



## Avaliação do Estado Microbiológico do Solo em Área Preservada e Impactada por Mineração no Semiárido de Pernambuco

Adália Cavalcanti do Espírito Santo Mergulhão<sup>(1)</sup>; Maria Luiza Ribeiro Bastos da Silva<sup>(2)</sup>; Maria do Carmo Catanho Pereira de Lyra<sup>(3)</sup>

<sup>(1)</sup>Pesquisador (Dra.), Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), Recife, Pernambuco: adalia.mergulhao@ipa.br;

<sup>(2)</sup>Pesquisador (Dra.), IPA, Recife, Pernambuco: maria.luiza@ipa.br; <sup>(3)</sup>Pesquisador (Dra.), IPA, Recife, Pernambuco: maria.catanho@ipa.br

**RESUMO:** Métodos para estimar a atividade microbiana em solos da região semiárida são fundamentais no monitoramento ambiental e recuperação de áreas degradadas. Análises microbiológicas constituem ferramentas importantes no monitoramento da poluição do solo. Estudos sobre o impacto de alterações ambientais nas populações microbianas e suas atividades têm utilizado parâmetros como: número total de micro-organismos do solo (bactérias e fungos). O objetivo deste trabalho foi avaliar e comparar o estado biológico de solos em áreas de caatinga nativa e impactada por mineração de gesso. Coletas de solo foram realizadas em 4 áreas: 1- nativa preservada (AN); 2 – arredores da mina (AM); 3 – rejeito (AR); 4 – interface entre a área de rejeito e a área de caatinga degradada (AI) em dois períodos de coleta: chuvoso e seco. Em geral, os valores do número mais provável de propágulos (NMP) de fungos, bactérias e actinomicetos foram maiores no solo de caatinga preservada quando comparada com as áreas impactadas. A atividade mineradora produziu impacto negativo na microbiota do solo, reduzindo o NMP de micro-organismos.

**Termos de indexação:** micro-organismos, bactérias, fungos

### INTRODUÇÃO

Os micro-organismos representam a forma de vida mais abundante e diversificada no planeta (Whitman et al., 1998). Segundo Lynch & Bragg (1985), a organização e funcionamento dessas comunidades é que governam as transformações bioquímicas que ocorrem no solo, sendo a microbiota do solo responsável não somente pela formação de húmus e ciclagem de nutrientes, mas pela definição da estrutura física e de muitas outras funções, a vida do solo e os seus processos vitais são expressos e regulados por essa microbiota. A regulação sobre a decomposição de resíduos orgânicos, ciclagem de nutrientes, degradação de poluentes químicos e a sua forte influência sobre a estrutura do solo, faz com que os micro-organismos e os processos aos quais estão ligados sejam naturalmente

escolhidos como indicadores da saúde ou qualidade do solo (Kennedy, 1998). Análises microbiológicas constituem ferramentas importantes no monitoramento da poluição do solo. Com esta abordagem, é possível avaliar a alteração do solo sem a necessidade de recorrer a longos e dispendiosos experimentos de campo (Brookes, 1995). A contagem de bactérias e fungos é uma destas medidas e pode ser obtida diretamente por microscopia ou estimada por métodos indiretos. Neste último caso, é necessário que os propágulos existentes na amostra sejam capazes de formar colônias. Em todos os procedimentos de isolamento, os micro-organismos são coletados em condições naturais e colocados em condições artificiais (Jahnel et al., 1999).

O plaqueamento de diluições de solo (por exemplo, sobre agar-nutriente) pode ser usado para a enumeração de bactérias e fungos. Para este último, o uso deste método reflete o número de fragmentos fúngicos ou “unidades de propágulos”, que incluem esporos individuais e fragmentos de micélio, ou seja, é um método que estima o número total de propágulos fúngicos no solo (Wardle, 1994). De maneira geral, os processos de contagem indireta proporcionam condições de crescimento para bactérias zimógenas, ou seja, bactérias que apresentam metabolismo rápido quando na presença de matéria orgânica facilmente decomponível. Entretanto, pequenas alterações nas condições físico-químicas do solo afetam imediatamente os micro-organismos zimógenos (Jahnel et al., 1999). A contagem de unidades formadoras de colônias é feita a partir de uma suspensão de solo por meio de diluições em série, e cada diluição é transferida para o meio de cultura. No método do número mais provável (NMP), o crescimento em placas com meio de cultura mostra que pelo menos um propágulo com condições de crescimento foi transferido. Apesar de seletivo, o método de estimativa de unidades formadoras de colônias pelo número mais provável tem sido um instrumento bastante útil no estudo de micro-organismos do solo (Jahnel et al., 1999). Ainda segundo esses autores, o NMP de fungos e bactérias do solo foi realizado pelo método de plaqueamento por gotas e comparado com o



