



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**  
**INSTITUTO DE BIOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E**  
**BIOMONITORAMENTO**

**ALESSANDRA ARGÔLO DO ESPÍRITO SANTO**

**INFLUÊNCIA DA POLUIÇÃO ATMOSFÉRICA E**  
**VARIÁVEIS AMBIENTAIS NO COMPORTAMENTO DE**  
**BIOINDICADORES DE SOLO NO ENTORNO DE UMA**  
**METALÚRGICA DE COBRE NA BAHIA.**

Salvador  
2004

**ALESSANDRA ARGÔLO DO ESPÍRITO SANTO**

**INFLUÊNCIA DA POLUIÇÃO ATMOSFÉRICA E  
VARIÁVEIS AMBIENTAIS NO COMPORTAMENTO DE  
BIOINDICADORES DE SOLO NO ENTORNO DE UMA  
METALÚRGICA DE COBRE NA BAHIA.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ecologia e Biomonitoramento, Instituto de Biologia, Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para obtenção do grau de **Magister Scientiae** em Ecologia e Biomonitoramento.

Orientador: Profa. Dra. Josanídia Santana Lima

Co-Orientador: Prof. Dr. Aristóteles Góes Neto

Salvador

2004

Aos meus filhos, Thiago e Giovana,  
pelo amor que me reservam  
e pela imensa alegria que trazem à minha vida,  
DEDICO.

“Meu objetivo é ensinar minhas aspirações a se conformarem com os fatos,  
em vez de tentar fazer com que os fatos se harmonizem com elas”.

THOMAS HUXLEY

## **AGRADECIMENTOS**

---

À FAPESB pela bolsa concedida e pelo suporte financeiro para o desenvolvimento da pesquisa.

À FINEP, que através do LAVIET e da REDE REVIVER, financiou a pesquisa, bem como proporcionou a infra-estrutura necessária ao desenvolvimento da mesma.

Aos meus filhos, Thiago e Giovana, e ao meu marido, Gilson Correia de Carvalho, por encherem a minha vida de alegria e por aceitarem minha ausência... Amo Vocês.

À minha família, em especial aos meus Pais (Aidê e Marcelo) e irmãos (Marcelinho, Ricardo e Laureen), pelo amor e incentivo constantes.

À minha orientadora e amiga, professora Dra. Josanídia S. Lima, pelo aprendizado que sua convivência me proporciona e pelas inúmeras oportunidades de crescimento profissional. Muito obrigada!

À D. Thereza, Sr. Manuel, D. Marina. Sem o apoio de vocês esse trabalho seria impossível. Muito obrigada.

À minha amiga e comadre Lídice Almeida Arlego Paraguassú. Sua amizade e apoio são fundamentais na minha vida.

À amiga de longas datas Maíse Silva. Apesar de distante seu carinho e apoio se fazem sempre presentes.

À Sildia Santos Gomes pela amizade sincera e ombro amigo nos momentos de crise.

Aos meus novos amigos e companheiros de “culto” Cíntia Levita e Celso Barreto. A amizade de vocês torna a minha vida mais feliz.

Ao mestrando Gilson Correia de Carvalho pelo tratamento estatístico dos dados e por me iniciar na indispensável estatística.

À mestranda Carla Regina pela amizade, convivência e oportunidades. Valeu Carlinha.

Ao grupo LAVIET: Ao químico Ariomar de Castro Aguiar, pelo apoio no laboratório (fundamental) e pela revisão do manuscrito (você é dez!); Reinildo pelo apoio nas coletas; Carlos Júnior pelo apoio nas coletas e pelas fotografias; À mestranda Sildia Santos Gomes pelo apoio no laboratório e nas coletas; À mestranda Maria Betânia Figueiredo pelo apoio no laboratório, coletas e principalmente pelo apoio na implantação de metodologias; À graduanda Bianca Grisi pela dedicação, presteza e pelo apoio nas análises laboratoriais; Aos demais membros do grupo (Dália, Fabiana, Alice, Roza, Hêmyle, Bernadete, Márcia, Zafira, Jacira, Joselli e André) pelos inúmeros momentos de descontração e de boa convivência. A convivência com vocês me ensina e me gratifica! Obrigada!

Ao professor Dr. Aristóteles Góes Neto, meu co-orientador, pelas valiosas considerações feitas ao trabalho.

Ao professor Dr. Milton Ricardo de Abreu Roque, pelo aceite em participar da banca e pelas sugestões feitas tanto a este trabalho quanto de continuidade da pesquisa.

Ao coordenador do Programa de Pós-graduação em Ecologia e Biomonitoramento, Prof. Dr. Pedro Rocha, pela contribuição dada à minha formação profissional e pelo exemplo de competência e dedicação.

À Jussara Neves, secretária do mestrado, pela simpatia e disposição nas inúmeras vezes que me ajudou. Muito obrigada, Jú.

À CARAÍBA METAIS, na figura do geólogo Msc. Péricles Júnior, pela disponibilização de dados e de bibliografia sobre a área e pelas contribuições dadas ao manuscrito.

À Bernadete Marcello pela revisão do abstract.

Aos meus colegas de mestrado, em especial: Jiancarlo, Tatiana, Camila, Lander, Fábio e Agaci pela agradável convivência.

À Rosemário Souza, Instituto de Química da UFBA, pelo apoio e pela presteza com que sempre me atendeu nos meus inúmeros pedidos. Muito obrigada.

À CETREL pela concessão dos dados meteorológicos.

**À todos aqueles que, direta ou indiretamente, colaboraram para a realização deste trabalho.**

**MUITO OBRIGADA!**

## RESUMO

A poluição atmosférica proveniente das indústrias localizadas no Pólo Petroquímico de Camaçari, Bahia, tem alterado a vegetação, o solo e a função microbiana do mesmo. Este trabalho objetivou determinar na microbiota do solo os efeitos de poluentes (metais pesados e enxofre) e variáveis ambientais. Foram analisados indicadores de biomassa microbiana (carbono da biomassa microbiana e quociente microbiano) e indicadores de atividade (respiração basal, atividade da desidrogenase e arilsulfatase). As amostras de solo foram coletadas em nove estações. Cada estação contou com 5 repetições de 10 cm de profundidade, situadas a crescentes distâncias (1000, 1700, 2500, 3500, 4500, 5500, 6000, 7000, 8800 m) da principal fonte emissora (metalúrgica de cobre). Os resultados revelaram que o aumento da distância da fonte poluidora esteve correlacionado com o decréscimo da concentração de cobre no solo. A respiração basal e atividade da desidrogenase e arilsulfatase tiveram sua atividade reduzida nas estações mais próximas à fonte emissora (impactadas), ao contrário dos bioindicadores de biomassa que tiveram seus teores elevados. Os resultados sugerem a substituição na comunidade microbiana das espécies sensíveis por espécies menos sensíveis, resultando no aumento de abundância de algumas espécies (mais adaptadas à poluição). Os bioindicadores de atividade microbiana foram influenciados de maneira significativa pelos poluentes, enquanto os bioindicadores de biomassa não tiveram relação significativa nem com as variáveis ambientais nem com os poluentes determinados neste estudo. A respiração basal e a atividade da arilsulfatase foram os bioindicadores que melhor informaram o impacto encontrado na área, diminuindo sua atividade em direção às estações mais impactadas e se correlacionando de maneira negativa com os poluentes (Pb, Cu, Al, Cr, Cd e enxofre).

**Palavras-chave:** Bioindicação; poluição do ar; microbiologia de solo; metais pesados.

## ABSTRACT

Long-term industrial air pollution produced by the Petrochemical Complex of Camaçari, federal state of Bahia, has altered vegetation and soil, and therefore, soil microbial function. This study aims mainly to determine the effect of contaminant concentrations (such as heavy metals and sulfur) and environmental variables (such as moisture, granulometry, macro and micronutrients and others) on soil microbial variables: biomass indicators (microbial biomass and microbial quotient) and activity indicators (basal respiration, dehydrogenase and arylsulfatase activities). Soil samples were collected from nine sites (five 10cm deep cores each) located at increasing distances (1000, 1700, 2500, 3500, 4500, 5500, 6000, 7000, 8800 m) from the copper smelter in Camaçari, Bahia. Results suggest that increasing distance from the pollution source did correlate well with decreasing copper concentrations. The basal respiration, dehydrogenase and arylsulfatase activities reduced on the sites next to the source pollution. On the other hand, biomass bioindicators increased on the sites next to the source, suggesting a shift within the soil microbial community from sensitive microorganisms to less sensitive ones, resulting in an increase in the abundance of some species (more adapted to pollution). Microbial activity bioindicators have been significantly influenced by pollutant variables. Biomass indicators had no significant relation either with the environmental variables or with the pollutant variables determined in this study. The basal respiration and arylsulfatase activity have been the bioindicators which best reflect the impact found in the area, decreasing their activities towards the more polluted sites and also correlating in a negative way with the pollutants (Pb, Cu, Al, Cr, Cd and sulfur).

**Key-words:** Bioindication, air pollution, soil microbiology, heavy metals.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Localização da área de estudo e do desenho amostral.....	46
Figura 2. Processos erosivos observados na área estudada.....	47
Figura 3. Médias mensais da Precipitação pluviométrica Registrada pela Rede de Monitoramento do Ar da CETREL S.A, Estação Lamarão, nos anos de 2002 e 2003.....	48
Figura 4. Aspecto de um dos tipos de solo encontrados na área de estudo, mostrando a camada superficial coberta por cascalhos ferruginosos.....	49
Figura 5. Estação localizada em área de vegetação em estágio inicial de regeneração.....	51
Figura 6. Estação localizada em área de pastagem.....	51
Figura 7. Direção predominante do vento para o ano de 2002. Dados provenientes da Estação de monitoramento do ar da CETREL, localizada em Camaçari.....	70
Figura 8. Direção predominante do vento para o ano de 2003. Dados provenientes da Estação de monitoramento do ar da CETREL, localizada em Camaçari.....	70
Figura 9. Resultado da análise de regressão não-linear realizada entre as distâncias e o pH nos períodos seco (A) e chuvoso (B).....	74
Figura 10. Resultado da análise de regressão não-linear realizada entre as distâncias e o teor de matéria orgânica nos períodos seco (A) e chuvoso (B). .....	77
Figura 11. Resultado da análise de regressão não-linear realizada entre as distâncias e a soma de bases nos períodos seco (A) e chuvoso (B).....	79
Figura 12. Resultado da análise de regressão não-linear realizada entre as distâncias e o teor de sulfato dos solos coletados nos períodos seco (A) e chuvoso (B).....	81
Figura 13. Comparação de médias das variáveis associadas à poluição atmosférica nos períodos seco e chuvoso, realizada pela MANOVA One-way. .....	84
Figura 14. Resultado da análise de regressão não-linear realizada entre as distâncias e o teor de cobre dos solos coletados nos períodos seco (A) e chuvoso (B).....	89

- Figura 15. Variação do carbono da biomassa microbiana (CBM) nos solos coletados a diferentes distâncias da fonte emissora. Os pontos no gráfico correspondem a média de cinco amostras..... 95
- Figura 16. Flutuação do quociente microbiano no solo coletado a diferentes distâncias da principal fonte emissora. Os pontos no gráfico correspondem a média de cinco amostras..... 97
- Figura 17. Flutuação da emissão de CO<sub>2</sub> pela biota do solo coletado a diferentes distâncias da principal fonte emissora. Os pontos no gráfico correspondem a média de cinco amostras..... 98
- Figura 18. Variação da atividade da desidrogenase ao longo do gradiente de estudo. Os pontos no gráfico correspondem a média de cinco amostras.....  
.....102
- Figura 19. Variação da atividade da arilsulfatase ao longo do gradiente de estudo. Os pontos no gráfico correspondem a média de cinco amostras....104
- Figura 20. Análise de componentes principais realizada com as variáveis ambientais, poluentes e bioindicadores..... 112

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Temperatura média mensal registrada pela Rede de Monitoramento do Ar da CETREL S.A para os anos de 2002 e 2003. ....	48
Tabela 2. Fisionomia da paisagem das estações de coleta.....	50
Tabela 3. Variáveis físicas determinadas no solo coletado ao longo das estações estudadas.....	71
Tabela 4. Caracterização química do solo coletado no período seco. ....	85
Tabela 5. Caracterização química do solo coletado no período chuvoso.....	86
Tabela 6. Teores de metais pesados no solo nas estações estudadas. ....	91
Tabela 7. Coeficientes de estrutura ( <i>loadings</i> ) obtidos com a análise de componentes principais. ....	111
Tabela 8. Coeficientes de estrutura ( <i>loadings</i> ) obtidos com a análise de componentes principais. ....	111

**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

ACP	Análise de Componentes Principais
CBM	Carbono da biomassa microbiana
CETREL	Empresa de Proteção Ambiental
Cmic	Carbono microbiano
Corg	Carbono orgânico total
EMBRAPA	Empresa Brasileira De Pesquisa Agropecuária
F	Fumigada
LAVIET	Laboratório de Alternativas Viáveis a Impactos em Ecossistemas Terrestres
NF	Não fumigada
PPGEB	Programa de Pós-graduação em Ecologia e Biomonitoramento
SB	Soma de bases
TFSA	Terra Fina Seca ao Ar
UFBA	Universidade Federal da Bahia

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	16
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	21
2.1. Impactos no solo provocados por atividades metalúrgicas .....	21
2.2. Bioindicação .....	25
2.3. Microrganismos de solo e sua importância como bioindicadores de impacto. ....	29
2.3.1. Biomassa microbiana .....	33
2.3.2. Quociente microbiano .....	36
2.3.3. Atividade microbiológica .....	36
3. METODOLOGIA.....	44
3.1. Área de estudo.....	44
3.1.1. Localização e histórico da área:.....	44
3.1.2. Descrição .....	47
3.2. Desenho amostral.....	52
3.3. Caracterização físico-química .....	53
3.3.1. Procedimentos analíticos .....	54
3.4. Bioindicadores.....	57
3.4.1. Carbono da biomassa microbiana (CBM).....	58
3.4.2. Quociente microbiano.....	61
3.4.3. Respiração basal .....	61
3.4.4. Atividade da desidrogenase.....	62
3.4.5. Atividade da arilsulfatase.....	63
3.5. Análises estatísticas .....	64
3.5.1. Efeito da poluição atmosférica nas variáveis abióticas do solo. ...	64
3.5.2. Flutuação dos bioindicadores ao longo do gradiente.....	65
3.5.3. Comparação da resposta dos bioindicadores frente às variáveis ambientais e poluentes .....	66
3.5.4. Interação entre os bioindicadores e as variáveis químicas e poluentes. ....	68
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	69
4.1. Caracterização física.....	71

4.2. Caracterização química.....	72
4.3. Bioindicadores .....	92
4.3.1. Flutuação dos bioindicadores ao longo do gradiente.....	92
4.3. 2. Comparação da resposta dos bioindicadores frente às variáveis ambientais e poluentes .....	106
4.3.3. Interação entre os bioindicadores e as variáveis químicas e poluentes. ....	108
5. CONCLUSÕES.....	113
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	115
7. ANEXOS .....	126

## 1. INTRODUÇÃO

---

A ocupação da terra pelo homem atual data de cerca de 300.000<sup>1</sup> anos, entretanto, a partir do ano de 1970, com o início da revolução industrial, essa ocupação tem trazido sérias conseqüências ambientais.

O crescimento populacional acelerado e desordenado, a geração de resíduos provenientes das atividades industriais e urbanas e a visão dos ecossistemas como fontes inesgotáveis de recursos têm contribuído para interrupção do equilíbrio em diversos ecossistemas (FREEDMAN, 1995).

Segundo Odum (1988), os ecossistemas naturais são capazes de suportar impactos provocados por perturbações periódicas ou agudas (estresse agudo), já que exibem notável resistência (capacidade de se manter estável diante do estresse) e/ou elasticidade (capacidade de se recuperar rapidamente do estresse). Entretanto, quando uma perturbação crônica (persistente ou continuada) é inserida, pode provocar efeitos pronunciados e prolongados, podendo desequilibrar o ecossistema de forma irreversível.

---

<sup>1</sup> Espaço de tempo estimado para o surgimento dos primeiros indivíduos, que pelo volume e conformação do crânio, enquadram-se na mesma espécie do homem atual (SALGADO-LABOURIAU, 1994).

A Poluição se apresenta, nesse contexto, como a inserção, no ecossistema, de um (ou mais) agente químico, em concentrações suficientes para causar tanto impactos agudos ou crônicos, induzindo respostas fisiológicas nos organismos e causando alterações ecológicas (FREEDMAN, 1995).

Holdgate (1979) definiu poluição como “A introdução no ambiente, por atividade antrópica, de substâncias ou energia capaz de causar prejuízos para a saúde humana, danos aos recursos vivos e ecológicos, ou interferir no legítimo uso do ambiente”. A substância, ou poluente, pode ser tanto um composto sintético, como um elemento ou composto de ocorrência natural que tenha sua concentração elevada, por atividades antrópicas, a níveis de provocar efeitos tóxicos ou interromper o equilíbrio ecológico de determinada área.

No Brasil, a preocupação acerca dos danos causados ao solo pela entrada de poluentes ainda é recente. Estima-se que apenas 28% de quase 3 milhões de toneladas de resíduos industriais, geradas anualmente, recebam tratamento adequado. O restante é disposto em lixões ou aterros clandestinos (Abrelpe, 2003) trazendo, como consequência, um incremento de poluentes para o solo, o que resulta na contaminação de grandes áreas e no avanço do impacto negativo destes poluentes sobre o ambiente.

Além do impacto no solo, gerado pela deposição direta de resíduos, as emissões atmosféricas, principalmente de origem industrial, têm contribuído de maneira significativa para a degradação deste recurso. O impacto ambiental provocado pela atividade das siderurgias leva à contaminação superficial do solo e/ou vegetação e a danos funcionais no ecossistema

interrompendo a ciclagem de carbono e nutrientes (McELDOWNEY, HARDMAN e WAITE, 1993).

Apesar do conhecimento acerca dos danos ambientais, Klumpp e outros (2003) ressaltam que o conhecimento detalhado da extensão dos impactos provocados por atividades industriais no ambiente, principalmente ao nível regional, ainda é muito limitado. Em solos tropicais, sujeitos a elevada temperatura e pluviosidade, a informação é ainda mais escassa. A maior parte dos estudos desenvolvidos, nessas condições, está associada a práticas de manejo agrícola (AON e COLANERI, 2001; BADIANE e outros, 2001; PINTO e NAHAS, 2002; MATSUOKA e outros, 2003; MENDES e outros, 2003) ou ao impacto provocado pela incorporação, no solo, de resíduos como bio-sólido e composto orgânico produzido à partir de lixo (CORNU e outros, 2000; CRITTER e outros, 2003). Quando o foco é o impacto provocado por atividades industriais, a avaliação ainda é realizada, na sua grande maioria, através do monitoramento de propriedades físicas e químicas que, embora cada vez mais eficientes e sofisticadas, não são capazes de nos informar sobre o efeito de poluentes nos sistemas vivos (LIMA, 2001).

A utilização de organismos vivos na avaliação da poluição ambiental (bioindicação) data, de acordo com Klumpp (2001), do século passado quando mudanças na composição de comunidades liquênicas em áreas poluídas foram descritas por Grindon (1859) e Nylander (1866). Entretanto, apenas nas últimas décadas a bioindicação alcançou o estágio de desenvolvimento necessário para seu uso rotineiro (ARNDT e outros, 1995).

A bioindicação, portanto, pode ser definida como a medida da reação sensível de um organismo ante a qualidade do seu ambiente, que pode ser no nível bioquímico, fisiológico, morfológico ou comportamental (LIMA, 2000).

Os microorganismos do solo (bactérias, fungos, microalgas, protozoários) vêm sendo considerados como bons bioindicadores devido ao fato de apresentarem um importante papel na manutenção da qualidade do solo, controlando não só a decomposição dos resíduos de origem animal e vegetal como a ciclagem biogeoquímica (incluindo a fixação de nitrogênio), a formação e manutenção da estrutura do solo e o destino de agroquímicos e poluentes que são depositados no solo. Essas propriedades associadas à sensibilidade a baixas concentrações de poluentes (CHANDER e BROOKES, 1993; BROOKES, 1995) e à rapidez de resposta a perturbações causadas ao solo dá, aos parâmetros microbiológicos, a condição de bons candidatos a bioindicadores de poluentes no solo (BROOKES, 1995; PANKHURST e outros, 1996; PANKHURST, ROGERS E GUPTA, 1998).

Entretanto, o uso de microorganismos como bioindicadores apresenta algumas limitações que têm dificultado a identificação da relação entre a causa (poluição) e o efeito (alteração no comportamento do bioindicador) e gerando confusão. De um lado pesquisas apontam para a sensibilidade dos microorganismos a poluentes, de outro lado pesquisadores revelam que os microorganismos respondem às variações ambientais mascarando o efeito de poluentes. Faz-se necessário, portanto, em estudos com utilização de bioindicadores, a distinção entre padrão de resposta proveniente da variação natural e o padrão de variação imposto pela poluição.

Este trabalho buscou responder às seguintes questões: (i) qual o grau de contaminação da área estudada? (ii) Qual foi o comportamento de cada bioindicador utilizado? (iii) Os bioindicadores responderam às variáveis ambientais ou aos poluentes? (iv) Qual ou quais bioindicadores foram capazes de indicar a contaminação da área estudada?

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

---

### **2.1. Impactos no solo provocados por atividades metalúrgicas**

Como resultado do crescente processo de industrialização, das práticas agrícolas intensivas e da deposição inadequada de resíduos urbanos e industriais, o solo vem se tornando um depósito de compostos químicos potencialmente tóxicos.

Esses compostos químicos incluem tanto aqueles deliberadamente introduzidos ao solo, com o intuito de manter e aumentar a produtividade agrícola, a exemplo dos pesticidas, fertilizantes e outros agroquímicos, como aqueles provenientes da deposição de resíduos urbanos e industriais (DAI e outros, 2004).

No que se refere à poluição de origem industrial, as indústrias metalúrgicas merecem destaque. Muitos estudos foram realizados, em condições temperadas, para avaliar as conseqüências ambientais provenientes desse tipo de atividade.

Alguns casos são bem documentados na literatura, por exemplo: o impacto provocado pela metalúrgica de níquel e cobre situada em Sudbury, no Canadá; pela metalúrgica situada em Gusum, Suécia e pela metalúrgica de chumbo e zinco localizada em Avenmouth, Inglaterra (FREEDMAN, 1995).

Algumas características são comumente associadas a este tipo de poluição. Freedman e Hutchinson (1981) citam algumas: i) ocorrência de severa poluição por metais próximo à fonte emissora, especialmente na porção superficial do solo; ii) decréscimo exponencial da intensidade da poluição com o aumento da distância da fonte; iii) ocorrência de danos na vegetação circunvizinha caracterizada pela redução na biomassa e baixa produtividade, alteração na composição de espécies além do empobrecimento da riqueza e diversidade de espécies; iv) interrupção da ciclagem de nutrientes por metais tóxicos, redução da decomposição da serrapilheira, dentre outros. Todas estas características estão associadas a ação de poluentes, principalmente, metais pesados e gases como o dióxido de enxofre (McELDOWNEY, HARDMAN e WAITE, 1993).

No Brasil, a preocupação em relação às conseqüências desastrosas desse e de outros tipos de poluição do solo ainda é recente. E, apesar da importância do solo como recurso natural, Fadigas (2002) relata que ainda não existe metodologia padronizada nem valores de referência para dosagem de poluentes, como metais pesados<sup>2</sup>, dificultando assim a detecção de áreas poluídas. Atualmente a avaliação é realizada a partir da comparação com valores considerados normais, citados na literatura, ou a partir de amostras tomadas em áreas distantes de fontes poluidoras (áreas controle).

---

<sup>2</sup> O termo metais pesados refere-se aos elementos que possuem densidade superior a  $6\text{g cm}^{-3}$  (FADIGAS, 2002).

Outra questão, não menos importante, é a falta de padronização das metodologias que buscam determinar o teor do metal no solo. A maior parte dos trabalhos, avalia o teor total de metais pesados presentes no solo. Entretanto, ele não é capaz de fornecer uma informação segura sobre a possibilidade dos mesmos de serem absorvidos pelas as plantas ou sobre sua transferência ao longo da cadeia alimentar (McELDOWNEY, HARDMAN E WAITE, 1993). Estes autores sugerem então que seja avaliado o teor de metais disponível na solução do solo, já que traz informação do que poderia estar sendo absorvido pelos microrganismos e plantas.

Devido à sua grande estabilidade no ambiente e a sua toxicidade, à maioria dos organismos vivos, os metais pesados são muito estudados. Sua concentração no solo depende, no caso de solos não poluídos, do material sobre o qual o solo se formou, dos processos de formação e da composição e proporção dos componentes da fase sólida. Por exemplo, solos formados sobre rochas basálticas apresentam maiores teores desses elementos quando comparados a solos formados sobre granitos, gnaisses, arenitos e siltitos (ROVERS e outros, 1983). O teor e a composição da fração argila, o conteúdo de matéria orgânica e outras condições físico-químicas do solo podem também influenciar na presença de metais pesados (BARONA e ROMERO, 1996). Já nos solos poluídos, a concentração natural é incrementada por atividades antrópicas como mineração, metalurgia, queima de combustíveis fósseis, fertilizantes, resíduos industriais e doméstico.

Os metais pesados, uma vez incorporados ao solo, permanecem por longos períodos, cerca de milhares de anos (BROOKES, 1995), e irão afetar o crescimento, a morfologia e o metabolismo de microrganismos de solo

(FLIESSBACH, MARTENS e REBER, 1994; GILLER e outros, 1998), causar a desnaturação de proteínas ou a destruição da integridade das membranas celulares (LEITA e outros, 1995) e interromper a ciclagem de carbono e nutrientes, danificando assim funções do ecossistema (McELDOWNEY, HARDMAN e WAITE, 1993).

