UFRRJ

INSTITUTO DE AGRONOMIA CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA CIÊNCIA DO SOLO

TESE

Avaliação de Áreas com Histórico de Contaminação no Solo na Floresta Nacional de Ipanema, SP

Rafael Nogueira Scoriza

2017



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO INSTITUTO DE AGRONOMIA CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA CIÊNCIA DO SOLO

AVALIAÇÃO DE ÁREAS COM HISTÓRICO DE CONTAMINAÇÃO NO SOLO NA FLORESTA NACIONAL DE IPANEMA, SP

RAFAEL NOGUEIRA SCORIZA

Sob orientação da Professora Maria Elizabeth Fernandes Correia

e co-orientação dos pesquisadores Alessandra de Carvalho Silva e José Paulo Sousa

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor**, no Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Ciência do Solo.

Seropédica, RJ Fevereiro de 2017

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Scoriza, Rafael Nogueira, 1987-

S423a

Avaliação de áreas com histórico de contaminação no solo na Floresta Nacional de Ipanema, SP / Rafael Nogueira Scoriza. - 2017.

79 f.: il.

Orientadora: Maria Elizabeth Fernandes Correia. Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Agronomia - Ciência do Solo, 2017.

1. Avaliação de risco ecológico. 2. Bifenilas policloradas. 3. Estande de tiro. I. Correia, Maria Elizabeth Fernandes, 1967-, orient. II Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Agronomia - Ciência do Solo III. Título.

É permitida a cópia parcial ou total desta tese, desde que seja citada a fonte.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO INSTITUTO DE AGRONOMIA CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA – CIÊNCIA DO SOLO

RAFAEL NOGUEIRA SCORIZA

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor**, no curso de Pós-Graduação em Agronomia, área de Concentração em Ciência do Solo.

Alessandra de Carvalho Silva. Dra. Embrapa Agrobiologia
Nelson Moura Brasil do Amaral Sobrinho. Dr. UFRRJ
Treison Product Brasil do l'initial socilimo. Bit o'i lita
Ricardo Gonçalves Cesar. Dr. UFRJ
Júlia Carina Niemeyer. Dra. UFSC

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer inicialmente minha família de origem e a que formei, pois me motivaram e são os principais motivos para este caminho de estudos que escolhi traçar. Em especial à minha esposa Renata, companheira que amo e com quem compartilhei algumas horas de conversa sobre esta tese, bem como nossa bebê Olga que a cada dia está mais esperta e nos dá orgulho.

À minha orientadora Maria Elizabeth que sempre me incentivou, deu liberdade, corrigiu e apoiou minhas decisões, me ensinando como ser um pesquisador e uma pessoa melhor. Ao meu co-orientador José Paulo com quem infelizmente passei poucas, mas que foram fundamentais para conseguir compreender esta linha de pesquisa que pretendo conduzir daqui em diante.

A todos do laboratório da fauna do solo com quem trabalhei (são muitas pessoas), principalmente a um cara de respeito chamado Roberto Silva, que mostra e inspira a todos como ser humilde e dedicado.

Ao programa de Pós-Graduação em Agronomia - Ciência do Solo pela estrutura e professores exemplares, que me proporcionou e a muitos a oportunidade de ter uma bolsa de estudo e realizar a grande conquista de obter o título de doutor.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos e a taxa de bancada.

Aos membros da banca com quem já aprendi muito através de conversas, congressos e artigo e sei que aprenderei ainda mais.

A todos os laboratórios e funcionários da Embrapa e da Universidade Rural que sempre foram solícitos em auxiliar no que era necessário.

A todos os colegas que ingressaram em 2013 com quem passei algumas horas nada fáceis de estudos para as disciplinas.

Aos amigos e vizinhos do alojamento da Embrapa com quem convivi.

Agradeço.

RESUMO GERAL

SCORIZA, Rafael Nogueira. **Avaliação de áreas com histórico de contaminação no solo na Floresta Nacional de Ipanema, SP.** 2017. 79f. Tese (Doutorado em Agronomia — Ciência do Solo). Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2017.

A contaminação, que geralmente é promovida por atividades antrópicas, está associada a diversos efeitos nocivos à saúde humana. Os efeitos sobre a biodiversidade são visados e atualmente de igual importância, principalmente quando afetam organismos chave, funções ecológicas e serviços ecossistêmicos benéficos ao homem. No Brasil muitos casos de contaminação do solo não são de conhecimento da população e da comunidade científica, ocorrendo predominantemente em áreas particulares. Com isso, a proposta de avaliar áreas com histórico de contaminação em uma unidade de conservação permite e facilita a implantação de conhecimentos e métodos poucos explorados no País, principalmente a avaliação de risco ecológico. Além disso, o apelo pela conservação da biodiversidade na unidade de conservação impulsiona e dirige o estudo para fins benéficos ao meio ambiente. No primeiro capítulo avalia-se uma área com histórico de contaminação do solo pelo vazamento de óleo ascarel, que estava contido em transformadores elétricos de uma subestação férrea. Entretanto a presença dos possíveis contaminantes levantados pelo histórico (bifenilas policloradas, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e mercúrio metálico) não foram confirmados por análises químicas do solo. Com isso, o objetivo do estudo foi avaliar o efeito de outros possíveis contaminantes sobre a biota do solo. Para isso atributos do ambiente e principalmente da comunidade de invertebrados do solo foram confrontados por análise de redundância, onde se verificou que 100% da variabilidade dos dados bióticos foram explicados pelos abióticos. Isto permite concluir que não há efeitos de contaminantes e inferir sobre a ausência destes no solo. O segundo capítulo aborda uma antiga cava de mineração de calcário que vem sendo usada para a formação e aperfeiçoamento de agentes ambientais, policiais e militares, principalmente para o treinamento de tiro. Entretanto sabe-se que esta atividade possui grande potencial de contaminação do solo por metais pesados, principalmente o chumbo. A avaliação do local foi baseada na avaliação de risco em tríade realizada em dez pontos (sendo um utilizado como referência) dispostos em transectos, onde se consideram evidências químicas, ecológicas e ecotoxicológicas em conjunto. A linha de evidência química evidenciou risco acima do aceito para áreas naturais (0,25), ocasionado pela presença de bário e chumbo potencialmente tóxicos aos organismos do solo. Na evidência ecológica a comunidade da mesofauna do solo elevou os valores de risco, onde todos os pontos investigados apresentaram valores acima de 0,25. Na ecotoxicologica houve variação entre os pontos, ocasionado principalmente pela diferença de sensibilidade dos organismos testes utilizados (Folsomia candida e Enchytraeus crypticus). Com isso, oito dos nove pontos investigados apresentaram risco superior ao aceito para áreas naturais, o que indica a necessidade de uma melhor compreensão dos efeitos causados pelos usos antrópicos da área dentro de uma unidade de conservação.

Palavras - chave: Avaliação de risco ecológico. Bifenilas policloradas. Estande de tiro.

GENERAL ABSTRACT

SCORIZA, Rafael Nogueira. **Evaluation of areas with soil contamination history in the Ipanema National Forest, SP**. 2017. 79p. Thesis (Doctor in Agronomy, Soil Science). Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2017.

Contamination, which is generally promoted by anthropic activities, is associated with a number of harmful effects on human health. The effects on biodiversity are targeted and currently of equal importance, especially when they affect key organisms, ecological functions and beneficial ecosystem services to man. In Brazil many soil contamination cases aren't known to the population and the scientific community, occurring predominantly in particular areas. With this, the proposal to evaluate areas with a history of contamination in a conservation unit allows and facilitates the implementation of knowledge and methods few explored in the country, mainly ecological risk assessment. In addition, the call for conservation of biodiversity in the conservation unit drives and directs the study for environmental purposes. In the first chapter we evaluate an area with a history of soil contamination by ascarel oil leakage, which was contained in electric transformers of a railway substation. However, the presence of the possible historical contaminants (polychlorinated biphenyls, polycyclic aromatic hydrocarbons and metallic mercury) were not confirmed by chemical analyzes of the soil. Thus, the objective of the study was to evaluate the effect of other possible contaminants on the soil biota. For this, attributes of the environment and of the community of invertebrates of the soil were confronted by analysis of redundancy, where it was verified that 100% of the variability of the biotic data were explained by the abiotic ones. This allows to conclude that there are no effects of contaminants and infer about their absence in the soil. The second chapter deals with an old limestone mining pit that has been used for the training and improvement of environmental, police and military agents, mainly for shooting training. However, it is known that this activity has great potential for soil contamination by heavy metals, especially lead. The evaluation of the site was based on the triad risk assessment carried out in ten points (one used as reference) arranged in transects, where chemical, ecological and ecotoxicological evidence are considered together. The chemical evidence line showed a risk above that accepted for natural areas (0.25), caused by the presence of potentially toxic barium and lead to soil organisms. In the ecological evidence, the community of soil mesofauna increased the risk values, where all points investigated presented values above 0.25. In the ecotoxicology there was variation between the points, caused mainly by the difference of sensitivity of the test organisms used (Folsomia candida and Enchytraeus crypticus). Thus, eight of the nine points investigated presented a higher risk than that accepted for natural areas, which indicates the need for a better understanding of the effects caused by the anthropic uses of the area within a protected area.

Key words: Ecological risk assessment. Polychlorinated biphenyls. Shooting range.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Principais Características Físicas e Químicas e Contaminação do Sol	
Bifenilas Policloradas.	3
2.2 Estandes de Tiro como Fonte de Contaminação de Metais Pesados no Solo	<i>6</i>
2.3 A Importância do Estudo de "Traits" em Collembola para a Avaliação d	le Risco
Ecológico.	8
3 CAPÍTULO I: AVALIAÇÃO DE EFEITOS TÓXICOS DE CONTAMIN	ANTES
BIODISPONÍVEIS NO SOLO DE SUBESTAÇÃO ELÉTRICA COM HISTÓRI	ICO DE
DERRAMAMENTO DE ÓLEO ASCAREL.	
3.1 RESUMO	
3.2 ABSTRACT	
3.3 INTRODUÇÃO	
3.4 MATERIAL E MÉTODOS	
3.4.1 Área de Estudo e Breve Histórico da Floresta Nacional de Ipanema	
3.4.4 Primeira Avaliação na Área da Subestação Elétrica Vanhagem	
3.4.5 Segunda Avaliação na Área da Subestação Elétrica Vanhagem	
3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
3.5.1 Primeira Avaliação na Área da Subestação Elétrica Vanhagem	30
3.5.2 Segunda Avaliação na Área da Subestação Elétrica Vanhagem	34
3.6 CONCLUSÕES	40
4 CAPÍTULO II: RISCO ECOLÓGICO E CRESCIMENTO INICIA	AL DE
LEGUMINOSA ARBÓREA EM MATERIAL DE SOLO DE ANTIGA ÁR	
MINERAÇÃO UTILIZADA COMO ESTANDE DE TIRO	
4.1 RESUMO	
4.2 ABSTRACT	
4.3 INTRODUÇÃO	
4.4 MATERIAL E MÉTODOS	
4.4.1 Área de Estudo	
4.4.2 Estratégia de Amostragem na Área	
4.4.3 Avaliação de Risco Ecológico	
4.4.4 Cálculo do Risco Ecológico	
4.4.5 Avaliação do Crescimento Inicial da Leguminosa <i>Albizia polycephala</i>	
4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	
4.5.1 Avaliação de Risco Ecológico	
4.5.2 Crescimento Inicial da Leguminosa <i>Albizia polycephala</i>	
4.6 CONCLUSÕES	
5 CONCLUSÕES GERAIS	
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65

1 INTRODUÇÃO GERAL

A contaminação é fato recorrente no Brasil e no mundo, ocasionada principalmente com o início da revolução industrial. Geralmente está associada a atividades antrópicas, como agricultura, processos industriais, transporte de combustíveis, dentre outros. Inicialmente a preocupação com os impactos dos contaminantes surgiu ao se perceber os efeitos nocivos à saúde humana, principalmente para os elementos mais tóxicos e de grande uso. A percepção sobre os efeitos sobre a biodiversidade passou a ter maior relevância quando percebeu-se sua associação com os processos e serviços ecossistêmicos que beneficiam o homem.

No Brasil o problema se magnifica, pois muitos dos casos de contaminação do solo não são de conhecimento da população e da comunidade científica. Isto ocorre principalmente pela precariedade ou inexistência de órgãos ambientais fiscalizadores, incapazes de levantar áreas já contaminadas e punir seus agentes, bem como monitorar áreas propensas à contaminação. Além disso, normalmente estes casos ocorrem em áreas particulares, o que restringe o acesso à pesquisa científica.

A "descoberta" do primeiro local de estudo abordado nesta tese, a subestação elétrica, foi possível graças a uma sequência de pesquisa: procura por locais contaminados em um mapa gerado pela Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB); a vivência na cidade onde se localiza a Floresta Nacional de Ipanema; e a um curto relato no plano de manejo da Floresta Nacional de Ipanema. Em visita à Flona, foram obtidas maiores informações a partir de um histórico documentado. Além disso, apenas através desta visita, obtiveram-se informações da segunda área de estudo, uma antiga cava de mineração utilizada como estande de tiro.