procedimento convencional de contagem de micro-organismos do solo em amostras de solo de diferentes texturas. Os autores observaram que o método de quantificação de bactérias e fungos em amostras de solo por plaqueamento de gotas proporcionou a obtenção de resultados semelhantes àqueles obtidos pelo procedimento tradicional, porém, com a vantagem de economia de reagentes e trabalho.

Métodos para estimar a atividade microbiana em solos da região semiárida são fundamentais no monitoramento ambiental e recuperação de áreas degradadas (Pereira et al., 2004). Estudos sobre o impacto de alterações ambientais nas populações microbianas e suas atividades têm sido referidos utilizando parâmetros como: número total de micro-organismos do solo (bactérias e fungos),

Os micro-organismos estão diretamente envolvidos nos ciclos dos nutrientes no solo e aliada à quantificação de bactérias e fungos totais, a avaliação de determinados grupos microbianos dá indicação de como os processos bioquímicos estão ocorrendo. Segundo Brookes (1995), a contagem de micro-organismos no solo, apesar de ser vista com ressalvas, ajuda a entender os processos que nele ocorrem e pode servir como indicador do impacto de diferentes atividades antrópicas. As bactérias e os fungos são responsáveis por cerca de 90% da atividade da biomassa microbiana (Siqueira, 1994). As bactérias do solo apresentam maior abundância e diversidade entre as espécies, encontradas no solo, com cerca de  $10^3$  a  $10^9$  organismos por grama de solo. Os fungos, principais contribuintes em peso para a biomassa microbiana do solo, são encontrados com comunidades variando de  $10^4$  a  $10^6$  organismos por grama de solo e podem ser responsabilizados por aproximadamente 70% da matéria seca (Brandão, 1992).

Silveira et al. (2006) verificaram que atividades antrópicas exercidas em área localizada em Itajubá-MG tiveram forte impacto negativo na microbiota do solo, reduzindo o número de bactérias, fungos, atividade e biomassa microbiana.

O objetivo deste trabalho foi avaliar e comparar o estado biológico de solos em áreas de caatinga nativa preservada e impactada por mineração de gesso nos períodos de amostragem (chuvoso e seco). Os micro-organismos estão presentes tanto no solo como na rizosfera, onde realizam atividades metabólicas relevantes para o crescimento das plantas. Estudo sobre a biota do solo como indicadores de bioatividade e das interferências no ambiente são importantes no cenário ecológico e precisam ser incentivados

## MATERIAL E MÉTODOS

**Áreas de estudo:** Foram selecionadas áreas de caatinga nativa e impactada por mineração de gipsita no município de Araripina, Pernambuco ( $7^{\circ} 29' 00''$  S,  $40^{\circ} 36' 00''$  W). A região apresenta clima Semiárido mesotérmico, a vegetação que predomina é caracterizada como caatinga hiperxerófila, sobre solo do tipo Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (Cavalcanti & Lopes, 1994).