O enxofre, da mesma forma que alguns metais, é um elemento essencial para todos os seres vivos, pois é necessário para a síntese de aminoácidos que constituem as vitaminas, hormônios e enzimas. Sua principal fonte no solo é a pirita, de rochas ígneas. Entretanto, atividades antrópicas, como metalúrgicas, contribuem de maneira significativa para o retorno de grandes quantidades de enxofre ao solo.

Além de danos diretos provocados na vegetação, o dióxido de enxofre, emitido pelas metalúrgicas, se deposita no solo, por via úmida ou seca, entra em contato com a umidade presente no mesmo e forma ácido sulfuroso que é rapidamente oxidado, pelos organismos, para ácido sulfúrico, conduzindo a severa acidificação de solos (GUNN e outros, 1995).

A depender das características físicas e químicas do poluente e do solo, pode ocorrer maior ou menor precipitação/solubilização do contaminante. Neste processo, o pH do solo, é um fator determinante. Em caso de acidificação do solo, provocada pelas emissões de dióxido de enxofre, os metais, mais especificamente o Cu, Cd, Hg, Pb e Zn, tornam-se mais disponíveis, favorecendo a lixiviação dos mesmos para o lençol freático e cursos d'água, contaminando-os (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002).

A deposição ácida no solo também provoca impactos na sua biota. De maneira geral a acidificação atua interferindo na integridade estrutural do

solo, prejudicando os processos de formação de agregados; decomposição e ciclagem de nutrientes; fixação de nitrogênio, além de outros tantos processos desempenhados pela biota do solo (MAXWELL, 1995).

Devido ao impacto agudo e visível provocado pela emissão de gases de dióxido de enxofre, grandes esforços vêm sendo empregados no controle destas emissões.

Iqbal e outros (1996) citam que a emissão anual global do dióxido de enxofre em 1991 era de aproximadamente 294 milhões de toneladas, das quais 160 milhões eram de origem antrópica, sendo cerca de 90% destas emissões provenientes do hemisfério norte, principalmente Estados Unidos e a antiga União Soviética.

Atualmente, nos países industrializados, a exemplo da Alemanha, as emissões de SO<sub>2</sub> tem decrescido, como resultado de medidas de controle da poluição (IQBAL e outros, 1996). O Brasil, como outros países em desenvolvimento, não apresenta ainda esta realidade, sendo as emissões de dióxido de enxofre um grande problema ambiental que exige tanto o monitoramento da contaminação como a avaliação do efeito do poluente nos ecossistemas.

## **2.2. Bioindicação**

No Brasil, a preocupação com os impactos provenientes de atividades antrópicas foi regulamentada em 1988 com a inserção, na Constituição

Federal, capítulo VI, do artigo 225 que diz: “Todos têm direito ao meio ambiente ecologicamente equilibrado, bem de uso comum do povo e essencial à sadia qualidade de vida, impondo-se ao Poder Público e à coletividade o dever de defendê-lo e preservá-lo para as presentes e futuras gerações”.

A partir de então, a identificação e quantificação dos impactos de origem antrópica passaram a ser prementes. Entretanto, embora grande esforço venha sendo direcionado no sentido de fornecer uma avaliação científica acurada no que se refere à mensuração dos impactos induzidos por atividades antrópicas e suas conseqüências para o ambiente, a incerteza ainda é grande, devido a principalmente dois fatores: à variedade de atividades humanas potencialmente impactantes e a dificuldade de distinguir distúrbios de origem antrópica das variações ambientais naturais (OSENBERG e SCHMITT, 1995).

Já que a incerteza é inevitável nas predições sobre sistemas ecológicos e decisões sobre mudanças inesperadas do ambiente devem ser tomadas, deve-se buscar métodos capazes de relacionar causa e efeito.

A bioindicação surge como uma alternativa, se propondo a avaliar o comportamento de determinado poluente no ambiente, monitorando sua ação através de organismos vivos (LIMA, 2001).

Esse tópico, relativamente novo nas ciências ambientais, está fundamentado na reação natural dos organismos vivos tanto à estímulos naturais quanto à impactos.

Como toda abordagem nova, o biomonitoramento ainda se depara com questões, como por exemplo, de padronização de terminologia. Lima (2001)

discute que ainda existe uma falta de consenso nas publicações quanto ao emprego dos termos biomonitoramento e bioindicação. Cabe, portanto, aqui a definição das duas terminologias afim de distingui-las.

A bioindicação é definida por Market (1993 *apud* LIMA, 2001, p. 96) como o uso de um organismo (ou parte dele; população; ou comunidade) com finalidade de se obter informações sobre a qualidade do seu ambiente. O biomonitoramento também objetiva a obtenção de informações sobre a qualidade ambiental, entretanto neste a observação é contínua. Usando uma analogia o autor compara a bioindicação a uma fotografia e o biomonitoramento a um filme.

Nesse estudo, será empregado o termo bioindicação já que não foi realizada uma avaliação ao longo do tempo.

Tanto o biomonitoramento quanto a bioindicação podem ser empregados para complementar o monitoramento químico e físico realizado em estudos de impacto ambiental por poluentes, já que no monitoramento químico são fornecidas informações acerca da quantidade de poluente que está presente no ambiente, identificando em algumas situações, a fração antrópica. Já no biomonitoramento/bioindicação têm-se informações sobre efeito do poluente nos sistemas vivos (LIMA, 2001).

Wetzel (1998) divide os métodos empregados na bioindicação em duas categorias: estratégia prospectiva e estratégia retrospectiva. Na estratégia prospectiva busca-se, através de bioensaios em laboratório, saber o que determinada substância provocaria ao ambiente caso fosse lançada ao mesmo. Nesse tipo de estratégia os bioindicadores (ou organismos teste)

podem ser de dois tipos: os de exposição (indicam a exposição a químicos) e os de efeito (demonstram efeitos resultantes da exposição).

Já na estratégia retrospectiva busca-se acessar mudanças no ambiente provocadas por substâncias anteriormente lançadas. Essa estratégia utiliza bioindicadores (plantas, animais, micro-organismos) com acumulação ou padrão de reação específica a determinado poluente (WETZEL, 1998). Foi adotada para este estudo a estratégia retrospectiva.

As pesquisas em biomonitoramento/bioindicação realizadas em condições tropicais são ainda muito escassas. Em uma revisão realizada por Klumpp (2001) foram identificadas, para a América do Sul, cerca de 100 publicações, incluindo apresentações em congressos, publicações nacionais e internacionais, teses e trabalhos conduzidos no exterior usando espécies sul-americanas. Segundo o autor, 70% dessas publicações provinham do Brasil.

Quando o foco é o monitoramento utilizando bioindicadores de solo, a quantidade de trabalhos é ainda menor. O foco das pesquisas em biomonitoramento/bioindicação em ecossistemas terrestres, ainda incide na utilização de espécies vegetais. Indicadores de impactos em solo são empregados na sua maior parte em pesquisas que avaliam o impacto de práticas agrícolas, sendo o impacto, provocado por atividades industriais, pouco estudado.

A observação dos danos provocados por poluentes, através da utilização de bioindicadores, pode ser realizada em diferentes níveis da organização biológica, se estendendo desde o nível molecular ou bioquímico, passando

por aspectos fisiológicos dos indivíduos, e finalmente para os níveis populacionais e de ecossistema (STEGEMANN, 1992).

De acordo com Lima (2001) a observação de alterações bioquímicas e fisiológicas permite a identificação do agente estressor (poluente) quando este se encontra em concentrações ainda baixas, possibilitando a proposição de soluções de mitigação e controle do poluente em questão.

Os parâmetros biológicos podem se apresentar como uma alternativa ao monitoramento de poluentes em solos. Pankhurst e outros (1998) citam alguns desses biomonitores como, por exemplo: Biomassa microbiana, respiração basal do solo, transformações do nitrogênio, atividade enzimática, crescimento de fungos micorrízicos, análises da comunidade microbiana, dentre outros.

### **2.3. Microrganismos de solo e sua importância como bioindicadores de impacto.**

O solo, um dos recursos essenciais do nosso planeta, é uma formação natural, povoada por uma fauna abundante e diversificada, capaz de possibilitar o desenvolvimento vegetal na superfície da terra, permitindo o fluxo de energia e a continuidade dos ciclos biogeoquímicos (DAJOZ, 1978).

A fauna que habita o solo pode ser classificada em micro (organismos menores que 0,2mm), meso (0,2-10mm) e macrofauna (>10mm). A comunidade microbiana, entretanto, é o que apresenta a maior diversidade.

Estima-se que existam mais de 1,8 milhões de espécies de microrganismos, distribuídas entre as algas, protozoários, bactérias, vírus e fungos (TURCO e outros, 1994). Todos esses componentes vivos passaram, a partir da década de 70, a ser denominados de microbiomassa do solo (SIQUEIRA e outros, 1994).

Os microrganismos ocupam menos de 5% do espaço poroso do solo, e a sua ocorrência é resultado de sua reação às condições ambientais, dentro dos limites genéticos possuídos pelos microrganismos, o que permitirá sua sobrevivência de forma inativa ou dormente ou de forma ativa como sapróbios, parasitas, mutualistas ou comensalistas (MOREIRA E SIQUEIRA, 2002).

Embora apenas parte das células microbianas do solo esteja ativa (estima-se que cerca de 15 a 30% das bactérias e 10% dos fungos), elas são capazes de desempenhar importantes funções como: decomposição da matéria orgânica, produção de húmus, ciclagem de nutrientes e energia, fixação do nitrogênio atmosférico, produção de compostos responsáveis pela agregação do solo, decomposição de xenobióticos, além do controle biológico de pragas e doenças. Segundo Witter (1992) esses atributos associados a rapidez na resposta a perturbações causadas ao solo conferem, aos microrganismos, a condição de bons bioindicadores da qualidade do solo.

Os microrganismos podem ser utilizados na avaliação da qualidade ambiental sob vários aspectos como, por exemplo, através da quantificação da biomassa, da atividade (enzimas), taxonomia (estudos de diversidade), etc.

Pankhurst e outros (1998) distribuem os parâmetros microbiológicos, empregados na bioindicação, em quatro grupos: (i) o primeiro é provavelmente o mais usado e inclui a determinação da biomassa microbiana e respiração do solo; (ii) o segundo grupo inclui outras medidas da atividade microbiana como a mineralização do nitrogênio e atividades enzimáticas; (iii) o terceiro grupo é formado por medidas que determinam os grupos funcionais de microorganismos (por exemplo, fungos micorrízicos); (iv) o quarto, e mais recente, inclui medidas da composição e diversidade funcional da comunidade microbiana.

O uso de indicadores microbiológicos como biomonitores/bioindicadores, embora bem estabelecido e estudado em condições temperadas, apresenta alguns problemas que incluem principalmente a grande variação natural do tamanho da população e atividade inerente a todos microorganismos de solo e a grande susceptibilidade dos mesmos às propriedades físicas e químicas do solo (PANKHURST e outros, 1998).

Stenberg (1999), portanto, recomenda que nenhuma variável microbiológica seja empregada, na avaliação de impactos no solo, individualmente, já que ele dificilmente será capaz de quantificar e refletir todos os aspectos relacionados à qualidade do solo. Assim, um número mínimo de indicadores deve ser selecionado. Os critérios para escolha das variáveis podem estar relacionados à capacidade do bioindicador em refletir processos do ecossistema, que integram propriedades físicas, químicas e biológicas, associados à sensibilidade do mesmo aos poluentes estudados.

Brookes (1995) propõe alguns critérios para utilização das propriedades microbianas no monitoramento da qualidade do solo:

- i) Potencial para informar sobre os processos indicadores da qualidade do solo;
- ii) Exatidão e precisão podendo ser empregados com êxito em ampla escala de tipos e condições de solo;
- iii) Sensibilidade suficiente para indicar a poluição, mas com estabilidade adequada para não originarem alarmes falsos;
- iv) Validade científica com base na realidade e conhecimento atual;
- v) Facilidade de mensuração.

Assim, considerando os critérios propostos pelo autor e a sensibilidade aos poluentes da área estudada, ressaltada por estudos prévios, indicadores microbiológicos como o carbono da biomassa e a atividade microbiana (respiração basal, quociente metabólico, atividade da arilsulfatase e desidrogenase) foram selecionados como bioindicadores do impacto provocado por emissões atmosféricas industriais ricas em dióxido de enxofre e em metais pesados.

### **2.3.1. Biomassa microbiana**

A biomassa microbiana é um dos parâmetros microbiológicos mais utilizados em estudos de impactos ambientais sobre a microbiota dos solos. Ela tem sido definida como parte da matéria orgânica constituída pelos organismos vivos com volume menor que  $5 \text{ a } 10 \mu\text{m}^3$  e representa de 1 a 5% (peso seco) do conteúdo total de carbono do solo (ALEF e NANNIPIERI, 1998).

Segundo Grisi (1995) o interesse em se estimar a biomassa microbiana do solo reside no fato da mesma funcionar como um reservatório (“pool”) de nutrientes, já que as populações microbianas, participando do processo de decomposição da necromassa do solo, incorporam os nutrientes provenientes do substrato orgânico (fase de imobilização), liberando-os posteriormente, pós morte, para as plantas (fase de mineralização). Conseqüentemente, solos que mantêm um alto conteúdo de biomassa microbiana são capazes não somente de estocar, mas também de ciclar mais nutrientes no sistema (STENBERG, 1999).

Já Alef e Nannipieri (1998) atribui o interesse nas medições da biomassa à busca dos microbiólogos por “um índice geral de atividade biológica total do solo”, que poderia ser usado tanto com objetivos práticos na agricultura como para descrever a condição biológica do ambiente.

De acordo com Frighetto (2000) a análise da biomassa microbiana vem sendo empregada com a finalidade de:

- i) obter informações rápidas sobre mudanças nas propriedades orgânicas do solo;

- ii) detectar mudanças causadas por cultivos ou por devastação de florestas;
- iii) medir a recuperação de solos degradados;
- iv) avaliar os efeitos de poluentes como metais pesados e pesticidas.

Vários métodos vêm sendo utilizados para se estimar da biomassa microbiana, sendo os mais difundidos o de fumigação-incubação e o de fumigação-extração.

O método de fumigação-incubação (FI), inicialmente proposto por Jenkinson e Powlson (1976), tem como princípio a exposição do solo a clorofórmio (livre de etanol) durante 24 horas. Após esse período o fumegante é removido por evacuações realizadas por intermédio de uma bomba de vácuo. As amostras de solo são reinoculadas com uma pequena amostra de solo e ocorrerá um pico de  $\text{CO}_2$  proveniente da decomposição de microrganismos mortos, pela ação dos microrganismos introduzidos e dos sobreviventes. A biomassa é então estimada pela diferença entre o  $\text{CO}_2$  emanado das amostras fumigadas e não-fumigadas, dividida pela fração do carbono da biomassa mineralizada ( $K_c$ ) sob forma de  $\text{CO}_2$ . O valor  $K_c$  é dependente da temperatura, sendo considerado igual a 0,41 a temperatura de 22°C (ANDERSON e DOMSCH, 1978) e 0,45 a temperatura de 25°C (JENKINSON e LADD, 1981).

O método fumigação-extração (FE) foi introduzido Por Vance, Brookes e Jenkinson (1987), Baseado no método de fumigação de Jenkinson e Powlson (1976), com o objetivo de medir a biomassa de solos com adição recente de matéria orgânica, pois o método da FI não se mostrou eficiente nessa

situação. O método FE é também uma alternativa para mensuração da biomassa em solos com pH mais baixo que 4,5 (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002). A diferença entre o método de FI e o de FE é que nesse último as amostras não são incubadas. O carbono é determinado após extração com sulfato de potássio, oxidação por dicromato de potássio, digestão química por  $H_2SO_4/H_3PO_4$ , seguida de titulação com sulfato ferroso amoniacal. A diferença entre o carbono extraído das amostras fumigadas e não-fumigadas, representada por  $E_c$ , é o carbono da biomassa microbiana. Nesse trabalho, optou-se como método de quantificação da biomassa microbiana pelo método FE, já que os solos avaliados apresentaram baixo pH.

A biomassa microbiana tem sido empregada para determinar o impacto na biota do solo proveniente de diversas fontes: aplicação de herbicidas (WARDLE e PARKINSON, 1990); aplicação de bio sólido (LOPES, 2001; CHANDER e BROOKES, 1991; BAATH e outros, 1998); contaminação por metais pesados (BROOKES e outros, 1986; FLIESSBACH, MARTENS e REBER, 1994; BROOKES, 1995; LEITA e outros, 1995).

De maneira geral a biomassa microbiana do solo está diretamente relacionada a quantidade de carbono (substrato) presente no solo. Ela é elevada em solos com vegetação, com teores elevados de argila ou sob cultivo mínimo e baixa nos solos cultivados, arenosos ou degradados pela erosão ou contaminação por substâncias orgânicas tóxicas ou metais pesados (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002).

Isoladamente, a biomassa microbiana, por ser um índice geral, pouco reflete as alterações na qualidade do solo, apesar de ser um indicador precoce de intervenções antrópicas (BROOKES, 1995). Desse modo, a

associação com outras variáveis na avaliação dos impactos provocados por poluentes atmosféricos se faz necessária.

### **2.3.2. Quociente microbiano**

O quociente microbiano representa a relação entre o carbono orgânico da biomassa microbiana e o carbono orgânico total do solo ( $C_{mic}/C_{org}$ ) e expressa a quantidade de carbono imobilizado na biomassa (SILVA, 2001).

Klumpp e outros (2003) recomendam a utilização do quociente microbiano como indicador de impacto em solos. Segundo os autores, esse índice se mostrou mais adequado que a biomassa microbiana, apresentando correlação negativa e significativa com as áreas impactadas.

### **2.3.3. Atividade microbiológica**

Moreira e Siqueira (2002) definem a atividade microbiológica como toda reação catalisada pelos microrganismos do solo, refletindo o estado fisiológico de células ativas. Pode ser dividida em atividades gerais e específicas. As atividades gerais são aquelas provenientes de todos ou quase todos microrganismos do solo como, por exemplo, a respiração, representando valor significativo como índice de atividade total do solo. Já as específicas são mediadas por grupos específicos de microrganismos, como por exemplo, a atividade de determinadas enzimas.

Grisi (1995) comenta que ao se avaliar a atividade dos microrganismos pode-se ter uma idéia sobre a importância do seu papel nos ecossistemas, ou seja, se em determinadas condições ambientais as populações microbianas estão (em sua maioria ou não) em atividade, decompondo a necromassa, promovendo assim a biogeociclagem dos nutrientes.

Neste item será abordado tanto um índice que reflita a atividade geral, como a respiração basal do solo, quanto índices que reflitam a atividade de grupos específicos como a atividade da desidrogenase e arilsulfatase.

#### ▪ **Respiração basal do solo**

A respiração do solo é uma das mais antigas variáveis usadas para quantificar a atividade microbiana. Ela reflete a atividade da microbiota do solo responsável pela degradação de compostos orgânicos (LOPES, 2001).

A respiração basal da amostra representa a oxidação de compostos orgânicos presentes na amostra de solo e pode ser quantificada tanto pelo consumo de oxigênio quanto pela produção de gás carbônico (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002). O método consiste na titulação com ácido clorídrico do hidróxido de bário que não reagiu com o CO<sub>2</sub> emanado das amostras (STEUBING, 2003).

Pankhurst e outros (1998) afirmam que a respiração basal é um parâmetro muito variável podendo refletir não apenas o impacto como também alterações nas características do solo como disponibilidade do substrato, umidade e temperatura. Segundo o autor essa variação significa

que a respiração basal do solo, tomada sozinha, dificilmente será capaz de interpretar o solo em termos de qualidade, determinada/influenciada por ações antrópicas.

#### ▪ **Atividade enzimática**

As enzimas de solo são um grupo especial de proteínas que apresentam alta especificidade funcional, sendo responsáveis pela catálise de várias reações químicas.

As enzimas ligam-se fortemente ao seu substrato de maneira específica e tridimensional causando mudanças na configuração eletrônica de ligações facilmente modificáveis; reduzindo a energia de ativação; permitindo ou regulando a velocidade das reações químicas (SIQUEIRA e outros 1994). A interação da enzima com seu substrato depende, além da solubilidade deste, de inúmeros fatores como: concentração e propriedade da enzima, natureza do substrato (se cristalino ou amorfo), além de condições ambientais (pH, salinidade, temperatura, teor de argila, presença de substâncias tóxicas).

Embora as enzimas estejam presentes no solo em grandes quantidades (estima-se que existam milhares em uma única célula microbiana) apenas pouco mais de 50 têm sido identificadas ou sua atividade no solo detectada (MAJER, PEPPER E GERBA, 2000). Mesmo assim, sabe-se que elas apresentam grande importância na decomposição de resíduos e na fertilidade do solo, na eficiência do uso de fertilizantes, nas interações entre

as plantas, no estado de oxi-redução do solo, além de servirem como indicadoras da qualidade do solo e da presença de poluentes.

As enzimas que têm sido isoladas no solo apresentam características como alta estabilidade térmica e elevada resistência ao ataque de proteases (BURNS, 1982). Essas enzimas encontram-se tanto livres na solução do solo (adsorvidas nos colóides ou immobilizadas em complexos húmicos), enzimas extracelulares, quanto associadas à células vivas (constituente) podendo ser liberadas após a morte e decomposição das células (enzimas intracelulares) (BADIANE e outros, 2001).

Das enzimas encontradas no solo, Moreira e Siqueira (2002) selecionam as hidrolases (sulfatases), oxiredutases (desidrogenase), transeferases (aminotransferases) e liases (descarboxilases) como as responsáveis pelas principais catálises ocorridas no solo.

De acordo com Alef e Nannipieri (1998) a partir da introdução de novos métodos de determinação, pesquisas envolvendo enzimas de solo têm aumentado nos últimos anos.

Entretanto, por causa da dificuldade para extrair enzimas do solo, sua atividade é geralmente medida através de procedimentos de laboratório. Em função disso, Alef e Nannipieri (1998) sugerem que a interpretação dos resultados seja feita com cautela, pois esses procedimentos laboratoriais representam o potencial máximo da atividade enzimática, já que: as condições de incubação são escolhidas para assegurar uma taxa de catálise ótima; o substrato encontra-se em excesso, e o pH e a temperatura são selecionados no nível adequado para permitir a alta taxa de atividade enzimática.

Embora os métodos para determinação da atividade enzimática sejam baseados em condições não reais, como a maioria das metodologias científicas, eles são capazes de responder questões qualitativas sobre processos metabólicos específicos, e, em combinação com outros métodos, podem aumentar a compreensão acerca do efeito de agroquímicos, adequação de práticas de manejo, poluentes, e fatores climáticos na atividade microbiana do solo (NANNIPIERI e outros, 1982).

A utilização da atividade enzimática na indicação de impactos no solo está pautada no fato das mesmas participarem dos ciclos dos elementos no solo (VISSER e PARKINSON, 1992); serem muito sensíveis a alterações no solo (KANDELER e outros 1996; 2000); além da facilidade de dosagem, sem utilização de aparelhagem sofisticada (DICK, 1988).

#### **a. Desidrogenase**

As desidrogenases são enzimas intracelulares, encontradas nas membranas das células vivas. Essas enzimas fazem parte da cadeia respiratória que possui o  $O_2$  como acceptor final de elétrons. Elas oxidam compostos orgânicos pela transferência de um par de elétrons para um acceptor, NAD ou NADP, formando o NADH ou NADPH (ROGERS e TATE, 2001).

A atividade da desidrogenase reflete, portanto, a taxa da respiração microbiológica (MAJER, 2000; CASIDA, 1977), fornecendo informações da parte ativa da comunidade microbiológica do solo, informações essas que

não poderiam ser obtidas apenas através do conhecimento da densidade populacional bacteriana usando métodos de contagem de placas ou estimativas da biomassa microbiana total do solo (DICK, 1988).

Um dos métodos mais comuns usados para estimar a atividade da desidrogenase no solo é baseado no uso do cloreto de trifeniltetrazólio (TTC) como aceptor artificial de elétrons (LENHARD, 1966). O TTC através da ação da desidrogenase é reduzido formando trifeniltretetrazólio formazan (TTF), um precipitado vermelho e insolúvel em água, que pode ser medido espectrofotometricamente (ALEF, 1998). Essa reação é realizada por quase todos os microrganismos.

Vários trabalhos vêm empregando a atividade da desidrogenase na avaliação de impactos por substâncias tóxicas e, o que se tem concluído é que solos poluídos são sistemas de grande complexidade, sendo o comportamento da desidrogenase, por exemplo, muito variável (TRASAR-CEPEDAA, 2000) por ser influenciado pelo tipo e concentração do poluente, bem como pelo tipo de solo (DOELMAN e HAANSTRA, 1979; KANDELER e outros, 1996).

De acordo com Tyler (1981) quando há inibição da atividade da desidrogenase, essa pode estar relacionada ao bloqueio de grupos cataliticamente ativos, à desnaturação de proteínas ou outros efeitos na conformação e competição dos íons metálicos por sítios de ativação de enzimas e substratos envolvidos na formação do complexo enzima-substrato.

## b. Arilsulfatase

A arilsulfatase é uma enzima de atividade hidrolítica, que se encontra ligada à parede celular dos fungos e bactérias Gram-negativas e positivas. Essa enzima é responsável pela mineralização do enxofre orgânico no solo, quando este se encontra na forma de éster, segundo a reação abaixo (TABATABAI, 1982 *apud* ALEF e NANNIPIERI, 1998):



A atividade da arilsulfatase no solo é influenciada pela variação na profundidade, teor de carbono, nitrogênio e pela capacidade de troca catiônica do solo. Sua atividade é inibida tanto pela presença do enxofre na forma inorgânica  $[(\text{SO}_4)^{2-}; \text{S (IV) e S (VI)]$  como pelo  $(\text{PO}_4)^{3-}$ ,  $(\text{AsO}_4)^{3-}$  e  $(\text{MoO}_4)^{2-}$ .

