
*Impacto de Xenobióticos e
Metais Pesados na Microbiota
do Solo*

Célia Maria Maganhotto de Souza Silva e Rosana Faria Vieira



Foto: I.S. Melo

I. Introdução

Xenobióticos são compostos químicos antropogênicos, sintéticos, com atributos estruturais não naturais. Esse termo é derivado das palavras gregas *xeno* (estranho) e *bios* (vida) e, portanto, são literalmente, substâncias químicas estranhas à vida. *

A disseminação destes compostos, após a sua descarga no ambiente, é determinada pela sua partição entre as fases sólida/líquida/gasosa do sistema solo e por seu potencial para concentrar na biota. Esses processos são determinantes do grau de extensão do impacto biológico do produto e sua distribuição nos diferentes compartimentos do sistema. Os compostos e seus metabólitos considerados persistentes podem permanecer quimicamente ativos no solo por muitos anos, e ter efeitos negativos sobre a biota e a saúde humana, enquanto que, aqueles não persistentes tendem a desaparecer em pouco tempo após a aplicação.

O solo é um sistema vivo, dinâmico e um recurso não renovável, cuja condição influencia a produção de alimentos, a eficiência ambiental e o balanço global (DORAN & PARKIN, 1994; DICK, 1997; DORAN & ZEISS, 2000). É o habitat para diversos organismos de importância para a sua fertilidade, atua como depósito para os agrotóxicos aplicados e é fonte de diversidade microbiana. As suas funções ainda incluem processos de suporte à vida, isto é, ancoragem para as plantas e suprimento de nutrientes, retenção e mobilidade de água, suporte à cadeia alimentar, funções regulatórias ambientais como a ciclagem de nutrientes, remediação de poluentes e seqüestro de metais pesados (BEZDICEK *et al.*, 1996).

A qualidade do solo é dependente de sua composição natural e, também, das modificações causadas pelo uso e manejo feito pelo homem (PIERCE & LARSON, 1993). O manejo incorreto do solo, como por exemplo, o cultivo intensivo, sem rotação de culturas, ou a contaminação acidental/deliberada por resíduos industriais e/ou municipais, são as maiores causas de sua degradação e redução de sua produtividade (REEVES, 1997; EDWARDS, 2002).

As propriedades do solo, físicas, químicas e biológicas, são sensíveis às modificações causadas pelas práticas de manejo e estresse ambiental e a determinação da qualidade relacionada a estas propriedades, pode ajudar a monitorar as modificações em sua sustentabilidade e qualidade. Isso é especialmente verdadeiro para o manejo agrícola e recuperação do solo e para auxiliar no estabelecimento de políticas para o uso da terra.

Podem ser distinguidos três tipos de fatores de estresse do solo: químico, físico e biológico. No estresse físico, os fatores mais importantes são temperaturas e umidades extremas, potenciais osmóticos e alta pressão (por exemplo, por equipamentos agrícolas). Os químicos incluem pH, excesso ou escassez de nutrientes orgânicos e inorgânicos, anoxia, salinidade e biocidas, tais como metais pesados, poluentes radioativos, agrotóxicos e hidrocarbonetos. Já nos fatores de estresse biológico podem

ser considerados novamente a deficiência ou excesso de nutrientes, introdução de organismos exógenos com grande capacidade competitiva e crescimento não controlado de patógenos e predadores. Esses fatores de estresse dificilmente operam individualmente.

A importância dos processos biológicos para a função dos agroecossistemas é inequívoca. Os microrganismos não são somente essenciais para o crescimento da planta, mas são também importantes como auxiliares na formação da complexa estrutura do solo e para sua fertilidade. Atividades antropogênicas que levam à deposições de contaminantes podem ser prejudiciais ao solo, podendo afetar as populações microbianas e suas atividades em diferentes níveis funcionais.

As propriedades biológicas e bioquímicas, incluindo respiração do solo medida pela taxa de liberação de CO₂ ou consumo de O₂, biomassa microbiana e atividade das enzimas do solo, são consideradas indicadores sensíveis da contaminação por causa da sua importância na ciclagem da matéria orgânica e de regulador do *pool* de nutrientes ativos no solo e são os parâmetros mais utilizados para a descrição da condição geral da microbiota do solo (SCHINNER *et al.*, 1996; MARGESIN & SCHINNER, 1997; VAN BEELEN & DOELMAN, 1997; MARGESIN *et al.*, 2000a e b). Essa microbiota sofre acentuada influência do ambiente, sendo que os microrganismos ou seus processos podem ser inibidos em até 100% por diversos fatores estressantes como, por exemplo, a deposição de metais pesados, a utilização excessiva de agrotóxicos, entre outros.

Os metais pesados e os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs) são os poluentes do solo que mais causam preocupação ambiental (SMRECZEK *et al.*, 1999). A presença de metais pesados no solo pode afetar os processos bioquímicos pelo efeito sobre a proliferação microbiana e as atividades enzimáticas. Eles podem inibir a atividade enzimática por encobrir cataliticamente os grupos ativos, tendo efeito desnaturante na conformação das proteínas, assim como podem competir com os íons metálicos envolvidos na formação dos complexos enzimas-substratos (GIANFREDA & BOLLAG, 1996).

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs) são considerados perigosos contaminantes do solo e nessa matriz eles podem ter diferentes destinos. A adsorção aos colóides naturais do solo (orgânicos e inorgânicos) freqüentemente limita sua biodisponibilidade como substrato, afetando assim a taxa de degradação microbiana (GROSSER *et al.*, 2000). Quando biodisponíveis, os PAHs podem afetar fortemente a atividade microbiana do solo.

É comum acreditar que a maioria dos agrotóxicos, quando aplicados nas doses e intervalos recomendados, é inócua aos microrganismos benéficos dos solos. Mas, há relatos de efeitos inibitórios (RAY *et al.*, 1980) ou estimulatórios (PATNAIK *et al.*, 1995) de certos agrotóxicos nas transformações bioquímicas de importância para a fertilidade do solo, mesmo quando a dose usada é a recomendada. Apesar dos agrotóxicos serem aplicados na intenção de proteger as culturas, eles podem alterar o equilíbrio dos processos do solo, por ação direta ou indireta sobre a microflora, em períodos curtos ou longos, dependendo da intensidade, espectro de atividade e persistência do composto parental ou de seus metabólitos (SIMON-SYLVESTRE & FOURNIER, 1979).

2. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs)

Os PAHs são sub-produtos da combustão ou pirólise de substâncias orgânicas como carvão, óleo, petróleo, madeira, entre outros. As principais fontes antropogênicas incluem processos industriais, geração de calor, incineração e tráfico de lixo (WILD & JONES, 1995). A poluição por esses compostos é um problema sério em vários países, principalmente na vizinhança de áreas industriais, refinarias de petróleo, rodovias, aeroportos, postos de gasolina e estações de tratamento de efluentes. Também são contaminantes comuns em solo e água subterrânea como resultado da atividade industrial. O maior problema relacionado a esta contaminação reside na mutagenicidade, carcinogenicidade e características tóxicas destes contaminantes. Além disso, solos contaminados com PAHs freqüentemente contêm altas quantidades de outros elementos, tais como metais pesados que, em geral, são originários das mesmas fontes.

A indústria petroquímica gera uma série de efluentes líquidos durante o processo de refinamento do petróleo. Esses efluentes precisam ser tratados através de processos de depuração, uma vez que possuem alto conteúdo de hidrocarbonetos, principalmente, alcanos e parafina de 1-40 átomos de carbono, junto com cicloalcanos e compostos aromáticos (OVERCASH & PAL, 1979). Portanto, o efluente é um resíduo potencialmente perigoso e seu lançamento ao solo ou a sua queima, com tratamento prévio, tem sérias conseqüências ambientais e apresenta risco para a saúde humana e para o ecossistema.

Compostos originários do óleo cru, incluindo PAHs, exibem propriedades que, na maioria dos casos, inibem o desenvolvimento e atividade metabólica dos microrganismos (GIANFREDA & BOLLAG, 1996; KANALY & HARAYAMA, 2000; ANDREONI *et al.*, 2004). Contudo, esta influência depende principalmente da composição e concentração dos poluentes introduzidos no ambiente, bem como das propriedades do solo (FINE *et al.*, 1997; BOOPATHY, 2000). Em alguns casos pode ser observado o efeito estimulatório das substâncias originárias do óleo cru, como resultado da adaptação gradual dos microrganismos aos poluentes e à utilização dos xenobióticos como fonte de carbono e energia. Após o período de estresse há um aumento na intensidade respiratória e na atividade enzimática, desenvolvimento de microrganismos e decomposição gradual dos poluentes (SONG & BARTHA, 1990; BOOPATHY, 2000; MARGESIN *et al.*, 2000b). Assim, a contaminação com hidrocarbonetos, pode levar a modificações nas condições do solo. O conhecimento prévio desses processos é considerado necessário para a escolha e para o desenvolvimento de metodologias mais apropriadas à remediação de solos contaminados.

Com o objetivo de prever o potencial das áreas semi-áridas para a biorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos, Caravaca & Róldan (2003) avaliaram as modificações nas propriedades físicas e biológicas destes solos, quando contaminados com resíduos de óleo. Concluiu-se que a contaminação por hidrocarbonetos aumentou as atividades microbiológicas e bioquímicas e melhorou a estrutura do solo. Contudo, a taxa de mineralização foi baixa, em virtude, provavelmente, da alta complexidade química dos hidrocarbonetos, que poderiam necessitar de um maior período de tempo para a adaptação microbiana e posterior degradação.

A biodegradação pelas populações naturais de microrganismos representa um dos mecanismos primários pelos quais poluentes como petróleo ou outros hidrocarbonetos podem ser eliminados do ambiente (LEAHY & COLWELL, 1990). O *landfarming* é frequentemente escolhido como o método de tratamento para solos contaminados com hidrocarbonetos de petróleo, em razão da sua retenção, relativo baixo custo e alto potencial de sucesso (HARMSSEN, 1991). No estudo sobre a evolução da atividade microbiana, em solos com *landfarming*, foi observado que durante os primeiros meses do processo, os resultados obtidos para a fração lábil do carbono (C), quociente metabólico, respiração basal e ATP, demonstraram valores mais altos quando comparados aos do solo controle. No entanto, estes valores diminuíram no final do período experimental, quando os hidrocarbonetos foram degradados até a mineralização. O mesmo comportamento foi observado para as atividades enzimáticas estudadas (desidrogenase, β -glicosidase, protease e urease) (MARIN *et al.*, 2005).

Em solos com poluição pontual e difusa, a relação entre o conteúdo de PAHs e atividades enzimáticas (desidrogenase, fosfatase, urease e protease) pode ser dependente das propriedades do solo, como por exemplo, o conteúdo de carbono orgânico e o pH (BARAN *et al.*, 2004). Nesse trabalho observou-se que em solos com poluição difusa havia predominância de PAHs com três anéis, decomposto mais facilmente pelos microrganismos, enquanto na poluição pontual dominavam os PAHs de 5 anéis. Nas áreas de poluição pontual os PAHs estimularam as atividades enzimáticas estudadas, porém, em área de poluição difusa, caracterizada pelo alto conteúdo de PAHs (1.986 kg ha^{-1}) as atividades enzimáticas foram muito baixas, relacionando-se com o pH do solo. O baixo pH inibe as bactérias e estimula o desenvolvimento de fungos (MALISZEWSKA-KORDYBACH & SMRECZAK, 2003) que podem gerar compostos intermediários tóxicos em ambientes poluídos com produtos do óleo cru (KANALY *et al.*, 2000; KANALY & HARAYAMA, 2000), favorecendo dessa maneira, a decomposição de PAHs em epoxi, que são formas tóxicas intermediárias (KANALY *et al.*, 2000). Verificou-se também correlação positiva ($P \leq 0,05$) entre a atividade da desidrogenase e o conteúdo de fenantreno, fluoranteno, criseno e dibenzo[ah]antraceno, ao contrário do verificado em outros trabalhos (MARGESIN *et al.*, 2000a). Os resultados levaram à conclusão que a atividade da desidrogenase depende não somente do tipo de PAH, mas também dos outros compostos deste grupo e de sua concentração. Da mesma forma, foi observada relação entre as atividades da urease e protease e o conteúdo de fenantreno. Essas diferenças foram, em grande parte, determinadas pelas propriedades como salinidade, umidade, temperatura e conteúdo de oxigênio (BOOPATHY, 2000) que geralmente influenciam a função dos microrganismos (MARGESIN *et al.*, 2000b). No caso da fosfatase não foram observadas relações na vizinhança das fontes de poluição pontual, no entanto, na área de poluição difusa houve uma relação negativa entre os PAHs selecionados e a atividade da fosfatase.

No enfoque entre a relação das atividades enzimáticas e a degradação de PAH, foi considerada a diferenciação entre as propriedades físico-químicas dos compostos, resultante principalmente do variado número de anéis na partícula (peso molecular). Alguns dos compostos (≤ 4 anéis) foram moderadamente tóxicos e degradáveis pelos microrganismos, enquanto o grupo remanescente (> 4 anéis) teve

caráter fortemente tóxico, mutagênico e carcinogênico, sendo sua decomposição somente possível via co-metabolismo (CERNIGLIA, 1984; KANALY & HARAYAMA, 2000). Também foi atribuído um papel significativo à matéria orgânica (como uma fonte de carbono adicional) e aos nutrientes, nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K). Outros trabalhos têm demonstrado que a suplementação do solo com matéria orgânica diminui consideravelmente a influência negativa dos PAHs na atividade enzimática (MALISZEWSKA-KORDYBACH & SMREZAK, 2003).

Além da influência estimulatória da matéria orgânica no desenvolvimento do metabolismo de microrganismos e no nível da atividade enzimática (DZOMBAK & LUTHY, 1984; BOOPATHY, 2000), vários estudos apontam para o papel da matéria orgânica nos processos de sorção dos poluentes orgânicos (PIGNATELLO & XING, 1996; MURPHY *et al.*, 1998). Em alguns casos específicos, podem ser formadas combinações muito estáveis de poluentes orgânicos com a matéria orgânica. Os xenobióticos ficam então indisponíveis aos microrganismos, diminuindo seu efeito tóxico (ROBERTSON & ALEXANDER, 1998). Por exemplo, em solos de região semi-árida, o baixo conteúdo de matéria orgânica pode afetar diretamente a sorção dos hidrocarbonetos pelo solo e, conseqüentemente, afetar a sua biodegradação (MOHN & STEWART, 2000).

