



Bioindicadores de qualidade do solo em área degradada pela extração de piçarra na Caatinga, RN⁽¹⁾.

Khadija Dantas Rocha de Lima⁽²⁾; Iohann Soares de Souza Lima⁽³⁾; Marcelo Antoniol Fontes⁽⁴⁾; Guilherme Montandon Chaer⁽⁵⁾; Eduardo Francia Carneiro Campello⁽⁵⁾; Alexander Silva de Resende⁽⁶⁾.

⁽¹⁾ Trabalho executado com recursos do projeto CNPq processo 304271/2011

⁽²⁾ Engenheira Agrônoma, mestre em Ciência do Solo, pela UFRSA, e estudante de Doutorado do Curso de Pós-Graduação em Agronomia-Ciência do Solo da UFRRJ, Seropédica-RJ, Brasil. E-mail: khadijadantas@hotmail.com; ⁽³⁾ Estudante de Engenharia Florestal da UFRRJ, Seropédica-RJ, Brasil. E-mail: iohannlima@gmail.com; ⁽⁴⁾ Analista A da Embrapa Agrobiologia, Seropédica-RJ, Brasil. E-mail: marcelo.fontes@embrapa.br; ^(5 e 6) Pesquisador da Embrapa Agrobiologia, Seropédica-RJ, Brasil. E-mails: guilherme.chaer@embrapa.br; eduardo.campello@embrapa.br; alexander.resende@embrapa.br.

RESUMO: O objetivo desse trabalho foi avaliar alterações na qualidade microbiológica de substratos degradados, pela extração de piçarra, promovidas pela aplicação de solo superficial e plantio de espécies arbóreas fixadoras e não-fixadoras de nitrogênio, como alternativas para a recuperação dessas áreas. O experimento foi montado em blocos ao acaso, esquematizado em parcelas subdivididas com quatro repetições (jazidas). A parcela experimental foi caracterizada pela adição ou não de solo superficial e a subparcela pelo plantio de fixadoras e não fixadoras de nitrogênio. Outros dois tratamentos foram utilizados como testemunha positiva (mata nativa) e negativa (área degradada), para efeito de comparação dos resultados, totalizando seis tratamentos por bloco. Foram analisados a atividade de hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA), a atividade respiratória da biomassa microbiana (Resp-B) e o carbono da biomassa microbiana (CBM), como indicadores microbiológicos de qualidade do solo. Foi observada alta interação entre os valores de FDA, Resp-B e CBM. Os três apresentaram boa sensibilidade para representar os efeitos dos tratamentos testados no experimento. O teste de Bonferroni ao nível de 10 % de probabilidade mostrou diferença significativa entre o tratamento CS/CF e o tratamento SS/SF, que não diferiu da testemunha. Pode-se concluir que os tratamentos com adição de solo superficial apresentaram maior eficiência no processo de recuperação das áreas de jazidas e o tratamento sem adição de solo superficial e plantio de não fixadoras de nitrogênio apresentou menor eficiência na recuperação das áreas estudadas.

Termos de indexação: recuperação de áreas degradadas, indicadores microbiológicos de qualidade do solo, fixadoras de nitrogênio.

INTRODUÇÃO

Uma das principais atividades econômicas do estado do Rio Grande do Norte é a produção de petróleo em terra firme, a qual vem provocando impacto ambiental pontual, devido à extração de piçarra, material mineral proveniente do subsolo, composto principalmente por silte, areia e cascalhos, demandada para a construção de acessos e bases para instalação das estruturas de exploração e produção de petróleo e gás natural.

Durante o processo de extração da piçarra, são retirados o horizonte A, rico em propágulos, matéria orgânica e material genético, e o horizonte B, restando apenas um substrato, composto geralmente pelo horizonte C do solo. Por esse motivo há drástica redução na capacidade de resiliência do ecossistema, que associado às características climáticas locais, torna essencial a interferência antrópica no processo de recuperação dessas áreas. Ao final da atividade de mineração, a área deve passar por um processo de recuperação buscando o retorno do sítio degradado a uma forma de utilização, de acordo com um plano pré-estabelecido para o uso do solo, visando a obtenção de uma estabilidade do meio ambiente (Brasil, 1989).