Segundo Tabatabai (1982) *apud* Alef e Nannipieri (1998), a associação da atividade dessa enzima com o processo de mineralização decorre do fato de que a maior parte do enxofre encontrado na superfície do solo está presente na forma de sulfatos orgânicos. Entretanto, Jarvis e outros (1987) não encontraram correlação entre a atividade da arilsulfatase e a mineralização do enxofre.

A determinação da atividade da arilsulfatase se dá através da adição, nas amostras de solo, do substrato p-nitrofenil sulfato, que por meio da ação de enzimas é convertido em p-nitrofenol, que é medido espectrofotometricamente. A utilização do p-nitrofenil sulfato como

substrato, embora bastante difundida, é questionada por Alef e Nannipieri (1998) porque esse substrato não ocorre na natureza.

## **3. METODOLOGIA**

---

### **3.1. Área de estudo**

#### ***3.1.1. Localização e histórico da área:***

A área estudada faz parte da região fisiográfica do Recôncavo Baiano e envolve trechos do Distrito de Lamarão do Passé, no Município de São Sebastião do Passé, e proximidades da Caraíba Metais S.A, localizada na área industrial oeste do Pólo Petroquímico de Camaçari – Ba, no município de Dias D'Ávila, distante aproximadamente 75 Km da capital Salvador (Figura 1).

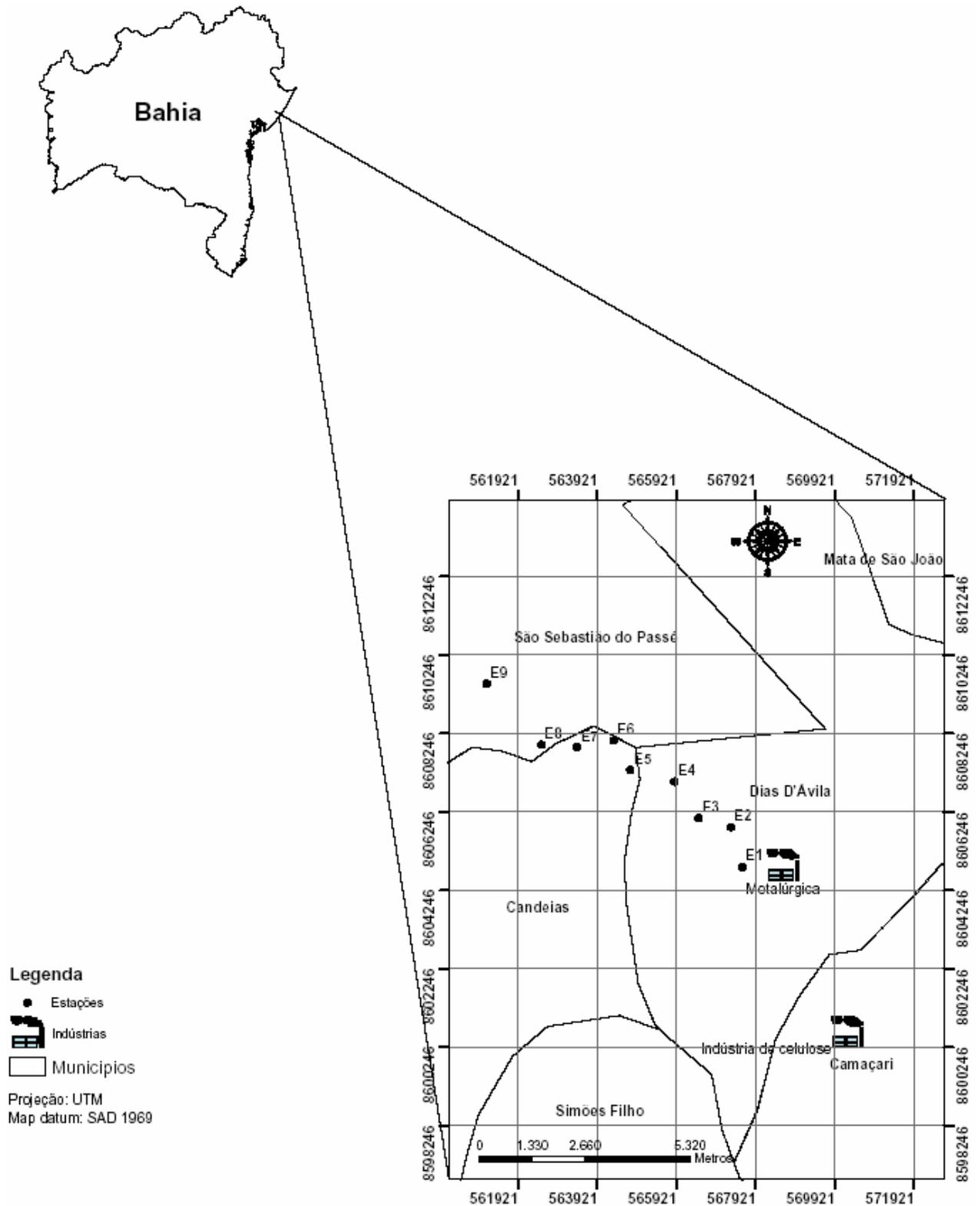
O Pólo Petroquímico de Camaçari, maior complexo industrial integrado da América Latina, começou a operar em 1978, e compreende, atualmente, uma área de aproximadamente 233 Km<sup>2</sup> ocupada por cerca de 60 plantas industriais incluindo, dentre outras, indústrias petroquímicas, químicas básicas, de intermediários, polímeros, química fina, indústrias de celulose, cervejaria e cobre metalúrgico (COUTO, 1996).

O Setor oeste do Pólo Petroquímico de Camaçari foi designado a implantação de indústrias de alto potencial poluidor, como metalúrgicas e indústrias de celulose, a partir do Estudo de Impacto Ambiental para a Ampliação do Pólo Petroquímico (BARANI, 1990).

A metalúrgica Caraíba Metais, cujo entorno compreendeu parte das estações estudadas nesse trabalho foi implantada em 1978, a partir de então, através das obras de terraplanagem, teve início o processo de modificação da paisagem natural que deu origem aos processos erosivos hoje encontrados na área (Figura 2).

Segundo Britto (1983), mesmo na fase anterior ao pleno funcionamento da Metalurgia, a área do entorno da Caraíba Metais, especialmente nos locais mais íngremes, já se encontrava em processo de erosão. A degradação, de acordo com o autor, foi provocada por fatores como a destruição da vegetação para implantação de pastos, exploração de madeira para lenha, exploração de espécies vegetais de valor econômico e retirada de cascalho para construção de estradas (BRITTO, 1983).

Em 1982/83 a metalúrgica deu início às suas atividades e com elas os impactos característicos desse tipo de empreendimento como, por exemplo, a emissão de dióxido de enxofre e material particulado associado a metais pesados.



**Figura 1.** Localização da área de estudo e do desenho amostral.



**Figura 2.** Processos erosivos observados na área estudada.

### **3.1.2. Descrição:**

O clima da região, segundo a classificação de Ribeiro e Gonçalves (1981) é tropical úmido forte, com temperatura média anual elevada (Tabela 1) e índices pluviométricos variando entre 1.598,8 a 1.779,6 mm anuais para 2002 e 2003, respectivamente (Figura 3).

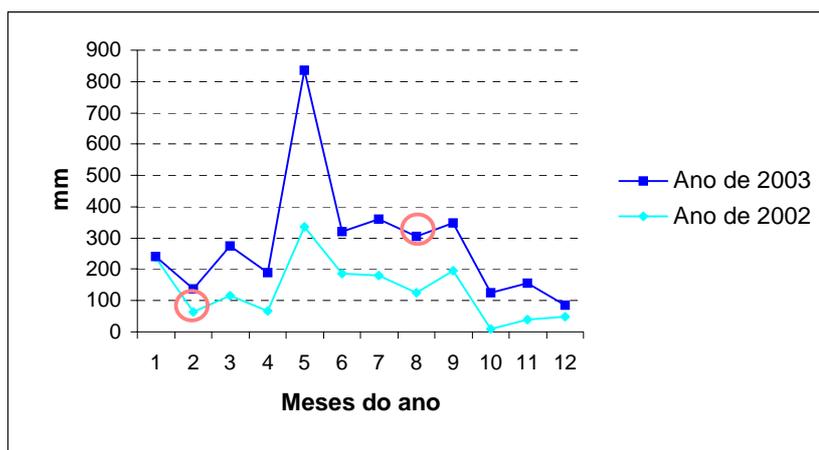
Observações feitas anteriormente pela empresa responsável pelo monitoramento da qualidade do ar do Pólo Petroquímico de Camaçari - CETREL determinaram que, na área estudada o vento predominante é S-SE (CSD - GEOKLOCK, 1999).

Dados sobre a direção do vento durante os anos de 2002 e 2003 foram levantados com o intuito de verificar se a direção predominante do vento coincidiu, com o sentido do transecto definido para este estudo.

**Tabela 1.** Temperatura média mensal registrada pela Rede de Monitoramento do Ar da CETREL S.A para os anos de 2002 e 2003.

	Médias mensais			
	2002		2003	
	UMID. %	TEMP °C	UMID. %	TEMP °C
Janeiro	87,1	26,3	83,7	27,9
<b>Fevereiro</b>	<b>82,8</b>	<b>26,7</b>	85,77	27,22
Março	83,7	26,6	92,85	26,42
Abril	85,7	25,8	90,73	26,36
Maio	90,8	24,3	94,02	25,06
Junho	93,8	23,5	95,44	23,43
Julho	95,6	23	92,01	22,73
<b>Agosto</b>	93	22,9	<b>92,67</b>	<b>23,1</b>
Setembro	91,1	24	87,53	24,02
Outubro	86,5	24,9	84,05	24,85
Novembro	85,8	26	86,07	25,89
Dezembro	85,3	26,8	80,87	26,96

Em destaque meses de coleta.  
Dados registrados na Estação situada em Lamarão.



**Figura 3.** Médias mensais da precipitação pluviométrica registrada pela Rede de Monitoramento do Ar da CETREL S.A, Estação Lamarão, nos anos de 2002 e 2003.

A região apresenta topografia plana com ligeiras ondulações, com altitude variando entre 60 e 200 m. O relevo é classificado como de planície quase uniforme, composta de sedimentos antigos (Paleozóicos e Mesozóicos), apresentando pequenas elevações costeiras, dunas arredondadas em forma de meia-lua e elevações mais acentuadas, com topo plano, chamadas de tabuleiros. Segundo Ribeiro e Gonçalves (1981), os solos de maior ocorrência nesse tipo de formação são os Latossolos coesos e os Podzólicos, por vezes cobertos por uma extensa camada de cascalho ferruginoso (Figura 4).

De acordo com Veloso (1991), a região está situada no Sistema Edáfico de Primeira Ocupação (Formações pioneiras) sendo a geologia local caracterizada pelas formações São Sebastião, Marizal e Barreiras, além dos sedimentos alúvio-coluvionares depositados recentemente.



**Figura 4.** Aspecto de um dos tipos de solo encontrados na área de estudo, mostrando a camada superficial coberta por cascalhos ferruginosos.

A fisionomia da paisagem que compõe este trabalho (tabela 2) está caracterizada por uma cobertura vegetal composta por manchas de vegetação com influência marinha (restingas), áreas de ecótono (mistura entre tipos de vegetação) e sistema de vegetação secundária (tratos antrópicos) em primeira e segunda fase de sucessão natural (Figura 5), além de áreas de pastagens (Figura 6), que crescem sobre solos ácidos, de alta permeabilidade, baixa fertilidade natural e grande susceptibilidade à erosão, caracterizando um ambiente de extrema fragilidade.

**Tabela 2.** Fisionomia da paisagem das estações de coleta.

<b>Estação</b>	<b>Coordenada UTM</b>	<b>Distância da fonte emissora (m)</b>	<b>Fisionomia da paisagem</b>
<b>1</b>	567552,17 8604859,21	1000	Área degradada, próxima a indústria, solo com voçorocas e, em alguns locais, coberto por couraça ferruginosa. Vegetação escassa onde observa-se acúmulo de serrapilheira e alguns indivíduos de <i>Eschweilera ovatta</i> .
<b>2</b>	567267,20 8605935,77	1700	Área próxima a indústria, vegetação escassa
<b>3</b>	566443,95 8606157,41	2500	Área de mata em estágio inicial de recuperação.
<b>4</b>	565842,34 8607075,65	3500	Área de mata em estágio inicial de recuperação.
<b>5</b>	564734,11 8607392,29	4500	Área de pastagem, terreno em declive.
<b>6</b>	564290,82 8608120,55	5500	Área de pastagem.
<b>7</b>	563372,58 8607962,23	6000	Área de pastagem.
<b>8</b>	562486,00 8608057,22	7000	Área de mata em estágio secundário de regeneração.
<b>9</b>	561092,81 8609608,74	8800	Área de pastagem, presença de arbustos e árvores de pequeno porte. Terreno em declive.



**Figura 5.** Estação localizada em área de vegetação em estágio inicial de regeneração.



**Figura 6.** Estação localizada em área de pastagem.

### 3.2. Desenho amostral

O desenho amostral compreendeu um transecto, iniciado a partir de uma fonte pontual de emissões atmosféricas (metalúrgica), composto por nove estações eqüidistantes entre si em, aproximadamente, 1Km (Figura 1). Para definição do transecto, dados anteriores sobre a direção preferencial do vento foram levantados.

Em cada uma das nove estações, foram coletadas, na região rizosférica e na profundidade de 0 a 10 cm, cinco amostras de solo de aproximadamente 1 ½ Kg cada. O método empregado para amostragem foi o de trincheira (30X30cm) descrito em Tomé (1997).

As amostras de solo foram divididas em duas partes: uma parte para caracterização físico-química (aproximadamente 1Kg) e o restante para determinação das variáveis bióticas.

As coletas de solo para análise química compreenderam: um período seco, com coleta realizada no mês de fevereiro de 2002; e um período chuvoso, com coleta realizada no mês de agosto do ano de 2003. A análise química das amostras em dois períodos teve como objetivo avaliar se o padrão de distribuição dos poluentes no solo era recorrente.

Considerando o elevado grau de degradação de algumas estações optou-se, na análise das variáveis bióticas, por utilizar apenas as amostras coletadas no período chuvoso (período que possibilita uma maior atividade microbiológica no solo). As análises físicas também foram realizadas apenas nas amostras coletadas no período de chuva já que variáveis físicas, como a

análise granulométrica, não são influenciados pela precipitação pluviométrica.

### **3.3. Caracterização físico-química**

As amostras de solo destinadas a caracterização física e química foram ensacadas e remetidas ao Laboratório de Alternativas Viáveis a Impactos em Ecossistemas Terrestres – LAVIET, situado no Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia. No LAVIET as amostras foram secas ao ar livre, desagregadas, passadas em peneira de 2 mm de malha para obtenção de terra fina seca ao ar (TFSA).

A caracterização física contemplou a análise granulométrica, a determinação das densidades real e aparente, umidade a 105°C e capacidade de retenção de água.

A caracterização química, por sua vez, compreendeu a determinação das variáveis: pH em água, condutividade elétrica, teor de carbono total, cátions e alumínio trocáveis ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$ ), teores de metais disponíveis (Fe, Cu, Zn, Mn, Cd, Cr, Ni, Pb), teor de fósforo disponível e nitrogênio total, acidez potencial e enxofre na forma de sulfato.

### **3.3.1. Procedimentos analíticos**

#### **▪ A. Caracterização física**

Para análise granulométrica, através da determinação das frações de areia, silte e argila no solo, foi utilizado o método da pipeta de Robinson, após a dispersão com NaOH (1 molar) e Hexametáfosfato de sódio (36g/L). A fração areia foi separada por tamisação, seca em estufa e pesada para obtenção do seu percentual na amostra. A fração argila foi separada pipetando-se uma alíquota da solução, que em seguida foi seca em estufa e pesada. O silte foi obtido por diferença das outras frações (areia e argila) em relação à amostra original (EMBRAPA,1997).

A classificação textural foi determinada segundo o triângulo de classificação empregado pelo U.S. Department of Agriculture, sistema adotado pela Sociedade Brasileira de Ciência do Solo.

A densidade aparente foi determinada através do método da proveta conforme descrição da Embrapa (1997). Já a densidade real foi conhecida através da adição de 20 g de solo seco em um balão volumétrico de 50mL, e posterior adição de 15 mL de álcool etílico absoluto. Após 15 min. de vácuo e repouso de 1 hora, o volume do álcool foi completado com auxílio de uma bureta e a quantidade de álcool gasta registrada (EMBRAPA,1997). A densidade real foi calculada com base na fórmula:

$$DR = 20 / (35-V)$$

onde:

V = Volume de álcool adicionado após o vácuo.

A umidade a 105°C foi determinada após a transferência das amostras de solo, com a umidade no momento da coleta, para cápsulas de porcelana previamente secas (105-110° C) por 24 horas, e taradas. As amostras foram pesadas, secas em estufa, a 105-110°C, até peso constante e, novamente pesadas. A umidade foi dada pela diferença de peso entre as amostras de solo úmidas e secas (EMBRAPA, 1997).

Determinou-se a capacidade de retenção de água em cadinhos Gooch, previamente saturados em água, secos e pesados. Aos cadinhos foram adicionados 25 g de solo, previamente seco em estufa a 105°C por seis horas. Os cadinhos com o solo foram então submersos em água por um período de doze horas, pesados, e em seguida transferidos para a estufa a 105°C, durante seis horas. Após esfriarem em dessecador, determinou-se novamente o peso (GRISI, 1995).

## ▪ B. Caracterização química

O pH em água foi determinado em suspensão 1:2,5 de solo:água. Foram colocados 10 g de solo em um béquer e em seguida adicionados 25 ml de

água deionizada. A amostra foi agitada por 5' e mantida em repouso por 1 hora. A leitura foi realizada usando-se potenciômetro de eletrodo combinado - WTW digital pH meter (EMBRAPA, 1997).

A condutividade elétrica foi obtida a partir da diluição de 20 g de solo em 50 mL de água deionizada recentemente fervida e esfriada. A mistura foi filtrada à vácuo e a leitura realizada com auxílio de um condutivímetro - GLM 020 - (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 1983).

O teor de carbono total foi determinado através da digestão das amostras com solução sulfocrômica. A dosagem foi realizada por volumetria com sulfato ferroso amoniacal em presença do indicador difenilaminosulfonato de bário. Utilizou-se o fator 1,724 para converter carbono em matéria orgânica (DABIN, 1965).

O nitrogênio total foi determinado por volumetria após destilação a vapor conforme descrito pelo método modificado de Kjeldahl (SERÔDIO e BRANDÃO, 1979). O Método consiste na digestão da amostra com uma mistura ácida de sulfatos de cobre, potássio e selênio e ácido sulfúrico, seguida de destilação da amostra em presença de hidróxido de sódio. Realiza-se em seguida a titulação com ácido sulfúrico (0,1N), em presença de um indicador misto (vermelho de metila e verde de bromocresol).

O cálcio, o magnésio e o alumínio foram extraídos com KCl N na proporção 1:10 e dosados por volumetria, sendo o cálcio e o magnésio titulados com EDTA 0,010 N e o Alumínio trocável com NaOH 0,010 M (EMBRAPA,1997).

O sódio, o potássio, o fósforo e os metais disponíveis (Fe, Cu, Zn, Mn, Cd, Cr, Ni, Pb) foram extraídos com solução de Mehlich I, adotando a

proporção entre solo e solvente de 1:10. O sódio e o potássio foram dosados por fotometria de chama (Micronal B 462). O fósforo foi determinado através do complexo fosfomolibdico por espectrofotometria de absorção molecular (Metertek SP - 462) a 660 nm. Os metais foram dosados por espectrofotometria de absorção atômica (Varian A - 2000) (EMBRAPA, 1997).

Para determinação da acidez potencial (Al + H) usou-se como solução extratora o acetato de cálcio, dosando-se as amostras através da titulação com Hidróxido de sódio em presença de fenolftaleína (EMBRAPA, 1997).

O enxofre sob forma de sulfato foi extraído com acetato de amônio (N) em meio acético e dosado por turbidimetria com cloreto de bário conforme descrito por Vitti (1989). Utilizou-se espectrofotômetro de absorção molecular (Metertek SP - 462) a 420nm.

A Soma de bases (SB) foi calculada através do somatório dos cátions de cálcio, magnésio, sódio, potássio.

### **3.4. Bioindicadores**

As amostras de solo coletadas para determinação das variáveis bióticas (cinco réplicas) foram ensacadas, mantidas sob refrigeração, e remetidas ao LAVIET onde foram secas ao ar livre, desagregadas e passadas em peneira de 2 mm de malha (BANDICK e DICK, 1999). As amostras foram mantidas sob refrigeração ( $\cong 4^{\circ}\text{C}$ ) até o momento da análise. Cada amostra de solo coletada

foi analisada no laboratório em triplicata, visando diminuir a variação dentro da mesma amostra.

As variáveis bióticas (bioindicadores) foram divididas em dois grupos:

- i) o primeiro grupo contemplou a análise da biomassa microbiana e do quociente microbiano;
- ii) o segundo grupo foi composto por variáveis indicadoras da atividade microbiológica. Foram eles: respiração basal, atividade da enzima desidrogenase e atividade da enzima arilsulfatase.

#### **3.4.1. Carbono da biomassa microbiana (CBM)**

As amostras de solo destinadas a análise do CBM tiveram sua capacidade de retenção de água inicialmente determinada (conforme procedimento anteriormente descrito – item 3.3.1 “a”) possibilitando assim a correção da umidade a 40% da capacidade de campo.

A análise do carbono da biomassa microbiana (CBM) foi determinada com base do método de fumigação-extração descrito por Vance e outros (1987). Nesse método o carbono presente no solo, proveniente de organismos com volume menor que 5 a 10  $\mu\text{m}^3$ , é determinado em amostras fumigadas com clorofórmio e em amostras não fumigadas. A fumigação das amostras com clorofórmio rompe as células microbianas, liberando seu constituinte microbiano para o solo e permitindo a sua extração. O carbono da biomassa microbiana é então calculado com base na diferença entre as amostras fumigadas e não fumigadas.

Para a determinação do CBM alguns procedimentos no tratamento das amostras foram adotados (GRISI, 1995):

- i) remoção manual da matéria orgânica visível como raízes e macrorganismos, evitando assim a superestimação da biomassa microbiana;
- ii) peneiramento das amostras em malha de 2mm de abertura possibilitando a homogeneização;
- iii) correção da umidade a 40% da capacidade de campo, teor de umidade onde foram obtidos, por outros autores, os melhores resultados de biomassa microbiana;

De cada amostra de solo rizosférico coletado (5 por estação) foram pesadas três sub-amostras (25g cada) para serem fumigadas (F) e três sub-amostras para serem mantidas sem fumigação (NF). Essas amostras depois de pesadas tiveram sua capacidade de campo corrigida à 40% e foram submetidas a um período de pré-incubação. Durante esse período as amostras foram mantidas por 10 dias, em local umedecido, no escuro, à temperatura ambiente ( $25^{\circ} +$  ou  $- 2^{\circ}\text{C}$ ), em recipiente contendo  $\text{O}_2$  suficiente e na presença de substância que absorvesse o  $\text{CO}_2$  liberado pelos microrganismos, evitando intoxicação dos mesmos (usou-se água de barita). Esse procedimento visou minimizar o impacto do tratamento dado nas amostras.

Após o período de pré-incubação, metade das amostras foi fumigada por 48 horas em um dessecador contendo um béquer com 25mL de clorofórmio livre de etanol. Nesse período a metade das amostras não fumigadas foi mantida em temperatura ambiente.

O Carbono da biomassa microbiana do solo (CBM) foi extraído pela adição de 100mL de uma solução de  $K_2SO_4$  (0.5M) às amostras de solo (25g) F e NF, que foram posteriormente submetidas à agitação horizontal (150rpm) por 30 min.

Após agitação, as amostras foram filtradas, utilizando papel de filtro Whatman nº1.

À alíquota de 8mL do filtrado adicionou-se, em tubo digestor, 2mL de  $K_2Cr_2O_7$  (66,7mM) e 15 mL da mistura de  $H_2SO_4/H_3PO_4$  (2:1 v/v). Esta solução foi digerida em bloco digestor, sob refluxo, por 30min a  $100^\circ C$ . Após esse período a solução foi transferida para erlenmeyer de 125mL e diluída para 50mL. O dicromato residual foi medido por titulação com uma solução de sulfato ferroso amoniacal  $(NH_4)_2Fe(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$  em  $H_2SO_4$  concentrado, na presença do indicador ferroína. Determinou-se o carbono pela redução do dicromato de potássio dos extratos filtrados. A quantidade de CBM foi determinada pela diferença entre o carbono orgânico extraído das amostras de solo F e NF dividida pelo fator de correção  $(K_{ec})^3$  de 0,38 (FRIGHETTO, 2000).

$$CBM = 0,38 E_c$$

Onde:

$E_c = (C\text{-orgânico extraído das amostras de solo fumigadas}) - (C\text{-orgânico extraído das amostras de solo não fumigadas}).$

Os resultados foram expressos em mg C.  $g^{-1}$  de solo seco.

---

<sup>3</sup> O Fator de correção ( $K_{ec}$ ) expressa a fração do carbono da biomassa microbiana recuperada pelo extrator após fumigação (RUIVO e outros, 2001)

### **3.4.2. Quociente microbiano**

O quociente microbiano foi calculado a partir do CBM e o carbono total do solo (C-biomassa/ C orgânico total) e expressou a quantidade de carbono imobilizado na biomassa microbiana (LEONARDO, 2003).

