tsai (Eds.). *Micorrizas: 30 anos de pesquisas no Brasil*. Lavras: UFLA.
- Štursová, M., Baldrian, P. 2011. Effects of soil properties and management on the activity of soil organic matter transforming enzymes and the quantification of soil-bound and free activity. *Plant and Soil* 338: 99-110.
- Swallow, M., Quideau, S.A., MacKenzie, M.D., Kishchuk, B.E. 2009. Microbial community structure and function: The effect of silvicultural burning and topographic variability in northern Alberta. *Soil Biology and Biochemistry* 41: 770-777.
- Swisher, R., Carrol, G.C. 1980. Fluorescein diacetate hydrolysis as an estimator of microbial biomass on coniferous needle surfaces. *Microbial Ecology* 6:217-226.
- Tabatabai, M.A., Bremner, J.M. 1970. Arylsulfatase activity of soils. *Soil Science Society of America Proceedings* 34: 225-229.
- Tabatabai, M.A., Bremner, J.M. 1969. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biology and Biochemistry* 1:301 – 307.

- Tótola, M.R., Chaer, G.M. 2002. Microrganismos e processos microbiológicos como indicadores da qualidade do solo In: Alvarez V., V.H., Schaefer, C.E.G.R., Barros,N.F., Mello, J.W.V., Costa, L.M. (eds.) *Tópicos em ciência do solo*. Viçosa, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, pp. 195-276.
- Udawatta, R.P., Kremer, R.J., Garrett, H.E., Anderson, S.H. 2009. Soil enzyme activities and physical properties in a watershed managed under agroforestry and row-crop systems. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 131: 98-104.
- Vance, E.D., Brookes, P.C., Jenkinson, D.S., 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry* 19: 703-707.
- Yao, X.H; Min, H; Lu, Z.H; Yuan, H.P. 2006. Influence of acetamiprid on soil enzymatic activities and respiration. *European Journal of Soil Biology* 42: 120-126.
- Zeppelini, D., Bellini, B.C., Creão-Duarte, A.J., Hernández, M.I.M. 2009. Collembola as bioindicators of restoration in mined sand dunes of Northeastern Brazil. *Biodiversity and Conservation* 18:1161–1170.
- Zhang, B., He, H., Ding, X., Zhang, X., Zhang, X., Yang, X., Filley, T.R. 2012. Soil microbial community dynamics over a maize (*Zea mays* L.) growing season under conventional- and no-tillage practices in a rainfed agroecosystem. *Soil and Tillage Research* 124: 153-160.