

UNIVERSIDADE FEDERAL PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE FUNGOS

VILMA MARIA DOS SANTOS

**FUNCIONAMENTO E ESTRUTURA DA COMUNIDADE MICROBIANA EM
ÁREAS REFLORESTADAS COM *EUCALYPTUS GRANDIS* APÓS EXTRAÇÃO
DE ARGILA NO LITORAL SUL DE PERNAMBUCO**

RECIFE

2017

VILMA MARIA DOS SANTOS

**FUNCIONAMENTO E ESTRUTURA DA COMUNIDADE MICROBIANA EM
ÁREAS REFLORESTADAS COM *EUCALYPTUS GRANDIS* APÓS EXTRAÇÃO
DE ARGILA NO LITORAL SUL DE PERNAMBUCO**

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

Orientador

Leonor Costa Maia

Co-orientador

Guilherme Montandon Chaer

RECIFE

2017

Catálogo na fonte
Elaine Barroso
CRB 1728

Santos, Vilma Maria dos

**Funcionamento e estrutura da comunidade microbiana em áreas
reflorestadas com *Eucalyptus grandis* após extração de argila no litoral sul de
Pernambuco / Vilma Maria dos Santos- Recife: O Autor, 2017.**

98 folhas: il., fig., tab.

Orientadora: Leonor Costa Maia

Coorientador: Guilherme Montandon Chaer

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco.

Centro de Biociências. Biologia de Fungos, 2017.

Inclui referências

1. Fungos do solo 2. Eucalipto 3. Pernambuco I. Maia, Leonor
Costa (orientadora) II. Chaer, Guilherme Montandon (coorientador)
- III. Título

VILMA MARIA DOS SANTOS

**FUNCIONAMENTO E ESTRUTURA DA COMUNIDADE MICROBIANA EM
ÁREAS REFLORESTADAS COM *EUCALYPTUS GRANDIS* APÓS EXTRAÇÃO
DE ARGILA NO LITORAL SUL DE PERNAMBUCO**

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

Aprovada em: 15/03/2013

COMISSÃO EXAMINADORA

MEMBROS TITULARES

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

Dra. Cândia Elizabete Pereira de Lima
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Dr. Rômulo Simões Cezar Menezes
Universidade Federal de Pernambuco

Dra. Rossana Barbosa Pragana
Universidade Federal Rural de Pernambuco –UAST

Dr. Paulo Ivan Fernandes Júnior
Embrapa Semiárido

Aos meus pais **Alfredo** (in
memorian) e **Josefa** por me
ensinarem a ser guerreira e
perseverante

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus pela dádiva da vida.

À minha querida e amada família por todo carinho e compreensão.

À Dra. Leonor Costa Maia pela orientação, amizade, convivência e ensinamentos. Verdadeiro exemplo de profissionalismo e dedicação à ciência.

À Dra. Uided Maaze Tiburcio Cavalcante pelo carinho e amizade e por estar sempre ao meu lado ao longo dessa caminhada.

Ao Dr. Guilherme Montandon Chaer pela confiança, co-orientação, disponibilidade e muitos ensinamentos.

Ao Dr. Marcelo Ferreira Fernandes pela atenção, disponibilidade e por abrir as portas do seu laboratório para realização das análises de ácidos graxos.

À Universidade Federal de Pernambuco pela oportunidade da realização deste curso de doutorado. À FACEPE pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos em especial a Dra. Elaine Malosso pela dedicação ao programa e as secretárias Giovanna Guterres e Anna Karolina pela disponibilidade e vontade de ajudar.

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

À Embrapa Agrobiologia pela acolhida e oportunidade de aprender cada vez mais.

Aos colegas do laboratório de Microbiologia do solo da Embrapa Tabuleiros Costeiros pela receptividade e companheirismo.

À Dra. Érika Cristina Teixeira dos Anjos pela amizade e por me ensinar que pesquisa se faz com dedicação e seriedade

À Luciana Gonçalves pela dedicação e amizade incondicional.

À Josiane Freires e Marilene Paiva, pelo carinho e todo apoio durante o trabalho no Laboratório de Micorrizas.

À equipe do Laboratório de Micorrizas, Ângelo Santana, Araeska Ferreira, Anuska Ferreira, Bruno Velez, Catarina Mello, Camilla Maciel, Daniela Tenório, Daniele Assis, Débora Santos, Edvaneide Lima, Flávia Coutinho, Frederico Marinho, Helder Vieira,

Helóisa Medeiros, Inácio Pascoal, Ingrid Lino, Iolanda Ramalho, Isabela Gonçalves, Jessica Costa, Joana Suassuna, Juliana Pontes, Larissa Vieira, Lyssandra Teti, Marcela Barbosa, Mayra Silva, Natália Sousa, Rejane Silva, Reginaldo Neto, Roberta Alves e Vera Pereira pelo companheirismo e bons momentos compartilhados.

Aos amigos Nicácio Freitas, Cláudia Lima, Danielle Karla e Indra Escobar pela ajuda e amizade em todos os momentos desta caminhada.

A todos que contribuíram para realização deste trabalho.

**“Somos o que fazemos, mas principalmente,
o que fazemos para mudar o que somos”**

Eduardo Galeano

RESUMO

Em todo o mundo, grandes áreas vêm sendo devastadas pela atividade mineradora e a recuperação ou reabilitação desses locais é motivo de grande preocupação. O objetivo geral desta tese foi avaliar a intensidade e indicar a direção das mudanças no funcionamento microbiológico (FM) e na estrutura da comunidade microbiana do solo promovidas pela revegetação com *Eucalyptus grandis* em áreas degradadas pela mineração de argila no litoral de Pernambuco, Brasil. O estudo foi conduzido no município de Cabo de Santo Agostinho em quatro áreas pós-mineração, três reflorestadas com eucalipto com diferentes idades e uma em processo de recuperação espontânea. Uma área adjacente sob vegetação nativa (Mata Atlântica) foi usada como referência das características originais do solo. O funcionamento microbiológico do solo foi representado pelas análises de carbono da biomassa microbiana, respiração basal e atividade das enzimas β -glicosidase, urease, β -glicosaminidase, fosfatase ácida, arilsulfatase, desidrogenase e hidrólise do diacetato de fluoresceína. A estrutura da comunidade microbiana foi determinada pela análise de ésteres metílicos de ácidos graxos (FAMES). Os resultados demonstram que a revegetação com eucalipto promove o rápido restabelecimento do FM e o desenvolvimento da comunidade microbiana em solos após mineração de argila. As mudanças observadas são no sentido da recuperação das condições existentes nas áreas anteriormente à mineração, no entanto o grau desta recuperação é dependente do tempo de revegetação com eucalipto.

Palavras-Chave: Tempo de reabilitação. Mineração de argila. Biomassa microbiana. Atividade enzimática. Propriedades do solo.

ABSTRACT

Throughout the world, large areas have been devastated by mining activity and the recovery or rehabilitation of these sites is cause for great concern. The general aim this thesis was to evaluate the intensity and indicate the direction of changes in the microbiological functioning (MF) and in the structure of the microbial community promoted by revegetation with *Eucalyptus grandis* in areas degraded by clay mining in the coast of Pernambuco, Brazilian Northeast. The study was conducted in the municipality of Cabo de Santo Agostinho in four post-mining areas, three reforested with eucalyptus with different ages and one in the process of spontaneous recovery. An adjacent area under native vegetation (Atlantic Forest) was used as reference of the original soil characteristics. The microbiological functioning of soil was represented by microbial biomass carbon analysis, basal respiration and activity of enzymes β -glucosidase, urease, β -glucosaminidase, acid phosphatase, arylsulfatase, dehydrogenase and hydrolysis of fluorescein diacetate. The structure of the microbial community was determined by the analysis of fatty acid methyl ester (FAMES). The results demonstrate that revegetation with eucalyptus promotes the rapid reestablishment of MF and the development of the microbial community in clay mining soils. The observed changes are towards the recovery of existing conditions in the areas prior to mining; however, the degree of this recovery is dependent on the time of revegetation with eucalyptus.

Keywords: Rehabilitation time. Clay mining. Microbial biomass. Enzymatic activity. Soil properties.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Propriedades microbiológicas de solos coletados em áreas com diferentes idades de recuperação com eucalipto e em floresta nativa (Mata Atlântica) no nordeste do Brasil. RI = recuperação inicial com eucalipto (plantios com 1-3 anos); RIN = recuperação intermediária com eucalipto (plantios com 3 - 5 anos); RA = recuperação avançada com eucalipto (plantios com 5-7 anos); FN = floresta nativa . 47
- Figura 2. Mudanças no funcionamento microbiológico (a) e nas propriedades químicas e físicas do solo (b) em áreas mineradas em recuperação com eucalipto de acordo com a ordenação NMS. 49
- Figura 3. Mudanças no funcionamento microbiológico (a) e nas propriedades químicas e físicas do solo (b) em áreas mineradas em recuperação com eucalipto de acordo com a ordenação NMS. Os símbolos representam a média geométrica das amostras em cada ano de coleta.. 52
- Figura 4. Mudanças no perfil da comunidade microbiana em resposta a revegetação com eucalipto em áreas mineradas de acordo com a ordenação NMS. 56
- Figura 5. Correlações entre a composição da comunidade expressa pelos escores do eixo 1 da ordenação NMS e as variáveis biológicas: atividade da fosfatase ácida (a), hidrólise do FDA(b), arilsulfatase (c) urease (d). 57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Indicadores físicos, químicos e biológicos e suas relações com a qualidade do solo.	24
Tabela 2. Principais enzimas envolvidas na ciclagem do carbono, do nitrogênio, do enxofre e do fósforo no solo e algumas características dos métodos utilizados em suas determinações.	35
Tabela 3. Dados da precipitação anual e da precipitação e temperatura no mês de dezembro nos anos de 2009 a 2011 no Cabo de Santo Agostinho, PE.	38
Tabela 4. Caracterização química dos solos sob floresta nativa e plantios de eucalipto implantados após mineração, no litoral de Pernambuco, Brasil.	42
Tabela 5. Propriedades químicas e físicas de solos coletados em áreas com diferentes idades de recuperação com eucalipto e em floresta nativa (Mata Atlântica) no nordeste do Brasil	48
Tabela 6. Coeficiente de correlação (r) entre as propriedades biológicas e os eixos da ordenação NMS.	50
Tabela 7. Coeficiente de correlação (r) entre as propriedades químicas e físicas e os eixos da ordenação NMS.	51
Tabela 8. Coeficiente de correlação (r) entre as variáveis biológicas e os eixos das ordenações NMS que representam as variações em cada estágio de recuperação com eucalipto durante três anos de coleta.	52
Tabela 9. Coeficiente de correlação (r) entre as variáveis químicas e físicas e os eixos das ordenações NMS que representam as variações em cada estágio de recuperação com eucalipto durante três anos de coleta.	54
Tabela 10. Coeficiente de correlação (r) entre os principais grupos microbianos e taxa F/B com os eixos da ordenação NMS.	56
Tabela 11. Coeficiente de correlação (r) entre biomarcadores dos principais grupos microbianos e variáveis biológicas.	58

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	PROBLEMATIZAÇÃO	14
1.2	OBJETIVOS	14
1.2.1	Objetivo Geral	14
1.2.2	Objetivos Específicos	14
2	REVISÃO LITERÁRIA	16
2.1	DEGRADAÇÃO DO SOLO	16
2.2	MINERAÇÃO	16
2.3	RECUPERAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS PELA MINERAÇÃO	17
2.4	REFLORESTAMENTO COM EUCALIPTO	19
2.5	BIOMASSA MICROBIANA DO SOLO	20
2.6	QUALIDADE DO SOLO: CONCEITO E INDICADORES	22
2.7	INDICADORES BIOLÓGICOS DE QUALIDADE DO SOLO	24
2.7.1	Carbono da biomassa microbiana (CBM)	26
2.7.2	Respiração basal	27
2.7.3	Quociente metabólico	29
2.7.4	Quociente microbiano	30
2.7.5	Enzimas do solo	31
3	MATERIAL E MÉTODOS	38
3.1	EFICIÊNCIA DO REFLORESTAMENTO COM EUCALIPTO EM ÁREA DE MINERAÇÃO: USO DE INDICADORES MICROBIANOS, QUÍMICOS E FÍSICOS	38
3.2	COMPOSIÇÃO E FUNCIONAMENTO DA COMUNIDADE MICROBIANA EM SOLOS REFLORESTADOS COM EUCALIPTO APÓS MINERAÇÃO DE ARGILA	41
4	RESULTADOS	46
4.1	EFICIÊNCIA DO REFLORESTAMENTO COM EUCALIPTO EM ÁREA DE MINERAÇÃO: USO DE INDICADORES MICROBIANOS, QUÍMICOS E FÍSICOS	46
4.2	COMPOSIÇÃO E FUNCIONAMENTO DA COMUNIDADE MICROBIANA EM SOLOS REFLORESTADOS COM EUCALIPTO APÓS MINERAÇÃO DE ARGILA	55
5	DISCUSSÃO	59
5.1	EFICIÊNCIA DO REFLORESTAMENTO COM EUCALIPTO EM ÁREA DE MINERAÇÃO: USO DE INDICADORES MICROBIANOS, QUÍMICOS E FÍSICOS	59
5.1.1	Efeitos do reflorestamento nas propriedades químicas, físicas e biológicas do solo (Análise univariada)	59
5.1.2	Efeito do reflorestamento nas propriedades químicas, físicas e biológicas do solo (Análise multivariada)	61
5.1.3	Mudanças anuais nas propriedades biológicas, químicas e físicas do solo	62
5.2	COMPOSIÇÃO E FUNCIONAMENTO DA COMUNIDADE MICROBIANA EM SOLOS REFLORESTADOS COM EUCALIPTO APÓS MINERAÇÃO DE ARGILA	64

5.2.1 Efeito da revegetação na ECM do solo	64
5.2.2 Relação entre a composição da comunidade microbiana e as propriedades biológicas do solo	66
6 CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	69
REFERÊNCIAS	70

1 INTRODUÇÃO

Dentre as atividades antrópicas que interferem no meio ambiente, a mineração é uma das que causa maiores impactos (IZQUIERDO et al., 2005), devido a remoção da vegetação e dos horizontes superficiais do solo (CHAER et al., 2011; ZHAO et al., 2013). Com objetivo de recuperar esses ambientes ecologicamente sensíveis várias medidas vêm sendo adotadas; entre essas, o restabelecimento da cobertura vegetal tem apresentado bons resultados, ajudando nos processos de formação e obtenção de solos biologicamente ativos (FROUZ et al., 2001; CLAASSENS et al., 2006; BANNING et al., 2008; CHODAK; NIKLINSKA, 2010; ROSENVALD et al., 2011). Nesse contexto, o plantio de espécies florestais representa uma alternativa que pode auxiliar na melhoria química, física e biológica do solo, além de colaborar com o sequestro de gás carbônico da atmosfera (MENDONÇA et al., 2008).

No Brasil, o *Eucalyptus* é a principal essência florestal utilizada nos programas de reflorestamento de ambientes impactados em razão da boa adaptação às condições edafoclimáticas e às variações de regime hídrico (ARAÚJO et al., 2010), essas características assumem grande relevância, em se tratando de recuperação de ambientes minerados. No entanto, existem poucos relatos da utilização de eucalipto na recuperação de áreas submetidas à mineração (SCHIAVO et al., 2007; CARNEIRO et al., 2008), por isso é importante compreender como o desenvolvimento dessa planta influencia as propriedades do solo, uma vez que a cobertura vegetal é um importante fator de qualidade do solo (BROCKWAY et al., 1998; IZQUIERDO et al., 2005; BANNING et al., 2011).

No nosso estudo, *Eucalyptus grandis* foi à espécie selecionada para o reflorestamento de áreas submetidas à extração de argila no Estado de Pernambuco, nordeste do Brasil. Nessa área, a retirada de argila é realizada há aproximadamente 15 anos causando forte interferência no meio ambiente, tornando-se necessário buscar alternativas que possam minimizar os efeitos adversos da mineração.

A avaliação das propriedades biológicas do solo em ambientes degradados ou em processo de reabilitação torna-se importante considerando que o processo de reabilitação de áreas degradadas depende, dentre outros fatores, da microbiota edáfica, que participa ativamente dos processos de ciclagem e armazenamento de nutrientes (PRESTON et al., 2001; BANNING et al., 2008; SNAJDR et al., 2013). Nesse sentido,

análises que descrevam a atividade e a composição da comunidade microbiana do solo como ensaios enzimáticos e análise de biomarcadores lipídicos podem ser utilizadas na avaliação do progresso da reabilitação; uma vez que respondem mais rapidamente às mudanças no ambiente do solo em comparação com as variáveis químicas e físicas (CHODAK et al., 2009; BANNING et al., 2011; ZHANG et al., 2012).

1.1 PROBLEMATIZAÇÃO

Considerando a importância dos micro-organismos para a reabilitação dos ecossistemas degradados, será testada a hipótese de que o reflorestamento com eucalipto ajuda a restabelecer o funcionamento e estrutura da comunidade microbiana do solo e mudanças podem ocorrer em função do tempo de revegetação. Dessa forma o estudo foi dividido em duas partes. No primeiro momento foram testadas as hipóteses de que o reflorestamento com eucalipto (*Eucalyptus grandis*) promove a recuperação do funcionamento microbiológico do solo de áreas mineradas em processo de reabilitação, sendo esta recuperação dependente do tempo de reflorestamento. A hipótese de que as mudanças são mais pronunciadas nas áreas com menor tempo de reflorestamento também foi testada. A segunda etapa do trabalho consistiu em monitorar as mudanças causadas pela implantação de plantios de eucalipto em locais pós-mineração sobre a estrutura das comunidades microbianas (ECM) utilizando ésteres metílicos de ácidos graxos. Nesta etapa foi testada a hipótese de que a revegetação com eucalipto promove a recuperação da ECM e do funcionamento microbiológico do solo das áreas mineradas em direção à condição natural, sendo esta recuperação em função do tempo de revegetação.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

Avaliar as mudanças no funcionamento microbiológico e nas propriedades químicas e físicas do solo entre áreas com diferentes fases do processo de recuperação com eucalipto.

1.2.2 Objetivos Específicos

- a) Avaliar a intensidade e indicar a direção das mudanças no funcionamento microbiológico (FM) e na estrutura da comunidade microbiana do solo promovidas pela revegetação com *Eucalyptus grandis* em áreas degradadas pela mineração de argila no litoral de Pernambuco, nordeste do Brasil.

- b) investigar as mudanças promovidas pela revegetação com eucalipto em áreas degradadas pela mineração na ECM avaliada pelos perfis de ésteres metílicos de ácidos graxos (FAMES) e no funcionamento microbiológico (FM), pela análise da atividade de enzimas envolvidas no ciclo do C, N, P e S.

2 REVISÃO LITERÁRIA

2.1 DEGRADAÇÃO DO SOLO

O solo é o componente fundamental dos ecossistemas terrestres (WELC et al., 2012), abrigando processos e reações biológicas desempenhando diversas funções-chave (FERNÁNDEZ et al., 2008). O equilíbrio ecológico do solo tem sido constantemente perturbado por ações antrópicas inadequadas, as quais ocasionam a degradação e a redução da qualidade natural (IZQUIERDO et al., 2005; CLAASSENS et al., 2008).

A degradação do solo pode ser entendida como a redução da capacidade de produzir, em termos qualitativos e quantitativos, bens e serviços (LAL, 2005). Segundo Blum (1998) a degradação ocasiona a perda da energia do sistema, uma vez que as funções e usos do solo estão baseados no fluxo de energia; assim, solos degradados apresentam perda de suas funções-chave.

Levantamentos constataram que a degradação do solo induzida pelo homem correspondia, em 1994 a quase 40% de todas as terras cultivadas no mundo (OLDEMAN, 1994). O aumento das áreas degradadas tornou-se uma questão de interesse global, sendo considerada uma das quatro maiores preocupações ecológicas, rivalizando apenas com a mudança global do clima, a diminuição da camada de ozônio e com o declínio da biodiversidade (DORAN et al., 1996). A maior parte das áreas degradadas nos trópicos é resultado de sistemas inapropriados de uso do solo que geram ganhos econômicos em curto prazo com alto custo de degradação ambiental (LOTT et al., 2004). Entre as principais causas da degradação podemos citar os desmatamentos, a exploração de jazidas pela mineração, os sistemas agrícolas e o uso de agroquímicos (BALDRIAN et al., 2008).

No Brasil, desde o início da colonização registra-se o uso inadequado dos recursos naturais, com a consequente degradação do solo por práticas exploratórias, as quais têm ocasionado à remoção de grandes áreas de vegetação nativa. Dentre essas práticas, a atividade de extração de minérios, embora importante do ponto de vista econômico, traz sérias consequências para o ambiente (CARNEIRO et al., 2008).

2.2 MINERAÇÃO

Dentre as atividades que interferem no meio ambiente, a mineração é uma das que causa maiores impactos (IZQUIERDO et al., 2005), promovendo modificações nos

compartimentos acima e abaixo do solo, devido à retirada da vegetação nativa e à intensa movimentação de solo, causando mudanças nas propriedades físicas, químicas e biológicas (CARNEIRO et al., 2008; PARADELO et al., 2009; LISBOA et al., 2013).

Apesar das alterações ambientais ocasionadas pela mineração, essa atividade apresenta elevada importância econômica, gerando empregos, aumentando a renda nacional e a receita fiscal. Existem no país aproximadamente 1,4 mil empresas mineradoras que extraem cerca de 80 compostos minerais.

A mineração de argila é uma atividade bastante difundida no estado de Pernambuco, gerando matéria prima para produção de tijolos, telhas e cerâmicas, sendo principal produto para fabricação de louças, porcelanas e revestimentos. No município de Cabo de Santo Agostinho, a extração de argila é realizada há 15 anos promovendo forte impacto ambiental comprometendo a qualidade do solo e consequentemente o funcionamento e a estrutura da comunidade microbiana. Atualmente, a recuperação dessas áreas vem sendo realizada por meio de reflorestamento com eucalipto, o qual vem apresentando bons resultados.

Práticas de recuperação de ambientes pós-mineração que incluem o restabelecimento da cobertura vegetal são uma alternativa eficaz para alcançar a reconstrução do solo (HÜTTL; GERWIN, 2005), além disso, incrementam a sucessão vegetal, contribuindo, consequentemente, para o fluxo de energia e nutrientes nos ecossistemas.

2.3 RECUPERAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS PELA MINERAÇÃO

Em todo mundo, grandes áreas vêm sendo degradadas pelo aumento das atividades extrativistas e a reabilitação dessas áreas tem sido motivo de esforços por parte dos órgãos ambientais, universidades e institutos de pesquisa, que buscam procedimentos eficazes para restabelecer o equilíbrio ambiental (CARNEIRO et al., 2008; COOKSON et al., 2008).

A legislação brasileira, conforme a Resolução CONAMA 001/86 (BRASIL, 1986), preconiza há muito tempo a obrigatoriedade da recuperação de áreas degradadas pela extração de recursos minerais. Essa recuperação passa pela recomposição topográfica e paisagística, bem como pela reconstrução do solo. Assim, várias medidas vêm sendo adotadas para acelerar a recuperação dos ecossistemas perturbados; entre essas, o restabelecimento da cobertura vegetal tem ajudado a recompor e proteger o solo

da degradação (MENDHAM et al., 2002; IZQUIERDO et al., 2005; CLAASSENS et al., 2008; ROSENVALD et al., 2011).

Apesar da implantação de cobertura vegetal sobre superfícies mineradas ser uma medida eficaz para recuperação, o processo de revegetação desses ambientes é lento e difícil devido as características desfavoráveis do solo como à baixa fertilidade, elevada acidez e erosão (SINHA et al., 2009) e reduzida diversidade e atividade microbianas (IZQUIERDO et al., 2005; ŠOURKOVÁ et al., 2005; BALDRIAN et al., 2010). Por isso a escolha das espécies vegetais para revegetação de áreas degradadas pela atividade mineradora requer bastante atenção. Nesse contexto, espécies vegetais nativas e exóticas de rápido crescimento têm apresentado bons resultados para reabilitação de áreas degradadas pela mineração (MUMMEY et al., 2002; IZQUIERDO et al., 2005; CLAASSENS et al., 2012).

Embora o restabelecimento da vegetação nativa constitua-se na prática ecologicamente recomendada, é importante que a espécie selecionada possua boa capacidade de crescimento e desenvolvimento em ambientes degradados, pois o sucesso da recuperação está diretamente relacionado ao rápido recobrimento do solo (CARAVACA et al., 2002; ALVES et al., 2007; COOKSON et al., 2008). Deve-se observar também que a deposição de serapilheira na superfície do solo ajuda na recuperação dos teores de matéria orgânica e estimula a atividade microbiana (BALDRIAN et al., 2008), por isso, é interessante que as espécies escolhidas para integrar programas de revegetação produzam serapilheira abundante e de boa qualidade nutricional (CHODAK; NIKLINSKA, 2010).

De acordo Šourková et al. (2005) o processo de formação do solo e acumulação de C em locais pós-mineração está diretamente relacionado ao desenvolvimento da cobertura vegetal e a mineralização dos resíduos vegetais. Vários trabalhos em áreas revegetadas têm registrado aumento do C do solo e atividade microbiana em um curto período de tempo (POLGLASE et al., 1992; CARNEIRO et al., 2008).

Nesse sentido, é importante entender como as espécies vegetais utilizadas no reflorestamento afetam as propriedades dos solos, uma vez que a cobertura vegetal é um importante fator de qualidade do solo (BROCKWAY et al., 1998; IZQUIERDO et al., 2005; HELINGEROVÁ et al., 2010).

2.4 REFLORESTAMENTO COM EUCALIPTO

O plantio de espécies florestais exóticas tem resultado em benefícios econômicos e sociais, especialmente em áreas desfavoráveis à produção agrícola (SAMPAIO et al., 2000; SILVA et al., 2011), tornando-se uma possibilidade de recuperação ambiental que pode permitir conciliar retorno econômico e funcionalidade ao sistema (MENDONÇA et al., 2008). Além de contribuir para remoção de CO₂, o cultivo de espécies florestais pode aliviar a pressão pela exploração das florestas nativas criando condições para a sua conservação (BARROS; COMERFORD, 2002; O'BRIEN et al., 2003; EPRON et al., 2009).