Os resultados foram expressos em % de Carbono microbiano ( $Q_{mic}$ ).

### **3.4.3. Respiração basal**

A análise da respiração basal foi realizada segundo o método descrito em Steubing e outros (2002).

De cada amostra coletada foram retiradas três sub-amostras de 10g de solo seco para determinação da respiração basal. A estas amostras foi adicionada água destilada na proporção adequada para se obter amostras com 40% da capacidade de campo. As sub-amostras foram colocadas em copos de polietileno de capacidade de 10mL e mantidas suspensas no interior de recipientes de vidro (500mL), contendo 25mL de água de barita, solução capaz de absorver o  $CO_2$  emanado do solo. Os recipientes foram hermeticamente fechados e mantidos por 24 horas no escuro e à temperatura ambiente. Após a incubação, as sub-amostras de solo foram retiradas e à solução de água de barita, contendo o hidróxido de bário que não reagiu com o  $CO_2$ , foram adicionadas 3 gotas de fenolftaleína sendo a solução em seguida titulada com HCL. O cálculo usado para determinar a respiração basal de 100g de solo seco foi:

$$\text{CO}_2 \text{ (mg.24h)} = (a-b) \cdot 2,2 \cdot 10/p.t$$

Onde:

a = volume do HCL gasto no controle (recipiente com água de barita sem solo)

b = volume do HCL gasto nas sub-amostras de solo

p = peso das sub-amostras

t = tempo de incubação

Os resultados foram expressos em mg de C-CO<sub>2</sub>.g<sup>-1</sup> de solo seco. 24 horas<sup>-1</sup>

#### **3.4.4. Atividade da desidrogenase**

Os procedimentos empregados na determinação da atividade da desidrogenase seguiram o método descrito por Cassida e outros (1964). Este método está baseado na utilização do cloreto de trifeniltetrazólio (TTC) como acceptor artificial de elétrons que, a partir da ação da enzima desidrogenase, é reduzido a trifeniltetrazólio formazan (TTF), um precipitado insolúvel em água de coloração rósea, que pode ser medido espectrofotometricamente.

Para determinar a atividade da desidrogenase, 20g de cada amostra de solo coletado foi misturada a 0,2g de CaCO<sub>3</sub>. Dessa mistura foram retiradas três sub-amostras, de 2,5g cada, que foram transferidas para tubos de ensaio onde foram adicionados 1ml de água destilada e 2,5mL de TTC a 3%

em água. Os tubos foram vigorosamente agitados e incubados em banho-maria por 24 horas à temperatura de 37°C. Após esse período, procedeu-se a extração com 5mL de metanol. O sobrenadante foi retirado com auxílio de pipetas de Pasteur e transferido para novos tubos de ensaio, onde foram adicionados mais 5mL de metanol. Os tubos foram centrifugados por 10min (3400rpm). A intensidade da cor do sobrenadante foi determinada em espectrofotômetro (485nm) tendo metanol como branco.

A concentração do TTF foi determinada em mg por comparação à curva padrão de formazan em metanol.

Os resultados foram expressos em  $\mu\text{l}$  de  $\text{H.g}^{-1}$  de solo seco.

### **3.4.5. Atividade da arilsulfatase**

A determinação da atividade da arilsulfatase foi realizada segundo o método proposto por Tabatabai e Bremner (1970). O método baseia-se na determinação espectrofotométrica do p-nitrofenol (coloração amarela) formado após a incubação do solo com p-nitrofenil sulfato por 1h a 37°C.

Foram tomadas três sub-amostras (1g cada) das amostras de solo coletadas. As sub-amostras foram transferidas para erlenmeyers de 50mL e a estas foram adicionados 4mL do tampão de acetato de sódio, 0,25mL de tolueno e 1mL da solução de p-nitrofenil sulfato, em seguida agitadas e mantidas em banho-maria por 1 hora à temperatura de 37°C. Após a incubação foram adicionados 1mL da solução de Cloreto de cálcio (0,5M) e 4mL da solução de Hidróxido de sódio (0,5M). A solução foi agitada e filtrada

em papel de filtro whatman nº12. O filtrado foi transferido para cubeta e a leitura realizada em espectrofotômetro (400nm). A concentração do p-nitrofenol do filtrado foi determinada por comparação com a curva de calibração feita com o padrão de p-nitrofenol nas concentrações 0, 10, 20, 30, 40 e 50µg. Os resultados foram expressos em µg de p-nitrofenol.g<sup>-1</sup> de solo seco. hora<sup>-1</sup>.

### **3.5. Análises estatísticas**

#### ***3.5.1. Efeito da poluição atmosférica nas variáveis abióticas do solo.***

Com o objetivo de testar o pressuposto de que com o afastamento da principal fonte emissora as variáveis associadas, ao tipo de poluição atmosférica encontrada na área estudada, são alteradas, tendo algumas seus teores elevados (pH e soma de bases) e outras seus teores reduzidos (matéria orgânica, teor de cobre e sulfato), realizou-se cinco análises de regressão não-linear exponencial.

As análises de regressão não-linear foram realizadas tomando-se como variável independente (eixo "X") as diferentes distâncias estabelecidas e como variáveis dependentes (eixo "Y") aquelas associadas à poluição tanto de maneira direta (teor de cobre e sulfato) como de maneira indireta (pH, matéria orgânica e soma de bases). As análises foram rodadas no programa STATISTICA (data analysis software system), versão 6.

As análises de regressão são utilizadas quando se deseja identificar possíveis relações entre variáveis a partir da construção de um diagrama em um sistema de eixos cartesianos. A observação do diagrama dará, através dos valores de “p”, “r<sup>2</sup>” e “r”, tanto a idéia da distribuição como também da relação de dependência entre as variáveis ao nível de 5% de significância (RODRIGUES, 2002).

Utilizando ainda as variáveis associadas à poluição, foi realizada uma análise de variância multivariada one-way (MANOVA ONE-WAY). Essa análise teve como propósito testar se o padrão observado no primeiro período de amostragem (seca) se repetia no segundo período (chuvoso), principalmente no que se refere às variáveis poluentes, o que poderia indicar a existência de um forte nos dados.

A MANOVA one-way é um procedimento inferencial multivariado que permite testar, ao mesmo tempo, diferenças entre dois ou mais grupos (no caso período seco e chuvoso) em função das médias obtidas de todas as variáveis selecionadas (FADIGAS, 2002). Estabeleceu-se o  $\alpha$  de 5%.

### ***3.5.2. Flutuação dos bioindicadores ao longo do gradiente***

Para os bioindicadores, foram gerados gráficos de dispersão, que possibilitaram a visualização da flutuação do bioindicador à medida que a distância da principal fonte emissora era aumentada.

### **3.5.3. Comparação da resposta dos bioindicadores frente às variáveis ambientais e poluentes**

Com o intuito de saber se os bioindicadores testados (CBM, Respiração basal, quociente microbiano, atividade da desidrogenase e da arilsulfatase) flutuaram em função de alterações no ambiente ou em função da poluição, as variáveis mensuradas foram divididas em quatro categorias: i) variável biótica 1 (bioindicadora de biomassa – CBM e quociente microbiano); ii) variáveis bióticas 2 (bioindicadoras de atividade microbiana - Respiração basal, atividade da desidrogenase e da arilsulfatase); iii) variáveis ambientais (condutividade, nitrogênio, fósforo, teor de alumínio, acidez potencial, teor de ferro, zinco, manganês, cádmio, chumbo, cromo e níquel); iv) variáveis poluentes (pH, matéria orgânica, soma de bases, teor de sulfato e cobre).

Para cada categoria foi realizada uma Análise de Componentes Principais (ACP), perfazendo então um total de quatro ACP.

A ACP é uma técnica multivariada de ordenação amplamente empregada pela ecologia (VALENTIN, 2000; CLARKE e WARWICK, 1994; PIELOU, 1984) para sumarizar e integrar dados multivariados. Essa técnica permite obter, a partir de um conjunto de variáveis originais, eixos que expressam a variabilidade dos dados originais, sendo estes tanto mais eficientes quanto maior for a sua estrutura de correlação com as variáveis originais.

O objetivo principal da ACP é, portanto, reduzir a dimensão dos dados originais, retirando informações redundantes provenientes de variáveis que estejam correlacionadas. Assim as variáveis originais são reduzidas a umas

poucas novas variáveis independentes, que explicam a informação relevante, simplificando com isso, a interpretação de dados e eliminando informações desnecessárias. O sistema original de coordenadas é transformado, e os componentes principais (ou fatores), que explicam a maior parte da variabilidade dos dados, são representados pelos eixos cartesianos de modo que o eixo da primeira componente esteja na direção do máximo de variância contida nos dados (eixo 1) e o segundo, ortogonal ao primeiro, deverá explicar a maior quantidade de variância restante. A quantidade de eixos retidos e representados deverá ser determinada pelo pesquisador com base na quantidade de variância explicada pelo modelo (POPI e SENA, 2001).

Assim, em um gráfico bidimensional, por exemplo, estão representados dois componentes principais (ou fatores) que demonstram uma variabilidade suficiente para indicar algum padrão a ser interpretado. Vale ressaltar que os componentes principais da análise não são relacionados entre si o que quer dizer que a variação dos dados explicada por um fator, não o é por um segundo, e assim sucessivamente, ou seja, cada fator explica diferentes e excludentes fontes ou causas de variação dos dados (BINI, 1999).

A ACP foi aplicada aos valores médios das cinco amostras coletadas em cada uma das nove estações. Para assegurar que as variáveis selecionadas para cada ACP contribuíssem igualmente para o modelo a ser gerado, os dados foram centralizados e normalizados para média zero e variância um. A ACP foi realizada pelo programa CANOCO versão 4.5.

Para cada ACP realizada o primeiro eixo (eixo de maior explicabilidade) foi selecionado e utilizado em duas análises de regressão múltipla: a primeira teve como variável dependente a componente principal (eixo 1) dos

bioindicadores de biomassa microbiana (CBM e  $Q_{mic}$ ) e como variáveis independentes os componentes principais (eixos 1) selecionados das variáveis ambientais e poluentes; a segunda análise de regressão múltipla teve como variável dependente a componente principal (eixo 1) dos bioindicadores de atividade microbiana (respiração basal, atividade da desidrogenase e da arilsulfatase) e como variáveis independentes os componentes principais (eixos 1) selecionados das variáveis ambientais e poluentes.

A análise de regressão múltipla permite relacionar, ao mesmo tempo, o comportamento de uma variável dependente com duas ou mais variáveis independentes. As análises de regressão múltipla foram realizadas no programa GraphPad InStat versão 3.00 para Windows 95 (GraphPad Software, San Diego California USA, [www.graphpad.com](http://www.graphpad.com)).

#### ***3.5.4. Interação entre os bioindicadores e as variáveis químicas e poluentes.***

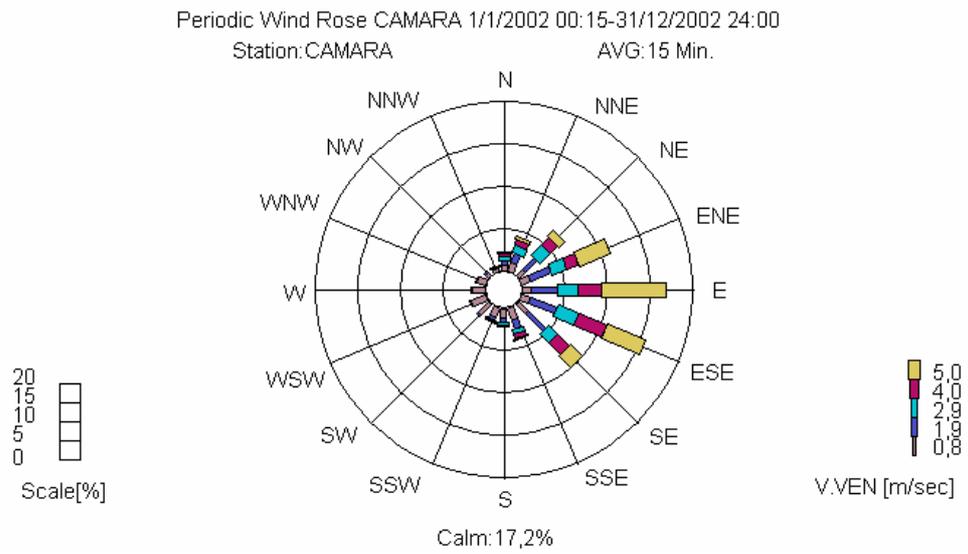
A ACP também foi utilizada para observar as interações entre os bioindicadores e as variáveis ambientais e poluentes. Para tanto, foi realizada uma ACP com o conjunto de todas as variáveis.

#### **4. RESULTADOS E DISCUSSÕES**

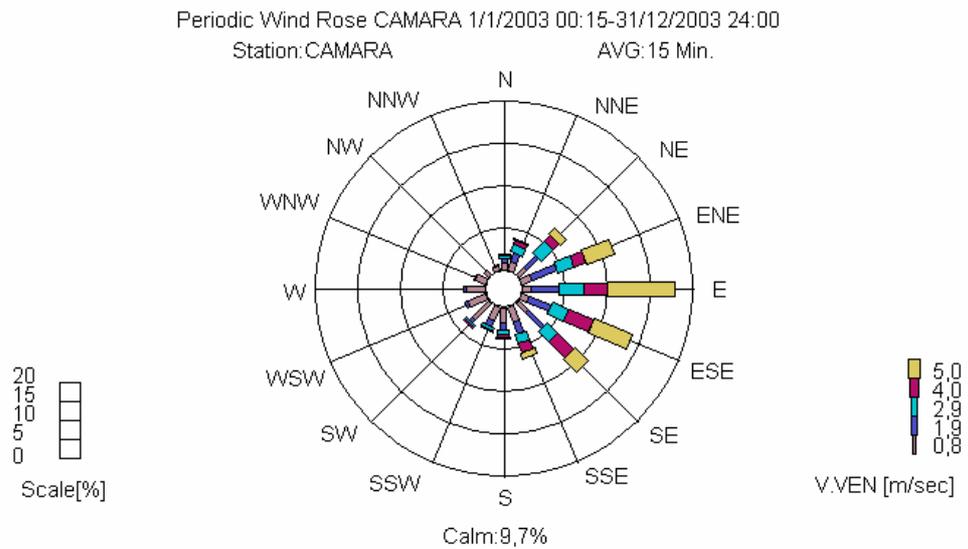
---

Os dados de direção e velocidade do vento, para os anos de 2002 e 2003 encontram-se sumarizados nas figuras 7 e 8.

Observa-se que, durante os dois períodos de amostragem, a direção predominante dos ventos foi leste (EW) e leste-sudeste (ESEW). Dessa forma, o transecto traçado para este estudo, que levou em consideração dados levantados pela Caraíba Metais SA (CSD-GEOKLOCK Geologia e Engenharia Ambiental Ltda, 1999) para anos anteriores (1997/1984 – SE; 1985 - S-SE; 1986/1990 – E; 1990/1995 – SE), encontra-se na direção preferencial dos ventos, estando as estações de coleta sob influência direta das emissões atmosféricas provenientes da metalúrgica, principal fonte emissora.



**Figura 7.** Direção predominante do vento para o ano de 2002. Dados provenientes da Estação de monitoramento do ar da CETREL, localizada em Camaçari.



**Figura 8.** Direção predominante do vento para o ano de 2003. Dados provenientes da Estação de monitoramento do ar da CETREL, localizada em Camaçari.

#### 4.1. Caracterização física

Os resultados encontrados a partir das análises granulométrica, umidade, densidades real e aparente e capacidade de retenção de água das amostras de solos, bem como a classificação textural estão apresentados na tabela 3.

De maneira geral os solos apresentaram textura arenosa, elevada densidade e baixa capacidade de retenção de água, coerentes com a classificação dos solos encontrados na área de estudo.

**Tabela 3.** Variáveis físicas determinadas no solo coletado ao longo das estações estudadas.

Estações	Areias (fina e grossa)	Argila g.Kg <sup>-1</sup>	Silte	Umidade	DR g/cm <sup>3</sup>	DA	CRA g.Kg <sup>-1</sup>	Classificação <sup>1</sup>
1	689	99	212	7,0	2,34	1,37	367,87	Franco Arenoso
2	889	82	29	7,8	2,28	1,47	303,36	Areia
3	709	253	38	6,6	2,35	1,39	290,08	Franco Argilo Arenoso
4	799	114	86	7,8	2,54	1,37	340,96	Franco Arenoso
5	843	97	60	7,8	2,58	1,35	332,36	Areia Franca
6	824	127	49	10,4	2,52	1,41	360,51	Areia Franca
7	795	147	58	9,6	2,53	1,29	481,93	Franco Arenoso
8	744	160	96	8,8	2,49	1,34	404,59	Franco Arenoso
9	835	79	86	6,8	2,61	1,37	450,74	Areia Franca

1 - Classificação segundo Sociedade Brasileira de Ciências do Solo

DR - Densidade real; DA - Densidade aparente; CRA - Capacidade de retenção de água.

Distância das estações da principal fonte emissora (m): 1 - 1000; 2 - 1700; 3 - 2500; 4 - 3500; 5 - 4500; 6 - 5500; 7 - 6000; 8 - 7000; 9 - 8800.

Os dados obtidos confirmam as afirmações, feitas por Veloso (1991), que a região estudada encontra-se situada no Sistema Edáfico de Primeira Ocupação (Formações pioneiras) caracterizado por solos de textura arenosa, ácidos, de alta permeabilidade e grande susceptibilidade à erosão, caracterizando um ambiente de extrema fragilidade natural.

#### **4.2. Caracterização química**

As tabelas 4 e 5 trazem os resultados analíticos da caracterização química das amostras de solo coletadas nos períodos seco e chuvoso, respectivamente.

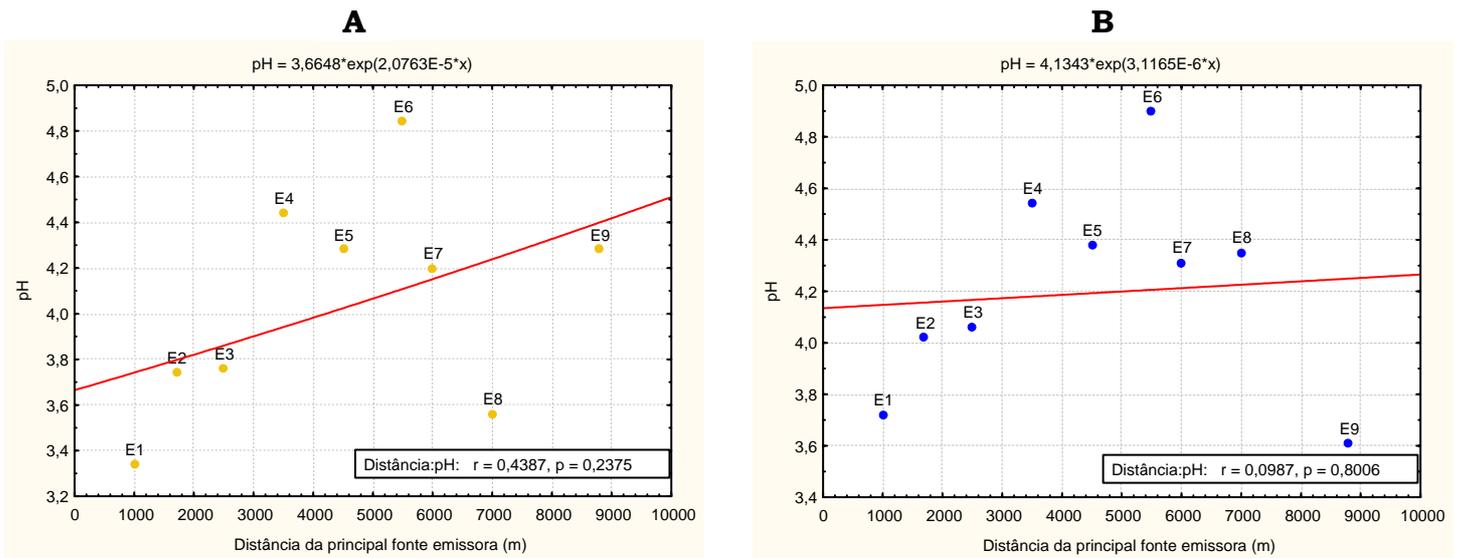
Serão discutidos aqui o comportamento das variáveis pH, matéria orgânica, soma de bases (SB), teor de enxofre (sulfato) e o teor dos metais pesados que possam estar associados à contaminação causada pela atividade da metalúrgica, ou seja, aqueles que apresentaram elevada concentração nos pontos próximos à fonte emissora. Pressupõe-se que estas variáveis possam fornecer indícios do estado de conservação ou degradação do solo coletado na área. As demais variáveis servirão tanto de auxílio para interpretação dos resultados das análises químicas como para interpretação do comportamento dos bioindicadores, a ser discutido no próximo item (3.4).

As análises de **pH** das amostras coletadas nos dois períodos revelaram um solo muito ácido (TOMÉ, 1997) com valores compreendidos entre 3,34 a 4,84 no período seco e 3,72 e 4,90 no período chuvoso. No período seco os menores valores de pH estiveram associados às estações mais próximas da principal fonte emissora, ou seja, às estações 1, 2 e 3, além da estação 8,

distante em aproximadamente 7 Km da fonte emissora. Já no período chuvoso os menores valores foram encontrados nas estações 1 e 9 (Figura 9).

A análise de regressão não linear exponencial apresentou, para esta variável, valores de “ $r^2$ ” baixos ( $r^2 = 0,192$  para o período seco e  $r^2 = 0,009$  para o período chuvoso) havendo, portanto, muita variabilidade no pH que não é explicada pela distância da fonte emissora. O valor de “ $p$ ” encontrado para os dois períodos ( $p=0,2375$  no seco;  $p=0,8006$  no chuvoso), indicou que o “ $r$ ” ou seja, a relação entre pH e distância não foi significativa, considerando a probabilidade adotada de  $p<0,005$ . Como se trata de uma área sob influência de emissões de  $SO_2$  (uma das causas da acidificação de solos de áreas industriais) esperava-se que o pH aumentasse à medida que as estações se afastassem da fonte emissora. Esse padrão não foi observado, de modo que talvez a grande flutuação nos valores de pH esteja não apenas associada à atividade da metalúrgica, mas também aos tipos de solo coletados e aos diferentes usos observados para os mesmos (ver tabela 2).

O resultado da análise de variância multivariada One-way – MANOVA One- Way (Figura 13) revelou que o pH não variou nos períodos estudados ( $p=0,05121$ ). O pH tende, nos períodos de chuva, a diminuir, pois trata-se de uma área sob influência de emissões de  $SO_4$  que ao entrar em contato com a água presente no solo é convertido em ácido sulfúrico (LAWRENCE, 2002). Entretanto, para o espaço de tempo estudado, essa diferença não foi significativa.



**Figura 9.** Resultado da análise de regressão não-linear realizada entre as distâncias e o pH nos períodos seco (A) e chuvoso (B).

Resultados semelhantes de pH foram obtidos por Klumpp e outros (2003) ao analisarem amostras de solo coletados nas Estações Sítio e Lamarão, situadas no transecto estudado nesse trabalho. Os autores atribuíram, os baixos valores obtidos para o pH, à possível acidificação provocada por emissões industriais de  $\text{SO}_2$ .

Lima e outros (2002) ao estudarem o solo do Morro da Agonia, elevação situada próxima à metalúrgica, no Pólo Petroquímico de Camaçari, encontraram pH em torno de 3,47. Segundo os autores o pH baixo estava associado às atividades da metalúrgica e pode ter influenciado na deficiência de fósforo, nos baixos teores de cálcio, magnésio e potássio encontrados na área.

Nesse trabalho, o pH ácido parece estar associado tanto à atividade da metalúrgica, já que foram observados baixos valores de pH próximos à mesma, como ao tipo de solo encontrado na região, já que o pH se mantém

baixo ao longo de todo transecto. De acordo com Vieira (1988), os solos podzois hidromórficos, como encontrados na maior parte da área estudada, são solos que apresentam elevada acidez.

O pH é um índice capaz de informar sobre as condições gerais de fertilidade do solo, entretanto, na área estudada, ele pode ser um indicador da acidificação do solo provocada por emissões atmosféricas ricas em SO<sub>2</sub>, comum em processos metalúrgicos, já que esse gás, em contato com a água do solo, forma ácido sulfuroso que é rapidamente convertido em ácido sulfúrico.

De acordo com Pompéia (1994), a acidificação do solo tem efeito direto tanto na lixiviação de macronutrientes (Ca, Mg e K) como na disponibilização de metais tais como Fe, Cu, Mn e Zn que, ao se tornarem disponíveis, ficam susceptíveis aos processos de lixiviação, o que poderá ocasionar tanto a perda da fertilidade do solo (no caso dos macro e micronutrientes) como o aumento da possibilidade de contaminação do aquífero (no caso dos metais pesados).

O pH ácido afeta ainda, de maneira indireta e negativa, a microbiota do solo, pois, em solos com baixos valores de pH, elementos como Fe, Al e Mn atingem níveis tóxicos. A elevação da concentração do alumínio, por exemplo, afeta negativamente processos como a germinação e o crescimento do tubo germinativo de esporos de fungos micorrízicos (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002).

A **matéria orgânica** neste trabalho se distribuiu, ao longo das estações, de maneira semelhante tanto no período seco quanto no período chuvoso (Figura 10), com valores médios em torno de 25,14 g.Kg<sup>-1</sup> no período

seco e  $26,50 \text{ g.Kg}^{-1}$  para o período chuvoso (Tabelas 4 e 5), conforme comprova os resultados das análises de regressão não linear exponencial. Nessas análises os valores de “ $r^2$ ” encontrados foram  $r^2= 0,337$  no seco e  $r^2= 0,054$  no chuvoso, mostrando que a flutuação da matéria orgânica do solo se deve a outro fator que não a distância, provavelmente se deve a variação natural já que se tratam de tipos diferentes de solo. Os valores de “ $p$ ” obtidos ( $p=0,1014$  no período seco e  $p=0,5456$  no período chuvoso), maiores que  $0,005$ , indicaram não haver relação significativa entre o teor de matéria orgânica e a distância da fonte emissora.

