

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE AMBIENTAL
CURSO DE ENGENHARIA AMBIENTAL

ISIS MOREIRA SANTOS

BIOINDICADORES DE QUALIDADE DE SOLO: microrganismos em um
estudo de caso

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CAMPO MOURÃO
2015

ISIS MOREIRA SANTOS

BIOINDICADORES DE QUALIDADE DE SOLO: microrganismos em
um estudo de caso

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II, do curso de Engenharia Ambiental, do Departamento Acadêmico de Ambiental (DAAMB), do Câmpus Campo Mourão, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia Ambiental.

Orientador: Prof. Dr Paulo Agenor Alves Bueno

Co-orientador: Profa.. Dra Elizabete Satsuki Sekine

CAMPO MOURÃO

2015



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Campo Mourão
Diretoria de Graduação e Educação Profissional
Departamento Acadêmico de Ambiental - DAAMB
Curso de Engenharia Ambiental



TERMO DE APROVAÇÃO

BIOINDICADORES DE QUALIDADE DE SOLO: microrganismos em um estudo de
caso

por

ISIS MOREIRA SANTOS

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado em 07 de julho de 2015 como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia Ambiental. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a banca examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Prof. Dr. PAULO AGENOR ALVES BUENO

Prof. Dr. ELIZABETE SATSUKI SEKINE

Prof. Dr. DÉBORA CRISTINA DE SOUZA

Prof. Dr. MORGANA SUSZEK GONÇALVES

"O Termo de Aprovação assinado encontra-se na Coordenação do Curso de Engenharia Ambiental".

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me abençoar e me acompanhar nessa caminhada. e não somente nestes anos como universitária, mas em todos os momentos.

Aos meus amados pais, pelo incentivo e apoio. Obrigada pelos ensinamentos, pela dedicação, pelo companheirismo, pelos conselhos e especialmente pelos exemplos. Agradeço pelas varias vezes que ouviram minhas reclamações, meus choros, meus pedidos de voltar para casa e sempre me incentivando a continuar.

Aos meus irmãos, por todo amor e dedicação, e por sempre estarem presentes na minha vida, principalmente nos momentos importantes para mim.

Agradeço o meu orientador Prof^o Dr. Paulo Agenor Alves Bueno, pela orientação, ensinamento, paciência e amizade, pois sem seu conhecimento, não seria capaz de realizar esse trabalho.

A minha co-orientadora Prof.^a Dra Elizabete Satsuki Sekine, pelas colaborações no desenvolvimento deste trabalho e por acrescentar parte do seu conhecimento.

A todos os professores que colaboraram para minha formação.

A toda equipe do Laboratório de Ecologia UTFPR-CM, agradeço especialmente o Diego, Thaysa, Rafael e a Lorene, que colaboraram com as coletas e análises.

A minha grande amiga Katielle, pela sua preocupação, pelo carinho, pela paciência, pelos cuidados, pelo ombro amigo e principalmente pelo companheirismo.

As minhas amigas e companheiras, Carol, Fabiana, Gigliolla, Jeanyni, Juliana, Juliane, Maria Eduarda, Mariana, Natália e Tamyris. Agradeço pelas conversas, pelas festas, pela companhia de todos os dias e por aceitarem meus hábitos. Sou grata por serem minhas amigas.

A turma do segundo semestre de 2010 de Engenharia Ambiental, que me acolheram e estavam sempre dispostos a me ensinar e ajudar.

A todos os amigos que de uma maneira ou de outra estiveram presentes no meu cotidiano, que estiveram presentes nos bons e maus momentos.

De modo em geral agradeço a todas as pessoas que participaram em algum momento dessa caminhada, que de alguma forma me incentivaram e acreditaram em mim.

RESUMO

SANTOS, Isis M. **BIOINDICADORES DE QUALIDADE DE SOLO: microrganismos em um estudo de caso**. 2015. 39 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Ambiental) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2015.

Os microrganismos são importantes na degradação da matéria orgânica e são fundamentais na dinâmica de nutrientes do solo. Este trabalho teve como objetivo avaliar microbiologicamente a qualidade ambiental do solo de um fragmento floresta estacional semidecidual montana no município Corumbataí do Sul - PR, utilizando microrganismos como bioindicadores. Este estudo foi desenvolvido em uma propriedade particular, onde possui uma vegetação de floresta estacional semidecidual montana. Foram demarcados dois sítios amostrais que tinham 15m², um no começo da vertente, que apresentava sinais de ação antrópica e menor cobertura vegetal, com menos quantidade de serrapilheira e a coloração do solo diferenciada, em relação ao outro sítio, que estava situado aproximadamente 100 m mais alto que primeiro sítio. Foram realizadas três coletas de amostra de solo, antes das coletas retirou-se a serrapilheira e todo material orgânico da superfície do solo. Dentro dos sítios amostrais retirou-se cinco subamostras, todas elas foram homogeneizadas, separadamente por sítio e em seguida levadas ao laboratório de Ecologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná Câmpus Campo Mourão para o processamento. Já para estabilizar a umidade, o solo foi pesado todos os dias até estabilizar a perda de água, sendo realizado em triplicata para cada sítio amostral. Posteriormente, realizou-se o procedimento de diluição em série que também foi feito em triplicata para os dois sítios amostrais, dessa forma, utilizando para as análises microbiológicas, na qual todas foram feitas em triplicatas. A partir das análises estatísticas obteve-se que os dois sítios amostrais no fragmento florestal são distintos em relação a todas as análises microbiológicas. Entretanto, o segundo sítio amostral apresentou em todas as análises maior quantidade de formações de colônias, demonstrando que é mais propício para os microrganismos, pois aparentemente o local sofreu menos ações antrópicas e apresenta uma cobertura vegetal maior, com maior quantidade de serrapilheira e a aparência do solo diferenciada. Dessa maneira, ocorrência de existir um ambiente mais abundante microbiologicamente demonstra uma possível influencia ambiental de fatores que não foram designadamente avaliados nesse estudo, mas que, segundo alguns autores, refletem mais diretamente na formação da microbiota do solo.

Palavras-chave: Microrganismos; Bioindicadores; Qualidade do solo; Fragmento Florestal.

ABSTRACT

SANTOS, Isis M. **SOIL QUALITY BIOINDICATORS : microorganisms in a case study**. 2015. 39 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Ambiental) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2015.

Microorganisms are important in the degradation of organic matter and are crucial in the dynamics of soil nutrients. This study aimed to evaluate microbiological environmental soil quality of a fragment semideciduous forest montana in the city of Corumbataí do Sul - PR, using microorganisms as biological indicators. This study was conducted in a private estate, which has a vegetation of semideciduous forest montana. There were two sample sites that had marked 15m², one at the beginning of the strand, which showed signs of human action and a lower canopy, with less amount of litter and differentiated coloring of the soil in relation to the other site, which was located approximately 100 m higher than first place. There were three soil sample collections, before the collections withdrew from the litter and all organic material from the soil surface. Within the sample sites retired five sub-samples, all were homogenized separately per site and then taken to the Ecology Laboratory of the Federal Technological University of Paraná Campus Campo Mourao for processing. Have to stabilize the moisture, the soil was weighed every day to stabilize the water loss, being performed in triplicate for each sample site. Subsequently, it carried out the dilution series procedure was also done in triplicate for two sampling sites thus using for microbiological analyzes, which were all done in triplicate. From the statistical analysis it was found that the two sampling sites in the forest fragment are different in relation to all microbiological analyzes. However, the second sample site presented in all analyzes largest amount of colonies formations, showing that it is more conducive for microorganisms because apparently the place suffered less human actions and presents a greater vegetation cover, with higher amounts of litter and the appearance the differentiated ground. Thus, occurrence there is a more abundant environment microbiologically demonstrates a possible environmental influence factors that were not evaluated in this particular study, but, according to some authors, reflect more directly in the formation of soil microbes.