A importância da proposta de avaliar áreas com histórico de contaminação do solo em uma unidade de conservação se dá por três principais motivos: o exercício científico em aplicar conhecimentos e métodos de avaliação de áreas contaminadas, principalmente relacionadas ao risco ecológico decorrente; o apelo da conservação da biodiversidade (que é a proposta da unidade de conservação) em um dos poucos refúgios naturais do Estado; a maior facilidade de acesso a uma área contaminada, bem como sobre informações importantes do seu histórico.

No primeiro capítulo será avaliada uma área com histórico de contaminação do solo pelo vazamento de óleo ascarel, que estava contido em transformadores em uma das subestações elétricas abandonadas pela antiga Rede Ferroviária Federal após a falência da empresa. Este cenário possivelmente se repete em todas as subestações na linha férrea presentes nas cidades do interior do estado de São Paulo, o que aumenta a importância de se conduzir o estudo onde há um histórico documentado de contaminação. Apesar disto, no local em estudo não foram encontrados os contaminantes que podem ser previstos pelo histórico. Com isso, procurou-se investigar os efeitos da presença de outros possíveis contaminantes sobre a biota do solo, através da explicação da variabilidade dos dados biológicos por atributos abióticos.

O segundo capítulo aborda uma antiga cava de mineração de calcário, que encerrou as atividades em 2001. Adicionalmente, desde 2008, a área vem sendo usada para a formação e aperfeiçoamento de agentes ambientais, policiais e militares, principalmente para o treinamento de tiro. Entretanto, sabe-se que esta atividade é uma das principais causadoras de contaminação do solo por metais pesados, principalmente o chumbo. Com este estes usos (antigos e atuais) dentro de uma unidade de conservação, objetivou-se avaliar o a presença de contaminantes e o risco ambiental proveniente.

Um modelo conceitual de contaminação compondo estes dois casos de estudo é apresentado na Figura 1. Nele são apresentados as principais vias de exposição e os receptores visados de acordo com a realidade do local em estudo

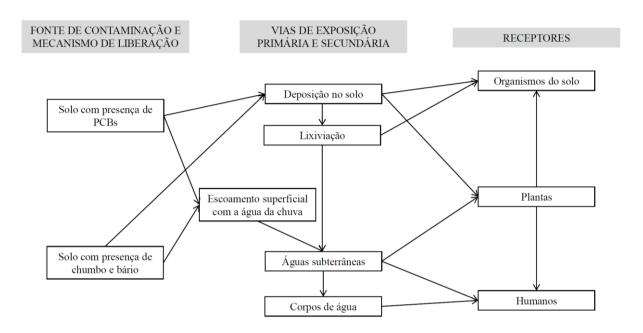


Figura 1. Modelo conceitual de contaminação e possíveis vias de exposição aos receptores para as áreas com histórico de contaminação na Floresta Nacional de Ipanema, SP.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Principais Características Físicas e Químicas e Contaminação do Solo pelas Bifenilas Policloradas

As bifenilas policloradas, ou no inglês polychlorinated biphenyls (PCBs) é um termo genérico para um grupo de compostos orgânicos clorados sintéticos, que compreende 209 diferentes congêneres (BEYER & BIZIUK, 2009; TU et al., 2011). Um componente comum em todos os compostos é o cloro, um dos mais abundantes elementos químicos no planeta (BEYER & BIZIUK, 2009). São produzidos pela cloração de bifenilas, que substitui os átomos de hidrogênio (BEYER & BIZIUK, 2009) formando um núcleo bifenílico com 1-10 átomos de cloro, apresentando a fórmula química genérica C₁₂H_{10-n}Cl_n (BORJA et al., 2005)(Figura 2). Os congêneros de substituição *orto* são facilmente degradados. Em contraste, os chamados coplanares (substituição não-ortho) e mono-orto são muito estáveis e resistentes à biodegradação e ao metabolismo, estando presentes em misturas comerciais (BEYER & BIZIUK, 2009).

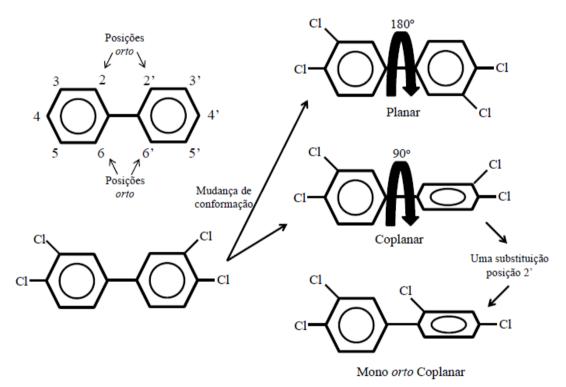


Figura 2. Estruturas características dos PCBs, representando as posições das possíveis substituições e as formas planar e coplanar.

Devido ao grande número de congêneres possíveis, as formulações de produtos contendo PCBs constituem-se de misturas com quantidade variável de átomos de cloro. Isto visa algumas características desejadas como baixa reatividade, alta estabilidade química, baixa solubilidade, recalcitrância à oxidação, alta constante dielétrica e elevada estabilidade térmica, o que proporciona numerosas aplicações nos setores industriais. Porém também os tornam persistentes e menos degradáveis no ambiente (PENTEADO & VAZ, 2001; BEYER & BIZIUK, 2009; XU et al., 2010).

Estima-se que devido ao grande emprego de PCBs, a produção mundial acumulada foi de aproximadamente 1.200.000 toneladas. Deste total, cerca de 60% foi utilizado em

transformadores e capacitores, 15% para fluídos de transferência de calor e 25% como aditivos na formulação de plastificantes, tintas, adesivos e pesticidas. Pode-se estimar que cerca de 40% entrou para o ambiente desde 1920. No Brasil não se tem registros da produção de PCBs, sendo todo o produto importado principalmente dos Estados Unidos e Alemanha (PENTEADO & VAZ, 2001).

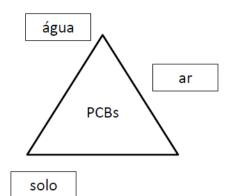
Com aumento de conhecimento de sua toxicidade, transferência e acumulação em organismos através da cadeia trófica, sua produção foi encerrada na maioria dos países (MACKOVA et al., 2009). No Brasil as restrições para seu uso foram implementadas através da Portaria Interministerial 19, de 2 de janeiro de 1981, que estabelece, entre outras coisas, a proibição de fabricação, comercialização e uso de PCBs em todo o território nacional (PENTEADO & VAZ, 2001). Apesar das proibições, consideráveis quantidades de PCBs podem ainda hoje estar armazenadas em depósitos ou contidass em aparelhos e equipamentos elétricos antigos (PENTEADO & VAZ, 2001; BORJA et al., 2005).

Dependendo do nível de exposição, a toxicidade dos congêneres individuais e seus efeitos interativos representam uma série de problemas ambientais e de saúde humana, devido a sua baixa degradabilidade biológica, química e fotólica, alta toxicidade e forte bioacumulação através da cadeia trófica, podendo ser cancerígenos e/ou mutagênicos (SAFE, 1992; CACHADA et al., 2009; TU et al., 2011). Estes compostos são visados pela Convenção de Estocolmo de Poluentes Orgânicos Persistentes, que objetiva seu fim em todo o mundo (WANG et al., 2010).

São considerados como os contaminantes ambientais mais proeminentes e difundidos em áreas urbanas e industriais, sendo a principal rota de transporte os sistemas aquáticos (BEYER & BIZIUK, 2009) onde são insolúveis (o que aumenta sua resistência à biodegradação e permanência nos corpos d'água por muitos anos), podendo ser utilizados para irrigação, transferindo o contaminante para o solo (BORJA et al., 2005; WANG et al., 2010). Acrescente-se a isso o fato da matéria orgânica do solo poder aumentar a acumulação dos PCBs neste compartimento por complexação, atuando como reservatórios destes compostos, possibilitando a contaminação da biota (PENTEADO & VAZ, 2001; HEYWOOD et al., 2006; YU et al., 2013).

Os PCBs voláteis evaporam e contaminam áreas muito maiores nas mais distantes partes do mundo (MACKOVA et al., 2009). Wang et al. (2009) constataram a presença de PCBs em locais de alta altitude, no planalto do Tibet na China, que não apresenta sinais de impactos antrópicos, verificando a capacidade de dispersão deste contaminante através do vento. As rotas mais importantes e prováveis de contaminação de PCBs ao ambiente são: acidente ou perda no manuseio; vaporização de componentes contaminados; vazamento em transformadores, capacitores ou trocadores de calor; vazamento de fluidos hidráulicos; armazenamento irregular de resíduos; fumaça decorrente da incineração; efluentes industriais e/ou esgotos despejados nos rios e lagos (PENTEADO & VAZ, 2001), como esquematizado na Figura 3.

- · Derramamentos acidentais de fluidos hidráulicos que contém PCB
- · Deposição inapropriada
- Transbordamento de esgoto combinado com carreamento pela chuva
- Escoamento e lixiviação de lama de esgoto, aplicado em áreas agricolas, contendo PCB
- Derramamentos e vazamentos acidentais
- Liberação do solo contaminado em aterros
- Deposição pela emissão veicular próximo à rodovia
- Aplicação do lodo de esgoto contendo PCBs



- Volatilização do solo e água
- Escape por aterros não controlados
- Incineração de resíduos contendo PCB
- Vazamento de equipamentos elétricos
- Deposição ou derramamento inapropriados
- · Queima de lixo
- Descarte industrial

Figura 3. Principais meios e mecanismos de contaminação por bifenilas policloradas (PCBs) no solo, água e ar. Fonte: traduzido de Beyer & Biziuk (2009).

As diretrizes de qualidade do solo do Canadá, para proteção do ambiente e saúde humana definem o valor de 1,3 mg kg⁻¹ de PCBs no solo como limite para áreas residenciais e parques e 0,5 para áreas agrícolas (CCME, 2007). A Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB, 2014) definiu os valores orientadores de PCBs para solo de área agrícola em 0,01, residencial em 0,03 e industrial em 0,12 mg kg⁻¹, definindo ainda como valor de referência 0,0003 mg kg⁻¹.

Como são baixos os valores a serem alcançados em áreas contaminadas, a busca por opções viáveis (economicamente e de execução) para remediação de PCBs permanece como um objetivo desejado (XU et al., 2010). Uma opção já conhecida é a escavação do solo e subsequente destruição por incineração ou armazenamento em aterros seguros (SLATER et al., 2011). A única forma de degradação conhecida é através da ação de bactérias e outros microrganismos, sejam aeróbios ou anaeróbios, embora não seja em taxas significativas (BORJA et al., 2005; BEYER & BIZIUK, 2009) por haver uma baixa população, ineficiência na degradação e/ou baixa biodisponibilidade dos PCBs (VASILYEVA et al., 2010). As bactérias podem co-metabilizar os PCBs oxidativamente, através da via de catabolismo (SYLVESTRE, 2013), utilizando os PCBs como fonte de carbono e energia resultante da redução de seus constituintes. Porém quando há degradação incompleta, há formação e acumulação de metabólicos que são mais tóxicos que a molécula inicial (BORJA et al., 2005). Tu et al. (2011) constataram que a bactéria *Sinorhizobium meliloti* desempenha um importante papel nesta biodegradação em culturas líquidas e no solo, podendo ser aplicada para a biorremediação de solos contaminados.

As estratégias de biorremediação baseadas somente no uso de bactérias degradadoras de PCBs não são viáveis, necessitando da associação com plantas que concentrariam este contaminante em sua zona rizosférica (SYLVESTRE, 2013). A rizoremediação é um método que explora a habilidade das raízes de certas plantas de promover o crescimento e atividade de populações de bactérias degradadoras (SLATER et al., 2011). A alfafa, quando inoculada com *Rhizobium* é capaz de remover PCBs na rizosfera de forma mais eficiente (XU et al., 2010).

Algumas espécies arbóreas também são capazes de ação rizoremediadora semelhante (SLATER et al., 2011)

Outros métodos de acelerar a remoção dos PCBs no solo também estão sendo estudados. A atividade de minhocas no solo auxilia na aeração, modificando o ambiente biótico e abiótico, aumentando a remoção de PCB em 65% (SINGER et al., 2001). O uso de biossólidos pode promover a extração de PCBs, dependendo do tempo de incubação, através da atividade da matéria orgânica (LEIVA et al., 2010). Exemplos são o uso do biochar e o carvão ativado, capazes de diminuir a biodisponibilidade dos PCBs no solo, promovendo sua remediação (VASILYEVA et al., 2010; DENYES et al., 2012).

Os organismos do solo são potencialmente afetados pelos PCBs despejados sobre o solo, abrangendo desde toxicidade aguda até muitos efeitos indiretos (EDWARDS, 2002). Alguns poluentes matam organismos do solo através da epiderme, apresentando, portanto, efeitos indiretos através da cadeia trófica, independente se são onívoros, carnívoros, dentritívoros, etc. (EDWARDS, 2002), pois podem acumular altas concentrações de PCBs, relativos à concentração desta substância no ambiente (BEYER & BIZIUK, 2009). Yu et al. (2013) constataram maiores efeitos em minhocas e larvas de coleópteros e menores em fitófagos como cigarras, gafanhotos e borboletas. A contaminação dos organismos do solo esteve associada, segundo os autores, ao hábito de vida no solo. Já os fitófagos foram contaminados por se alimentar de uma planta que bioacumulou este composto da água. Ainda segundo os autores invertebrados aquáticos emergentes, como libélulas, podem realocar quantidades consideráveis de PCBs para habitats terrestres, seja diretamente ou sofrendo predação por libélulas, aranhas, aves insetívoras e morcegos. Portanto os PCBs podem influenciar a funcionalidade ecológica de todos os níveis tróficos do sistema do solo.