**Coletas:** Foram realizadas coletas em quatro áreas da mineradora: 1 - caatinga nativa preservada (AN), considerada como controle; 2 - arredores da mina (AM); 3 - rejeito (AR); 4 - interface entre o depósito de rejeito e uma área de caatinga degradada pela mineração (AI), em dois períodos de amostragem: chuvoso com temperatura mensal entre  $34,0^{\circ}\text{C}$  (Máx.) e  $17,6^{\circ}\text{C}$  (Min.), umidade relativa de 22,2% (Min.) e precipitação de 28,7 mm (Média); e seco com temperatura mensal entre  $33,2^{\circ}\text{C}$  (Máx.) e  $17,3^{\circ}\text{C}$  (Min.), umidade relativa de 22,4% e precipitação de 1,3 mm (Média) (Fonte: Instituto Agrônomo de Pernambuco - IPA/Araripina-PE). Em cada área foram coletadas dez amostras compostas de solo (5 a 20 cm de profundidade) da rizosfera, sendo os pontos definidos aleatoriamente. Análises físicas e químicas do solo foram realizadas no IPA (**Tabela 1**).

### Determinação do Número Mais Provável (NMP) de Micro-organismos do Solo:

O NMP de bactéria, actinomicetos e fungos do solo foi determinado pelo método do plaqueamento por gotas, após diluição de amostras de solo em meios de cultura mantidos a  $45^{\circ}\text{C}$ , conforme Jahnle et al. (1999). Foram preparadas diluições para bactérias a partir de  $10^{-3}$  a  $10^{-7}$  e para actinomicetos e fungos a partir de  $10^{-2}$  a  $10^{-6}$ . Os meios utilizados foram: agar nutrientes para bactérias e actinomicetos e meio Martin para fungos totais. Utilizou-se 3 placas (cada com 5 gotas) por diluição, as placas com os meios inoculados foram incubadas em estufa a  $28^{\circ}\text{C}$  e avaliadas aos três dias para bactérias e aos sete dias para os fungos. A presença de unidades formadoras de colônias (UFC) foi verificada com o auxílio de estereomicroscópio. O crescimento em uma gota indica a presença de pelo menos um propágulo viável transferido para o meio de cultura. Estimou-se o NMP de micro-organismos do solo em cada uma das diluições com o auxílio da tabela de probabilidade de ocorrência (Cochran, 1950).

**Análises Estatística:** O número mais provável (NMP) de micro-organismos do solo (3



repetições/tratamento) foi submetido à análise de variância (ANOVA). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ) usando o programa Sanest (Zonta et al., 1984). Para análises, os valores do NMP de microorganismos foram transformados em  $\sqrt{(X+0,5)}$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância indicou interação entre áreas e períodos de amostragem para o NMP de fungos do solo ( $P < 0,0001$ ). Houve efeito isolado do fator área para o NMP de bactérias ( $P < 0,0002$ ) e de actinomicetos ( $P < 0,0001$ ).

Maior número de propágulos foi registrado na área de caatinga nativa, em relação às áreas impactadas (**Tabelas 2 e 3**). Maior ciclagem de matéria orgânica (Tomar et al., 1983) e/ou presença de resíduos orgânicos propiciando maior relação C/N (Eira, 1992) está favorecendo a população e a atividade de micro-organismos nesse ambiente. Nahas et al. (1994) verificaram que parâmetros químicos como pH, fósforo disponível e matéria orgânica estimularam a população de bactérias. A comunidade microbiana estaria com atividade metabólica reduzida por causa do forte impacto da atividade gesseira, o que contribuiu para elevar os níveis de pH nessas áreas (**Tabela 1**). Segundo Insam et al. (1996), solos impactados por ação antrópica estariam sob estresse, havendo menor eficiência de utilização do C, o que resulta em maior liberação de  $CO_2$  por unidade de substrato.

Em geral o NMP de fungos, bactérias e de actinomicetos foram maiores no solo de caatinga nativa preservada, possivelmente em virtude do maior fornecimento de matéria orgânica para a ciclagem de nutrientes em relação à área de rejeito. Em solos de mata nativa, as perdas de nutrientes são menores em relação aos impactados, em consequência da maior diversidade florística e microbiológica, melhor cobertura do solo durante o ano e maior imobilização no solo (Melloni et al., 2001).

## CONCLUSÕES

O impacto ambiental por atividade gesseira reduz o número de fungos e bactérias, em comparação com a área nativa, que apresenta maior atividade biológica.

Estudo sobre a biota do solo como indicadores de bioatividade e das interferências no ambiente são importantes no cenário ecológico e precisam ser incentivados.