Key-words: Microorganisms; Bio-indicators; Quality of the soil; Forest Fragment.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Vista do fragmento florestal em estudo no município de Corumbataí do Sul – PR.	16
Figura 2 - Mapa de localização dos sítios amostrais dentro do fragmento florestal em estudo no município de Corumbataí do Sul - PR.	17
Figura 3 - Profundidade das subamostras.	18
Figura 4 - Distribuição das cinco subamostras nas áreas amostrais.....	18
Figura 5 - Preparação das amostras de solo.....	19
Figura 6 - Diluição seriada de amostra de solo.	20
Figura 7 - Placa de Petri contendo colônia com halo transparente em seu redor indicando produção de celulase.	22
Figura 8 - Número de colônias formadas em triplicata nos dois sítios amostrais (A – primeiro sítio e B – segundo sítio).	24
Figura 9 – Diferença de bactérias aeróbias entre as médias dos dois sítios amostrais no município de Corumbataí do Sul - PR.	25
Figura 10 - Diferença em porcentagem de placas de Bactérias Produtoras de Celulase entre os dos dois sítios amostrais no município de Corumbataí do Sul - PR (A – primeiro sítio e B – segundo sítio).	26
Figura 11 - Número de colônias formadas em triplicata nos dois sítios amostrais no município de Corumbataí do Sul - PR (A – primeiro sítio e B – segundo sítio).	28
Figura 12 - Diferença de Fungos entre as médias dos dois sítios amostrais no município de Corumbataí do Sul - PR.	29
Figura 13 - Diferença entre total de fungo e total de bactérias aeróbias no município de Corumbataí do Sul - PR.	30

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 OBJETIVOS	10
2.1 OBJETIVO GERAL	10
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	10
3 REVISÃO DE LITERATURA	11
4 MATERIAL E METODOS	15
4.1 ÁREA DE ESTUDO.....	15
4.2 COLETA, ARMAZENAMENTO E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	17
4.3 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA.....	20
4.3.1 Total de Bactérias Aeróbias	21
4.3.2 Bactérias Produtoras de Celulase	21
4.3.3 Total de Fungos	22
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	23
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
5.1 BACTÉRIAS AERÓBIAS.....	24
5.2 BACTÉRIAS PRODUTORAS DE CELULASE	26
5.3 FUNGOS.....	27
6 CONCLUSÃO	33
REFERÊNCIAS	34

1 INTRODUÇÃO

De acordo com Moreira e Siqueira (2006) o solo é um hábitat, e como tal é diferente, descontínuo e estruturado, apresentando micro-habitats com diferentes características químicas, físicas e comunidades biológicas, interdependentes. É nestes micro-habitats que se constata as populações microbianas, que interferem e são interferidas diretamente pelas características do ecossistema.

A qualidade do solo pode ser determinada como a capacidade contínua do solo de aceitar, estocar, e reciclar água, nutrientes e energia, bem como reter e transformar materiais químicos e biológicos, trabalhando como filtro ambiental (JAHNEL et al., 2007).

A degradação da qualidade do solo é apresentada por processos erosivos, redução de matéria orgânica, perda de nutrientes, compactação do solo, redução de populações microbianas de atividades enzimáticas e pH (MELLONI, 2007).

Para a avaliação da qualidade do solo, é importante o uso de bioindicadores, pois eles integram suas propriedades químicas, biológicas e físicas, onde associam com a capacidade em exercer funções que tem interferência na produtividade de plantas, animais e no ambiente, podendo ter alterações com o passar do tempo devido a eventos naturais ou por antropização (LIMA et al. 2007).

Os microrganismos são essenciais na decomposição da matéria orgânica e têm papel indispensável na dinâmica de nutrientes do solo. Dessa forma, os microrganismos participam de processos ou atividades que possibilitam caracterizar, avaliar e acompanhar transformações na qualidade em um determinado ecossistema por características quantitativas ou qualitativas (MARTINS et al., 2010).

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; SIQUEIRA, 2006).

Embora apenas parte das células microbianas do solo esteja ativa, estima-se que cerca de 15 a 30% das bactérias e 10% dos fungos, possuem a capacidade de exercer importantes papéis 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. De acordo com Witter (1992), essas características relacionadas a rapidez na resposta a perturbações causadas ao solo conferem, aos microrganismos, a condição de bons bioindicadores da qualidade do solo.

A diversidade microbiana pode ser determinada através da tradicional técnica de contagem de Unidades Formadoras de Colônia (UFC), resultante da inoculação de diluições seriadas de uma suspensão de solo, que permite avaliar a densidade populacional de microrganismos cultiváveis (NANNIPIERI et al., 2007). Essas avaliações são necessárias para estabelecer relações ecológicas que acontecem no solo, também para mencionar fatores que associam no equilíbrio microbiológico e na relação entre os diferentes grupos e espécies de microrganismos do solo (PEREIRA et al., 1996).

Portanto, o presente trabalho tem como objetivo avaliar microbiologicamente a qualidade ambiental do solo de um fragmento de floresta estacional semidecidual montana no município de Corumbataí do Sul – PR, utilizando microrganismos como bioindicadores.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar microbiologicamente a qualidade ambiental do solo de um fragmento floresta estacional semidecidual montana no município Corumbataí do Sul - PR, utilizando microrganismos como bioindicadores.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Quantificar a população total cultivável de bactérias aeróbias e fungos em amostras de solo em fragmento florestal;
- Quantificar microrganismos com capacidade de produção de enzimas para degradação de celulose;
- Comparação de dois sítios amostrais com características ambientais aparentemente distintas.

3 REVISÃO DE LITERATURA

O solo é consequência dos processos intempéricos sobre as rochas, que podem ser físicos, químicos e biológicos, onde os solos proporcionam diferentes capacidades de retenção de elementos orgânicos e inorgânicos. A retenção e a movimentação de elementos solúveis são designadas pela textura e porosidade do solo e pela característica de cada superfície coloidal, a qual influenciará na solubilidade e troca de íons por processos de adsorção-dessorção, devido à complexação e reação redox dos elementos ativos na solução do solo, sendo que essas características são influenciadas pela quantidade de matéria orgânica existente e pela drenagem do solo (SILVA; GRIEBELER; BORGES, 2006).

Uma característica comum de todos os solos é o desenvolvimento em diferentes camadas quase horizontais, chamadas horizontes. Uma seção vertical do solo, expondo-as, é designada perfil. Logo, o perfil do solo exprime a ação conjunta de diversos fatores, e a sequência de horizontes caracteriza o solo e determina-lhe o valor agrícola. O perfil é chave para a identificação das séries de solo. A camada superficial, denominada horizonte A, em geral tem mais matéria orgânica e possui uma coloração mais escura. A camada seguinte, horizonte B, contém mais argila e é diferente na coloração, em geral mais clara que a superficial. Abaixo da camada B vem o horizonte C, constituído do material original, e o horizonte R, que é a rocha. Quando a camada superficial apresenta características mais afastadas do material de origem, como as camadas orgânicas dos solos minerais, é considerado horizonte O (BERTONI; LOMBARDI NETO, 2012).

A fração biológica é um dos principais constituintes do solo. Essa fração é constituída por comunidades de pequenos animais (mesofauna) e microrganismos (microfauna e microflora). Algumas das propriedades dos solos são resultantes da atividade biológica, e as relações e interações entre diversas comunidades de organismos do solo colaboram para o funcionamento do solo, e para diversos outros processos que, por sua vez, estão ligados à cadeia trófica (ARAÚJO; HUNGRIA, 1994).

A razão da microbiologia do solo ter se desenvolvido rapidamente nos últimos anos talvez esteja no reconhecimento da importância dos microrganismos para a manutenção do solo. A própria formação do solo a partir das rochas é um processo

que conta com a participação dos microrganismos, da mesma maneira, todos os processos de decomposição de resíduos orgânicos que resultam na ciclagem dos nutrientes (ciclos biogeoquímicos) e na formação da matéria orgânica com consequente sequestro de carbono que também são realizados por microrganismos, além destes, a biorremediação de poluentes, a degradação de agrotóxicos, a formação das associações micorrízicas entre fungos e plantas e a fixação biológica do nitrogênio (FBN) por bactérias, entre outros (MENDES; REIS JUNIOR, 2010).

Entre os elementos da biota do solo, as bactérias e os fungos detêm altos valores de biomassa e metabolismo respiratório, além de desempenharem contribuição no processo de decomposição da matéria orgânica, ao passo que uma fauna variada desses dois grupos permite a degradação total de restos de plantas e animais. Esta população controla processos vitais e de reciclagem de nutrientes em ecossistemas florestais, contudo, pouco se sabe a respeito da forma como essas espécies de microrganismos vivos respondem às variações climáticas locais, como também são poucos os conhecimentos dos padrões de variabilidade espacial do microclima dentro de floresta primária tropical (SOUTO et al., 2008).

Dentre os fatores físicos que mais afetam a comunidade edáfica está a temperatura, que influencia não só as reações fisiológicas celulares, mas também características físico-químicas do ambiente, tais como volume do solo, potencial de oxirredução, pressão, difusão, tensão superficial, estrutura da água, que por sua vez apresentam influência direta no ambiente microbiano (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). As alterações nas populações microbianas acontecem especialmente em consequência de modificações do pH, da umidade, da aeração, da temperatura e da disponibilidade de nutrientes orgânicos e inorgânicos (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Os microrganismos são excelentes indicadores, porque se relacionam com as propriedades físicas e químicas do solo e são capazes a quaisquer modificações neste sistema, além de serem relativamente simples de mensurar, sendo a avaliação através de cultura em placas um procedimento de fácil acesso e satisfatório (ALVES, 2013). Segundo Losekann (2009), a contagem de microrganismos no solo, apesar de ser vista com ressalvas, ajuda a entender os processos que nele ocorrem e pode servir como indicador do impacto de diversas atividades antrópicas.