A biodisponibilidade dos PAHs aos microrganismos é reduzida pela sorção destes compostos aos minerais do solo e microrganismos. Esta sorção, em sedimentos e solo está relacionada diretamente ao conteúdo de C da sorvente (DZOMBAK & LUTHY, 1984). No entanto, quando se cita a sorção às células bacterianas, fala-se de um processo mais complexo, possivelmente envolvendo dissolução e reações da superfície ativa. Por exemplo, a sorção do fenantreno variou de acordo com o gênero e espécie bacteriana, sendo que os Nocardiformes se destacaram pela maior capacidade de sorção. A biosorção diminuiu a capacidade de degradação dos PAHs em curto espaço de tempo (STRINGFELLOW & ALVAREZ-COHEN, 1999).

O conhecimento da biodisponibilidade e outros efeitos interativos dos PAHs sobre os microrganismos é importante, uma vez que estes compostos, em última instância, determinam a atividade e diversidade dos microrganismos. As comunidades microbianas podem ser unidades funcionais caracterizadas pela soma de suas propriedades metabólicas. Assim, o modelo de utilização do substrato pela comunidade resulta na diversidade taxonômica e abundância de cada taxon. Pelo estudo desses parâmetros RATHBONE *et al.* (1998) verificaram que na presença de pireno e fenantreno foram observadas diferenças na estrutura da comunidade, que resultaram na modificação da capacidade decompositora dos microrganismos do solo. Os compostos podem ter induzido modificações no tipo e qualidade das enzimas ou na composição das populações microbianas.

3. Metais pesados

As primeiras observações sobre os efeitos dos metais pesados nos processos microbianos dos solos datam do início do século XX (BROWN & MINGES, 1916),

mas somente nas décadas de 1960/1970 os seus reais efeitos sobre a microflora do solo começaram a ser observados e estudados. As elevadas contaminações de metais nos locais vizinhos às mineradoras, com concomitante acúmulo da matéria orgânica do solo decorrente da inibição da atividade dos microrganismos e da fauna, impulsionaram as pesquisas sobre os efeitos dos metais pesados na microbiota e nos processos microbianos do solo. Atualmente, embora os efeitos tóxicos sejam bem reconhecidos, tendências contrastantes são relatadas na literatura. A princípio existem dois fatores que podem contribuir para as discrepâncias entre os resultados, ou seja:

- fatores que modificam a toxicidade de metais como tipo de solo e fonte de contaminação (p. ex. lodo de esgoto e sais solúveis de metais), que afetam a química do elemento e;
- diferenças na sensibilidade dos microrganismos.

É extremamente difícil separar esses fatores quando os estudos sobre a toxicidade dos metais é realizada em solo, em virtude das dificuldades em se determinar a biodisponibilidade dos metais nesse sistema e também da complexidade das comunidades microbianas. Espécies de microrganismos dentro de um mesmo gênero ou mesmo estirpes dentro de uma mesma espécie, podem diferir nas suas sensibilidades aos metais (Figura 1). Ademais, a maioria dos estudos de campo envolve mais de um metal, o que muitas vezes torna difícil a interpretação dos resultados. Nesse caso, a toxicidade dos metais sobre os microrganismos do solo dependerá das interações sinérgicas ou antagonísticas entre os elementos. Por exemplo, o Zn e o Cd podem ter efeitos antagônicos ou sinérgicos dependendo de suas respectivas concentrações e do microrganismo alvo investigado (ADRIANO, 2001). A presença

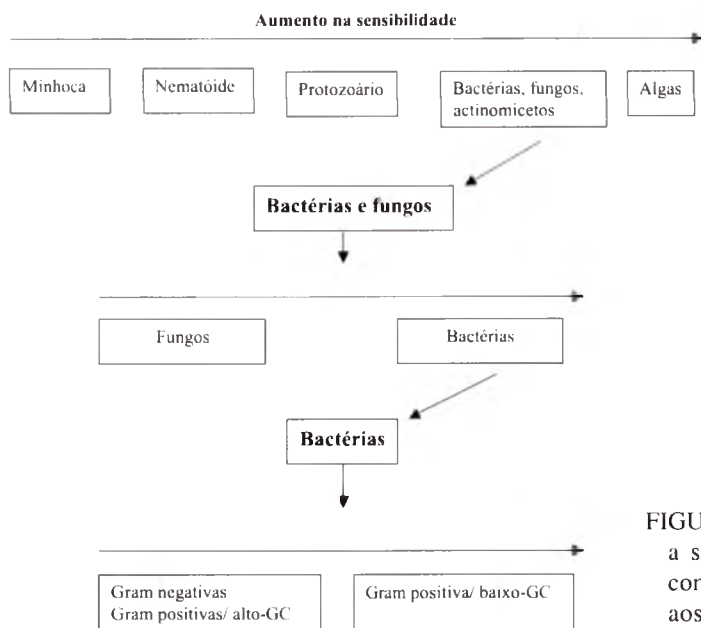


FIGURA 1. Diagrama mostrando a sensibilidade de diferentes componentes da biota do solo aos metais pesados.

de metais em combinação pode ter maior efeito sobre os parâmetros microbiológicos (KHAN & SCULLION, 1999) e atividades enzimáticas (RENELLA *et al.*, 2003) do que metais específicos em altas concentrações.

Muitos metais são essenciais para o metabolismo microbiano (p. ex. Zn e Cu), enquanto outros não apresentam função metabólica (p. ex. Pb, Cr e Cd). Todavia, esses elementos tornam-se tóxicos acima de uma concentração mínima, embora os efeitos sejam geralmente dependentes da especificidade dos microrganismos em mediar um processo particular. Por exemplo, a nitrificação é geralmente mais sensível aos metais pesados do que à amonificação, em razão do número restrito de microrganismos capazes de conduzi-la.

A contaminação do solo com metais pesados diminui a respiração (HATTORI, 1992), a biomassa microbiana (CHANDER *et al.*, 1995), as atividades enzimáticas (MATHUR & SANDERSON, 1980) e o número de microrganismos no solo (PENNANEN *et al.*, 1996). Isso pode levar a um distúrbio no sistema solo, uma vez que a população microbiana sensível tende a diminuir, enquanto a população resistente tende a aumentar (KUNITO *et al.*, 1997).

A decomposição microbiana do C pela microflora é também sensível à presença de metais pesados no solo e é, geralmente, dependente do substrato. Frequentemente, a decomposição de palha, amido e celulose é sensível à presença de metais, enquanto o mesmo não é observado quando se considera a decomposição de adubo orgânico ou lodo de esgoto. Brynhildsen *et al.* (1988) relataram que as diferenças na disponibilidade de carbono no meio teve profundo efeito sobre a toxicidade de Cd, Cu e Zn em determinadas espécies microbianas.

Solos contaminados com metais podem também conter uma maior porcentagem de isolados bacterianos resistentes a antibióticos do que solos não contaminados (CAMPBELL *et al.*, 1995). Essas observações pressupõem que a poluição com metais pode contribuir para uma maior resistência dos microrganismos aos antibióticos por meio de uma seleção indireta, que é mais duradoura à medida que os metais não tenham sido degradados (ALONSO *et al.*, 2001).

Os metais pesados estão presentes nos solos em várias formas por causa das interações que ocorrem entre esses elementos e aquele sistema. As concentrações totais de metais nos solos podem, portanto, não fornecer uma precisa avaliação de sua influência sobre os microrganismos. Do mesmo modo, os bioindicadores não respondem de forma concisa àqueles elementos, quando solos diferentes são estudados. Chew *et al.* (2001) não observaram efeitos dos metais pesados na atividade celulolítica de um determinado solo com teores elevados de Pb, Cu e Zn. Os autores relacionaram esses resultados à adaptação dos microrganismos aos metais presentes no solo e à reduzida biodisponibilidade dos elementos em função da capacidade de troca de cátions do solo.

Outras propriedades do solo tais como pH, conteúdo de matéria orgânica e de óxido de ferro alteram o efeito de um determinado metal sobre a microflora. Desses o pH apresenta a maior influência em razão do seu forte efeito sobre a solubilidade e especiação de metais no solo como um todo e, particularmente, na solução. Cada unidade de decréscimo no pH resulta em aumento de duas vezes na concentração de metais como Zn, Ni e Cd na solução do solo, onde os metais poderão não estar

completamente biodisponíveis devido à quelação por moléculas orgânicas e à ocorrência de formas químicas, que não podem ser diretamente absorvidas. Assume-se, geralmente, que o íon livre nas espécies químicas é a forma absorvida e que, quando presente em excesso, causa toxicidade. Todavia, a literatura sobre esse assunto e sobre microrganismos do solo é escassa. Como as bactérias estão presentes em colônias ou protegidas pelas argilas elas poderiam não estar expostas aos metais pesados. Os microrganismos podem também alterar a disponibilidade de metais ao seu redor devido à acidificação localizada do ambiente ou produção de compostos que complexam metais. Por exemplo, bactérias oxidantes do ferro que reduzem peritas de ferro para FeSO_4 e H_2SO_4 podem causar extrema acidificação causando aumento na disponibilidade de metais. Muitos são os trabalhos que utilizam solos contrastantes e estabelecem firme relação entre a magnitude dos efeitos adversos causados aos processos microbianos, pela adição de sais de metais ao solo, e as propriedades do solo, tais como, pH, conteúdo de argilas e matéria orgânica (HAANSTRA & DOELMAN, 1991).

3.1 Fatores metodológicos que podem influenciar a resposta microbiana aos metais pesados

Os estudos sobre a toxicidade de metais nos microrganismos do solo envolvem diferentes enfoques que, muitas vezes, evitam comparações significativas entre os experimentos. Esses estudos podem ser classificados em três grupos (GILLER *et al.*, 1998):

- estudos ecotoxicológicos em laboratório;
- estudos ecotoxicológicos de campo;
- monitoramento ambiental.

Os ensaios em laboratório incluem o estudo da toxicidade de diferentes metais em populações microbianas ou processos particulares. Isso é mais comumente feito por meio da adição de metais pesados ao substrato, na forma de sais mais ou menos solúveis, com posterior monitoramento do efeito sobre funções particulares ou sobre o número ou grupos de microrganismos no solo. O enfoque é simplístico e possui pouca relação com as reais situações dos solos a campo, onde as concentrações de metais são gradualmente modificadas por meio da deposição atmosférica, uso de fertilizantes, pesticidas ou compostos orgânicos ricos em metais.

Nos estudos ecotoxicológicos de campo, amostras de solo são coletadas de áreas contaminadas e não contaminadas com metais e submetidas a um teste de toxicidade. O solo é inoculado com um microrganismo teste cuja sobrevivência e atividade é acompanhada ao longo do tempo.

No monitoramento ambiental, solos do campo são amostrados e a população de um grupo funcional particular ou espécie de microrganismo é monitorado. Tais estudos podem ser conduzidos em áreas sujeitas a contaminação intencional ou em áreas sujeitas à poluição ambiental por elementos metálicos, como por exemplo, áreas

suplementadas com lodo de esgoto. Tipicamente, em estudos ecotoxicológicos de campo e laboratório é estudado a resposta da comunidade ou populações microbianas que estão se adaptando a concentrações elevadas de metais, enquanto em estudos com solos poluídos, por um longo período, estuda-se comunidades ou populações microbianas adaptadas a elevadas concentrações de metais.

3.2 Efeito da toxicidade por metais pesados nas células microbianas e processos microbianos do solo

Efeito dos metais pesados nas células microbianas: Os metais são tóxicos porque, em função de suas naturezas fortemente iônicas, eles se ligam a muitos constituintes celulares e deslocam metais essenciais de seus sítios de ligação (Figura 2). Eles podem romper proteínas e ácidos nucleicos, por meio da ligação aos grupos sulfidril, no primeiro caso, e aos grupos hidroxil e fosfato, no segundo caso. Os metais podem também afetar a fosforilação oxidativa e a permeabilidade da membrana, quando na presença de mercúrio. Os microrganismos geralmente utilizam vias de transporte específicas para levar aqueles elementos da membrana celular para o citoplasma.

Efeito dos metais pesados nos microrganismos e processos microbianos do solo: mineralização do C orgânico nativo e do carbono adicionado - A taxa de mineralização da matéria orgânica medida pela evolução do CO₂ (respiração básica), sob condições padronizadas, tem fornecido resultados conflitantes em solos agrícolas contaminados com metais (MINNICH & McBRIDE, 1986). Muitas vezes observa-se apenas um leve aumento ou decréscimo daquele parâmetro, embora o tamanho da biomassa microbiana seja consistentemente diminuída (FLIEBBACH *et al.*, 1994; YEATES *et al.*, 1994).

Ademais, a taxa de mineralização do C na presença de metais é dependente da natureza do substrato disponível, o que poderá explicar algumas das discrepâncias entre os resultados obtidos em diferentes estudos (FLIEBBACH & REBER, 1992; OBBARD & JONES, 1993). Estes também podem ser afetados por outros fatores, tais como variações nos níveis de contaminação pelos metais, nas fontes de contaminação, no período de tempo em que as respostas são monitoradas e nos tipos de solos.

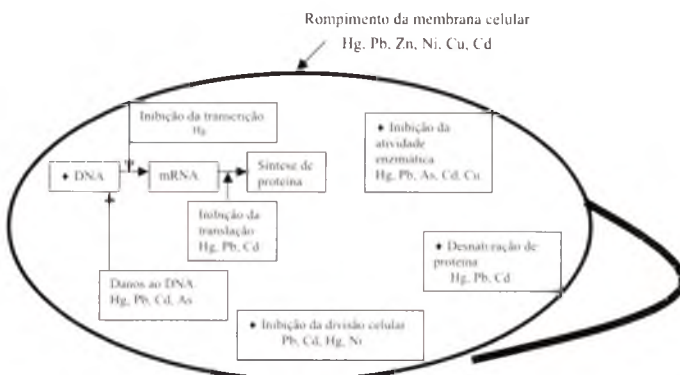


FIGURA 2. Sumário das várias influências tóxicas dos metais sobre as células microbianas. (Fonte: ROANE & PEPPER, 2000).

Biomassa microbiana: Os microrganismos diferem na sua sensibilidade à toxicidade pelos metais sendo que a exposição a esses elementos poderá resultar em decréscimo na quantidade da biomassa microbiana (KANDELER *et al.*, 1996; KNIGHT *et al.*, 1997). Doelman (1986) relata que dentre vários metais testados, o Hg, o Cd e o Cu causaram efeitos mais significativos sobre a biomassa microbiana do que o Pb. Bääth (1989) encontrou tendências similares, ou seja, o efeito negativo dos metais na biomassa microbiana diminuiu na seguinte ordem $Cd > Cu > Zn > Pb$. Trabalhos mais recentes, por outro lado, demonstraram que a biomassa microbiana medida pelo método de extração-fumigação não é afetada pelo Cd mesmo a concentrações anormalmente altas como $500 - 1000 \text{ mg Cd kg}^{-1}$ de solo (FRITZE *et al.*, 2000, LANDI *et al.*, 2000). Na concentração de 500 mg kg^{-1} , o Cd, apesar de inócuo para a biomassa microbiana, causou um decréscimo no conteúdo de ATP do solo (LANDI *et al.*, 2000). Esses resultados demonstram que a biomassa microbiana nem sempre pode ser um indicador adequado de estresse de metal (MEGHARAJ *et al.*, 2000). Bääth *et al.* (1998) não encontraram mudanças significativas no conteúdo de C da biomassa microbiana em solo suplementado com lodo rico em Zn e Ni (359 e 89 mg kg^{-1} de solo, respectivamente), apesar de constatarem mudanças na estrutura da comunidade microbiana. Kandeler *et al.*, (1996) demonstraram que a biomassa microbiana diminuiu com o aumento da poluição com Cu em três solos da Áustria. Do mesmo modo, Banu *et al.*, (2004) mostraram decréscimo consistente na biomassa microbiana com o aumento das concentrações de Cu em solos da Austrália.