A avaliação da estabilidade do ecossistema, em processo de recuperação, e da eficiência dos tratamentos utilizados na recuperação de áreas degradadas podem ser obtidas através da avaliação da qualidade do solo (Longo et al., 2011). Dentre os indicadores de qualidade do solo, os microbiológicos apresentam maior sensibilidade aos impactos causados pelo manejo do solo, quando comparados aos indicadores de caráter físico e químico, que possuem maior tamponamento no solo (Chaer & Tótiola, 2007).

O monitoramento dos atributos microbiológicos de áreas degradadas em processo de recuperação, através da avaliação de indicadores, como: hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA); carbono da biomassa microbiana (CBM) e atividade respiratória da biomassa microbiana (Resp-B) pode ser indicado como alternativa para testar a eficiência dos



tratamentos utilizados na recuperação de áreas degradadas pela exploração de piçarra na Caatinga, RN.

Este trabalho teve como objetivo avaliar alterações na qualidade microbiológica de substratos degradados, pela extração de piçarra, promovidas pela aplicação de solo superficial (*topsoil*) e plantio de espécies arbóreas fixadoras e não-fixadoras de nitrogênio, como alternativas para a recuperação dessas áreas.

MATERIAL E MÉTODOS

Em março de 2008 foram instalados ensaios em quatro jazidas de piçarra, com lavras exauridas, situadas na área de atuação da Unidade de Operações de Exploração e Produção do Rio Grande do Norte e Ceará (UO-RNCE; Petrobras S.A.), sendo três localizadas no município de Pendências (jazidas SJ-155 (UTM 24M 9414244,59E/755907,98S), AJ-111-1 (UTM 24M 9418027,14E/768278,6S) e ZJ-111-2 (UTM 24M 9418219,06E/768376,11S)), e uma no município de Areia Branca [FJ-072 (UTM 24M 9446114,32E/719250,65S)], todas no Estado do Rio Grande do Norte (mesorregião Oeste Potiguar).

O clima da região, pelo sistema de Thornthwaite, é semiárido, e de acordo com a classificação de Köppen é do tipo BSw^h, portanto, seco e muito quente, com duas estações climáticas: uma seca, que vai geralmente de junho a janeiro e outra chuvosa (fevereiro a maio) (Carmo Filho et al., 1991).

O experimento foi instalado, com delineamento em blocos ao acaso, esquematizado em parcelas subdivididas (*splitplot design*), com quatro repetições. Em cada bloco experimental foram delimitadas duas parcelas de 20 m x 40 m, sendo aplicado em apenas uma delas uma camada de 20 cm de solo superficial (*topsoil*).

Em cada parcela (com ou sem *topsoil*) foram plantadas 10 mudas de leguminosas arbóreas nodulantes (fixadoras de nitrogênio) e 10 mudas de espécies não-nodulantes (não-fixadoras de nitrogênio). As espécies leguminosas nodulantes foram inoculadas, ainda na fase de produção das mudas em viveiro, com estirpes de rizóbios e propágulos de FMA, conforme recomendações de Resende et al. (2010) e Faria et al. (2010). Todos os inoculantes foram produzidos e fornecidos pela Embrapa Agrobiologia, localizada em Seropédica, RJ. As espécies arbóreas não-nodulantes foram inoculadas apenas com fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Para contrastar o desenvolvimento das 10 espécies nodulantes em relação às 10 espécies não-nodulantes, estes dois

grupos foram separados espacialmente em subparcelas, assim cada espécie foi disposta em uma única linha de plantio, contendo 10 plantas por linha em cada subparcela experimental. O espaçamento de plantio foi de 2 m x 2 m. Foi feita uma adubação em todas as covas, no momento do plantio com: 40 g de superfosfato simples e 10 g de FTE BR-15 por cova.