No Brasil, as plantações de *Eucalyptus* ocupam cerca de 4,7 milhões de hectares, apresentando crescimento médio de 6,9% ao ano, de acordo com dados do período de 2004-2009 (ABRAF, 2011). A expansão da área plantada com *Eucalyptus* é resultado de um conjunto de fatores favoráveis como a boa adaptação às condições edafoclimáticas e às variações de regime hídrico (SICARDI et al., 2004; ARAÚJO et al., 2010); associados a esses fatores estão a alta taxa de crescimento que geram ciclos de curta rotação e a ampla utilização do produto final (CAO et al., 2010; SILVA et al., 2011). Em regiões tropicais e subtropicais, o eucalipto apresenta ciclos de cultivo bem mais curtos que os de regiões temperadas, e a maioria das florestas comerciais é cortada aos sete anos de idade (BARROS; COMERFORD, 2002; BINI et al., 2013).

O cultivo de eucalipto no Brasil tem sido realizado em áreas com solos intemperizados e de baixa fertilidade. Na grande maioria desses locais, o atendimento da demanda nutricional das árvores é bastante prejudicado pela alta deficiência hídrica (GAMA-RODRIGUES et al., 2005; MELLONI et al., 2008). Em muitos países tropicais os plantios são realizados em áreas anteriormente devastadas pelo cultivo agrícola ou pastagem, cujos solos se encontram com elevado grau de degradação (LIMA et al., 2006).

No entanto, a implantação de florestas de eucalipto podem promover mudanças nas características do solo e diversos trabalhos têm sido conduzidos em reflorestamentos comerciais com ênfase na avaliação dos efeitos sobre as propriedades químicas do solo. Nesse contexto, estudos mostram que a decomposição da serapilheira do eucalipto resulta na imobilização e armazenamento de quantidades significativas de nutrientes (especialmente N) na superfície do solo (ADAMS; ATTIWILL, 1986; CHANDER et al., 1995; GAMA-RODRIGUES et al., 2008).

Considerando a expansão das plantações de eucalipto e o potencial dessa cultura na recuperação de áreas degradadas, muitos grupos de pesquisadores têm demonstrado interesse em avaliar os possíveis efeitos dessa cultura nos atributos do solo, uma vez que quase sempre se questiona as possíveis mudanças promovidas pelo estabelecimento dessa monocultura (CHAER; TÓTOLA, 2007; GAMA-RODRIGUES et al., 2008).

No nosso estudo, *Eucalyptus grandis* foi à espécie selecionada para reflorestar áreas submetidas à extração de argila no Estado de Pernambuco, nordeste do Brasil. Entretanto, existem poucos relatos da utilização de eucalipto na recuperação de áreas submetidas à mineração.

2.5 BIOMASSA MICROBIANA DO SOLO

A comunidade microbiana do solo participa ativamente da decomposição da matéria orgânica, ciclagem de nutrientes, manutenção da estrutura do solo e supressividade a patógenos (MUMMEY et al., 2002; GREEN et al., 2007; ZHANG et al., 2010; BONANOMI et al., 2011). A composição e a atividade da comunidade microbiana do solo influenciam fortemente os ciclos biogeoquímicos, os processos de turnover de matéria orgânica, a fertilidade e a qualidade do solo (ZELLES, 1999).

A comunidade de plantas e o tipo de cobertura pode afetar a composição da comunidade microbiana do solo, pois a quantidade e a qualidade da serapilheira determinam a composição da matéria orgânica, a qual disponibiliza os recursos para a biomassa microbiana do solo (MYERS et al., 2001; FIORETTO et al., 2009).

A associação entre a cobertura vegetal e a comunidade microbiana do solo é um pré-requisito para reconstrução dos ecossistemas e das funções ecológicas em áreas pós-mineração (FROUZ et al., 2001; CHODAK; NIKLINSKA, 2010; BANNING et al., 2011). Isto ocorre porque os micro-organismos do solo são responsáveis pelo estabelecimento dos ciclos biogeoquímicos e pela transferência de energia, além disso, estão envolvidos na formação da estrutura do solo (PRESTON et al., 2001; BANNING et al., 2008; ZHANG et al., 2012).

A biomassa microbiana representa a fração viva da matéria orgânica do solo, constituída pelos micro-organismos vivos com dimensões inferiores a 10 µm incluindo archeas, bactérias, fungos, protozoários, algas e microfauna (ALEF; NANNIPIERI, 1995; SCHLOTTER et al., 2003; JOERGENSEN; EMMERLING, 2006; HUNGRIA et al., 2009). O componente microbiano corresponde, em média, de 2 a 5% do C orgânico

do solo e de 1 a 5% do N total do solo (PAUL; CLARK, 1989; ZHANG et al., 2011).

A população microbiana é organizada em teias alimentares complexas, sendo responsável por inúmeras funções-chave do solo e participando efetivamente de importantes processos no sistema solo-planta, como a decomposição e acumulação da matéria orgânica e transformações envolvendo os nutrientes (ARAÚJO; MONTEIRO, 2007; BARRETTA et al., 2008; SINHA et al., 2009). Além disso, constitui uma fonte potencial de nutrientes, os quais são continuamente desviados para os ciclos de crescimento dos diferentes organismos que compõem os ecossistemas (TÓTOLA; CHAER, 2002).

Fatores intrínsecos e extrínsecos à matriz do solo podem influenciar a quantidade e a composição da biomassa microbiana. Estudos têm demonstrado os efeitos do clima, tipo de solo, práticas agrícolas e diversidade vegetal (BÖHME; BÖHME, 2006; CARNEIRO et al., 2008; KASCHUK et al., 2010; ZHANG et al., 2011). Fatores como o pH, a umidade e a temperatura do solo também interferem diretamente na biomassa microbiana (WICK et al., 2000; CRIQUET et al., 2002; BÖHME; BÖHME, 2006; TIAN et al., 2008; DIMITRIU et al., 2010). A influência das plantas sobre a biomassa microbiana pode ser direta, devido ao efeito seletivo da rizosfera (ZHANG et al., 2011) ou indireta, por meio das fontes de C provenientes dos resíduos vegetais (RAHN; LILLYWHITE, 2001).

Em solos tropicais, o turnover de nutrientes e biomassa microbiana ocorre mais rapidamente que em regiões temperadas e por essa razão é importante a implementação de práticas de manejo que minimizem o distúrbio no solo, o qual tem drástico efeito nos micro-organismos do solo (WARDLE; GHANI, 1995; BALOTA et al., 2003; HUNGRIA et al., 2009).

A manutenção da produtividade dos ecossistemas agrícolas e florestais depende, em parte, do processo de transformação da matéria orgânica e, por conseguinte, da biomassa microbiana (GAMA-RODRIGUES; GAMA-RODRIGUES, 2008). O fato de muitos micro-organismos utilizarem a fração disponível da matéria orgânica torna-os sensíveis às mudanças em sua qualidade. Em função dessa sensibilidade, a biomassa microbiana tem sido sugerida como indicador do estado e das mudanças da matéria orgânica total do solo (TÓTOLA; CHAER, 2002; GAMA-RODRIGUES et al., 2005).

A composição da comunidade microbiana também interfere na quantificação da

biomassa microbiana, os fungos requerem menos energia para manutenção do que os procariontes e, assim transformam mais eficientemente os substratos carbonados em C microbiano (ŠTURSOVÁ; BALDRIAN, 2011).

De acordo com as condições edafoclimáticas e a qualidade da serapilheira, a biomassa microbiana pode exercer função catalisadora, de fonte e/ou reserva de nutrientes (WARDLE, 1992). Quando a biomassa exerce a função de reserva, a quantidade de nutrientes fornecida pela ciclagem microbiana é menor que aquela que entra no sistema. Quando exerce função fonte, a quantidade liberada é maior do que aquela que entra; na função catalisadora, as quantidades de entrada e saída são iguais, ou seja, o balanço é nulo (GAMA-RODRIGUES; GAMA-RODRIGUES, 2008). Com o distúrbio do ecossistema os solos tendem a se transformar em fonte de CO₂, devido ao aumento da taxa de decomposição e à interrupção da entrada de matéria orgânica (RESCK et al., 1991).

2.6 QUALIDADE DO SOLO: CONCEITO E INDICADORES

A conscientização de que o solo é um recurso fundamental para o funcionamento dos ecossistemas e a constatação de que os processos de degradação têm afetado uma porção considerável dos solos atualmente em uso estimularam o interesse pelo conhecimento da qualidade do solo para avaliação da sustentabilidade ambiental (DORAN; PARKIN, 1994; SCHLOTER et al., 2003; ARAÚJO; MONTEIRO, 2007).

Contrariamente a outros conceitos como a qualidade da água e do ar, a qualidade do solo não possui padrões e, portanto, existem múltiplas definições, o que sugere que seu conceito continuará evoluindo. A qualidade do solo é conceituada como “a capacidade de um solo funcionar, dentro dos limites do ecossistema, como sustentador da produtividade biológica, mantendo a qualidade ambiental e promovendo a saúde vegetal e animal” (DORAN et al., 1996). Esta abordagem leva em consideração não apenas a função do solo na produção de alimentos, mas destaca a importância desse recurso para o funcionamento dos ecossistemas (TÓTOLA; CHAER, 2002).

A qualidade do solo, sendo um estado funcional complexo resultante da interação entre os atributos químicos, físicos e biológicos, não pode ser mensurada diretamente e para avaliá-la é necessário definir as funções do solo relacionadas a cada atributo (DORAN et al., 1996; TÓTOLA; CHAER, 2002; JIN et al., 2009). Dessa forma, a qualidade edáfica pode ser inferida a partir de mudanças nos atributos do solo e

para isso devem ser selecionados indicadores, os quais são substitutos mensuráveis dos atributos (ANDREWS et al., 2004; ARAÚJO; MONTEIRO, 2007) que permitem caracterizar, acompanhar e avaliar as alterações ocorridas num dado ecossistema.

Indicadores são necessários não somente como substitutos, refletindo a funcionalidade dos solos, mas também para orientar a recuperação de áreas degradadas (HINOJOSA et al., 2004). Nesse contexto, o indicador pode ser uma variável mensurável, um processo, ou um índice composto de diversas medidas do solo (TÓTOLA; CHAER, 2002; MELLONI, 2007). No entanto, é obvio que nenhum indicador, individualmente, poderá descrever e quantificar todos os aspectos relacionados à qualidade do solo (STENBERG, 1999; TÓTOLA; CHAER, 2002; SCHLOTER et al., 2003; ARAÚJO; MONTERIRO, 2007).

Os indicadores de qualidade podem ser classificados em físicos, químicos e biológicos (Tabela 1). Até pouco tempo, os estudos de qualidade do solo eram baseados principalmente em investigações dos indicadores químicos e físicos, subestimando-se o papel da biota no funcionamento do solo (SCHLOTER et al., 2003; MELLONI et al., 2008). Devem ser identificados e analisados quanto à sensibilidade às mudanças e distúrbios ocorridos no ambiente edáfico (Gil-SOTRES et al., 2005). Uma vez que tenham sido definidos, esses indicadores podem ser monitorados de forma a avaliar o impacto do manejo adotado sobre a qualidade do solo (CHAER; TÓTOLA, 2007).

Para nortear a escolha de indicadores de qualidade/degradação do solo, Doran e Zeiss (2000) sugerem alguns critérios: os indicadores devem ser sensíveis às variações de manejo e clima, de fácil mensuração, econômicos e úteis para explicar os processos do ecossistema. Entretanto, a seleção de indicadores vai depender da finalidade a que se propõe a utilização do solo.

Para Islam e Weil (2000a) os indicadores podem ser divididos em três grandes grupos: (a) os efêmeros, cujas alterações ocorrem em curto espaço de tempo ou são modificados pelas práticas de cultivo, tais como: umidade do solo, densidade, pH, disponibilidade de nutrientes; (b) os permanentes, que são inerentes ao solo, tais como: profundidade, camadas restritivas, textura, mineralogia; (c) os intermediários, que demonstram crítica influência da capacidade do solo em desempenhar suas funções, como: agregação, biomassa microbiana, quociente respiratório e carbono orgânico total. Para esses autores, os indicadores intermediários são os mais indicados para integrarem um índice de qualidade do solo.

Tabela 1. Indicadores físicos, químicos e biológicos e suas relações com a qualidade do solo

Indicadores	Relação com a qualidade do solo
Físicos	
Estrutura do Solo	Retenção e transporte de água e nutrientes
Infiltração e densidade do solo	Movimento de água e porosidade do solo.
Capacidade de retenção de umidade	Armazenamento e disponibilidade de água
Químicos	
Matéria orgânica do solo	Fertilidade, estrutura e estabilidade do solo
pH	Atividade biológica e disponibilidade de nutrientes
Condutividade elétrica	Crescimento vegetal e atividade microbiana
Conteúdo de N, P e K	Disponibilidade de nutrientes para as plantas.
Biológicos	
Biomassa microbiana	Atividade microbiana e reposição de nutrientes.
Mineralização de nutrientes (N, P e S)	Produtividade do solo e potencial de suprimento de nutrientes.
Respiração do solo	Atividade microbiana
Atividade enzimática do solo	Atividade microbiana e catalítica no solo.

Araújo e Monteiro, 2007 (Adaptado de Doran e Parkin, 1994).

De todo modo um dos desafios atuais da pesquisa é como avaliar a qualidade de um solo de maneira fácil e simples, uma vez que não há método prático e confiável para essa estimativa.

2.7 INDICADORES BIOLÓGICOS DE QUALIDADE DO SOLO

A crescente degradação ambiental tem impulsionado a busca por indicadores sensíveis de qualidade do solo, tanto para avaliação pontual de um ecossistema, como para prever quais práticas podem favorecer a recuperação do solo (ANDREWS; CARROL, 2001; HERRICK et al., 2002; SARDANS; PENUELAS, 2005; PORTÔ et al., 2009; HUNGRIA et al., 2009; ARAÚJO et al., 2013).

A avaliação das propriedades biológicas do solo se adequa à maioria dos critérios de um indicador de qualidade de solo (DORAN; ZEISS, 2000), apesar de ter

sido ignorado em muitos estudos. A capacidade de responder rapidamente às mudanças no solo e o fato da atividade microbiana do solo refletir a influência conjunta dos fatores responsáveis pela degradação da matéria orgânica e ciclagem de nutrientes (BEHERA; SAHANI, 2003; ZHANG et al., 2011), justifica o uso de micro-organismos e processos microbiológicos para estudar a qualidade do solo.

A microbiota do solo apresenta grande potencial de utilização em estudos da qualidade edáfica, pois os micro-organismos constituem fonte e depósito de nutrientes em todos os ecossistemas; além disso, participam ativamente em processos benéficos como a estruturação do solo, a formação do húmus, a solubilização de nutrientes para as plantas e a degradação de compostos persistentes aplicados ao solo (GREEN *et al.*, 2007; GAMA-RODRIGUES; GAMA-RODRIGUES, 2008; KASCHUK et al., 2010). As propriedades microbiológicas têm sido amplamente discutidas na literatura como indicadores de qualidade (HINOJOSA et al., 2004; KIZILKAYA; BAYRAKLI, 2005; PARADELO et al., 2009; STURSOVÁ; BALDRIAN, 2011; ZHANG et al., 2011) dado o relacionamento entre atividade e diversidade microbiana, vegetação e sustentabilidade dos ecossistemas (DORAN et al., 1996).

O funcionamento microbiológico e bioquímico do solo tem sido frequentemente proposto como indicador sensível de estresse ecológico ou dos processos de restauração dos solos tanto em ambientes naturais como em agroecossistemas (BADIANE et al., 2001; SCHROTH et al., 2002). A análise desses indicadores pode fornecer informações importantes sobre o desempenho de funções-chave do solo (CHAER et al., 2009). Diferentemente do que ocorre com os indicadores químicos, cujos níveis já estão relativamente bem definidos para cada nutriente e tipo de solo, a base de informações disponível sobre os dados biológicos ainda é muito pequena. Dessa forma, as dificuldades na interpretação dos bioindicadores de qualidade constitui um dos grandes obstáculos a serem transpostos para o uso dessas variáveis nas avaliações de qualidade do solo (TÓTOLA; CHAER, 2002; PAZ-FERREIRO et al., 2010).

Entre os indicadores comumente utilizados para avaliação do funcionamento microbiológico do solo destacam-se o carbono da biomassa microbiana (DE-POLLI; GUERRA, 1997), a evolução de CO₂ (GRISI, 1978), a atividade de enzimas do solo (BURNS, 1982), a relação carbono da biomassa microbiana/carbono orgânico, denominada quociente microbiano, e a relação respiração/biomassa (ANDERSON; DOMSCH, 1985). Os indicadores básicos e o número de medidas a serem estimadas

ainda estão em discussão; no entanto, programas nacionais e internacionais para o monitoramento da qualidade do solo incluem avaliações da biomassa e atividade respiratória (SCHLOTER et al., 2003). Os critérios para a escolha de indicadores devem estar relacionados, principalmente, com sua utilidade em definir processos do ecossistema.

2.7.1 Carbono da biomassa microbiana (CBM)

Diversas metodologias podem ser utilizadas para estimar a biomassa microbiana, sendo mais frequentes a fumigação-incubação (JENKINSON; POWLSON, 1976), a fumigação-extração (VANCE et al., 1987) e a irradiação-extração (ISLAM; WEIL, 1998); vários estudos têm comparado a eficiência desses métodos na determinação da biomassa microbiana (WARDLE; GHANI, 1995; BRANDÃO-JÚNIOR et al., 2008). A fumigação-extração tem sido usada com mais frequência devido à rápida avaliação em comparação com o método de fumigação-incubação, e à independência em relação ao estado fisiológico da população microbiana do solo (VANCE et al., 1987). Além disso, o método tem sido recomendado para mensuração de CBM em solos do Brasil pela Sociedade Brasileira de Ciência do Solo (ROSCOE et al., 2006).

O teor de carbono da biomassa microbiana pode ser indicativo do potencial da disponibilidade de nutrientes para os vegetais, podendo estar relacionado à qualidade do solo e, conseqüentemente, à produtividade ecológica (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002). O C contido na biomassa microbiana consiste em energia armazenada para futuros processos microbianos (BLAGODATSKAYA; KUZUYAKOV, 2008).

Diversos estudos foram realizados para avaliar a biomassa em solos degradados (CARNEIRO et al., 2008), sob diferentes coberturas vegetais (GAMA-RODRIGUES et al., 2008) em sistemas agrícolas (SILVA et al., 2010a), comparando sistemas naturais e agrícolas (JAKELAITIS et al., 2008) e em sistemas agroflorestais (NOGUEIRA et al., 2006).

Böhme e Böhme (2006) observaram que espécies vegetais influenciam diferentemente o conteúdo de carbono microbiano em decorrência da rizodeposição. Em áreas de reabilitação após mineração com bauxita, o aumento na biomassa microbiana foi atribuído à entrada de C pela rizodeposição e decomposição da fitomassa (CARNEIRO et al., 2008). Esses autores relataram que o benefício é decorrente das características dos vegetais que apresentavam sistema radicular extenso e de

crescimento rápido, além de produzir grande quantidade de fitomassa, promovendo condições para o crescimento microbiano.

Outro estudo em área de mineração de bauxita demonstrou que o teor de CBM atingiu valores próximos ao da área de referência 10 anos após o reflorestamento ou recuperação espontânea da vegetação (COSTA et al., 1998). Em plantações de eucalipto com distintas idades, Barreto et al. (2008) verificaram aumento do teor de CBM após 13 anos de cultivo. Particularmente nos plantios de eucalipto, as variações no teor de CBM podem estar associadas às mudanças na ecologia do solo (GREGORICH et al., 1997), promovidas pela introdução e estabelecimento da vegetação (ARAÚJO et al., 2010), uma vez que os micro-organismos do solo são afetados por vários fatores, incluindo a quantidade e a qualidade de exsudatos secretados, propriedades físicas e químicas do solo (ZHANG et al., 2011).

Numa compilação de dados sobre os principais estudos abordando a estimativa da biomassa microbiana do solo em ecossistemas brasileiros nos últimos 30 anos, Kaschuk et al. (2010) observaram que o teor de CBM varia de acordo com o ambiente e geralmente solos cultivados apresentam menores teores do que áreas com vegetação nativa. Para melhor entendimento das mudanças no CBM é necessário compreender a dinâmica da ciclagem de nutrientes e da atividade microbológica, sobretudo em ecossistemas sob condições de degradação.

A determinação do CBM não fornece indicações sobre a atividade dos micro-organismos do solo, sendo necessário avaliar simultaneamente atributos que possam medir o estado metabólico da comunidade microbiana do solo (MENDES et al., 2012), como por exemplo respiração basal e a atividade de enzimas do solo. Importantes variáveis podem ser derivados do CBM como o quociente microbiano e o quociente metabólico (KASCHUK et al., 2010), os quais servem para indicar a vulnerabilidade dos ecossistemas em termos de resistência e resiliência.

2.7.2 Respiração basal

A respiração basal do solo consiste na medida das funções metabólicas nas quais ocorre produção de CO₂ (ADACHI et al., 2006; GAMA-RODRIGUES et al., 2008; PRAGANA et al., 2012). A liberação de CO₂ é proveniente da atividade de bactérias, fungos, algas e protozoários do solo e também das raízes de plantas (EPRON et al., 2006; GAMA-RODRIGUES et al., 2008). A contribuição de raízes para a respiração do

solo varia de 10% a 90% dependendo da estação do ano e da vegetação; estudos de longa duração indicam as contribuições médias de 45% e 60% em áreas florestadas e abertas, respectivamente (HANSON et al., 2000). Em plantações de eucalipto a respiração radicular contribui com 59% para a respiração total do solo (EPRON et al., 2006).

De modo geral, a quantidade do CO₂ emitido está relacionada à capacidade de degradação da matéria orgânica pela microbiota heterotrófica, o que constitui uma fase fundamental no ciclo do carbono (HERNÁNDEZ; GARCÍA, 2003; EPRON et al., 2006). Desse modo, a disponibilidade de C no solo tem sido descrita como um dos fatores que pode contribuir para o aumento da respiração basal do solo (PRAGANA et al., 2012).

Alta taxa respiratória pode ser uma característica desejável, considerando-se que pode indicar uma alta atividade da biomassa microbiana e rápida transformação da matéria orgânica em nutrientes para as plantas. Atividade respiratória elevada pode ser resultado tanto de um grande “pool” de substratos de C lábeis, onde a decomposição da matéria orgânica é intensa, como da rápida oxidação de um pequeno “pool” decorrente, por exemplo, da quebra de agregados do solo promovida pela aração, a qual expõe material orgânico que se encontrava protegido da ação microbiana (TÓTOLA; CHAER, 2002). Assim, elevada emissão de CO₂ pode indicar tanto um distúrbio ecológico como alta produtividade do ecossistema (ISLAM; WEIL, 2000b), devendo ser analisada em cada contexto.

A quantificação de CO₂ liberado pela respiração dos micro-organismos constitui um dos métodos mais utilizados para avaliação da atividade metabólica (GRISI, 1978; SANTRUCKOVÁ; STRASKRABA, 1991; WARDLE, 1994; WALDROP et al., 2000; SICARDI et al., 2004; CHAER; TÓTOLA, 2007; BARRETO et al., 2008; PAZ-FERREIRO et al., 2010; FANIN et al., 2011). Medidas de respiração microbiana refletem diretamente a atividade de micro-organismos heterótrofos e informam quanto à bioatividade do solo (PAUL; CLARK, 1989). A respiração microbiana, assim como outras atividades metabólicas, depende do estado fisiológico das células, sendo influenciada por diversos fatores ambientais como umidade do solo, temperatura, disponibilidade de nutrientes, quantidade de C orgânico, pluviosidade e qualidade da matéria orgânica (ADACHI et al., 2006; SNAJDR et al., 2008; SILVA et al., 2010b; HELINGEROVÁ et al., 2010).

Respostas diferenciadas desse parâmetro ao manejo do solo e práticas agrícolas dependem de variações espaciais, como a profundidade da coleta das amostras ou do tipo de solo cultivado (ANDRÉA; PETTINELLI, 2000; SNAJDR et al., 2008; CHAER et al., 2009). O tipo de vegetação e idade das plantas também são fatores relevantes. Helingerová et al. (2010) constataram diminuição da respiração com o incremento da idade sucessional em área de mineração de carvão. Outros estudos relatam uma tendência de aumento da biomassa microbiana durante a fase inicial da sucessão; após esse período os teores de nutrientes geralmente diminuem e a biomassa microbiana pode declinar ou permanecer constante (BALDRIAN et al., 2008). Em povoamentos de eucalipto no estado do Espírito Santo, a idade das plantas não influenciou a taxa de evolução de CO_2 (BARRETO et al., 2008). Segundo Behera e Sahani (2003), baixa taxa de respiração em solos sob plantios de eucalipto reflete pouca atividade microbiana.

Em muitos casos, a interpretação dos resultados da avaliação da respiração microbiana torna-se difícil, devendo por isso ser realizada com cautela (CHAER, 2002). A associação de outras medidas da atividade microbiológica do solo mostra-se necessária para obtenção de resultados mais completos sobre a real condição do sistema em estudo. Assim, uma variável de interpretação aparentemente mais adequada é a taxa de respiração por unidade de biomassa.

2.7.3 Quociente metabólico

O quociente metabólico ($q\text{CO}_2$) é relação entre o CO_2 produzido pela respiração microbiana e o CBM e tem sido utilizado para avaliar efeitos ambientais e antropogênicos sobre a biomassa microbiana do solo (WARDLE; GHANI, 1995; GRAHAM; HAYNES, 2004; ZHANG et al., 2011). Esse quociente baseia-se na teoria bioenergética de Odum, segundo a qual comunidades microbianas sob condições de estresse (limitações de nutrientes, baixo pH, etc.) ou expostas a qualquer tipo de perturbação serão menos eficientes em converter o C assimilado em biomassa, pois a maior parte do C deverá ser utilizado para fornecer energia para processos metabólicos necessários à manutenção celular. O quociente metabólico tem sido usado como índice ecofisiológico dos micro-organismos do solo e reflete o status bioenergético da biomassa microbiana (ZHANG et al., 2011).