Estrutura da comunidade microbiana: Os diferentes grupos de microrganismos do solo reagem de forma diferente à presença de metais (DU PLESSIS *et al.*, 2005). Os protistas, por exemplo, são sensíveis a pequenos aumentos nos níveis de Cu no solo. Se considerarmos a importância destes microrganismos como um *link* no fluxo de energia, entre os níveis tróficos, fica evidenciada a vulnerabilidade do sistema solo à contaminação por aquele metal. Estudos de campo sugerem que ocorrem mudanças na estrutura genética da comunidade, em solos submetidos a longos períodos de estresses por elementos metálicos, sem que haja, necessariamente, qualquer aumento na tolerância da microbiota aos metais (GILLER *et al.*, 1998). Griffiths *et al.*, (1997) relataram quedas nas comunidades microbianas por meio de várias técnicas moleculares, em um solo argilo-arenoso suplementado com $1800 \text{ mg de CdSO}_4 \text{ kg}^{-1}$ de solo. Geralmente, os actinomicetos são mais resistentes ao Cd do que as bactérias Gram negativas e Gram positivas, nessa ordem.

A exposição a metais também leva ao estabelecimento de populações microbianas tolerantes, que são frequentemente representadas por várias bactérias Gram positivas pertencentes aos gêneros *Bacillus*, *Arthrobacter* e *Corynebacterium* e por bactérias Gram negativas tais como *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Ralstonia* e *Burkholderia* (KOZDRÓF & VAN ELSAS, 2001; ELLIS *et al.*, 2003). Nos solos contaminados essas populações podem estar envolvidas na alteração da mobilidade dos metais, por meio de redução, acumulação e imobilização *in situ* por precipitação extracelular (ROANE, 1999). A tabela 1 mostra alguns exemplos de gêneros e espécies de bactérias que têm sido isoladas de áreas contaminadas com metais.

TABELA 1. Bactérias isoladas de diferentes áreas contaminadas com metais (PIOTROWSKA-SEGET *et al.*, 2005).

Bactérias Gram negativas	Bactérias Gram positivas
<i>Pseudomonas</i>	<i>Bacillus cereus</i>
<i>Alcaligenes</i>	<i>Corynebacterium</i>
<i>Ralstonia</i>	<i>Bacillus mycoides</i>
<i>Burkholderia</i>	<i>Micrococcus luteus</i>
<i>Comamonas</i>	
<i>Variovorax</i>	
<i>Methylobacterium</i>	
<i>Flavobacterium</i>	

Transformações do nitrogênio: Dentro das diferentes etapas do ciclo do nitrogênio, a nitrificação é potencialmente a mais sensível à poluição por metais pesados. Pequenas concentrações de Cd no solo podem estimular a mineralização de N, estimulando tanto a amonificação quanto a nitrificação, enquanto doses mais elevadas podem inibir estes dois processos. As bactérias nitrificadoras são mais sensíveis à presença de Cd do que as bactérias desnitrificadoras. Comparando Cd, Cu e Cr(VI), na concentração de 20 mg kg⁻¹ de solo, verificou-se que o Cd é o inibidor mais efetivo da amonificação e desnitrificação, enquanto o Cr(VI) teve maior efeito inibitório na atividade da nitrificação (YANG *et al.*, 2005).

Poucos estudos têm sido conduzidos sobre o efeito de metais pesados na desnitrificação. Do ponto de vista agrônômico a inibição deste processo não seria considerada como um problema em potencial. Ocorre, porém, que os diferentes passos na redução do NO₃⁻ para N₂ diferem nas suas tolerâncias aos metais pesados. Tais inibições seletivas poderiam agravar as conseqüências ecológicas da poluição com metais pesados. Por exemplo, a redução do NO₂ parece ser mais sensível do que a redução do NO₃⁻, o mesmo ocorrendo com a redutase do oxido nitroso (BOLLAG & BARABASZ, 1979). Tais fatos poderiam levar ao acúmulo de níveis tóxicos de NO₂ no solo e a um aumento na emissão de oxido nitroso.

Fixação biológica do nitrogênio: O estudo sobre o efeito tóxico dos metais pesados na fixação simbiótica do nitrogênio somente foi reconhecido após a constatação de ausência daquele processo simbiótico em *Trifolium repens* L., em solo com concentrações moderadas de metais, em Woburn (UK) (McGRATH *et al.*, 1988). A sobrevivência de rizóbios de vida livre no solo é sensível a elevados teores de metais e pode explicar os efeitos adversos desses elementos na fixação simbiótica do N₂ (GILLER *et al.*, 1998). Broos *et al.* (2005) obtiveram dados que demonstram que a fixação simbiótica do nitrogênio é afetada pelo Zn, uma vez que este elemento diminuiu a população de rizóbio no solo abaixo de um nível considerado adequado ao processo simbiótico. Os metais podem não somente diminuir o tamanho da população de rizóbios no solo, mas também a sua diversidade genética (GILLER *et al.*, 1989, LAKZIAN *et al.*, 2002). As estirpes que sobrevivem em solos contaminados com metais pesados têm o menor número de tipos de plasmídeos e o maior número de bandas plasmidiais por isolado (i.e. complexidade dos perfis de

plasmídeos) (LAKZIAN *et al.*, 2002). Portanto, embora pareça que os plasmídeos estejam envolvidos na tolerância dos rizóbios aos metais, as suas reais funções ainda são desconhecidas.

Atividades enzimáticas: Os metais pesados podem reduzir as atividades das enzimas interagindo com seus sítios ativos (NANNIPIERI, 1994) ou afetando as suas sínteses dentro das células microbianas. Mudanças induzidas pelos metais na estrutura da comunidade podem também modificar as atividades enzimáticas (NANNIPIERI, 1994).

A exposição da microbiota do solo a altas concentrações de Cd, por um longo período, pode diminuir a síntese de hidrolases, como resultado de uma reduzida eficiência metabólica decorrente da adaptação fisiológica dos microrganismos às altas concentrações do metal (RENELLA *et al.*, 2005a). Do mesmo modo, este metal em doses elevadas (800 mg Cd kg⁻¹ de solo) pode afetar a atividade da desidrogenase, mas não da β-glucosidase, urease e fosfomonoesterase (MORENO *et al.*, 1999). O efeito danoso do Cd na atividade da desidrogenase pode ocorrer a uma concentração 10 vezes maior do que aquela que afeta a atividade da fosfatase ácida (LANDI *et al.*, 2000). Renella *et al.* (2005b) relataram que as atividades das enzimas fosfomonoesterase, arilsulfatase e β-glucosidase foram significativamente inibidas pelo Cd e Ni a concentrações de 13,1 e 52,3 mg kg⁻¹ de solo, respectivamente. Moreno *et al.* (2003) demonstraram que a atividade da fosfomonoesterase foi mais sensível à contaminação por Cd e Ni do que as atividades da urease e protease, com o Cd sendo mais inibitório que o Ni. O Cu pode causar decréscimo na atividade da desidrogenase a concentrações tão baixas como 0,16 μ mol g⁻¹ de solo (solo arenoso, pH 6,9, %C 1,1). Esta inibição pode diminuir mesmo a maiores concentrações de Cu, como por exemplo, 7,87 μ mol g⁻¹ de solo, em solo aluvial (pH 7,1, 1,8% C) (MALISZEWSKA *et al.*, 1985). Os diferentes efeitos de metais nas atividades enzimáticas pode ser devido ao fato que íons metálicos divalentes tais como Mn²⁺, Zn²⁺ ou Ni²⁺ são co-fatores funcionais para glicosilhidrolases (BOUMA *et al.*, 1997), fosfohidrolases (COLEMAN, 1992) e enzimas amidohidrolases (HOLM & SANDER, 1997), enquanto o Cd²⁺ não é requerido para qualquer reação bioquímica conhecida.

3.3 Resistência e adaptação dos microrganismos do solo aos metais pesados

A adaptação microbiana é um importante mecanismo de resposta à presença de contaminantes no solo e pode resultar na compensação de um efeito adverso por meio do aumento na atividade da microbiota restante. Os microrganismos do solo podem também resistir à toxicidade por metais transformando-os em formas menos tóxicas, imobilizando-os na superfície das células ou em polímeros intracelulares, por precipitação ou biometilação (DOELMAN, 1986).

Desde a década de 1970, trabalhos de pesquisa têm identificado microrganismos resistentes a metais. A pressão seletiva de ambientes contendo estes elementos tem levado ao desenvolvimento desta resistência para todos os metais

tóxicos (ROUCH *et al.*, 1995). Os sistemas de resistência são, na maioria, mediados pelos plasmídeos e têm sido encontrados em todos os grupos de eubactérias estudados (SILVER & MISRA, 1984; JI & SILVER, 1995). A presença de íons metálicos pode induzir os genes para iniciar a resistência ao metal pela detoxificação enzimática. O exemplo mais proeminente é a resistência ao mercúrio Hg(II) codificada pelo operon *mer*. Existem diferenças entre os sistemas plasmidiais e cromossomais de resistência aos elementos metálicos. Os sistemas de resistência aos metais essenciais são usualmente localizados nos genes cromossomais e são mais complexos do que os sistemas plasmidiais. Os sistemas codificados por plasmídeos, por outro lado, são usualmente mecanismos de efluxo de íons tóxicos (BRUINS *et al.*, 2000). Seis mecanismos estão envolvidos na resistência dos microrganismos aos metais (Tabela 2) (SILVER, 1992; ROUCH *et al.*, 1995). A seguir são fornecidos exemplos de microrganismos que apresentam os mecanismos de resistência citados.

Exclusão do metal por uma barreira de permeabilidade: algumas bactérias formam uma camada de polissacarídeos extracelulares que apresentam sítios de ligação dos cátions metálicos (*Klebsiella aerogenes*, *Pseudomonas putida*, *Arthrobacter viscosus*).

Transporte ativo do metal para fora da célula/organismo: o transporte ativo ou sistemas de efluxo representa a maior categoria dentro dos sistemas de resistência a metais. O microrganismo usa o mecanismo de transporte ativo para exportar metais tóxicos do seu citoplasma (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus sp.*, *Alcaligenes eutrophus*).

Seqüestro intracelular do metal por meio da ligação em proteína: o seqüestro intracelular é a acumulação de metais dentro do citoplasma para prevenir exposição a componentes celulares essenciais. Dois exemplos existem para esta forma de resistência a metal, ou seja, produção de metalotioneína em *Synechococcus sp.* e de proteínas ricas em cisteína em *Pseudomonas sp.* (ROUCH *et al.*, 1995; SILVER & PHUNG, 1996).

Destoxificação enzimática do metal para uma forma menos tóxica: o mercúrio é um exemplo modelo de sistema de destoxificação enzimática. Alguns microrganismos contêm um conjunto de genes que formam um operon *mer* de resistência ao Hg(II) (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Thiobacillus ferrooxidans*).

TABELA 2. Mecanismos postulados de resistência a metais em microrganismos.

Exclusão do metal por uma barreira de permeabilidade
Transporte ativo do metal para longe da célula/organismo
Seqüestro intracelular do metal por meio da ligação em proteína
Seqüestro extracelular
Destoxificação enzimática do metal para uma forma menos tóxica
Redução da sensibilidade dos alvos celulares ao metal

Redução da sensibilidade dos alvos celulares ao metal: alguns microrganismos adaptam-se à presença de metais tóxicos alterando a sensibilidade de componentes celulares essenciais, o que fornece um grau de proteção natural (ROUCH *et al.*, 1995). Esta proteção é alcançada por mutações que diminuem a sensibilidade, mas não alteram as funções básicas.

4. Agrotóxicos

A indústria mundial de agrotóxicos apresenta um faturamento global de cerca de US\$ 26,0 bilhões ano⁻¹, sendo que o Brasil ocupa o 3º lugar com US\$ 2,0 bilhões ano⁻¹, depois dos Estados Unidos e Japão. Entre as principais classes de agrotóxicos usados na agricultura brasileira em 2002, a dos herbicidas destacou-se, respondendo por 51 % do valor das vendas totais, seguido dos inseticidas (24%), fungicidas (18%), acaricidas (4%) e outros, que incluem antibrotantes, reguladores de crescimento, óleos minerais e espalhantes adesivos (3%) (Figura 3).

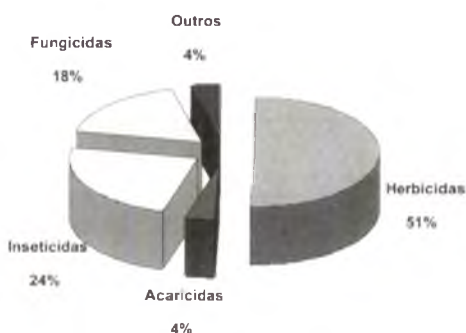


FIGURA 3. Porcentagem da venda de agrotóxicos em 2002, por classe, no Brasil.

Fonte: www.desenvolvimento.gov.br

Os agrotóxicos são compostos orgânicos de grande complexidade molecular e, pelo modo de ação, podem afetar processos específicos nos organismos-alvo, minimizando o efeito colateral das moléculas, ou afetando processos gerais. Por exemplo, na Europa, entre os agrotóxicos mais usados, estão os herbicidas sulfonilureas que possuem um anel triazina e um anel aromático, ligados por uma ponte urea. Os alvos desses compostos são as enzimas envolvidas na síntese dos aminoácidos valina, leucina e isoleucina. Assim, as sulfonilureas têm baixa toxicidade para todos os organismos que não sintetizam

estes aminoácidos, isto é, mamíferos e microartrópodos. No entanto, organismos não-alvo como bactérias e fungos podem ser prejudicados pelo composto quando aplicado em altas concentrações (BOLDT & JACOBSEN, 1998) e, segundo Rebecchi *et al.* (2000), também foi observada redução de algumas espécies colembolanas em solos agrícolas, após a aplicação de triassulfuro. Os autores não explicaram o efeito, mas os resultados demonstraram que a complexidade das medidas dos efeitos colaterais geralmente é problemática no ambiente.