## REFERÊNCIAS

BRANDÃO, E. M. Os componentes da comunidade microbiana do solo. In: CARDOSO, E. J. B. N., TSAI, S.

M., NEVES, M. C., Ed. Microbiologia do solo. Cap.1. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. p.1-15.

BROOKES, P. C. The use of microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy metals. *Biology Fertility of Soils*, 19:269-279, 1995.

CAVALCANTI, A. C. & LOPES, O. F. Condições edafoclimáticas da Chapada do Araripe e viabilidade de produção sustentável de culturas. Brasília: EMBRAPA - SPI, 1994. 42p.

COCHRAN, W. G. *Biometrics*, 6:105-116, 1950.

EIRA, A. F. Solubilização microbiana de fosfatos. In: CARDOSO, E. J. B. N., TSAI, S. M., NEVES, M. C. P., ed. Microbiologia do solo. Campinas: SBCS, 1992. p.243-255.

INSAM, H., HUTCHINSON, T. C. & REBER, H. H. Effects of heavy metal stress on the metabolic quotient of the soil microflora. *Soil Biology and Biochemistry*, 29:691-694, 1996.

JAHNEL, M. C., CARDOSO, J. B. N. & DIAS, C. T. S. Determinação do número mais provável de microorganismos do solo pelo método de plaqueamento por gotas. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 23:553-559, 1999.

KENNEDY, A. C. Bacterial diversity in agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 74:65-76, 1998.

LYNCH, J. M. & BRAGG, E. Microorganism and soil aggregate stability. *Advances in Soil Science*, 2:133-171, 1985.

MELLONI, R., PEREIRA, E. G., TRANNIN, I. C. B., SANTOS, D. R., MOREIRA, F. M. S. & SIQUEIRA, J. O. Características biológicas de solos sob mata ciliar e campo cerrado no Sul de Minas Gerais. *Ciência e Agrotecnologia*, 25:7-13, 2001.

NAHAS, E., CENTURION, J. F. & ASSIS, L. C. Efeito das características químicas dos solos sobre os microorganismos solubilizadores de fosfato e produtores de fosfatases. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 18:49-53, 1994.

PEREIRA, S. V., MARTINEZ, C. R., PORTO, E. R., OLIVEIRA, B. R. B. & MAIA, L. C. Atividade microbiana em solo do semi-árido sob cultivo de *Atriplex nummularia*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 39: 757-762, 2004.

SILVEIRA, R. B., MELLONI, R. & MELLONI, E. G. P. Atributos microbiológicos e bioquímicos como indicadores da recuperação de áreas degradadas em Itajubá/MG. *Cerne*, 12:48-55, 2006.

SIQUEIRA, J. O., MOREIRA, F. M. S., GRISI, B. M., HUNGRIA, M. & ARAUJO, R. S. Microorganismos e processos biológicos do solo: perspectiva ambiental. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. 142 p.



TOMAR, N. K., KHANNA, S. S. & GUPTA, A. P. Evaluation of Mussorie rock phosphate for wheat. *Indian Journal of Agricultural Science*, 53:330-336, 1983.

WARDLE, D. A. 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-SPI, 1994. p.419-436.

WHITMAN, W. B., COLEMAN, D. C. & WIEBE, W. J. Prokaryotes: the unseen majority. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.*, 95:6578-6583, 1998.

ZONTA, E. P., MACHADO, A. A. & SILVEIRA JÚNIOR, P. Sistema de análise estatística para microcomputadores (SANEST). Pelotas: Departamento



**Tabela 1** - Características químicas e físicas do solo coletado em quatro subáreas da mineradora de gipsita, em Araripina, PE.