Em setembro de 2014 (6,6 anos após a implantação do experimento) foi realizada uma coleta de amostras de solo. A amostragem foi feita nas quatro subparcelas de cada jazida retirando-se de cada uma delas uma amostra composta por 18 amostras simples da camada de 0 a 5 cm de solo. Nas duas áreas testemunhas retirou-se 10 amostras simples na profundidade de 0 a 5 cm, para formação de amostras compostas. Foram obtidas, portanto, de cada jazida, seis amostras compostas de solo, totalizando 24 amostras.

Análises dos indicadores biológicos de qualidade do solo

A hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA) foi determinada pelo método de Schuner & Rosswall (1982). As atividades de fosfatase ácida e β -glicosidase foram realizadas conforme metodologia proposta por Tabatabai (1994) com algumas modificações. Para cada uma das análises meio grama de solo de cada amostra foi pesado em triplicata em tubos de ensaio, sendo dois tubos incubados com 2 mL de p-nitrofenil fosfato em tampão MUB mM pH 6,5 (fosfatase) ou 2 mL de p-nitrofenil β -D-glicopiranosídeo em tampão acetato 50 mM pH 5,5 (β -glicosidase). O terceiro tubo foi usado como controle e incubado com 2 mL do respectivo tampão sem a presença de substrato. Após 1 h de incubação a 37° C, adicionou-se 0,5 mL de CaCl₂ 0,5 M e paralisou-se a reação com 2 mL de NaOH 0,5 M (fosfatase) ou solução Tris 0,1 M pH 12 (β -glucosidase). Após centrifugação das amostras a 6000 rpm por 5 min, o p-nitrofenol liberado na reação foi quantificado em espectrofotômetro a 410 nm e os resultados expressos em $\mu\text{mol p-nitrofenol.gss}^{-1}.\text{h}^{-1}$, obtidos a partir do cálculo do conteúdo de p-nitrofenol nas amostras de solo tendo como referência uma curva padrão de p-nitrofenol.

O carbono da biomassa microbiana (CBM) foi determinado pelo método proposto por Vance et al. (1987), com determinação por colorimetria (Bartlett & Ross, 1988).

A atividade respiratória da biomassa microbiana, ou respiração basal do solo, foi avaliada pela quantificação do CO₂ liberado durante incubação do solo em sistema fechado, onde o CO₂ é capturado



em solução de NaOH e posteriormente titulado com HCl (Isemeyer, 1952).

Análise estatística

Os resultados foram analisados quanto à normalidade e homogeneidade dos dados através dos testes de Lilliefors e Cochran, respectivamente. A seguir foram submetidos à análise de variância com aplicação do teste F e os valores médios dos tratamentos testados e dos tratamentos testemunhas adicionais foram comparados entre si pelo teste t de Bonferroni a 10%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao observar os resultados apresentados na **tabela 1** pode-se afirmar que houve uma relação positiva entre a atividade de FDA, a Resp-B e o CBM. Relações positivas entre a atividade enzimática, o conteúdo do CBM e a atividade respiratória da biomassa, também foram verificadas em outros trabalhos (Frakenberger & Dick, 1983; Alef & Nannipiere, 1995; Batista et al., 2008).

Tabela 1- Valores de hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA), atividade respiratória da biomassa microbiana (Resp-B) e carbono da biomassa microbiana (CBM), nas diferentes unidades de estudo (UEs), localizadas no Rio Grande do Norte.

Tratamentos	FDA µg Fluoresc.g ⁻¹ .h ⁻¹	Resp.B mg CO ₂ .kg ⁻¹ .d ⁻¹	CBM mg.kg ⁻¹
Testemunha+	47,92 ab	5,967 ab	185,03 ab
Testemunha-	1,01 c	0,769 b	120,45 c
CS/CF	51,77 a	9,811 a	202,14 a
CS/SF	39,30 ab	7,807 a	176,45 abc
SS/CF	24,16 bc	5,305 ab	137,70 bc
SS/SF	2,59 c	1,884 b	121,62 c

¹Médias de quatro repetições. Valores com a mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste t de Bonferroni a 10%.