Da mesma forma, espera-se que os fungicidas sintetizados para suprimir fungos patogênicos, não ajam sobre os fungos não-alvo do solo. No entanto, o fenpropimorfe apesar de não ter efeito tóxico imediato forma, durante a sua degradação, o metabólito ácido fempropimórfico, mais biodisponível, que pode afetar negativamente os fungos saprofíticos (BJORLÜND *et al.*, 2000). Segundo esses autores a atividade biológica

do fungicida pode estar associada tanto ao composto parental quanto à de seu metabólito, que pode ter maior mobilidade no solo.

As triazinas são outro grupo de compostos orgânicos bastante utilizados, com alvo em enzimas específicas envolvidas na fotossíntese das plantas C_3 . Esses compostos teoricamente seriam específicos para as plantas devido ao seu modo de ação. No entanto, a cloração do anel triazina torna as moléculas tóxicas não somente para as plantas C_3 , mas também para uma ampla variedade de organismos.

Alguns agrotóxicos apresentam estruturas moleculares similares e podem atacar o mesmo sistema biológico, mas apresentam comportamentos diferenciados no solo. Para o efeito esperado, a sua biodisponibilidade aos microrganismos é de grande importância e é determinada por muitos fatores dependentes da cultura e do solo, incluindo porcentagem de área coberta pela planta, lixiviação e degradação do composto. Também é dependente do composto orgânico utilizado (GEVAO *et al.*, 2000). A direta sorção das moléculas decresce significativamente com a concentração disponível da mesma na solução do solo. Após longos períodos o agrotóxico pode ser incorporado à matéria orgânica pelo envelhecimento.

A porcentagem de cobertura do solo é importante quando se calcula a dose efetiva de agrotóxico que o alcançou. Por exemplo, os herbicidas são utilizados quando a cobertura está ausente ou muito pequena, resultando em alta proporção do agrotóxico alcançando o solo exposto. Ao contrário, os fungicidas e inseticidas são geralmente utilizados em cultivos densos, sendo menor a exposição do solo. Por outro lado, os fatores edáficos incluindo nutrientes e pH, temperatura e umidade, diferem em importância de acordo com o composto envolvido. A temperatura e umidade do solo afetam diretamente muitos processos biológicos, incluindo o metabolismo da planta e a degradação microbiana e, portanto, influenciam a bioatividade e persistência dos compostos químicos (WEBER *et al.*, 1993).

Nas últimas décadas, houve grande aumento nos relatos sobre os efeitos dos agrotóxicos nos microrganismos não-alvo, em áreas agrícolas e, entre os organismos da superfície do solo, foi dada muita atenção aos decompositores devido a sua importância na ciclagem de nutrientes (EDWARDS & THOMPSON, 1973; INGHAM, 1985; EDWARDS & BOHLEN, 1992). Muitos trabalhos foram direcionados para o entendimento da complexidade das interações agrotóxicos-microrganismos do solo. Foram empregadas culturas puras, isoladas do solo e cultivadas em placas de Petri e, normalmente, foram testados efeitos de agrotóxicos específicos, como por exemplo, em estudos de dose-resposta. No entanto, na prática, mais de um agrotóxico é aplicado em um determinado tempo, ou as aplicações são repetidas em curtos intervalos de tempo. Assim, os organismos podem estar expostos a vários contaminantes simultaneamente e isso pode alterar os efeitos tóxicos.

Na literatura, o efeito dos compostos orgânicos sobre os organismos e processos do solo é extremamente diverso, variando de relatos sobre o efeito dos compostos em espécies individuais ou em populações e em sistemas biológicos, utilizando grande diversidade de métodos para os testes, tanto em laboratório quanto em campo (EDWARDS & BATER, 1990). Os efeitos sobre as populações microbianas são geralmente estudados por métodos dependentes de cultivo e baseados em grupos bacterianos com papel funcional específico no solo. Os mais utilizados são os grupos

bacterianos de crescimento lento como os actinomicetos, que degradam fontes complexas de carbono (LACEY, 1973; BANERJEE & BANERJEE, 1987), enquanto as bactérias de crescimento rápido, como o gênero *Pseudomonas*, que degradam fontes simples de C, são menos estudadas (THIRUP *et al.*, 2000). Da mesma forma, há um foco sobre os agrotóxicos que afetam grupos bacterianos com funções nas transformações de N no solo. Como exemplo cita-se a fixação de N₂ por *Rhizobium* em leguminosas, bem como por *Azospirillum* e *Azotobacter*, que são bactérias fixadoras de N₂ de vida livre (BANERJEE & BANERJEE, 1987; MARTENSSON, 1992; REVELIN *et al.*, 1992; RAMOS & RIBEIRO, 1993). Ademais, as bactérias nitrificadoras que apresentam papel chave no ciclo do N no solo, podem também ser severamente afetadas pelos agrotóxicos (DONECHE *et al.*, 1983).

A grande quantidade de biomassa microbiana na superfície do solo influencia continuamente a estrutura e o metabolismo bioquímico dos agrotóxicos, e interage diretamente com a ciclagem de matéria orgânica total. A fertilidade natural dos ecossistemas depende quase que totalmente dos processos microbianos naturais como a fixação biológica de N₂, mineralização das formas orgânicas de C, N, e P e transformação da matéria orgânica, todos mediados pela biomassa microbiana. Assim, qualquer declínio na fertilidade natural do solo pela entrada de poluentes, terá, portanto, proporcionalmente, grandes efeitos no ecossistema natural. A cada ano, cerca de 10 t de substâncias orgânicas (suplementação orgânica com adubos orgânicos, resíduos de culturas, exsudatos de raízes e biomassa morta) são adicionadas ao solo, para manter estável o conteúdo de carbono orgânico em sua camada superficial.

As frações da matéria orgânica natural sofrem conversões químicas e biológicas, bem como interações físico-químicas com os constituintes orgânicos e minerais do solo. A própria conversão dos compostos orgânicos nativos é governada pela respectiva comunidade microbiana. Ela produz e usa diferentes fontes de carbono em um processo dinâmico (FRANZLUEBBERS & ARSHAD, 1997; HU *et al.*, 1999; KENNEDY, 1999; BUCKLEY & SCHMIDT, 2003; BURAUDEL & BABMANN, 2005). Um produto final importante, do metabolismo da matéria orgânica natural, é o CO₂ que é liberado dinamicamente do sistema solo, com picos durante a estação de crescimento. Os agrotóxicos na ordem de 1 a 4 kg de carbono por hectare por ano podem ser introduzidos neste processo de conversão dinâmico, devido a sua deposição e aplicação (BURAUDEL *et al.*, 1998). As fontes de carbono com várias características físico-químicas são associadas aos componentes minerais. A ligação dos agrotóxicos a estes componentes organo-minerais de estruturas complexas influencia, decisivamente, os processos como a mobilização, imobilização, biodisponibilidade e transporte (PICCOLO *et al.*, 1998; GEVAO *et al.*, 2003). Dessa forma, a matéria orgânica natural do solo influencia as funções do solo de armazenamento, filtro, tampão e inativação para os agrotóxicos.

Em sistemas de plantio direto a adição de resíduos de culturas na superfície do solo pode adsorver os herbicidas e diminuir o seu efeito (SANFORD, 1982). Exemplo deste fato foi relatado por Harris *et al.* (1995) que não observaram efeito dos herbicidas metolacoloro, metribuzim, norflurazona e orizalina sobre a microbiota do solo, em solos com plantio direto, ou que receberam resíduos de queimada. Estes autores também observaram que os compostos metolacoloro e metribuzim foram

relativamente não persistentes no solo, enquanto o norflurazona e orizalina foram mais persistentes, sendo facilmente detectados sete dias após o tratamento, mas tiveram pouco efeito sobre os microrganismos. Os resultados apresentados, junto aos obtidos por Moorman & Dowler (1991) e Anderson (1978), levaram à conclusão de que poucos herbicidas, quando aplicados em doses de campo, têm efeito prejudicial na microbiota do solo.

Mesmo que o metabolismo do N e do C não seja afetado, a estrutura da comunidade bacteriana no solo pode ser modificada pelo agrotóxico. Alguns microrganismos podem ser suprimidos, enquanto outros podem proliferar em nichos ecológicos vagos. Isso pode levar a sucessões na comunidade microbiana e alterar as atividades durante um período de tempo. Portanto, é necessário nas avaliações de risco dos agrotóxicos, incorporar medidas da diversidade microbiana, refletida na distribuição imediata dos organismos pelo efeito a curto e longo prazo.

A comunidade microbiana é uma mistura complexa de inter-relações entre organismos de diferentes níveis tróficos, o que ocasiona muitos efeitos indiretos. Há duas implicações importantes em se avaliar a diversidade microbiana, uma delas é que o decréscimo na diversidade geral resultará em risco de diminuição da capacidade do sistema biológico em responder às perturbações (EHSCHMITT & GRIFFITHS, 1998). A outra, é que a diversidade microbiana reflete o histórico da influência no microambiente. Alguns grupos microbianos são capazes de utilizar o agrotóxico aplicado como fonte de energia e nutrientes, contudo ele pode ser tóxico a outros organismos. A própria diversidade indica o quanto o ecossistema foi estressado.

Ao monitorar o impacto do efeito dos herbicidas dinoterbe e metamitrom por meio da respiração induzida pelo substrato, atividade da desidrogenase, mineralização de C e N, *fingerprint* da comunidade usando Biolog e TGGE do DNA das bactérias, Engelen *et al.* (1998) observaram efeito significativo dos herbicidas, principalmente no *fingerprint* da comunidade bacteriana pelo Biolog. Esse demonstrou maior efeito significativo do dinoterbe e um efeito leve, porém, também significativo, do metamitron. Igualmente, os géis de TGGE de 16S DNA demonstraram maior efeito do dinoterbe na diversidade microbiana, enquanto quase não foi observado efeito do metamitron. Pelo corte e seqüenciamento das bandas nos géis TGGE, nos solos tratados com dinoterbe, foi encontrada uma banda associada à bactéria que oxida nitrito (*Nitrospina Nitrospira*), que não foi observada no solo controle.

O efeito de diferentes métodos para a avaliação ecotoxicológica foi também demonstrado por El Fantroussi *et al.* (1999), na avaliação do efeito, a longo prazo, de três herbicidas (diurom, diurom + linurom e clorotuirom). O impacto dos herbicidas na comunidade microbiana foi demonstrado pela contagem de microrganismos em placa (UFC) e confirmado pelos resultados do *fingerprint* resultante do Biolog GN e do DGGE. No solo não tratado foram encontradas duas bandas associadas a *Pseudomonas*, que estiveram ausentes nos solos tratados com linurom.

Outro exemplo, enfocando a diversidade taxonômica vem da avaliação da comunidade microbiana de um solo arenoso, exposto ao herbicida 2,4,5-T (2,4,5-ácido triclofenoxiacético), na concentração de 100 µg g⁻¹ (ATLAS *et al.*, 1991). Foram determinadas, aproximadamente, 40 características fenotípicas para cada linhagem isolada. Pelo Índice de Shanon os autores verificaram que a diversidade das

comunidades perturbadas foi significativamente menor. O distúrbio levou à sobrevivência de relativamente poucas espécies definidas taxonômicamente. As comunidades desenvolvidas demonstraram aumento na tolerância fisiológica e versatilidade metabólica. Também foi observado que essas comunidades sobreviveram sob diferentes temperaturas, pH e concentrações de sal. Segundo os autores, o número limitado de populações sobreviventes apresentou propriedades específicas que possibilitaram a sua sobrevivência dentro das comunidades perturbadas.

A aplicação de herbicidas como 2,4-D e ou de seu análogo 2,4,5-T provoca um aumento do conteúdo de C da biomassa microbiana (RATH *et al.*, 1998). No entanto, o que chama atenção é o estímulo da biomassa pelo 2,4,5-T em condições sob inundação. Esse composto é conhecido como mais tóxico aos microrganismos e suas atividades, do que o 2,4-D. Um cloro extra no 2,4,5-T torna-o mais tóxico aos organismos não-alvo e mais recalcitrante à biodegradação do que o 2,4-D (ALEXANDER & SCOW, 1989). Este efeito foi mais pronunciado na concentração de $1,5 \mu\text{g g}^{-1}$ quando comparada à dose de $0,75 \mu\text{g g}^{-1}$. Em doses mais altas como $7,5$ e $15 \mu\text{g g}^{-1}$ o efeito torna-se inibitório.

Por outro lado, os herbicidas 2,4-D, tiobencarbe e flucoralina inibiram as populações fúngicas, mas este efeito foi transitório na presença de 2,4-D (SHUKLA, & MISHRA, 1997). Segundo alguns autores, a população microbiana do solo é normalizada em aproximadamente 6 semanas após a aplicação deste herbicida. Outro exemplo da ação de herbicidas sobre os fungos é dado pela aplicação do composto fluazifope-butílico. Esse, quando em altas concentrações (3 e $6 \mu\text{g g}^{-1}$) pode inibir temporariamente a comunidade fúngica (ABDEL-MALLEK *et al.*, 1996). Segundo Sapoundjieva & Kouzmanova (1987), o efeito de fluzifope-butílico sobre os fungos depende da dose aplicada. Os autores observaram que na dose 4 L ha^{-1} , a molécula estimula o crescimento fúngico. Quando aplicado na dose de campo, não teve efeito na contagem de fungos ou em outra atividade microbiana testada (ABDEL-MALLEK *et al.*, 1998). O peso miceliano produzido por *A. niger* e *T. harzianum* não foi significativamente afetado pela aplicação do herbicida, mas *A. flavus* e *A. alternata* tiveram seu peso reduzido na concentração de $24 \mu\text{g mL}^{-1}$, enquanto *C. echinulata* foi estimulado na mesma concentração (ABDEL-MALLEK *et al.*, 1998).

Os microrganismos heterotróficos do solo adquirem C e N para sua manutenção e crescimento dos resíduos da decomposição das plantas e outros materiais orgânicos adicionados ao solo. Os herbicidas com baixa relação C:N (<15) têm potencial para ser facilmente mineralizados, sendo que o N que está em excesso da demanda microbiana é liberado na forma inorgânica (ALEXANDER, 1977). O glifosato tem uma relação C:N de 3:1 e pode ter um efeito imediato na atividade microbiana do solo. Estudos já relataram que as aplicações de glifosato não tiveram efeito significativo na atividade microbiana quando medida a mineralização de C ou, somente apresentava efeito transitório, quando aplicado em altas doses (HART & BROOKES, 1996; OLSON & LINDWALL, 1991; WARDLE & PARKINSON, 1990; 1992). Os solos, em alguns desses trabalhos, foram amostrados de 1 a 4 semanas após a aplicação de glifosato e podem ter perdido os efeitos dos primeiros dias sobre a atividade microbiana. Como a persistência de glifosato nos solos tem sido relatada entre um mês a vários anos (TORSTENSSON, 1985), a avaliação da mineralização

do C e N imediatamente após a sua aplicação pode fornecer resultados mais realísticos do verdadeiro efeito deste herbicida na atividade microbiana do solo, como observado por Haney *et al.* (2000). O aumento da mineralização do C ocorreu logo no primeiro dia após a adição de glifosato e foi contínuo por 14 dias. O herbicida estimulou significativamente a atividade microbiana, medida pela mineralização do C e N, mas não afetou a biomassa microbiana. A mineralização cumulativa de C aumentou com a concentração do composto orgânico, e foi significativamente maior em todas as aplicações quando comparado ao controle. Uma forte relação linear entre C e N mineralizado e a quantidade de C e N adicionado como glifosato, indicaram que o herbicida foi diretamente responsável pela atividade microbiana.