2.2 Estandes de Tiro como Fonte de Contaminação de Metais Pesados no Solo

A prática de tiro esportivo, de treinamento ou caça é muito comum e difundida em diversos países. Porém isso ocasiona a deposição de grandes quantidades de chumbo no solo, pois este é o metal predominante na munição (CAO et al., 2003). Os possíveis impactos ambientais foram ignorados por muitos anos, por se considerar que o chumbo permaneceria inerte no solo (RODRÍGUEZ-SEIJO et al., 2016). Entretanto, hoje se sabe que esta atividade é uma grande fonte de poluição (LIN et al., 1995).

Nos estandes de tiro, a maior deposição das balas disparadas está no para-balas, que são barreiras construídas atrás dos alvos com o propósito de interromper sua trajetória (ASTRUP et al. 1999; SANDERSON et al., 2012; OKKENHAUG et al., 2016), concentrando a contaminação por chumbo em uma área restrita (CRAIG et al., 1999). Em alguns estandes de tiro, as balas são removidas manualmente desta estrutura (ASTRUP et al. 1999), entretanto esta estratégia pode não ser efetiva, já que geralmente as balas se fragmentam e pulverizam após o impacto, difundindo-se nas áreas ao redor (MOZAFAR et al., 2002; DUGGAN & DHAWAN, 2007). Além disso, a contaminação não se limita ao campo de tiro, pode chegar ao exterior da instalação por saída acidental do tiro, escoamento ou drenagem (RODRÍGUEZ-SEIJO et al., 2016).

O uso do chumbo para a confecção das balas deve-se à versatilidade e desempenho desejáveis (AHMAD et al., 2012). Este metal é largamente utilizado para este e outros fins, devido ao baixo custo, baixo ponto de fusão, fácil manuseio, maleabilidade e de lenta corrosão comparada com o ferro, sendo o segundo metal mais usado no mundo (SCHEUHAMMER & NORRIS, 1996; CRAIG et al., 1999). Devido a isso e a outras atividades como mineração e metalurgia (GUO et al., 2016), tornou-se o contaminante antropogênico mais comum do solo (ASTRUP et al. 1999). Devido à grande preocupação ambiental por sua toxicidade e efeitos adversos na saúde humana e no ecossistema (FAYIGA & SAHA, 2016), ocupa o segundo lugar na lista de substâncias tóxicas prioritárias da ATSDR

(Agency for Toxic Substances and Disease Registry) e USEPA (U.S. Environmental Protection Agency). Como consequência, seu uso já foi proibido e/ou reduzida à quantidade para algumas finalidades, como soldas, encanamentos, tintas, potes de armazenamento, louças e gasolina (SCHEUHAMMER & NORRIS, 1996).

Este metal é persistente no ambiente, ocorrendo sua liberação com a deposição das balas e/ou pela abrasão física no solo, onde os riscos tendem a aumentar com o tempo (LIN et al., 1995; HARDISON et al., 2004; SELONEN & SETALA, 2015). Quando a bala entra em contato com o solo e está exposta ao ar e a água, onde o chumbo elementar é transformado através da oxidação, carbonação e hidratação em espécies de Pb dissolvidas e particuladas (CAO et al., 2003; CHRASTNY et al., 2010). Com isso, as formas predominantes do chumbo no solo, muitas vezes incrustrados ao redor da bala, são carbonato (PbCO₃) (em condições de maior umidade) e sulfato (PbSO₄), sugerindo uma relativa solubilidade que é controlada principalmente pelo pH (MURRAY et al., 1997; CHEN & DAROUB, 2002; MA et al., 2007; AHMAD et al., 2012), o que acarreta em uma maior mobilidade no solo e consequentemente sua contaminação no ambiente (MA et al., 2007; FAYIGA & SAHA, 2016).

Além do chumbo, a atividade de tiro é fonte de contaminação para outros elementos, como o arsênio (As) e o antimônio (Sb) (SORVARI et al., 2006; ROBINSON et al., 2008; CHRASTNY et al., 2010; SANDERSON et al., 2012; OKKENHAUG et al., 2016), sendo estes mais móveis e solúveis que o chumbo em condições de pH neutro (EVANGELOU et al., 2012; SELONEN et al., 2012). Outras fontes de possíveis contaminantes pouco abordado são os resíduos de tiro, muito estudados na área forense para investigação de vestígios, decorrentes dos vapores produzidos pelo disparo das armas de fogo e que gradualmente condensam em partículas individuais, que contém elementos oriundos do cano (ferro), estojo (cobre, zinco, níquel), projétil (chumbo e antimônio) e principalmente do iniciador (normalmente chumbo, Ba e Sb) (MARTINY & PINTO, 2008; DIAZ et al., 2012).

Geralmente os estandes de tiro estão localizados em áreas isoladas, para garantir uma distância segura e reduzir a poluição sonora dos grandes centros humanos. Entretanto, com isso aproximam-se de áreas agrícolas e de florestas secundárias, habitat para um grande número de receptores ecológicos, causando contaminação nestes ambientes via atmosférica, precipitação ou deposição (BENNETT et al., 2007; SNEDDON et al., 2009; CHRASTNY et al., 2010; AHMAD et al., 2012; BANDARA & VITHANAGE, 2016). Uma vez depositado, o chumbo pode ser incorporado na matriz do solo e/ou ir para corpos hídricos através da infiltração ou carreamento promovido principalmente pela chuva ácida (LIN et al., 1995; CAO et al., 2003; DARLING & THOMAS, 2003; DUGGAN & DHAWAN, 2007; LUO et al., 2014b; FAYIGA & SAHA, 2016; RODRÍGUEZ-SEIJO et al., 2016)

Os metais depositados no solo não estão diretamente biodisponíveis, pois são adsorvidos em constituintes orgânicos e inorgânicos no solo como a matéria orgânica, óxidos de ferro e alumínio e minerais de argila, o que reduz sua solubilidade, lixiviabilidade e mobilidade (FAYIGA & SAHA, 2016; GUO et al., 2016). Com isso, a espécie do chumbo e as propriedades do solo são fatores importantes a serem considerados (SORVARI et al., 2006; AHMAD et al., 2012), principalmente quando há efeitos adversos para a biota. Dentre os atributos do solo, o pH é o fator mais importante já que controla a oxidação e a solubilidade do chumbo no solo (MANNINEN & TANSKANEN, 1993; ROONEY et al., 2007). Outros fatores importantes são a condutividade elétrica, conteúdo de matéria orgânica e a textura do solo (LUO et al., 2014b). Especificamente sobre a textura, sabe-se que em um solo ácido de caráter arenoso, o chumbo proveniente das balas é transformado em produtos solúveis, que podem ser móveis no solo. Em solos com pH elevado e/ou um alto teor de matéria orgânica, os produtos da transformação são apenas moderadamente solúveis, permanecendo nas camadas superiores do solo (JORGENSEN & WILLEMS, 1987).

A distribuição do chumbo no solo também é variável, tanto verticalmente nas camadas do solo como horizontalmente (FAYIGA & SAHA, 2016). Na camada superficial do solo, a contaminação por chumbo apresenta um padrão heterogêneo, com pequenas áreas afetadas, ocasionada principalmente pela distribuição aleatória da bala sobre o solo e a pequena capacidade de dispersão do metal no solo (CRAIG et al., 1999; LABARE et al., 2004; BENNETT et al., 2007). Mesmo assim, a migração do Pb no plano horizontal é mais significantiva que ao longo da coluna horizontal do solo (BENNETT et al., 2007; DUGGAN & DHAWAN, 2007), sendo a maior parte encontrada nos primeiros 10 cm (CHEN & DAROUB, 2002).

O chumbo pode levar a efeitos adversos no ecossistema do solo, principalmente pela transferência do metal através da cadeia trófica do solo superficial, alterado algumas funções como o processo de decomposição e a mineralização de nutrientes (MIGLIORINI et al., 2004; RANTALAINEN et al., 2006; SELONEN & SETALA, 2015; RODRÍGUEZ-SEIJO et al., 2017). Os invertebrados e plantas são os principais organismos a serem afetados pelo chumbo, pois são mais suscetíveis à bioacumulação deste metal em seus tecidos (JORGENSEN & WILLEMS, 1987; MANNINEN & TANSKANEN, 1993; ROONEY et al., 1999; DARLING & THOMAS, 2003; RANTALAINEN et al., 2006; ROBINSON et al., 2008; SELONEN et al., 2014). Inclusive considera-se a possibilidade de uma maior biodisponibilidade de chumbo ocasionada pela decomposição vegetal que absorveu anteriormente este metal (SELONEN et al., 2012), pois estimula a geração de formas ionizadas do metal, com mobilidade geoquímica.

Dentre os organismos do solo, já se observaram alguns efeitos da contaminação em estandes de tiro, principalmente ocasionados pelo chumbo. Alguns grupos de invertebrados do solo como Collembola, Protura e Diplura, considerados indicadores sensíveis a diversos contaminantes, mostraram diminuição da abundância nas áreas contaminadas por chumbo e antimônio (MIGLIORINI et al., 2004; MIGLIORINI et al., 2005; SELONEN et al., 2014). Em minhocas, observou-se efeito no seu crescimento e a bioacumulação em seus tecidos, o que potencialmente afeta toda a população (LUO et al., 2014b; RODRÍGUEZ-SEIJO et al., 2017). Para os microorganismos observaram-se efeitos negativos induzidos por chumbo em fungos saprofíticos (SELONEN & SETALA, 2015) e uma diminuição da atividade enzimática e biomassa microbiana do solo, impactando a estrutura e função da comunidade do solo e do ecossistema (LEE et al., 2002).

2.3 A Importância do Estudo de "Traits" em Collembola para a Avaliação de Risco Ecológico

A avaliação de risco ecológico pode ser definida como a probabilidade de um determinado contaminante causar efeito prejudicial ao ambiente, podendo ser prospectiva (efeito antes da contaminação) ou perspectiva (estimando as mudanças na população ou ecossistema) (SOUZA, 2005; JENSEN et al., 2006; LANGE et al., 2010; VAN DEN BRINK et al., 2011). No caso dos estressores serem substâncias químicas contaminando o solo, a avaliação visa determinar a probabilidade e extensão do efeito adverso ocorrido no sistema ecológico, com o objetivo final de proteção em longo prazo das populações, comunidades e ecossistemas (LANGE et al., 2010; RUBACH et al., 2011), Para isso são mensurados parâmetros ecológicos a diferentes profundidades no solo, incluindo grupos de organismos e níveis biológicos (NIEMEYER et al., 2012),

A avaliação de risco ecológico é capaz de expressar efeitos em função da exposição a estressores, sendo aplicada como suporte para o registro de pesticidas, estabelecimento de padrões de qualidade do ar e da água, remediação de áreas de disposição de resíduos perigosos, entre outras, o que possibilita a escolha de ações e tomadas de decisão com alto nível de confiança (RODRIGUES et al., 2011). Para uma avaliação por agentes químicos são necessárias, entre outras, informações ecotoxicológicas (efeito do químico e condições de

exposição) e ecológicas (características bióticas e abióticas do sistema potencialmente exposto) (Figura 4). Estes fatores juntos determinam a totalidade dos efeitos *in situ* no ecossistema e em cada componente.

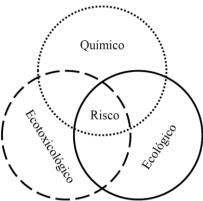


Figura 4. Esquema da tríade de informações necessárias para a avaliação de risco ecológico. Fonte: Jensen & Mesman (2006).

Neste contexto, os indicadores ecológicos são vistos como descritores eficientes, usados para avaliar o estado do ambiente e para monitorar tendências dessa condição ao longo do tempo, sendo o objetivo determinar a resposta de uma população ao incremento da exposição (LANGE et al., 2010; RODRIGUES et al., 2011). Entre os invertebrados, os colêmbolos são potenciais indicadores, pois a maioria das espécies possui ciclo de vida curto e alguns apresentam altas densidades nos ecossistemas terrestres (GREENSLADE & VAUGHAN, 2003). Em ambientes fortemente perturbados ou que estão se desenvolvendo pela sucessão, as espécies de colêmbolos podem ser diferentes das presentes em uma comunidade clímax (HOPKIN, 1997). Mudanças nas condições climáticas, atividades de reflorestamento (SOUSA et al., 2003), diversidade de uso do solo na paisagem (PONGE et al., 2003) e mudanças na umidade e pH do solo (LAUGA-REYREL & DECONCHAT, 1999) são outros fatores que podem ser avaliados através destes organismos. Além disso, sabe-se que os colêmbolos são muitos sensíveis a vários contaminantes do solo (CROUAU et al., 1999).