²Legenda: Testemunha (+) Área com vegetação nativa (Caatinga); Testemunha (-) Sem adição de solo superficial e sem plantio de espécies arbóreas; CS/CF – Com adição de solo superficial e plantio de fixadoras de nitrogênio; CS/SF – Com adição de solo superficial e plantio de não fixadoras de nitrogênio; SS/CF – Sem adição de solo superficial e plantio de fixadoras de nitrogênio e SS/SF - Sem adição de solo superficial e plantio de não fixadoras de nitrogênio.

Os valores de FDA, Resp-B e CBM verificados no tratamento SS/SF e na testemunha (-) (área degradada) foram significativamente inferiores aos observados no tratamento CS/CF, este por sua vez não diferiu significativamente da testemunha (+) e do tratamento CS/SF. Os indicadores microbiológicos utilizados para avaliar a eficiência dos tratamentos, testados como alternativas para a recuperação das jazidas degradadas pela exploração de piçarra foram sensíveis e representaram de forma clara as alterações

promovidas nas parcelas experimentais. Silva et al. (2009) testando o efeito de diferentes alternativas de reflorestamento, através da avaliação dos atributos físicos, químicos e microbiológicos, concluíram que os indicadores microbiológicos foram mais sensíveis em detectar o efeito dos diferentes técnicas de reflorestamentos na qualidade do solo.

A hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA) mede a atividade específica de proteases, lipases e esterases que são capazes de hidrolizar o diacetato de fluoresceína (FDA). Esta atividade hidrolítica pode ser catalisada por bactérias, fungos, algas e protozoários, especialmente, na superfície do solo (Pereira et al., 2000). Tendo em vista que a biomassa microbiana é considerada a parte viva da matéria orgânica do solo, sendo composta por fungos, bactérias, actinomicetos, algas, protozoários e microfauna (Jenkinson & Ladd, 1981), pode-se afirmar que quanto maiores forem os valores de CBM, maiores serão os valores de atividade de FDA e conseqüentemente maiores serão os valores de respiração do solo.

Batista et al. (2008) ao avaliarem a atividade de FDA em áreas de extração de argila recuperadas com plantios puros e consorciados de *Mimosa caesalpinifolia* e quatro espécies de eucaliptos, observaram maior atividade de FDA nos tratamentos com plantio puro de *M. caesalpinifolia* e consorciado, dessa leguminosa, com três das quatro espécies de eucaliptos testadas. Corroborando com o resultado encontrado nesse trabalho, onde os maiores valores de FDA foram encontrados no tratamento CS/CF, o tratamento SS/CF apesar de ter apresentado valores de FDA inferiores ao encontrado no tratamento CS/CF, não diferiu significativamente da testemunha (+).

De modo geral a adição de solo superficial na parcela e o plantio de espécies arbóreas fixadoras de nitrogênio, na subparcela, permitiram uma rápida recuperação das áreas degradadas pela extração de piçarra, haja visto que não observou-se diferenças significativas nos valores de FDA, Resp-B e CBM nos tratamentos CS/CF, CS/SF e SS/CF, quando comparados à testemunha (+).

Dentre os tratamentos testados, o SS/SF, mostrou-se menos eficiente para garantir melhorias na qualidade do solo das jazidas em processo de sucessão, pois apresentou valores significativamente menores de FDA, Resp-B e CBM em relação à testemunha (+), não diferindo estatisticamente da testemunha (-), área degradada que não passou por processo de recuperação.

CONCLUSÕES



Os indicadores microbiológicos de qualidade do solo avaliados nesse trabalho foram sensíveis para demonstrar a eficiência dos tratamentos testados para a recuperação das jazidas estudadas.

Houve uma relação positiva entre a atividade de FDA, a Resp-B e o CBM, observados nos diferentes tratamentos.