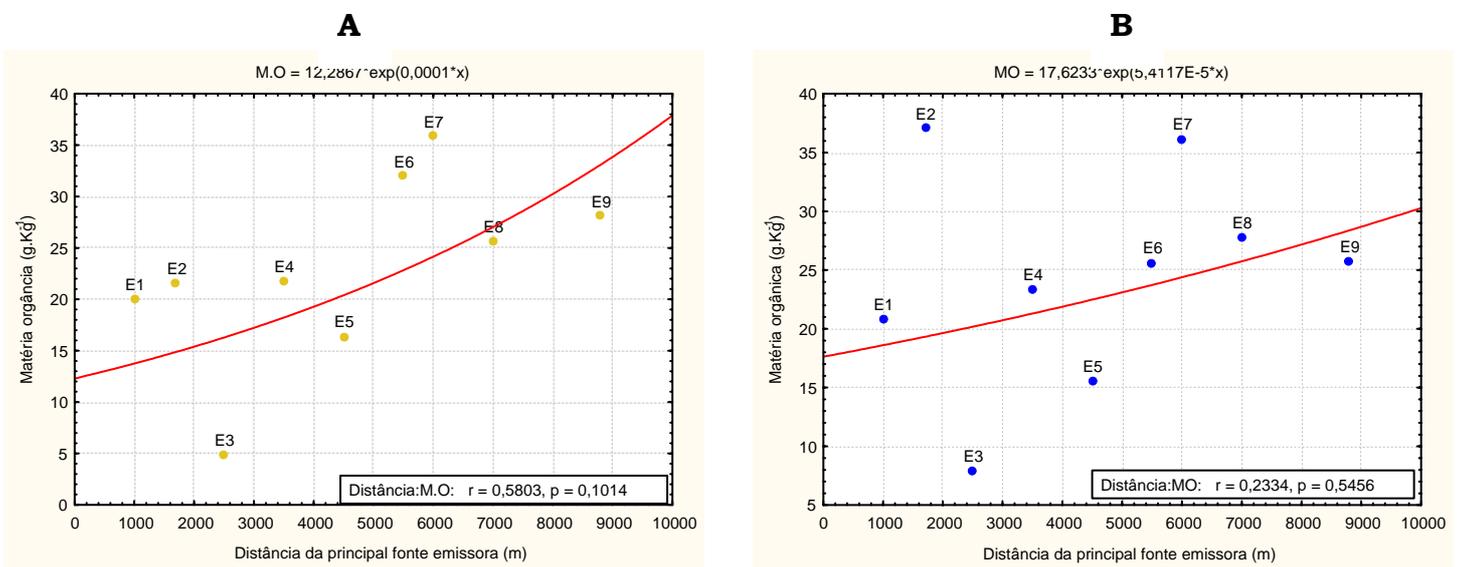
Os resultados encontrados para essa variável estão próximos dos valores normalmente encontrados em solos tropicais, que segundo Tomé (1997) deve variar entre  $25$  a  $30 \text{ g.Kg}^{-1}$ .

Em ambos os períodos, a estação 3 exibiu valores de matéria orgânica significativamente mais baixos que os demais ( $4,84 \text{ g.Kg}^{-1}$  no período seco e  $7,94 \text{ g.Kg}^{-1}$  no período chuvoso). Esses resultados estão relacionados com a característica do solo dessa estação, naturalmente pobre, conforme comprovam as análises das outras variáveis.

O resultado da MANOVA One-way revelou que, no espaço de tempo estudado, a matéria orgânica dos solos amostrados não sofreu alteração significativa ( $p= 0,05121$ ) (Figura 13).

Klumpp e outros (2003) encontraram, em solos coletados na mesma área, resultados semelhantes ( $23,56 \text{ g.Kg}^{-1}$  para a estação Sítio, localizada aproximadamente a  $2 \text{ Km}$  da metalúrgica, e  $14,45 \text{ g.Kg}^{-1}$  para estação

Lamarão situada à aproximadamente 5 Km da metalúrgica)<sup>4</sup>. Entretanto, os autores compararam estes resultados aos obtidos com solo coletado em Alagoinhas, considerada área controle (área livre da influência de emissões industriais). Em Alagoinhas eles encontraram 10,14 g.Kg<sup>-1</sup> de matéria orgânica, concluindo que na estação Sítio, a matéria orgânica se encontrava em acúmulo, como conseqüência provável da inibição do processo de decomposição, provocada pelas emissões atmosféricas da metalúrgica.



**Figura 10.** Resultado da análise de regressão não-linear realizada entre as distâncias e o teor de matéria orgânica nos períodos seco (A) e chuvoso (B).

Embora estudos revelem que emissões atmosféricas ricas em dióxido de enxofre e metais atuam desfavoravelmente na atividade microbiana, afetando os processos de decomposição e causando acúmulo de matéria orgânica no solo (PRESCOTT e PARKINSON, 1985; BAATH, 1989), os resultados obtidos nesse estudo, através da análise do teor de carbono do solo, não demonstram a existência de indícios de interrupção do processo de

<sup>4</sup> A Estações Sítio e Lamarão estudadas por Klumpp *et al* (2003) correspondem, nesse estudo, às estações 2 e 5, situadas à 1700 m e 4500 m da fonte emissora, respectivamente.

ciclagem, já que não foi observado, nos pontos mais próximos à fonte, acúmulo de matéria orgânica no solo em comparação aos demais. Entretanto, observa-se, na área, grande acúmulo de serrapilheira, indicando danos na macrofauna associada à mesma.

Figueiredo (2004) ao estudar o efeito das emissões atmosféricas na estrutura da comunidade de artrópodes associada à serrapilheira, encontrou para a mesma área de estudo, redução nos índices de diversidade, riqueza e equitabilidade, nos pontos mais próximos à fonte emissora, revelando o efeito adverso das emissões atmosféricas na estrutura da comunidade de artrópodes responsável por parte do processo de ciclagem de matéria orgânica.

A **soma de bases (SB)** das amostras de solo estudadas encontra-se nas tabelas 4 e 5.

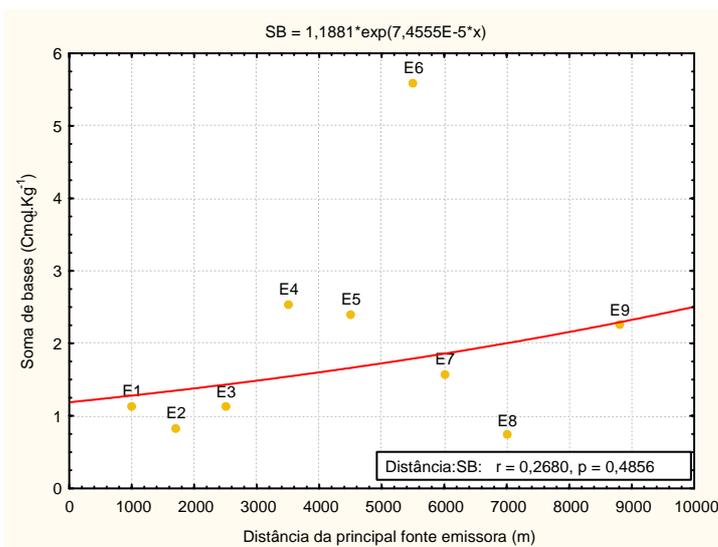
As estações 1, 2 e 3 tanto no período seco como no chuvoso, apresentaram, respectivamente, os menores valores de SB: 1,142; 0,84; 1,13  $\text{Cmol}_c.\text{Kg}^{-1}$ , no período seco e 0,39; 0,21; 0,40  $\text{Cmol}_c.\text{Kg}^{-1}$  no período chuvoso.

Embora haja um gradiente, com os valores de SB aumentado com a distância da principal fonte, a análise de regressão não linear exponencial resultou nos valores de “ $r^2$ ” menores que 1 ( $r^2 = 0,07$  no seco;  $r^2 = 0,379$  no chuvoso mostrando que a variação na soma de bases não é bem explicada pela distância, da mesma forma que a relação entre elas não foi significativa ( $p=0,4856$ , no seco e  $p= 0,0771$ , no chuvoso).

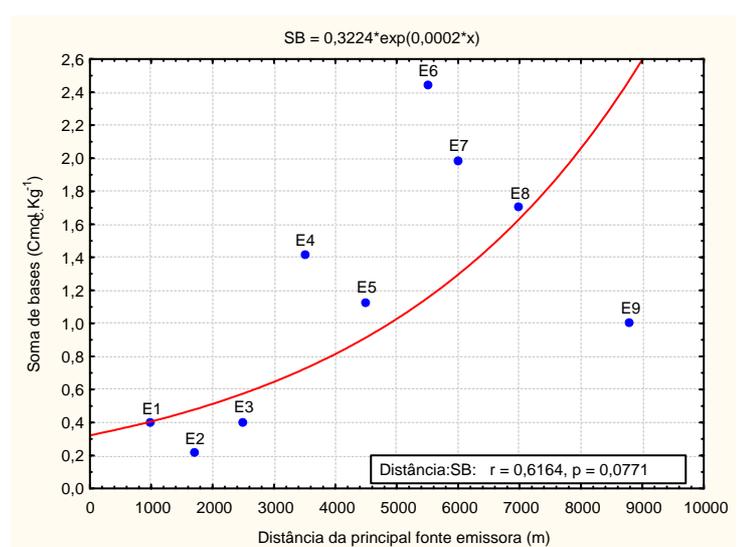
A análise da soma de bases fornece um indício tanto do estado geral de fertilidade do solo, em termos de disponibilização de macronutrientes, já

que são somados os cátions úteis como cálcio, magnésio, sódio e potássio, quanto da existência de processos de lixiviação. Ao observar a figura 11, percebe-se que os menores valores de SB foram encontrados nas estações próximas à metalúrgica, onde, provavelmente em função das emissões de  $\text{SO}_2$  e conseqüente acidificação do solo, os colóides do solo encontram-se ocupados (bloqueados), na sua maioria, por cátions  $\text{H}^+$ . Como conseqüência, os cátions de  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$  foram lixiviados do solo, num processo denominado intemperismo químico (POMPÊIA, 1994). Esse processo é intensificado por ocasião das chuvas, como pode ser observado na figura 11, embora a análise de variância multivariada realizada (figura 13) não tenha evidenciado diferença significativa entre os períodos seco e chuvoso ( $p=0,05121$ ). As conseqüências do intemperismo químico são a perda da fertilidade e da estabilidade dos agregados do solo favorecendo os processos erosivos, o que pode ser observado na área.

A



B

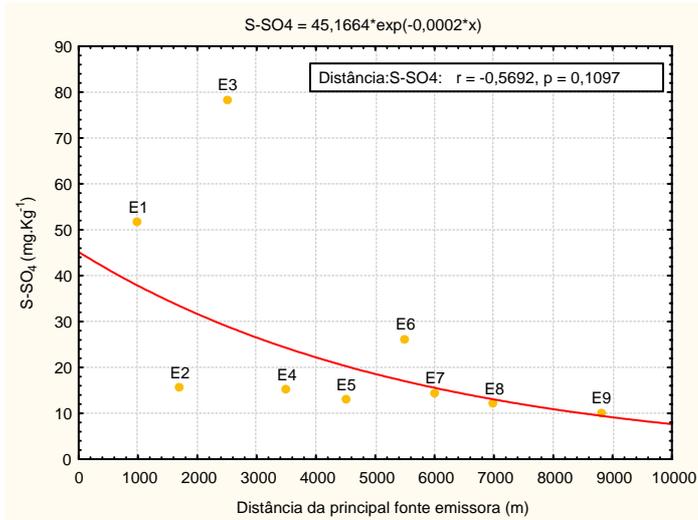
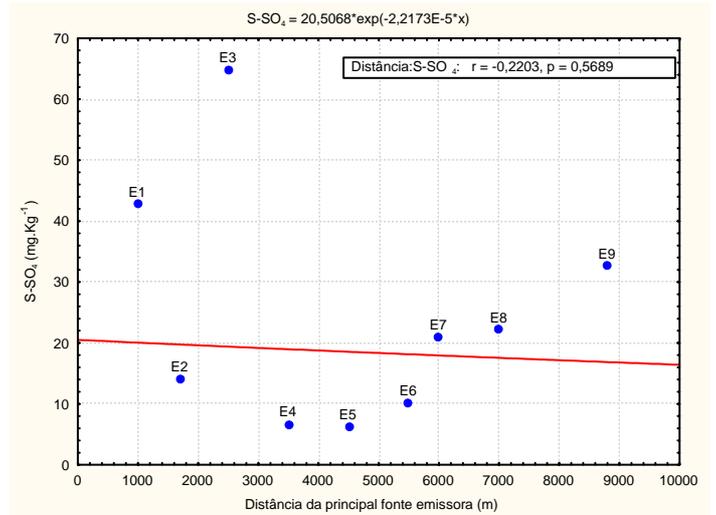


**Figura 11.** Resultado da análise de regressão não-linear realizada entre as distâncias e a soma de bases nos períodos seco (A) e chuvoso (B).

As tabelas 4 e 5 trazem os teores de enxofre, na forma de **sulfato**, encontrados nos solos coletados ao longo das estações.

De maneira geral, o enxofre esteve acima do valor normalmente encontrado em solos tropicais que, segundo Vitti (1988), está em torno de 5 mg.Kg<sup>-1</sup>. Em ambos os períodos estudados este elemento apresentou comportamento semelhante (Figura 12) com picos nas estações 1 (51,60 mg.Kg<sup>-1</sup> no período seco e 42,80 mg.Kg<sup>-1</sup> no chuvoso) e 3 (78,40 mg.Kg<sup>-1</sup> no período seco e 64,80 mg.Kg<sup>-1</sup> no chuvoso), sendo que o fator distância não apresentou uma boa explicação na flutuação da variável ( $r^2 = 0,3239$ ; no seco e  $r^2 = 0,0485$ , no chuvoso). O valor de p da análise de regressão exponencial não linear ( $p=0,1095$ , no seco e  $p=0,5689$ , no chuvoso) indica que não há relação significativa entre as variáveis teor de sulfato e distância.

O teor de sulfato no solo foi menor no período chuvoso embora a MANOVA One-way não tenha apresentado diferença significativa entre os períodos –  $p= 0,5121$  (Figura 13). A variação no teor de sulfato no solo no período chuvoso pode estar associada à susceptibilidade do sulfato a processos de lixiviação que fazem com que o mesmo tenha um tempo de residência curto, principalmente nas camadas superficiais do solo (LAWRENCE, 2002).

**A****B**

**Figura 12.** Resultado da análise de regressão não-linear realizada entre as distâncias e o teor de sulfato dos solos coletados nos períodos seco (A) e chuvoso (B).

O incremento no teor de enxofre, principalmente nas estações mais próximas à metalúrgica, era esperado, visto que se trata de uma área industrial caracterizada por emissões atmosféricas ricas em SO<sub>2</sub>.

O baixo teor de enxofre encontrado na estação 2 (situada à 1700 m da fonte emissora) pode está associado ao fato de, no transceto estabelecido, a mesma encontrar-se, deslocada, não estando portanto na direção predominante das emissões gasosas. Já o elevado teor de enxofre da estação 3 pode estar associado à posição desta em relação à direção preferencial do vento e em parte a característica física do solo que apresentou elevado teor de argila, característica física responsável pela retenção do sulfato no solo, dificultando sua perda por lixiviação.

Teores elevados de enxofre em solos coletados nas proximidades de metalúrgicas também foram encontrados por outros autores. Almeida (2000) estudando metabólitos indicadores de estresse causado por poluentes

atmosféricos em árvores de *Mangifera indica*, na área do Pólo Petroquímico de Camaçari encontrou, no solo, teores de enxofre de 13,21 mg.Kg<sup>-1</sup> para a estação Sítio, localizada à aproximadamente 2Km da fonte emissora; 14,73 mg. Kg<sup>-1</sup> para a estação Lamarão, situada à aproximadamente 5Km e 1,75 mg. Kg<sup>-1</sup> para a estação Controle (sem influência de emissões industriais). A autora atribuiu o incremento no teor de enxofre à proximidade das estações Sítio e Lamarão à metalúrgica.

Lima e outros (2002) ao analisarem solo coletado no Morro da Agonia (Pólo Petroquímico de Camaçari) encontraram níveis bastante elevados de enxofre (106,33 mg.Kg<sup>-1</sup>), que atribuíram à atividade da metalúrgica, na qual emissões de fuga de SO<sub>2</sub> são liberadas para a atmosfera causando não só o excesso de enxofre nos solos como a acidificação dos mesmos.

Klumpp e outros (2003) também encontraram teores de enxofre significativamente maiores para solos coletados no Pólo Petroquímico de Camaçari (média de 86,79 mg.Kg<sup>-1</sup>) em comparação a solos coletados em zona rural (47,54 mg.Kg<sup>-1</sup>).

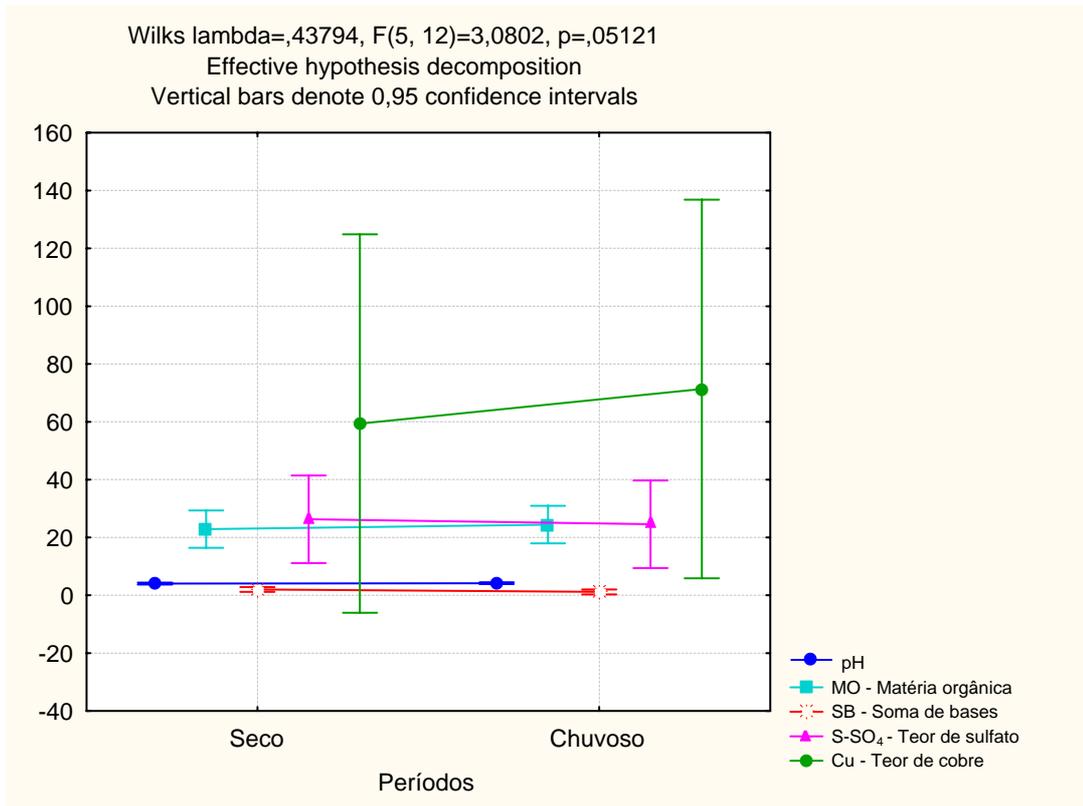
O enxofre ocorre no solo tanto em formas orgânicas como inorgânicas, sendo a litosfera sua principal fonte natural. Entretanto, atividades antrópicas, como a metalurgia, fazem com que a principal via de entrada de enxofre no sistema solo-planta seja de origem atmosférica (PIERZYNSKI e outros 1994).

Somadas aos danos diretos da exposição dos vegetais aos gases ricos em dióxido de enxofre, as emissões das metalúrgicas também conduzem a severa acidificação de solos (GUNN e outros, 1995). A depender das características físicas e químicas do poluente e do solo, pode ocorrer maior

ou menor precipitação/solubilização do contaminante. Neste processo, o pH do solo, é um fator determinante, além de outros fatores importantes tais como: teor de matéria orgânica (quanto mais carbono mais enxofre orgânico e mais S-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>); relação C/S (menor que 200, o sulfato se acumula; maior que 400, há imobilização do sulfato); relação N/S (deve estar em torno de 10:1 ou menos); aeração; temperatura; umidade; tipo e teor de minerais; competição com outros ânions pelo sítio de adsorção; tipo de cátion na solução e no complexo sortivo do solo e sua concentração na solução do solo (COSTA, 1980; ALMEIDA e outros, 1993).

Em caso de acidificação do solo, provocada pelas emissões de dióxido de enxofre, os metais, mais especificamente o Cu, Cd, Hg, Pb e Zn, tornam-se mais disponíveis, favorecendo a lixiviação dos mesmos para o aquífero e cursos d'água, contaminando-os.

A deposição ácida no solo também provoca impactos na sua biota. De maneira geral a acidificação atua interferindo na integridade estrutural do solo, prejudicando os processos de formação de agregados; decomposição e ciclagem de nutrientes; fixação de nitrogênio, além de outros tantos processos desempenhados pela biota do solo (MAXWELL, 1995).



**Figura 13.** Comparação de médias das variáveis associadas à poluição atmosférica nos períodos seco e chuvoso, realizada pela MANOVA One-way.

**Tabela 4.** Caracterização química do solo coletado no período seco.

<b>b. VARIÁVEIS AVALIADAS</b>	<b>ESTAÇÕES DE COLETA</b>								
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>
<b>Distância da fonte emissora (m)</b>	<b>1000</b>	<b>1700</b>	<b>2500</b>	<b>3500</b>	<b>4500</b>	<b>5500</b>	<b>6000</b>	<b>7000</b>	<b>8800</b>
PH	3,34	3,74	3,76	4,44	4,28	4,84	4,20	3,56	4,28
Condutividade elétrica ( $\mu\text{S.cm}^{-1}$ )	118,00	63,20	61,00	109,20	75,00	169,60	80,80	58,80	126,60
Matéria Orgânica (g.Kg <sup>-1</sup> )	19,98	21,50	4,84	21,72	16,40	31,96	35,84	25,60	28,08
Nitrogênio (g.Kg <sup>-1</sup> )	0,66	0,78	0,26	1,02	0,74	1,43	1,27	1,07	1,22
P (mg.Kg <sup>-1</sup> )	6	7	1	3	3	7	2	2	2
Ca <sup>2+</sup> (Cmol <sub>c</sub> . Kg <sup>-1</sup> )	0,23	0,31	0,27	1,23	0,89	3,20	0,77	0,29	1,40
Mg <sup>2+</sup> (Cmol <sub>c</sub> . Kg <sup>-1</sup> )	0,78	0,45	0,77	1,05	1,27	1,75	0,53	0,28	0,39
Na <sup>+</sup> (Cmol <sub>c</sub> . Kg <sup>-1</sup> )	0,08	0,05	0,05	0,09	0,08	0,13	0,13	0,06	0,14
K <sup>+</sup> (Cmol <sub>c</sub> . Kg <sup>-1</sup> )	0,06	0,03	0,04	0,18	0,17	0,52	0,14	0,10	0,32
Soma de bases (Cmol <sub>c</sub> . Kg <sup>-1</sup> )	1,14	0,84	1,13	2,55	2,41	5,60	1,57	0,73	2,25
Al <sup>3+</sup> (Cmol <sub>c</sub> . Kg <sup>-1</sup> )	1,39	0,75	0,87	0,40	0,47	0,05	1,11	1,39	0,78
H+Al (Cmol <sub>c</sub> . Kg <sup>-1</sup> )	6,95	5,54	2,80	4,83	4,18	5,88	7,62	6,59	5,71
S-SO <sub>4</sub> (mg.Kg <sup>-1</sup> )	51,60	15,60	78,40	15,20	13,00	26,20	14,40	12,20	10,20

Os valores apresentados na tabela correspondem às médias de cinco réplicas.

**Tabela 5.** Caracterização química do solo coletado no período chuvoso.

<b>c. VARIÁVEIS AVALIADAS</b>	<b>ESTAÇÕES DE COLETA</b>								
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>
<b>Distância da fonte emissora (m)</b>	<b>1000</b>	<b>1700</b>	<b>2500</b>	<b>3500</b>	<b>4500</b>	<b>5500</b>	<b>6000</b>	<b>7000</b>	<b>8800</b>
PH	3,72	4,02	4,06	4,54	4,38	4,90	4,31	4,35	3,61
Condutividade elétrica ( $\mu\text{S.cm}^{-1}$ )	73,60	43,06	48,40	77,42	66,00	87,84	135,46	167,35	211,82
Matéria Orgânica ( $\text{g.Kg}^{-1}$ )	20,77	37,05	7,94	23,35	15,55	25,62	36,18	27,72	25,74
Nitrogênio ( $\text{g.Kg}^{-1}$ )	0,82	1,12	0,48	1,26	0,95	1,31	1,37	1,14	1,22
P ( $\text{mg.Kg}^{-1}$ )	6	15	2	4	3	11	4	2	3
Ca <sup>2+</sup> ( $\text{Cmol}_c.\text{Kg}^{-1}$ )	0,05	0,07	0,08	0,73	0,46	1,56	0,93	0,76	0,38
Mg <sup>2+</sup> ( $\text{Cmol}_c.\text{Kg}^{-1}$ )	0,24	0,09	0,27	0,51	0,54	0,51	0,73	0,60	0,32
Na <sup>+</sup> ( $\text{Cmol}_c.\text{Kg}^{-1}$ )	0,06	0,03	0,03	0,03	0,03	0,04	0,13	0,18	0,23
K <sup>+</sup> ( $\text{Cmol}_c.\text{Kg}^{-1}$ )	0,04	0,03	0,03	0,14	0,10	0,33	0,20	0,16	0,08
Soma de bases ( $\text{Cmol}_c.\text{Kg}^{-1}$ )	0,39	0,21	0,40	1,42	1,13	2,44	1,99	1,70	1,00
Al <sup>3+</sup> ( $\text{Cmol}_c.\text{Kg}^{-1}$ )	1,36	1,10	1,27	0,85	1,04	0,40	1,05	0,71	1,40
H+Al ( $\text{Cmol}_c.\text{Kg}^{-1}$ )	5,35	6,19	2,49	4,91	3,99	5,05	6,90	5,38	5,82
S-SO <sub>4</sub> ( $\text{mg.Kg}^{-1}$ )	42,80	14,20	64,80	6,70	6,30	10,30	21,09	22,11	32,73

Os valores apresentados na tabela correspondem às médias de cinco réplicas. E = Estação.