A palavra Collembola deriva de colla (do Latim) ou kolla (do Grego) que significa "cola, adesivo, grude" e de embolon (Latim) ou embolou (Grego) que significa "embolo, ferrolho, alavanca". São artrópodes com um tamanho que pode variar de 0,2 a 3 mm. Não possuem asas, apresentam apêndices abdominais particulares e a tagmose do corpo semelhante ao dos insetos (ZEPPELINI FILHO & BELLINI, 2004). É formado por, pelo menos, quatro grupos distintos que podem ser classificados como ordens. Os dois grupos mais basais, Poduromorpha e Entomobryomorpha, apresentam corpo alongado e os dois grupos mais derivados, Neelipleona e Symphypleona, apresentam corpo globoso com fusão de segmentos. Existem mais de 7500 espécies descritas de colêmbolos, incluídos em cerca de 600 gêneros de 30 famílias distintas, em todo o mundo. O número total de colêmbolos atualmente registrados no Brasil é 209 espécies, distribuídas em 19 famílias e 82 gêneros (ZEPPELINI FILHO & BELLINI, 2004). A densidade dos Collembola pode chegar a vários milhões de indivíduos por metro quadrado e a riqueza de espécies de 1-3 a 50-60 espécies em um ecossistema (RUSEK, 1998). São encontrados em todos os biomas terrestres, incluindo topo de montanhas, regiões polares, desertos, cavernas e ambientes aquáticos. Os principais fatores que influenciam sua distribuição e localização são alimento, temperatura e a porosidade do solo (GREENSLADE, 1991), sendo o conhecimento destes e outros fatores necessário para entender a distribuição das espécies, tanto na escala local ou regional (AUCLERC et al., 2009).

Em relação à cadeia alimentar, muitas espécies alimentam-se principalmente de microrganismos associados à rizosfera e com material orgânico em decomposição (GREENSLADE, 1991; HOPKIN, 1997). São primariamente detritívoros e microbívoros, alimentando-se de hifas de fungos e outros materiais em decomposição, importantes fontes de recursos para seu crescimento e reprodução. Junto com os nematóides, são uns dos maiores agentes biocontroladores da população microbiana (JORGENSEN et al., 2008; JEFFERY et al., 2010). Os colêmbolos também servem de presa para diversos animais em diferentes etapas de seu desenvolvimento (BILDE et al., 2000; ZEPPELINI FILHO & BELLINI, 2004). Além do papel trófico, estes organismos exercem influência na formação da microestrutura do solo em solos pouco desenvolvidos e em estágios iniciais de desenvolvimento (RUSEK, 1998; GREENSLADE, 1991).

A biodiversidade dos colêmbolos normalmente é estimada usando índices baseados na composição taxonômica de comunidade ou ecossistema em estudo (ODUM & BARRETT, 2011), o que pode não apresentar respostas ao dano ecológico provocado por um estressor específico (SCHAFER et al., 2011), já que a biodiversidade pode incluir também componentes funcionais das comunidades (VANDERWALLE et al., 2010). Neste enfoque, deve-se entender que a estrutura da forma de vida e as interações intraespecíficas são importantes parâmetros para as comunidades de colêmbolos(RUSEK, 1998; EISENHAUER et al., 2011). Segundo Rusek (1998) algumas formas de vida são restritas a diferentes estratos verticais do ecossistema, o que pode ser observado pela especialização no aparelho bucal.

Baseados nisto, alguns autores constataram que é possível selecionar algumas características ou atributos fenotípicos, fisiológicos, morfológicos e ecológicos presentes em todos os indivíduos que exercem o mesmo papel funcional ou ocupam o mesmo nicho ecológico, mesmo que sejam de diferentes espécies (BAIRD et al., 2008; VAN DEN BRINK et al., 2010; BAIRD et al., 2010; RUBACH et al., 2011). Estas características são denominadas *traits*, que podem estar relacionadas com uma função (*traits* funcionais), resposta a pressões (*traits* de resposta), e processos ou serviços do ecossistema (*traits* de efeito) (BELLO et al., 2010).

Enquanto a taxonomia pode ser considerada como uma expressão de alto nível da composição genética dos organismos, os *traits* podem ser a sua consequência funcional. Vistos como um mecanismo promissor, seu uso é recomendado quando se pretende achar e entender padrões de resposta na comunidade, os mecanismos subjacentes, (VAN STRAALEN, 1994; HEDDE et al., 2012) o efeito específico de um estressor e para separar efeitos de múltiplos estressores (LIESS et al., 2008; STATZNER & BECHE, 2010). Para a avaliação de risco ambiental, os *traits* podem determinar sua performance no ambiente, prevendo o potencial de resposta das espécies ao estresse ambiental (DOLÉDEC et al., 1999). Tradicionalmente utilizado na Ecologia, especialmente no caso das plantas (CORNELISEEN et al., 2003), apresenta varias subdivisões no nível de organização, objeto de interesse e componentes inerentes (VIOLLE et al., 2007) (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1. Denominação do *trait* de acordo com o nível de organização, objeto de interesse e componentes inerentes. Fonte: Violle et al. (2007)

=				
Nível de Organização	Objeto de interesse	Componentes inerentes	Exemplos de traits	
		Crescimento	Traits Ecofisiológicos	
Individuo	Aptidão individual	Fecundidade	<i>Traits</i> de história de vida	
		Sobrevivência		
		Nascimento e morte		
População	Taxa finita de aumento	Imigração	<i>Traits</i> demográficos	
		Emigração	demograneos	
Commidado	Estrutura e dinâmica da	Ocorrência	Traits de	
Comunidade	comunidade	Frequência	resposta	
		Propriedades do ecossistema		
Ecossistema	Funcionalidade do Ecossistema	(fluxo de energia e ciclagem de	Traits de efeito	
		nutrientes)		

Tabela 2. Definição dos principais *traits* utilizados em estudos ecológicos. Fonte: Violle et al. (2007).

Termo	Definição
Traits	Qualquer característica morfológica, fisiológica ou fenotípica mensurável no nível individual, de uma célula até todo o organismo, sem referência ao ambiente ou qualquer outro tipo de organização
Traits Funcionais	Qualquer <i>trait</i> que cause um impacto indireto na capacidade de crescimento, reprodução e sobrevivência
Traits de perfomance	Mensuração direta do desempenho do indivíduo no crescimento, reprodução, etc
Traits de resposta	Qualquer <i>trait</i> que possa ser atribuído a uma resposta a mudanças nas condições ambientais
Traits de efeito	Qualquer <i>trait</i> que reflita as condições ambientais ou as propriedades da comunidade e ecossistema

Alguns autores avaliaram *traits* em colêmbolos com distintas finalidades. Em relação à condições climáticas, Ellers & Driessen (2011) demonstraram experimentalmente que a temperatura induz uma interação genotípica em determinados *traits* (taxa de desenvolvimento, tamanho dos ovos e crescimento de juvenis) em determinados colêmbolos, sugerindo que a variação fenotípica responde rapidamente à seleção sobre condições naturais. Lindberg & Bengtsson (2005) constataram que *traits* de história de vida e características ecológicas de colêmbolos são influenciados por condições de seca, sendo que espécies partenogênicas e espécies generalistas são mais afetadas que espécies de reprodução sexuada e com habitats restritos, porém as partenogênicas voltam ao seu padrão inicial mais rapidamente. Para Brown et al. (2004), a força da resposta da temperatura em muitos *traits*, como taxa de crescimento, e época de desenvolvimento depende principalmente da mudança induzida na taxa metabólica.

Em relação ao tipo de ambiente e impactos, Malmstrom (2012), ao avaliar o efeito do fogo em uma área de floresta sobre a comunidade de colêmbolos, constatou que nos primeiros 2 anos após a queima da área, foram encontrados apenas indivíduos que viviam nas camadas subterrâneas do solo, de reprodução assexuada e com baixa capacidade de dispersão. Salmon & Ponge (2012) e Ponge et al. (2006) constataram que ambientes de pastagem são habitats

epigéicos, caracterizados por *traits* adaptados a vida na superfície como grande tamanho, alta mobilidade (pernas e fúrcula mais longas), antenas longas, ocelos mais desenvolvidos, proteção contra desidratação, cores fortes e reprodução sexuada. Em contraste, em áreas florestais e habitats endogéicos são mais caracterizados por *traits* associados com vida subterrânea: pequeno tamanho, pequenas pernas, pouca proteção contra desidratação, ocelos pouco desenvolvidos, fuga de predadores utilizando excreta tóxica e reprodução partenogênica. Em relação à cadeia trófica, Stam et al. (1996) constatou experimentalmente que colêmbolos da espécie *Folsomia candida* apresentam *traits* diferentes decorrentes da sua alimentação. Assim, os indivíduos alimentados com fermento cresceram mais rápido, iniciaram a reprodução mais cedo, produziram grandes garras e além disso apresentaram maior tamanho que animais alimentados com pólen ou esporos fúngicos.

3 CAPÍTULO I:

AVALIAÇÃO DE EFEITOS TÓXICOS DE CONTAMINANTES BIODISPONÍVEIS NO SOLO DE SUBESTAÇÃO ELÉTRICA COM HISTÓRICO DE DERRAMAMENTO DE ÓLEO ASCAREL

3.1 RESUMO

Em uma subestação férrea elétrica, que foi desativada em 2001, há um histórico de derramamento de 40 mil litros de óleo ascarel no solo, além da presenca de mercúrio metálico. Entretanto em uma avaliação confirmatória não se detectou quimicamente a presença de possíveis contaminantes como as bifenilas policloradas (PCBs) e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs). Além disso os níveis dos metais pesados estavam abaixo dos valores de referência estabelecidos para o Estado. Como analisar quimicamente outros possíveis contaminantes se torna altamente custoso e inviável, o objetivo deste estudo é avaliar de o efeito de sua possível presença, através do poder de explicação da variabilidade de dados da mesofauna do solo e de ensaios ecotoxicológicos pela caracterização do ambiente. A subestação localizada na Floresta Nacional de Ipanema, em São Paulo está em um ambiente com múltiplos usos do solo e coberturas vegetais. No local foi definido um grid de coleta de 40×40 m, onde as interseções das linhas definiram os pontos de amostragem. Na primeira etapa foram realizadas a caracterização física e química solo em todos os pontos. Como variáveis biológicas caracterizou-se a comunidade da mesofauna do solo e coletaram-se amostras para realizar ensaios ecotoxicológicos com Enchytraeus crypticus. Na segunda etapa, foram selecionados nove pontos em áreas florestais e dez pontos em área de pasto homogêneo. Nestes foram avaliados atributos ambientais como: físicos e químicos do solo, caracterização ambiental, do estoque de serrapilheira (nas áreas florestais) e da comunidade da mesofauna do solo. Para o grupo Collembola, além da identificação em família, avaliaramse traits funcionais de dispersão. Na primeira etapa a mesofauna mostrou-se influenciada por alguns atributos do solo, que em seu conjunto explicaram 75,5 % da variabilidade nos pontos de floresta secundária e 84,8 % nos pontos de pasto arborizado. A variabilidade dos resultados do ensaio com E. crypticus foi pouco explicada pelas características físicas e químicas do solo, possivelmente pela tolerância desta espécie a grandes variações nos atributos do solo. Isto gerou fortes indícios da não biodisponibilidade de possíveis contaminantes do solo. Na segunda etapa, Os grupos Acari, Entomobryomorpha e Protura foram os mais abundantes na área de estudo, principalmente nas áreas florestais comparadas às de pasto. Mesmo em um ambiente degradado, a variabilidade dos dados da mesofauna foi totalmente explicada pelos atributos ambientais, o que aponta para uma inter-relação natural entre atributos bióticos e abióticos, o que não se espera quando há a influência de contaminantes. Com isso, através desta via de avaliação, pode-se confirmar a ausência de contaminantes ou sua não biodisponibilidade para a área de estudo.

Palavras-chave: Ascarel. Bifenilas policloradas. Contaminação do solo. Biota do solo.

3.2 ABSTRACT

In an electric substation, which was deactivated in 2001, there is a history of spilling 40,000 liters of ascarel oil in the soil, in addition to the presence of metallic mercury. However, in a confirmatory evaluation, the presence of possible contaminants such as polychlorinated biphenyls (PCBs) and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) were not chemically detected. In addition, the levels of heavy metals were below the reference values established for the State of São Paulo. The objective of this study is to evaluate the effect of its possible presence, through the power of explanation of the data variability of soil mesofauna and of ecotoxicological tests by characterization of the environment. The substation located in the Ipanema National Forest in São Paulo is in an environment with multiple uses of the soil and vegetation cover. At the site a collection grid of 40 × 40 m was defined, where the intersections of the lines defined the sampling points. In the first stage were carried out the physical and chemical characterization soil at all points. As biological variables the soil mesofauna community was characterized and samples were collected to perform ecotoxicological tests with Enchytraeus crypticus. In the second stage, nine points were selected in forest areas and ten points in a homogeneous pasture area. Environmental attributes such as: soil physical and chemical characteristics, environmental characterization, litter stock (in forest areas) and soil mesofauna community were evaluated. For the Collembola group, in addition to the family identification, functional traits of dispersion were evaluated. In the first stage the mesofauna was influenced by some attributes of the soil, which together explained 75.5% of the variability in the points of secondary forest and 84.8% in the points of wooded pasture. The variability of the results of the test with E. crypticus was little explained by the physical and chemical characteristics of the soil, possibly due to the tolerance of this species to large variations in soil attributes. This generated strong evidence of non-bioavailability of possible soil contaminants. In the second stage, the groups Acari, Entomobryomorpha and Protura were the most abundant in the study area, mainly in the forest areas compared to grass. Even in a degraded environment, the variability of mesofauna data was fully explained by the environmental attributes, which points to a natural interrelationship between biotic and abiotic attributes, which is not expected when there is the influence of contaminants. Thus, through this evaluation route, the absence of contaminants or their non-bioavailability can be confirmed for the study area.