O declínio do quociente metabólico é interpretado como aumento da eficiência da utilização de C pela biomassa (BANNING et al., 2008; KASCHUK et al., 2010). Baixos valores de $q\text{CO}_2$ supostamente refletem um ambiente estável ou próximo ao

estado de equilíbrio. Por outro lado, valores elevados são indicativos de ecossistemas jovens, submetidos a alguma condição de estresse (BEHERA; SAHANI, 2003; DINESH et al., 2003; BÖHME; BÖHME, 2006; MALUCHE-BARETTA et al., 2006). Nessas condições, ocorre maior gasto de energia para manutenção da comunidade microbiana e os micro-organismos tendem a consumir mais substrato para sobreviver (AGNELLI et al., 2001; CARNEIRO et al., 2008). Assim, parte do carbono microbiano será perdido na forma de CO_2 pela alta catabolização da matéria orgânica (ARAÚJO; MONTEIRO, 2007; CARNEIRO et al., 2008).

Em solos com plantio de eucalipto, elevado $q\text{CO}_2$ reflete o declínio na eficiência de utilização do substrato pela comunidade microbiana do solo (BEHERA; SAHANI, 2003) e o declínio da biomassa fúngica nos solos resultou em incremento do $q\text{CO}_2$ (BEHERA; SAHANI, 2003). Frequentemente, solos com alto $q\text{CO}_2$ são dominados por organismos colonizadores de rápido crescimento (TÓTOLA; CHAER, 2002). Mudanças na composição da comunidade microbiana podem contribuir para aumento dos valores de $q\text{CO}_2$ (WARDLE; GHANI, 1995). Mas nem sempre o $q\text{CO}_2$ tem sido uma avaliação consistente da condição de distúrbio ou sustentabilidade dos ecossistemas, uma vez que, há situações nas quais ocorre menor sensibilidade desse índice em relação a outros indicadores de qualidade do solo (WARDLE; GHANI, 1995). Desse modo, a interpretação dos resultados do $q\text{CO}_2$ requer cautela e um amplo conhecimento do sistema em estudo.

2.7.4 Quociente microbiano

O quociente microbiano (q_{mic}) representa a relação entre o carbono microbiano e o carbono orgânico total. Essa relação fornece informações sobre a qualidade da matéria orgânica e a quantidade de carbono imobilizado na biomassa microbiana (BANNING et al., 2008).

Mudanças no q_{mic} refletem o padrão de entrada da matéria orgânica no solo e indicam se o carbono está em equilíbrio, ou se está sendo acumulado ou reduzido (ANDERSON; DOMSCH, 1990). Em circunstâncias de desequilíbrio ambiental ou em situações em que a biomassa microbiana encontra-se sob algum fator de estresse (deficiência de nutrientes, acidez, deficiência hídrica, etc.), a capacidade de utilização de C é menor, conduzindo ao decréscimo do q_{mic} (WARDLE, 1994). Reduções nos valores do q_{mic} podem ocorrer devido à baixa qualidade nutricional da matéria

orgânica, fazendo com que a biomassa microbiana torne-se pouco eficiente em utilizar totalmente o C orgânico (GAMA-RODRIGUES; GAMA-RODRIGUES, 2008).

Por outro lado, em locais sob condições favoráveis, há tendência de aumento da biomassa microbiana, e em consequência, o q_{mic} tende a aumentar (WARDLE, 1994; KASCHUK et al., 2010). Com adição de matéria orgânica, ou com a mudança do fator limitante para uma condição favorável a biomassa pode aumentar rapidamente, mesmo se os teores de carbono orgânico permanecem inalterados (CHAER; TÓTOLA, 2007).

Diversos ecossistemas sucessionais têm apresentado incremento no q_{mic} logo após o distúrbio e subsequente declínio com o tempo de sucessão (BANNING et al., 2008). Esse padrão tem sido interpretado como indicativo da diminuição da disponibilidade de C da matéria orgânica do solo durante o período, mudanças na estrutura da comunidade microbiana também podem ser um fator importante (SCHIPPER et al., 2001; GRAHAM; HAYNES, 2004).

2.7.5 Enzimas do solo

As transformações mediadas pela biomassa microbiana são catalisadas por enzimas envolvidas nos processos de ciclagem de nutrientes e degradação de substratos complexos (DICK et al., 2000; KANDELER et al., 2006; STURSOVÁ; BALDRIAN, 2011; SNAJRD et al., 2013). Nos solos, as enzimas são produzidas principalmente por fungos e bactérias (AON; COLANERI, 2001; CRIQUET et al., 2004; SARDANS; PENUELAS, 2005; BALDRIAN et al., 2008; GEISSELER et al., 2011), sendo também sintetizadas por animais e plantas.

A produção de enzimas depende de fatores ambientais como pH, temperatura e umidade e da presença de inibidores e ativadores no solo (TABATABAI, 1994; CRIQUET et al., 2004; ALLISON et al., 2007; BLAGODATSKAYA; KUZUYAKOV, 2008), e algumas enzimas são formadas somente na presença de substratos apropriados (UDAWATTA et al., 2009). A atividade enzimática do solo pode fornecer informações sobre o metabolismo microbiano e disponibilidade de recursos no ambiente (KIZILKAYA; BAYRAKLI, 2005; SINSABAUGH et al., 2012), fornecendo em curto espaço de tempo informações relevantes a respeito da funcionalidade da microbiota edáfica (ISLAM; WEIL, 2000b; GARAU et al., 2011). Além disso, reflete o efeito de numerosos fatores, incluindo clima, tipo de alteração ocorrida nos ambientes e técnicas de manejo (DEGENS et al., 2000; WALDROP et al., 2000; GIANFREDA et al., 2005;

CHAER; TÓTOLA, 2007; TRASAR-CEPEDA et al., 2008).

A atividade enzimática do solo integra informações importantes sobre o status microbiológico e condições físico-químicas do solo (AON et al., 2001), tornando-se um parâmetro adequado para avaliar o papel dos micro-organismos nos processos do solo (DODOR; TABATABAI, 2003). A composição da comunidade microbiana determina o potencial da comunidade para sintetizar enzimas, e qualquer modificação na comunidade pode ser refletida no nível de enzimas do solo. As alterações na atividade das enzimas podem refletir modificações no funcionamento metabólico do solo e na ciclagem de nutrientes, as quais são explicadas por mudanças na composição da comunidade microbiana (ACOSTA-MARTÍNEZ et al., 2011).

Vários trabalhos têm enfatizado a importância da atividade enzimática como indicador sensível para detectar diferenças entre solos e mudanças que variam em função da influência das ações antrópicas (BANDICK; DICK, 1999; BAUDOIN et al., 2003; CLAASSENS et al., 2008; PAZ-FERREIRO et al., 2010). O componente microbiano e a atividade das enzimas do solo são atrativos como indicadores para monitorar a perturbação ou a poluição dos solos devido ao seu papel crucial no funcionamento desse ambiente (PASCUAL et al., 2000; HINOJOSA et al., 2004).

A atividade enzimática do solo resulta da ação de enzimas abiômicas (extracelulares) e biômicas (intracelulares). As primeiras são secretadas no ambiente por organismos vivos durante o metabolismo e a divisão celular, ou podem ser liberadas por células lisadas, ligadas à parede celular ou retidas no espaço periplasmático (BADIANE et al., 2001). Enzimas extracelulares são o principal meio pelo qual a microbiota do solo degrada compostos orgânicos complexos em moléculas pequenas que podem ser assimiladas (ALLISON; VITOUSEK, 2005) e podem estar associadas com componentes microbianos como células dormentes, mortas ou restos celulares.

As enzimas mais estudadas são as hidrolases, devido à relação com a mineralização de nutrientes essenciais aos ecossistemas terrestres (AON; COLANERI, 2001). As hidrolases são responsáveis por catalisar reações de clivagem de ligações com posterior liberação de uma molécula de água e não requerem co-fatores, sendo mais resistentes às inativações do que as demais enzimas do solo (DICK; TABATABAI, 1999). Nesta categoria encontram-se as polissacaridases (amilase, celulase, xilanase), a protease, a invertase ou sacarase, a urease, a arilsulfatase e as fosfatases. Além das hidrolases, as oxirredutases que catalisam a transferência de elétrons de uma molécula

para outra também são bastante estudadas. Neste grupo estão a desidrogenase, a lacase, a peroxidase, entre outras.

As glicosidases estão envolvidas na degradação de componentes de C, hidrolisam celulose e outros polímeros de carboidratos (BÖHME; BÖHME, 2006; XIAO-CHANG; QIN, 2006; CUNHA-QUEDA et al., 2007). Essas enzimas são amplamente distribuídas na natureza, possuem função crítica na liberação de açúcares de baixo peso molecular, importante fonte de energia para os micro-organismos do solo (BANDICK; DICK, 1999; WALDROP et al., 2000). A β -glicosidase é uma das principais glicosidases do solo (SARDANS et al., 2008) e sua ação é fundamental na liberação de nutrientes da matéria orgânica. Atua nas primeiras fases de degradação de compostos orgânicos reduzindo o tamanho molecular e produzindo estruturas orgânicas menores. A atividade da β -glicosidase tem sido utilizada para avaliar a qualidade do solo sob diferentes práticas de manejo (DONI et al., 2012).

Claassens et al. (2005) relataram uma correlação positiva significativa entre a atividade da β -glicosidase e o C total do solo. Pérez de Mora et al. (2005) observaram que alta concentração de Zn tem pouco efeito sobre a atividade da β -glicosidase no solo, devido ao fato dos micro-organismos necessitarem de mais C para sua manutenção quando estão sob condição de estresse, desse modo produzem mais enzima.

As arilsulfatases são enzimas extracelulares que catalisam a hidrólise dos ésteres de sulfato orgânico os quais correspondem a 40-70% do enxofre total do solo (TABATABAI, 1994; MELO et al., 2010; BAKER et al., 2011). A avaliação da atividade das arilsulfatases pode fornecer informações sobre a mineralização e a transformação dos compostos de S no solo, essenciais para a nutrição da planta (KNAUFF et al., 2003; ACOSTA-MARTÍNEZ et al., 2011). Essa enzima pode ser um indicador indireto de biomassa fúngica, pois apenas os fungos possuem ésteres de sulfato, substrato para arilsulfatase (BANDICK; DICK, 1999).

As ureases participam do ciclo do nitrogênio, contribuindo para liberação de N inorgânico e catalisam a hidrólise da uréia para CO₂ e amônia, os quais são assimilados por micro-organismos e plantas (KIZILKAYA; BAYRAKLI, 2005). As ureases participam da hidrólise dos compostos de aminoácidos, os quais são fornecidos ao solo a partir de plantas e, em menor extensão, pelos micro-organismos e animais (SARDANS et al., 2008). As ureases do solo são altamente resistentes à degradação

ambiental. Alguns autores admitem que isso ocorra devido ao fato de ficarem protegidas da ação de outras proteases por permanecer no interior dos solos, onde o substrato consegue penetrar (MELO et al., 2010).

As fosfatases hidrolisam compostos de P orgânico transformando-os em diferentes formas de P inorgânico, os quais são assimilados pelas plantas (AMADOR et al., 1997; BAKER et al., 2011). Essas enzimas podem ter origem a partir de micro-organismos, como bactérias, fungos ou protozoários, assim como animais e raízes de plantas (CRIQUET; BRAUD, 2008). As fosfatases do solo são derivadas principalmente da população microbiana e têm sido sugeridas como um índice da atividade microbiana (DODOR; TABATABAI, 2003). De acordo com o tipo de ligação que hidrolisam as fosfatases podem ser divididas em: fosfomonoesterase, fosfodiesterase e fosfotriesterases. As fosfomonoesterases têm sido extensivamente estudadas em ecossistemas terrestres (TURNER; HAYGARTH, 2005; CRIQUET; BRAUD, 2008) e são consideradas as fosfatases predominantes em muitos tipos de solo e serapilheira (TURNER et al., 2002; CRIQUET et al., 2004), provavelmente devido à pouca especificidade por substrato. Quanto às denominações ácidas e alcalinas, estas referem-se à faixa ótima de H nas quais atuam essas enzimas (DODOR; TABATABAI, 2003). A fosfatase ácida tem sido reportada como predominante em solos ácidos, enquanto a fosfatase alcalina predomina em solos alcalinos. Nesse sentido, as raízes das plantas constituem uma importante fonte de fosfatase ácida nos solos, o que não aconteceu em relação à fosfatase alcalina, a qual é atribuída a bactérias e fungos do solo e está ausente da rizosfera de plantas cultivadas axenicamente (CRIQUET et al., 2004). Relação entre a fosfatase e o C total do solo tem sido relatada em estudos em áreas de mineração (CLAASSENS et al., 2005).

As desidrogenases catalisam a oxidação de substratos orgânicos e têm importante função no estado inicial de oxidação da matéria orgânica (CAMINA *et al.*, 1998). A atividade dessas enzimas é usada como uma medida da atividade microbiana no solo e tem sido considerada indicadora sensível da qualidade do solo em ambientes degradados (GARCIA et al., 1997); no entanto, alguns autores criticam essa abordagem (NANNIPIERI et al., 1990) uma vez que muitos fatores (tipo de solo, pH) podem afetar a sua atividade (PASCUAL et al., 2000). Por outro lado, vários autores consideram a desidrogenase um dos melhores indicadores da atividade microbiana por ser ativa apenas nas membranas das células vivas (GARCIA et al., 1997, CAMINA et al., 1998, SINHA

et al., 2009).

Tabela 2. Principais enzimas envolvidas na ciclagem do carbono, do nitrogênio, do enxofre e do fósforo no solo e algumas características dos métodos utilizados em suas determinações.

Enzimas	Substrato usado na determinação	Deteccção	Referência
β -Glicosidase	p-nitrofenil- β -glicopiranosídeo	Determinação do p-nitrofenol liberado por colorimetria (mmol kg^{-1} p-nitrofenol)	Eivazi e Tabatabai (1988)
Invertase	Sacarose	Quantificação dos açúcares redutores liberados por colometria ($\text{mg kg}^{-1} \text{h}^{-1}$)	Schinner e Von Mersi (1990)
Celulase	Carboximetil cellulose	Idem invertase	Schinner e Von Mersi (1990)
Urease	Uréia	Quantificação do amônio liberado por colorimetria + ($\text{mmol kg}^{-1} \text{h}^{-1} \text{NH}_4$)	Kandeler e Gerber (1988)
Arilsulfatase	p-nitrofenil sulfato	Idem β -Glicosidase	Tabatabai e Bremner (1970)
Fosfatases	p-nitrofenil fosfato	Idem β -Glicosidase	Tabatabai e Bremner (1969)
Desidrogenase	Cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio (TTC)	Determinação colorimétrica do 2,3,5-trifenil formazan (TTF) produzido pela redução do TTC ($\mu\text{mol kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ TFP)	Casida et al. (1964)

Adaptado de Tótola e Chaer (2002)

Outra avaliação indireta da atividade heterotrófica do solo é a hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA). Este substrato é hidrolisado por diversas enzimas, como as proteases, as lipases e as esterases (MELO et al., 2010), liberadas em grande

quantidade pelos decompositores primários, como as bactérias e fungos (TAYLOR et al., 2002), servindo como indicador da atividade da biomassa do solo.

Como a extração de enzimas do solo é extremamente difícil, a sua presença costuma ser caracterizada pela avaliação da atividade sob um conjunto de condições previamente estabelecidas (pH, temperatura, concentração do substrato). Dessa forma, as atividades enzimáticas do solo costumam medir a atividade potencial e não sua atividade *in situ*. Os procedimentos para determinação da atividade das enzimas em geral prescrevem o emprego de solução tamponada contendo o substrato da enzima para ser misturada ao solo, sendo a mistura incubada sob condições padronizadas por determinado período e o produto formado quantificado por método colorimétrico (TÓTOLA; CHAER, 2002). Quanto maior a intensidade da coloração, maior a quantidade de produto formado e consequentemente maior a atividade enzimática. Entre os fatores importantes na determinação da atividade de enzimas do solo estão o preparo das soluções, o armazenamento das amostras, o tempo de incubação e a concentração do substrato (MATSUOKA, 2006).

A escolha das enzimas a serem analisadas é baseada na sensibilidade ao manejo do solo, na sua importância na ciclagem de nutrientes e na incorporação da matéria orgânica e na simplicidade da análise (TÓTOLA; CHAER, 2002). Devido à importância do C, N, P e S para a nutrição das plantas e o metabolismo microbiano, as enzimas envolvidas na assimilação desses elementos são frequentemente estudadas (JIN et al., 2009; STURSOVÁ; BALDRIAN, 2011) (Tabela 2). Em geral, as atividades enzimáticas do solo são fortemente relacionadas com o conteúdo de matéria orgânica e C da biomassa microbiana (MANDAL et al., 2007). Alguns estudos tem demonstrado que a atividade enzimática é regulada pelo teor de umidade do solo (CRIQUET et al., 2002; BALDRIAN et al., 2008).

A atividade enzimática tem sido considerada bom indicador da qualidade do solo (BANDICK; DICK, 1999; GIANFREDA et al., 2005; CARREIRA et al., 2008; BASTIDA et al., 2008) refletindo o grau de qualidade alcançado por um solo em processo de reabilitação (CARAVACA et al., 2003). As enzimas têm sido usadas com sucesso no monitoramento do processo de recuperação do solo em áreas pós-mineração incluindo práticas de revegetação (GARCIA et al., 2000; ALLISON et al., 2007).

Dois fatores principais influenciam a atividade das enzimas e o conteúdo da biomassa microbiana em locais minerados e em processo de recuperação: o efeito da

idade do local com processo simultâneo de acumulação de matéria orgânica, e mudanças no conteúdo de nutrientes que afetam principalmente a atividade das enzimas que participam da decomposição da serapilheira (BALDRIAN et al., 2008).

O impacto diferencial da idade da vegetação sobre a atividade enzimática tem sido relatado em vários estudos. Avaliando mudanças na atividade enzimática e na comunidade microbiana em cronossequência na Nova Zelândia (ALLISON et al. (2007), relataram que as enzimas envolvidas na mineralização do C e N declinaram com a idade do local, enquanto aquelas envolvidas na mineralização do P e S aumentaram com o tempo de sucessão. No Mediterrâneo, Fioretto et al. (2009) observaram que a atividade das enzimas do solo aumentou com o tempo de desenvolvimento da vegetação em ecossistemas com diferentes estádios sucessionais. Em área de mineração, em Cuba, Izquierdo et al. (2005) registraram incremento na atividade da β -glicosidade quatro anos após a revegetação. Incremento na atividade enzimática com o aumento da idade sucessional também foi relatado em áreas de mineração de carvão, na Europa (BALDRIAN et al., 2008). Porém, em algumas situações o uso da atividade enzimática, não distinguiu áreas com diferentes graus de impacto no solo (GRAHAM; HAYNES, 2005).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 EFICIÊNCIA DO REFLORESTAMENTO COM EUCALIPTO EM ÁREA DE MINERAÇÃO: USO DE INDICADORES MICROBIANOS, QUÍMICOS E FÍSICOS

3.1.1 Local de estudo

O estudo foi realizado em área pertencente à empresa Itapoama Mineração, localizada no município do Cabo de Santo Agostinho, litoral sul de Pernambuco, Nordeste do Brasil. O clima da região é do tipo As', segundo a classificação de Köppen, caracterizando-se como tropical chuvoso (ASSIS, 1999). A precipitação anual é da ordem de 2.160 mm, as chuvas ocorrem no período de março a agosto e a estação seca se prolonga de setembro a fevereiro. A média anual de temperatura é de 25°C; dados de precipitação e temperatura referentes ao período das coletas são apresentados na Tabela 3.

Os solos predominantes nessa região são do tipo latossolo vermelho-amarelo distrófico, com acidez acentuada e baixa saturação por bases (< 50%). No local de estudo, a retirada da argila vem sendo realizada desde 1998 e a revegetação das áreas foi iniciada a partir de 2002. Antes da extração, a camada superficial do solo (0-30 cm) foi removida e estocada. As cavas resultantes da exploração foram preenchidas com rejeito/estéril e recobertas com o solo anteriormente estocado. Após esse procedimento, iniciou-se a reabilitação das áreas, realizada por reflorestamento com *Eucalyptus grandis* Hill (ex Maiden). Os plantios foram realizados em covas de 20 cm de profundidade, com espaçamento 3 × 2 m e a fertilização foi realizada com 150g de NPK (10:10:10) por planta.

Tabela 3. Dados da precipitação anual e da precipitação e temperatura no mês de dezembro nos anos de 2009 a 2011 no Cabo de Santo Agostinho, PE

	Anos		
	2009	2010	2011
Precipitação anual (mm)	2.099	1.948	2.451
Precipitação em dezembro (mm)	25	10	7
Temperatura em dezembro (°C)	28	27	28

Fonte: Agência Pernambucana de Águas e Clima

3.1.2 Amostragem

Amostras de solo foram obtidas em quatro áreas: três com plantios de eucalipto com diferentes idades e uma com floresta nativa (Mata Atlântica), usada como referência das características originais do solo. No início das avaliações, em dezembro de 2009, os plantios de eucalipto apresentavam 1, 3 e 5 anos. Os locais foram reamostrados em 2010 e 2011 para obter uma cronossequência de idades de recuperação, e as coletas foram realizadas sempre no início de dezembro visando garantir a consistência dos dados.

As áreas receberam as seguintes denominações: recuperação inicial (plantios de eucalipto com idades de 1 a 3 anos), recuperação intermediária (plantios de eucalipto com idades de 3 a 5 anos) e recuperação avançada (plantios de eucalipto com idades de a partir de 5 anos). Todas as áreas amostradas estão localizadas a menos de 1 km uma das outras, e desde a implantação dos plantios não houve corte das árvores.

Para a coleta das amostras de solo, seis parcelas (20 x 20m) foram estabelecidas em cada área, e para cada parcela 20 subamostras (estrutura deformada) foram retiradas na camada de 0-10 cm para constituir uma amostra composta. Duas amostras não-deformadas foram coletadas em cada parcela para determinação da densidade, macroporosidade e microporosidade do solo. Essas amostras foram coletadas em anéis volumétricos utilizando-se amostrador de Uhland. As amostras deformadas utilizadas para realização das análises químicas foram secas ao ar e para as análises bioquímicas e microbiológicas foram armazenadas a 4°C para preservar a atividade biológica.

3.1.3 Análises do solo

- **Propriedades químicas e físicas**

O pH do solo foi determinado em solução de solo: água (1:2,5 v/v). Os teores de carbono orgânico (CO) foram mensurados pelo método de Walkley-Black (NELSON; SOMMERS, 1996) e de N total segundo Bezerra e Barreto (2004). P e K foram extraídos com o extrator Mehlich-1 e Ca^{2+} , Mg^{2+} e Al^{3+} com KCl 1N (EMBRAPA, 1997). A concentração desses elementos no solo foi determinada por colorimetria (P e Al^{3+}) e por absorção atômica (Ca^{2+} e Mg^{2+}) (EMBRAPA, 1997). A capacidade de troca catiônica total (CTC) foi calculada como o somatório entre a soma de bases (Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Na^+) e a acidez potencial estimada pela soma de H^+ + Al^{3+} (EMBRAPA, 1997).

A densidade do solo foi determinada utilizando-se o método do anel volumétrico e a macroporosidade e a microporosidade, pelo método da mesa de tensão com coluna de água de 60 cm (EMBRAPA, 1997). A estabilidade de agregados foi determinada por peneiramento úmido (KEMPER; CHEPIL, 1965), utilizando-se aparelho de oscilação vertical e conjuntos de peneiras com diferentes aberturas de malha (2,00; 1,00; 0,500; 0,250 e 0,125 mm), hexametáfosfato de sódio foi usado como agente dispersante.

- **Funcionamento microbiológico**

O carbono da biomassa microbiana (CBM) foi estimado pelo método de fumigação-extração (VANCE et al., 1987). O C extraído das amostras fumigadas e não fumigadas foi convertido em carbono microbiano aplicando-se um fator de correção (Kc) de 0,38. A respiração basal do solo (carbono prontamente mineralizável) foi mensurada pela quantificação do CO₂ liberado durante sete dias de incubação do solo em sistema fechado. O CO₂ produzido foi capturado em solução de NaOH e posteriormente titulado com HCL (ALEF; NANNIPIERI, 1995).

As atividades da fosfatase ácida (TABATABAI; BREMMER, 1969), β -glicosidase (EIVAZI; TABATABAI, 1988) e arilsulfatase (TABATABAI; BREMMER, 1970) foram estimadas pela quantificação colorimétrica do p-nitrofenol resultante da ação das enzimas com os substratos específicos (p-nitrofenilfosfato, p-nitrofenil- β -D-glicosídeo, p-nitrofenilsulfato). A atividade das enzimas foi avaliada a 37°C por 1 h.

A hidrólise do diacetato de fluoresceína foi determinada pelo método proposto por Swisher e Carrol (1980). Essa análise avalia a atividade de lipases, esterases e proteases capazes de hidrolisar compostos fluorescentes liberando fluoresceína. A atividade da desidrogenase foi mensurada como a taxa de redução do cloreto de trifeniltetrazólio para trifenil formazan durante a incubação do solo por 24h a 37°C (Casida *et al.*, 1964). Todas as amostras foram analisadas em duplicatas a partir de subamostras mantidas em refrigeração (aproximadamente 4°C).

3.1.4 Análise estatística

Os dados das variáveis químicas, físicas e biológicas dos locais reflorestados e sob FN foram analisados por análise de variância (ANOVA) utilizando o programa Statistica 6.0 (STATSOFT, 2002). Diferenças estatísticas entre as médias foram acessadas pelo teste de Duncan a 5% de significância.

Além da análise univariada, o escalonamento multidimensional não métrico (NMS) foi utilizado para ordenar as áreas considerando o funcionamento microbiológico e as propriedades físicas e químicas do solo. As ordenações NMS foram realizadas de maneira que permitisse explorar: (1) diferenças entre os locais estudados em função do tempo de recuperação com eucalipto (cronossequência), (2) mudanças ocorridas em cada área ao longo do período de estudo (avaliação anual do progresso da recuperação).