As médias dos teores de **metais pesados** obtidos a partir da análise química do solo, encontram-se expressos na tabela 6.

Dos metais analisados o cobre e o chumbo se destacaram por terem sua concentração elevada nas estações próximas à fonte emissora, apesar dos teores de chumbo estarem abaixo dos valores naturalmente obtidos em solos.

O ferro, embora em concentrações elevadas, está associado aos tipos de solos encontrados na área de estudo (Podzois e Latossolos), naturalmente ricos nesse metal, por esse motivo, apresentaram distribuição semelhante em todas as estações.

Os demais metais apresentaram teores dentro de uma faixa normalmente encontrada em solos, portanto, dispensou-se a discussão detalhada dos mesmos.

O **teor de cobre** disponível no solo foi, no período seco, cerca de 17 vezes maior na estação 1, mais próxima da fonte emissora, que na estação 9 (distante aproximadamente 9Km) e 26 vezes maior na estação 1 que na estação 9, no período chuvoso (Tabela 6) embora a MANOVA One-way realizada, não tenha considerado essa diferença significativa ( $p=0,05121$ ) (Figura 13).

A análise de regressão exponencial não linear realizada, apresentou valores de  $r^2$  de 0,5105 no período seco e  $r^2$  0,5739 no período chuvoso, ou seja, valores menores que 1. O que indica que a distância não explica bem a variação observada nos teores de cobre, embora essas variáveis estejam significativamente correlacionadas ( $p= 0,0305$  no seco;  $p=0,01$ , no chuvoso).

Segundo Pedroso e Lima (2001) o cobre apresenta, na crosta terrestre, um teor total de aproximadamente 60mg.Kg<sup>-1</sup>. Tomando-se esse valor como referência pode-se notar que o teor encontrado na área estudada encontra-se maior em, aproximadamente, 4 vezes, indicando assim que a atividade da metalúrgica está contribuindo para o incremento desse metal pesado no ambiente.

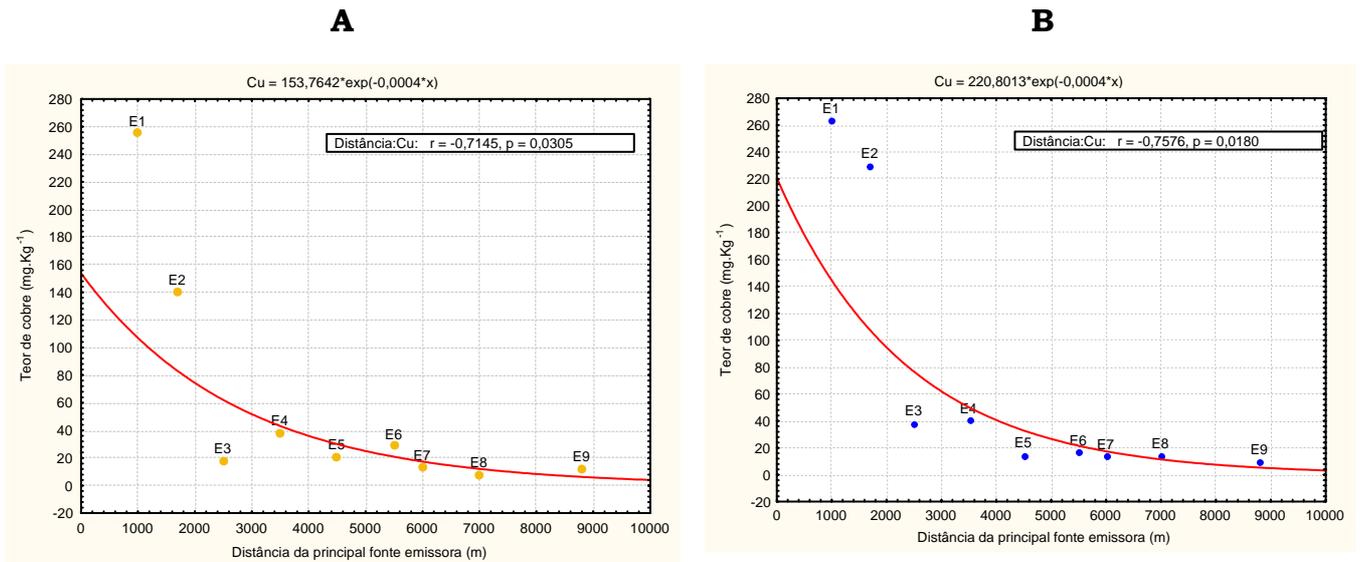
A CETESB indica, no Relatório de estabelecimento de valores orientadores para solos e águas subterrâneas no estado de São Paulo (CASARINI e outros, 2001), como referência para solos, o valor total de 35 mg.Kg<sup>-1</sup>, sendo o teor de 60 mg.Kg<sup>-1</sup> considerado pelo órgão como valor de alerta<sup>5</sup>. Não existe, para os solos do estado da Bahia, valor orientador do estado de contaminação por metais.

Observa-se também que em ambos períodos estudados o teor do cobre decresce bruscamente a partir da estação 3 (Figura 14).

Este padrão de contaminação observado é corroborado por outros trabalhos desenvolvidos na área (CSD-GEOKLOCK, 1999; LIMA e outros, 2002; KLUMPP e outros, 2003).

---

<sup>5</sup> Valor de alerta indica uma possível alteração da qualidade natural dos solos. Esse valor é utilizado, pela CETESB, em caráter preventivo e, quando excedido no solo, deverá ser realizado um monitoramento, com indicação e controle das fontes de poluição. Foi estabelecido com base em revisão bibliográfica sobre a toxicidade de metais (CASARINI, 2001).



**Figura 14.** Resultado da análise de regressão não-linear realizada entre as distâncias e o teor de cobre dos solos coletados nos períodos seco (A) e chuvoso (B).

Estudos semelhantes desenvolvidos por Hutchinson e Whitby (1974) e Kandeler e outros (1996) também observaram uma elevada contaminação por cobre nas vizinhanças de metalúrgicas, com brusco decréscimo em direção aos pontos mais distantes.

McEldowney, Hardman e Waite (1993) discutem que essa contaminação, característica de metalúrgicas, está associada à emissão e deposição (tanto seca quanto úmida) de material particulado. Segundo os autores, 50% do material particulado emitido por indústrias metalúrgicas se depositam próximo à fonte, como resultado, a contaminação superficial do solo é extremamente alta, declinando rapidamente com a distância, como observado nesse estudo.

Em um trabalho realizado em Gusum, Suécia, a concentração de cobre nas proximidades da metalúrgica variou entre 2.000 e 10.000 mg.Kg<sup>-1</sup>, ao

passo que amostras de solo coletada à 7-9Km apresentaram concentrações em torno de 20 mg.Kg<sup>-1</sup> (FREEEDMAN, 1995).

McEldowney, Hardman e Waite (1993) destacam as conseqüências desse tipo de poluição para o ambiente e ressaltam como mais importantes: a contaminação superficial do solo causando alteração na composição de espécies do solo, que será refletida na interrupção de aspectos funcionais do solo como, por exemplo, a ciclagem de nutrientes; e a contaminação da vegetação que se torna esparsa deixando o solo susceptível à processos erosivos.

**Tabela 6.** Teores de metais pesados no solo nas estações estudadas.

Estações de coleta	Teor de metais pesados no solo (mg.Kg <sup>-1</sup> )															
	Ferro		Cobre		Zinco		Manganês		Cromo		Níquel		Cádmio		Chumbo	
	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso
1	346,80	504,40	255,13	263,80	2,47	0,48	0,82	0,20	0,08	7,11	0,01	0,63	0,011	0,09	0,78	6,84
2	77,60	200,80	140,13	230,28	1,20	2,02	1,66	0,34	0,05	3,40	0,03	0,91	0,006	0,13	0,57	4,22
3	12,60	25,40	17,80	38,52	0,66	0,96	0,44	0,68	0,04	9,44	0,02	0,72	0,007	0,07	0,45	3,75
4	472,20	537,60	38,23	40,38	2,88	2,30	14,58	6,81	0,08	7,54	0,02	0,98	0,011	0,04	0,42	3,20
5	390,20	496,00	20,74	14,76	1,27	0,66	22,94	19,46	0,05	5,71	0,01	0,92	0,010	0,02	0,44	3,63
6	514,00	407,80	28,60	16,78	4,28	1,50	28,58	18,68	0,08	5,03	0,04	1,16	0,011	0,07	0,61	3,72
7	338,00	526,00	13,38	13,56	2,44	10,04	12,04	1,88	0,03	7,78	0,03	0,72	0,011	0,03	0,63	4,45
8	295,00	866,20	8,16	14,08	1,00	4,80	7,80	0,80	0,03	7,00	0,01	0,53	0,015	0,09	0,73	5,03
9	662,60	465,60	12,54	10,10	2,10	6,56	11,24	1,02	0,09	7,94	0,04	0,76	0,033	0,06	0,64	4,01
<b>Valores de referência (mg.Kg<sup>-1</sup>)*</b>	-		<b>60</b>		-		<b>40 - 900</b>		<b>2 - 60</b>		-		<b>0,1 - 0,4</b>		<b>10 - 20</b>	
<b>Valores de referência - (mg.Kg<sup>-1</sup>)**</b>	-		<b>35</b>		<b>60</b>		-		<b>40</b>		<b>13</b>		<b>&lt; 0,5</b>		<b>17</b>	

Os valores expressos na tabela correspondem às médias de cinco repetições.

\* - No Brasil não há regulamentação para valores aceitáveis de metais pesados no solo (GROSSI, 1993). Os Valores de referência aqui apresentados correspondem a padrões estabelecidos segundo WHO (1995).

\*\* - Valores estabelecidos pela CETESB para o estado de São Paulo (CASARINI e outros, 2001).

### **4.3. Bioindicadores**

#### ***4.3.1. Flutuação dos bioindicadores ao longo do gradiente***

O comportamento dos bioindicadores ao longo do gradiente amostral encontra-se representado por gráficos de dispersão. Os pontos no gráfico correspondem à médias de cinco amostras por estação. A representação dos dados em gráficos de dispersão possibilita a visualização da flutuação real dos dados, dispensando a utilização de estatística descritiva (MAGNUSSON e MOURÃO, 2003).

#### **A. Carbono da biomassa microbiana (CBM)**

O CBM do solo coletado a diferentes distâncias da principal fonte emissora pode ser observado na figura 15.

Na estação 1 (à 1000 m da fonte), estação com elevado teor de cobre, verificou-se os maiores valores de CBM (0,217 mg C.g de solo seco<sup>-1</sup>). A partir desta estação o CBM sofreu um decréscimo brusco (0,078 mg C.g de solo seco<sup>-1</sup>) e só teve seu teor elevado nas estações distantes da principal fonte emissora (valor médio de 0,090 mg C.g de solo seco<sup>-1</sup>). Nota-se que mesmo na estação 1, local que apresentou o maior teor de carbono microbiano, esse teor esteve muito abaixo do que Jenkinson e Ladd (1981)

relatam para solos não poluídos. Segundo os autores, o CBM nesses solos pode chegar a valores acima de  $0,5 \text{ mg C.g de solo seco}^{-1}$ .

A biomassa microbiana representa o destino inicial do carbono em transformação no solo e é extremamente influenciada pelos fatores que afetam a densidade e atividade dos organismos do solo (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002). Portanto em solos com, por exemplo, boa disponibilidade nutricional, umidade e aeração, espera-se uma maior densidade de microrganismos, que será refletida num elevado teor de CBM. Por outro lado, em solos contaminados por metais, condição desfavorável ao desenvolvimento microbiano, espera-se baixos teores de CBM.

E, de fato, na maior parte dos estudos descritos na literatura, em solos contaminados por metais pesados, é observada uma drástica redução no CBM, sendo esta variável sugerida como bioindicadora da contaminação por metais. O efeito tóxico dos metais atua influenciando adversamente os microrganismos, afetando seu crescimento, morfologia e atividade bioquímica, resultando assim na redução da biomassa microbiana (ROANE e PEPPER, 1999; KANDELER e outros, 1996; FLIEßBACH e outros, 1994; BROOKES e outros, 1986).

Brookes e outros (1986) constataram que, em experimentos realizados em laboratório com solos altamente contaminados com cobre e zinco, o CBM ficou em torno de  $0,096 \text{ mg C.g de solo seco}^{-1}$  e, em solos moderadamente contaminados, o valor ficou em torno de  $0,139 \text{ mg C.g de solo seco}^{-1}$ .

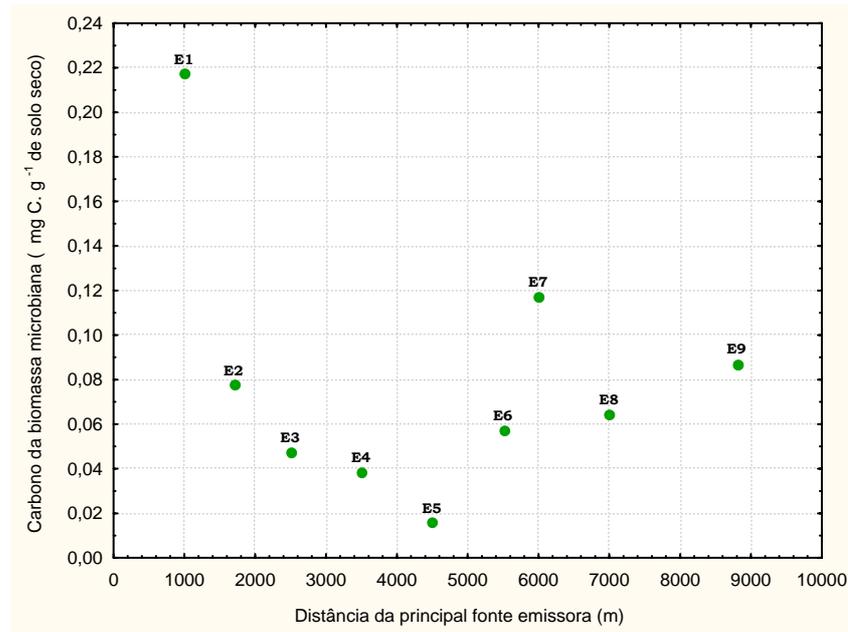
Chander e Brookes (1993) observaram que em solos onde a contaminação de cobre ( $690 \text{ mg.Kg}^{-1}$ ) e zinco ( $705 \text{ mg.Kg}^{-1}$ ) era elevada, o

CBM era reduzido em 53%, quando comparado a um solo controle (sem contaminação por metais).

Klumpp e outros (2003) comparam o CBM de solos não contaminados (7,5 mg.Kg<sup>-1</sup> de cobre e 1,9 mg.g<sup>-1</sup> de enxofre) com o CBM obtido na análise de solos contaminados por cobre (46,30 mg.Kg<sup>-1</sup>) e enxofre (3,8 mg.g<sup>-1</sup>) e observaram uma redução significativa desse bioindicador de 16,77 para 9,33 mg C<sub>mic</sub>.100g<sup>-1</sup> de solo seco. No trabalho desenvolvido pelos autores, o bioindicador mostrou uma clara relação inversa com os poluentes.

No presente estudo a redução do CBM, com a poluição do solo, não foi confirmada já que os maiores teores de CBM foram observados na estação mais impactada. Supõe-se que esse elevado teor de CBM, observado na estação 1, em comparação às demais, pode estar associado à substituição das espécies sensíveis à poluição por metais, por espécies de microrganismos menos sensíveis que, com a redução na competição por substrato, sofrem um aumento de abundância. Esse fato tem sido observado em áreas com severa contaminação por metais (GILLER e outros, 1989) e também se constitui em um problema já que acarreta na alteração da estrutura da comunidade da microbiota do solo.

Khan e Scullion (2000) discutem que a substituição, na comunidade microbiana, de espécies sensíveis por espécies menos sensíveis pode não resultar em qualquer efeito em índices (bioindicadores) gerais como carbono da biomassa microbiana, como observado neste estudo.



**Figura 15.** Variação do carbono da biomassa microbiana (CBM) nos solos coletados a diferentes distâncias da fonte emissora. Os pontos no gráfico correspondem a média de cinco amostras.

## B. Quociente microbiano

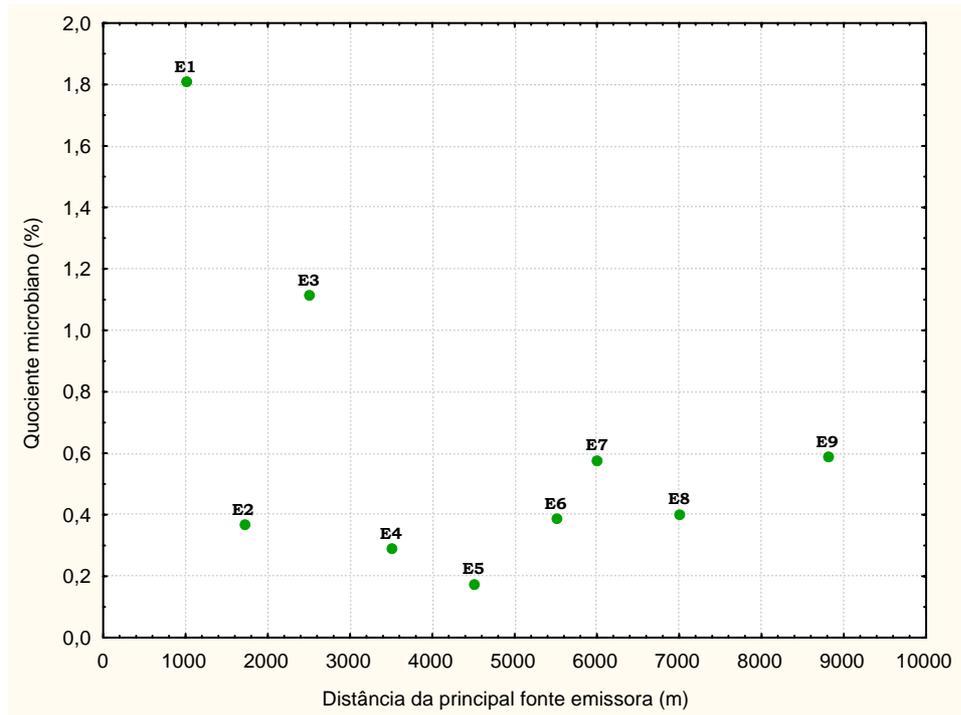
A flutuação do quociente microbiano (porção do carbono imobilizada pela biomassa microbiana) na área estudada encontra-se representada na figura 16.

As estações 1 e 3 apresentaram os maiores teores de carbono imobilizado pela microbiota (1,8% e 1,1%, respectivamente). Nas demais estações este índice variou entre 0,4 (estação 2) a 0,6% (na estação 9). Os valores encontrados para o quociente microbiano nas estações 1 e 3 indicam, que estas estações comparadas às demais, apresentam alguma condição favorável ao desenvolvimento microbiano, já que apresentaram os maiores valores para esse bioindicador.

Os valores esperados para o quociente microbiano, em solos não poluídos, devem variar, segundo Anderson e Domsch (1989), na faixa de 2 a 3%. Os valores obtidos neste trabalho, durante todo o transecto estiveram abaixo da faixa estabelecida, por estes autores, como ideal.

Klumpp e outros (2003) encontraram, na mesma área, valores semelhantes: 0,69% e 1,94% nas estações mais poluídas e 2,85% para a estação controle. De acordo com os autores, este índice apresentou uma correlação significativamente inversa com as variáveis indicadoras de poluição, se mostrando um eficiente bioindicador da poluição por metais e enxofre.

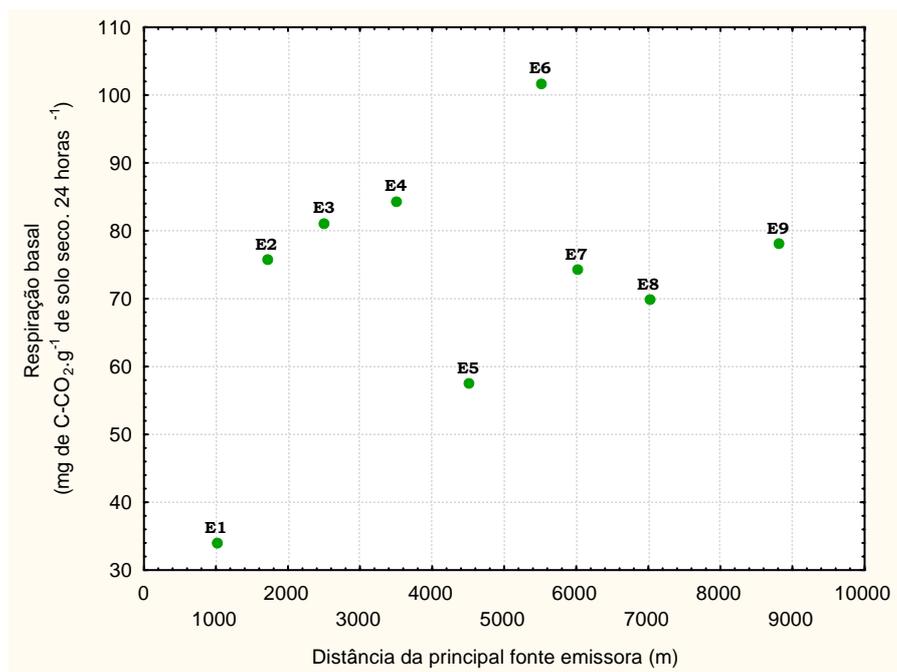
Embora estudos realizados por Brookes e outros (1986) e outros autores (CHANDER e BROOKES, 1991; FLIESSBACH, MARTENS e REBER, 1994) mostrem evidências que a poluição por metais pesados decresce a proporção entre o carbono da biomassa microbiana e o carbono orgânico total do solo (quociente microbiano), os dados coletados neste trabalho não confirmam isto. Talvez o acentuado grau de impacto da área estudada tenha proporcionado condições favoráveis à determinadas espécies (resistentes à poluição) que tiveram sua abundância elevada (VAN BEELEN e DOELMAN, 1997), nas estações mais próximas à fonte emissora.



**Figura 16.** Flutuação do quociente microbiano no solo coletado a diferentes distâncias da principal fonte emissora. Os pontos no gráfico correspondem às médias de cinco amostras.

### C. Respiração basal

A figura 17 apresenta a flutuação do  $\text{CO}_2$  emanado pela biota do solo coletado ao longo do gradiente de imissão. Os menores valores de respiração basal foram obtidos na estação 1 ( $34,06 \text{ mg C-CO}_2 \cdot \text{g}^{-1}$  de solo seco.  $24 \text{ horas}^{-1}$ ). As demais estações flutuaram dentro do intervalo de  $57,55$  a  $101,90 \text{ mg C-CO}_2 \cdot \text{g}^{-1}$  de solo seco.  $24 \text{ horas}^{-1}$ .



**Figura 17.** Flutuação da emissão de CO<sub>2</sub> pela biota do solo coletado a diferentes distâncias da principal fonte emissora. Os pontos no gráfico correspondem a média de cinco amostras.

A respiração basal reflete a atividade da microbiota do solo, responsável pela degradação de compostos orgânicos, portanto, valores muito baixos, como os encontrados na estação 1, indicam que a atividade da microbiota do solo encontra-se comprometida.

De acordo com Tyler (1981) esse bioindicador vem sendo amplamente empregado na quantificação dos efeitos da contaminação por metais pesados na atividade biológica total do solo, já que a adição de metais pesados no solo geralmente causa um imediato decréscimo nas taxas de respiração, embora essa resposta seja também influenciada por variáveis ambientais (propriedades físicas e químicas do solo). A baixa respiração basal observada

na estação 1 pode, portanto, estar relacionada à elevada contaminação por cobre observada na área.

Khan e Scullion (2000), entretanto, discutem que a resposta da respiração basal do solo frente à contaminação por metais é pouco consistente. Segundo os autores a literatura traz trabalhos que evidenciam tanto a redução como a elevação da respiração em solos contaminados por metais. Doelman e Haanstra (1984), Bååth e outros (1991) e Hattori (1992), por exemplo, encontraram uma significativa redução da evolução de CO<sub>2</sub> em solos contaminados por metais pesados. Dai e outros (2004), ao estudarem oito amostras de solo coletado ao longo de um gradiente de poluição por metais, proveniente de uma indústria metalúrgica, observaram que a respiração basal variou de 19,3 mg C-CO<sub>2</sub>. g<sup>-1</sup> de solo seco. 24 horas<sup>-1</sup>, nos locais mais próximos, para 54,7 mg C-CO<sub>2</sub>. g<sup>-1</sup> de solo seco. 24 horas<sup>-1</sup>, nos locais mais distantes.