Key words: Ascarel. Polychlorinated biphenyls. Soil contamination. Soil biota.

3.3 INTRODUÇÃO

A identificação e o gerenciamento de áreas contaminadas no Brasil são feitos através de uma avaliação preliminar (que considera o levantamento do histórico da utilização da área e inspeção de campo) e uma investigação confirmatória, por amostragem do solo para realização de análises químicas. Em seguida, deve ser feita a interpretação dos resultados através da comparação dos valores de concentração obtidos com os estabelecidos em listas padrões (CONAMA, 2009; CETESB, 2014).

Este procedimento foi aplicado em uma subestação de energia elétrica desativada, onde o histórico relata o vazamento de 40 mil litros de óleo contendo ascarel, em 2001, dentro dos limites territoriais de uma Floresta Nacional. Esta área era propriedade da extinta Rede Ferroviária Federal S/A – RFFSA (MMA/IBAMA, 2003; ALMEIDA et al., 2007). Segundo documentos da época da contaminação, detectou-se a presença de bifenilas policloradas (PCBs) no solo, além de mercúrio metálico. Ao proceder a avaliação química confirmatória, também requeridos pelo guia de gerenciamento (CONAMA, 2009), não detectou-se a presença de PCBs (IT 06-07.141 ver.01), outros contaminantes provenientes de óleos minerais (como os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) (SW-846 Update IVA) e os níveis dos metais pesados (SMWW 3120 B) estavam abaixo do valor de referência de qualidade (CETESB, 2014). Com isso, a partir destes resultados, não há ações adicionais a serem tomadas.

Entretanto, por se tratar de uma Floresta Nacional, que tem como função geral contribuir para a manutenção da diversidade biológica e dos recursos genéticos, preservação e restauração da diversidade de ecossistemas naturais (BRASIL, 2000), é de grande interesse que se esgote todas as possibilidades de contaminação do solo. A suspeita da existência de outros possíveis contaminantes não investigados se baseia nas afirmações feitas por Plaza et al. (2010) e Fernández et al. (2005), que enfatizam que a análise química é feita isoladamente para cada elemento contaminante e há casos que o elemento tóxico não é visado na avaliação química, como alguns metabólitos e derivados de bioprodutos, resultando em uma subestimativa do real risco ambiental. Além disso, a possibilidade de outros contaminantes foi levantada na época do derramamento do óleo pela Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB), que reiterou a necessidade da avaliação adicional da série de clorobenzenos, compostos aromáticos, compostos furânicos (produtos de degradação dos óleos minerias), hidrocarbonetos clorados e TPH (Total Petroleum hydrocarbon).

A degradação dos PCBs apenas ocorre pela ação de bactérias e outros microorganismos, embora em pequenas taxas, por haver uma baixa população, ineficiência na degradação e/ou baixa biodisponibilidade do elemento (BEYER & BIZIUK, 2009; VASILYEVA et al., 2010). Quando há degradação incompleta, há formação e acumulação de metabólitos que são mais tóxicos que a molécula inicial (BORJA et al., 2005) e não são considerados nas análises químicas. Estes contaminantes se presentes são capazes de causar diferentes impactos no ambiente, como alterações da integridade química, física e biológica do solo e da água, bem como inviabilizar a utilização de recursos naturais (CONAMA, 2009; VAN DER PERK, 2012). Dentre as alterações biológicas estão as estruturais e funcionais nos organismo do solo, como em sua abundância, distribuição, biodiversidade, taxa de crescimento, interações na cadeia trófica e no ciclo de vida (VAN DEN BRINK, 2008; VAN DER PERK, 2012; MENTA, 2012).

Para uma completa avaliação de efeitos destes agentes químicos são necessárias informações ecotoxicológicas (efeito do químico e condições de exposição) e ecológicas (características bióticas e abióticas do sistema potencialmente exposto). Estes fatores juntos determinam a totalidade dos efeitos *in situ* no ecossistema (LANGE et al., 2010;

RODRIGUES et al., 2011). Os bioensaios ecotoxicológicos integram exposição e efeitos em uma única avaliação (CHAPMAN et al., 2010) pois indicam alguns aspectos de um agente contaminante, como sua particularidade, sua toxicidade potencial, a toxicidade de um agente não considerado e contido na substância, a mistura de tóxicos e a sua biodisponibilidade (LOUREIRO et al., 2005; FERNANDEZ & TARAZONA, 2008; CHAPMAN et al., 2010). Já as análises ecológicas feitas ao nível de comunidade provêm informações específicas do local sobre a real biodisponibilidade de contaminantes (ANTUNES et al., 2013). Neste sentido, devem-se utilizar indicadores ecológicos sensíveis a distúrbios, como a comunidade de invertebrados (JENSEN et al., 2006; MENTA, 2012).

A comunidade da fauna do solo é formada por uma grande quantidade e diversidade de invertebrados pertencentes aos mais diversos grupos, representados principalmente por ácaros e colêmbolos. Habitam a serapilheira, a superfície do solo ou seu interior, como canais, câmaras e poros, pelo menos em uma parte do seu ciclo biológico (MORAIS et al., 2013; KORASAKI et al., 2013). São componentes chave na biota do solo, pois são abundantes e com papeis na formação e transformação do solo bem conhecidos (MENTA, 2012; BINKLEY & FISHER, 2013). Atuam como reguladores de numerosas atividades de microrganismos e de organismos que os consomem (BRUSSAARD, 1998).

Como se torna altamente custoso e inviável avaliar quimicamente todos os tipos de possíveis contaminantes no solo ligados ao derramamento de óleo ascarel de transformadores na área investigada, considerou-se a hipótese de que se grande parte da variabilidade de resultados ecológicos e ecotoxicológicos forem explicadas por características naturais do solo e do ambiente, cria-se um forte indício que não existem contaminantes biodisponíveis no solo. Com isso, o objetivo deste estudo é avaliar a comunidade da mesofauna do solo na área, realizar ensaios ecotoxicológicos *ex situ* e verificar o efeito de possíveis contaminantes no solo.

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

3.4.1 Área de Estudo e Breve Histórico da Floresta Nacional de Ipanema

A Floresta Nacional de Ipanema (Flona Ipanema) cobre mais de 5 mil ha na região Sudeste do Estado de São Paulo, abrangendo os municípios de Iperó, Araçoiaba da Serra e Capela do Alto, entre as latitudes Sul de 23°25' e as longitudes Oeste 47°35' e 47°40'. A altitude varia entre 550 e 971 metros, com destaque para a serra de Araçoiaba, como característica singular da região (ALBUQUERQUE & RODRIGUES, 2000; MMA/IBAMA, 2003; FÁVERO et al., 2004) (Figura 5).

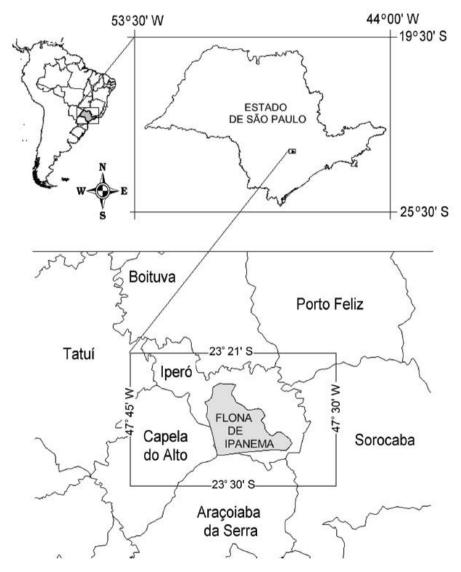


Figura 5. Localização da Floresta Nacional de Ipanema no município, Estado e País. Fonte: Bataghin et al. (2012)

A Flona abriga parcelas de Floresta Estacional Semidecidual, Floresta Ombrófila Densa, áreas de Cerrado *senso lato* (MMA/IBAMA, 2003) e hectares de povoamentos de *Eucalyptus cloeziana* e *Pinus* sp. (SHINZATO et al., 2011). Os principais solos identificados e classificados são Latossolos Vermelho Escuro e Vermelho Amarelo, Argissolos Vermelho

Amarelos, Neossolos Flúvicos e Litossolos (RANZANI et al., 1965; MMA/IBAMA, 2003). Apresenta clima do tipo Cfa, segundo classificação de Koeppen (ALBUQUERQUE & RODRIGUES, 2000), com precipitação média anual na ordem de 1.400 mm, com mínimo de 800 mm e máximo de 2.2000 mm (MMA/IBAMA, 2003).

Possui biodiversidade e heterogeneidade ambiental de grande importância, por se situar em uma área de tensão ecológica (SOUZA & MARTOS, 2008). No contexto da paisagem regional, é um grande remanescente de uma vegetação totalmente fragmentada (BATAGHIN et al., 2012), constituindo-se num dos poucos redutos florestais do interior paulista (ALBUQUERQUE & RODRIGUES, 2000). Fato ligado à história da Real Fábrica de Ferro, onde a vegetação original sofreu intervenções antrópicas para a retirada de madeira para carvão, além de decretos de lavras para a retirada de materiais como calcário e apatita (ALBUQUERQUE & RODRIGUES, 2000; FÁVERO et al., 2004). Atualmente a área sofre influência direta de fatores antrópicos, como a remoção da vegetação, a degradação da floresta, criação de bordas artificiais, perturbações humanas nas áreas florestais e adjacentes (BATAGHIN et al., 2010), alterações nos cursos d'água, além do uso intensivo e inadequado do solo (SOUZA & MARTOS, 2008).

3.4.2 Breve Histórico da Área da Subestação Elétrica Vanhagem

A área de estudo localiza-se entre as coordenadas 23°25'S/47°35'O, em uma elevação média de 560 m. Está às margens do reservatório de água Vanhagem, que abastece edifícios administrativos e casas da vila São João de Ipanema, inseridos nos domínios da Flona. Constitui-se por um ambiente heterogêneo, formado por pastagens, fragmentos florestais secundários, construções férreas e domésticas. Há ainda a criação de animais na área, como bovinos e aves.

Com a falência da Rede Ferroviária Federal SA (RFFSA), a subestação de energia elétrica Vanhagem foi desativada no final de 1998. Entre final de 2000 e início de 2001 o Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais (IBAMA) comunicou à RFFSA sobre furtos de equipamentos que estavam ocorrendo na subestação, solicitando a tomada de providências urgentes. Foram lavrados boletins de ocorrência sobre o caso, porém nenhuma medida foi tomada. Em janeiro de 2001 a Diretora da Flona Ipanema informou aos técnicos da Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB) sobre a contaminação do solo por óleo derramado de transformadores e capacitores abandonados da RFFSA. No mesmo mês a companhia coletou amostras de solo e constatou-se a presença de bifenilas policloradas (classe I), além de mercúrio metálico.

Em março de 2001 o IBAMA emitiu um ofício confirmando o vazamento dentro dos limites territoriais da Flona Ipanema, exigindo um Programa de Recuperação da Área Contaminada, dentro de um prazo de 30 dias. Uma primeira análise da área foi feita no mesmo mês, através de um laboratório terceirizado contratado pela RFFSA, sendo classificada com classe II, conforme ABNT NBR 10004 (2004), como de resíduos não perigosos, que podem ainda ser classificados como não inertes ou inertes.

Em novembro um termo de compromisso, responsabilidade e ajuste de conduta em relação à contaminação foi assinado por todas as partes envolvidas, firmando o compromisso de início das atividades estabelecidas no mesmo mês. Em relatório emitido pelo IBAMA descreve-se o plano de ação proposto e suas falhas, onde se destaca que a contaminação do solo foi provocada pelo vazamento de 62 mil litros de óleo contendo PCBs. Em janeiro de 2002 a RFFSA encaminha laudo de análise química do solo e óleo contido nos equipamentos, afirmando que o resíduo encontrado no solo pode ser classificado como Classe II – não inerte e que o óleo não apresentava contaminação. Segundo o relatório, foi utilizada a metodologia ABNT NBR 10007 (2004) – Amostragem de resíduos sólidos. Porém esta metodologia não define qual a profundidade do solo que deve ser amostrada, apenas como fazê-la. Como o

relatório não dá mais detalhes metodológicos, não se sabe se o solo amostrado é superficial ou de subsuperfície, o que é determinante para os resultados.

Em laudo de dano ambiental elaborado por peritos da Polícia Federal em fevereiro de 2002, descreve-se a presença de manchas de óleo no solo da área onde estavam presentes os transformadores elétricos. Os peritos descrevem que não puderam dimensionar extensão dos danos, pois parte do líquido teria percolado no solo, podendo ter atingido substratos inferiores, inclusive o lençol freático. Segundo cálculos dos peritos, foram derramados 83.402 litros do óleo. Nos materiais coletados (óleo, pedra britada na superfície do solo e pedaço de madeira) foi detectada a presença de PCBs, sendo esta análise qualitativa.

Em setembro de 2002 o IBAMA emitiu documento informando à diretora da unidade que foram removidos por completo (12 mil litros) o óleo contido em reservatórios subterrâneos por uma empresa terceirizada. Em maio de 2003 representantes da Flona Ipanema e RFFSA assinam documento sobre a retirada de 14 kg de mercúrio líquido, dando destinação à firma especializada, porém não há detalhes do local de remoção.