Inicialmente, os dados foram normalizados pelo total de cada variável para anular as diferenças nas unidades. As ordenações NMS foram realizadas utilizando o programa PC-ORD 6 (MjM Software, Gleneden Beach, OR, EUA) e o número de dimensões a ser interpretado foi selecionado considerando os critérios de estresse e estabilidade das soluções gráficas.

Diferenças estatísticas foram analisadas usando o procedimento de permutação multi-resposta (MRPP), baseado na distância de Sorensen. O MRPP é um método não paramétrico que testa a hipótese de não haver diferença entre grupos no espaço dimensional. Os valores de p foram ajustados (correção de Bonferroni) dependendo do número de combinações pareadas.

O teste de Mantel que avalia a hipótese nula de não haver relação entre duas matrizes de distância (Douglas e Endler, 1982) foi utilizado para avaliar a associação entre o funcionamento microbiológico do solo e a matriz de propriedades químicas e físicas. O teste de Mantel foi realizado com uso do método de aproximação assintótica, e a distância de Sorensen. MRPP e o teste de Mantel foram realizados utilizando o pacote estatístico PC-ORD 6.0 (MjM Software, Gleneden Beach, OR, EUA).

3.2 COMPOSIÇÃO E FUNCIONAMENTO DA COMUNIDADE MICROBIANA EM SOLOS REFLORESTADOS COM EUCALIPTO APÓS MINERAÇÃO DE ARGILA

3.2.1 Área de estudo e coleta de amostras

O estudo foi realizado em área de extração de argila pertencente à Empresa Itapoama Mineração, localizada no município do Cabo de Santo Agostinho, litoral sul do Estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil. O clima da região é do tipo As', segundo a classificação de Köppen, caracterizando-se como tropical chuvoso. A precipitação anual é da ordem de 2.160 mm, as chuvas ocorrem no período de março a agosto e a estação seca se prolonga de setembro a fevereiro. A média anual de temperatura é de

25°C com 73,5% de umidade relativa do ar (ASSIS, 1999).

O estudo foi conduzido em cinco áreas, três plantios de eucalipto (*Eucalyptus grandis*) implantados após extração de argila e que se encontravam com idades de 2, 4 e 6 anos; uma área de vegetação nativa (Mata Atlântica) usada como referência das características originais do solo e também uma área em processo de recuperação espontânea. Nessa última área, após a extração de argila, a camada superficial do solo (removida antes do início da extração) e o rejeito originado pela atividade foram utilizados para preencher a cava, após esse processo a área foi nivelada mecanicamente e mantida sob pousio durante dois anos, sendo a vegetação espontânea estabelecida dominada por braquiária.

A coleta das amostras de solo foi realizada em dezembro de 2010 durante a estação seca (verão). Em cada área, seis parcelas (20x20m) foram estabelecidas e para cada parcela 20 amostras simples foram retiradas na camada de 0-10 cm constituindo uma amostra composta. As amostras foram homogeneizadas e passadas em peneira de 2 mm de malha, retirando-se as raízes e resíduos de plantas e animais. Para as análises bioquímicas e microbiológicas, as amostras foram armazenadas a 4°C para preservar a atividade biológica. A análise de ácidos graxos foi realizada a partir de amostras mantidas a -20 °C. As características dos solos coletados são apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4. Caracterização química dos solos sob floresta nativa e plantios de eucalipto implantados após mineração, no litoral de Pernambuco, Brasil.

Características químicas	Áreas				
	FN	E2	E4	E6	RE
P (mg dm ⁻³)	10,00	16,00	11,00	12,00	3,00
K (cmol _c dm ⁻³)	68,00	72,00	54,00	50,00	47,00
Al (cmol _c dm ⁻³)	1,42	1,88	2,36	1,20	4,80
Ca (cmol _c dm ⁻³)	1,86	1,15	1,84	1,88	1,82
Mg (cmol _c dm ⁻³)	0,76	0,47	0,55	0,77	0,70
H (cmol _c dm ⁻³)	2,52	3,64	3,46	2,60	4,46
CTC (cmol _c dm ⁻³)	6,78	7,40	6,74	6,72	11,93
M.O. (g dm ⁻³)	6,27	6,44	6,53	6,05	1,87

FN = floresta nativa, E2, E4, E6 = plantios de eucalipto com dois, quatro e seis anos, respectivamente. RE= recuperação espontânea

3.2.2 Estrutura da comunidade microbiana

A estrutura da comunidade microbiana do solo foi determinada pela análise de ésteres metílicos de ácidos graxos (FAMES) (SCHUTTER; DICK, 2000). Essa técnica permite identificar grupos microbianos com base nos tipos de ácidos graxos presentes nas amostras (HAMMAN et al., 2007). A análise dos FAMES foi realizada com cromatógrafo a gás (GC) equipado com coluna cromatográfica capilar (5% bifenil-95% dimetilpolisiloxano) e detector de ionização de chama (FID). A identificação dos ácidos graxos foi baseada na comparação com cromatogramas de padrões conhecidos (FAME 37 47885-4; Supelco Inc., Bellefonte, PA; P-BAME 24 47080-U; Supelco; 10Me16:0 e 10Me18:0 Matreya, Pleasant Gap, Pa.).

Para caracterizar a estrutura da comunidade, ácidos graxos típicos de grupos microbianos específicos foram utilizados como biomarcadores destes grupos. Os FAMES com ramificação nas posições iso e anteiso (a15:0, i15:0, i16:0, a17:0 e i17:0) foram utilizados como biomarcadores para bactérias gram positivas (BGP) (Grayston *et al.*, 2004). Os monoinsaturados e com anéis cliclopropenos (16:1 ω 7c, 18:1 ω 7c, 17:0cy e 19:0cy) para as bactérias gram-negativas (BGN) (Bardgett e McAlister, 1999; Zelles, 1999) e os com radical metil na posição 10 (10Me17:0, 10Me16:0 e 10Me18:0) para actinomicetos (ACT) (ZELLES, 1999). Alterações nas populações de fungos saprófitos foram descritas pelos FAMES 18:2 ω 6 e 18:1 ω 9 (WALDROP; FIRESTONE, 2004), e nos fungos micorrízicos arbusculares (FMA) pelo 16:1 ω 5. A biomassa bacterina foi calculada pela soma dos FAMES a15:0, i15:0, i16:0, a17:0 ; i17:0, 16:1 ω 7c, 18:1 ω 7c, 17:0cy e 19:0cy, 10Me17:0, 10Me16:0 e 10Me18:0. A razão fungo: bactéria (F/B) foi utilizada como indicador de mudanças na abundância relativa desses dois grupos microbianos (BARDGETT; MCALISTER, 1999).

3.2.3 Funcionamento da comunidade microbiana

O funcionamento microbiológico do solo foi avaliado utilizando ensaios para determinar a atividade das enzimas envolvidas na ciclagem do C (β -glicosidase), N (urease) C e N (β -glicosaminidase), P (fosfatase ácida) e S (arilsulfatase). A hidrólise do diacetato de fluoresceína foi usada para estimar a atividade hidrolítica geral da biomassa microbiana do solo.

As enzimas β -glicosidase (EIVAZI; TABATABAI, 1988), fosfatase ácida

(TABATABAI; BREMMER, 1969), β -glicosaminidase (PARHAM; DENG, 2000) e arilsulfatase (TABATABAI; BREMMER, 1970) foram estimadas pela quantificação do *p*-nitrofenol resultante da hidrólise enzimática dos substratos, *p*-nitrofenil- β -D-glicosídeo, *p*-nitrofenilfosfato, *p*-nitrofenil-N-acetil- β -D-glicosaminide e *p*-nitrofenilsulfato, respectivamente. A atividade das enzimas foi avaliada a 37°C por 1h. A atividade da urease foi mensurada por determinação da amônia liberada após a incubação do solo com uma solução de uréia 37°C por 2 h (KANDELER; GEBER, 1988).

A hidrólise do diacetato de fluoresceína foi determinada como descrito por Swisher e Carrol (1980). Essa análise avalia a atividade de lipases não específicas, esterases e proteases capazes de hidrolisar compostos fluorescentes liberando fluoresceína. As amostras foram analisadas em duplicatas a partir de subamostras mantidas sob refrigeração (aproximadamente 4°C).

3.2.4 Análise dos dados

Técnicas de ordenação multivariada foram utilizadas para avaliar o efeito do reflorestamento e da recuperação espontânea na estrutura da comunidade microbiana dos solos minerados. Os dados de FAMES biomarcadores de grupos específicos foram analisados usando o escalonamento multidimensional não métrico (NMS) com base na distância de Sorensen. Antes da análise, os dados dos FAMES individuais foram relativizados pelo total dos FAMES dentro de cada amostra (opção relativização pelos totais das linhas no PC-ORD) para expressar a contribuição relativa de cada FAME na amostra. A ordenação foi realizada utilizando o modo autopiloto, opção “slow and thorough” no programa PC-ORD 6. O número de dimensões a ser interpretada foi selecionado considerando os critérios de estresse e estabilidade das soluções gráficas.

O coeficiente de correlação de Person (*r*) entre as proporções dos biomarcadores dos diferentes grupos microbianos e os escores das amostras na ordenação por NMS foi utilizado para caracterizar as alterações observadas na ECM entre as diferentes áreas. A existência de correlação entre a ECM e as variáveis biológicas relacionadas ao FM foi testada pela avaliação dos coeficientes de Pearson entre os escores da ordenação e os valores das variáveis microbianas.

Correlações de Pearson também foram realizadas entre as proporções de

biomarcadores de grupos microbianos individuais e as variáveis biológicas. Diferenças estatísticas na ECM das áreas foram analisadas usando o procedimento de permutação multi-resposta (MRPP) baseado na distância de Sorensen. O MRPP é um método multivariado não paramétrico que testa hipótese de não haver diferença entre grupos no espaço multidimensional (BRANT et al., 2006). Grupos de amostras similares foram circulados na ordenação NMS com base no MRPP ($p < 0,05$). Os valores de p foram ajustados (correção de Bonferroni) dependendo do número de comparações pareadas entre as áreas. As análises multivariadas foram realizadas utilizando o pacote estatístico PC-ORD 6.0 (MJM SOFTWARE, GLENEDEN BEACH, OR, EUA).

4 RESULTADOS

4.1 EFICIÊNCIA DO REFLORESTAMENTO COM EUCALIPTO EM ÁREA DE MINERAÇÃO: USO DE INDICADORES MICROBIANOS, QUÍMICOS E FÍSICOS

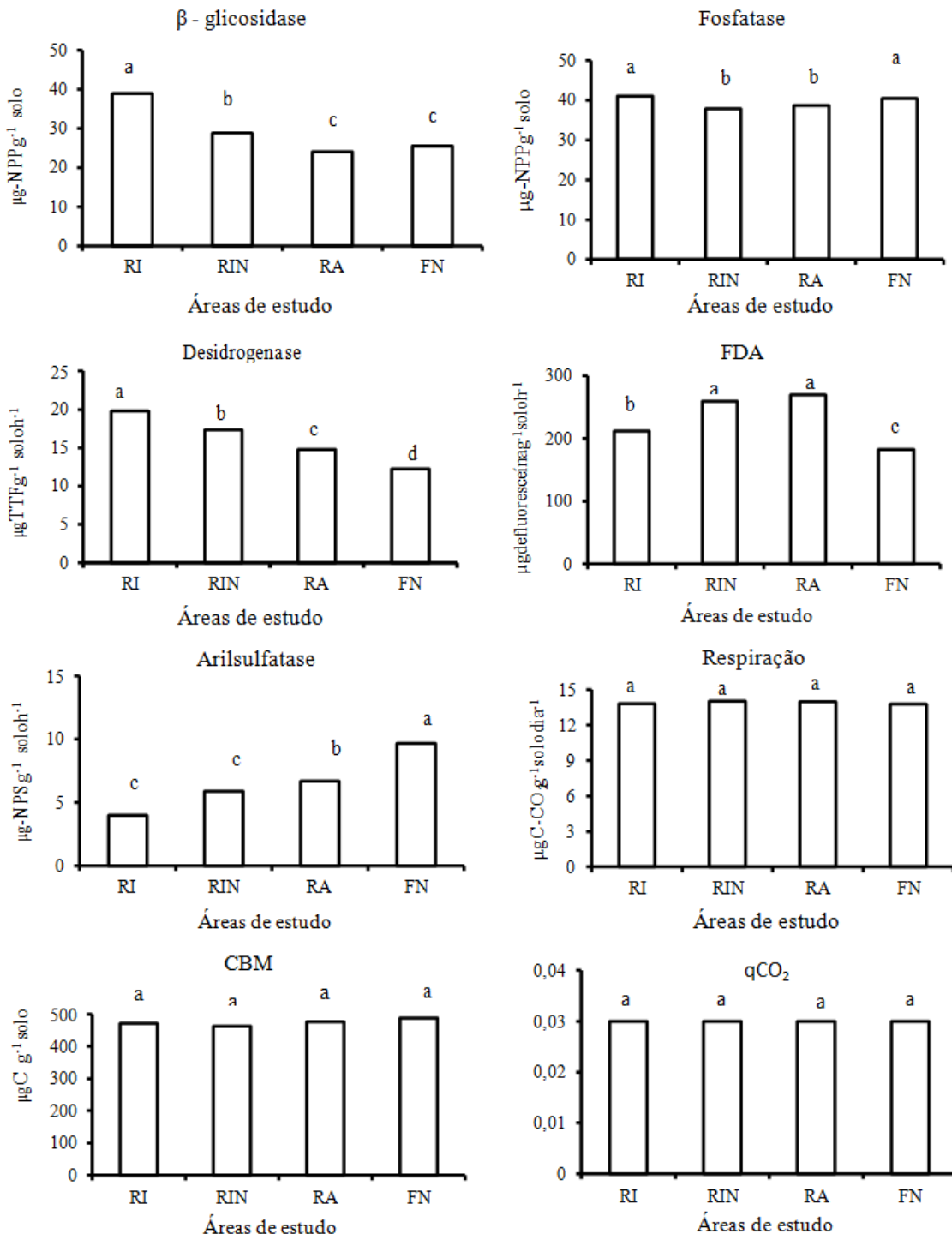
4.1.1 Propriedades químicas, físicas e biológicas do solo (análise univariada)

As propriedades microbiológicas dos solos reflorestados com eucalipto e com floresta nativa estão apresentadas na Figura 1. Para o CBM, a respiração basal e a relação quociente metabólico não foram encontradas variações significativas entre as quatro áreas avaliadas (Figura 1); no entanto, houve diferenças com base na atividade enzimática. Os solos dos locais minerados e reflorestados com eucalipto apresentaram redução na atividade das enzimas β -glicosidade, fosfatase e desidrogenase em função do tempo de recuperação, enquanto que aumento gradual foi observado na atividade da arilsulfatase de acordo com o avanço do tempo de reflorestamento (Figura 1). As mudanças observadas na atividade dessas enzimas são no sentido do restabelecimento das condições anteriores à exploração. Nas áreas reflorestadas com eucalipto observou-se maior atividade de hidrólise de FDA em comparação com a floresta nativa (Figura 1).

Os resultados das propriedades químicas e físicas revelaram que de modo geral todas as variáveis foram significativamente afetadas pelo tempo de recuperação com eucalipto (Tabela 2). Os solos amostrados apresentaram-se ácidos, com valores de pH variando de 4,41 a 4,63; maior acidez foi encontrada nos solos sob recuperação com eucalipto, em relação ao local de referência (Tabela 5). Os teores de N e CO foram mais elevados nos solos com plantios de eucalipto independentemente do tempo de recuperação. Valores mais elevados de P, CTC, $\text{Ca}+\text{Mg}$ e $\text{H}+\text{Al}^{3+}$ foram observado nas áreas de floresta nativa e em recuperação avançada (Tabela 5).

Considerando as variáveis físicas, o solo da área em recuperação inicial apresentou valores mais elevados de densidade do solo (Tabela 5); os demais plantios apresentaram densidade semelhante à observada na área de referência. Em relação à porosidade do solo, as áreas em processo de reabilitação apresentaram aumento da microporosidade e consequentemente redução da macroporosidade (Tabela 5). A floresta nativa apresentou maior estabilidade de agregados em água, enquanto nas áreas em reabilitação com eucalipto, recuperação parcial foi observada na área em desenvolvimento avançado (RA).

Figura 1. Propriedades microbiológicas de solos coletados em áreas com diferentes idades de recuperação com eucalipto e em floresta nativa (Mata Atlântica) no nordeste do Brasil. RI = recuperação inicial com eucalipto (plantios com 1-3 anos); RIN = recuperação intermediária com eucalipto (plantios com 3 -5 anos); RA = recuperação avançada com eucalipto (plantios com 5-7 anos); FN = floresta nativa.



Fonte: O Autor

Tabela 5. Propriedades químicas e físicas de solos coletados em áreas com diferentes idades de recuperação com eucalipto e em floresta nativa (Mata Atlântica) no nordeste do Brasil

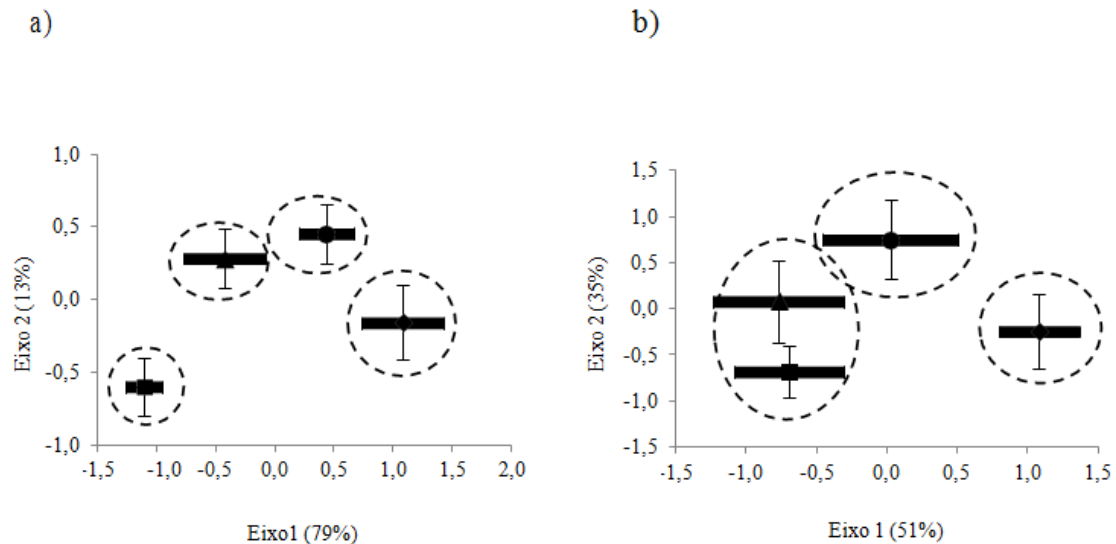
Variáveis	RI	RIN	RA	FN
Químicas				
pH	4,47b	4,41b	4,44b	4,63a
N (g/kg)	1,54a	1,69a	1,57a	1,21b
P (mg/dm ³)	13,07c	15,16b	23,78a	22,45a
CO (g/Kg)	29,60a	31,04a	29,36a	25,22b
H+AL (comlc/dm ³)	7,94b	8,23b	9,14a	9,18a
Ca+ Mg (comlc/dm ³)	1,21b	1,15b	1,49a	1,50a
CTC (comlc/dm ³)	9,04b	9,42b	11,03a	10,92a
Físicas				
Densidade(g/dm ³)	1,49a	1,33b	1,35b	1,26b
Macroporosidade (%)	12,32b	13,40b	14,17b	18,31a
Microporosidade (%)	53,76a	52,12a	49,99a	39,05b
EAA (%)	85,67b	87,06b	89,22ab	93,23a

Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem significativamente pelo teste de Duncan ($p < 0,05$). Fonte: O autor. CO = carbono orgânico; CTC = capacidade de troca catiônica; EAA = estabilidade de agregados em água. RI= recuperação inicial com eucalipto (plantios com 1-3anos de idade); RIN = recuperação intermediária com eucalipto (plantios com 3-5 anos de idade); RA = Recuperação avançada com eucalipto (plantios com 5-7 anos); FN = Floresta nativa

4.1.2 Propriedades químicas, físicas e biológicas do solo (análise multivariada)

Variações no funcionamento microbiológico e nas propriedades químicas e físicas nos solos das áreas estudadas foram representadas em gráficos bidimensionais de acordo com a técnica de ordenação NMS (Figura 2a e 2b). Para os dados de funcionamento microbiológico, a variação total representada pelos dois eixos da ordenação NMS foi 92%, o eixo 1 explicou 79% da variabilidade e o 2, 13% (Figura 2a). A ordenação NMS utilizada para representar a dissimilaridade entre as áreas em diferentes estágios de recuperação em função das variáveis químicas e físicas explicou aproximadamente 86% da variabilidade total (Figura 2b).

Figura 2. Mudanças no funcionamento microbiológico (a) e nas propriedades químicas e físicas do solo (b) em áreas mineradas em recuperação com eucalipto de acordo com a ordenação NMS.



Fonte: O autor Os símbolos representam a média geométrica de cada área, floresta nativa (◆), recuperação inicial (■) recuperação intermediária (▲) e recuperação avançada (●). As linhas verticais e horizontais indicam desvio padrão ± 1 . Os dados agrupados nas elipses não diferem estatisticamente pelo teste de MRPP a 5%. Os valores apresentados entre parênteses correspondem ao percentual da variação explicada pelos eixos da ordenação.

A distribuição das áreas ao longo eixo 1 foi positivamente correlacionada com a atividade da arilsulfatase e negativamente com a β -glicosidase e a desidrogenase (Tabela 6). O segundo eixo foi positivamente correlacionado com a arilsulfatase e com a atividade de hidrólise do FDA e negativamente correlacionado com a β -glicosidase e a fosfatase ácida (Tabela 6).

É possível perceber uma clara separação entre as áreas em função do FM; essa tendência, observada no gráfico NMS, foi confirmada pela análise de MRPP, observando-se a formação de quatro grupos distintos (Figura 2a). Os grupos estão dispostos na ordenação ao longo de um gradiente de aumento da qualidade biológica do solo da esquerda para a direita, de acordo com a sequência: recuperação inicial com eucalipto < recuperação intermediária < recuperação avançada < floresta nativa (Figura 2a).

Tabela 6. Coeficiente de correlação (r) entre as propriedades biológicas e os eixos da ordenação NMS

Variáveis Biológicas	Coeficientes de correlação	
	Eixo 1	Eixo 2
β -glicosidase	-0,84***	-0,81***
Fosfatase	-0,27	-0,71**
Arilsulfatase	0,91***	0,69**
FDA	-0,19	0,74***
Desidrogenase	-0,92***	-0,38
CBM	0,42*	0,19
Respiração basal	0,35	0,08
qCo2	-0,25	0,39

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

No entanto, uma distribuição mais equilibrada da variabilidade foi observada entre os eixos 1 (51%) e o 2 (35%) em relação a observada para o FM. Com exceção da acidez potencial (H+Al), da CTC e da EAA, as propriedades químicas e físicas apresentaram correlação significativa com o primeiro eixo da ordenação (Tabela 7).

O segundo eixo foi positivamente correlacionado com o P, Ca+Mg, CTC e densidade do solo, e negativamente correlacionado com a microporosidade. A análise de MRPP mostrou que as áreas em fase inicial de recuperação e em estágio intermediário não apresentaram mudanças significativas (Figura 2b), observando-se então a formação de três grupos (recuperação inicial com eucalipto = recuperação intermediária < recuperação avançada < floresta nativa).

O teste de Mantel, realizado a partir dos dados do FM e das propriedades químicas e físicas, revelou a existência de correlação significativa ($r = 0,76^{***}$) entre as duas matrizes de dados.

Tabela 7. Coeficiente de correlação (r) entre as propriedades químicas e físicas e os eixos da ordenação NMS

Variáveis químicas e físicas	Coeficientes de correlação	
	Eixo 1	Eixo 2
Ph	0,64**	-0,18
N	-0,62**	0,06
P	0,74***	0,88***
C	-0,64**	-0,33
H+AL	0,29	-0,24
Ca+Mg	0,74***	0,65**
CTC	0,36	0,80***
Densidade	-0,53**	0,58**
Macroporosidade	0,77***	0,21
Microporosidade	-0,76***	-0,79***
EAA	0,28	0,21

CTC = capacidade de troca catiônica; EAA = estabilidade de agregados em água.