Para Moreira e Siqueira (2006) a população bacteriana é estimada em aproximadamente 10^8 e 10^9 unidades g^{-1} de solo, que pode alterar de acordo com a

técnica de contagem empregada e o tipo do solo. No solo estima-se que existam mais de 800 espécies de bactérias, sendo que a maior parte pertence a ordem Eubacteriales, que habitam as camadas superficiais, principalmente em partículas orgânicas por ocasião de degradação da serrapilheira e na rizosfera. As bactérias de maior ocorrência no solo pertencem aos gêneros: *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Xanthomonas* e *Micrococcus*, além dos menos representativos, mas de grande importância ao ecossistema: *Nitrosomonas*, *Nitrobacter*, *Ferrobacillus*, *Thiobacillus*, *Hydrogenomas*, *Dessulfovibrio*, *Methanoobacillus*, *Carboxidomonas*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Prospania*, *Azospirillum*, *Beijerinckia*, *Azotomonas*, *Derxia* e outros gêneros de vida livre no solo (BRANDÃO,1992). As diversas condições do solo influem no crescimento das bactérias, sendo uma das mais importantes o suprimento de oxigênio e de umidade, temperatura, quantidade e natureza do substrato (BRADY, 1983).

Já os fungos variam em tamanho, desde os microscópicos até os grandes e visíveis a olho nu, tais como os cogumelos. Especialmente em solos ácidos, os fungos contribuem com maior peso a matéria orgânica do solo, se comparado a outros microrganismos (GRANT; LONG,1989). Os fungos podem suportar melhor as condições de baixo pH quando comparados as bactérias. Além disso, acredita-se que os fungos são mais eficientes na utilização do substrato do carbono, sendo os decompositores dominantes dos estágios iniciais da degradação da serrapilheira (BALDANI et al., 2000).

O habitat preferencial dos fungos é o de solos ácidos, onde há menor competição, já que bactérias e actinomicetos são favorecidos por pH neutro e alcalino. Podem ocorrer em solos com pH 2,0 e 9,0 ,dependendo da espécie (PRIMAVESI, 2002). Segundo Garassini (1967) os fungos se encontram nos solos muito difundidos, muitos deles vivendo de forma temporária ou permanente. São abundantes na época de maior temperatura e é possível que a fermentação espontânea, dessa forma que vivem nos solos e logo são transportados pelo vento e terra. Sua função no solo é desempenhar um papel muito importante na transformação da matéria orgânica.

A massa microbiana é responsável direta e indiretamente por processos microbiológicos e bioquímicos diversos, os quais exercem influência na produtividade e sustentabilidade dos ecossistemas terrestres (SIQUEIRA et al.,1994).

Segundo Doran¹ (et al., 1996 apud MENDES et al., 2006) o uso de bioindicadores da qualidade do solo para avaliação da sustentabilidade ambiental é de grande importância. Esta qualidade pode ser definida como a capacidade do solo que funciona dentro dos limites do ecossistema, pois os microrganismos têm a capacidade da manutenção de processos ecológicos como a decomposição da matéria orgânica, ciclagem de nutrientes, agregação do solo e controle de patógenos dentro do ecossistema.

¹ DORAN, J.W; SARNTOI, M.; LEBIG, M.A. Soil health and sustainability. *Advances in Agronomy*, San Diego, v.56p1-4, 96.

4 MATERIAL E METODOS

4.1 ÁREA DE ESTUDO

O presente estudo foi realizado no município de Corumbataí do Sul-PR situado na latitude 24° 08' 12" e longitude 52° 08' 13,3".

O município está inserido no Terceiro Planalto paranaense e pertencente tanto ao Planalto de Campo Mourão como ao Planalto do Alto/Médio Piquiri, esse município possui o relevo ondulado a fortemente ondulado, apresenta declividades até 24 graus e solos inaptos ao uso agrícola, associados a solos aptos do tipo regular com problemas de erosão (IPARDES, 2004).

De acordo com a classificação Climática de Köppen-Geiger é do tipo Cfa: a região de Corumbataí do Sul pertence ao clima sub-tropical úmido mesotérmico com verões quentes e geadas pouco frequentes, com tendência de concentração das chuvas nos meses de verão, sem estação seca definida e a média das temperaturas dos meses mais quentes é superior a 22°C e a dos meses mais frios é inferior a 18°C. Os índices pluviométricos apresentam-se em média entre 1.600 mm e 1.800 mm por ano (CAVIGLIONE et al., 2000).

O município de Corumbataí do Sul possuía uma cobertura vegetal constituída pela Floresta Estacional Semidecidual, que abrange as formações florestais das regiões norte e oeste do Estado do Paraná, com altitude variável de 800 m a 200 m, exibindo florística menos rica em relação às formações ombrófilas (RODERJAN et al. 2002). A formação apresenta, como característica importante, uma pouca perda de folhas no período seco (EMBRAPA, 2011).

A geologia do município de estudo está inserida na Bacia do Paraná havendo a Formação Serra Geral que pertence ao Grupo São Bento, dessa maneira a formação é composta por vastos derrames de rochas magmáticas, prevalecendo o basalto (ATLAS, 2011). As rochas basálticas, ao se alterarem formam blocos de rocha, formando escamas sendo comum nas encostas do município. Muitas vezes as erosões ressaltam na topografia as unidades de derrames, formando escarpas com declividades acima de 20%, delimitadas por quebras de relevo (MINEROPAR, 2001).

O fragmento florestal em estudo localiza-se em uma propriedade particular, no município de Corumbataí do Sul-PR (Figura 1). Foram demarcados no fragmento florestal dois sítios amostrais, sendo um no começo da vertente que esta localizado na latitude $24^{\circ} 8'6.07''$ S e longitude $52^{\circ} 8'28.99''$ O, que apresentava sinais de ação antrópica e menor cobertura vegetal, com menos quantidade de serrapilheira e a coloração do solo diferenciada, em relação ao outro sítio, que estava situado aproximadamente 100 m mais alto que primeiro sítio. Este situado nas coordenadas dentro da latitude $24^{\circ} 8'8.26''$ S e longitude $52^{\circ} 8'30.51''$ O (Figura 2).



Figura 1 - Vista do fragmento florestal em estudo no município de Corumbataí do Sul – PR.

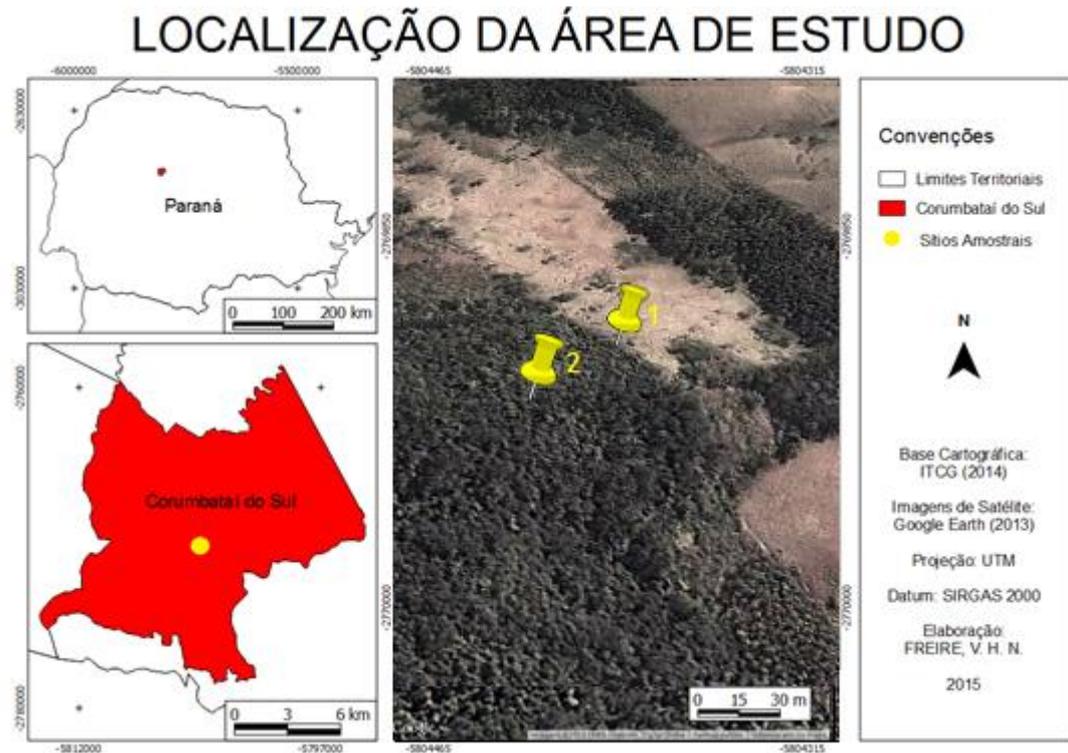


Figura 2 - Mapa de localização dos sítios amostrais dentro do fragmento florestal em estudo no município de Corumbataí do Sul - PR.

O fragmento florestal estudado apresenta características de formação secundária, indicando que no passado possa ter sofrido exploração de madeira. Observa-se também a presença de algumas espécies exóticas invasoras, que não contribuem com a formação florestal e recuperação de forma positiva.

A estatura média florestal está em torno de oito metros, com a maioria dos indivíduos vegetais com troncos finos, característica de ser uma floresta jovem e em estágio secundário de sucessão (CAMPIOLO, 2014).