Lima e outros (2002), em estudo realizado em área industrial, observaram que a emissão de CO<sub>2</sub> na área encontrava-se bastante reduzida, em torno de 9,4 mg C-CO<sub>2</sub>. g<sup>-1</sup> de solo seco. 24 horas<sup>-1</sup>. Segundo os autores o impacto provocado por emissões atmosféricas poderia estar atuando desfavoravelmente na atividade da microbiota, reduzindo sua taxa de respiração já que a comunidade microbiana é sensível a solos muito ácidos e contaminados por metais (DIONÍSIO e outros, 1999).

A redução da atividade de microorganismos em área sob influência de metalúrgicas de cobre foi também observada em Sudbury, no Canadá, por Maxwell (1995).

Em contraste, outros autores (BARDGETT e SAGGAR, 1994; FLIEßBACH, MARTENS e REBER, 1994) encontraram aumento na emissão de CO<sub>2</sub> em solos contaminados por metais pesados. De acordo com Khan e Scullion (2000) essas diferenças encontradas podem ser resultantes de variações no nível de contaminação, no tipo de fonte de contaminação (por exemplo, se a contaminação é proveniente de lodo de tratamento ou de mineração), no período de tempo que as amostras foram monitoradas, ou ainda a variações no tipo de solo receptor. Brookes (1995) afirma que esta elevada variabilidade faz com que este biomonitor, quando tomado sozinho, torne a interpretação, em termos de qualidade do solo, muito difícil.

#### **D. Atividade da desidrogenase**

A atividade da enzima desidrogenase, ao longo do gradiente, pode ser observada na figura 18. Nas estações 1, 2 e 3, verifica-se que a atividade dessa enzima foi baixa, sofrendo, a partir da estação 4, uma crescente elevação à medida que a distância da principal fonte emissora ia aumentando.

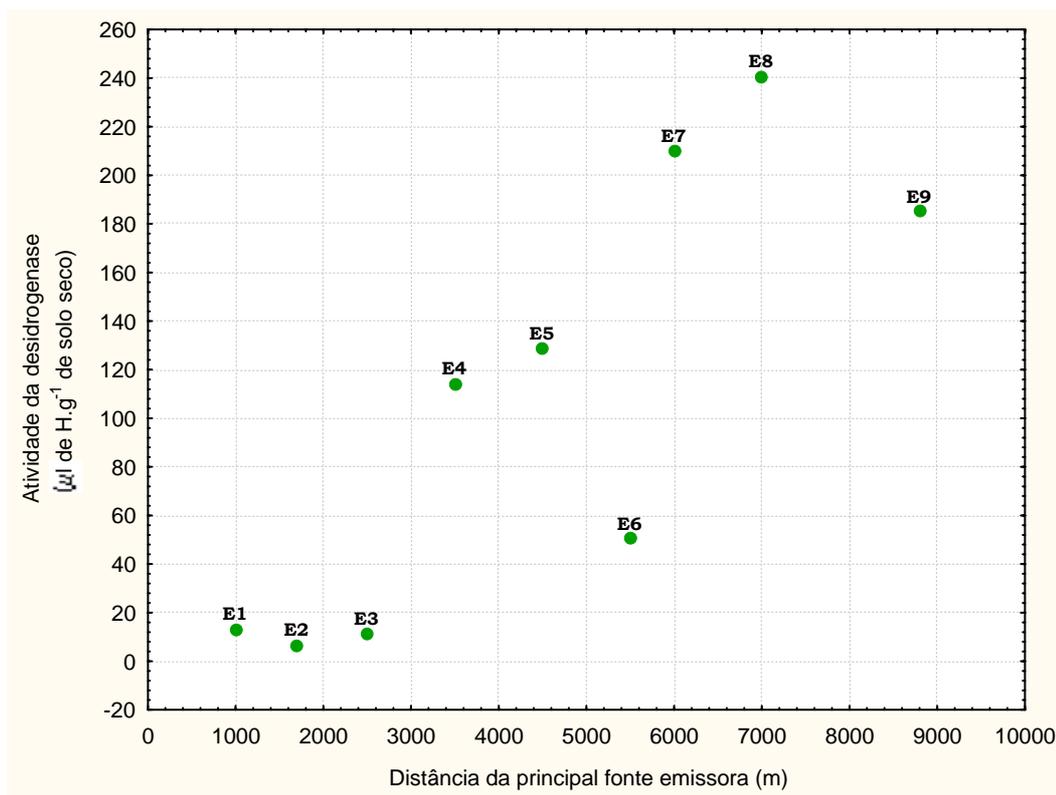
A atividade da desidrogenase decresceu em 92,85 % quando a estação menos impactada (estação 9) foi comparada à estação mais impactada (estação 1). A baixa atividade da desidrogenase pode ser explicada pela presença, no solo, de elementos como o cobre (estações 1 e 2) e enxofre (estação 3).

Majer e outros (2002), ao estudarem o efeito da contaminação por metais na atividade de enzimas do solo, comparadas à formação de micronúcleos em *Tradescantia*, encontraram redução na atividade da desidrogenase de 37%. Segundo os autores, a desidrogenase apresentou correlação negativa com os metais e foi o bioindicador que melhor refletiu o impacto.

Tyler (1981) em estudos realizados em outras áreas industriais, afetadas por cobre, zinco, níquel, cádmio ou chumbo, relata correlações negativas altamente significativas entre a concentração de metais e a atividade da desidrogenase.

A inibição da atividade de enzimas pelos íons metálicos está associada: (i) ao bloqueio, pelos metais, dos grupos cataliticamente ativos das enzimas; (ii) à desnaturação de proteínas; (iii) complexação dos metais com substrato ou ainda (iv) à reação dos metais com o complexo enzima-substrato (PANKHURST e outros, 1998; TYLER, 1981).

A atividade da desidrogenase reflete a taxa da respiração microbiológica (SKUJINS, 1976; CASIDA, 1977), fornecendo informações da porção ativa da comunidade microbiológica do solo, informações essas que não podem ser obtidas através do acesso da densidade populacional microbiana usando estimativas da biomassa microbiana total do solo, por exemplo.



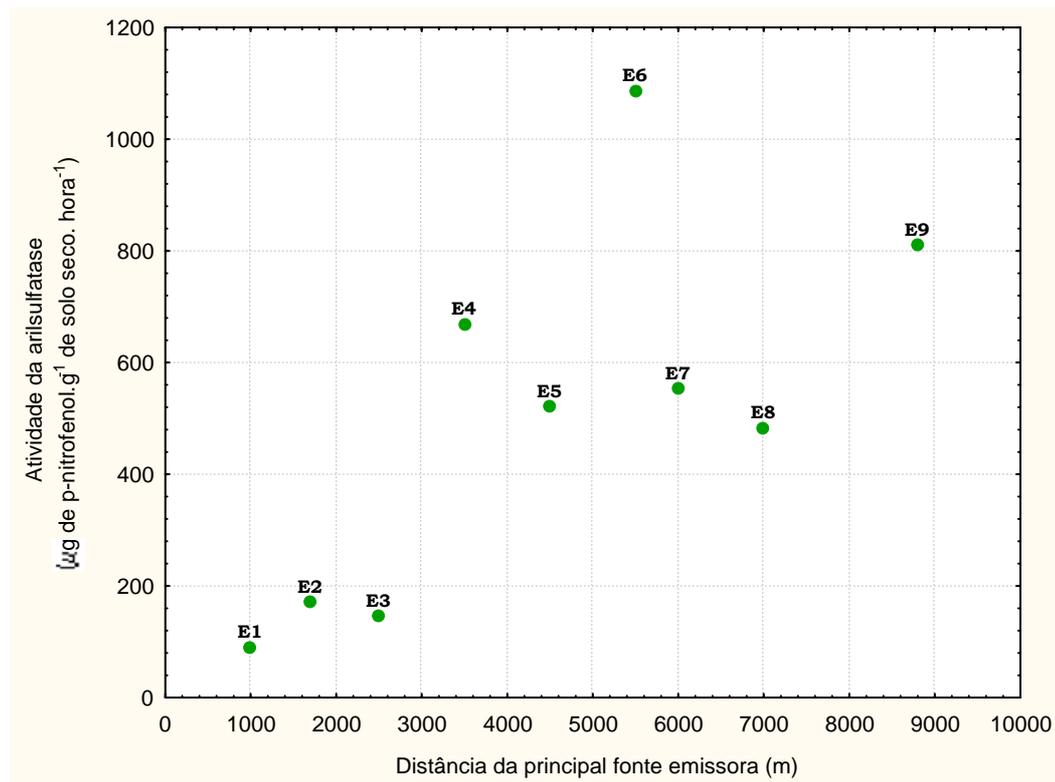
**Figura 18.** Variação da atividade da desidrogenase ao longo do gradiente de estudo. Os pontos no gráfico correspondem a média de cinco amostras.

Como pode-se notar neste estudo, a estimativa do carbono da biomassa microbiana do solo nas estações impactadas (figura 15), foi elevada. Ao compararmos estes resultados aos resultados obtidos com a respiração basal (que mede a atividade global) e com a atividade da desidrogenase, observa-se que embora o solo das estações impactadas (a exemplo da estação 1), encontre-se com elevado teor de biomassa a atividade microbiana desses solos encontra-se prejudicada, sugerindo que os microrganismos nessa área encontram-se em estado de dormência. A biomassa microbiana, portanto, se considerada sozinha, poderia levar à uma falsa interpretação dos resultados.

### **E. Atividade da arilsulfatase**

Na figura 20 encontra-se representada a atividade da arilsulfatase. Esta enzima apresentou comportamento semelhante ao apresentado pela desidrogenase, ou seja com baixa atividade nas estações próximas à fonte emissora (1, 2 e 3). Quando comparada à estação mais distante (estação 9), o decréscimo na atividade desta enzima, na estação 1, foi de 88, 83 %.

Klumpp e outros (2003) ao compararem duas estações impactadas, as mesmas avaliadas neste estudo, com uma estação controle (sem influência de poluentes industriais) também observaram redução da atividade dessa enzima. Nos dados apresentados pelo autor a atividade da arilsulfatase decresceu em 85-90% da estação mais poluída para a controle. O autor associou a redução da atividade da arilsulfatase à contaminação por metais e deposição ácida.



**Figura 19.** Variação da atividade da arilsulfatase ao longo do gradiente de estudo. Os pontos no gráfico correspondem a média de cinco amostras.

Majer e outros (2002) relataram uma associação inversa entre os metais (As, Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, Zn) e a atividade da arilsulfatase que reduziu sua atividade com o aumento da contaminação pelos mesmos.

A sensibilidade da arilsulfatase tem sido associada não só a poluição por metais. De um modo muito controverso, trabalhos têm mostrado a inibição da atividade desta enzima pela presença de enxofre no solo. Speir e outros (1980) observaram que quando o enxofre ( $\text{SO}_4$ ) está presente no solo em elevadas concentrações a produção biótica da arilsulfatase e, conseqüentemente, sua atividade é inibida. Prietzel (2001) corroborou os resultados obtido por Spier e outros (1980) ao avaliar o efeito da fertilização

com  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  na atividade da arilsulfatase, observando que a elevação no teor de  $\text{SO}_4^{2-}$  no solo, inibiu significativamente a produção microbiana dessa enzima, acarretando em sua baixa atividade.

Entretanto, Pinto e Nahas (2002) e Farrel, Gupta e Germida (1994) não obtiveram correlação significativa da arilsulfatase e o teor de sulfato, enquanto que Gupta, Farrel e Germida (1993) observaram correlação fraca.

Prietzl (2001) relata que, de acordo com o conceito de McGill e Cole (1981), o balanço entre a síntese e degradação de ésteres de sulfato no solo é fortemente afetado pela atividade de enzimas (sulfohidrolases) como a arilsulfatase. Assim, baixa concentração de sulfato na solução do solo, associado à pequena disponibilidade de S para as plantas e microrganismos, estimula a produção biótica da arilsulfatase e conseqüentemente elevação na sua atividade. Por outro lado, a produção e atividade da arilsulfatase decrescem (são inibidas) quando a concentração de  $\text{SO}_4^{2-}$  no solo é alta.

Em áreas próximas a metalúrgicas a queima de combustíveis fósseis libera grande quantidade de enxofre para a atmosfera e, conseqüentemente, para o solo. Assim, espera-se que a atividade desta enzima, nesses locais, seja inibida. Embora nossos resultados tenham revelado que nas estações de maior concentração de enxofre (na forma de sulfato) a atividade da arilsulfatase tenha sido bastante reduzida, não se pode associar esse fato exclusivamente à contaminação por enxofre, visto que se trata de uma área impactada por metais pesados e, de acordo com a literatura, eles também são responsáveis pela inibição da atividade dessa enzima. Entretanto, a partir da observação dos dados de enxofre e cobre (figuras 13 e 14, respectivamente) percebemos que na estação 3, o teor de cobre foi

consideravelmente reduzido, e a atividade da arilsulfatase não foi elevada, sugerindo assim a inibição provocada pela presença de outro poluente, no caso o enxofre, que na estação 3 apresentou os maiores teores.

#### ***4.3. 2. Comparação da resposta dos bioindicadores frente às variáveis ambientais e poluentes***

A análise de regressão múltipla realizada entre o eixo 1 (gerado pela ACP) das variáveis independentes (variáveis ambientais e variáveis poluentes) explicou 32% da variabilidade do eixo 1 da variável dependente (variáveis bióticas 1 - CBM e Quociente microbiano) (ver saída da análise em anexo).

A explicabilidade do modelo, ou seja, a explicabilidade do eixo das variáveis bióticas 1 pelo eixo das variáveis ambientais e poluentes não foi significativa ( $p= 0,1333$ ). O que quer dizer que a flutuação dos valores encontrados para biomassa e quociente microbiano ao longo das estações de amostragem não pode ser prevista pelos valores dos poluentes e variáveis ambientais utilizadas no modelo.

A análise parcial realizada (avaliação das variáveis separadamente) com cada variável independente revelou que nenhuma das variáveis (ambientais e poluentes) contribuiu de maneira significativa para a explicabilidade do modelo ( $p= 0.4379$  e  $p= 0.0914$ , respectivamente).

Como não foi verificada a influência, nas variáveis bióticas 1 (carbono da biomassa microbiana e quociente microbiano), de nenhuma das variáveis utilizadas neste trabalho, supõe-se que as mesmas estejam sendo influenciadas por outras variáveis não contempladas por este trabalho.

A análise testou também a existência de multicolinearidade<sup>6</sup> entre as variáveis independentes. Para tanto foi realizada uma regressão linear simples entre a variável poluente e a variável ambiental obtendo-se o valor de  $r^2$  de 0,0492. Portanto, não houve boa explicabilidade de uma variável pela outra, indicando assim que não existe correlação entre as variáveis independentes testadas.

A segunda análise de regressão múltipla realizada entre o eixo 1 (gerado pela ACP) das variáveis independentes (variáveis ambientais e variáveis poluentes) explicou 51% da variabilidade do eixo 1 da variável dependente (variáveis bióticas 2 – Respiração basal, atividade da arilsulfatase e desidrogenase).

A explicabilidade do modelo para essa análise, ou seja, a explicabilidade do eixo das variáveis bióticas 2 (respiração basal, atividade da desidrogenase e arilsulfatase) pelo eixo das variáveis ambientais e poluentes foi considerada significativa ( $p= 0,04$ ). O que quer dizer que os valores encontrados para as variáveis bióticas 2, ao longo das estações de amostragem, podem ser previstos pelos valores dos poluentes e variáveis ambientais utilizadas no modelo.

---

<sup>6</sup> A multicolinearidade é um problema, comum em análises de regressão onde as variáveis independentes são correlacionadas, pois cada variável introduzida no modelo deve ter um efeito exclusivo (ZAR, 1999).

A análise parcial realizada (avaliação das variáveis separadamente) com cada variável independente revelou que a flutuação observada nas variáveis de atividade microbiana (respiração basal e atividade da arilsulfatase e desidrogenase) foi influenciada de maneira significativa ( $p=0,0187$ ) pelas variáveis poluentes (ver saída do programa em anexo).

Fatores ambientais que afetam e potencialmente alteram a estrutura e funções das comunidades microbianas do solo são complexos. Sabe-se que variáveis ambientais como temperatura, umidade, disponibilidade de nutrientes e pH do solo, podem influenciar a composição e atividade da comunidade microbiana do solo (INSAM, 1990; SCHEU e PARKINSON, 1994; RAUBUCHAND-BEESE, 1995; COUTEAUX e outros, 1998) entretanto, pôde-se verificar que as variáveis bióticas 1 (CBM e Quociente microbiano) não responderam nem às variáveis ambientais nem às variáveis poluentes, sugerindo que a flutuação observada foi reflexo da influência de outro(s) fator(es), não determinado(s) nesse estudo. Já as variáveis bióticas 2 (respiração basal e atividade da desidrogenase e arilsulfatase) tiveram sua variabilidade associada às variáveis de poluição.

#### ***4.3.3. Interação entre os bioindicadores e as variáveis químicas e poluentes.***

A figura 21 e a tabela 9 trazem o resultado da análise de componentes principais (ACP) realizada com todo o conjunto de variáveis ambientais químicas, variáveis poluentes e variáveis bióticas (bioindicadores).

Pode-se verificar que a ACP realizada explicou 59,1% da variação total dos dados, sendo 36,5% da variação explicada pelo eixo 1 (componente principal 1) e 22,6% explicada pelo eixo 2.

Analisando-se os coeficientes (*loadings*) modulares da tabela 9 pode-se verificar que as variáveis que influenciaram mais fortemente o agrupamento dos dados no entorno do eixo 1 foram: pH, soma de bases, sulfato, cobre, nitrogênio, alumínio, manganês, chumbo, CBM, quociente microbiano, respiração basal e atividade da arilsulfatase. No eixo 2 o agrupamento foi influenciado pela condutividade, acidez potencial (H+Al), ferro, zinco, níquel e pela atividade da desidrogenase.

Considerando inicialmente o eixo 1, ao observar-se os valores reais da tabela 9, verifica-se que os bioindicadores CBM e o quociente microbiano se correlacionam positivamente com este eixo, bem como os poluentes cobre e enxofre (Figura 21) ao passo que a respiração basal e a atividade da arilsulfatase estão negativamente relacionadas com o eixo em questão. Isto quer dizer que o CBM, o quociente microbiano e os poluentes cobre e enxofre aumentam seus valores da esquerda para direita (em direção à estação mais próxima à fonte emissora – E1), enquanto que a respiração basal e a atividade da arilsulfatase diminuem nesse mesmo sentido. Propriedades químicas do solo como: pH, soma de bases, teor de nitrogênio e manganês também estiverem, de maneira bastante coerente, negativamente correlacionadas ao eixo 1, diminuindo seus valores em direção à fonte emissora. Demonstrando que também foram importantes na definição do padrão observado para os bioindicadores ao longo do eixo 1.

As estações de amostragem 1 e 3 também estiveram positivamente associadas ao eixo 1 (Tabela 10) enquanto na estação 6 a associação foi negativa.

A partir dessas observações, pode-se supor que o eixo 1 representa o gradiente de impacto onde as estações mais próximas à fonte emissora (1, 2 e 3) estariam associadas aos poluentes (cobre e enxofre) e as estações mais distantes (4, 5 e principalmente a 6) estariam associadas aos bioindicadores, como respiração basal e atividade da arilsulfatase. O CBM e o quociente microbiano não se mostraram bons indicadores já que tiveram seus teores elevados na direção do impacto e associados às variáveis poluentes, ao contrário da respiração basal e da atividade da arilsulfatase que tiveram seus teores diminuídos na direção do impacto, confirmando sua eficiência na bioindicação da poluição do solo.

Com relação ao eixo 2 pode-se verificar que a condutividade, a acidez potencial, os teores de ferro e zinco e a atividade da desidrogenase se correlacionaram de maneira positiva (Tabela 9), aumentando seus valores de baixo para cima e em direção às estações mais distantes da fonte emissora (7, 8 e 9) enquanto que o teor de níquel se correlacionou de maneira negativa. Este eixo pode ser interpretado como um gradiente de fertilidade, onde as estações associadas também estiveram associadas a variáveis como matéria orgânica, teor de sais (condutividade elétrica) e outras. Como a atividade da desidrogenase esteve associada a este eixo pode-se considerar que esta variável não se mostrou boa indicadora de impacto, se relacionando à propriedades outras do solo, a exemplo do teor de matéria orgânica.

**Tabela 7.** Coeficientes de estrutura (*loadings*) obtidos com a análise de componentes principais.

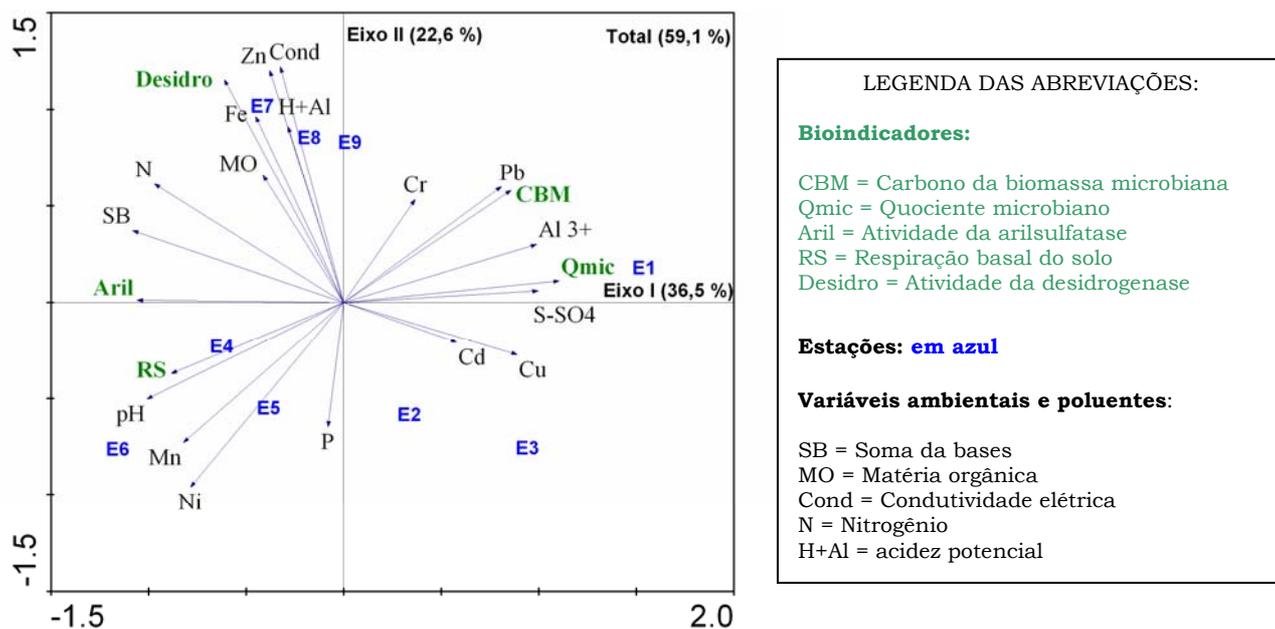
	<b>Eixo 1</b>	<b>Eixo 2</b>
PH	-1.0103	-0.5027
Matéria orgânica	-0.4144	0.6594
Soma de bases	-1.0830	0.3720
S-SO <sub>4</sub>	0.9974	0.0596
Cu	0.8908	-0.2715
Condutividade elétrica	-0.3248	1.2208
N	-0.9717	0.6137
P	-0.0804	-0.6486
Al <sup>3+</sup>	0.9900	0.3011
H+Al	-0.2867	0.9138
Fe	-0.4520	0.9652
Zn	-0.3791	1.2027
Mn	-0.8230	-0.7298
Cd	0.5799	-0.2076
Pb	0.8584	0.5804
Cr	0.3665	0.5333
Ni	-0.7867	-0.9627
Carbono da biomassa microbiana	0.8090	0.6000
Quociente microbiano	1.1057	0.1119
Respiração basal	-0.8851	-0.3704
Arilsulfatase	-1.0606	0.0115
Desidrogenase	-0.6133	1.1557

Em vermelho encontram-se os valores de loading das variáveis que melhor explicaram os eixos

**Tabela 8.** Coeficientes de estrutura (*loadings*) obtidos com a análise de componentes principais.

	<b>Eixo 1</b>	<b>Eixo 2</b>
E1	1.5346	0.1877
E2	0.3346	-0.5833
E3	0.9376	-0.7603
E4	-0.6226	-0.2362
E5	-0.4007	-0.5422
E6	-1.1523	-0.7469
E7	-0.4112	1.0157
E8	-0.2089	0.8538
E9	-0.0110	0.8118

E = Estação  
Em vermelho encontram-se os valores de loading das variáveis que melhor explicaram os eixos



**Figura 20.** Análise de componentes principais realizada com as variáveis ambientais, poluentes e bioindicadores.

## **5. CONCLUSÕES**

---

O teor de cobre presente no solo se apresentou acima dos valores normalmente encontrados em solos e correlacionou-se com a proximidade da principal fonte emissora indicando, portanto, sua origem antrópica.

A atividade microbiana (respiração basal, atividade da desidrogenase e da arilsulfatase) teve sua atividade reduzida nas estações mais impactadas (mais próximas à fonte emissora). Ao contrário dos bioindicadores de biomassa que tiveram seus teores elevados nas estações mais próximas à principal fonte emissora, sugerindo aumento em termos de biomassa de espécies resistentes (mais adaptadas) à poluição.

A atividade microbiana foi influenciada de maneira significativa pelos poluentes, enquanto que os bioindicadores de biomassa (CBM e Qmic) não tiveram relação significativa nem com as variáveis ambientais nem com os poluentes determinadas neste estudo.