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

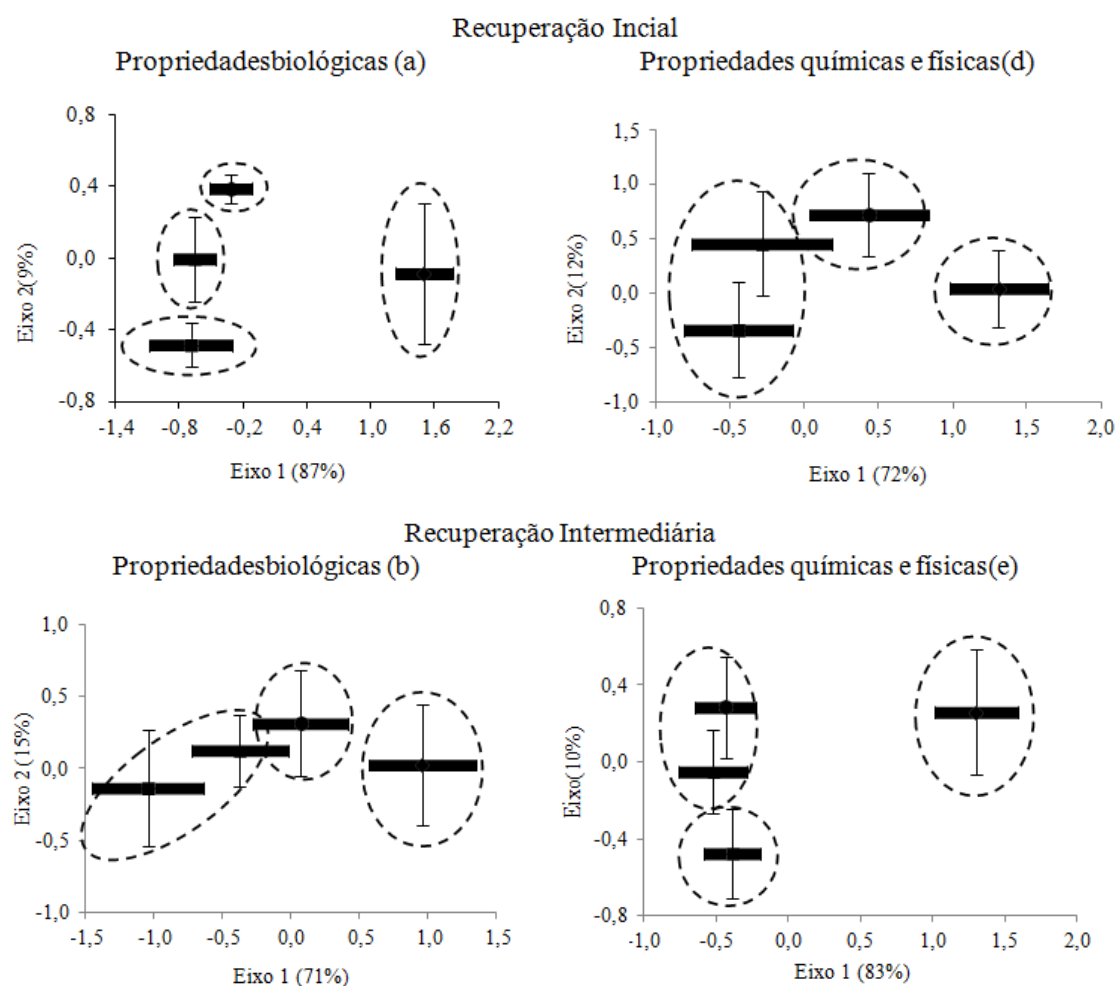
4.1.3 Mudanças anuais nas propriedades biológicas

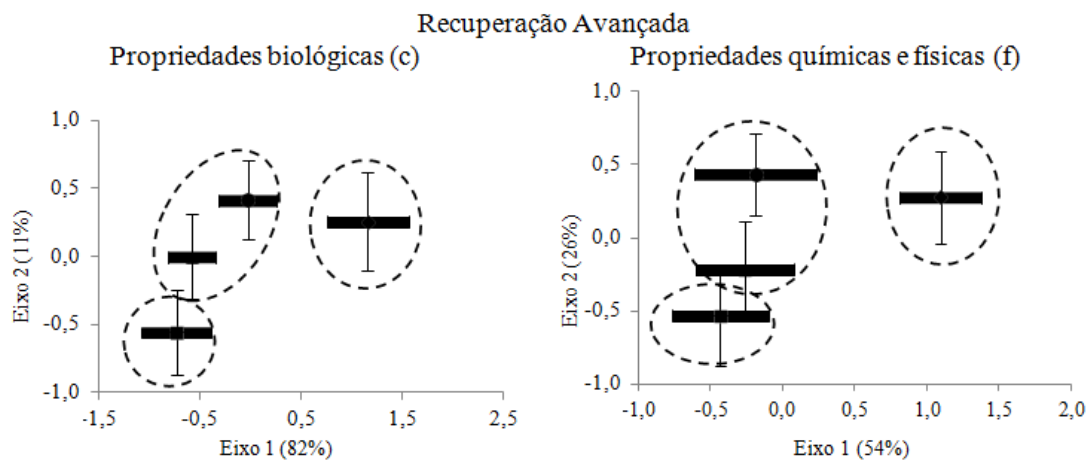
Os gráficos NMS representam as mudanças ocorridas no funcionamento microbiológico em cada uma das áreas em processo de recuperação durante o período de 2009 a 2011 (Figura 3). A ordenação NMS da área em estágio inicial de recuperação com eucalipto em função do FM explicou 96% da variação (eixo 1, 87% e o eixo 2, 9%), sendo possível observar uma clara separação entre os diferentes anos de coleta, sugerindo que na fase de 1 a 3 anos as mudanças ocorrem rapidamente (a cada ano) (Figura 3a). As propriedades do solo que mais contribuíram para essa separação foram: β -glicosidase, hidrólise do FDA e desidrogenase que apresentaram correlação negativa e arilsulfatase que apresentou correlação positiva com o primeiro eixo da ordenação (Tabela 8). A respiração basal e o quociente metabólico correlacionaram-se negativamente com o segundo eixo, e a hidrólise do FDA positivamente (Tabela 8).

Para o local em fase de recuperação intermediária (3-5 anos), aproximadamente 86% da variação dos dados foi representada pelo gráfico NMS, com 71% da variação ao longo do eixo 1 e 15% representada no eixo 2 (Figura 3b). A arilsulfatase, a

desidrogenase, a atividade de hidrólise do FDA, a fosfatase, a β -glicosidase e o CBM foram correlacionados com o eixo 1, enquanto o eixo 2 mostrou correlação negativa com a respiração e o quociente metabólico (Tabela 8). As variações no funcionamento microbiológico na área em fase avançada de recuperação (5-7) estão representadas no gráfico 2-D, o qual explicou 93% da variação dos dados (Figura 3c). Correlações negativas significativas foram encontradas entre o eixo 1 da ordenação e β -glicosidase, a hidrólise do FDA, desidrogenase, CBM, respiração e quociente metabólico (Tabela 8). O eixo 2 correlacionou-se negativamente com a β -glicosidase, hidrólise do FDA, desidrogenase, respiração basal e quociente metabólico.

Figura 3. Mudanças no funcionamento microbiológico (a) e nas propriedades químicas e físicas do solo (b) em áreas mineradas em recuperação com eucalipto de acordo com a ordenação NMS. Os símbolos representam a média geométrica das amostras em cada ano de coleta.





Fonte: O autor. Os símbolos representam a média geométrica de cada área, floresta nativa (◆), recuperação inicial (■) recuperação intermediária (▲) e recuperação avançada (●). As linhas verticais e horizontais indicam desvio padrão ± 1 . Os dados agrupados nas elipses não diferem estatisticamente pelo teste de MRPP a 5%. Os valores apresentados entre parênteses correspondem ao percentual da variação explicada pelos eixos da ordenação.

Tabela 8. Coeficiente de correlação (r) entre as variáveis biológicas e os eixos das ordenações NMS que representam as variações em cada estágio de recuperação com eucalipto durante três anos de coleta

Variáveis	<u>RI</u>		<u>RIN</u>		<u>RA</u>	
	Eixo 1	Eixo 2	Eixo1	Eixo 2	Eixo 1	Eixo 2
β -glicosidase	-0,87***	0,24	-0,47**	-0,36	0,47*	-0,49*
Fosfatase	-0,16	-0,36	0,52**	-0,05	0,14	0,36
Arilsulfatase	0,93***	0,20	0,72***	-0,36	0,27	0,13
FDA	-0,54**	0,53**	-0,60**	-0,19	-0,91***	-0,42*
Desidrogenase	-0,87***	0,20	-0,80***	-0,38	-0,85***	-0,52**
CBM	0,19	-0,30	0,65**	-0,17	0,91***	0,11
Respiração	-0,07	-0,79***	0,02	-0,58**	0,41*	-0,64**
qCo_2	-0,19	-0,70***	-0,37	-0,54**	-0,64**	-

Fonte: O autor. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$. RI = recuperação inicial com eucalipto (plantios com 1-3anos de idade); RIN = recuperação intermediária com eucalipto (plantios com 3-5 anos de idade); RA = Recuperação avançada com eucalipto (plantios com 5-7 anos).

4.1.4 Mudanças anuais nas propriedades químicas e físicas do solo

Com objetivo de examinar as possíveis mudanças nas propriedades químicas e físicas ordenações NMS foram realizadas para representar a evolução de cada área

durante o período de estudo. O gráfico NMS que representa as mudanças anuais nas propriedades químicas e físicas no local em fase inicial de recuperação explicou aproximadamente 84% da variabilidade dos dados (72% representada pelo eixo 1 e 12% pelo eixo 2) (Figura 3d). A macroporosidade, o teor de Ca+Mg, P, a acidez potencial (H + Al) e a CTC foram positivamente correlacionados com o eixo 1, enquanto que a microporosidade e a densidade do solo apresentaram correlação negativa (Tabela 9). O eixo 2 do NMS foi positivamente correlacionado com a concentração de N, C e acidez potencial (Tabela 9).

Tabela 9. Coeficiente de correlação (r) entre as variáveis químicas e físicas e os eixos das ordenações NMS que representam as variações em cada estágio de recuperação com eucalipto durante três anos de coleta

Variáveis	<u>RI</u>		<u>RIN</u>		<u>RA</u>	
	Eixo 1	Eixo 2	Eixo1	Eixo 2	Eixo 1	Eixo 2
pH	0,26	-0,19	0,77***	-0,13	0,73***	0,08
N	-0,32	0,63**	-0,73***	0,32	-0,43*	0,26
P	0,92***	0,16	0,91***	0,49*	-0,18	-0,08
C	-0,34	0,55**	-0,77***	0,15	0,27	0,72***
H+AL	0,46*	0,47*	0,33	0,72***	-0,28	0,32
Ca+Mg	0,75***	0,15	0,86***	0,33	0,29	0,07
CTC	0,60**	0,40	0,41	0,62**	-0,53**	0,41*
Densidade	-0,78***	-0,04	-0,18	-0,54**	-0,32	-0,06
Macroporosidade	0,84***	-0,18	0,81***	0,45*	0,83***	-0,29
Microporosidade	-0,77***	-0,28	-0,79***	-0,60**	-0,77***	0,12
EAA	0,07	0,34	0,36	-0,11	0,44*	0,35

CTC = capacidade de troca catiônica; EAA = estabilidade de agregados em água. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$. RI = recuperação inicial com eucalipto (plantios com 1-3anos de idade); RIN = recuperação intermediária com eucalipto (plantios com 3-5 anos de idade); RA = Recuperação avançada com eucalipto (plantios com 5-7 anos)

Ao considerar as propriedades químicas e físicas do solo na área em recuperação intermediária, os eixos 1 e 2 do NMS representaram 83% e 10% da variação, respectivamente (Figura 3e). Com exceção da CTC, acidez potencial, densidade do solo e da EAA as demais variáveis correlacionaram-se significativamente com o primeiro eixo da ordenação. No entanto, correlações significativas com o segundo eixo foram

encontradas para microporosidade, macroporosidade, densidade do solo, H+Al, CTC e P (Tabela 9). O gráfico 2-D da ordenação da área em estágio de recuperação avançada nos anos avaliados com base nas variáveis químicas e físicas representou 80% da variação dos dados (54% no eixo 1 e 26% no eixo 2) (Figura 3f). O pH, a CTC, a concentração de N, a macroporosidade e microporosidade foram correlacionados com o primeiro eixo da ordenação, enquanto que apenas o teor de C apresentou correlação altamente significativa com o segundo eixo (Tabela 9).

4.2 COMPOSIÇÃO E FUNCIONAMENTO DA COMUNIDADE MICROBIANA EM SOLOS REFLORESTADOS COM EUCALIPTO APÓS MINERAÇÃO DE ARGILA

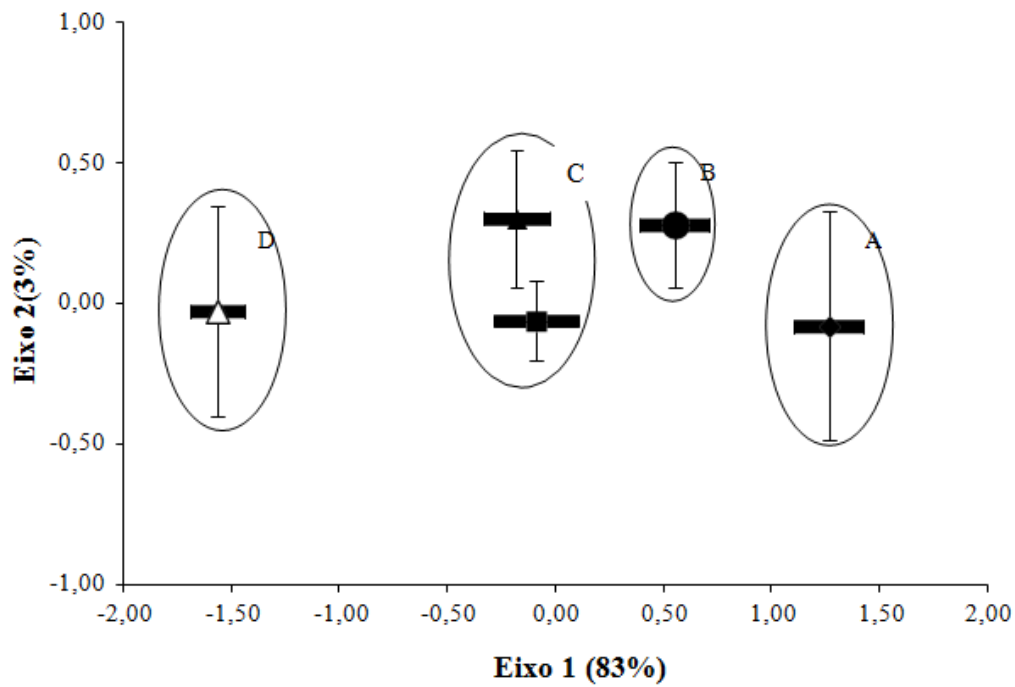
4.2.1 Estrutura da comunidade microbiana do solo

Aproximadamente 86% da variabilidade dos dados foram representadas graficamente em duas dimensões de acordo com a técnica de NMS, com 83% da variação representada ao longo do eixo 1 e apenas 3% no eixo 2 (Figura 4). O gráfico da ordenação NMS representa a dissimilaridade entre as áreas estudadas de acordo com a ECM avaliada por FAMES. Os FAMES marcadores de bactérias gram-negativas foram negativamente associados com o primeiro eixo da ordenação (Tabela 10), enquanto os biomarcadores para fungos sapróbios, actinomicetos e também a razão F/B apresentaram correlação positiva. O eixo 2 apresentou forte correlação ($p < 0,001$) negativa com os FAMES marcadores de bactérias gram negativas e positiva com os ácidos graxos biomarcadores de fungos sapróbios e a razão F/B (Tabela 10). Os FAMES biomarcadores para bactérias gram positivas e fungos micorrízicos arbusculares não apresentaram correlação significativa com os eixos da ordenação (Tabela 10).

De acordo com a análise de MRPP, os locais amostrados nesse estudo foram claramente separados em quatro grupos em função das diferenças na composição da comunidade microbiana (Figura 4). Os grupos estão arrançados da esquerda para direita da seguinte maneira: Grupo D → (amostras da área sob RE) Grupo C → (amostras obtidas nos plantios E2 e E4) Grupo B → (amostras obtidas no plantio E6) Grupo A (amostras da FN). Observou-se assim que esta sequência descreve uma sucessão microbiana no sentido da recuperação da ECM existente nas áreas anteriormente à mineração, sendo o grau desta recuperação dependente do tempo de revegetação com eucalipto. De acordo com os resultados das correlações de Pearson, ao longo desta sequência observou-se um incremento de biomarcadores de fungos sapróbios e

actinomicetos e um decréscimo nos de BGN.

Figura 4. Mudanças no perfil da comunidade microbiana em resposta a revegetação com eucalipto em áreas mineradas de acordo com a ordenação NMS.



As áreas estudadas incluíram floresta nativa (◆), plantios de eucalipto com idades de dois (■), quatro (▲) e seis (●) anos e uma área sob recuperação espontânea (△). Barras horizontais e verticais indicam desvio padrão ± 1 para os escores NMS e variáveis biológicas, respectivamente. Fonte: O autor

Tabela 10. Coeficiente de correlação (r) entre os principais grupos microbianos e taxa F/B com os eixos da ordenação NMS.

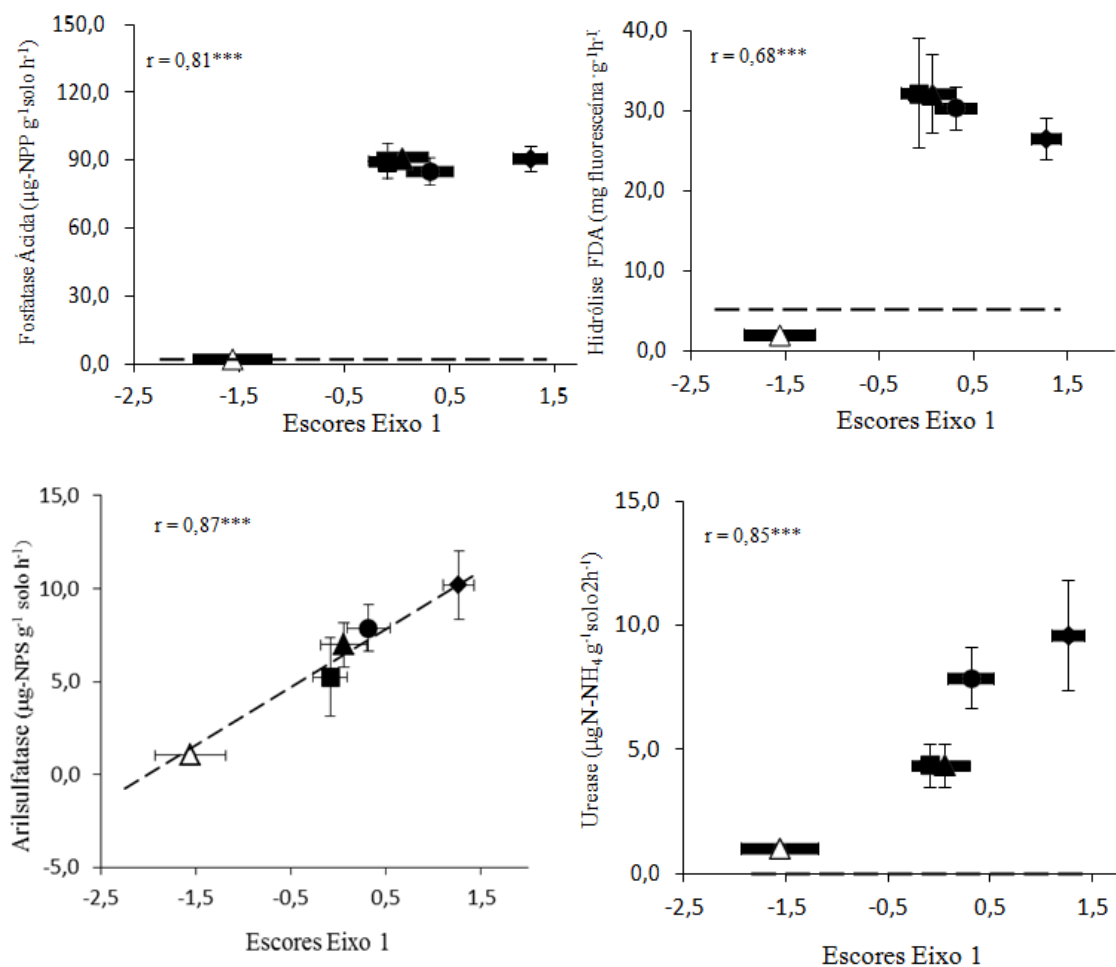
Variáveis	Coeficientes de correlação	
	Eixo 1	Eixo 2
Bactérias Gram-positivas	-0,35 ^{ns}	0,15 ^{ns}
Bactérias Gram-negativas	-0,80***	-0,76***
Actinomicetes	0,82***	0,35 ^{ns}
Fungos	0,81***	0,76***
Fungos micorrízicos arbusculares	0,07 ^{ns}	-0,26 ^{ns}
F/B	0,78***	0,68***

** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

4.2.2 Correlações entre a ECM e as propriedades microbiológicas do solo

Correlações significativas foram observadas entre as variáveis biológicas e o eixo 1 da ordenação descritora da ECM. Essas correlações foram positivas para todas as enzimas avaliadas: fosfatase ($r = 0,81$; $p < 0,001$), urease ($r = 0,85$; $p < 0,001$), arilsulfatase ($r = 0,87$; $p < 0,001$), FDA ($r = 0,68$; $p < 0,001$), β -glicosidase ($r = 0,64$; $p < 0,01$), e β -glicosaminidase ($r = 0,63$; $p < 0,01$) indicando uma covariação entre essas variáveis e a ECM (Figura 5).

Figura 5. Correlações entre a composição da comunidade expressa pelos escores do eixo 1 da ordenação NMS e as variáveis biológicas: atividade da fosfatase ácida (a), hidrólise do FDA (b), arilsulfatase (c) urease (d).



As áreas estudadas incluíram floresta nativa (◆), plantios de eucalipto com idades de dois (■), quatro (▲) e seis (●) anos e uma área sob recuperação espontânea (△). Barras horizontais e verticais indicam desvio padrão ± 1 para os escores NMS e variáveis biológicas, respectivamente. Fonte: O autor

Variações na atividade da arilsulfatase, da urease e na ECM foram altamente congruentes, ao longo de todas as condições de vegetação estudadas. O coeficiente de

correlação de Pearson obtido entre ECM e a atividade de arilsulfatase ($r = 0,85$; $p < 0,001$) e urease ($r = 0,82$; $p < 0,001$) foram altamente significativos mesmo após a remoção das amostras da floresta nativa da análise. O segundo eixo não apresentou correlação significativa com nenhuma das variáveis biológicas estudadas ($r = -0,30$ para fosfatase; $r = 0,09$ para arilsulfatase; $r = -0,15$ para β -glicosidase; $r = -0,30$ para urease; $r = -0,06$ para β -glicosaminidase e $r = 0,11$ para FDA).

Os principais grupos microbianos apresentaram correlações significativas com a atividade das enzimas hidrolíticas avaliadas (Tabela 11). Proporções de biomarcadores de actinomicetos foram positivamente correlacionadas com todas as atividades enzimáticas (Tabela 11). Correlações positivas também foram verificadas entre os biomarcadores para fungos sapróbios e atividade da fosfatase, urease e do FDA.

Os biomarcadores para BGN e BGP apresentaram correlações negativas com a maioria das variáveis biológicas. Os sinais negativos dos coeficientes de correlação sugerem que as respostas das variáveis biológicas estão associadas com a diminuição das proporções dos grupos bacterianos. A proporção do biomarcador de FMA não apresentou correlação com as enzimas avaliadas (Tabela 11).

Tabela 11. Coeficiente de correlação (r) entre biomarcadores dos principais grupos microbianos e variáveis biológicas.

Variáveis	Coeficientes de correlação				
	BGP	BGN	ACT	FUNGOS	FMA
Fosfatase ácida	-0,66***	-0,42*	0,68***	0,61**	-0,20 ^{ns}
β -glicosidase	-0,24 ^{ns}	-0,11	0,55**	0,05 ^{ns}	-0,32 ^{ns}
Urease	-0,61**	-0,48**	0,87***	0,46*	0,16 ^{ns}
Arilsulfatase	-0,59**	-0,20	0,63***	-0,03 ^{ns}	-0,03 ^{ns}
β -glicosaminidase	-0,27 ^{ns}	-0,33 ^{ns}	0,54**	0,18 ^{ns}	-0,34 ^{ns}
FDA	-0,53**	-0,22 ^{ns}	0,55**	0,48**	-0,33 ^{ns}

ns = não significativo a 5%. BGP = bactéria gram positivas; BGN = bactéria gram negativas; ACT = actinomicetos; FUNGOS = fungos totais; FMA = fungos micorrízicos arbusculares. * $p < 0,05$. ** $p < 0,01$. *** $p < 0,001$.

5 DISCUSSÃO

5.1 EFICIÊNCIA DO REFLORESTAMENTO COM EUCALIPTO EM ÁREA DE MINERAÇÃO: USO DE INDICADORES MICROBIANOS, QUÍMICOS E FÍSICOS

5.1.1 Efeitos do reflorestamento nas propriedades químicas, físicas e biológicas do solo (Análise univariada)

A taxa de acumulação de nutrientes e a formação do solo em locais revegetados são amplamente reguladas pela vegetação, incluindo a qualidade e a quantidade de serapilheira (CHODAK; NIKLINSKA, 2010; ROSENVALD et al., 2011). Neste estudo os solos reflorestados foram caracterizados pelo acúmulo de C e N, pois os valores encontrados nas três áreas reflorestadas foram mais elevados que os observados na FN.

Estudos mostram que a serapilheira do eucalipto decompõem-se lentamente resultando na imobilização e armazenamento de quantidades significativas de nutrientes, especialmente C e N na superfície do solo (ADAMS; ATTIWILL, 1986; AGGANGAN et al., 1999; CHANDER et al., 1995). A baixa taxa de decomposição da serapilheira do eucalipto é atribuída à pobre qualidade nutricional em comparação à serapilheira de florestas naturais (GAMA-RODRIGUES et al., 2008; CAO et al., 2010). Variações no conteúdo de nutrientes em solos sob plantios de eucalipto também podem estar associadas à absorção diferenciada durante as fases de desenvolvimento e ao retorno dos nutrientes ao solo na forma de serapilheira (ZHANG et al., 2011; LEITE et al., 2011). Por exemplo, a concentração de P variou entre as diferentes fases de desenvolvimento do eucalipto; valores menores na fase inicial de desenvolvimento sugerem que durante esse período há maior absorção desses nutrientes pelo eucalipto, reduzindo suas quantidades no solo (NOVAIS et al., 1990; LEITE et al., 2011). Assim como no presente trabalho, o decréscimo no pH do solo em locais minerados reflorestados com eucalipto foi observado por Sinha et al. (2009) em áreas de mineração de carvão, os quais encontraram valores de pH de 4,24. Segundo esses autores, exsudados ácidos liberados pelas raízes e a partir da decomposição da serapilheira do eucalipto podem ter contribuído para a acidificação do solo. Além disso, a acidez do solo em plantios florestais pode estar relacionada com a lixiviação de bases ou absorção desses elementos pelas plantas (MAFRA et al., 2008; ZHANG et al., 2011).