O fragmento florestal em estudo, foi classificado até o quarto nível categórico como NEOSSOLO LITÓLICO EUTRÓFICO (CAMPIOLO, 2014). Este solo é conhecido pelo seu pequeno desenvolvimento, compreendem como solos rasos e férteis e a soma dos horizontes sobre a rocha não ultrapassam 50 cm de profundidade. Além disto, encontrando-se horizontes O/A/Cr sobre a rocha alterada com grande presença de cascalho (EMBRAPA, 2011).

4.2 COLETA, ARMAZENAMENTO E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Para o primeiro sítio amostral as coletas foram realizadas em março e abril, já para do segundo sítio amostral a coleta foi somente no mês de junho, todas no ano de 2015, as mesmas foram realizadas com o auxílio de pá reta, régua (20 cm), cavadeira articulada e cavadeira reta. Antes das coletas retirou-se a serapilheira e todo material orgânico da superfície do solo. Os dois sítios amostrais tinham 15m² (5m x 3m). Dentro dos sítios amostrais retiraram-se cinco subamostras, sendo elas com aproximadamente 10 cm de diâmetro e 20 cm de profundidade (Figura 3) em duas linhas transversais ligando os quatro cantos da área amostral formando um “X” (Figura 4).



Figura 3 - Profundidade das subamostras.

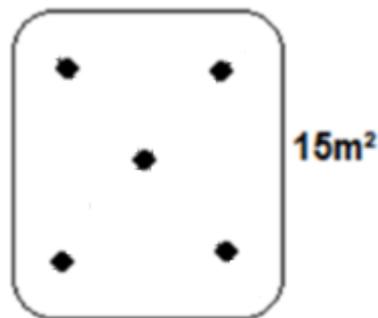


Figura 4 - Distribuição das cinco subamostras nas áreas amostrais.
Fonte: Alves, 2013. Adaptado.

Todas as cinco subamostras de cada sítio amostral foram homogeneizadas separadamente por sítio, acondicionadas em sacos plásticos pretos (100L)

devidamente identificados, totalizando uma amostra, e em seguida levadas ao laboratório de Ecologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná Câmpus Campo Mourão para o processamento.

Em laboratório, espalhou-se o solo em bandejas plásticas brancas (70x40 cm e 10 cm de altura), para a remoção de raízes, pedaços de madeira e folhas. Foi peneirado com peneira de 2mm de malha, mantendo protegidas da luz, calor e umidade. Já para estabilizar a umidade, utilizou-se de cada sítio amostral 100g de solo, dessa forma foi armazenado em estufa a 30 °C e pesado todos os dias até estabilizar a perda de água, sendo realizado em triplicata para cada sitio amostral.

Em seguida, realizou-se o procedimento de diluição em série das amostras em triplicata. Uma alíquota de 10 g de cada amostra foi diluída em 90 mL de solução salina (0,85% NaCL) estéril, mantendo sob agitação por 40min (Figura 5), sendo esta diluição considerada 10^{-1} . A partir desta diluição inicial foram feitas as diluições 10^{-2} até a 10^{-6} utilizando 1 mL da diluição anterior em 9 mL de solução salina (Figura 6) (ALVES, 2013).



Figura 5 - Preparação das amostras de solo.

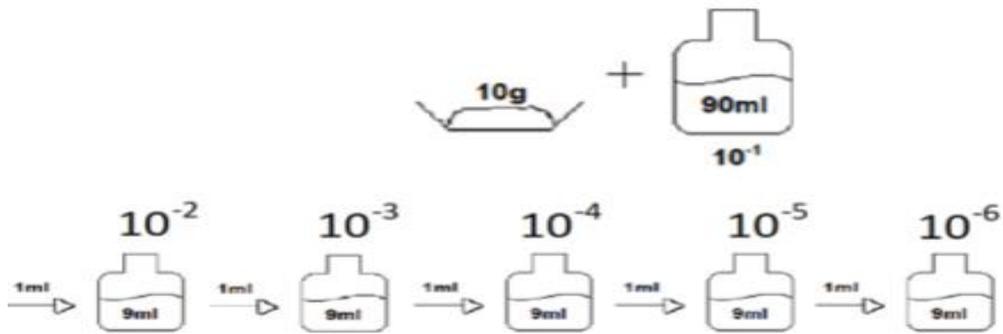


Figura 6 - Diluição seriada de amostra de solo.
Fonte: Alves, 2013.

4.3 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

Resumidamente a Tabela 1 apresenta como realizou-se as análises microbiológicas.

Tabela 1 – Como foram feitas as análises microbiológicas.

					(continua)
Análise Microbiológica	Meio de Cultura	Inoculações	Repetições	Temp./Tempo na estufa	Contagem da população
Bactérias Aeróbias	Meio Luria-Bertani	0,1ml das diluições 10^{-4} até 10^{-6}	Cinco para cada diluição	27°C por 48h	Técnica de contagem de placas, calculando-se a média de 5 repetições por diluição
Bactérias Produtoras de Celulase	Meio Luria-Bertani acrescido de 0,2% de Carboximetilcelulose	0,1ml das diluições 10^{-4} até 10^{-6}	Cinco para cada diluição	27°C por 48h	Técnica de contagem de placas, calculando-se a média de 5 repetições por diluição

Tabela 1 – Como foram feitas as análises microbiológicas.

Análise Microbiológica	Meio de Cultura	Inoculações	Repetições	Temp./ Tempo na estufa	(conclusão)
					Contagem da população
Total de Fungos	Meio Martin's- Bengala Agar	0,1ml das diluições 10^{-2} até 10^{-4}	Cinco para cada diluição	27°C por (quatro a cinco dias)	Técnica de contagem de placas, calculando- se a média de 5 repetições por diluição

4.3.1 Total de Bactérias Aeróbias

Para o crescimento de bactérias aeróbias foi preparado o Meio Luria-Bertani, o mesmo foi autoclavado a 120°C por 15min, e vertido em placas de Petri, inoculando-se 0,1ml das diluições 10^{-4} até 10^{-6} . Para cada diluição realizou se cinco repetições.

As placas foram incubadas, a 27°C, por 48h antes da primeira contagem. As contagens foram realizadas diariamente até estabilização do crescimento, que aconteceu após o terceiro dia. A contagem da população de bactérias foi realizada através da técnica de contagem de placas, calculando-se a média de cinco repetições por diluição (ALVES, 2013).

4.3.2 Bactérias Produtoras de Celulase

As mesmas diluições citadas para Bactérias Aeróbias foram inoculadas em placas de Petri contendo o meio Luria-Bertani acrescido de 0,2% de carboximetilcelulose, incubadas, a 27°C, por 48h antes da primeira contagem,

realizou-se contagens diariamente durante três dias quando foi obtida a estabilização do crescimento.

Após estabilização do crescimento, as placas foram imersas em solução de vermelho congo (1mg mL^{-1}) por 30 min e lavadas com solução de NaCl 1M (REINHOL-HUREK et al.,1993). Foram apontadas positivas as colônias que possuíram, em volta de si, um halo transparente que quer dizer que a celulose está degradada (Figura 7). A contagem da população de bactérias positivas também foi realizada através da técnica de contagem de placas, calculando-se a média de cinco repetições por diluição.

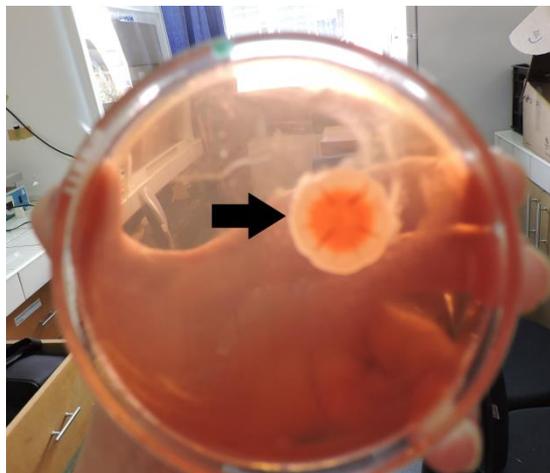


Figura 7 - Placa de Petri contendo colônia com halo transparente em seu redor indicando produção de celulase.

4.3.3 Total de Fungos

Para avaliação da população de fungos preparou-se o meio Martin's-Bengala Agar. Tirou-se 0,1ml das diluições seriadas de 10^{-2} a 10^{-4} e inoculado nas placas de Petri, em seguida foram levados à estufa e incubadas por aproximadamente 4 a 5 dias a 27°C , a contagem de colônia foi feita todos os dias. A contagem da população de fungos foi realizada através da técnica de contagem em placas, calculando-se a média de cinco repetições por diluição (ALVES, 2013).

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi feita somente para as bactérias aeróbias e fungos. Primeiramente, foi realizado a comparação entre as três amostras de cada sítio amostral utilizando a análise de variância não paramétrica (teste de Wruskal Wallis). Comparou-se os resultados de números de colônias formadas entre os sítios amostrais através do teste de Mann Whitney a 5% de probabilidade de erro. Utilizou-se para as análises o *software* Bioestat 5.0 (AYRES et al., 2007).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 BACTÉRIAS AERÓBIAS

Verificou-se nos resultados de formações de colônias que em bactérias aeróbias as três amostras utilizadas no procedimento metodológico, tanto no primeiro sítio amostral quanto no segundo sítio amostral são estatisticamente homogêneas e bem representativas entre cada local, respectivamente apresentando $(p) = 0,0806$ e $(p) = 0,7626$ (Figura 8). Isso reforça a eficiência da metodologia aplicada no sentido de representar significativamente uma área relativamente ampla, por meio de microrganismos.