Em maio de 2003 a empresa contratada pela RFFSA para realizar avaliações no local, coletou amostras de solo em quatro pontos, sendo que em dois a profundidade atingia 2,4 m e nos outros dois pontos 1,2 m. Como resultados afirmam que as amostras não apresentaram a presença de nenhum dos 7 isômeros de PCBs, porém detectaram-se voláteis derivados do óleo mineral presente no solo.

Em fevereiro de 2004 a diretora da Flona encaminha à RFFSA um parecer técnico elaborado pelo IBAMA que invalida o estudo ambiental feito, por não atender o escopo mínimo solicitado, devendo ser reelaborado e apresentado. Em agosto de 2006 a empresa Resitec emitiu um laudo técnico, baseado nas análises do laboratório terceirizado contratado pela RFFSA, que no solo contaminado não havia nenhum dos isômeros de PCBs, tratando-se, portanto de contaminação apenas por óleo de isolante de transformador elétrico. No mesmo documento, no ítem procedimento de coleta, é informado que foi coletada uma alíquota de tambores contendo solo recolhido.

Em fevereiro de 2007, a CETESB realizou a análise de estudo complementar da contaminação, considerando-o como não satisfatório, reiterando algumas exigências e detalhando algumas análises que deveriam ser feitas. Dentre estas, estão análises pontuais de solo na área, inclusive no horizonte de 0 a 20 cm de profundidade, incluindo os locais onde houve vazamento de óleo diretamente na superfície, observando que amostras compostas não seriam aceitas. Dentre as análises químicas, recomenda-se fazer da série de PCBs, série de clorobenzenos, série de PAH's, compostos aromáticos, compostos furânicos (produtos de degradação dos óleos minerias), hidrocarbonetos clorados; voláteis, semivoláteis e hidrocarboneto total do petróleo (Total Petroleum hydrocarbon – TPH).

Como a unidade recebe visitação e desenvolve atividades de ensino e pesquisa, e ainda havia dúvidas quanto à presença de contaminantes e seus potenciais riscos, a gestão da unidade decidiu isolar a área (Figura 6). Entretanto, esta proteção não se mostra eficiente, principalmente pela presença de habitantes e atividades agropecuárias no local.



Figura 6. A:Subestação elétrica isolada com tijolos nas janelas e portas, além de cerca. B: Placa indicando acesso restrito.

3.4.3 Métodos de Avaliação Química dos PCBs, HPAs e Metais Pesados Totais

As análises de PCBs (LQ <0,0001 mg kg⁻¹) e HPAs (0,5 mg kg⁻¹) seguiram o método EPA Method 8270D), onde as amostras são preparadas para análise de cromatografia gasosa/espectrofotômetro de massa, utilizado um método apropriado de preparação de amostra (Método 3500) e se necessário procedimento de limpeza de amostras (Método 3600). Os compostos semivoláteis são injetados no cromatógrafo de gás utilizando uma coluna capilar de sílica fundida de diâmetro estreito. A coluna é programada pela temperatura para separar as análises, que são então detectados pelo espectrofotômetro de massa. A análise de metais pesados, especificamente para mercúrio metálico seguiu a metodologia SMWW 3120 B, através da emissão espectométrica que utiliza plasma acoplado indutivamente, desenvolvido em mid-1960s como um rápido, sensível e conveniente para a determinação de metais na água e águas residuais.

3.4.4 Primeira Avaliação na Área da Subestação Elétrica Vanhagem

Na área de estudo foi definido um grid de coleta de 40 x 40 m (Figura 7). Para a caracterização física e química do solo, em cada uma das 36 interseções das linhas (pontos) foram coletadas três amostras de solo na profundidade de 0-10 cm, para compor uma amostra composta. Nestas foram avaliadas a granulometria, umidade do solo, teor de matéria orgânica (EMBRAPA, 2011) e pH (KCL 1M) (ISO 10390, 2005). Os resultados destas análises são apresentados na Tabela 3 e a ilustração da cobertura vegetal na Figura 8.

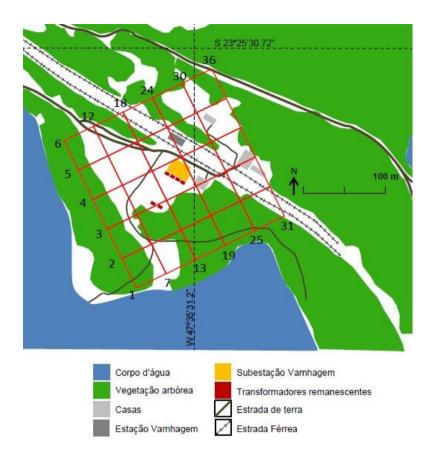


Figura 7. Disposição do grid de coleta na área de estudo, composto por quadrados de 40 x 40 m.

Tabela 3. Tipo de cobertura vegetal, caracterização física e química do solo nos pontos da área da subestação elétrica Vanhagem na Floresta Nacional de Ipanema, SP.

Ponto	Cobertura Vegetal	Argila	Areia	Silte	Matéria orgânica	umidade	рН
1	Floresta secundária	23,1	48,7	28,2	4,1	16,1	5,6
2	Floresta secundária	18,7	49,4	31,9	3,4	12,6	6,1
3	Floresta secundária	20,1	67,3	12,6	2,3	9,1	5,7
4	Pasto arborizado	8,1	51,2	40,7	1,9	6,2	5,9
5	Pasto arborizado	12,3	79,4	8,3	2,2	12,1	5,9
6	Pasto arborizado	12,9	51,4	35,7	5,1	10,1	6,7
7	Pasto	17,3	48,8	33,9	2,8	13,5	5,2
8	Pasto	23,7	63,5	12,9	1,7	18,3	6,0
9	Floresta secundária	13,1	58,5	28,4	2,3	5,9	5,8
10	Pasto	15,6	71,6	12,8	2,6	13,3	5,7
11	Pasto	12,4	68,3	19,3	3,2	14,6	5,7
12	Pasto	11,1	71,5	17,4	1,6	12,0	6,6
13	Floresta secundária	6,5	68,8	24,7	2,0	10,4	5,3
14	Floresta secundária	18,4	68,1	13,5	3,6	10,8	5,3
15	Pasto	6,8	62,5	30,7	4,0	15,1	6,7
16	Pasto	10,5	70,9	18,6	1,1	10,8	6,4

17	Pasto	11,2	69,0	19,8	0,6	14,1	7,5
18	Pasto	9,6	63,7	26,7	7,2	14,7	5,8
19	Floresta secundária	16,0	67,7	16,3	3,3	9,8	5,4
20	Floresta secundária	12,1	75,9	12,1	2,7	13,6	5,4
21	Pasto	11,4	69,4	19,2	5,0	23,0	6,0
22	Pasto	5,1	66,9	28,0	2,8	12,5	5,9
23	Pasto	13,5	77,2	9,4	1,7	13,0	5,8
24	Pasto	5,6	76,3	18,1	1,2	8,3	5,8
25	Floresta secundária	1,3	52,1	46,6	2,2	16,2	5,2
26	Pasto arborizado	11,1	55,9	33,0	3,3	26,1	5,0
28	Pasto arborizado	13,0	75,7	11,3	2,4	7,9	6,0
29	Pasto	14,4	83,2	2,4	0,9	8,8	5,2
30	Pasto arborizado	20,4	72,9	6,7	1,4	11,2	6,2
31	Pasto arborizado	9,7	54,5	35,8	3,2	18,3	5,9
32	Pasto arborizado	9,2	57,5	33,3	3,3	12,1	5,7
34	Pasto	2,1	62,5	35,4	1,3	12,1	6,3
35	Pasto arborizado	21,5	72,4	6,1	3,3	14,4	5,7
36	Floresta secundária	60,7	27,1	12,2	3,2	7,2	5,9



Figura 8. Caracterização dos ambientes de coleta. A: Pasto no ponto 10. B: Pasto arborizado próximo ao ponto 4. C: Início da floresta secundária no ponto 1.

Amostrou-se a comunidade da mesofauna do solo utilizando a metodologia modificada do funil de Berlese-Tullgren (AQUINO et al., 2006). Para isso, em cada ponto coletaram-se quatro amostras simples de solo com 100 g, na profundidade de 0-10 cm, com o auxílio de um trado (Figura 9), que foram colocados em recipientes plásticos com tampas e identificados. Em laboratório cada amostra foi inserida em um recipiente com uma grade de 2 mm em sua base, iluminado e aquecido na parte superior por uma lâmpada incandescente de

20 W por 7 dias, com o propósito dos organismos reagirem ao calor e moverem-se para baixo, caindo no frasco coletor contendo álcool 70%.



Figura 9. Trado de coleta de solo para amostragem da mesofauna edáfica.

Os indivíduos coletados foram contados e identificados em grandes grupos taxonômicos, de acordo com as descrições fornecidas por Dindal (1990). Sequencialmente, calculou-se o número de indivíduos, a riqueza total, a riqueza média e os índices de diversidade de Shannon Heaver (H = -∑ pi log pi) e a equabilidade de Pielou (e = H log R⁻¹), onde pi é a frequência relativa de indivíduos de cada grupo taxonômico e R é a riqueza definida como o número de diferentes unidades taxonômicas coletadas em cada área avaliada (ODUM & BARRETT, 2011). A ausência ou presença de grupos também foi considerada por sua simples ocorrência.

Para o ensaio ecotoxicológico coletaram-se quatro amostras de solo na profundidade de 0-10 cm em cada ponto, formando uma amostra composta. Em laboratório foram peneiradas em malha de 2 mm e submetidas a dois ciclos intercalados de congelamento e descongelamento, de 24 h cada, visando a completa eliminação de organismos da fauna edáfica (PESARO et al., 2003).

O ensaio com *Enchytraeus crypticus* seguiu as normas obrigatórias e recomendadas da ABNT NBR ISO 16387 (2012). Os indivíduos foram criados em placas de Petri contendo meio ágar, em um ambiente de temperatura constante de 20 ± 2 °C. O solo foi previamente umedecido com água destilada entre 40 a 60 % da sua capacidade de retenção de água. O ensaio foi conduzido em câmara de incubação com controle de temperatura (18 a 22 °C), fotoperíodo (16 h de luz para 8 h de escuro) e intensidade luminosa (400 a 800 lux). A umidade do solo foi controlada semanalmente através do peso inicial dos recipientes-testes, adicionando água destilada quando necessário. Os organismos também foram submetidos ao substrato padrão "solo artificial tropical" (ABNT NBR ISO 11267, 2014), com cinco repetições cada, para avaliar a adequação às condições ambientais dos ensaios.

Para o ensaio utilizou-se recipientes cilíndricos transparentes (40 ml) com tampa, contendo 30 g de solo úmido e 50 mg de aveia em flocos finos (alimento), em cinco

replicatas. Em cada recipiente foram inseridos dez indivíduos ovados, selecionados e coletados em estereomicroscópio. Uma sexta réplica, sem organismos e alimento foi utilizada para avaliar o pH e a umidade ao final. Aos 14 dias foi reinserida a mesma quantidade de aveia em flocos finos nos recipientes com organismos. O ensaio teve duração de 28 dias. Ao final, os recipientes foram preenchidos com solução de álcool a 70 %, inserindo três gotas de rosa de bengala a 1 %, promovendo a coloração dos organismos e facilitando a contagem dos indivíduos adultos e juvenis sob estereomicroscópio.

Para a análise dos dados inicialmente foi realizada avaliação da homogeneidade das variâncias dos erros pelo Teste de Cochran e da normalidade pelo Teste de Lilliefor. A comparação de médias (Kruskal-Wallis e Tukey) e a análise de correlação (Spearman e Pearson) foram realizados de acordo com a natureza dos dados, a 5 %. A avaliação da explicação das variâncias dos dados da comunidade da mesofauna e do ensaio ecotoxicológico (bióticos) pelos parâmetros físicos e químicos do solo (abióticos) foram realizadas pela análise de redundância (RDA) (LEPS & SMILAUER, 2003).

3.4.5 Segunda Avaliação na Área da Subestação Elétrica Vanhagem

Devido à grande heterogeneidade da vegetação e usos do solo no local (estradas, construções férreas e domésticas) entre os pontos definidos na primeira avaliação, foram selecionados nove pontos em fragmentos florestais (1, 2, 3, 9, 13, 14, 19, 20, 25) e dez em área de pasto homogêneo (7, 8, 10, 11, 15, 16, 17, 21, 22, 29) para as coletas, que ocorreram em julho de 2015.

Para uma nova caracterização física e química do solo, em cada ponto foram realizadas três coletas de solo na profundidade de 0-10 cm, que foram levadas ao laboratório. Além das avaliações já realizadas, a partir de uma amostra composta analisou-se o teor de alumínio, cálcio, potássio, magnésio, nitrogênio, fósforo e pH (KCL 1 mol L⁻¹) (EMBRAPA, 2011). Em todos os pontos foi realizada a caracterização abiótica do meio físico, conforme parâmetros e critérios apresentados nas Tabelas 4 e 5.

Em cada ponto nos fragmentos florestais foram coletadas quatro amostras de serrapilheira depositada sobre o solo, a uma distância máxima de um metro entre elas. Para isso, utilizou-se um quadrado de 0,25 x 0,25 m, onde todo o material em seu interior foi colocado em sacolas plásticas. Em laboratório o material foi submetido à pré-secagem por três dias e peneirado em malhas de 4 e 2 mm. O material retido nas peneiras foi triado em folhas, material lenhoso e material reprodutivo. O material não retido foi identificado como resto. Separadamente foram inseridos em sacos de papel, submetidos à secagem em estufa por 65 °C por 24 horas e pesados (g). Após isso, as folhas foram agrupapadas de acordo com o ponto, trituradas e determinados os teores de carbono e nitrogênio (Tabelas 4 e 5).