Segundo Garcia et al. (2002), a escolha da espécie vegetal para revegetação de

áreas mineradas deve ser realizada levando em consideração a capacidade de sobrevivência e de estabilização da estrutura do solo. A partir das características físicas apresentadas pelos solos reflorestados foi possível observar melhoria na estrutura física do solo com o aumento do tempo de recuperação com eucalipto. Essa melhoria é refletida na redução da densidade do solo e na recuperação parcial da estabilidade de agregados em água, uma vez que, essas variáveis são apontadas como importantes fatores da qualidade física do solo (ALVES et al., 2007; PRAGANA et al., 2012). Contudo, não foi observada recuperação da macroporosidade do solo e consequentemente também não ocorreu redução significativa de microporos, indicando que esses solos são mais compactos que os solos sob FN (LUCIANO et al., 2012). Estudando a utilização de plantas de rápido crescimento para reabilitação de áreas mineradas em Cuba, Izquierdo et al. (2005) observaram que os solos revegetados há quatro e seis anos apresentaram redução da densidade do solo, mas não exibiram recuperação do percentual de agregados estáveis em relação ao solo sob vegetação nativa.

A quantificação do C da biomassa microbiana, a respiração basal e suas relações, tais como o quociente metabólico, tem sido utilizada para estudar os processos de ciclagem e transformação de nutrientes (MALUCHE-BARETTA et al., 2006), bem como para avaliar a dinâmica da matéria orgânica do solo. No entanto, neste estudo, essas variáveis não responderam às modificações ocorridas no solo em função do tempo de reflorestamento das áreas exploradas pela mineração de argila, o que pode ser observado pela falta de diferença significativa entre as áreas. Esse resultado não era esperado, uma vez que estudos em áreas mineradas têm apontado que tais variáveis são eficientes em indicar o estado de reabilitação ou degradação do solo em ambientes submetidos à extração de diferentes minerais (CLAASSENS et al., 2012; SINHA et al., 2009; BALDRIAN et al., 2008). A biomassa microbiana do solo está em constante interação com parâmetros físicos e químicos de forma que a introdução de eucalipto pode alterar alguns grupos de micro-organismos do solo, sem, no entanto alterar o conteúdo do CBM (CAO et al., 2010).

A atividade das enzimas do solo integra informações sobre o status microbiológico e condições físico-químicas do solo (AON et al., 2001). Devido à importância do C, N, P e S para a nutrição das plantas e o metabolismo microbiano, as enzimas envolvidas na assimilação desses elementos são frequentemente estudadas

(STURSOVÁ; BALDRIAN, 2011). Como também observado em outros trabalhos (CLAASSENS et al., 2008; BANNING et al., 2008; CHODAK; NIKLINSKA, 2010), o tempo de reflorestamento das áreas promoveu modificações na atividade enzimática do solo. No presente trabalho, as enzimas arilsulfatase, β -glicosidase e desidrogenase foram as variáveis biológicas mais influenciadas pelas diferentes fases de desenvolvimento do eucalipto.

5.1.2 Efeito do reflorestamento nas propriedades químicas, físicas e biológicas do solo (Análise multivariada)

A análise simultânea de propriedades microbiológicas, químicas e físicas é de extrema importância para avaliação do funcionamento do solo; no entanto, nem sempre é possível explorar todas as informações utilizando análises univariadas. Nesse contexto, técnicas multivariadas permitem a extração de maior quantidade de informações e a simplificação da interpretação de dados, sendo possível selecionar um conjunto menor de variáveis que representem as principais funções ecológicas do solo (BALIEIRO et al., 2005; CHAER et al., 2009).

No presente estudo foram avaliadas as mudanças no funcionamento microbiológico e nas propriedades físicas e químicas de solos reflorestados por meio de ordenações multivariadas as quais revelaram características importantes dos solos que podem ajudar a entender um pouco melhor como ocorre a recuperação de áreas degradadas pela mineração. Nesse contexto, foi observado que a recuperação das características biológicas ocorre de forma diferenciada em relação às propriedades químicas e físicas do solo.

O FM revelou uma clara separação entre as áreas em diferentes estágios de recuperação com eucalipto (Figura 2a) e esse resultado indica que cada local avaliado apresenta características microbiológicas distintas em função da idade. De modo geral, a separação ocorreu com base na atividade enzimática. Os locais em fase inicial de desenvolvimento apresentaram maior atividade da desidrogenase, β -glicosidase e fosfatase; a hidrólise do FDA aumentou com a idade do reflorestamento e a arilsulfatase apresentou elevada atividade na floresta nativa (Figura 1). O impacto diferencial da idade da vegetação sobre a atividade enzimática tem sido relatado em vários estudos (CLAASSENS et al., 2005; BANNING et al., 2008). Avaliando mudanças na atividade enzimática e na comunidade microbiana em cronossequência na Nova Zelândia, Allison et al. (2007) relataram que as enzimas envolvidas na mineralização do C e N declinaram

com o aumento da idade do local, enquanto aquelas envolvidas na mineralização do P e S aumentaram com o tempo de sucessão.

As diferenças entre as áreas em recuperação foram menos evidentes quando avaliadas por meio das propriedades químicas e físicas (Figura 2b). Particularmente, esse resultado era esperado uma vez que essas variáveis são mais robustas em relação às microbiológicas. Mesmo assim, é possível perceber que apesar das mudanças ocorrerem de forma mais discreta, acontecem no sentido de restabelecer a estrutura original do solo, assim como observado para o FM. Resultado semelhante foi obtido por Huang et al. (2011), os quais também observaram, em áreas degradadas por pastagens, na China, que as mudanças nas propriedades químicas e físicas ocorreram com menor rapidez em relação às variações observadas para os atributos biológicos do solo.

No nosso estudo, a relação entre o funcionamento microbiológico e as propriedades do solo foi confirmada pela forte correlação encontrada entre as duas matrizes de dados pelo teste de Mantel. Desse modo, é possível afirmar que essas variáveis são relacionadas e que podem mostrar padrões similares de resposta nas condições estudadas. A relação observada entre o funcionamento microbiológico e as propriedades do solo corrobora dados de Peixoto et al. (2010), os quais estudaram o efeito das práticas de manejo do solo em solos do Cerrado sobre a atividade enzimática, propriedades do solo e estrutura da comunidade bacteriana do solo. Chaer et al. (2009) também observaram que alterações na atividade metabólica das comunidades microbianas estavam relacionadas a mudanças nas propriedades químicas e físicas dos solos.

5.1.3 Mudanças anuais nas propriedades biológicas, químicas e físicas do solo

Devido às dissimilaridades observadas entre as áreas em função da idade de recuperação com eucalipto (cronossequência), foi decidido explorar cada local de coleta de forma individual, acompanhando anualmente o progresso da recuperação.

De maneira geral, ao se comparar cada área nos diferentes anos de coleta percebeu-se que algumas variáveis mostraram-se eficientes em acessar as mudanças ocorridas em curto prazo (três anos) independente da fase de desenvolvimento do eucalipto avaliada. Nesse caso, podemos destacar a desidrogenase e a atividade de hidrólise do FDA, as quais apresentaram correlações significativas com os eixos das ordenações das três áreas estudadas.

No caso das áreas em fase inicial e intermediária de recuperação, a arilsulfatase foi eficiente em diferenciar os locais reflorestados da área de FN. No entanto, no local em recuperação avançada, a variável responsável por essa separação foi o CBM. As mudanças entre os anos dentro de cada área foram dirigidas por variáveis distintas. Na fase inicial de recuperação a β -glicosidase, a arilsulfatase e a desidrogenase foram as principais responsáveis pela separação em função dos anos de coleta, os quais representam o aumento da idade de reflorestamento das áreas. No local em recuperação intermediária (3 -5 anos), a separação em função do aumento da idade foi evidenciada principalmente arilsulfatase e desidrogenase. Na área em recuperação avançada, além do CBM e das enzimas desidrogenase e FDA, o qCO₂ aparece como uma variável importante.

Do mesmo modo como observado para as propriedades biológicas, algumas variáveis químicas e físicas também estiveram associadas às mudanças ocorridas nas diferentes fases de desenvolvimento do eucalipto. Dentre essas se destacam o carbono orgânico, o nitrogênio, a CTC, a macroporosidade e a microporosidade do solo, que apresentaram correlação com pelo menos um dos eixos das ordenações, sugerindo que as mudanças observadas estão diretamente relacionadas com essas variáveis.

A macroporosidade e a microporosidade do solo apresentaram correlações altamente significativas com as ordenações NMS em todas as fases de recuperação avaliadas. É importante ressaltar que a macroporosidade foi a variável responsável pela separação da área de FN das demais; esse resultado confirma o que foi anteriormente observado na análise univariada, com maiores valores de macroporosidade encontrados no solo com floresta nativa, ou seja, não há recuperação da porosidade do solo mesmo após sete anos de reflorestamento com eucalipto e por isso ocorre aumento da microporosidade do solo.

O reflorestamento com *Eucalyptus grandis* resulta em melhoria significativa das propriedades químicas, físicas e biológicas do solo. As áreas com diferentes fases de desenvolvimento do eucalipto divergem quanto ao funcionamento microbiológico; no entanto, observa-se recuperação parcial nas áreas com aumento do tempo de reabilitação, em comparação com as condições da floresta nativa.

As mudanças no funcionamento microbiológico são relacionadas às variações nas propriedades físicas e químicas. As variáveis arilsulfatase e a

macroporosidade diferenciam as áreas reflorestadas do local de referência, enquanto a desidrogenase e a hidrólise do diacetado de fluoresceína são eficientes em identificar as mudanças que ocorrem em curto prazo (anualmente).

5.2 COMPOSIÇÃO E FUNCIONAMENTO DA COMUNIDADE MICROBIANA EM SOLOS REFLORESTADOS COM EUCALIPTO APÓS MINERAÇÃO DE ARGILA

5.2.1 Efeito da revegetação na ECM do solo

Variações no perfil de ácidos graxos são geralmente interpretadas como mudanças na composição da comunidade microbiana (ROUSK et al., 2010), as quais podem refletir mudanças na qualidade do solo (PATRA et al., 2008; YANG et al., 2012). Nós encontramos que a ECM dos solos reabilitados e sob recuperação espontânea é distinta do local de referência. A composição da comunidade microbiana pode ser dependente do histórico do uso do solo (JANGID et al., 2010) e assim, diferentes fatores podem controlar as comunidades microbianas de solos que foram perturbados de áreas sob condições naturais (DIMITRIU et al., 2010).

Quando os solos são submetidos à revegetação seu desenvolvimento é influenciado pelas espécies de árvores dominantes, incluindo os efeitos sobre a qualidade e quantidade de serapilheira e matéria orgânica do solo (SNAJDR et al., 2013). Mudanças na composição da comunidade microbiana induzidas pela reabilitação têm sido em parte atribuídas à quantidade, a qualidade e a disponibilidade de substratos e ao aumento da heterogeneidade dos microambientes do solo que podem favorecer ou não o crescimento de grupos microbianos específicos (ROSENVALD et al., 2011, VALLEJO et al., 2012).

Estudos têm indicado que as bactérias facilitam a formação do solo e a recuperação dos ambientes antropogenicamente perturbados (LEWIS et al., 2010). A predominância de bactérias gram negativas (especialmente de ácidos graxos ciclopropenos) no local sob recuperação espontânea sugere que os representantes desse grupo se adaptam as condições de solo degradado o que pode estar relacionado ao fato de serem hábeis em utilizar compostos de alta labilidade (CARRASCO et al., 2010). Os ácidos graxos cliclopropenos característicos de BGN têm sido sugeridos como indicativo de diferentes situações de estresse, como por exemplo, depleção de nutrientes e de oxigênio (VESTAL; WHITE, 1989; BOSSIO et al., 2006; BÖRJESSON et al., 2012). Em solos explorados por mineração, como no presente estudo, a alta densidade e

a baixa porosidade são problemas comuns (SINHA et al., 2009). Em estudo realizado por Zhang et al. (2012) em locais em reabilitação na China, a disponibilidade de C e a aeração do solo foram apontados como variáveis responsáveis por mudanças na composição da comunidade de bactérias gram negativas. Kytöviita et al. (2011) observaram o aumento de bactérias gram-negativas em parcelas que permaneceram dois anos sem vegetação (pousio). Nesse sentido, o rápido desenvolvimento da comunidade bacteriana nas áreas perturbadas pode ter um papel de facilitação no estabelecimento da vegetação.

Nos solos de mina reflorestados a comunidade microbiana desenvolveu-se gradualmente sugerindo que a ECM muda no sentido da recuperação existente nas áreas anteriormente à mineração. Sendo possível observar ao longo do tempo a redução da proporção de biomarcadores bacterianos e o aumento de FAMES fúngicos indicando que provavelmente as bactérias e os fungos têm diferentes papéis no funcionamento do solo (HENDRIX et al., 1986). Alguns trabalhos têm sugerido que o sucesso da recuperação de áreas degradadas está diretamente relacionado ao rápido recobrimento do solo pela vegetação (CARAVACA et al., 2002; COOKSON et al., 2008, ROSENVALD et al., 2011), que proporciona redução da erosão e obtenção de solos biologicamente ativos. Neste trabalho, a semelhança entre a abundância de biomarcadores fúngicos na área com mais tempo de reabilitação (E6) e a área de FN pode indicar o restabelecimento da estrutura da comunidade microbiana e também uma importante melhoria na qualidade do solo. Os fungos podem promover vários benefícios, como secretar os compostos que ajudam para a formação e estabilização de agregados fornecendo maior proteção física a matéria orgânica do solo (DIEDHIOU et al., 2009; BUTLER et al., 2012). Além disso, o crescimento das hifas melhora a aeração e a penetração das raízes no solo. A resposta fúngica ao reflorestamento foi ainda apoiada pelo aumento da taxa F/B, que é um importante indicador do restabelecimento da comunidade microbiana do solo. Esse resultado corrobora outros estudos com cronossequências, onde locais com mais tempo de reabilitação tendem a apresentar aumento da taxa F/B (BARDGETT et al., 2005). Apesar da revegetação com eucalipto contribuir para o restabelecimento da comunidade microbiana, os solos revegetados ainda apresentam ECM diferente da encontrada sob vegetação natural, no entanto a constatação de que certas características microbianas das áreas reflorestadas tornam-se mais semelhante ao local de referência com a idade de reabilitação. Outros estudos em

cronossequências reabilitadas também identificaram mudanças na estrutura da comunidade microbiana em direção ao local de referência (ZHANG et al., 2006; BANNING et al., 2008; LEWIS et al., 2010).

Estudos conduzidos em ecossistemas de floresta nativa que não sofreram distúrbio têm concluído que a comunidade microbiana é comumente composta por micro-organismos capazes de degradar matéria orgânica complexa, como actinomicetos e fungos (BARDGETT; MCALISTER, 1999). Actinomicetos são bactérias filamentosas que têm sido tradicionalmente associados com a degradação de compostos recalcitrantes como a quitina e lignina (BRANT et al., 2006). No presente estudo, os actinomicetos contribuíram fortemente para separação da área de floresta nativa das demais áreas, indicando que a revegetação e o tempo de reabilitação não foram eficientes em promover o restabelecimento desse grupo de micro-organismos. Uma possível explicação para esse resultado é o fato da serapilheira de *Eucalyptus grandis* apresentar baixa qualidade nutricional quando comparada a maioria das florestas tropicais e teores reduzidos de lignina (ZAIA; GAMA-RODRIGUES, 2004; GAMA-RODRIGUES et al., 2008).

Os marcadores para fungos micorrízicos arbusculares e bactérias gram positivas não apresentaram clara tendência com o tempo de revegetação (Tabela 11). Huang et al. (2011) estudando o efeito do tempo de revegetação na estrutura da comunidade microbiana em solos degradados por pastagens na China também não observaram uma tendência clara para a maioria dos grupos funcionais.

5.2.2 Relação entre a composição da comunidade microbiana e as propriedades biológicas do solo

Considerando que a estrutura da comunidade microbiana pode determinar o potencial da comunidade em sintetizar enzimas, modificações na comunidade microbiana podem ser refletidas na atividade enzimática do solo (WALDROP et al., 2000, ALLISON et al., 2007). As elevadas correlações entre as enzimas e composição da comunidade microbiana neste estudo corroboram trabalhos que tem relatado que a revegetação das áreas, aliada ao tempo de reabilitação promoveu aumento da atividade de hidrólise do FDA e de enzimas relacionadas ao ciclo C (IZQUIERDO et al., 2005); P (ALLISON et al., 2007); N (CLAASSENS et al., 2008) e S (BALDRIAN et al., 2008). Segundo Baldrian et al. (2008) dois fatores principais influenciam a atividade

enzimática e a composição da comunidade microbiana em locais minerados e em processo de reabilitação: o efeito da idade do local e as mudanças no conteúdo de nutrientes que podem afetar principalmente a atividade das enzimas que participam da decomposição da serapilheira.

A qualidade e a quantidade da serapilheira são importantes fatores para composição da comunidade microbiana e funcionamento metabólico do solo, pois determinam a composição da matéria orgânica a qual disponibiliza os recursos para biomassa microbiana do solo (MYERS et al., 2001). Resíduos de baixa qualidade (elevada taxa C/N) como os de eucalipto podem favorecer a população fúngica, enquanto que aqueles com elevada qualidade (baixa taxa C/N) tendem a favorecer bactérias gram positivas (actinomicetos). Orwin et al. (2006) observaram que a decomposição de material orgânico complexo (rico em N) requer a participação de muitas enzimas. Possivelmente seja esse o motivo pelo qual no presente estudo os actinomicetos apresentaram correlação positiva com todas as enzimas avaliadas, uma vez que esse grupo foi encontrado principalmente no solo sob floresta nativa onde os resíduos vegetais são em geral de elevada complexidade. Além disso, os compostos que entram no solo via rizodeposição também influenciam a comunidade microbiana (CARRASCO et al., 2010). Alguns grupos microbianos são favorecidos pela entrada de C no sistema pelos processos de rizodeposição, a entrada de C lábil estimula o crescimento microbiano e a produção de enzimas principalmente as responsáveis pela degradação de moléculas de C (WALDROP et al., 2000). A proporção de FAMES marcadores de FMA não apresentaram correlação com nenhuma das atividades enzimáticas avaliadas, talvez esse resultado esteja relacionado ao fato de que o ácido graxo 16:1 ω 5 não seja representativo das espécies de fungo micorrízico que colonizam *Eucalyptus grandis*. Segundo Acosta-Martinez et al. (2011) o ácido graxo 16:1 ω 5 foi o ácido dominante em quatro espécies, *Glomus coronatum*, *Glomus mossseae*, *Gigaspora margarita* e *Scutellospora calospora*. Estudos em áreas de plantio de *Eucalyptus grandis* revelaram predominância de espécies de *Acaulospora* (MELLO et al., 2006, PAGANO et al., 2009).

No nosso estudo, a atividade da arilsulfatase foi mais sensível às modificações promovidas pela revegetação que as demais enzimas avaliadas. O padrão de resposta da arilsulfatase está de acordo com a recuperação promovida pelo tempo de revegetação com respeito à estrutura da comunidade microbiana. A partir desse resultado sugere-se

que a arilsulfatase apresenta maior potencial para predizer futuras mudanças na composição da comunidade microbiana que as outras enzimas avaliadas.

Os locais revegetados estão em uma trajetória para a recuperação com o avanço da idade do povoamento e as mudanças são refletidas na composição e no funcionamento das comunidades microbianas. A análise de FAMES foi suficientemente sensível para diferenciar os locais estudados em termos de idade e do sucesso da reabilitação. Apesar de todas as variáveis biológicas apresentarem correlação com a estrutura da comunidade microbiana, a atividade da arilsulfatase mostrou ser mais eficaz para prever futuras mudanças na comunidade microbiana nas condições estudadas. No entanto, o acompanhamento das mudanças na estrutura e funcionamento da comunidade microbiana por um período maior de tempo, é necessário para confirmar as tendências observadas do uso eucalipto para restauração da comunidade microbiana em áreas de mineração de argila.

6 CONSIDERAÇÕES GERAIS

No município de Cabo de Santo Agostinho, Pernambuco, a extração de argila é realizada há aproximadamente 15 anos causando forte interferência no meio ambiente, tornando-se necessário buscar alternativas que possam minimizar os efeitos adversos da mineração. Atualmente, a recuperação dessas áreas vem sendo feita por reflorestamento com eucalipto, o qual se destaca pela adaptabilidade às diferentes condições edafoclimáticas, alta taxa de crescimento e boa produtividade. Entretanto, existem poucos relatos da utilização de eucalipto na reabilitação de áreas pós-mineração, sendo necessário investigar as possíveis mudanças promovidas em relação às propriedades do solo.

O processo de reabilitação de áreas degradadas depende, dentre outros fatores, da microbiota edáfica, que participa ativamente dos processos de ciclagem e armazenamento de nutrientes, diretamente envolvidos no processo de formação do solo. Nesse sentido, análises que descrevam a atividade e a composição da comunidade microbiana do solo como ensaios enzimáticos e análise de biomarcadores lipídicos podem ser utilizadas na avaliação do progresso da reabilitação.

No presente estudo, o reflorestamento das áreas de mineração de argila com *Eucalyptus grandis*, vem favorecendo a recuperação das propriedades químicas, físicas e biológicas do solo, especialmente das propriedades biológicas. As áreas com diferentes fases de desenvolvimento do eucalipto divergem quanto ao funcionamento microbiológico e composição da comunidade microbiana; no entanto, observa-se recuperação parcial nas áreas com aumento do tempo de reabilitação, em comparação com as condições da floresta nativa.

A análise das propriedades biológicas do solo e do perfil de ácidos graxos foi suficientemente sensível para diferenciar os locais estudados em termos de idade e do sucesso da reabilitação, indicando que as áreas reflorestadas estão evoluindo no sentido da recuperação das condições anteriores a exploração. Desse modo, o acompanhamento das mudanças por um período maior de tempo é necessário para confirmar as tendências observadas do uso de eucalipto para reabilitação de áreas degradadas pela mineração de argila.

REFERÊNCIAS

- ACOSTA-MARTÍNEZ, V.; LASCANO, R.; CALDERÓN, F.; BOOKER, J. D.; ZOBECK, T. M.; UPCHURCH, D. R. Dryland cropping systems influence the microbial biomass and enzyme activities in a semiarid sandy soil. **Biology and Fertility of Soils** 47:655-667. 2011.
- ADACHI, M.; BEKKU, Y.S.; RASHIDAH, W.; OKUDA, T.; KOIZUMI, H. Differences in soil respiration between different tropical ecosystems. **Applied Soil Ecology** 34:258-265. 2006.
- ADAMS, M.A.; ATTIWILL, P.M. Nutrient cycling and nitrogen mineralization in eucalypt forests of south-eastern Australia. I. Nutrient cycling and nitrogen turnover. **Plant and Soil** 92: 319-339. 1986.
- AGGANGAN, R.T.; O'CONNELL, A.M.; MCGRATH, J.F.; DELL, B. The effects of *Eucalyptus globulus* Labill. leaf litter on C and N mineralization in soils from pasture and native forest. **Soil Biology and Biochemistry** 31: 1481-1487. 1999.
- AGNELLI, A.; UGOLINI, F.C.; CORTI, G.; PIETRAMELLARA, G. Microbial biomass C and basal respiration of fine earth and highly altered rock fragments of two forest soil. **Soil Biology and Biochemistry** 33: 613-620. 2001.
- ALEF, K.; NANNIPIERI, P. **Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry**. San Diego, Academic Press. 1995.
- ALLISON, S.D.; VITOUSEK, P.M. Responses of extracellular enzymes to simple and complex nutrient inputs. **Soil Biology and Biochemistry** 37: 937-944. 2005.
- ALLISON, V.J.; CONDRON, L.M.; PELTZER, D.A.; RICHARDSON, S.J.; TURNER, B.L. 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. 2007.

ALVES, M.C.; SUZUKI, L.G.A.S.; SUZUKI, L.E.A.S. Densidade do solo e infiltração de água como indicadores da qualidade física de um latossolo vermelho distrófico em recuperação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 31: 617-625. 2007.

AMADOR, J.A.; GLUCKSMAN, A.M.; LYONS, J.B.; GORRES, J.H. Spatial distribution of soil phosphatase activity within a riparian forest. **Soil Science** 162: 808–825. 1997.

ANDERSON, T.H., DOMSCH, K.H. Determination of ecophysiological maintenance carbon requirements of soil microorganisms in a dormant state. **Biology and Fertility of Soils** 1: 81-89. 1985.

_____; _____ Application of eco-physiological quotients (qCO₂ and qD) on microbial biomasses from soils of different cropping histories. **Soil Biology and Biochemistry** 22:251-255. 1990.

ANDRÉA, M.M.; PETTINELLI JR., A. Efeito de aplicações de pesticidas sobre a biomassa e a respiração de micro-organismos de solos. **Arquivos do Instituto de Biologia** 67: 223-228. 2000.

ANDREWS, S.S.; CARROL, R. Designing a soil quality assessment tool for sustainable agroecosystems. **Agronomy Journal** 11: 1573-1585. 2001.

_____.; KARLEN, D.L.; CAMBARDELLA, C.A. The soil management assessment framework: A quantitative soil quality evaluation method. **Soil Science Society of America Journal** 68: 1945-1962. 2004.

AON, M.A.; COLANERI, A.C. II. Temporal and spatial evolution of enzymatic activities and physico-chemical properties in an agricultural soil. **Applied Soil Ecology** 18: 255-270. 2001.

AON, M.A.; CABELLO, M.N.; SARENA, D.E.; COLANERI, A.C.; FRANCO, M.G.; BURGOS, J.L.; CORTASSA, S. I. Spatio-temporal patterns of soil microbial and enzymatic activities in an agricultural soil. **Applied Soil Ecology** 18:239-254. 2001.

ARAÚJO, A.S.F.; CESARZ, S.; LEITE, L.F.C.; BORGES, C.D.; TSAI, S.M.; EISENHAUER, N. 2013. Soil microbial properties and temporal stability in degraded and restored lands of Northeast Brazil. **Soil Biology & Biochemistry** 66: 175-181.