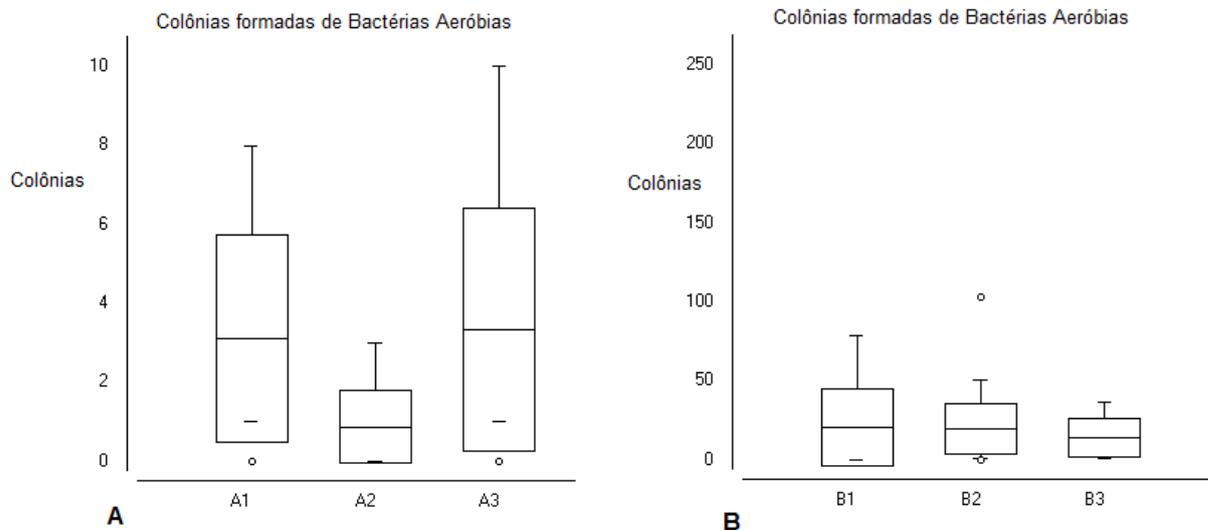


Figura 8 - Número de colônias formadas em triplicata nos dois sítios amostrais (A – primeiro sítio e B – segundo sítio).

Observou-se ainda que no primeiro sítio amostral a diluição (10^{-4}) mais representativa apresentou $2,6 \times 10^5$ UFC/g de solo, logo revelou menos quantidade de bactérias aeróbias, comparando com outro sítio que a diluição (10^{-4}) foi a mais representativa formando $2,4 \times 10^6$ UFC/g de solo (Figura 9).

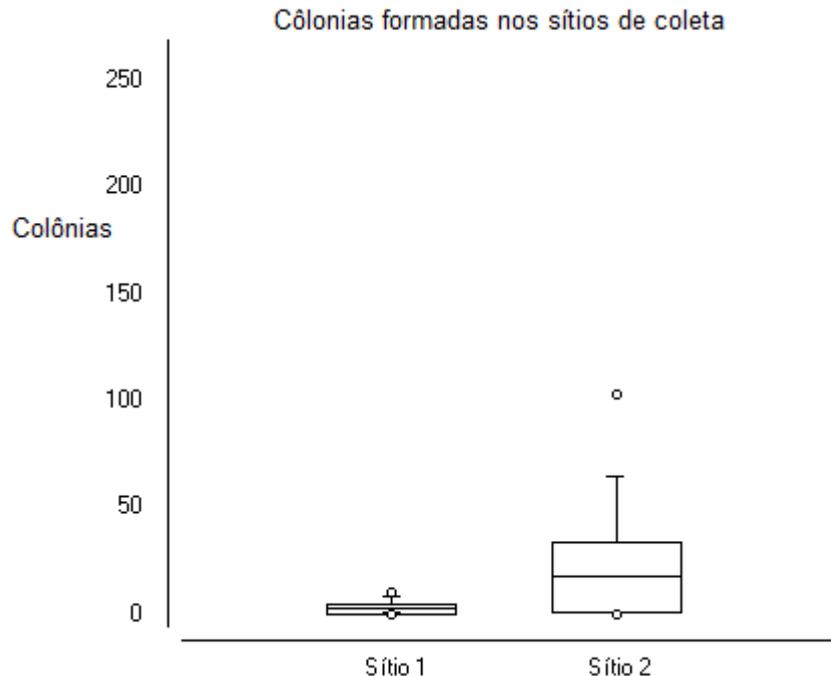


Figura 9 – Diferença de bactérias aeróbias entre as médias dos dois sítios amostrais no município de Corumbataí do Sul - PR.

Os valores obtidos na avaliação do segundo sítio amostral podem ser resultantes do equilíbrio microbiológico encontrado neste local, que aparentemente sofreu menos ações antrópicas e apresenta uma cobertura vegetal maior, com maior quantidade de serapilheira e a coloração do solo diferenciada. Essas características locais podem ser relevantes quanto a quantidade de matéria orgânica, umidade e um conseqüente nível metabólico do solo que reflita numa composição mais rica em microrganismos. Esta alta quantificação de diversidade microbiológica encontrada geralmente é determinada por diversos processos e interações que modificam as condições dos microambientes ocupados pelos microrganismos que, por conseqüente, alteram as densidades das diversas populações na comunidade (Siqueira et al.,1994).

De acordo com Miranda, Ferreira e Menezes (1997), a ocorrência de matéria orgânica e de material mineral pouco alterado nas camadas superficiais favorece a maior aeração e disponibilidade de nutrientes, além de manter a umidade e temperatura constantes, com conseqüente aumento na população de bactérias, refletindo nos valores observados para o segundo sítio amostral, visto que no período de coleta o solo desta área apresentava cobertura vegetal.

5.2 BACTÉRIAS PRODUTORAS DE CELULASE

Os resultados obtidos em relação às bactérias produtoras de celulase também não foram muitos diferentes, pois os dois sítios amostrais se diferenciaram (Figura 10). Observou-se das quarenta e cinco placas do primeiro sítio amostral, somente nove placas tiveram crescimento de bactérias produtoras de celulase, representando 20% de ocorrência, dessa forma mostra a baixa frequência das tais bactérias. Já no segundo sítio amostral obteve 35% de ocorrência de bactérias de produtoras de celulase, mostrando que nesse sítio apresenta aparentemente um maior nível metabólico para esse ciclo biogeoquímico que envolve a degradação de celulase.

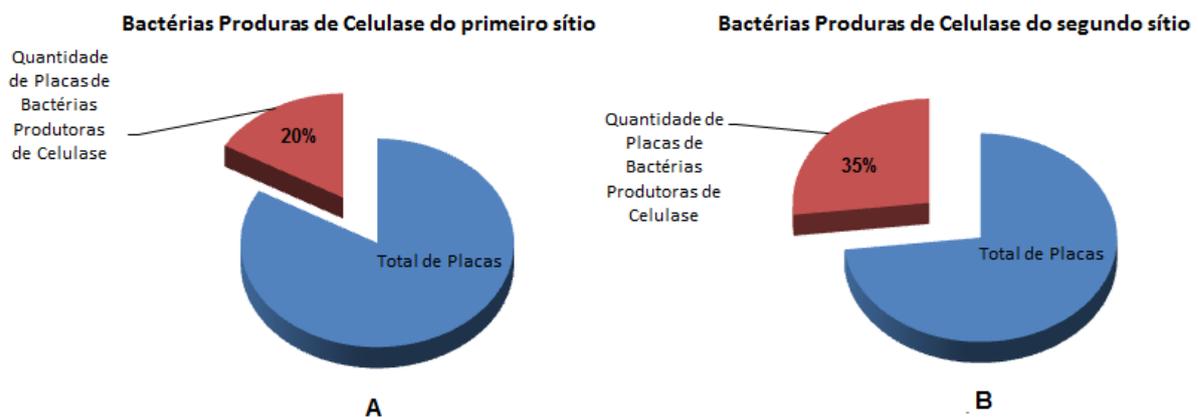


Figura 10 - Diferença em porcentagem de placas de Bactérias Produtoras de Celulase entre os dos dois sítios amostrais no município de Corumbataí do Sul - PR (A – primeiro sítio e B – segundo sítio).

Celulose é o polissacarídeo mais abundante na natureza, representando a maior parte do CO₂ fixado nas plantas, é insolúvel em água e considerado como uma das únicas fontes renováveis de carbono (BEHERA et al., 2014). Este elemento é hidrolisado por um complexo enzimático denominado celulase, sintetizado por microrganismos celulolíticos (COÊLHO, et al., 2008). No presente trabalho, as populações celulolítica foram diferentes entre os dois sítios amostrais avaliados. Para RAMOS et al. (2012) este grupo bacteriano é fortemente influenciado pela

cobertura vegetal do local, assim, é possível justificar a maior ocorrência no segundo sítio.