A respiração basal e a atividade da arilsulfatase foram os bioindicadores que melhor refletiram o impacto encontrado na área, diminuindo sua atividade em direção às estações mais impactadas e se correlacionando de maneira negativa com as variáveis indicadoras da poluição (teor de metais – Pb, Cu, Al, Cr e Cd – e teor de enxofre).

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EMPRESAS DE LIMPEZA PÚBLICA E RESÍDUOS ESPECIAIS – **ABRELPE. Relatório técnico**. 2003. Disponível em: <[www.abrelp.com.br](http://www.abrelp.com.br)> Acesso: em 22 Jul., 2003.

ALMEIDA, A. C.; MELLO, J. W. V.; BRAGA, J. M.; RIBEIRO, A. C. Níveis críticos de enxofre para o arroz cultivado por inundação em casa de vegetação. **Revista Brasileira Ciência Solo**. v. 17, p. 245-250, 1993.

ALMEIDA, V. S. **Alterações nos teores de enxofre e de metabólitos indicadores de estresse em árvores adultas de *Mangifera indica*. cv. espada expostas à poluição aérea e edáfica, na região do Pólo Petroquímico de Camaçari/Ba**. 2000. 79 f. Dissertação (Mestrado em Geoquímica e Meio Ambiente) – Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2000.

ANDERSON, J. P. E.; DOMSCH, K. H. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. **Soil Biological Biochemistry**, v. 10, p. 215-221, 1978.

ANDERSON, T. H.; DOMSCH, K. H. Ratios of microbial biomass carbon to total organic carbon in arable soils. **Soil Biological Biochemistry**, v. 21, p. 417-479, 1989.

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

ALEF, K.; NANZIPIERI, P. (ed). **Methods in applied soil microbiology and biochemistry**. 1ed. San Diego: Academic Press, 1998. 576 p.

ARNDT, U; FLORES, F.; e WEINSTEIN, L. **Efeitos do flúor sobre as plantas: diagnose de danos na vegetação do Brasil**. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 1995.

BÅÅTH, E., ARNEBRANDT, K., NORDGREN, A., Microbial biomass and ATP in smelter-polluted forest humus. **Bulletin of Environmental Contaminant and Toxicology**, v.47, p. 278-282, 1991.

BÅÅTH, E. Effects of heavy metals in soil on microbial processes and populations (a review). **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 47, p. 335– 379, 1989.

BÅÅTH, E.; DÍAZ-RAVINA, M.; FROSTEGARD, A.; CAMPBELL, C. D. Effect of metal-rich sludge amendments on the soil microbial community. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 64, p. 238-245, 1998.

BADIANE, N. N.Y *et al.* Use of soil enzyme activities to monitor soil quality in natural and improved fallows in semi-arid tropical regions. **Applied Soil Ecology**, v.18, p. 229–238, 2001.

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

BARDGETT, R. D., SAGGAR, S. Effect of heavy metal contamination on the short-term decomposition of labelled (14C) in a pasture soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v.26, p. 727-733, 1994.

BARANI, E. **Efeitos sócio-ambientais decorrentes da implantação da Caraíba Metais: a percepção dos habitantes do Lamarão do Passe – Ba.** 1990. Dissertação (mestrado). Universidade Federal da Bahia.

BARONA, A.; ROMERO, F. Distribution of metals in soils and relationships among fractions by principal component analysis. **Soil Technology**, v. 8, p. 303-319, 1996.

BINI, L. M. Alguns problemas com a aplicação de índices de estado trófico em reservatórios. In: **Workshop sobre gestão ambiental de reservatórios hidrelétricos. Monitoramento e avaliação da qualidade da água em reservatórios, 1.**, São Paulo, 1999. São Paulo: CESP, 1999. p. 31-43.

BRITTO, I. C. **Estudo de impacto ambiental do complexo metalúrgico da Caraíba Metais S/A.** Levantamento da flora na área de influência. Relatório Técnico. Dias D´Ávila, 1983.

BROOKES P. C.; HEIJNEN C.; MCGRATH S. P. e VANCE E. D. Soil microbial biomass estimates in soils contaminated with metals. **Soil Biology and Biochemistry**. v. 18, p. 383-388, 1986.

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

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

CASARINI, D. C. P. *et al.* **Relatório de estabelecimento de valores orientadores para solos e águas subterrâneas no estado de São Paulo / São Paulo: CETESB, 2001. 73 p.**

CASIDA J. R, L. E.; KLEIN, D. A.; SANTORO, T. Soil dehydrogenase activity. **Soil Science**, v. 98, p. 371-376, 1964.

CASIDA, L. E. Microbial metabolic activity in soil as measured by dehydrogenase determinations. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 34, p. 630-636, 1977.

CHANDER, K; BROOKES, P. C. Microbial biomass dynamics during the decomposition of glucose and maize in metal-contaminated and non-contaminated soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 23, p. 917-925, 1991.

CHANDER, K; BROOKES, P. C. Effects of Zn, Cu and Ni in sewage sludge on microbial biomass in a sandy loam soil. **Soil Biology and Biochemistry**. V. 25, p. 1231-1239, 1993.

CLARKE, K. R.; WARWICK, R. M. E. **Change in Marine Communities**. An approach to Statical Analysis and Interpretation. 2<sup>a</sup> ed. Plymouth: Primer-E, 2001.

CORNU, S.; NEAL, C.; AMBROSID, J.; WHITEHEAD, P.; NEAL, M; SIGOLO, J.; VACHIER, P. The environmental impact of heavy metals from sewage sludge in ferralsols Sao Paulo, Brazil. **The Science of the Total Environment**. v. 271, p. 27-48, 2001.

COSTA, C. A. S. **Mineralização de enxofre orgânico e adsorção de sulfato em solos**. 1980. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – UFRGS, Porto Alegre, 1980.

COUTO, E. R. **Medidas de ácidos fortes e seus sais em uma área do Complexo Petroquímico de camaçari – incineradores de resíduos líquidos da CETREL**. 1996. 88 f. Dissertação (Mestrado em Química) - UFBA, Salvador.

CRITTER, S. A. M.; FREITAS, S. S.; AIROLDI, C. Comparison of microbial activity in some Brazilian soils by microcalorimetric and respirometric methods. **Thermochimica Acta**. v. 410, p. 35-46, 2004.

CSD-GEOKLOCK Geologia e Engenharia Ambiental. Levantamento do Teor de Metais Pesados Área de Influência da CMSA Estudo Intermediário – I. **Relatório Técnico**. Caraíba Metais S.A. 1999.

DABIN, B. **Applications des Dosagens automatiques à analyse des sols**. Série Pedologie. Orston, v. 5, n° 3, 1965.

DAI, J; BECQUER, T; ROUILLER, J.H; REVERSAT, G; BERNHARD-REVERSAT, F; LAVELLE, P. Influence of heavy metals on C and N mineralisation and microbial biomass in Zn-, Pb-, Cu-, and Cd-contaminated soils. **Applied Soil Ecology**, v. 25, p. 99-109, 2004.

DAJOZ, R. **Ecologia Geral**. Petrópolis: Vozes, 1978. 474 p.

DICK, R. P., MYROLD, D. D., KERLE, E.A. Microbial biomass and soil enzyme activities in compacted and rehabilitated skid trail soils. **Soil Science Society of America Journal**, v.52, p. 512-516, 1988.

DIONÍSIO, J. A; RIOS, E. M.; MARTINS, K.F.; RESSETTI, R.R. Efeito do lodo de esgoto na densidade populacional de organismos do solo. In: ANDREOLI, C. V. A.; LARA, A. I.; FERNANDES, F. **Reciclagem de bio sólidos**. Transformando problemas e soluções. Curitiba: Sanepar, Finep, 1999. 288 p.

DOELMAN, P., HAANSTRA, L., Effect of lead on soil respiration and dehydrogenase activity. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 11, p. 475–479, 1979.

DOELMAN, P., HAANSTRA, L. Long-term and short-term effects of cadmium, chromium and zinc on soil microbial respiration in relation to abiotic soil factors. **Plant and Soil**, v. 79, p. 317-327, 1984.

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

FADIGAS, F. S. **Estimativa das concentrações naturais (pseudo-total) de Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb e Zn em solos brasileiros e proposição de valores de referência utilizando técnicas da estatística multivariada**. 2002. 103 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

FARREL, R. E.; GUPTA, V. V. S. R.; GERMIDA, J. J. Effects of cultivation on the activity and kinetics of arylsulfatase in Saskatchewan soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 26, p. 1033-1040, 1994.

FIGUEIREDO, M. B. **Efeitos da poluição atmosférica na estrutura da macro e mesofauna de artrópodes associada a serrapilheira**. 2004. 53 f. Trabalho de monografia (Bacharelado em Recursos Ambientais) – Instituto de Biologia, Universidade Federal da Bahia, Salvador.

FLIEßBACH, A., MARTENS, R., REBER, H.H. Soil microbial biomass and microbial activity in soil treated with heavy metal contaminated sewage sludge. **Soil Biology and Biochemistry**. V. 26, p. 1201±1205, 1994.

FREEDMAN, B; HUTCHINSON, T.C. Sources of metal and elemental contamination of terrestrial environments. In: Effects of heavy metal pollution on plants. **Appl. Sci. Publ**, v. 2, p. 35-94, 1981.

FREEDMAN, B. **Environmental ecology: the ecological effects of pollution, disturbance and other stresses**. 2 ed. London: Academic Press, 1995. 605 p.

FRIGHETTO, R. T. S e VALARINI, P. J. **Indicadores biológicos e bioquímicos da qualidade do solo: manual técnico**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. 198 p.

GILLER, K. E., WITTER, E., MCGRATH, S. P. Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils: a review. **Soil Biology and Biochemistry**. v. 30, p. 1389±1414, 1998.

GRINDON, L.H. **The Manchester flora**. Londres, 1885.

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

GROSSI, M. G. L. **Avaliação da qualidade dos produtos obtidos de usinas de compostagem brasileiras de lixo doméstico através de determinação de metais pesados e substâncias orgânica tóxicas**. 1993. 222 f. Tese (Doutorado) – Instituto de química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

GUNN, J. M. *et al.* From restoration to sustainable ecosystems. In: GUNN, J. M. (ed). **Restoration and Recovery of an industrial region: Progress in restoring the Smelter-Damaged landscape near Sudbury, Canadá**. New York: Springer-Verlag, 1995. p. 286-344.

GUPTA, V. V. S. R.; FARRELL, R. E.; GERMIDA, J. J. Activity of arylsulfatase in Saskatchewan soils. **Canadian Journal of Soil Science**, v. 73, p. 341-347, 1993.

HATTORI, H. Influence of heavy metals on soil microbial activities. **Soil Science and Plant Nutrition**, v.38, p. 93-100,1992.

HOLDGATE, M.W. **A perspective of environmental pollution**. Cambridge: Cambridge University Press,1979.

HUTCHINSON, T. C.; WHITBY, L. M. Heavy-metal pollution in the Sudbury mining and smelting region of Canada. I. Soil and vegetation contamination

by nickel, copper and other metals. **Environmental Conservation**, v. 1, p. 123–132, 1974.

IQBAL, M.; ABDIN, M. Z.; YUNUS, M.; AGRAWAL, M. Resistance mechanisms in plants against air pollution. In: YUNUS, M.; IQBAL, M. **Plant response to air pollution**. Chichester: John Wiley & Sons Ltd., 1996. p. 195-227.

JARVIS, B. M.; LANG, G. E. WIEDER, R. K. Arylsulphatase activity in peat exposed to acid precipitation. **Soil Biol Biochem**. v. 19, p. 107-109, 1987.

JENKINSON, D. S.; POWLSON, D. S. The effect of biocidal treatments on metabolism in soil. I. Fumigation with chloroform. **Soil Biol Biochem**. v. 8, p. 209-213, 1976.

JENKINSON, D. S.; LADD, J. M. Microbial biomass in soil: measurement and turnover. In: PAUL, E. A.; LADD, J. N. (Eds). **Soil Biochemistry**, vol. 05. New York: Dekker, 1981. p. 415-471.

KHAN, M.; SCULLION, J. Effect of soil on microbial responses to metal contamination. **Environmental Pollution**, v. 110, p. 115-125, 2000.

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

KANDELER, E.; TSCHERKO, D.; BRUCE, K.D.; STEMMER, M.; HOBBS, P.J.; BARDGETT, R.D.; AMELUNG, W. Structure and function of the soil microbial community in microhabitats of a heavy metal polluted soil. **Biology and Fertility of Soils**, v. 32, p. 390–400, 2000.

KLUMPP, A. Utilização de bioindicadores de poluição em condições temperadas e tropicais. In: MAIA, N.B.; MARTOS, H.L.; BARRELA, W. **Indicadores ambientais: conceitos e aplicações**. 1 ed. São Paulo: EDUC, 2001, p. 95-115.

KLUMPP, A. *et al.* Bioindication of air pollution effects near a copper smelter in Brazil using mango trees and soil microbiological properties. **Environmental Pollution**, v. 126, p. 313–321, 2003.

LAWRENCE, G. B. Persistent episodic acidification of streams linked to acid rain effects on soil **Atmospheric Environment**, v. 36, p. 1589–1598, 2002.

LEITA, L., DE NOBLIL, M., MUHLBACHOVA, G., MONDINI, C., MARCHIOL, L., ZERBI, G. Bioavailability and effects of heavy metals on soil microbial biomass survival during laboratory incubation. **Biology and Fertility of Soils**. v. 19, p. 103±108, 1995.

LEONARDO, H. C. L. **Indicadores de qualidade de solo e água para avaliação do uso sustentável da microbacia hidrográfica do Rio Passo Cue, Região Oeste do Estado do Paraná.** 2003. 121 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais com ênfase em Conservação de Recursos Florestais) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

LIMA, J. S. Processos Biológicos e o biomonitoramento: aspectos bioquímicos e morfológicos. In: MAIA, N.B.; MARTOS, H.L; BARRELA, W. **Indicadores ambientais: conceitos e aplicações.** 1 ed. São Paulo: EDUC, 2001, p. 95-115.

LIMA, J. S; ESPÍRITO SANTO, A. A; GOMES, S. S *et al.* Biomonitoring the effect of swage sludge on the remediation of contaminated soils in an industry in Bahia – Brazil In: SECOND INTERNATIONAL CONFERENCE ON PLANTS AND ENVIRONMENTAL POLLUTION, 2002, Lucknow. **Anais...** Lucknow: International Society of Environmental Botanists & National Botanical Research Institute, 2002. p. 32.

LIMA, J. S. O Biomonitoramento como ferramenta complementar na avaliação de impactos ambientais – Discutindo conceitos. **TecHoje**, Salvador, Jun, 2000. Disponível em: <[http://www.ietec.com.br:8080/ietec/techoje/materias\\_tec/meioambiente/tecnologias/dtml\\_materia\\_materia?id=http://www.ietec.com.br:8080/ietec/techoje/techoje/meioambiente/2003/01/24/2003\\_01\\_24\\_0007.2xt](http://www.ietec.com.br:8080/ietec/techoje/materias_tec/meioambiente/tecnologias/dtml_materia_materia?id=http://www.ietec.com.br:8080/ietec/techoje/techoje/meioambiente/2003/01/24/2003_01_24_0007.2xt)>. Acesso em: 25 nov. 2003.

LENHARD, G. The dehydrogenase activity for the study of soils and river deposits. **Soil Sci**, v. 101, p. 400-402.

LOPES, E. B. M. **Diversidade metabólica em solo tratado com bio sólidos.** 2001. 65 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Área de concentração: Solo e nutrição de plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, USP, Piracicaba.

MAGNUSSON, W. E.; MOURÃO, G. **Estatística sem matemática.** A ligação entre as questões e as análises. Londrina: Planta, 2003. 126 p.

MAJER, R. M.; PEPPER, I. L.; GERBA, C. P. **Environmental microbiology.** 1 ed. Canadá: Academic Press, 2000. 585 p.

MAJER, B. J.; TSCHERKO, D.; PASCHKE, A. *et al.* Effects of heavy metal contamination of soils on micronucleus induction in *Tradescantia* and on microbial enzyme activities: a comparative investigation. **Mutation Research**, p. 1-14, 2002.

MATSUOKA, M; MENDES, I. C; LOUREIRO, M. F. Biomassa microbiana e atividade enzimática em solos sob vegetação nativa e sistemas agrícolas anuais e perenes na região de Primavera do Leste (Mt). **R. Bras. Ci. Solo**, v. 27, p. 425-433, 2003.

MAXWELL, C. D. Acidification and metal contamination: Implications for the soil biota of Sudbury. In: GUNN, J. M. (ed). **Restoration and Recovery of an industrial region: Progress in restoring the Smelter-Damaged landscape near Sudbury, Canadá**. New York: Springer-Verlag, 1995. p. 286-344.

MCELDOWNEY, S.; HARDMAN, D. J.; WAITE, S. **Pollution: Ecology and Biotreatment**. 1 ed. New York: Logman Scientific Technical, 1993. 322 p.  
MCGILL, W.R., COLE, C.V. Comparative aspects of cycling of organic C, N, S, and P through soil organic matter. **Geoderma**, v. 26, p. 267-286, 1981.

MENDES, I. C.; SOUZA, L. V.; RESCK, V. S.; GOMES, A. C. Propriedades biológicas em agregados de um latossolo Vermelho-Escuro sob plantio convencional e direto no Cerrado. **R. Bras. Ci. Solo**, v. 27, p. 435-443, 2003.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. **Análise de corretivos fertilizantes e inoculantes, métodos oficiais**. Brasília: Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária, 1983. p.34-64.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: UFLA, 2002. 626 p.

NANNIPIERI, P.; CECCONTI, B.; CONTI, C.; BIANCHI, D. Hydrolases extracted from soil: their properties and activities. **Soil Biological Biochemistry**, v. 14, p. 257-263, 1982.

NYLANDER, W. Les lichens du jardin du Luxembourg. **Bull. Soc. Bot. France**, n. 13, p. 364-372, 1866.

ODUM, E. P. **Ecologia**. 1 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988. 434 p.

OSENBERG, C. W.; SCHMITT, R. J. Detecting ecological impacts caused by human activities. In: SCHMITT, R. J.; OSENBERG, C. W. **Detecting ecological impacts: Concepts and applications in coastal habitats**. New York: Academic Press, 1995, p. 3-16.

PANKHURST, C, E. *et al.* Biodiversity of soil microbial communities in agricultural systems. **Biodiversity and Conservation**. v.5, p.197-209, 1996;

PANKHURST, C. E.; ROGERS, S. L.; GUPTA, V. V.S.R. Microbial parameters for monitoring soil pollution. In: LYNCH, J. M. e WISEMAN, A. **Environmental Biomonitoring: The biotechnology interface**. 1 ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1998. p. 46-69.

PEDROZO, M. de F. M.; LIMA, I. V. Ecotoxicologia do cobre e seus compostos. In: PEDROZO, M. de F. M.; LIMA, I. V (eds) **Série Cadernos de Referência Ambiental**. Salvador: CRA, 2001. 128p

PIELOU, E. C. **The Interpretation of Ecological Data: A Primer on Classification and Ordination**. New York: Wiley, 1984, 263 p.

PIERZYNSKI, G. M.; SIMS, J. T.; VANCE, G. F. **Soils and environmental quality**. Florida: Lewis Publishes. 1994. 312 p.

PINTO, C. R. O; NAHAS, E. Atividade e população microbiana envolvida nas transformações do enxofre em solos com diferentes vegetações. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v. 37, n. 12, p. 1751-1756, dez. 2002.

POMPÉIA, S. L. Procedimentos técnicos para recuperação de áreas degradadas por poluição. In: I SIMPÓSIO SUL- AMERICANO E II SIMPÓSIO NACIONAL DE RECUPERAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS. 1994, Curitiba. **Anais...Curitiba**. 679p.

POPI, R. J.; SENA, M. M. Métodos quimiométricos na análise integrada de dados. In: FRIGHETO, R. T. S.; VALARINI, P. J. (coords.) **Indicadores biológicos e bioquímicos da qualidade do solo**. Manual técnico. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. 1198 p.

PRESCOTT, C. E.; PARKINSON, D. Effects of sulphur pollution on rates of litter decomposition in a pine forest. **Canadian Journal of Botany**, v. 63, p. 1436-1443, 1985.

PRIETZEL, J. Arylsulfatase activities in soils of the Black Forest/Germany-seasonal variation and effect of  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  fertilization. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 33, p. 1317-1328, 2001.

RIBEIRO, A. G., GONÇALVES, R. do N. Balanço Hídrico. Salvador: **Projeto RADAMBRASIL**. Relatório interno. 1978.

ROANE, T. M.; PEPPER, I. L. Microbial Responses to Environmentally Toxic Cadmium. **Microbial Ecology**, v. 38, p. 358-364, 2000.

RODRIGUES, P. C. **Bioestatística**. 3ed. Niterói: EdUFF, 2002. 339 p.

ROGERS, B.F.; TATE, R.L. Temporal analysis of the soil microbial community along a toposequence in Pineland soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 33, p. 1389-1401, 2001.

ROVERS, H.; CAMARGO, O. A.; VALADARES, J. M. A. S. Níquel total e solúvel em DTPA em solos do Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 7, n. 3, p. 217-220, 1983.

RUIVO, M. L. P; BARROS, N. F; SHAEFFER, C. E. R. Vegetação, biomassa microbiana e características químicas do solo como indicadores de reabilitação de áreas mineradas na Amazônia oriental. **Revista de ciência agrária**. v.36., p. 137-160, 2001.

SALGADO-LABOURIAU, M. L. **História ecológica da terra**. 2 ed. São Paulo: Edgard Blücher LTDA, 1994. 307 p.

SERÓDIO, M. H. C. F.; BRANDÃO, I. C. S. L. F. **Manual de análises de solo e água do laboratório de solos do CEPEC**. Ilhéus: Mistério da Agricultura e reforma Agrária (MARA), 1979.

SILVA, A. L. L. **Meio ambiente e desenvolvimento sustentável: uma reflexão crítica**. Belém: FCAP, Serviço de documentação e informação, 1996. 50 p.

SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S; GRISI, B. M; HUNGRIA, M; ARAÚJO, R. **Microrganismos e processos biológicos do solo. Perspectiva ambiental**. 1 ed. Brasília: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1994. 142 p.

SPEIR, T.W., LEE, R., PANSIER, E.A., CAIRNS, A. A comparison of sulphatase, urease and protease activities in planted and fallow soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 12, p. 281-291, 1980.

STEGEMANN, J. J. *et al.* Molecular responses to environmental contamination: enzyme and protein systems as indicators of chemical exposure and effect. In: HUGGETT, ROBERT *et al.* **Biomarkers: Biological, physiological and histological markers**. 1 ed. New York: Lewis Publishers, 1992. p. 235-334.

STENBERG, B. Monitoring soil quality of arable land: microbial indicators. **Soil and Plant Science**, v. 49, p. 1-24, 1999.

STEUNBING, L.; GODOY, R.; ALBERDI, M. **Metodos de ecología vegetal**. Santiago do Chile: Editora Universitária, 2002. 345 p.

SKUJINS, J. J. Enzymes in soil. In: MCLAREN, A.D., PETERSON, G.H. (Eds.). **Soil Biochemistry**, New York: Marcel Dekker, p. 371-414, 1976.

TABATABAI M. A.; BREMNER, J. M. Arylsulfatase activity of soils. **Soil Sci Soc Am Proc**, v. 34, p. 225-229, 1970.

TYLER, G. Heavy metals in soil biology and biochemistry. In: PAUL, E. A; LADD J. N. **Soil biochemistry**. New York: Dekker, v. 5, p. 371-414, 1981.

TOMÉ JR., J. B. **Manual para interpretação de Análise de solo**. Gauíba: Agronômica, 1997. 247 p.

TRASAR-CEPEDAA, C.; LEIRO´SB, M.C.; SEOANEB, S.; GIL-SOTRESB F. Limitations of soil enzymes as indicators of soil pollution. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 32, p. 1867-1875, 2000.

TURCO, R.; KENNEDY, A.; JAWSON, M. Microbial indicators of soil quality. **Soil Science Society of América**. USA: Madson, n. 35, 1994. p. 77-87.

VALETIN, J. L. **Ecologia Numérica**. Uma Introdução à análise Multivariada de dados Ecológicos. Rio de Janeiro: Interciência, 2000. 117 p.

VAN BEELEN, P.; DOELMAN, P. Significance and application of microbial toxicity tests in assessing ecotoxicological risks of contaminants in soil and sediments. **Chemosphere**, v. 34, p. 455-499, 1997.

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

VIEIRA. **Manual da ciência do solo: com ênfase aos solos tropicais**. 2. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1988. 464 p.

VELOSO, H. P.; RANGEL FILHO, A. L. R.; LIMA, J. C. A. **Classificação da vegetação brasileira, adaptada a um sistema universal**. IBGE, 1991. 123 p.

VISSER, S.; PARKINSON, D. Soil biological criteria as indicators of soil quality: soil microorganisms. **American Journal of Alternative Agriculture**, v. 7, p. 33-37, 1992.

VITTI, G. C. **Avaliação e interpretação do enxofre no solo e na planta**. Jabotocabal: Funep, 1988. 37 p.

WARDLE, D. A.; PARKINSON, D. Effects of three herbicides on soil microbial biomass and activity. **Plant and Soil**, v. 122, p.21-28, 1990.

WETZEL, A. Advances in biomonitoring: sensitivity and reliability in PAH-contaminated soil. In: LYNCH, J.M; WISEMAN. **Environmental biomonitoring: the biotechnology ecotoxicology interface**. New York: Cambridge Univesity Press, 1998. p. 27-45.

Witter, E. **Heavy metal concentrations in agricultural soils critical to microorganisms**. - Swedish Environmental Protection Agency, Report 4079, 1992.

[WHO] WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Copper**. Geneva: WHO, 1998.

ZAR, J. H. **Bioestatistical analysis**. 4ed. New Jersey: Prentice Hall, 1999.

## **7. ANEXOS**

---