Como pode ser visto, vários estudos foram realizados considerando os efeitos colaterais da aplicação de herbicidas sobre os microrganismos do solo ou sobre as atividades microbianas. No entanto, poucos são os que se referem ao efeito dos fungicidas nas populações microbianas e em suas atividades. Como outros agrotóxicos, estes compostos são biotóxicos e interferem não somente com as reações bioquímicas e fisiologia dos fitopatógenos, mas também influenciam populações ou atividades de outros microrganismos não-alvo (TU, 1993). O efeito inicial já descrito, após a aplicação destas moléculas, é o aumento da atividade microbiana e da dinâmica de nitrogênio no solo (CHEN *et al.*, 2001a e b; TU, 1993; VIEIRA *et al.*, 2000; ZELLES *et al.*, 1985;). A explicação para alguns resultados é de que a aplicação de fungicidas mata ou inibe a atividade de certos grupos de fungos, o que poderia levar a uma imediata redução na respiração e biomassa microbiana. Todavia, os microrganismos mortos ou o próprio fungicida poderiam servir como substrato para os organismos vivos, liberando-os da competição ou da inibição antagonista, via substâncias produzidas pelos fungos. Estes efeitos podem levar a um rápido aumento da atividade bacteriana e na mineralização do nitrogênio, aumentando a sua disponibilidade (CHEN *et al.*, 2001a e b; FAY *et al.*, 2005; VIEIRA *et al.*, 2000). Em decorrência do efeito dos fungicidas sobre a razão bactérias/fungos e os efeitos potenciais sobre os microrganismos não-alvo, outras transformações do nitrogênio, como nitrificação e desnitrificação, podem também ser afetadas, com impacto na composição e atividade das comunidades microbianas (VYAS, 1988; CHEN *et al.*, 2001a e b).

Aplicações do fungicida metalaxil em solos cultivados com uva inibiu significativamente o número e a atividade dos microrganismos do solo (USATAYA *et al.*, 1993). Sua aplicação sistêmica induziu a uma breve estimulação com subsequente supressão dos fungos e actinomicetos do solo (DVORNIKOVA *et al.*, 1988). Outros autores, no entanto, relataram que os fungicidas fenilamidas como metalaxil e mefenoxam, bem como seus metabólitos, em baixas concentrações, não inibem o crescimento dos microrganismos do solo, hipótese esta, confirmada pelo estímulo da amonificação e nitrificação após a aplicação dos dois fungicidas (MONKIEDGE *et al.*, 2002 a e b). Esta afirmação também está em concordância com as observações de Finkelstein & Golovleva (1988) que demonstraram que baixas concentrações de metalaxil estimularam o crescimento de bactérias fixadoras de nitrogênio, enquanto altas concentrações inibiram o processo de nitrificação. Da mesma forma, baixas concentrações de metalaxil aumentaram as atividades enzimáticas e as inibiram em doses altas (SHETTY & MAGU, 2001). De todas as hidrolases estudadas, as

fosfatases ácida e alcalina, em geral, não foram sensíveis ao efeito do metalaxil, provavelmente, devido à complexa interação destas enzimas com o solo, mas a atividade da desidrogenase foi bastante sensível (MONKIEDGE *et al.*, 2002 a).

Parâmetros como a respiração induzida pelo substrato (SIR) e atividade enzimática da desidrogenase (DHA), utilizados normalmente como índices de toda a atividade microbiana do solo, apresentaram respostas diferenciadas à aplicação de três fungicidas: benomil, captam e clorotalonil. A DHA foi estimulada com benomil (18 a 21%) e clorotalonil (8-15%), exceto em solo suplementado com alfafa, mas inibida pelo captam (40-58%). Os solos tratados com os três fungicidas apresentaram menor concentração de N na biomassa microbiana. (CHEN *et al.*, 2001a).

O captam é extensivamente usado na proteção de sementes, portanto, entra em contato direto com o solo após o plantio, com possibilidade de alcançar altas concentrações nos microsítios e influenciar os processos bioquímicos do solo. Resultados obtidos por Martinez-Toledo *et al.* (1998) confirmaram este efeito. Segundo esses autores, o captam, quando aplicado nas doses recomendadas, aumentou o número total de bactérias, principalmente, após a segunda aplicação, mas reduziu, significativamente, os fungos cultiváveis. Os resultados demonstraram que o fungicida afetou negativamente as bactérias nitrificadoras e as diazotróficas aeróbias, efeito fortemente correlacionado com a dose do fungicida, mas aumentou o número de bactérias desnitrificadoras.

Estudo sobre o efeito do captam, em três solos diferentes, revelou que o fungicida influenciou a hidrólise da uréia, e o aumento da concentração do fungicida diminuiu consideravelmente a oxidação de NH_4^+ para NO_3^- . A nitrificação foi inibida de acordo com a dose aplicada e foi maior nos solos ácidos e mais arenosos (PARAMA *et al.*, 1997). É provável que em solos arenosos, a menor disponibilidade para adsorção dos agrotóxicos, resulte em maior biodisponibilidade da molécula e, conseqüentemente, seja a causa para a maior inibição. Assim, é possível que as aplicações freqüentes de captam resultem em concentrações do fungicida no solo que causem um impacto negativo na economia do nitrogênio e também no equilíbrio microbiano no solo. No entanto, outros trabalhos relatam que quando comparado a outros fungicidas, o captam tem efeito relativamente limitado nos organismos não-alvo (ANDERSON, 1978; INGRAM *et al.*, 1991). Entretanto, CHEN *et al.* (2001b), verificaram que a aplicação de captam e benomil, em solos suplementados com folhas de alfafa fenada e palha de trigo, reduziram a atividade microbiana avaliada pela respiração induzida pelo substrato (SIR) e pelas atividades enzimáticas da desidrogenase (DHA) e fosfatase, mas quase não modificaram a biomassa microbiana. A possível explicação para esse fato é que os fungicidas podem ter mudado a dominância da comunidade microbiana do solo, de fúngica para bacteriana. Este súbito incremento da atividade bacteriana foi, provavelmente, responsável pelas modificações bioquímicas que ocorreram, principalmente em relação à mineralização de nitrogênio.

Na avaliação do efeito do captam, clorotalonil e benomil na dinâmica do nitrogênio foi observado que os solos tratados com captam apresentaram concentrações mais altas de NH_4^+ do que os solos controle, enquanto, benomil e clorotalonil tiveram pouca influência na concentração de NH_4^+ . As taxas de mineralização líquida de N e a nitrificação foram influenciadas pelos três fungicidas e

pela suplementação orgânica. A mineralização foi mais alta nos solos tratados com captam e a dinâmica do N foi influenciada pelo clorotalonil da mesma forma que com o captam, mas alcançou o pico da nitrificação mais cedo nos solos suplementados com alfafa. Os modelos do efeito dos fungicidas nos processos de ciclagem de nutrientes não foram grandes e foram específicos para cada fungicida. O captam apresentou efeitos mais pronunciados do que o clorotalonil e o benomil (CHEN *et al.*, 2001a).

Outros trabalhos relataram que em solos suplementados com palha, tratados com os fungicidas epoxiconazol e triadimefom, houve aumento da inibição transiente da biossíntese do ergosterol. Porém, a adição de folhas de alfafa fenadas resultou em maior atividade e biomassa microbiana (HART & BROOKES, 1996). Segundo Zelles *et al.* (1985), a adição de 5% de alfafa acabou com as pequeníssimas diferenças entre solos tratados com fungicidas e solos controle. Isso foi possível porque a adição de alfafa não somente melhorou o ambiente para os microrganismos, mas também encorajou uma certa seleção entre eles. A suplementação orgânica do solo promoveu alguma reversibilidade nos efeitos causados pelos agrotóxicos.

Da mesma forma, como já descrito para herbicidas e fungicidas, não há uma conclusão definitiva sobre o efeito dos inseticidas sobre os microrganismos e, conseqüentemente, sobre as transformações de nutrientes no solo, uma vez que os diferentes grupos de inseticidas exibem variações em sua toxicidade (SIMON SYLVESTER & FOURNIER, 1979; DAS & MUKHERJEE, 2000; DAS *et al.*, 2005).

A aplicação do inseticida forato aumentou a mineralização de C orgânico no solo, o conteúdo de N total, a desnitrificação e a mineralização microbiana de N orgânico no solo (MURTHY *et al.*, 1991). Já para Das & Mukerjee (1998), a influência estimulatória do forato e carbofurano na mineralização microbiana do N orgânico influenciou a redução significativa do conteúdo de N total, a qual foi mais pronunciada com forato (17,9%) seguida por carbofurano (14%). A mineralização de N, resultou em maior aumento na quantidade de NH_4^+ e NO_3^- no solo, sendo o aumento mais pronunciado para o primeiro com forato e carbofurano após 15 e 30 dias, respectivamente, enquanto ambos os inseticidas registraram um incessante aumento em NO_3^- no final do experimento. Isto indica que os inseticidas, provavelmente estimularam o crescimento e a atividade de microrganismos amonificadores e nitrificadores que, por sua vez, liberaram grandes quantidades de N mineral no solo (DAS & MUCKHERJEE, 1994). Em geral, o solo retém maior quantidade de NH_4^+ do que NO_3^- , indicando que os processos de amonificação foram mais rápidos do que o de nitrificação. Entre os dois inseticidas, o forato liberou maior quantidade de N mineral do que o carbofurano.

A incorporação dos inseticidas também trouxe aumento significativo na disponibilidade de P solúvel, em razão da maior estimulação das atividades dos microrganismos solubilizadores/mineralizadores de fosfato no solo. Entre os dois inseticidas, o forato liberou maior quantidade de P disponível, quando comparado ao carbofurano (DAS & MUKHERJEE, 1998).

Os fatores naturais e antropogênicos podem afetar também, direta ou indiretamente, as atividades enzimáticas no solo. As enzimas contribuem para a

atividade biológica total do ambiente solo-planta e ajudam os microrganismos do solo em seus esforços para satisfazer suas necessidades nutricionais e a degradação e humificação do material orgânico, principalmente os originários dos polímeros vegetais presentes no solo (KISS *et al.*, 1986; LÄDESMÄKI, & PIISPANEN, 1988 e 1992). Elas catalisam várias reações nos próprios organismos vivos e na fase aquosa do material orgânico do solo, e esta eficiência catalítica pode ser influenciada pela composição do meio circundante, no qual elas agem como catalizadores.

O comportamento das diferentes atividades enzimáticas do solo, na presença de agrotóxicos, é variável e, apesar dos relatos sobre o efeito destes compostos bem revisado e sumarizado por Schaffer (1993), e os esforços realizados para encontrar inter-relações confiáveis entre os efeitos medidos e as propriedades dos solos, características dos agrotóxicos e/ou classes das enzimas, não há conclusões gerais. São freqüentemente relatados resultados contraditórios e algumas vezes confusos sobre a ação de um agrotóxico na atividade de certas enzimas. Por exemplo, a adição de glifosato e paraquate ativaram as atividades da invertase e urease em alguns solos, mas inibiram a atividade da fosfatase (de 5 a 98%) (SANNINNO & GIANFREDA, 2001). No entanto, outros trabalhos demonstraram que o glifosato não afeta as atividades da fosfatase e da urease (DAVIES & GREAVES, 1981; LETHBRIDGE *et al.*, 1981), mas estimula a atividade da invertase (TU, 1982; GIANFREDA *et al.*, 1995).

A inibição da fosfatase pelo glifosato (SANNINNO & GIANFREDA, 2001), poderia ser atribuída à presença do grupo fosfórico na molécula do herbicida. Vários trabalhos já demonstraram que a fosfatase do solo é fortemente inibida pelo fosfato inorgânico e fertilizante fosfatado (SPEIR & ROSS, 1978; DICK, 1997).

Já o herbicida atrazina inibiu a atividade da invertase, quando comparado aos efeitos do metanol, porém, para urease, teve efeito consistente de ativação (61 a 10,217%) apenas com metanol e/ou para a mistura do agrotóxico com metanol (SANNINNO & GIANFREDA, 2001). Este efeito pode ser explicado pelo aumento significativo na permeabilidade da célula ou pela lise celular, e conseqüentemente aumento na acessibilidade das moléculas do substrato para a urease intracelular (GIANFREDA *et al.*, 1994). Resultados contraditórios foram observados para a fosfatase.

Já a aplicação de fungicidas, como o captam, inibiu as atividades da urease desidrogenase e fosfatase, proporcionalmente às doses aplicadas. Os diferentes níveis de inibição foram, aparentemente, decorrentes do fenômeno adsorção/dessorção e também ao efeito dos compostos e/ou seus metabólitos formados durante a incubação dos solos (PARAMA *et al.*, 1997). Da mesma forma, a adição de metalaxil e fenarimol afetou negativamente a atividade da desidrogenase, mas não demonstrou efeito adverso sobre a hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA) e atividade enzimática da fosfatase. Foi observado que o fenarimol foi mais tóxico que o metalaxil e que o efeito de ambos foi transitório no solo (SILVA *et al.*, 2005).

Resultados semelhantes, isto é, efeitos dependentes da dose, foram obtidos para os inseticidas organofosforados monocrotofós e quinalfós e para os piretróides sintéticos, cipermetrina e fenvalerato (RAGASWAMY *et al.*, 1994). A aplicação de quinalfós (acima de 5 kg ha⁻¹) ou monocrotofós (acima de 7,5 kg ha⁻¹) e cipermetrina

ou fenvalerato (acima de 10 kg ha^{-1}), aumentou a atividade da protease nos solos. No caso da desidrogenase, a aplicação dos inseticidas ao solo levou ao aumento inicial na atividade, mas ao final de cinco semanas de incubação, este efeito não foi mais observado. Ao contrário, a aplicação de turbufós, triazofos, tricloromato na concentração de 5 e $10 \mu\text{g g}^{-1}$, em solo orgânico, inibiu inicialmente a atividade da desidrogenase, mas ao final de duas semanas apresentou um efeito estimulatório (TU, 1981). De forma semelhante, o carbaril na concentração de 10 , 50 e $100 \mu\text{g g}^{-1}$ inibiu a atividade da desidrogenase em solos suplementados com glicose (NARAYANA RAO, 1988), mas um aumento significativo foi associado às baixas concentrações de inseticidas piretróides ($0,5$ e $5 \mu\text{g g}^{-1}$) (TU, 1980). Segundo Sanninno & Gianfreda (2001), as metodologias disponíveis para estudo de enzimas não discriminam entre os vários componentes que contribuem para a atividade enzimática total do solo. Conseqüentemente, é particularmente difícil explicar a modificação na atividade enzimática em resposta a um determinado fator, ou estabelecer a relação causa-resposta entre o fator aplicado e a variação obtida na atividade.