A matéria orgânica vegetal é constituída basicamente de celulose, sendo o constituinte mais abundante, representando 50% do lenho maduro, 10% das folhas, 35 % do caule e se relaciona com o tipo, quantidade e teor de argila influenciando no total de carbono orgânico do solo. Assim, em solos argilosos aliado à celulose apresenta o crescimento microbiano alto, principalmente na degradação inicial do substrato e dos restos culturais (TAUK, 1990). Provavelmente no solo desse fragmento os processos bioquímicos ocorrem no mesmo sentido e com essas influencias, relacionando diretamente a quantidade de bactérias produtoras de celulase à quantidade de matéria orgânica encontrada.

O número de colônias diferentes nos sítios amostrais, podem ainda ter sido influenciados por questões climatológicas como pluviosidade e temperaturas medias mensais. Os períodos de coleta abrangeram a estação de outono, uma bem no início (Março) e uma bem no final (Junho). A segunda coleta ocorreu num período mais seco e com temperaturas mais amenas, influenciando a microbiota celulósica além da presença de material orgânico. Corroborando com o trabalho de Facci (2008) que encontrou essa mesma relação em seu experimento. Como a celulase esta intimamente ligada a hidrolise da matéria orgânica, e conseqüentemente a rizosfera atua sobre os microrganismos e espécie vegetal, portanto, o segundo sítio amostral tem esses reflexos, assim justifica maiores atividades celulolíticas.

5.3 FUNGOS

Avaliando os resultados de formações de colônias de fungos, as três amostras usadas na metodologia, tanto no primeiro sítio amostral quanto no segundo sítio amostral não são diferentes dentro dos sítios, respectivamente apresentando um $(p) = 0,1418$ e $(p) = 0,1364$ (Figura 11).

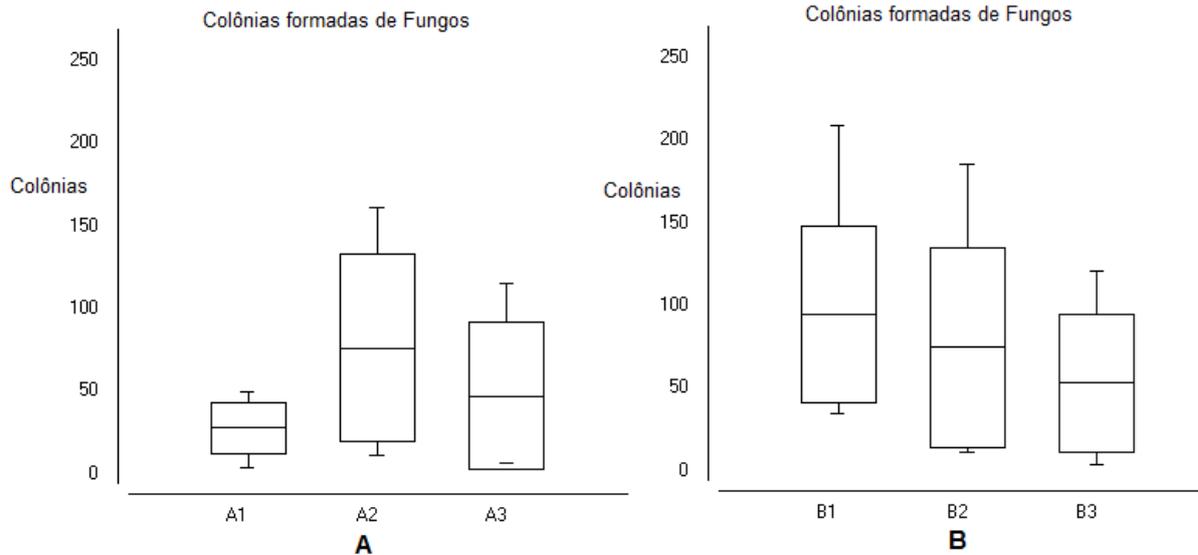


Figura 11 - Número de colônias formadas em triplicata nos dois sítios amostrais no município de Corumbataí do Sul - PR (A – primeiro sítio e B – segundo sítio).

Observou-se ainda que no primeiro sítio amostral a diluição (10^{-4}) foi mais representativa apresentando $1,44 \times 10^6$ UFC/g de solo, já o segundo sítio a diluição (10^{-2}) foi a mais representativa apresentando $2,09 \times 10^4$ UFC/g de solo. Referindo-se a todas as diluições notou-se que os dois sítios amostrais são distintos quanto ao número de colônias formadas, onde o primeiro sítio amostral teve uma média 50,80 colônias, contendo menor quantidade de fungos que o segundo sítio amostral, sendo que a média foi 74,22 colônias formadas com valor $p < 0,05$ (Figura12).

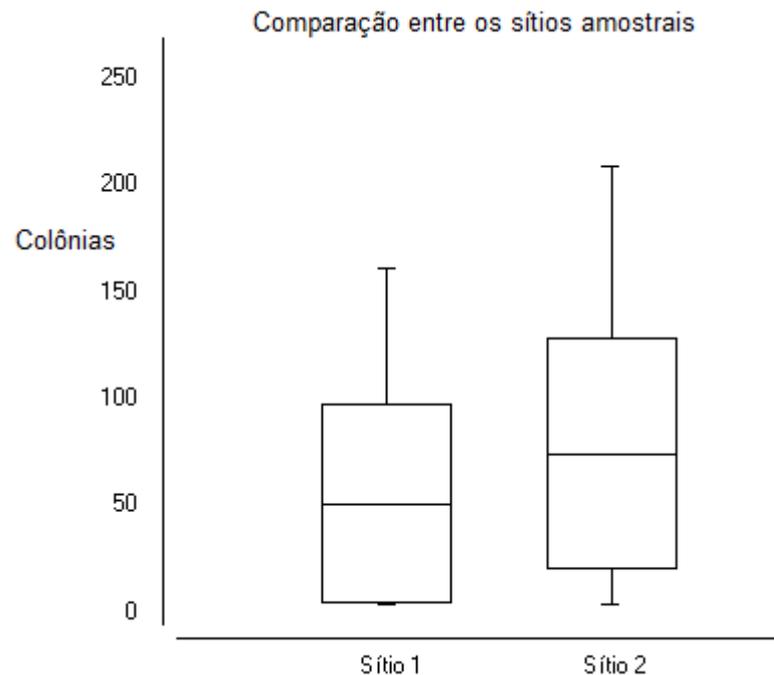


Figura 12 - Diferença de Fungos entre as médias dos dois sítios amostrais no município de Corumbataí do Sul - PR.

Os resultados alcançados no segundo sítio amostral podem ser decorrentes a maior quantidade de raízes encontradas no local. Resultados semelhantes foram obtidos por Pereira, Neves e Drozdowicz (1999) que mostraram que na rizosfera, de modo geral, os números de UFC.g-1 de solo seco das populações fúngicas foram superiores aos números do solo não-rizosférico, evidenciando o estímulo diferenciado nas diversas populações da comunidade microbiana. O solo não rizosférico possui baixos níveis de substratos orgânicos, além de apresentar um ambiente físico-químico desfavorável para o desenvolvimento de microrganismos, que podem estar ausentes ou manter-se, em grande maioria, em dormência gerando um ambiente com baixa disponibilidade de nutrientes (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

A manutenção de cobertura vegetal no solo é propício aos fungos, decompositores primários de resíduos vegetais na superfície do solo (CARNEIRO et al., 2004), dessa forma as condições do segundo sítio amostral aparentemente evidencia essa tal manutenção.

Além disto, a composição de plantas de determinada área pode influenciar a diversidade da comunidade microbiana graças à variabilidade da composição química de seus exsudados (BRASIL; BALDANI; BALDANI, 2005).

Pode-se notar que os resultados obtidos neste estudo em relação a bactérias e fungos (Figura 13), não diferem dos obtidos por Souto (2002), que ao quantificar a população destes microrganismos em um solo de Reserva Particular do Patrimônio Natura pertencente à Fazenda Tamanduá, localizada no município de Santa Terezinha (PB), verificou que houve tendência de superioridade da população de fungos sobre a de bactérias. Esta condição encontrada por Souto (2002), foi atribuída aos valores de pH do solo avaliado por ele, os quais foram ácidos, oscilando entre 5,5 e 5,7, em todos os períodos de amostragem, favorecendo o desenvolvimento dos fungos, podendo-se supor que o pH dos solos estudados encontram-se em faixas ácidas. De acordo com Campiolo (2014), o pH do fragmento florestal é entre 5,6 e 7,0, o que representa condições ótimas para o desenvolvimento das plantas e fungos. Solos com pH entre 5,6 e 7,0, como o de Corumbataí do Sul, comumente tem reserva de minerais primários que, com o intemperismo, liberam os cátions básicos, cálcio e magnésio, impedindo a acidificação. O cálcio e o magnésio costumam ser os cátions dominantes nos solos neutros ou poucos ácidos e o potássio, nutriente móvel, costuma apresentar-se em quantidades quase sempre menores que as do cálcio e o magnésio (LEPSCH, 2011).