Tabela 4. Características físicas e químicas do solo, caracterização do ambiente e estoque de serrapilheira nos pontos de floresta secundária na área da subestação elétrica Vanhagem na Floresta Nacional de Ipanema, SP, em amostragem realizada em julho de 2015.

Tabela 4. Características físicas e químicas do solo, caracterização do ambiente e estoque de serrapilheira nos pontos de floresta secundária na área da subestação elétrica Vanhagem na Floresta Nacional de Ipanema, SP, em amostragem realizada em julho de 2015.

	1	2	2		12	1.4	10	20	25
Ponto	1	2	<u>3</u>	9 omo otomístico	13	14 wímicas do	19	20	25
Argila (%)	23,1	18,7	20,1	aracterística 13,1	6,5	18,4	16,0	12,1	1,3
Areia (%)	48,7	49,4	67,3	58,5	68,8	68,1	67,7	75,9	52,1
Silte (%)	28,2	31,9	12,6	28,4	24,7	13,5	16,3	12,1	46,6
Teor de matéria orgânica	4,14	3,45	2,29	2,31	2,03	3,64	3,28	2,69	2,16
Umidade (%)	9,5	12,5	13,9	6,3	12,3	11,3	14,1	11,3	16,5
pH	5,61	6,12	5,65	5,83	5,25	5,34	5,42	5,43	5,17
Al (cmolc/d)	0	0	0	0	0,21	0	0	0	0,03
Ca (cmolc/d)	5,34	5,34	5,1	2,82	1,87	3,61	5,47	10,71	3,4
K (mg/L)	68,75	128,68	80,5	139,93	37,1	131,1	58,14	105,16	39,01
Mg (cmolc/d)	1,34	1,35	1,45	0,92	0,57	0,87	0,58	1,29	0,69
N %	0,23	0,2	0,22	0,13	0,14	0,14	0,18	0,42	0,16
P (mg/L)	4,46	28,61	5,33	5,4	1,58	5,47	7,48	17,14	5,07
				Caracte	erização do	ambiente			
Cipós e lianas	Presente	Presente	Presente	Ausente	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente
Pedregosidade	Ausente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente
Declividade	Plana	Plana	Plana	Alta	Plana	Plana	Plana	Plana	Plana
Relevo	Plano	Plano	Plano	Ondulado	Suave ondulado	Suave ondulado	Suave ondulado	Suave ondulado	Suave ondulado
Altura serrapilheira (cm)	1	4	2	3	4	1	4	4	3
Cobertura do solo	1	3	3	1	4	3	4	4	4
Invasoras	Presente	Ausente	Ausente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Presente
Regenerantes	0	2	2	1	2	1	2	1	2
Atividade antrópica	Ausente	Presente	Ausente	Presente	Presente	Presente	Ausente	Presente	Ausente
				Estog	jue de serra	pilheira			
Folhas 4 mm (%)	26,1	40,7	26,7	32,0	58,2	28,7	37,4	31,5	35,3
Folhas 2mm (%)	12,6	17,8	16,4	19,4	10,8	19,7	24,0	17,8	16,1
Material lenhoso 4 mm	34,8	15,6	25,3	13,1	8,7	22,9	17,9	26,6	28,1
(%) Material lenhoso 2 mm (%)	4,8	2,4	2,2	1,5	0,7	1,2	2,0	1,6	1,1
Material Reprodutivo (%)	1,4	2,3	2,7	0,1	5,6	4,5	6,8	7,4	12,6
Restos (%)	20,3	21,2	26,6	33,9	16,0	22,9	12,0	15,1	6,8
% Carbono	45,5	38,5	48,8	40,8	35,0	43,3	33,0	36,3	38,8
% N	1,4	1,4	2,1	2,1	1,3	1,7	1,5	1,5	1,2
DAP (médio)	17,0	35,2	29,8	18,0	30,4	21,0	43,8	67,0	37,0

Tabela 5. Características físicas e químicas e do ambiente nos pontos de pasto na área da subestação elétrica Vanhagem na Floresta Nacional de Ipanema, SP, em amostragem realizada em julho de 2015.

Ponto	7	8	10	11	15	16	17	21	22	29
	Características físicas e químicas do solo									
Argila (%)	17,3	23,7	15,6	12,4	6,8	10,5	11,2	11,4	5,1	14,4
Areia (%)	48,8	63,5	71,6	68,3	62,5	70,9	69,0	69,4	66,9	83,2
Silte (%)	33,9	12,9	12,8	19,3	30,7	18,6	19,8	19,2	28,0	2,4
Teor de										
matéria orgânica	2,81	1,69	2,55	3,15	4,03	1,14	0,62	5,02	2,83	0,9
Umidade (%)	11,1	14,2	7,4	6,9	8,7	6,9	18,2	3,9	2,7	14,3
pН	5,2	5,95	5,65	5,68	6,66	6,35	7,48	5,99	5,94	5,23
Al (cmolc/d)	0,03	0,09	0	0	0	0	0	0	0	0
Ca (cmolc/d)	1,65	1,22	2,62	2,66	4,03	2,62	4,41	3,13	3,55	1,12
K (mg/L)	30,84	23,91	40,87	198,22	232,64	121,12	57,92	55,92	119,55	67,17
Mg (cmolc/d)	0,31	0,38	0,86	0,63	1,69	0,38	0,6	0,39	0,35	0,23
N %	0,08	0,08	0,13	0,13	0,28	0,08	0,19	0,08	0,12	0,06
P (mg/L)	0,84	2,45	33,43	34,84	60,97	12,31	1508,14	168,34	891,11	4,53
				Cara	cterização	do ambie	nte			
Pedregosidad e	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Present e	Present e	Ausente	Present e	Ausent e	Ausente
Declividade	Plana	Moderad a	Moderad a	Moderad a	Plana	Plana	Plana	Plana	Plana	Moderada
Relevo	Suave Ondulad o	Suave Ondulad o	Suave Ondulad o	Plano	Plano	Plano	Suave Ondulad o	Plano	Plano	Suave Ondulado
Cobertura do solo	4	4	4	4	2	2	3	3	3	4
Regenerantes	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0
Cupinzeiro e formigueiro	Ausente	Presente	Presente	Presente	Ausent e	Ausent e	Ausente	Ausent e	Present e	Ausente

A coleta da mesofauna edáfica foi realizada da mesma forma que na primeira avaliação, sendo que os colêmbolos também foram classificados quanto à sua capacidade de dispersão, baseado em um conjunto de características morfológico-funcionais, como proposto por Hopkin (1997) e Parisi et al. (2001). Em cada indivíduo foram observadas características e/ou aspecto da furca, ocelos, antenas, cor e pelos/escamas, sendo atribuídas notas conforme a Tabela 6. Nesta classificação, a soma das notas define a categoria de dispersão deste indivíduo: 1-5= muito lento; 6-10= lento; 11-15= médio; 16-20= meio rápido; 21-25= rápido.

Tabela 6. Características morfológicas utilizadas para definir a categoria de dispersão dos colêmbolos.

Característica	Categoria	Nota
	Ausente	1
Furca	Curta	3
	Desenvolvida	5
	zero	1
	um a dois	2
Ocelos	três a quatro	3
	cinco a seis	4
	sete a oito	5
	< 25%	1
	25 a 50%	2
Comprimento da antena em relação ao corpo	50 a 75%	3
em relação ao corpo	75 a 100%	4
	> 100%	5
	Branco	1
	Creme ou cor fraca	2
Cor	Clara a média	3
	Azul escuro ou preto	4
	Colorido/Metálico/Manchado/Listrado	5
	Ausente	1
Pelos e escamas	Pêlos	3
	Escamas	5

Para a análise dos dados inicialmente foi realizada a avaliação da homogeneidade das variâncias dos erros pelo Teste de Cochran e da normalidade pelo Teste de Lilliefor. A comparação de médias (Kruskal-Wallis e Tukey) e a análise de correlação (Spearman e Pearson) foram realizadas de acordo com a natureza dos dados, a 5 %. A avaliação da explicação das variâncias dos dados da comunidade da mesofauna e do ensaio ecotoxicológico (bióticos) pelos parâmetros físicos e químicos do solo (abióticos) foram realizadas pela análise de redundância (PCA) (LEPS & SMILAUER, 2003).

3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.5.1 Primeira Avaliação na Área da Subestação Elétrica Vanhagem

A mesofauna do solo amostrada nas proximidades da subestação elétrica foi representada por 1578 indivíduos pertencentes a 24 grupos, sendo os principais Acari, Entomobryomorpha, Formicidae, Poduromorpha, Symphyla e Protura. Dentre estes, a ordem Acari predominou nos pontos amostrados, com média de 60 % dos indivíduos (Tabela 7).

Tabela 7. Caracterização dos principais grupos da mesofauna do solo, número total de indivíduos (indivíduos em 100g de solo), riqueza (número de grupos médio em quatro repetições) e índices de diversidade na área da subestação elétrica Vanhagem na Floresta Nacional de Ipanema, SP.

Ponto	Acari	Entomobryomor pha	Formicidae	Poduromorpha	Symphyla	Protura	Indivíduos	Riqueza média	Riqueza total	Shannon	Pielou
				I	Floresta Se	ecundária					
1	82,0	7,3	3,5	5,3	1,0	2,5	112	8,5	14	1,66	0,43
2	54,3	11,5	0,5	7,3	1,5	4,3	84	8,0	13	1,82	0,49
3	40,3	6,3	1,8	6,5	0,3	1,8	60	7,3	13	1,75	0,47
9	37,3	9,8	5,3	2,8	0,3	3,3	71	8,8	14	2,36	0,62
13	22,8	8,5	3,0	1,3	0,3	8,8	46	6,0	10	2,09	0,63
14	13,3	4,5	11,3	0,5	0,3	0,5	31	4,5	7	1,77	0,63
19	57,5	12,5	12,8	2,8	0,5	7,3	96	6,5	10	1,87	0,56
20	9,5	4,0	2,3	0,3	0,0	0,5	18	3,8	7	1,90	0,68
25	16,3	5,8	3,0	2,8	1,8	0,3	33	7,0	11	2,36	0,68
36	14,0	0,8	2,3	0,8	0,0	0,0	26	5,5	8	2,03	0,68
Média	34,7 a	7,1 a	4,5 b	3,0 a	0,6 a	2,9 a	57 A	6,6 A	19	2,14	0,50
					Pasto arb						
4	16,8	1,8	1,8	0,8	0,0	0,3	24	5,5	13	1,78	0,48
5	25,5	2,5	0,5	1,0	0,8	0,5	33	5,0	9	1,34	0,42
6	11,5	2,0	0,0	3,0	0,5	0,3	20	3,5	8	1,94	0,65
26	58,3	12,3	53,0	1,8	2,0	12,5	146	7,8	11	2,08	0,60
28	12,3	0,5	1,3	1,5	0,3	0,0	16	3,5	6	1,25	0,48
30	14,5	0,8	0,5	0,0	0,3	0,0	18	4,0	9	1,25	0,39
31 32	23,3 38,5	9,8	6,0	4,8	2,3	0,5	53 56	7,3	10	2,47	0,74
32 35	38,3 13,0	11,3 2,0	0,8 2,0	0,8 2,0	1,3 0,0	0,5 0,0	20	6,3 3,0	12 5	1,56 1,54	0,44 0,66
Média	23,7 ab	4,8 ab	7,3 ab	1,7 a	0,0 0,8 a	1,6 b	42 A	5,1 B	16	2,16	0,54
Media	25,7 ab	4,0 ab	1,5 ab	1,7 a			42 A	Э,1 Б	10	2,10	0,34
_	0.6.0	15.5	2.2		Pas		100		1.0		0.45
7 8	86,3	17,5	3,3	6,0	0,0	4,8	122	6,8	10	1,51	0,45
8 10	29,8 3,3	2,8	0,0 2,0	1,8	0,5	0,0 0,0	39 7	5,8 3,0	12 5	1,46	0,41 0,83
10	5,3 5,3	1,0 0,3	0,0	0,8 0,8	0,3 0,0	0,0	8	2,3	<i>5</i>	1,93 1,45	0,83
12	3,3 4,0	0,3	0,0	1,3	0,0	0,0	8	3,0	<i>5</i>	2,14	0,02
15	11,5	4,0	1,3	8,8	0,0	0,8	29	6,0	10	2,14	0,70
16	7,3	1,0	1,3	3,5	0,0	0,0	15	4,3	7	2,03	0,72
17	10,5	2,3	2,8	1,8	0,5	0,0	20	4,3	8	2,12	0,71
18	27,0	8,0	104,0	8,5	2,8	0,5	164	10,0	17	1,92	0,47
21	22,5	8,0	0,8	2,8	0,0	0,0	36	4,0	7	1,56	0,56
22	18,0	1,0	0,3	1,3	0,0	0,0	22	3,0	6	1,07	0,42
23	19,3	13,8	2,3	4,0	0,5	1,0	43	5,8	10	2,05	0,62
24	37,5	1,0	3,0	2,8	1,3	0,3	55	7,0	11	1,77	0,51
29	25,3	1,0	0,0	0,8	0,0	0,0	30	3,5	7	0,99	0,35
Média	21,9 b	4,4 b	8,6 a	3,2 a	0,4 a	0,5 b	45 A	4,8 B	22	2,21	0,50

Letras maiúsculas iguais na coluna não diferem pelo teste Tukey a 5 %. Letras minúsculas iguais na coluna não diferem pelo teste Kruskal-Wallis a 5 %.