_____.; MONTEIRO, R.T.R. Indicadores biológicos de qualidade do solo. **Bioscience Journal** 23: 66-75. 2007.

_____.; SILVA, E.F.L.; NUNES, L.A.P.L.; CARNEIRO, R.F.V. The effect of converting tropical native savanna to *Eucalyptus grandis* forest on soil microbial biomass. **Land Degradation and Development**. 21: 540-545. 2010.

ASSIS, H.M.B. 1999. Cartografia geomorfológica do Município do Cabo de Santo Agostinho-PE. Recife: CPRM/FIDEM, pp.32 (**Série Cartas Temáticas**, 4).

BADIANE, N.N.Y.; CHOTTE, J.L.; PATE, E.; MASSE, D.; ROULAND, C. Use of soil enzymes to monitor soil quality in natural and improved fallows in semi-arid tropical regions. **Applied Soil Ecology** 18: 229-238. 2001.

BAKER, L.R.; WHITE, P.M.; PIERZYNSKI, G.M. Changes in microbial properties after manure, lime, and bentonite application to a heavy metal-contaminated mine waste. **Applied Soil Ecology** 48: 1-10. 2011.

BALDRIAN, P. Microbial enzyme-catalyzed processes in soils and their analysis. **Plant Soil and Environment** 55 (9): 370-378. 2009.

_____.; MERHAUTOVÁ, V.; CAJTHAML, T.; PETRÁNKOVÁ, M.; ŠNAJDR, J. Small- scale distribution of extracellular enzymes, fungal, and bacterial biomass in *Quercuspetraea* forest topsoil. **Biology Fertility of Soils** 46: 717-726. 2010.

BALDRIAN, P.; TROGL, J.; FROUZ, J.; ŠNAJDR, J.; VALÁŠKOVÁ, V.; MERHAUTOVÁ, V.; CAJTHAML, T.; HERINKOVÁ, J. 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. 2008.

BALIEIRO, F.C.; CHAER, G.M.; REIS, L.L.; FRANCO, A.A.; N.O. FRANCO.

Qualidade do solo em áreas degradadas. In **XXX Congresso Brasileiro de Ciência do Solo**. SBCE/UFRPE/Embrapa Solos-UEP, Recife, PE, pp.CD-room. 2005.

BALOTA, E.L.; COLOZZI-FILHO, A.; ANDRADE, D.S.; DICK, R.P. Microbial biomass in soils under different tillage and crop rotation systems. **Biology and Fertility of Soils** 38:15-20. 2003.

BANDICK, A.K.; DICK, R.P. Field management effects on soil enzyme activities. **Soil Biology and Biochemistry** 31: 1471-1479. 1999.

BANNING, N.C.; GRANT, C.D.; JONES, D.L.; MURPHY, D.V. Recovery of soil organic matter, organic matter turnover and nitrogen cycling in a post-mining forest rehabilitation chronosequence. **Soil biology and biochemistry** 40: 2021- 2031. 2008.

_____; PHILLIPS, I. R.; JONES, D. L.; MURPHY, D.V. Development of Microbial Diversity and Functional Potential in Bauxite Residue Sand under Rehabilitation. **Restoration Ecology** 19: 78-87. 2011.

BARDGETT, R.D.; MCALISTER, E. The measurement of soil fungal:bacterial biomass ratios as an indicator of ecosystem self-regulation in temperate meadow grasslands. **Biology and Fertility of Soils** 29: 282-290. 1999.

BARRETO, P.A.B.; GAMA-RODRIGUES, E.F.; GAMA-RODRIGUES, A.C.; BARROS, N.F.; FONSECA, S. Atividade microbiana, carbono e nitrogênio da biomassa microbiana em plantações de eucalipto, em seqüência de idades. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 32: 611-619. 2008.

BARRETTA, D.; BARETTA, C.R.D.M.; CARDOSO, E.J.B.N. Análise multivariada de atributos microbiológicos e químicos do solo em floresta com *Araucaria angustifolia*. **Revista Brasileira de Ciências do Solo** 32: 2683-2691. 2008.

BARROS, N.F.; COMERFORD, N.B. Sustentabilidade da produção de florestas plantadas na região tropical. 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. 487-592. 2002.

BASTIDA, F.; KANDELER, E.; MORENO, J.L.; ROS, M.; GARCÍA, C.;
HERNÁNDEZ, T. Application of fresh and composted organic wastes modifies
structure, size and activity of soil microbial community under semiarid climate.
Applied Soil Ecology 40: 318-329. 2008.

BAUDOIN, E.; BENIZRI, E.; GUCKERT, A. Impact of artificial root exudates on the
bacterial community structure in bulk soil and maize rhizosphere. **Soil Biology and
Biochemistry** 35: 1183-1192. 2003.

BEHERA, N.; SAHANI, U. Soil microbial biomass and activity in response to
Eucalyptus plantation and natural regeneration on tropical soil. **Forest Ecology and
Management** 174: 1-11. 2003.

BEZERRA NETO, E.; BARRETO, L.P. **Métodos de análises químicas em plantas**.
Recife, Imprensa Universitária da Universidade Federal Rural de Pernambuco. 2004.

BINI, D.; SANTOS, C.A.; BOUILLET, J.P.; GONÇALVES, J.L.M.; CARDOSO,
E.J.B.N. *Eucalyptus grandis* and *Acacia mangium* in monoculture and intercropped
plantations: Evolution of soil and litter microbial and chemical attributes during early
stages of plant development. **Applied Soil Ecology** 63: 57-66. 2013.

BLAGODATSKAYA, E.; KUZUYAKOV, Y. Mechanisms of real and apparent priming
effects and their dependence on soil microbial biomass and community structure:
critical review. **Biology Fertility of Soils** 45: 115-131. 2008.

BLUM, W. E.H. Basic concepts: degradation, resilience and rehabilitation. In: Lal, R.;
Blum, W.H.; Valentine, C.; Stewart, B.A. (Org.) **Methods of Soil Degradation**, New
York: CRC Press, pp.1-16. 1998.

BÖHME, L.; BÖHME, F. Soil microbiological and biochemical properties affected by
plant growth and different long-term fertilization. **European Journal of Soil Biology**
42: 1-12. 2006.

BONANOMI, G.; D'ASCOLI, R.; ANTIGNANI, V.; CAPODILUPO, M.; COZZOLINO, L.; MARZAIOLI, R.; PUOPOLO, G.; RUTIGLIANO, F.A.; SCELZA, R.; SCOTTI, R.; RAO, M.A.; ZOINA, A. Assessing soil quality under intensive cultivation and tree orchards in Southern Italy. **Applied Soil Ecology** 47: 184-194. 2011.

BÖRJESSON, G.; MENICHETTI, L.; KIRCHMANN, H.; KÄTTERER, T. Soil microbial community structure affected by 53 years of nitrogen fertilisation and different organic amendments. **Biology and Fertility of Soils** 48: 245-257. 2012.

BOSSIO, D.A.; FLECK, J.A.; SCOW, K.M.; FUJII, R. Alteration of soil microbial communities and water quality in restored wetlands. **Soil Biology and Biochemistry** 38: 1223-1233. 2006.

BRANDÃO-JUNIOR, O.; HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J. C.; ESPINDOLA, C.R. 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. 2008.

BRANT, J.B.; MYROLD, D.D.; SULZMAN, E.W. Root controls on soil microbial community structure in forest soils. *Oecologia* 148: 650-659. 2006.

BROCKWAY, D.G.; OUTCALT, K.W.; WILKINS, R.N. 1998. Restoring longleaf pine wiregrass ecosystems: plant cover, diversity and biomass following low-rate hexatizone application on Florida sandhills. **Forestry and Ecological Management** 103: 159-175.

BURNS, R.G. Enzyme activity in soil: location and possible role in microbial ecology. **Soil Biology and Biochemistry** 14: 423-427. 1982.

BUTLER, E.; WHELAN, M.J.; RITZ, K.; SAKRABANI, R.; VAN EGMOND, R. The effect of triclosan on microbial community structure in three soils. **Chemosphere** 89: 1-9. 2012.

CAMINA, F.; TRASAR-CEPEDA, C.; GIL-SOTRES, F.; LEIRÓS, C. Measurement of

dehydrogenase activity in acid soils rich in organic matter. **Soil Biology and Biochemistry** 30: 1005-1011. 1998.

CAO, Y.; FU, S.; ZOU, X.; CAO, X.; SHAO, Y. ZHOU, L. Soil microbial community composition under *Eucalyptus* plantations of different age in subtropical China. **European Journal of Soil Biology** 46: 128-135. 2010.

CARAVACA, F.; ALGUACIL, M.M.; FIGUEIROA, D.; BAREA, J.M.; ROLDÁN, A. Reestablishment of *Retama sphaerocarpa* as a target species for reclamation of soil physical and biological properties in a semiarid Mediterranean land. **Forest Ecology Management** 182: 49-58. 2003.

CARAVACA, F.; MASCIANDARO, G.; CECCANTI, B. Land use in relation to soil chemical and biochemical properties in a semiarid Mediterranean environment. **Soil and Tillage Research** 68: 23-30. 2002.

CARNEIRO, M.A.C.; SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; SOARES, A.L.L. Carbono orgânico, nitrogênio total, biomassa microbiana e atividade microbiana do solo em duas cronossequências de reabilitação após mineração de bauxita. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 32: 621-632. 2008.

CARRASCO, L.; GATTINGER, A.; FLIEßBACH, A.; ROLDÁN, A.; SCHLOTER, M.; CARAVACA, F. 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. 2010.

CARREIRA, J.A.; VINEGLA, B.; GARCÍA-RUIZ, R.; OCHOA, V.; HINOJOSA, M.B. Recovery of biochemical functionality in polluted flood-plain soils: the role of microhabitat differentiation through revegetation and rehabilitation of the river dynamics. **Soil Biology and Biochemistry** 40: 2088-2097. 2008.

CASIDA, L.E.; KLEIN, D.A.; SANTORO, T. Soil dehydrogenase. **Soil Science** 98: 371-376. 1964.

CHAER, G.M. Modelo para determinação de índice de qualidade do solo baseado em indicadores físicos, químicos e microbiológicos. **Dissertação de mestrado**.

Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2002.

_____; MYROLD, D.D.; BOTTOMLEY, P.J. A soil quality index based on the equilibrium between soil organic matter and biochemical properties of undisturbed coniferous forest soils of the Pacific Northwest. **Soil Biology and Biochemistry** 41: 822-830. 2009.

_____; RESENDE, A.S.; CAMPELLO, E.F.C.; FARIA, S.M.; BODDEY, R.M.; SCHMIDT, S. Nitrogen-fixing legume tree species for the reclamation of severely degraded lands in Brazil. **Tree Physiology** 31 (2): 139-149. 2011.

_____; TÓTOLA, M.R. Impacto do manejo de resíduos orgânicos durante a reforma de plantios de eucalipto sobre indicadores de qualidade do solo. **Revista Brasileira Ciência do Solo** 31: 1381-1396. 2007.

CHANDER, K.; GOYAL, S.; KAPOOR, K.K. Microbial biomass dynamics during the decomposition of leaf litter of *Poplar* and *Eucalyptus* in a sandy loam. **Biology and Fertility of Soils** 19: 337-362. 1995.

CHEN, F.; ZHENG, H.; ZHANG, K.; OUYANG, Z.; LAN, J.; LI, H.; SHI, Q. Changes in soil microbial community structure and metabolic activity following conversion from native *Pinus massoniana* plantations to exotic *Eucalyptus* plantations. **Forest Ecology and Management** 291:65-72. 2013.

CHODAK, M.; NIKLINSKA, M. Effect of texture and tree species on microbial properties of mine soils. **Applied Soil Ecology** 46: 268-275. 2010.

_____; PIETRZYKOWSKI M.; NIKLINSKA, M. Development of microbial properties in a chronosequence o sandy mine soils. **Applied Soil Ecology** 41: 259–268. 2009.

CLAASSENS, S.; RIEDEL, K.J.; VAN RENSBURG, T.L.; MORGENTHAL, P.J.;

VAN RENSBURG, J. Soil microbial properties in coal mine tailings under Rehabilitation. **Applied ecology and environmental research** 4: 75-83. 2005.

_____; JANSEN VAN RENSBURG, P.J.; VAN RENSBURG, L. 2006. Soil microbial community structure of coal mine discard under rehabilitation. **Water, Air, and Soil Pollution** 174: 355-366.

_____; VAN RENSBURG, J.; MABOETA, M.S.; VAN RENSBURG, L. Soil microbial community function and structure in a post-mining chronosequence. **Water Air Soil Pollution** 194: 315-329. 2008.

_____; JANSEN VAN RENSBURG, P.; LIEBENBERG, D.; VAN RENSBURG, L. A Comparison of microbial community function and structure in rehabilitated asbestos and coal discard sites. **Water, Air and Soil Pollution** 223 (3): 1091- 1100. 2012.

COOKSON, W.R.; O'DONNELL, A.J.; GRANT, C.D.; GRIERSON, P.F.; MURPHY, D.V. Impact of ecosystem management on microbial community level physiological profiles of postmining forest rehabilitation. **Microbial Ecology** 55: 321-332. 2008.

COSTA, E.S.; LUIZÃO, R.C.; LUIZÃO, F.J. Soil microbial biomass and organic carbon in reforested sites degraded by bauxite mining in the Amazon. **Advances GeoEcology** 31: 443-450. 1998.

CRIQUET, S.; BRAUD, A. Effects of organic and mineral amendments on available P and phosphatase activities in a degraded Mediterranean soil under short-term incubation experiment. **Soil and Tillage Research** 98:164-174. 2008.

_____; FERRE, E.; FARNET, A.M.; LE PETIT, J. Annual dynamics of phosphatase activities in an evergreen oak litter: influence of biotic and abiotic factors. **Soil Biology and Biochemistry** 36: 1111-1118. 2004.

_____; TAGGER, S.; VOGT, G.; LE PETIT, J. Endoglucanase and β -glycosidase activities in an evergreen oak litter: annual variation and regulating factors.

Soil Biology and Biochemistry 34: 1111-1120. 2002.

CUNHA-QUEDA, A.C.; RIBEIRO, H.M.; RAMOS, A.; CABRAL, F. Study of biochemical and microbiological parameters during composting of pine and eucalyptus bark. **Bioresource Technology** 98: 3213-3220. 2007.

DEGENS, B.P.; SCHIPPERA, L.A.; SPARLINGA, G.P.; VOJVODIC-VUKOVIC, M. Decreases in organic C reserves in soils can reduce the catabolic diversity of soil microbial communities. **Soil Biology and Biochemistry** 32: 189-196. 2000.

DE-POLLI, H.; GUERRA J.G.M. Determinação do carbono da biomassa microbiana do solo: Método da fumigação-extração. Seropédica, Embrapa- CNPAB (**Série Documentos**, 37). 1997.

DICK, W.A.; CHENG, L.; WANG, P. Soil acid and alkaline phosphatase activity as pH adjustment indicators. **Soil Biology and Biochemistry** 32: 1915-1919. 2000.

_____; TABATABAI, M.A. Significance and potential uses of soil enzymes. In: Metting Jr., F.B. (Ed.). **Soil Microbial Ecology**, New York, Marcel Dekker, pp. 95-127. 1999.

DIEDHIOU, S.; DOSSA, E.L.; BADIANE, A.N.; DIEDHIOU, I.; SÈNE, M.; DICK, R.P. Decomposition and spatial microbial heterogeneity associated with native shrubs in soils of agroecosystems in semi-arid Senegal. **Pedobiologia** 52 (4): 273-286. 2009.

DIMITRIU, P.A.; PRESCOTT, C.E.; QUIDEAU, S.A.; GRAYSTON, S.J. Impact of reclamation of surface-mined boreal forest soils on microbial community composition and function. **Soil Biology and Biochemistry** 42: 2289-2297. 2010.

DINESH, R.; CHAUDHURI, S.G.; GANESHAMURTHY, A.N.; DEY, C. Changes in soil microbial indices and their relationships following deforestation and cultivation in wet tropical forests. **Applied Soil Ecology** 24: 17-26. 2003.

DODOR, D.; TABATABAI, A. Effect of cropping systems of phosphatases in soils. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science** 166: 7-13. 2003.

DONI, S.; MACCI, C.; CHEN, H.; MASCIANDARO, G.; CECCANTI, B. Isoelectric focusing of β -glucosidase humic-bound activity in semi-arid Mediterranean soils under management practices. **Biology and Fertility of Soils** 48:183-190. 2012.

DORAN, J.W.; PARKIN, T.B. Defining and assessing soil quality. In: DORAN, J.W.; COLEMAN, D.C.; BEZDICEK, D.F.; STEWART, B.A. (Org.) **Defining soil quality for a sustainable environment**. Madison: SSSA, pp. 3-21. 1994.

_____; SARRANTONIO, M.; LIEBIG, M.A. **Soil health and sustainability**. **Advances in Agronomy** 56: 2-54. 1996.

_____; ZEISS, M.R. Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality. **Applied Soil Ecology** 15: 3-11. 2000.

DOUGLAS, M.E.; ENDLER, J.A. Quantitative matrix comparisons in ecological and evolutionary investigations. **Journal of Theoretical Biology** 99:777-795. 1982.

EIVAZI, F.; TABATABAI, M.A. Glucosidases and galactosidases in soils. **Soil Biology and Biochemistry** 20: 601-606. 1988.

Embrapa. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Embrapa Solos, Embrapa Informática Agropecuária. Fábio César da Silva (Org.), Brasília. 370p. 1999.

EPRON, D.; MARSDEN, C.; M'BOU, A.T.; SAINT-ANDRÉ, L.; D'ANNUNZIO, R.; NOUVELLON, Y. Soil carbon dynamics following afforestation of a tropical savannah with *Eucalyptus* in Congo. **Plant and Soil** 323: 309-322. 2009.

_____; NOUVELLON, Y.; DELEPORTE, P.; IFO, S.; KAZOTTI, G.; THONGO M'BOU, A.; MOUVONDY, W.; SAINT-ANDRÉ, L.; ROUPSARD, O.; JOURDAN, C.; HAMEL, O. Soil carbon balance in a clonal *Eucalyptus* plantation in Congo: effects of logging on carbon inputs and soil CO₂ efflux. **Global Change Biology** 12:1021-1031. 2006.

FANIN, N.; HÄTTENSCHWILER, S.; BARANTAL, S.; SCHIMANN, H.; FROMIN, N. Does variability in litter quality determine soil microbial respiration in an Amazonian rainforest? **Soil Biology and Biochemistry** 43: 1014-1022. 2011.

FERNÁNDEZ, M.T.H.; IZQUIERDO, C.G.; STAMFORD, N.P.; MORENO, M.C.M. Enzimas que actúan em la matéria orgânica del suelo. In FIGUEIREDO, M.V.B.; BURITY, H.A.; STAMFORD, N.P.; SILVA SANTOS, C.E.R. (eds.) **Micro-organismos e agrobiodiversidade: o novo desafio para a agricultura**. Guaíba, Agrolivros, pp. 351-375. 2008.

FIORETTO, A.; PAPA, S.; PELLEGRINO, A.; FERRIGNO, A. Microbial activities in soils of a Mediterranean ecosystem in different successional stages. **Soil Biology and Biochemistry** 41: 2161-2068. 2009.

FROUZ, J.; KEPLIN, B.; PIZL, V.; TAJOVSKY, K.; STARY, J.; LUKESOVA, A.; NOVAKOVA, A.; BALIK, V.; HANEL, L.; MATERNA, J.; DUKER, C.; CHALUPSKY, J.; RUSEK, J.; HEINKELE, T. Soil biota and upper soil layer development in two contrasting post- mining chronosequences. **Ecological Engineering** 17: 275-284. 2001.

GAMA-RODRIGUES, E.F.; BARROS, N.F.; GAMA-RODRIGUES, A.C.; SANTOS, G.A. Nitrogênio, carbono e atividade da biomassa microbiana do solo em plantações de eucalipto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. 29: 893-901. 2005.

_____; _____; VIANA, A.P.; SANTOS, G.A. Alterações na biomassa e na atividade microbiana da serapilheira e do solo, em decorrência da substituição de cobertura florestal nativa por plantações de eucalipto, em diferentes sítios da região sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 32: 1489-1499. 2008.

_____; GAMA-RODRIGUES, A.C. Biomassa microbiana e ciclagemde 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. 2008.

GARAU, G.; SILVETTI, M.; DEIANA, S.; DEIANA, P.; CASTALDI, P. Long-term influence of red mud on As mobility and soil physico-chemical and microbial parameters in a polluted sub-acidic soil. **Journal of Hazardous Materials** 185: 1241-1248. 2011.

GARCIA, C.; HERNANDEZ, T.; ROLDAN, A.; ALBALADEJO, J.; CASTILLO, V. Organic amendment and mycorrhizal inoculation as a practice in a forestation of soils with *Pinus halepensis* Miller effect on their microbial activity. **Soil Biology and Biochemistry** 32:1173-1181. 2000.

_____; _____; _____; MARTIN, A. Effect of plant cover decline on chemical and microbiological parameters under Mediterranean climate. **Soil Biology and Biochemistry** 34: 635–642. 2002.

_____; _____; COSTA, F. Potential use of dehydrogenase activity as an index of microbial activity in degraded soils. **Communications in Soil Science and Plant Analysis** 28:123-134. 1997.

GEISSELER, D.; HORWATH, W.R.; SCOW, K.M. Soil moisture and plant residue addition interact in their effect on extracellular enzyme activity. **Pedobiologia** 54:71-78. 2011.

GIANFREDA, L.; RAO, M.A.; PIOTROWSKA, A.; PALUMBO, G.; COLOMBO, C. Soil enzyme activities as affected by anthropogenic alterations: intensive agricultural practices and organic pollution. **Science of Total Environment** 341: 265-279. 2005.

GIL-SOTRES, F.; TRASAR-CEPEDA, C.; LEIRÓS, M.C.; SEOANE, S. Different approaches to evaluating soil quality using biochemical properties. **Soil Biology and Biochemistry** 37: 877-887. 2005.

GRAHAM, M. H.; HAYNES, R.J. Organic matter accumulation and fertilizer induced acidification interact to affect soil microbial and enzyme activity on a long-term sugarcane management experiment. **Biology and Fertility of Soils** 41: 249-256. 2005.

_____; _____. 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. 2004.

GRAYSTON, S.J.; CAMPBELL, C.D.; BARDGETT, R.D.; MAWDSLEY, J.L.; CLEGG, C.D.; RITZ, K.; GRIFFITHS, B.S.; RODWELL, J.S.; EDWARDS, S.J.; DAVIES, W.J.; ELSTON, D.J.; MILLARD, P. Assessing shifts in microbial community structure across a range of grasslands of differing management intensity using CLPP, PLFA and community DNA techniques. **Applied Soil Ecology** 25 (1): 63-84. 2004.

GREEN, V.S.; STOTT, D.E.; CRUZ, J.C.; CURI, N. Tillage impacts on soil biological activity and aggregation in a Brazilian Cerrado Oxisol. **Soil and Tillage Research** 92: 114-121. 2007.

GREGORICH, E.G.; VORONEY, R.P.; KACHANOSKI, R.G. Turnover of carbon through microbial biomass in soils with different textures. **Soil Biology and Biochemistry** 23:799-805. 1997.

GRISI, B.M. Método químico de medição da respiração edáfica: alguns aspectos técnicos. **Ciência e cultura** 30:82-88. 1978.

HAMMAN, S.T.; BURKE, I.C.; STROMBERGER, M.E. Relationships between microbial community structure and soil environmental conditions in a recently burned system. **Soil Biology and Biochemistry** 39 (7): 1703-1711. 2007.

HANSON, P.J.; EDWARDS, N.T.; GARDEN, C.T.; ANDREWS, J.A. Separating root and soil microbial contributions to soil respiration: A review of methods and observations. **Biogeochemistry** 48:115-146. 2000.

HARRIS, J. Soil Microbial Communities and Restoration Ecology: Facilitators or Followers? **Science** 325:573. 2009.

HELINGEROVÁ, M.; FROU, J.; SANTRUKOVÁ, H. Microbial activity in reclaimed and unreclaimed post-mining sites near Sokolov (Czech Republic). **Ecological Engineering** 36: 768-776. 2010.

HENDRIX, P.F.; PARMELEE, R.W.; CROSSLEY, D.A.; COLEMAN, D.C.; ODUM, E.P.; GROFFMAN, P.M. Detritus food webs in conventional and no-tillage agroecosystems. **Bioscience** 36: 374-380. 1986.

HERNÁNDEZ, T.; GARCÍA, C. Estimación de la respiración microbiana del suelo. In: IZQUIERDO, C.G.; GIL-SOTRES, F.; FERNÁNDEZ, T.H.; CEPEDA, C.T. (eds.) **Técnicas de análisis de parámetros bioquímicos en suelos: medida de actividades enzimáticas y biomasa microbiana**. Madrid, Ediciones Mundi-Prensa, pp. 313- 346. 2003.

HERRICK, J.E.; BROWN, J.R.; TUGEL, A.J.; SHAVER, P.L.; HAVSTAD, K. M. Applications of soil quality to monitoring and management: paradigms from rangeland ecology. **Agronomy Journal** 94: 3-11. 2002.

HINOJOSA, M.B.; CARREIRA, J.A.; GARCÍA-RUÍZ, R.; DICK, R.P. Soil moisture pre- treatment effects on enzyme activities as indicators of heavy metal contaminated and reclaimed soils. **Soil Biology and Biochemistry** 36: 1559-1568. 2004.

HUANG, YI-MEI.; MICHEL, K.; AN, SHAO-SHAN.; ZECHMEISTER-BOLTENSTERN, S. 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. 2011.

HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J.C.; BRANDÃO-JUNIOR, O.; KASCHUK, G.; SOUZA, R.A. Soil microbial activity and crop sustainability in a long-term experiment with three soil-tillage and two crop-rotation systems. **Applied Soil Ecology** 42: 288-296. 2009.

HÜTTL, R.F.; GERWIN, W. Landscape and ecosystem development after disturbance by mining. **Ecological Engineering** 24: 1-3. 2005.

ISLAM, K.R.; WEIL, R.R. A rapid microwave digestion method for colorimetric measurement of soil organic carbon. **Communications in Soil Science and Plant Analysis** 29: 2269-2284. 1998.