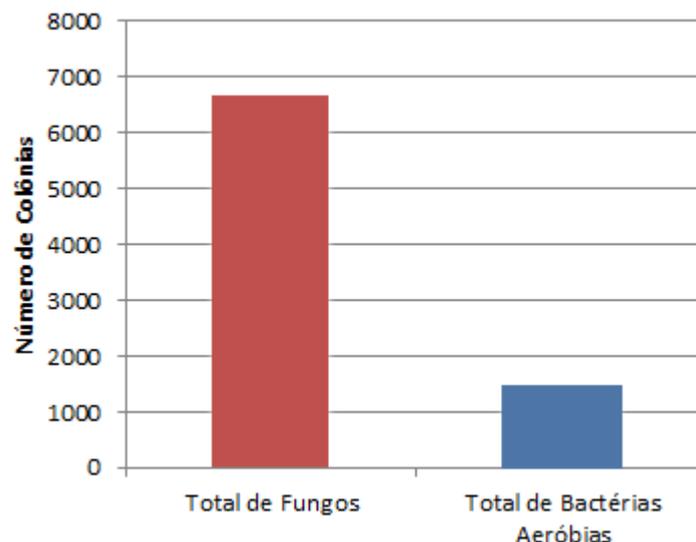


Figura 13 - Diferença entre total de fungo e total de bactérias aeróbias no município de Corumbataí do Sul - PR.

Diante dos resultados obtidos, é provável que diferentes fatores influenciem nas frequências dos microrganismos no solo, conseqüentemente as populações podem variar em decorrência desses. Esses fatores podem ser tipo de solo, da vegetação e das condições climáticas, podendo resultar em amplas alterações entre ambientes diferentes. A biologia do solo compreende uma grande quantidade de organismos que habitam dinamicamente e desenvolvem parcial ou integralmente seus ciclos vitais no solo. Nesta dinâmica, seres vivos e ambiente solo afetam-se mutuamente, e as condições são sempre modificadas, podendo favorecer ou desfavorecer os próprios organismos ou o ambiente solo com reflexos em fragmentos florestais, uma vez que as próprias plantas e animais também fazem parte desse sistema (EIRA, 1992).

Ao avaliar indicadores químicos, físicos e biológicos, observa-se que os fatores climáticos geram alterações mais acentuadas na microbiota do solo (FACCI, 2008). Pressupõe-se que no presente estudo que os fatores climáticos e ambientais num todo, devam ter influenciado nas diferenças entre os sítios, além disso, a matéria orgânica, cobertura vegetal e a aparência do solo, também podem ter provocado a diferença entre os sítios amostrais. Assim, além da matéria orgânica proteger diretamente as raízes, ela também influencia as acentuadas variações na temperatura e umidade dos solos e, indiretamente, tornando as condições favoráveis à micorrização (ALMEIDA, 1985; GOULART, 1992). Também com o aumento de teor de matéria orgânica no solo, acarreta alterações, no pH, no conteúdo em carbono orgânico do solo, no nitrogênio total, no fósforo disponível e a CTC (capacidade de troca de cátions) em termos de cálcio, magnésio e potássio (LUTALADIO, et al. 1992)

Quando o solo está protegido por cobertura vegetal densa e sistema radicular abundante a dinâmica do processo erosivo é menos intensa. Isto deve-se ao fato da cobertura vegetal interceptar as os gotas de chuva, dissipando sua energia cinética e reduzindo o impacto e a degradação do solo (CASSOL, 1981). Além disso, a cobertura vegetal reduz a velocidade do escoamento das águas superficiais pela formação de barreiras mecânicas e maior infiltração, gerada por uma melhor estruturação do solo, o que diminui o transporte de sedimentos. Desta maneira, a vegetação contribui diretamente para a preservação do solo e seus atributos e indiretamente na conservação da biodiversidade, gerando benefícios sociais e atenuando mudanças climáticas (BENEDITO, 2001; MONTEBELO et al, 2005).

Ressalta-se a relevância da descrição da comunidade microbiológica bem como da composição e diversidade de microrganismos nos ambientes. Vários programas de monitoramento da qualidade do solo em países europeus utilizam a diversidade microbiana como bioindicadores de qualidade de solo (FACCI, 2008). Apesar da importante função dos microrganismos e seus processos na recuperação de áreas degradadas, são raros os trabalhos que relacionam a qualidade do solo com características microbiológicas, designadamente com a população e diversidade microbiana no Brasil (MELLONI et al., 2001).

A qualidade do solo pode ser definida como a capacidade do solo em desempenhar a sua função em um ecossistema para suportar plantas e animais, resistir à erosão e reduzir impactos negativos associados aos recursos água e ar (ISLAN & WEIL, 2000). Assim, a qualidade do solo consiste em um estado funcional complexo e, portanto, não pode ser medida diretamente, porém pode ser inferida por meio de propriedades do solo designadas como propriedades indicadoras da qualidade do solo. Os estudos de microrganismos de solo podem servir de subsídio justamente complementando as lacunas de informação biológica sobre os diversos sistemas, agregando características ambientais, físico-químicas, geológicas entre outras que podem ser componentes do que se define como qualidade ambiental.

6 CONCLUSÃO

O fragmento florestal em estudo apresenta diferença entre os dois sítios amostrais em relação a todas as análises microbiológicas. No entanto, o segundo sítio amostral apresentou em todos os resultados em maior quantidade de formações de colônias, demonstrando que esse local é mais propício para os microrganismos, pois aparentemente o local sofreu menos ações antrópicas e apresenta uma cobertura vegetal maior, com maior quantidade de serapilheira e a aparência do solo diferenciada.

Para inferir sobre qualidade microbiológica do solo a partir das formações de colônias, pode-se afirmar apenas de forma descritiva das comunidades de microrganismos. O fato de existir um ambiente mais rico microbiologicamente denota uma possível influência ambiental de fatores que não foram especificamente medidos nesse trabalho, mas que, de acordo com muitos autores, refletem mais diretamente na composição da microbiota do solo.

REFERÊNCIAS

- ALVES, M. S. **Diversidade microbiológica cultivável de solos e seu potencial para avaliação da qualidade do solo**. 2013. Monografia (Conclusão de curso). Ciências Biológicas. Universidade Federal de Pelotas. Instituto de Biologia. Pelotas
- ALMEIDA, F.S. Influência da cobertura morta do plantio direto na biologia do solo. In: **Atualização em Plantio Direto**, Fundação Cargill, p. 103-144, 1985.
- ATLAS Geológico do Estado do Paraná. Curitiba: Minerais do Paraná (Mineropar), 2011. 1 atlas. Escala base 1:250.000, modelos reduzidos 1:500.00. Disponível em: <http://www.mineropar.pr.gov.br/arquivos/File/publicacoes/relatorios_concluidos/10_relatorios_concluidos.pdf> Acesso em: 20 de novembro. 2014.
- ARAÚJO, R. S.; HUNGRIA, M. **Microrganismos de importância agrícola**. 1.ed. Brasília: EMBRAPA – SPI, 1994. 236p.
- AYRES, M.; AYRES JÚNIOR, M.; AYRES, D. L.; SANTOS, A. A. **BIOESTAT 5.0 – Aplicações estatísticas nas áreas das ciências bio-médicas**. Ong Mamiraua. Belém, PA. 2007.
- BALDANI, V et al . **Quantificação de microorganismos em solos sob plantio puro de pseudosamanea guachapele(KUNTH) harms e em consorcio com Eucalipitus hill ex maiden**. Comunicado Técnico Embrapa.2000.
- BEHERA, B.C.; PARIDA, S.; DUTTA, S.K.; THATOI, H.N. Isolation and identification of cellulose degrading bacteria from mangrove soil of Mahanadi river Delta and their cellulase production ability. **American Journal of Microbiological Research**, v. 2, n.1, p. 41-46, 2014.
- BENEDITO, C. **O município e o meio ambiente: das áreas de preservação permanente. Piracicaba**, 2001. 29 p. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) – Escola de Engenharia de Piracicaba, Fundação Municipal de Ensino de Piracicaba
- BERTONI, J., LOMBARDI NETO, F. **Conservação do solo**. 8 ed. São Paulo, SP, 2012.
- BERTINI, S. C. B. **Indicadores microbiológicos de qualidade do solo em florestas de araucária no estado de São Paulo**. 2010. 109f. Tese (Doutorado em

Microbiologia Agrícola)-Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, São Paulo.

BRADY, N. **The nature and properties of soils**. 8.ed. London: Macmillan Publishing, 1983. 647p.

BRANDÃO, E.M. **Os componentes da comunidade microbiana do solo**. Campinas. Sociedade Brasileira de Ciência do solo.1992.

BRASIL, M. S; BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D. Ocorrência e diversidade de bactérias diazotróficas associadas a gramíneas forrageiras do pantanal sul matogrossense. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.29, n.1, p.179-190, 2005.

CARNEIRO, R. G.; MENDES, I. C.; LOVATO, P. E.; CARVALHO, A.M.; VIVALDI, L. J. Indicadores biológicos associados ao ciclo do fósforo em solos de Cerrado sob plantio direto e plantio convencional. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.39, n.7, p.661-669, 2004.