Entre os trabalhos citados na literatura são escassos os que enfocam o efeito de reguladores de crescimento na microbiota do solo. Silva *et al.* (2003) demonstram que a aplicação do regulador paclobutrazol ao solo pode interferir na atividade microbiana requerendo observações constantes quanto ao funcionamento de grupos importantes de microrganismos responsáveis por processos chaves, como a ciclagem de nutrientes. Conforme mostrado pelos autores, a aplicação deste produto em solos agrícolas pode afetar tanto a atividade enzimática microbiana (como demonstrado pela desidrogenase) como mais especificamente os fungos, evidenciado pela atividade de hifas fúngicas e conteúdo de ergosterol do solo. Embora a aplicação de paclobutrazol, nas doses recomendadas, tenha mostrado efeitos mínimos nas propriedades biológicas do solo, a sua aplicação seqüenciada, ao longo dos anos, deve ser considerada, principalmente em decorrência de sua alta persistência.

5. Considerações finais

Os ciclos biogeoquímicos e a adaptação dos microrganismos aos diferentes estresses do solo dependem da diversidade e das funções metabólicas da microbiota presente no solo. Portanto, no solo onde não há modificação em outros parâmetros químicos, um aumento numérico nas unidades formadoras de colônia de bactérias e fungos produzirá um desequilíbrio químico-biológico. Este se manifesta não somente em termos de população microbiana, mas também sobre a sua diversidade e altera o equilíbrio ecológico das interações entre populações e comunidades. A microbiota existente no solo que sofreu estresse ambiental, pode tolerar ou pode desenvolver mecanismos de resistência como a secreção de exopolissacarídeos, ativada por fatores desconhecidos no meio. O tipo de solo e suas características, bem como a climatologia, determinam a estrutura das populações microbianas e sua capacidade de responder ao impacto dos poluentes, como por exemplo, altas doses de substâncias tóxicas. O impacto ambiental na biologia do solo afeta fundamentalmente a biodiversidade e a sucessão das populações majoritárias de bactérias e fungos, mais do que a atividade

enzimática. As enzimas parecem manter, no solo que sofreu impacto ambiental, um nível de atividade básica. Normalmente, o aumento na atividade enzimática parece depender mais das características físico-químicas do nicho ecológico, onde os microrganismos residem, do que das características biológicas específicas do próprio solo. Atualmente, o solo sofre as conseqüências do super uso agrícola, levando à perda de nutrientes e estrutura e sua utilização para depósito de resíduos tóxicos. Esta intensificação de uso, com a acumulação de compostos, levam a uma série de modificações nas propriedades do solo, que tem repercussão na diversidade catabólica. Portanto, há necessidade de proteger e conservar o solo para assegurar as características físico-químicas e biológicas necessárias para manter o equilíbrio do sistema. Quando se fala em conceitos como qualidade, saúde, recuperação ou remediação dos solos, a atividade microbiológica desta matriz tem um papel importante. Sob ela depende a dissipação de vários contaminantes e a estimulação da degradação de compostos orgânicos. Assim, é importante conhecer a atividade microbiológica do solo quando se aplicam medidas de remediação ou quando se avalia o grau de desorganização do sistema solo.

Referências

- ABDEL-MALLEK, A.Y.; ABDEL-KADER, M.I.A.; OMAR, S.A. Effect of the herbicide fluzifop-butyl on fungal populations and activity in soil. **Water, Air and Soil Pollution**, v.86, p.151-157, 1996.
- ADRIANO, D.C. **Elements in the terrestrial environments: biogeochemistry, bioavailability and risk of metals**. New York: Springer, 2001. 866p.
- ALEXANDER, M. **Introduction to soil microbiology**. 2. ed. New York: Wiley, 1977. 225p.
- ALEXANDER, M.; SCOW, K.M. Kinetics of biodegradation in soil. In: SAWHNEY, B.L.; BROWN, K. **Reactions and movement of organic chemicals in soil**. Madison: SSSA: ASA, 1989. p.243-269 (SSSA Special Publication, 22).
- ALONSO, A.; SÁNCHEZ, P.; MARTÍNEZ, J.L. Environmental selection of antibiotic resistance genes. **Environmental Microbiology**, v.3, p.1-9, 2001.
- ANDERSON, J.R. Pesticide effects on non-target soil microorganisms. In: HILL, J.R.; WRIGHT, L. (Ed.). **Pesticide microbiology**. New York: Academic Press, 1978. p. 313-533.
- ANDREONI, V.; CAVALCA, L.; RAO, M.A.; NOCERINO, G.; BERNASCONI, S.; DELL'AMICO, E.; COLOMBO, M.; GIANFREDA L. Bacterial communities and enzyme activities of PAHs polluted soils. **Chemosphere**, v.57, n.5, p.401-412, 2004.
- ATLAS, R.M.; HOROWITZ, A.; KRICHEWSKI, M.; BEJ, A.K. Response of microbial populations to environmental disturbance. **Microbial Ecology**, v.22, p.249-256, 1991.
- BAATH, 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.
- BAATH, E.; DIAZ-RAVINA, M.; FROSTEGARD, A.; CAMPBELL, C. Effect of metal-rich sludge amendments on the soil microbial community. **Applied and Environmental Microbiology**, v.64, p.238-245, 1998.
- BANERJEE, A.; BANERJEE, A.K. Influence of captan on some microorganisms and microbial process related to the nitrogen cycle. **Plant and Soil**, v.102, p.239-246, 1987.
- BANU, N.A.; SINGH, B.; COPELAND, L. Influence of copper on soil microbial biomass and biodiversity in some NSW soils. In: AUSTRALIAN NEW ZEALAND SOILS CONFERENCE. 3., 2004. Sidney. **SuperSoil 2004**. Sidney: University of Sydney, 2004. 1 CD-ROM. Disponível em: www.regional.org.au/au/asssi/
- BARAN, S.; BIELINSKA, J.; OLESZCZUK, P. Enzymatic Activity in an airfiels soil polluted with polycyclic aromatic hydrocarbons. **Geoderma**, v.18, n.3-4, p.221-232, 2004.
- BEZDICEK, D.F.; PAPENDICK, R.I.; LAL, R. Importance of soil quality to health and sustainable land management. In: DORAN, J.W.; JONES, A.J. (Ed.). **Methods for assessing soil quality**. Madison: Soil Science Society of America, 1996. p.1-8.

- BJORNLUND, L.; EKELUND, F.; CHRISTENSEN, S.; JACOBSEN, C.S.; KROGH, P.H.; JOHSEN, K. Interactions between saprotrophic fungi, bacteria and Protozoa on decomposing wheat roots in soil influenced by the fungicide fenpropimorph [Corbel (R)]: a field study. **Soil Biology and Biochemistry**, v.32, p.967-975, 2000.
- BOLDT, T.S.; JACOBSEN, C.S. Different toxic effects of the sulphonylurea herbicides metsulfuron methyl, chlorsulfuron and thifensulfuron methyl on fluorescent pseudomonads isolated from an agricultural soil. **FEMS Microbiology Letters**, v.161, p.29-35, 1998.
- BOLLAG, J.M.; BARABASZ, W. Effect of heavy metals on the denitrification process in soil. **Journal of Environmental Quality**, v.8, p.196-201, 1979.
- BOOPATHY, R. Factors limiting bioremediation technologies. **Bioresource Technology**, v.74, p.63-67, 2000.
- BOUMA, C.L.; REIZER, J.; REIZEER, A.; ROBRISH, S.A.; THOMPSON, J. 6-phospho-alpha-D-glucosidase from *Fusobacterium mortiferum*: cloning, expression, and assignment to family 4 of the glycosylhydrolases. **Journal of Bacteriology**, v.179, p.4129-4137, 1997.
- BROOS, K.; BEYENS, H.; SMOLDERS E. Survival of rhizobia in soil is sensitive to elevated zinc in the absence of the host plant. **Soil Biology & Biochemistry**, v.37, p.573-579, 2005.
- BROWN, P.E.; MINGES, G.A. The effect of some manganese salts on ammonification and nitrification. **Soil Science**, v.1, p.67-85, 1916.
- BRYNHILDSEN, L.; LUNDGREN, B.V.; ALLARD, B.; ROSSWALL, T. Effects of glucose concentrations on cadmium, copper, mercury and zinc toxicity to a *Klebsiella* sp. **Applied and Environmental Microbiology**, v.54, p.1689-1693, 1988.
- BUCKLEY, D.H.; SCHMIDT, T.M. Diversity and dynamics of microbial communities in soils from agro-ecosystems. **Environmental Microbiology**, v.5, n.6, p.441-452, 2003.
- BURAUER, P.; BABMANN, F. Soils as filter and buffer for pesticides – experimental concepts to understand soil functions. **Environmental Pollution**, v.133, p.11-16, 2005.
- BURAUER, P.; WAISS, A.; FÜHR, F. Soil-bound residues. In: FÜHR, F.; HANCE, R.J.; PLIMMER, J.R.; NELSON, J.O. (Ed.). **The lysimeter concept**. Washington: American Chemical Society, 1998. p.177-188. (ACS Symposium Series, 699).
- CAMPBELL, J.I.A.; JACOBSEN, C.S.; SÆRENSEN, J. Species variation and plasmid incidence among fluorescent *Pseudomonas* strains isolated from agricultural and industrial soils. **FEMS Microbiology Ecology**, v.18, p.51-62, 1995.
- CARAVACA, F.; RÓLDAN, A. Assessing changes in physical and biological properties in a soil contaminated by oil sludges under semiarid Mediterranean conditions. **Geoderma**, v.117, p.53-61, 2003.
- CERNIGLIA, C.E.; MILLER, D.W.; YANG, S.K.; FREEMAN, J.P. Effects of a fluoro substituent on the fungal metabolism of 1-fluoronaphtalene. **Applied and Environmental Microbiology**, v.48, n.2, p.294-300, 1984.
- CHANDER, K.; BROOKS, P.C.; HARDING, S.A. Microbial biomass dynamics following addition of metal-enriched sewage sludges to a sandy loam. **Soil Biology and Biochemistry**, v.27, p.1409-1421, 1995.
- CHEN, S.-K.; EDWARDS, C.A.; SUBLER, S. Effects of fungicides benomil, captan and chlorothalomil on soil microbial activity and nitrogen dynamics in laboratory incubations. **Soil Biology and Biochemistry**, v.33, p.1971-1980, 2001a.
- CHEN, S.-K.; EDWARDS, C.A.; SUBLER, S. A microcosm approach for evaluating the effects of the fungicides benomyl and captan on soil ecological processes and plant growth. **Applied Soil Ecology**, v.18, p.69-82, 2001b.
- CHEW, I.; OBBARD, J.P.; STANFORTH, R.R. Microbial cellulose decomposition in soils from a rifle range contaminated with heavy metals. **Environmental Pollution**, v.111, p.367-375, 2001.
- COLEMAN, J.E. Structure and mechanism of alkaline phosphatase. **Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure**, v.21, p.441-483, 1992.
- DAS, A.C.; MUKHERJEE, D. Effect of insecticides on the availability of nutrients, nitrogen fixation, and phosphate solubility in the rhizosphere soil of rice. **Biology and Fertility of Soils**, v.18, p.37-41, 1994.
- DAS, A.C.; MUKHERJEE, D. Persistence of phorate and carbofuran in relation to their effect on the mineralization of C, N and P in alluvial soil. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v.61, p.709-715, 1998.
- DAS, A.C.; MUKHERJEE, D. Soil application of insecticides influences microorganisms and plant nutrients. **Applied Soil Ecology**, v.14, p.55-62, 2000.
- DAS, A.C.; CHAKRAVARTY, A.; SEN, G.; SUKUL, P.; MUKHERJEE, D. A comparative study on the dippidation and microbial metabolism of organophosphate and carbamate insecticides in orchaqualf and fluvaquent soils of West Bengal. **Chemosphere**, v.58, p.579-584, 2005.
- DAVIES, H.A.; GREAVES, M.P. Effects of some herbicides on soil enzymes activities. **Weed Research**, v.21, p.205-209, 1981.