A adição de solo superficial e o plantio de leguminosas nodulantes (fixadoras de nitrogênio) garantiram valores de FDA, de Resp-B e do CBM, mais próximos aos verificados na área de mata nativa (testemunha +).

O tratamento sem adição de solo superficial e com plantio de espécies arbóreas não-fixadoras de nitrogênio (SS/SF) não diferiu da testemunha (-), mostrando-se ineficiente para garantir melhorias na qualidade do solo em processo de recuperação.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Capes pela concessão de bolsa à primeira autora, aos técnicos Cid Rodrigo Cavalcanti de Azevedo e Carlos Fernando da Cunha pelo auxílio durante as coletas do experimento.

REFERÊNCIAS

ALEF, K. & NANNIPIERI, P. *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*. 1 ed. Londres: Academic Press, 1995. 576p.

BARTLETT, R. J. & ROSS, S. D. Colorimetric determination of oxidizable carbon in acid soil solutions. *Soil Science Society of America Journal*, 52: 1191-1192, 1988.

BATISTA, Q. R et al. Bioqualidade de área degradada pela extração de Argila, revegetada com *Eucalyptus* spp. e sabiá. *Mossoró, Revista Caatinga*. 21: 169 -178, 2008.

BRASIL. Decreto nº 97.632, de 10 de Abril de 1989. Disponível em: <<http://www.jusbrasil.com.br/topicos/11926352/artigo-1-do-decreto-n-97632-de-10-de-abril-de-1989>>. Acesso em: 20 maio. 2015.

CARMO FILHO, F. et al. Dados climatológicos de Mossoró: um município semi-árido nordestino. Mossoró: UFERSA, 1991. 121 p. (Coleção Mossoroense, C.30).

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

FARIA, S. M. et al. Evaluating the nodulation status of leguminous species from the Amazonian forest of Brazil. *Journal of Experimental Botany*, 61: 3119-3127, 2010.

FRANKENBERGER, W. T. & DICK, W.A. Relationships between enzyme activities and microbial growth and activity indices in soil. *Soil Science Society American Journal*, 47: 945-951, 1983.

ISEMEYER, H. Eine einfache Methode zur Bestimmung der Bodenatmung und der Karbonate im Boden. *Z. Pflanzenernaehr. Bodenk.*, 56: 26-38. 1952.

JENKINSON, D. S. & LADD, J.N. Microbial biomass in soil: measurement and turnover. In: PAUL, E. A.; LADD, J. N. (Eds.) *Soil biochemistry*. New York: Marcel Dekker, 1981, p. 415-471.

LONGO, M. R. et al. Recuperação de solos degradados na exploração mineral de cassiterita: biomassa microbiana e atividade da desidrogenase. *Bragantia*, 70: 132-138, 2011.

PEREIRA, J.C. D et al. Características da madeira de algumas espécies de eucalipto plantadas no Brasil. Colombo: Embrapa Florestas. 113 p., 2000.

RESENDE, A. S. et al. Produção e qualidade de mudas de espécies florestais. IN: RESENDE, A. S. & CHAER, G. M. *Manual para recuperação de áreas degradadas por extração de piçarra na Caatinga*. 1 ed. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2010. 23-24.

SCHUNER, J. & ROSSWALL, T. Fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of total microbial activity in soil and litter. *Applied and Environmental Microbiology* Washington, 43: 1256 -1261, 1982.

SILVA, L. G. da et al. Atributos físicos, químicos e biológicos de um Latossolo de cerrado em plantio de espécies florestais. *Pesquisa agropecuária brasileira*, 44: 613-620, 2009.

TABATABAI, A. Soil enzymes. In: WAVER, R. W.; ANGLE, J. S. & BOTTOMLEY, P. S. (Eds). *Methods of soil analyses*. Part 2. Microbiological and Biochemical Properties, 2 ed. Madison, USA: Soil Science Society of America, p.775 - 833, 1994.

VANCE, E. D.; et al. An extraction method for measuring soil microbial biomass-C. *Soil Biology & Biochemistry*, 19: 703-707, 1987.