_____; _____. Soil quality indicator properties in mid-atlantic soils as influenced by conservation management. **Journal of Soil and Water Conservation** 55: 69-78. 2000a.

_____; _____. Land use effects on soil quality in a tropical forest ecosystem of Bangladesh. **Agriculture, Ecosystems and Environment** 79: 9-16. 2000b.

IZQUIERDO, I.; CARAVACA, F.; ALGUACIL, M.M.; HERNÁNDEZ, G.; ROLDÁN, A. 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. 2005.

JAKELAITIS, A.; SILVA, A.A.; SANTOS, J.B.; VIVIAN, R. Qualidade da camada superficial de solo sob mata, pastagens e áreas cultivadas. **Pesquisa Agropecuária Tropical** 38:118-127. 2008.

JANGID, K.; WILLIAMS, M.A.; FRANZLUEBBERS, A.J.; BLAIR, J.M.; COLEMAN, D.C.; WHITMAN, W.B. Development of soil microbial communities during tallgrass prairie restoration. **Soil Biology and Biochemistry** 42: 302-312. 2010.

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. Changes of soil enzyme activities under different tillage practices in the Chinese Loess Plateau. **Soil and Tillage Research** 104: 115-129. 2009.

JOERGENSEN, R.G.; EMMERLING, C. Methods for evaluating human impact on soil microorganisms based on their activity, biomass, and diversity in agricultural soils. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science** 169:295-309. 2006.

KANDELER, E.; GERBER, H. Short-term assay of soil urease activity using

colorimetric determination of ammonium. **Biology Fertility of Soils** 6: 68-72. 1988.

KANDELER, E.; MOSIER, A.R.; MORGAN, J.A.; MILCHUNAS, D.G.; KING, J.Y.; RUDOLPH, S.; TSCHERKO, D. Response of soil microbial biomass and enzyme activities to the transient elevation of carbon dioxide in a semi-arid grassland. **Soil Biology and Biochemistry** 38: 2448-2460. 2006.

KASCHUK, G.; ALBERTON, O.; HUNGRIA, M. Three decades of soil microbial biomass studies in Brazilian ecosystems: Lessons learned about soil quality and indications for improving sustainability. **Soil Biology and Biochemistry** 20: 1-13. 2010.

KEITH-ROACH, M.J.; BRYAN, N.D.; BARDGETT, R.D.; LIVENS, F.R. Seasonal changes in the microbial community of a salt marsh, measured by phospholipid fatty acid analysis. **Biogeochemistry** 60 (1): 77-96. 2002.

KEMPER, W.D.; CHEPIL, W.S. Size distribution of aggregates. In: BLACK, C.A.; EVANS, D.D.; WHITE, J.L.; ENSMINGER, L.E.; CLARK, F.E. (eds) **Methods of soil analysis: physical and mineralogical properties, including statistics of measurement and sampling**. Part 1. Madison, American Society of Agronomy, pp.499-510. 1965.

KIZILKAYA, R.; BAYRAKLI, B. Effects of N-enriched sewage sludge on soil enzyme activities. **Applied Soil Ecology** 30: 192-202. 2005.

KNAUFF, U.; SCHULZ, M.; SCHERER, H.W. Arylsulfatase activity in the rhizosphere and roots of different crop species. **European Journal of Agronomy** 19: 215-223. 2003.

KYTÖVIITA, M.M.; PIETIKÄINEN, A.; FRITZE, H. Soil microbial and plant responses to the absence of plant cover and monoculturing in low arctic meadows. **Applied Soil Ecology** 48: 142-151. 2011.

LAL, R. Forest soils and carbon sequestration. **Forest Ecology and Management**

220:242-258. 2005.

LEWIS, D.E.; WHITE, J.R.; WAFULA, D.; ATHAR, R.; DICKERSON, T.; WILLIAMS, H.N.; CHAUHAN, A. Soil functional diversity analysis of a bauxite-mined restoration chronosequence. **Microbial Ecology** 59: 710-723. 2010.

LIMA, A.M.N.; SILVA, I.R.; NEVES, J.C.L.; NOVAIS, R.F.; BARROS, N.F.; MENDONÇA, E.S.; SMYTH, T.J.; MOREIRA, M.S.; LEITE, F.P. Soil organic carbon dynamic following afforestation of degraded pasture with eucalyptus in southeastern Brazil. **Forest Ecology and Management** 235: 219-231. 2006.

LISBOA, F.J.G.; CHAER, G.M.; JESUS, E.C.; FARIA, S.M.; GONÇALVES, F.S.; SANTOS, F.M.; CASTILHO, A.F.; BERBARA, R.L.L. The influence of litter quality on the relationship between vegetation and below-ground compartments: a Procrustean approach. **Plant and Soil** 367: 551-562. 2013.

LOTT, C.P.M.; BESSA, G.D.; VILELA, O. Reabilitação de áreas e fechamento de minas. **Brasil Mineral** 228: 26-31. 2004.

MAFRA, A.L.; GUEDES, S.F.F.; FILHO, O.K.; SANTOS, J.C.P.; ALMEIDA, J. A.; DALLA ROSA, J. Carbono orgânico e atributos químicos do solo em áreas florestais. **Revista Árvore** 32: 217- 224. 2008.

MALUCHE-BARETTA, C.R.D.; AMARANTE, C.V.T.; KLAUBERG-FILHO, O. Análise multivariada de atributos do solo em sistemas convencional e orgânico de produção de maçãs. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 41: 1531-1539. 2006.

MANDAL, A.; PATRA, A.K.; SINGH, D.; SWARUP, A.; MASTO, R.E. Effect of long- term application of manure and fertilizer on biological and biochemical activities in soil during crop development stages. **Bioresource Technology** 98: 3585–3592. 2007.

MATSUOKA, M. Atributos biológicos de solos cultivados com videira na região da serra gaúcha. **Tese de Doutorado**, Curso de Pós-Graduação em Ciência do solo, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2006.

MELLONI, R. Quantificação microbiana da qualidade do solo. In: SILVEIRA, A.P.D.; FREITAS, S.S. (eds.) **Microbiologia do solo e qualidade ambiental**. Campinas, Instituto Agronômico, pp. 193-218. 2007.

_____; MELLONI, E.G.P.; ALVARENGA, M.I.N.; VIEIRA, F.B.M. Avaliação da qualidade de solos sob diferentes coberturas florestais e de pastagem no Sul de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 32: 2461-2470. 2008.

MELO, W.J.; MELO, G.P.; ARAÚJO, A.S.F.; MELO, V.P. 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. 2010.

MENDES, I.C.; FERNANDES, M.F.; CHAER, G. M.; REIS JUNIOR, F.B. Biological functioning of Brazilian Cerrado soils under different vegetation types. **Plant and Soil** 359 (1-2): 183-195. 2012.

MENDHAM, D.S.; SANKARANB, K.V.; O'CONNELL, A.M.; GROVE, T.S. *Eucalyptus globulus* harvest residue management effects on soil carbon and microbial biomass at 1 and 5 years after plantation establishment. **Soil Biology and Biochemistry** 34: 1903-1912. 2002.

MENDONÇA, A.V.R.; CARNEIRO, J.G.A.; BARROSO, D.G.; SANTIAGO, A.R.; FREITAS, T.A.S.; SOUZA, J.S. Desempenho de quatro espécies de *eucalyptus* spp. em plantios puros e consorciados com sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth) em cava de extração de argila. **Revista Árvore** 32: 395-405. 2008.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras, UFLA. 2002.

MUMMEY, D.L.; STAHL, P.D.; BUYER, J.S. Soil microbiological properties 20 years after surface mine reclamation: spatial analysis of reclaimed and undisturbed sites. **Soil Biology and Biochemistry** 34: 1717-1725. 2002.

MYERS, R.T.; ZAK, D.R.; WHITE, D.C.; PEACOCK, A. Landscape, level patterns of microbial composition and substrate use in upland forest ecosystems. **Soil Science Society of America Journal** 65:359-367. 2001.

NANNIPIERI, P.; GRECO, S.; CECCANTI, B. **Ecological significance of the biological activity in soil**. In: BOLLAG, J.M.; STOTZKY, G. (eds.), Vol. 6. Marcel Dekker, New York, pp.293-355. 1990.

NELSON, D.W.; SOMMERS, L.E. Total carbon, organic carbon, and organic matter. In: SPARKS, D.L.; PAGE, A.L.; HELMKE, P.A.; LOEPPERT, R.H.; SOLTANPOUR P.N.; TABATABAI, M.A.; JOHNSTON, C.T.; SUMMER, M.E. (eds). **Methods of soil analysis. Part 3- Chemical methods**. American Society of Agronomy and Soil Science society of America, Madison, pp 961–1010. 1996.

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. Promising indicators for assessment of agroecosystems alteration among natural reforested and agricultural land use in southern Brazil. **Agriculture, Ecosystems and Environment** 115: 237-247. 2006.

NOVAIS, R.F.; BARROS, N.F.; NEVES, J.C.L. Nutrição Mineral o eucalipto. In: Barros, N. F.; Novais, R. F. (eds.). **Relação solo-eucalipto**. Viçosa: Editora Folha de Viçosa, pp. 330. 1990.

O'BRIEN, N.D.; ATTIWILL, P.M.; WESTON, C.J. Stability of soil organic matter in Eucalyptus regnans forests and Pinusradiata plantations in south eastern Australia. **Forest Ecology and Management** 185: 249-261. 2003.

OLDEMAN, L.R. The global extent of land degradation. In: **Land Resilience and Sustainable Land Use**. Wallingford: CABI. 1994.

PARADELO, R.; MOLDES, A.B.; BARRAL, M.T. Properties of slate mining wastes

incubated with grape marc compost under laboratory conditions. **Waste Management** 29: 579-584. 2009.

PARHAM, J.A.; DENG, S.P. Detection, quantification and characterization of beta-glucosaminidase activity in soil. **Soil Biology and Biochemistry** 32 (8-9): 1183-1190. 2000.

PASCUAL, J.A.; GARCIA, C.; HERNANDEZ, T.; MORENO, J.L.; ROS, M. Soil microbial activity as a biomarker of degradation and remediation processes. **Soil Biology and Biochemistry** 32: 1877-1883. 2000.

PATRA, A.K.; LE ROUX, X.; GRAYSTON, S.J.; LOISEAU, P.; LOUAULT, F. Unraveling the effects of management regime and plant species on soil organic carbon and microbial phospholipid fatty acid profiles in grassland soils. **Bioresource Technology** 99: 3545-3551. 2008.

PAUL, E.A.; CLARK, F.E. **Soil Microbiology and Biochemistry**. Academic Press. 273p. 1989.

PAZ-FERREIRO, J.; TRASAR-CEPEDA, C.; LEIRÓS, M.C.; SEOANE, S.; GIL-SOTRES, F. Effect of management and climate on biochemical properties of grassland soils from Galicia (NW Spain). **European Journal of Soil Biology** 46: 136-143. 2010.

PEIXOTO, R.S.; CHAER, G.M.; FRANCO, N.; REIS-JUNIOR, F.B.; MENDES, I.C.; OSADO, A.S. A decade of land use contributes to changes in the chemistry, biochemistry and bacterial community structures of soils in the Cerrado. *Cch98*: 403-413. 2010.

PÉREZ DE MORA, A.; ORTEGA-CALVO, J.J.; CABRERA, F.; MADEJÓN, E. Changes in enzyme activities and microbial biomass after “in situ” remediation of heavy metal contaminated soil. **Applied Soil Ecology** 28: 125–137. 2005.

POLGLASE, P.J.; ATTIWILL, P.M.; ADAMS, M.A. Nitrogen and phosphorus cycling in relation to stand age of *Eucalyptus regnans* F. Muell. II. N mineralization and

nitrification. **Plant and Soil** 142: 167-176. 1992.

PÔRTO, M.L.; ALVES, J.C.; DINIZ, A.A.; SOUZA, A.P.; SANTOS, D. Indicadores biológicos de qualidade do solo em diferentes sistemas de uso no brejo paraibano.

Ciência e Agrotecnologia 33:1011-1017. 2009.

PRAGANA, R.B.; NOBREGA, R.S.A.; RIBEIRO, M.R.; LUSTOSA FILHO, J.F.

Atributos biológicos e dinâmica da matéria orgânica em latossolos amarelos na região do Cerrado piauiense sob sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 36 (3) 851-858. 2012.

PRESTON, S.; WIRTH, S.; RITZ, K.; GRIFFITHS, B.S.; YOUNG, I.M. The role played by microorganisms in the biogenesis of soil cracks: importance of substrate quantity and quality. **Soil Biology and Biochemistry** 33:1851-1858. 2001.

RAHN, C.R.; LILLYWHITE, R.D. A study of the quality factors affecting the short-term decomposition of field vegetable residues. **Journal of the Science of Food and Agriculture** 82:19-26. 2001.

RAJANIEMI, T.K.; ALLISON, V.J. Abiotic conditions and plant cover differentially affect microbial biomass and community composition on dune gradients. **Soil Biology and Biochemistry** 41:102-109. 2009.

RESCK, D.V.S.; PEREIRA, J.; SILVA, J.E. **Dinâmica da matéria orgânica na região dos Cerrados**. Planaltina, Embrapa-CPAC, 1991. 22p. 1991.

ROSCOE, R.; MERCANTE, F.M.; MENDES, I.C.; REIS-JÚNIOR, F.B.;

FRANCHINI, J.C.; HUNGRIA, M. Biomassa microbiana do solo: fração mais ativa da matéria orgânica do solo. In: ROSCOE, R.; MERCANTE, F.M.; SALTON, J.C. (eds.)

Dinâmica da matéria orgânica sistemas conservacionistas: modelagem matemática e métodos auxiliares, Dourados, Embrapa Agropecuária Oeste, pp.163-198. 2006.

ROSENVALD, K.; KUZNETSOVA, T.; OSTONEN, I.; TRUU, M.; TRUU, J.; URI, V.;

LÖHMUS, KRISTA. Rhizosphere effect and fine-root morphological adaptations in a chronosequence of silver birch stands on reclaimed oil shale post-mining areas.

Ecological Engineering 37: 1027-1034. 2011.

ROUSK, J.; BROOKES, P.C.; BÅÅTH, E. The microbial PLFA composition as affected by pH in an arable soil. **Soil Biology and Biochemistry** 42: 516-520. 2010.

SAMPAIO, P.T.B.; RESENDE, M.D.V.; ARAÚJO, A.J. Estimativas de parâmetros genéticos e métodos de seleção para o melhoramento genético de *Pinus caribaea* var. *hondurensis*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 35: 2243-2253. 2000.

SANTRUCKOVÁ, H.; STRASKRABA, M. On the relationship between specific respiration activity and microbial biomass in soils. **Soil Biology and Biochemistry** 23:525-532. 1991.

SARDANS, J.; PENUELAS, J. Drought decreases soil enzyme activity in a Mediterranean *Quercus ilex* L. forest. **Soil Biology and Biochemistry** 37: 455- 461. 2005.

_____; _____; ESTIARTE, M. Changes in soil enzymes related to C and N cycle and in soil C and N content under prolonged warming and drought in a Mediterranean shrubland. **Applied Soil Ecology** 39: 223-235. 2008.

SCHIAVO, J.A.; CANELLAS, L.P.; MARTINS, M.A. Revegetação de cava de extração de argila com *Acacia mangium*. I - atributos químicos do solo, ácidos fúlvicos e húmicos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 31: 1153-1162. 2007.

SCHINNER, F.; VON MERSE, W. Xylanase, CM-cellulase and invertase activity in soil: an improved method. **Soil Biology and Biochemistry** 22: 511-515. 1990.

SCHIPPER, L.A.; DEGENS, B.P.; SPARLING, G.P.; DUNCAN, L.C. Changes in microbial heterotrophic diversity along five plant successional sequences. **Soil Biology and Biochemistry** 37: 2093-2103. 2001.

SCHLOTER, M.; DILLY, O.; MUNCH, J.C. Indicators for evaluating soil quality. **Agriculture, Ecosystems and Environment** 98: 255-262. 2003.

SCHROTH, G.; D'ANGELO, S.A.; TEIXEIRA, W.G.; HAAG, D.; LIEBEREI, R. 2002. Conversion of secondary forest into agroforestry and monoculture plantations in Amazonia: consequences for biomass, litter and soil carbon stocks after 7 years. **Forest Ecology and Management** 163 (1-3): 131-150. 2003.

SCHUTTER, M.E.; DICK, R.P. Comparison of fatty acid methyl ester (FAME) methods for characterizing microbial communities. **Soil Science Society of America Journal** 64: 1659-1668. 2000.

SHI, Y.; LALANDE, R.; ZIADI, N.; SHENG, M.; HU, Z. An assessment of the soil microbial status after 17 years of tillage and mineral P fertilization management. **Applied Soil Ecology** 62: 14-23. 2012.

SICARDI, M.; GARCIA-PRÉCHAC, F.; FRIONI, L. Soil microbial indicators sensitive to land use conversion from pastures to commercial *Eucalyptus grandis* (Hill ex Maiden) plantations in Uruguay. **Applied Soil Ecology** 27:125-133. 2004.

SILVA, A.P.; BABUJIA, L.C.; FRANCHINIA, J.C.; SOUZA, R.A.; HUNGRIA, M. Microbial biomass under various soil- and crop-management systems in short and long-term experiments in Brazil. **Field Crops Research** 119: 20-26. 2010a.

SILVA, P.H.M.; POGGIANIB, F.; SEBBENNC, A.M.; MORID, E.S. Can Eucalyptus invade native forest fragments close to commercial stands? **Forest Ecology and Management** 261: 2075-2080. 2011.

SILVA, R.R.; SILVA, M.L.N.; CARDOSO, E.L.; MOREIRA, F.M.S.; CURI, N.; ALOVISI, A.M.T. 2010b. Biomassa e atividade microbiana em solo sob diferentes sistemas de manejo na região fisiográfica Campos das Vertentes-MG. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 34: 1585-1592.

SINHA, S.; MASTO, R.E.; RAM, L.C.; SELVI, V.A.; SRIVASTAVA, N.K.; TRIPATHI, R.C.; GEORGE, J. Rhizosphere soil microbial index of tree species in a

coal mining ecosystem. **Soil Biology and Biochemistry** 41:1824–1832. 2009.

SINSABAUGH, R.L.; SHAH, J.J.F.; HILL, B.H.; ELONEN, C.M. Ecoenzymatic stoichiometry of stream sediments with comparison to terrestrial soils.

Biogeochemistry 111 (1-3): 455-467. 2012.

SNAJDR, J.; VALASKOVÁ, V.; MERHAUTOVÁ, V.; HENRIKOVÁ, J.; CAJTHAML, T.; BALDRIAN, P. Spatial variability of enzyme activities and microbial biomass in the upper layers of *Quercus petraea* forest soil. **Soil Biology and Biochemistry** 40: 2068- 2075. 2008.

_____; DOBIÁSOVÁ, P.; URBANOVÁ, M.; PETRÁNKOVÁ, M.; CAJTHAML, T.; FROUZ, J.; BALDRIAN, P. Dominant trees affect microbial community composition and activity in post-mining afforested soils. **Soil Biology and Biochemistry** 56: 105- 115. 2013.

ŠOURKOVÁ, M.S.; FROUZ, J.; FETTWEIS, U.; BENS, O.; HÜTTL, R.F.; SANTRUCKOVÁ, H. Soil development and properties of microbial biomass succession in reclaimed post mining sites near Sokolov (Czech Republic) and near Cottbus (Germany). **Geoderma** 129: 73-80. 2005.

SPARLING, G. P. Soil microbial biomass, activity and nutrient cycling as indicators of soil health. In: PANKHURST, C.; DOUBE, B. M.; GUPTA, V. V. S. R. (Eds.). **Biological indicators of soil health**. Cambridge: CAB International, pp. 97-120. 1997.

STENBERG, B. Monitoring soil quality of arable land: microbiological indicators. **Acta Agriculturae Scandinavica Section B - Soil and Plant Science** 49:1-24. 1999.

ŠTURSOVÁ, M.; BALDRIAN, P. 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. 2011.

SWISHER, R.; CARROL, G.C. Fluorescein diacetate hydrolysis as an estimator of microbial biomass on coniferous needle surfaces. **Microbial Ecology** 6: 217-226. 1980.

TABATABAI, M.A. Enzymes. In: WEAVER, R.W.; AUGLE, S.; BOTTOMLY, P.J.; BERDICEK Q.; SMITH, S.; TABATABAI, A.; WOLLUM, A. (eds.) **Methods of Soil Analysis: Microbiological and Biochemical Properties**, Soil Science Society of America, Madison, pp. 775-833. 1994.

_____; BREMNER, J.M. Use of *p*-nitrophenylphosphate for assay of soil phosphatase activity. **Soil Biology and Biochemistry** 1: 301-307, 1969.

_____; _____ Arylsulphatase activity of soils. **Soil Science** 34: 225-229. 1970.

TAYLOR, J.P.; WILSON, B.; MILLS, M.S.; BURNS, R.G. Comparasion of microbial numbers and enzymatic activities in surface soils and subsoils using various techniques. **Soil Biology and Biochemistry** 34: 387-401. 2002.

TIAN, Y.; HAIBARA, K.; TODA, H.; DING, F.; LIU, Y.; CHOI, D. Microbial biomass and activity along a natural pH gradient in forest soils in a karst region of the upper Yangtze River, China. **Journal of Forest Research** 13: 205-214. 2008.

TÓTOLA, M.R.; CHAER, G.M. Micro-organismos 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. 2002.

TRASAR-CEPEDA, C.; LEIRÓS, M.C.; GIL-SOTRES, F. Hydrolitic enzyme activities in agricultural and forest soils. Some implications for their use as indicators of soil quality. **Soil Biology and Biochemistry** 40: 2146-2155. 2008.

TURNER, B.L.; HAYGARTH, P.M. Phosphatase activity in temperate pasture soils: Potential regulation of labile organic phosphorus turnover by phosphodiesterase activity. **Science of the Total Environment** 344: 27-36. 2005.

_____; MCKELVIE, I.D.; HAYGARTH. Caracterisation of water-extractable soil organic phosphorus by phosphatase hydrolysis. **Soil Biology and Biochemistry** 34:

27-35. 2002.

UDAWATTA, R.P.; KREMER, R.J.; GARRETT, H.E.; ANDERSON, S.H. Soil enzyme activities and physical properties in a watershed managed under agroforestry and row-crop systems. **Agriculture, Ecosystems and Environment** 131: 98-104. 2009.

VALLEJO, V.E.; ARBELI, Z.; TERÁN, W.; LORENZ, N.; DICK, R.P.; ROLDAN, F. Effect of land management and *Prosopis juliflora* (Sw.) DC trees on soil microbial community and enzymatic activities in intensive silvopastoral systems of Colombia. **Agriculture, Ecosystems and Environment** 150: 139-148. 2012.

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

VESTAL, J.R.; WHITE, D.C. Lipid analysis in microbial ecology. **Bioscience** 39:535-541. 1989.

WALDROP, M.P.; BALSER, T.C.; FIRESTONE, M.K. Linking microbial community composition to function in a tropical soil. **Soil Biology and Biochemistry** 32: 1837-1846. 2000.

_____; FIRESTONE, M.K. Microbial community utilization of recalcitrant and simple carbon compounds: impact of oak-woodland plant communities. **Oecologia** 138: 275-284. 2004.

WARDLE, D.A. A comparative assessment of factors which influence microbial biomass carbon and nitrogen levels in soils. **Biological Reviews** 67: 321-358. 1992.

_____. Metodologia para quantificação da biomassa microbiana do solo. In: HUNGRIA, M.; ARAÚJO, R.S. (Eds.) **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Brasília, Embrapa, pp.419-436. 1994.

_____; GHANI, A. A critique of the microbial metabolic (qCO₂) as a bioindicator

of disturbance and ecosystem development. **Soil Biology and Biochemistry** 27: 1601-1610. 1995.

WELC, M.; BÜNEMANN, E.K.; FLIEßBACH, A.; FROSSARD, E.; JANSÁ, J. Soil bacterial and fungal communities along a soil chronosequence assessed by fatty acid profiling. **Soil Biology and Biochemistry** 49: 184-192. 2012.

WICK, B.; TIESSEN, H.; MENEZES, R.S.C. Land quality changes following the conversion of the natural vegetation into silvo-pastoral systems in semi-arid NE Brazil. **Plant and Soil** 222: 59–70. 2000.

XIAO-CHANG, W.; QIN, L. Beta-Glucosidase activity in Paddy soils of the Taihu Lake region, China. **Pedosphere** 16: 118-124. 2006.

YANG, D.; ZENG, D.-H.; ZHANG, J.; LI, L.-J.; MAO, R. Chemical and microbial properties in contaminated soils around a magnesite mine in northeast china. **Land Degradation and Development** 23: 256-262. 2012.

ZAIA, F.C.; GAMA-RODRIGUES, A.C. Ciclagem e balanço de nutrientes em povoamentos de eucalipto na região norte fluminense. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 28:843-852. 2004.

ZELLES, L. Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterisation of microbial communities in soil: a review. **Biology and Fertility of Soils** 29: 111-129. 1999.

ZHANG, C.; HUANG, L.; LUAN, T.; JIN, J.; LAN, C. Structure and function of microbial communities during the early stages of revegetation of barren soils in the vicinity of a Pb/Zn Smelter. **Geoderma** 136: 555-565. 2006.

_____; XU, J.; LIU, X.; DONG, F.; KONG, Z.; SHENG, Y.; ZHENG, Y. Impact of imazethapyr on the microbial community structure in agricultural soils. **Chemosphere** 81: 800-806. 2010.

_____; LIU, G.; XUE, S.; SONG, ZILIN. Rhizosphere soil microbial activity under

different vegetation types on the Loess Plateau, China. **Geoderma** 161: 115-125. 2011.

ZHANG, B.; HE, H.; DING, X.; ZHANG, X.; ZHANG, X.; YANG, X.; FILLEY, T.R. 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. 2012.

ZHAO, Z.; SHAHROUR, I.; BAI, Z.; FAN, W.; FENG, L.; LI, H. Soils development in opencast coal mine spoils reclaimed for 1e13 years in the West-Northern Loess Plateau of China. **European Journal of Soil Biology** 55: 40-46. 2013.