- DICK, R.P. Soil enzymes activities as integrative indicators of soil health. In: PANKHURST, B.M.; DOUBE, B.M.; GUPTA, V.V.S.R. (Ed.). **Biological indicators of soil health**. Wallingford: CAB International, 1997. p.127-156.
- DOELMAN, P. Resistance of soil microbial communities to heavy metals. In: JENSEN, V.; KJOLLER, A.; SORENSEN, C.H. (Ed.). **Microbial communities in soil**. London: Elsevier, 1986. p.369-398.
- DONECHE, B.; SEGUIN, G.; RIBERAU-GAYON, P. Mancozeb effect on soil microorganisms and its degradation in soil. **Soil Science**, v.135, p.361-366, 1983.
- DORAN, J.W.; PARKIN, T.B. Defining and assessing soil quality. In: DORAN, J.W. (Ed.). Defining soil quality for sustainable environment. **Madison: SSSA: ASA, 1994. p.30-23. (SSSA Special Publication, 35).**
- DORAN, J. W.; ZEISS, M. R. Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality. **Applied Soil Ecology**, v.15, p.3-11, 2000.
- DU PLESSIS, K.R.; BOTHA, A.; JOUBERT, L.; BESTER, R.; CONRADIE, W.J.; WOLFAARDT, G.M. Response of the microbial community to copper oxychloride in acidic sandy loam soil. **Journal of Applied Microbiology**, v.98, p.901-909, 2005.
- DVORNIKOVA, T.P.; GRANATSKAYA, T.A.; FINKELSHTEIN, Z.I.; TOLOCHKINA, S.A.; PESTEREVA, N.S.; NESHINSKII, A.A. Behavior of Ridomil in soil and its effect on soil microflora. **Agrokhimiya**, v.11, p.116-118, 1988.
- DZOMBACK, D.A.; LUTHY, R.G. Estimating adsorption of polycyclic aromatic hydrocarbons on soils. **Soil Science**, v.137, p.292-308, 1984.
- EDWARDS, C.A. Assessing the effects of environmental pollutants on soil organisms, communities, processes and ecosystems. **European Journal of Soil Biology**, v.38, p.225-231, 2002.
- EDWARDS, C.A.; BATER, J.E. An evaluation of laboratory and field studies for the assessment of the environmental effects of pesticides. In: **Proceedings of the Brighton Crop Protection Conference on Pests and Diseases**, v.8C-3, p.963-968, 1990.
- EDWARDS, C.A.; BOHLEN, P.J. The effect of toxic chemicals on earthworms. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v.125, p.23-99, 1992.
- EDWARDS, C.A.; THOMPSON, A.R. Pesticides and the soil fauna. **Residue Reviews**, v.45, p.1-79, 1973.
- EHSCHMITT, K.; GRIFFITHS, B.S. Soil biodiversity and its implications for ecosystem functioning in a heterogeneous and variable environment. **Applied Soil Ecology**, v.10, p.201-215, 1998.
- EL FANTROUSSI, S.; VERSCHUERE, L.; VERSTRAETE, W.; TOP, E.M. Effect of phenylurea herbicides on soil microbial communities estimated by analysis of 16SrRNA gene fingerprints and community-level physiological profiles. **Applied and Environmental Microbiology**, v.65, p.982-988, 1999.
- ELLIS, R.J.; MORGAN, P.; WEIGHTMAN, A.J.; FRY, J.C. Cultivation-dependent approaches for determining bacterial diversity in heavy-metal-contaminated soil. **Applied and Environmental Microbiology**, v.69, p.3223-3230, 2003.
- ENGELEN, B.; MEINKEN, K.; VON WINTZINGERODE, F.; HEUER, H.; MALKOMES, H.P.; BACKHAUS, H. Monitoring impact of a pesticide treatment on bacterial soil communities by metabolic and genetic fingerprinting addition to conventional testing procedures. **Applied and Environmental Microbiology**, v.64, p.2814-2821, 1998.
- FAY, E.F.; SILVA, C.M.M.S.; MELO, I.S.; VIEIRA, R.F. Degradação do fungicida clorotalonil por *Arthrobacter* spp. **Fitopatologia Brasileira** (in press).
- FINE, P.; GRABBER, E.R.; YARON, B. Interactions with petroleum hydrocarbons: abiotic process. **Soil Technology**, v.10, p.133-153, 1997.
- FINKELSTEIN, Z.I.; GOLOVLEVA, L.A. effect of regular application of pesticides on nitrogen bacteria. **Zentralblatt für Mikrobiologie**, v.143, p.453-456, 1988.
- FLIEBACH, A.; REBER, H.H. Effects of long term sewage sludge applications on soil microbial parameters. In: HALL, J.E.; SAUERBECK, D.R.; L'HERMITE, P. (Ed.). **Effects of organic contaminants in sewage sludge on soil fertility, plants and animals**. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Community, 1992. p.184-192. (Document EUR14236).
- FLIEBACH, A.; MARTENS, R.; REBER, H.H. Soil microbial biomass and microbial activity in soils treated with heavy metal contaminated sewage sludge. **Soil Biology and Biochemistry**, v.26, p.1201-1205, 1994.
- FRANZLUEBERS, A.J.; ARSHAD, M.A. Soil microbial biomass and mineralizable carbon of water-stable aggregates. **Soil Science Society of American Journal**, v.4, p.1090-1097, 1997.
- FRITZE, H.; PERKIOMAKI, J.; SAARELA, U.; KATAINEN, R.; TIKKA, P.; YRJALA, K.; KARP, M. Effect of Cd-containing wood ash on the microflora of coniferous forest humus. **FEMS Microbiology Ecology**, v.32, p.43-51, 2000.

- GEVAO, B.; SEMPLE, K.T.; JONES, K.C. Bound pesticide residues in soils: a review. **Environmental Pollution**, v.108, p.3-14, 2000.
- GEVAO, B.; JONES, K.C.; SEMPLE, K.T.; CRAVEN, A.; BURAUDEL, P. Nonextractable pesticide residues in soil. **Environmental Science and Technology**, v.1, p.139-144, 2003.
- GIANFREDA, L.; BOLLAG, J.M. Influence of natural and anthropogenic factors on enzyme activity in soil. In: STOTSKY, G.; BOLLAG, J.M. (Ed.). **Soil biochemistry**. New York: Marcel Dekker, 1996. v.9, p.123-193.
- GIANFREDA, L.; SANNINO, F.; ORTEGA, N.; NANNIPIERI, N. Activity of free and immobilized urease in soil: effects of pesticides. **Soil Biology and Biochemistry**, v.26, p.777-784, 1994.
- GIANFREDA, L.; SANNINO, F.; VIOLANTE, A. Pesticide effects on activity of free, immobilized and soil invertase. **Soil Biology and Biochemistry**, v.27, p.1201-1208, 1995.
- GILLER, K.E.; McGRATH, S.P.; HIRSCH, P.R. Absence of nitrogen fixation in clover grown on soil subject to long term contamination with heavy metals is due to survival of only ineffective *Rhizobium*. **Soil Biology and Biochemistry**, v.21, p.841-848, 1989.
- 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.
- GRIFFITHS, B.S.; DIAZ-RAVINA, M.; RITZ, K.; McNICOL, J.W.; EBBLEWHITE, N.; BAATH, E. Community DNA hybridisation and %G+C profiles of microbial communities from heavy metal polluted soils. **FEMS Microbiology Ecology**, v.24, p.103-112, 1997.
- GROSSER, R.J.; FRIEDRICH, M.; WARD, D.M.; INSKEEP, W.P. Effect of model sorptive phases on phenanthrene biodegradation: different enrichment conditions influence bioavailability and selection of phenanthrene-degrading isolates. **Applied and Environmental Microbiology**, v.66, p.2695-2702, 2000.
- HAANSTRA, L.; DOELMAN, P. An ecological dose-resposta model approach to short- and long-term effects of heavy metals on arylsulphatase activity in soil. **Biology and Fertility of Soils**, v.11, p.18-23, 1991.
- HANEY, R.L.; SENSEMAN, S.A.; HONS, F.M.; ZUBERER, D.A. Effect of glyphosate on soil microbial activity and biomass. **Weed Science**, v.48, p.89-93, 2000.
- HARMSSEN, J. Possibilities and limitations of landfarming for cleaning contaminated soils. In: OLFENBUTTEL, R.F.H. (Ed.). **On-site bioremediation process for xenobiotic and hydrocarbons treatment**. Stoneham: Butterworth-Hetmann, 1991. p.255-272.
- HARRIS, P.A.; SCHOMBERG, H.H.; BANKS, P.A.; GIDDENS, J. Burning, tillage and herbicide effects on the soil microflora in a wheat-soybean double-crop system. **Soil Biology and Biochemistry**, v.27, n.2, p.153-156, 1995.
- HART, M.R.; BROOKES, P.C. Soil microbial biomass and mineralization of soil organic matter after 19 years of cumulative field applications of pesticides. **Soil Biology and Biochemistry**, v.12, p.1641-1649, 1996.
- HATTORI, H. Influence of heavy metals on soil microbial activities. **Soil Science and Plant Nutrition**, v.38, p.93-100, 1992.
- HOLM, L.; SANDER, C. An evolutionary treasure: unification of a broad set of amidohydrolases related to urease. **Protein**, v.28, p.72-82, 1997.
- HU, S.J.; VAN BRUGGEN, A.H.C.; GRÜNWARD, N.J. Dynamics of bacterial populations in relation to carbon availability in a residue amended soil. **Applied Soil Ecology**, v.13, p.21-30, 1999.
- INGHAM, E.R. Review of the effects of 12 selected biocides on target and non-target soil organisms. **Crop Protection**, v.4, p.3-32, 1985.
- INGRAM, E.R.; PARMELEE, R.; COLEMAN, D.C.; CROSSLEY JR., D.A. Reduction of microbial and faunal groups following application of streptomycin and captan in Georgia no-tillage agroecosystems. **Pedobiology**, v.35, p.297-304, 1991.
- KANALY, R.A.; HARAYAMA, S. Biodegradation of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by bacteria. **Journal of Bacteriology**, v.182, n.8, p.2059-2067, 2000.
- KANALY, R.A.; BARTHA, R.; WATANABE, K.; HARAYAMA, S. Rapid mineralization of benzo [a] pyrene by a consortium growing on diesel fuel. **Applied and Environmental Microbiology**, v.66, n.10, p.4205-4211, 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.
- KENNEDY, A.C. Bacterial diversity in agroecosystems. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.74, n.1, p.65-76, 1999.
- KHAN, M.; SCULLION, J. M. Microbial activity in grassland soil amended with sewage sludge containing varying rates and combinations of Cu, Ni and Zn. **Biology and Fertility of Soils**, v.30, p.202-209, 1999.
- KISS, S.; DRAGAN-BULARDA, M.; PASCA, D. Activity and stability of enzyme molecules following their contact with clay mineral surfaces. **Studia Universitatis Babeş-Bolyai. Biologia**, v.31, p.3-19, 1986.

- KNIGHT, B.; McGRATH, S.P.; CHAUDRI, A.M. Biomass carbon measurements and substrate utilization patterns of microbial populations from soils amended with cadmium, copper or zinc. **Applied and Environmental Microbiology**, v.63, p.39-43, 1997.
- KOZDRÓJ, J.; VAN ELSAS, J.D. Structural diversity of microorganisms in chemically perturbed soil assessed by molecular and cytochemical approaches. **Journal of Microbiological Methods**, v.43, p.197-212, 2001.
- KUNITO, T.; NAGAOKA, K.; TADA, M.; SAEKI, K.; SENOO, K.; OYAIZU, H.; MATSUMOTO, S. Characterization of Cu-resistant bacterial communities in Cu-contaminated soils. **Soil Science and Plant Nutrition**, v.43, p.709-717, 1997.
- LACEY, J. Actinomycetes in soils, composts and fodders. In: SYKES, G.; SKINNER, F.A (Ed.). **Actinomycetales: characteristics and practical importance**. London: Academic Press, 1973. p.231-251.
- LÄHDESMÄKI, P.; PIISPANEN, R. Degradation products and the hydrolytic enzyme activities in the soil humification process. **Soil Biology and Biochemistry**, v.20, p.287-292, 1988.
- LÄHDESMÄKI, P.; PIISPANEN, R. Soil enzymology: Role of protective colloid systems in the preservation of exoenzyme activities in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v.24, n.11, p.1173-1177, 1992.
- LAKZIAN, A.; MURPHY, P.; TURNER, A.; BEYNON, J.L.; GILLER, K.E. *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* populations in soils with increasing heavy metal contamination: abundance, plasmid profiles, diversity and metal tolerance. **Soil Biology and Biochemistry**, v.34, p.519-529, 2002.
- LANDI, L.; RENELLA, G.; MORENO, J.L.; FALCHINI, L.; NANNIPIERI, P. Influence of cadmium on the metabolic quotient, L-, D-glutamic acid respiration ratio and enzyme activity microbial biomass ratio under laboratory conditions. **Biology and Fertility of Soils**, v.32, p.8-16, 2000.
- LEAHY, J.G.; COLWELL, R.R. Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. **Microbiological Reviews**, v.54, p.305-315, 1990.
- LETHBRIDGE, G.; BULL, A.T.; BURNS, R.G. Effects of pesticides on 1,3-β-D-glucanase and urease activities in soil in the presence and absence of fertilizers, lime and organic materials. **Pesticide Science**, v.12, p.147-155, 1981.
- MALISZEWSKA-KORDYBACH, B.; SMRECZAK, B. Habitat function of agricultural soils as affected by heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons contamination. **Environment International**, v.28, p.719-728, 2003.
- MALISZEWSKA, W.; DEC, S.; WIERZBICKA, H.; WOZNIAKOWSKA, A. The influence of various heavy metal compounds on the development and activity of soil microorganisms. **Environmental Pollution**, v.37, p.195-215, 1985.
- MARGESIN, R.; SCHINNER, F. Bioremediation of diesel-oil-contaminated alpine soils at low temperature. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.47, p.462-468, 1997.
- MARGESIN, R.; WALDER, G.; SCHINNER, F. The impact of hydrocarbon remediation (diesel oil and polycyclic aromatic hydrocarbon) on enzyme activities and microbial properties of soil. **Acta Biotechnologica**, v.20, p.313-333, 2000a.
- MARGESIN, R.; ZIMMERBAUER, A.; SCHINNER, F. Monitoring of bioremediation by soil biological activities. **Chemosphere**, v.40, p.339-346, 2000b.
- MARIN, J.A.; HERNANDEZ, T.; GARCIA, C. Bioremediation of oil refinery sludge by landfarming in semiarid conditions: influence on microbial activity. **Environmental Research**, v.98, p.185-195, 2005.
- MÄRTENSSON, A.M. Effect of agrochemicals and heavy metals on fast-growing rhizobia and their symbiosis with small-seeded legumes. **Soil Biology and Biochemistry**, v.24, p.435-445, 1992.
- MARTINEZ-TOLEDO, M.V.; SALMERÓN, V.; RODELAS, B.; POZO, C.; GONZÁLEZ-LOPEZ, J. Effects of fungicide captan on some groups of soil microflora. **Applied Soil Ecology**, v.7, p.245-255, 1998.
- MATHUR, S.P.; SANDERSON, R.B. The partial inactivation of degradative enzymes by residual fertilizer copper in Histosols. **Soil Science Society of America Journal**, v.44, p.750-755, 1980.
- McGRATH, S.P.; BROOKES, P.C.; GILLER, K.E. Effects of potentially toxic metals in soil derived from past applications of sewage sludge on nitrogen fixation by *Trifolium repens* L. **Soil Biology and Biochemistry**, v.20, p.415-424, 1988.
- MEGHARAJ, M.; SINGLETON, I.; MCCLURE, N.C.; NAIDU, R. Influence of petroleum hydrocarbon contamination on microalgae and microbial activities in a long-term contaminated soil. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v.38, p.439-445, 2000.
- MINNICH, M.M.; McBRIDE, M.B. Effect of copper activity on carbon and nitrogen mineralization in field-aged copper-enriched soils. **Plant and Soil**, v.91, p.231-240, 1986.
- MOHN, W.W.; STEWART, G.R. Limiting factors for hydrocarbon biodegradation at low temperature in Arctic soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v.32, p.1161-1172, 2000.