Subáreas	pH	P	C	Ca	Mg	K	SO <sub>4</sub>	CO <sub>3</sub>	HCO <sub>3</sub>	Análise Textural (%)			MO	Fe	Dap	Dr	UR	PMP	Classe textural
										Ar	Arg	S							
Período Chuvoso																			
AN	6,28	5	1,16	5,90	1,30	0,43	P	0,20	1,80	67	8	25	2,00	12,7	1,44	2,50	1,25	4,5	Franco arenoso
AI	5,72	11	1,27	20,0	9,30	0,46	P	0,20	0,80	26	45	29	2,19	52,5	1,21	2,55	6,90	20,5	Argiloso
AM	7,64	54	1,34	40,5	6,25	0,19	FP	0,40	1,60	22	39	39	2,31	0,9	1,20	2,31	8,65	24,9	Franco argiloso
AR	7,65	42	0,72	68,0	9,75	0,34	FP	0,20	1,20	27	6	67	1,24	0,4	1,28	2,58	7,00	18,1	Franco siltoso
Período Seco																			
AN	6,43	8	1,20	6,2	1,15	0,36	P	0,80	5,60	74	8	18	2,07	13,7	1,34	2,59	0,40	4,7	Franco arenoso
AI	5,72	14	1,30	36,2	11,25	0,62	FP	0,00	0,80	14	59	27	2,24	79,8	1,13	2,44	8,60	30,6	Argiloso
AM	7,52	161	1,33	45,4	3,10	0,40	FP	0,00	1,60	22	47	31	2,29	0,7	1,10	2,36	6,80	26,9	Franco argiloso
AR	7,56	32	0,65	61,7	1,65	0,46	FP	0,20	2,40	37	28	35	1,12	0,2	1,22	2,46	6,55	8,3	Franco Siltoso

(AN) = Caatinga nativa preservada; (AM) = arredores da mina; (AR) = rejeito e (AI) = interface entre o depósito de rejeito e uma área de caatinga degradada pela mineração. P = Presença, FP = Forte presença. Ar = Areia, Arg=Argila, S=Silte

**Tabela 2** - Número mais provável de propágulos de fungos em amostras de solos de caatinga nativa e impactada por mineração de gipsita, em dois períodos de coleta.

ÁREAS <sup>3</sup>	PERÍODO CHUVOSO <sup>1</sup>	PERÍODO SECO <sup>1</sup>
	(U.F.C g <sup>-1</sup> solo) <sup>2</sup>	
AN	1,2 x 10 <sup>5</sup> bA	5,9 x 10 <sup>5</sup> aA
AI	0,7 x 10 <sup>5</sup> aA	0,0 bB
AM	0,3 x 10 <sup>5</sup> aA	0,0 aB
AR	0,5 x 10 <sup>5</sup> aA	0,4 x 10 <sup>5</sup> aB
CV(%) = 19		

<sup>1</sup>Médias seguidas da mesma letra minúscula, na linha, ou maiúscula, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (P<0,05) (n=3). <sup>2</sup>Médias originais, porém para a análise de variância foram transformadas em  $\sqrt{(X+0,5)}$ . <sup>3</sup>(AN) = Caatinga nativa preservada; (AM) = arredores da mina; (AR) = rejeito e (AI) = interface entre o depósito de rejeito e uma área de caatinga degradada pela mineração

**Tabela 3** - Número mais provável de propágulos de bactérias e actinomicetos em amostras de solos de caatinga nativa e impactada por mineração de gipsita, independentemente do período de coleta.

ÁREAS <sup>3</sup>	BACTÉRIAS <sup>1</sup>	ACTINOMICETOS <sup>1</sup>
	(U.F.C g <sup>-1</sup> solo) <sup>2</sup>	
AN	3,1 x	25,8 x
AI	0,8 x 10 <sup>5</sup> b	1,4 x 10 <sup>5</sup> b
AM	0,7 x 10 <sup>5</sup> b	0,3 x 10 <sup>5</sup> b
AR	0,4 x 10 <sup>5</sup> b	0,3 x 10 <sup>5</sup> b
	CV(%) = 21	CV(%) = 35

<sup>1</sup>Médias seguidas da mesma letra, minúscula, na coluna, não difere significativamente entre si pelo teste de Tukey (P<0,05) (n=3). <sup>2</sup>Médias originais, porém para a análise de variância foram transformadas em  $\sqrt{(X+0,5)}$ . <sup>3</sup>(AN) = Caatinga nativa preservada; (AM) = arredores da mina; (AR) = rejeito e (AI) = interface entre o depósito de rejeito e uma área de caatinga degradada pela mineração.