CAMPIOLO, J. B. **Estudo da estrutura e funcionamento de um fragmento florestal em Corumbataí do Sul, Paraná**. 2014. 35f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado de Engenharia Ambiental) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2014.

CASSOL, E.A. A experiência gaúcha no controle da erosão rural. In: SIMPÓSIO SOBRE O CONTROLE DA EROSÃO, 2., 1981, São Paulo.

CAVIGLIONE, J. H.; KIIHL, L. R. B.; CARAMORI, P. H.; OLIVEIRA, D. **Cartas climáticas do Paraná**. Londrina: IAPAR, 2000.

COELHO, D.G.; SANTOS, T.M.C.; ALBUQUERQUE, L.S.; CAMPOS, V.B., PRAZERES, S.S. Quantificação de fungos celulolíticos em solos de três ecossistemas. **Revista Verde**, v.1, n.3, p.45-49, 2008.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Floresta Estacional Semidecidual**. 2011. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/territorio_mata_sul_pernambucana/avore/CONT000gt7eon7l02wx7ha087apz2x2zjco4.html#> Acesso em: 20 abril. 2015.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Neossolos litólicos**. 2011. Disponível em:

<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/solos_tropicais/arvore/CONT000gn230xho02wx5ok0liq1mqxhk6vk7.html> Acesso em: 02/05/2015.

EIRA, A.F. Solubilização microbiana de fosfatos. In: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M. & NEVES, M.C.P. Microbiologia do Solo. Campinas, Sociedade Brasileira de Ciências do Solo, p. 243-255, 1992.

FACCI, Luisa Ditzel. **Variáveis microbiológicas como indicadoras da qualidade do solo sob diferentes usos**. 2008. 104f. Tese (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical)-Instituto Agronômico, Universidade de Campinas, Campinas.

GARASSINI, L .A .Microbiologia Agrária.1967.

GOULART, B.L.. Organic matter in upland blueberries: cover crops, amendments and mulches. *Pensylvania Fruit News*, 72(4): 77-81, 1992.

GRANT, W.D ; LONG, P.E. **Mirobiologia Ambiental**. Editora acribia.1989.

INSTITUTO PARANAENSE DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL. **Leituras Regionais: Mesorregião Geográfica Centro-Ocidental Paranaense**. Curitiba: IPARDES:BRDE, 2004. 133p. Disponível em: Acesso em: 20 mar. 2015.

ISLAM, K.R; WEIL, R. R. Land use effects on soil quality in a tropical forest ecosystem of Bangladesh. **Agriculture, Ecosystem and Environment**, v.79, p. 9-19, 2000.

JAHNEL,M.C; C,E.J.E.; D, C.T.S. **Determinação do número mais provável de microrganismos dos olo pelo método de plaqueamento por gotas**. Revista Brasileira de Ciência do Solo.2007.

LEPSCH, I. F. 19 lições de pedologia. São Paulo: Oficina de Textos, 2011.

LIMA, H. V.; OLIVEIRA, T. S.; OLIVEIRA, M. M.; MENDONÇA, E. de S.; LIMA, P.J. B. F. Indicadores de qualidade do solo em sistemas de cultivo orgânico e convencional no semi-árido cearense. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. v.31, p.1085-1098, 2007.

LOSEKANN, M.E. **Caracterização, classificação e indicadores de qualidade do solo em localidades de agricultura familiar do estado do Rio Grande do Sul**. 2009. 88f. Tese (Mestrado em Ciência do solo) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

LUTALADIO, N. B. WAHUA, TAT. & HAHN, S. K. Effects of mulch on soil properties and on the performance of late season cassava (*Manihot esculenta* Crantz) on an acid ultisol in Southwestern Zaire. *Tropicultura*, 10(1): 20 - 26, 1992.

MARTINS, C.M.; GALINDO, I.C.L.; SOUZA, E.R.; POROCA, H.A. Atributos químicos e microbianos do solo de áreas em processo de desertificação no semiárido de Pernambuco. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, p. 1883-1890, 2010.

MELLONI, R. **Quantificação microbiana da qualidade do solo. Microbiota do solos e a Qualidade Ambiental.**2007.

MELLONI, R.; PEREIRA, L. G.; TRANNIN, I. C. B.; SANTOS, D. R. D.; MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. Características biológicas de solos sob mata ciliar e campo cerrado no sul de Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, v.25, n.1, p.7-13, 2001.

MENDES, I. de C.; REIS JUNIOR, F. B. d. **Microrganismos do solo a e a sustentabilidade dos agroecossistemas.** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2010. Disponível em: <<http://www.cpac.embrapa.br/noticias/artigosmidia/publicados/188/>>. Acesso em: 11 novembro. 2014.

MENDES, F.G.; MELLONI, E. G. P; MELLONI, R. **Aplicação de atributos físicos do solo no estudo da qualidade de áreas impactadas, em Itajubá/MG.** Cerne, Lavras, v 12, n.3, p.211-220, jul./set 2006.

MINEROPAR – Minerais do Paraná. **Projeto riquezas minerais: Avaliação do potencial mineral e consultoria técnica no município de Barbosa Ferraz.** Curitiba, p.51, 2001. Disponível em: <http://www.mineropar.pr.gov.br/arquivos/File/publicacoes/relatorios_concluidos/18_r elatorios_concluidos.pdf>. Acesso em: 20 de novembro 2014.

MIRANDA, C. S. S.; FERREIRA, M. G. V. X.; MENEZES, M. Atividade biológica de solos com A Chernozêmico na Zona da Mata Norte de Pernambuco. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIAS DO SOLO, 26., 1997, Rio de Janeiro. **Anais do XXVI Congresso Brasileiro de Ciências do Solo.** Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1997. p.1-4.

MONTEBELO, L.A.; CASAGRANDE, C.A.; BALLESTER, M.V.R.; VICTORIA, R.L.; CUTOLO, A.P.A. Relação entre uso e cobertura do solo e risco de erosão nas áreas de preservação permanente na bacia do ribeirão dos Marins, Piracicaba-SP. **Anais**

XII43 Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto, Goiânia, Brasil, 16-21 abril 2005, INPE, p. 3829-3836.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2.ed. Lavras: UFLA, 2006. 626p.

NANNIPIERI, P.; ASCHER, J.; CECCHERINI, M. T.; LANDI, L.; PIETRAMELLARA, G.; RENELLA, G. Microbial diversity and soil functions. *European Journal of Soil Science*, v.54, n.4, p. 655-670, 2003.

PEREIRA, J. C.; NEVES, M. C. P.; DROZDOWICZ, A. Dinâmica das populações bacterianas em solos de Cerrados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.34, n.5, p.801-811, 1999.

PEREIRA, J. C.; NEVES, M. C. P.; DROZDOWICZ, A. **Quantificações das populações de bactérias em geral, de bactérias resistentes a antibióticos e de actinomicetos em solos**. 1.ed. Seropédica: EMBRAPA-CNPAB, 1996. 21p.

PRIMAVESI, A. **O manejo ecológico do solo: a agricultura em regiões tropicais**. São Paulo. Nobel.2002.

RAMOS, M.L.G.; MENEGHIN, M.F.S.; PEDROSO, C.; GUIMARÃES, C.M; KONRAD, M.L.F. Efeito dos sistemas de manejo e plantio sobre a densidade de grupos funcionais de microrganismos, em solo de cerrado. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 1, p. 58-68, 2012.

REINHOLD-HUREK, B.; HUREK, T.; CLACYSSSENS, M.; MONTAGU, M. V. Cloning, expression in *Escherichia coli*, and characterization of cellulolytic enzymes of *Azoarcus* sp. A root-invading diazotroph. **Journal of Bacteriology**, v.175, n.21, p.7056–7065, 1993.

RODERJAN, Carlos V.; GALVÃO, Franklin; KUNIYOSHI, Yoshiko S.; HATSCHBACH, Gert G. As regiões fitogeográficas do Estado do Paraná. **Revista Ciência e Ambiente**, p. 75-92, 2002.

SILVA, M. A. S.; GRIEBELER, N. P.; BORGES, L. C.; Uso de vinhaça e impactos nas propriedades do solo e lençol freático. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.11, n.1, p.108–114, 2006.

SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F. M. de S.; GRISI, B. M.; HUNGRIA, M.; ARAUJO, R. S. **Microrganismos e processos biológicos do solo: perspectiva ambiental**. Brasília: EMRAPA-SPI, 1994. p.7-81.

SOUTO, P. C.; SOUTO, J. S; MIRANDA, J. R. P. de; SANTOS, R. V. dos; ALVES, A. R. Comunidade microbiana e mesofauna edáficas em solo sob Caatinga no semi-árido da Paraíba. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 32, p. 151-160, 2008.

SOUTO, Patrícia Carneiro. Estudo da dinâmica de decomposição de esterco na recuperação de solos degradados no semi-árido paraibano. 2002. 110f. Tese (Mestrado em Ciência do Solo)-Faculdade de Agronomia, Universidade Federal da Paraíba, Areia.

TAUK, S. M. Biodegradação de resíduos orgânicos no solo. **Revista Brasileira de Geociência**, São Paulo, v. 20, p. 299-301, 1990.

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