- MONKIEDJE, A.; ILORI, M.O.; SPITELLER, M. Soil quality changes resulting from the application of the fungicides mefenoxam and metalaxil to a sandy loam soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v.34, p.1939-1948, 2002a.
- MONKIEDJE, A.; SPITELLER, M. Effects of the phenylamide fungicides, mefenoxam and metalaxil on the microbial properties of a sandy loam and a sandy clay soil. **Biology and Fertility of Soils**, v.35, p.393-398, 2002b.
- MOORMAN, T.B.; DOWLER, C.C. Herbicide and rotation effects on soil and rhizosphere microorganisms and crop yields. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.35, p.311-325, 1991.
- MORENO, J.L.; HERNANDEZ, T.; GARCIA, C. Effects of cadmium-contaminated sewage sludge compost on dynamics of organic matter and microbial activity in an arid soil. **Biology and Fertility of Soils**, v.28, p.230-237, 1999.
- MORENO, J.L.; GARCIA, C.; HERNANDEZ, T. Toxic effect of cadmium and nickel on soil enzymes and the influence of adding sewage sludge. **European Journal of Soil Science**, v.54, p.377-386, 2003.
- MURPHY, D.V.; SPARLING, G.P.; FILLERY, I.R.P. Stratification of microbial biomass C and N and gross mineralization with soil depth in two contrasting Western Australian agricultural soils. **Australian Journal of Soil Research**, v.36, p.45-55, 1998.
- MURTHY, N.B.K.; KALE, S.P.; RAGHU, K. Mineralization of ^{14}C -labelled rice straw in aerobic and anaerobic clay soils as influenced by insecticide treatment. **Soil Biology and Biochemistry**, v.23, p.857-859, 1991.
- NANNIPIERI, P. The potential use of soil enzymes as indicators of productivity, sustainability and pollution. In: PANKHURST, C.E.; DOUBE, B.M.; GUPTA V.V.S.R.; GRACE, P.R. (Ed.). **Soil biota management in sustainable farming systems**. Melbourne: CSIRO Publications, 1994. p.238-244.
- NARAYANA RAO, V.V.S. Effects of pesticides on ammonification. In: LAL, R. (Ed.). **Pesticides and nitrogen cycle**. Boca Raton: CRC Press, 1988. v.2, p.2-41.
- OBARD, J.P.; JONES, K.C. The use of the cotton-strip assay to assess cellulose decomposition in heavy metal-contaminated sewage sludge-amended soils. **Environmental Pollution**, v.81, p.173-178, 1993.
- OLSON, B.M.; LINDWALL, C.W. Soil microbial activity under chemical fallow conditions: effects of 2,4-D and glyphosate. **Soil Biology and Biochemistry**, v.23, p.1071-1075, 1991.
- OVERCASH, M.R.; PAL, D. **Design of land treatment system for industrial wastes: theory and practice**. Ann Arbor: Ann Arbor Science Publishers, 1979. p.159-219.
- PARAMA, V.R.R.; NAGARAJA, M.S.; SIDDARAMAPPA, R. Mineralization of urea-N and some soil enzymes in three captan treated soils. **Pesticide Research Journal**, v.9, n.2, p.169-174, 1997.
- PATNAIK, G.K.; KANUNGO, P.K.; MOORTHY, B.T.S.; MAHANA, P.K.; ADHYA, T.K.; RAO, V.R. Effect of herbicides on nitrogen fixation (C_2H_2 reduction) associated with rice rhizosphere. **Chemosphere**, v.30, p.339-343, 1995.
- PENNANEN, T.; FROSTEGARD, A.; FRITZE, H.; BAATH, E. Phospholipid fatty acid composition and heavy metal tolerance of soil microbial communities along two heavy metal-polluted gradients in coniferous forests. **Applied and Environmental Microbiology**, v.62, p.420-428, 1996.
- PICCOLO, A.; CONTE, P.; SCHEUNERT, I.; PACI, M. Atrazine interactions with soil humic substances of different molecular structure. **Journal of Environmental Quality**, v.27, p.1224-1333, 1998.
- PIERCE, F.J.; LARSON, W.E. Developing criteria to evaluate sustainable land management. In: KIMBLE, J.M. (Ed.). **Utilization of soil survey information for sustainable land use: Proceedings of the VIII International Soil Management Workshop**, 1993. Sacramento. p.7-14.
- PIGNATELLO, J.J.; XING, B. Mechanisms of slow sorption of organic chemicals to natural particles. **Environmental Science and Technology**, v.30, p.1-11, 1996.
- PIOTROWSKA-SEGET, Z.; CYCÓN, M.; KOZDRÓJ, J. Metal-tolerant bacteria occurring in heavy polluted soil and mine spoil. **Applied Soil Ecology**, v.28, p.237-246, 2005.
- RAMOS, M.L.G.; RIBEIRO, W.O.J. Effect of fungicides on survival on *Rhizobium* on seeds and the nodulation of bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Plant and Soil**, v.152, p.145-150, 1993.
- RANGASWAMY, V.; REDDY, B.R.; VENKATESWARLU, K. Activities of dehydrogenase and protease in soil as influenced by monocrotophos, quinalphos, cypermethrin and fenvalerate. **Agriculture, Ecosystem and Environment**, v.47, p.319-326, 1994.
- RATH, A.K.; RAMAKRISHNAN, A.K.; RATH, S.; KUMARASWAMY, K.; BHARATY, P.S.; SETHUNATHAN, N. Effect of pesticides on microbial biomass of flooded soil. **Chemosphere**, v.37, p.661-671, 1998.
- RATHBONE, K.; FUCHS, J.; ANDERSON, K.; KARTHIKEYAN, R.; NURHIDAYAT, N. Effects of PAHS on microbial activity and diversity in freshly contaminated and whatered soils. In: CONFERENCE ON HAZARDOUS WASTE RESEARCH, 1998. Honolulu. **Proceedings...** Honolulu, 1998. p.338-342.

- RAY, R.C.; RAMAKRISHNA, C.; SETHUNATHAN, N. Nitrification inhibition in a flooded soil by hexachlorocyclohexane and carbodifuran. **Plant and Soil**. v.56. p.165-168, 1980.
- REBECCHI, L.; SABATINI, M.A.; CAPPI, C.; GRAZIOSO, P.; VICARI, A.; DINELLI, G.; BERTOLINI, D. Effects of a sulphonylurea herbicide on soil microarthropods. **Biology and Fertility of Soils**. v.30. p.312-317, 2000.
- REEVES, D.W. The role of soil organic matter in maintaining soil quality in continuous cropping systems. **Soil and Tillage Research**. v.433. p.131-167, 1997.
- RENELLA, G.; REYES ORTIGOZA, A.L.; LANDI, L.; NANNIPIERI, P. Additive effects of copper and zinc on cadmium toxicity on phosphatase activities and ATP content of soil as estimated by the ecological dose (ED_{50}). **Soil Biology and Biochemistry**. v.35. p.1203-1210, 2003.
- RENELLA, G.; MENCH, M.; LANDI, L.; NANNIPIERI, P. Microbial activity and hydrolase synthesis in long-term Cd-contaminated soils. **Soil Biology and Biochemistry**. v.37. p.133-139, 2005a.
- RENELLA, G.; MENCH, M.; GELSOMINO, A.; LANDI, L.; NANNIPIERI, P. Functional ctivity and microbial community structure in soils amended with bimetallic sludges. **Soil Biology and Biochemistry**. v.37. p.1498-1506, 2005b.
- REVELLIN, C.; CANSON, B. de; CATROUX, G. Effect of a mixture of chlorpyrifos and lindane on the symbiosis of *Bradyrhizobium japonicum* and soybean (*Glycine max* (L.) Merril). **Pesticide Science**. v.36. p.69-74, 1992.
- ROANE, T.M. Lead resistance in two bacterial isolates from heavy metal-contaminated soils. **Microbial Ecology**. v.37. p.218-224, 1999.
- ROANE, T.M.; PEPPER, I.L. Microorganisms and metal pollutants. In: MAIER, R.M.; PEPPER, I.L.; GERBA, C.P. (Ed.). **Environmental microbiology**. San Diego: Academic Press, 2000. p.403-423.
- ROBERTSON, B.K.; ALEXANDER, M. Sequestration of DDT and dieldrin in soil: disappearance of acute toxicity but not the compounds. **Environmental Toxicology and Chemistry**. v.17. n.6. p.1034-1038, 1998.
- ROUCH, D.A.; LEE, B.T.D.; MORBY, A.P. Understanding cellular responses to toxic agents: A model for mechanism choice in bacterial metal resistance. **Journal of Indian Microbiology**. v.14. p.132-141, 1995.
- SANFORD, J.O. Straw and tillage management practices in soybean-wheat double cropping. **Agronomy Journal**. v.74. p.1032-1035, 1982.
- SANNINO, F.; GIANFREDA, L. Pesticide influence on soil enzymatic activities. **Chemosphere**. v.45. p.417-425, 2001.
- SAPOUNDJIEVA, K.; KOUZMANOVA, Y. **Pochnoznanie, Agrokhimiya; Rastitelna zachnhita**. v.22. n.6. p.35-38, 1987.
- SCHÄFFER, A. Pesticide effects on enzyme activities in the soil ecosystem. In: BOLLAG, J.M.; STOTZKY, G. (Ed.). **Soil biochemistry**. New York: Marcel Dekker, 1993. v.8. p.273-340.
- SCHINNER, F.; ÖHLINGER, R.; KANDELER, E.; MARGESIN, R. **Methods in soil biology**: Springer laboratory manual. Berlin: Springer, 1996. 426p.
- SHETTY, P.K.; MAGU, S.P. Metalaxyl effect on nitrogenase activity (acetylene reduction) and yield of mungbean (*Vigna radiata* (L.) wilzek). **Journal of Environmental Biology**. v.19. n.2. p.141-144, 2001.
- SHULA, A.K.; MISHRA, R.R. Influence of herbicides on microbial population and enzyme activity in potato (*Solanum tuberosum*) – field soil. **Indian Journal of Agricultural Sciences**. v.67. n.12. p.610-611, 1997.
- SILVA, C.M.M.S.; FAY, E.F. Efeito dos fungicidas metalaxil e fenarimol na microbiota do solo. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v.15. p.93-104, 2005.
- SILVA, C.M.M.S.; VIEIRA, R.F.; FAY, E.F.; OLIVEIRA, C. DE S. Efeito do paclobutrazol sobre a microbiota do solo. In: SILVA, C.M.M.S.; FAY, E.F. **Impacto ambiental do regulador de crescimento paclobutrazol**. Jaguaruina: Embrapa Meio Ambiente, 2003. (Documentos).
- SIMON-SYLVESTRE, G.; FOURNIER, J.C. Effects of pesticides on the soil microflora. **Advances in Agronomy**. v.31. p.1-92, 1979.
- SMRECZEK, B.; MALISZEWSKA-KORDYBUCH, B.; MARTYNIUK, S. Effect of PAHs and heavy metals on activity of soil microflora. In: BAVEYE, P.; BLOCK, J.C.; GONCHARUK, V.V. (Ed.). **Bioavailability of organic xenobiotics in the environment**. Dordrecht: Kluwer, 1999. p.377-380.
- SONG, H.G.; BARTHA, R. Effects of jet fuel spills on the microbial community of soil. **Applied and Environmental Microbiology**. v.56. p.646-651, 1990.
- SPEIR, T.W.; ROSS, D.F. Soil phosphatase and sulphatase. In: BURNS, R.G. (Ed.). **Soil enzymes**. London: Academic Press, 1978. p.197-250.
- STRINGFELLOW, W.T.; ALVAREZ-COHEN, L. Evaluating the relationship between the sorption of PAHs to bacterial biomass and biodegradation. **Water Research**. v.33. n.11. p.2535-2544, 1999.
- THIRUP, L.; EKELUND, F.; JOJENSEN, K.; JACOBSEN, K. Population dynamics of the fast-growing sub-populations of *Pseudomonas* and total bacteria, and their protozoan grazers, revealed by fenpropimorph treatment. **Soil Biology and Biochemistry**. v.32. p.1615-1623, 2000.

- TORSTENSSON, L. Behavior of glyphosate in soils and its degradation. In: GROSSBARD, E.; ATKINSON, D. (Ed.). **The herbicide glyphosate**. London: Butterworths, 1985. p.137-150.
- TU, C.M. Influence of five pyrethroid insecticides on microbial population and activity in soil. **Microbial Ecology**, v.5, p.321-327, 1980.
- TU, C.M. Effects of pesticides on activities of enzymes and microorganisms in a clay soil. **Journal of Environmental Science and Health**, v.B16, p.179-191, 1981.
- TU, C.M. Influence of pesticides on activities of invertase, amylase and level of adenosine triphosphate in organic soil. **Chemosphere**, v.11, p.909-914, 1982.
- TU, C.M. Effect of fungicides, captafol and chlorothalonil, on microbial and enzymatic activities in mineral soil. **Journal of Environmental Science and Health**, v.B28, p.67-80, 1993.
- USATAYA, A.S.; MERENYUK, G.V.; KATRUK, E.A. Biological activity of vineyard soils under the application of fungicides. **Bulletin Acad. Stiint Repub. Moldova Stiint Biol. Chim.**, v.6, p.40-42, 1993.
- VAN BEELEN, P.V.; DOELMAN, P. Significance and application of microbial toxicity tests in assessing ecotoxicological risks of contaminants in soil and sediments. **Chemosphere**, v.43, p.455-499, 1997.
- VIEIRA, R.F.; SILVA, C.M.M.S.; MAIA, A.H.N.; FAY, E.F. An appraisal of five methods for the measurements of the fungal population in soil treated with chlorothalonil. **Pest Management Science**, v.56, p.431-440, 2000.
- VYAS, S.C. **Non-target effects of agricultural fungicides**. Boca Raton: CRC Press, 1988. p.258-268.
- WARDLE, D.A.; PARKINSON, D. Effects of three herbicides on soil microbial biomass and activity. **Plant and Soil**, v.122, p.21-28, 1990.
- WARDLE, D.A.; PARKINSON, D. Influence of the herbicides 2,4-D and glyphosate on soil microbial biomass and activity: a field experiment. **Soil Biology and Biochemistry**, v.24, p.185-186, 1992.
- WEBER, J.B.; BEST, J.A.; GONESE, J.U. Bioavailability and bioactivity of sorbed organic chemicals. In: LINN, D.M. (Ed.). **Sorption and degradation of pesticides and organic chemicals in soil**. Madison: American Society of Agronomy; Soil Science Society of America, 1993. p.153-196.
- WILD, S.R.; JONES, K.C. Polynuclear aromatic hydrocarbons in the United Kingdom environment: a preliminary source inventory and budget. **Environmental Pollution**, v.88, n.1, p.91-108, 1995.
- YANG, Y.; CHEN, Y.X.; TIAN, G.M.; ZHANG, Z.J. Microbial activity related to N cycling in the rhizosphere of maize stressed by heavy metals. **Journal of Environmental Science-China**, v.17, p.448-451, 2005.
- YEATES, G.W.; ORCHANRD, V.A.; SPEIR, T.W.; HUNT, J.L.; HERMANS, M.C.C. Impact of pasture contamination by copper, chromium, arsenic and timber preservative on soil biological activity. **Biology and Fertility of Soils**, v.18, p.200-208, 1994.
- ZELLES, L.; SCHEUNERT, I.; KORTE, F. Side effects of some pesticides on non-target soil microorganisms. **Journal of Environmental Science and Health**, v.B20, p.457-488, 1985.