De modo geral, nos pontos onde a vegetação é floresta secundária houve maior riqueza média e número de indivíduos dos grupos Acari, Entomobryomorpha e Protura, comparado com os pontos de pasto. Este resultado deve-se à mudança de um ambiente florestal para uma pastagem que ocorreu com o processo de antropização do ambiente, o que altera as condições abióticas do solo e os materiais em decomposição, modificando a densidade das populações, diversidade de espécies e funções ecológicas dos organismos do solo, principalmente quando estes pertencem à mesofauna (MELO et al., 2009; HENNERON et al., 2015). Além disso, sistemas florestais possuem uma alta produção de serrapilheira e um suprimento constante de alimento, criando um ambiente favorável para a comunidade da fauna, especialmente a população de decompositores (CHAUVAT al., 2006; MANHÃES et al., 2013).

Os grupos Acari, Entomobryomorpha e Protura são encontrados em diferentes tipos de coberturas do solo e considerados muito importantes na decomposição e manutenção da fertilidade do solo. Geralmente dominam em abundância e diversidade nos ambientes com maior cobertura vegetal e riqueza de espécies vegetais, já que possuem melhores condições microclimáticas, como em fragmentos florestais (MAJER et al., 2007; MELO et al. 2009; MANHÃES et al., 2013; MELONI & VARANDA, 2015).

A comunidade da mesofauna apresentou relações significativas com os atributos químicos e físicos do solo. As características do solo com maior relevância nesta relação são a porcentagem de areia na textura do solo, o teor de matéria orgânica e o pH (Tabela 8).

Tabela 8. Correlação da mesofauna do solo com os atributos físicos e químicos do solo na área da subestação elétrica Vanhagem na Floresta Nacional de Ipanema, SP.

	Argila	Areia	Silte	Matéria orgânica	Umidade	pН
			%			
Acari	0,15	-0,35*	0,22	0,18	0,03	-0,41*
Entomobryomorpha	0,06	-0,34*	0,33	$0,40^{*}$	0,31	-0,41*
Poduromorpha	-0,08	-0,36*	$0,40^{*}$	0,25	0,28	0,16
Formicidae	-0,05	-0,24	0,21	0,21	0,10	-0,50*
Symphyla	-0,14	-0,24	0,33	0,19	0,29	-0,09
Protura	0,01	-0,35*	0,33	0,35*	0,03	-0,47*
Indivíduos	0,01	-0,32	0,32	0,48**	0,31	-0,41**
Riqueza média	0,04	-0,43**	0,41**	0,33	0,11	-0,28
Shannon	-0,05	-0,35**	0,40**	0,12	0,12	0,14
Pielou	0,01	-0,07	0,06	0,01	0,12	0,22

^{*}Correlação de Spearman (p≤0,05); **Correlação de Pearson (p≤0,05).

A textura do solo é uma importante característica para a mesofauna do solo, que também está relacionada à umidade e ao teor de matéria orgânica (LAVELLE & SPAIN, 2001). Na área de estudo, verificou-se que este atributo, representado principalmente pelo teor de areia, influencia negativamente a abundância de determinados grupos, bem como a riqueza média e o índice de Shannon (índice que junto com o Pielou mostrou-se não influenciado pelo tipo de vegetação). Outros autores (LAVELLE & SPAIN, 2001; GARGNARLI et al., 2015), também verificaram a influência da textura sobre a fauna do solo, mas esta relação é pouco explorada e explicada na literatura.

Apenas a matéria orgânica apresentou relações positivas com determinados grupos da mesofauna e com o número total de indivíduos. Esta relação é conhecida e relacionada à

influência na decomposição e à qualidade da cobertura vegetal (WOLTERS, 2000; ARAÚJO et al., 2015; YUNFENG et al., 2015). Dentre os grupos favorecidos, os colêmbolos atuam na produção (restos dos ovos, fezes e a própria necromassa corporal), modificação e movimento da matéria orgânica, o que pode servir como agente cimentante para a formação dos agregados (MAAß et al., 2015)

A relação com o pH do solo mostrou-se negativa para a maioria dos organismos, afetando sua abundância. A existência desta relação é conhecida principalmente para ácaros e colêmbolos, sendo intensificada principalmente em locais mais conservados (BIRKHOFER et al., 2012; HEINIGER et al., 2014; SILVA et al., 2016; MUELLER et al., 2015). Porém não há um padrão de resposta para todos os grupos, pois existem outros fatores atuando simultaneamente, como a dominância de espécies arbóreas, disponibilidade de nutrientes e da umidade do solo (MUELLER et al., 2015). Além disso, deve-se considerar o hábito de vida do organismo do grupo, já que menores valores de pH favorecem os eu-edáficos (SILVA et al., 2016).

Ao se contrastar os dados de toda comunidade da mesofauna com os parâmetros físicos e químicos do solo, através da análise de redundância (RDA), apenas 23,3% da variabilidade biológica é explicada pelo conjunto de dados abióticos. Entretanto, quando há a separação dos pontos de acordo com a cobertura vegetal (Quadros 1 e 2), a explicação da variabilidade da mesofauna aumenta para 66,5% (40,2% pelo eixo x) para a floresta secundária, 70,5% (55,8% pelo eixo x) no pasto arborizado e 49,6% (53,7 pelo eixo x) no pasto. Isto mostra que as características do solo estão intimamente relacionadas com a cobertura vegetal, sendo ambos determinantes para a estrutura da comunidade da mesofauna do solo. Neste contexto, assim como afirmado por Birkhofer et al. (2012), as propriedades do solo nos ambientes explicam uma proporção significativa da variação na abundância e diversidade da biota do solo. No caso específico do pasto, o menor poder de explicação pode estar associado ao fato de ser uma vegetação mais antropizada e submetida a diferentes manejos e usos.

A diferença verificada entre as coberturas vegetais podem estar relacionadas à distinção das propriedades do solo em cada ambiente (LUO et al., 2014a). Na floresta secundária, o teor de matéria orgânica apresentou um menor poder de explicação que os demais fatores, sendo a umidade e o pH relacionados com as ordens Poduromorpha e Symphyla. No pasto arborizado a matéria orgânica e a umidade são os fatores mais determinantes para os grupos. Já no pasto, a maior explicação é dada pelo teor de matéria orgânica, principalmente para os grupos Formicidae e Symphyla (Figura 10).

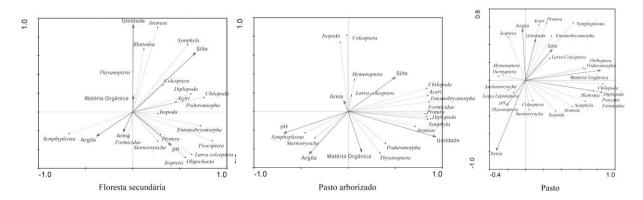


Figura 10. Relação da comunidade da mesofauna do solo com os principais atributos físicos e químicos do solo, nas diferentes coberturas florestais na área da subestação elétrica Vanhagem na Floresta Nacional de Ipanema, SP.

Apesar disso, há uma porcentagem que não foi explicada pelos parâmetros físicos e químicos do solo, podendo estar associada a outros fatores como interferências humanas, estrutura do habitat (WOLTERS, 2000; HEINIGER et al., 2014) e a presença de poluentes originários do derramamento de óleo ascarel dos transformadores, hipótese em estudo neste trabalho. Entretanto em um solo contaminado, esperam-se grandes mudanças na biota do solo como sua abundância, distribuição, biodiversidade, taxa de crescimento, interações e na cadeia trófica (VAN DEN BRINK, 2008; VAN DER PERK, 2012), o que certamente reduziria o poder de explicação dos fatores físicos e químicos do solo verificados neste estudo. Assim, como discutido anteriormente, a inclusão de dados da vegetação na análise de componentes principais poderia aumentar o poder de explicação sobre a variabilidade da comunidade da mesofauna e gerar uma melhor elucidação sobre a hipótese proposta, já que o estudo em pequena escala sobre a relação entre as propriedades do solo e a biota do solo provém informação em habitats específicos sobre condições locais (BIRKHOFER et al., 2012).

Em relação aos ensaios ecotoxicologicos, a utilização de *Enchytraeus crypticus* como organismo teste deve-se à sua sensibilidade a diversos contaminantes (AMORIM et al.,2005). Provavelmente isto se dá pela via de exposição ao contaminante por ingestão direta de solo e contato dérmico (Lanno et al., 2004; Abnt, 2012). Neste estudo, a sobrevivência e a reprodução de *E. crypticus* submetidos ao solo dos diferentes pontos de amostragem apresentou ampla variação, de 2 a 98 % na sobrevivência e 1 a 621 juvenis. Os critérios de validação para o solo artificial foi atendido, confirmando a ausência de influência da luminosidade e temperatura do ensaio (Tabela 9).

Tabela 9. Ensaio ecotoxicológico com *Enchytraeus crypticus* em solo proveniente de área com histórico de derraamento de óleo ascarel no solo da área da subestação elétrica Vanhagem na Floresta Nacional de Ipanema, SP.

Ponto	Sobrevivência Adultos %	Número médio de juvenis	Ponto	Sobrevivência Adultos %	Número médio de juvenis
1	98	358	18	78	387
2	96	473	19	80	123
3	84	543	20	66	90
4	96	465	21	94	247
5	90	435	22	76	117
6	48	152	23	88	301
7	98	463	24	76	96
8	98	567	25	34	39
9	58	204	26	2	1
10	92	560	28	80	198
11	94	504	29	90	561
12	82	364	30	62	54
13	92	556	31	50	132
14	92	621	32	52	277
15	96	348	34	92	588
16	74	510	35	90	213
17	36	49	36	84	274

Considerando os parâmetros físicos e químicos do solo avaliados, não foram encontradas correlações significativas com a sobrevivência e a reprodução de *E. crypticus*. Embora a relação deste grupo com os atributos do solo não seja clara (CHELINHO et al., 2011) outros autores confirmam sua existência, principalmente com o pH, condutividade,

teores de argila e areia e a relação C/N (KUPERMAN et al., 2006; CHELINHO et al., 2011; LUO et al., 2014a; VAŠÍČKOVÁ et al., 2015). A ausência de relação possivelmente deve-se ao fato destes organismos suportarem uma ampla faixa de variação dos atributos do solo dos pontos amostrados, sem que se altere sua sobrevivência e reprodução, como pH entre 4,3 – 8,2; matéria orgânica entre 1,2 – 42 % e argila entre 1 a 29 % (Quadro 1) (KUPERMAN et al., 2006; ABNT NBR ISO 16387, 2012; VAŠÍČKOVÁ et al., 2015). Além disso, segundo Castro-Ferreira et al. (2012a) a criação destes organismos em meio ágar, como realizado neste estudo, confere uma ampla tolerância de diferentes propriedades do solo (pH, textura e teor de matéria orgânica).

A explicação da variabilidade da sobrevivência e reprodução pelos parâmetros do solo foi de 38,0 %. Como a combinação das propriedades do solo é responsável pela sobrevivência e reprodução de *E. crytpicus* (VAŠÍČKOVÁ et al., 2015), há uma grande porcentagem da variabilidade que não foi explicada pelos dados físicos e químicos utilizados. Este resultado, somado com a ausência de correlações significativas com o solo, geram duas possibilidades para a discussão da hipótese em estudo: (1) há uma forte efeito de algum contaminante(s) desconhecido no local de estudo, já que foi observada uma grande variação na sobrevivência e reprodução, pouco explicados pelas características do solo; (2) a pouca sensibilidade de *E. crypticus* aos atributos do solo desqualifica o ensaio ecotoxicológico na confirmação da ausência de efeitos de contaminantes no local.

3.5.2 Segunda Avaliação na Área da Subestação Elétrica Vanhagem

Na segunda avaliação foram coletados organismos pertencentes à 27 grupos da mesofauna do solo. Os principais representantes em número e frequência foram Acari, Collembola (Poduromorpha, Entomobryomorpha e Symphypleona), Formicidae e Protura (Tabela 10).

Tabela 10. Comunidade da mesofauna do solo representado pela média de indivíduos (em 100g de solo), frequência, riqueza média (número de grupos médio em quatro repetições) e índices de diversidade, na área da subestação elétrica Vanhagem na Floresta Nacional de Ipanema, SP.

	Fragmen	to Florestal	Pasto			
Grupos	Média	Frequência (%)	Média	Frequência		
Acari	11,73 a	100	10,88 a	100		
Araneae	0,10 a	30	0,05 a	20		
Auchenorryncha	0,03 a	10	0,03 a	10		
Chilopoda	0,05 a	20	0,05 a	10		
Coleoptera	0,35 a	50	0,38 a	90		
Diplopoda	0,70 a	50	0,18 b	20		
Formicidae	2,35 b	100	2,68 a	90		
Heteroptera	0,05 a	10	0,03 a	10		
Hymenoptera	0,13 a	50	0,05 a	10		
Isopoda	0,05 a	20	0,10 a	30		
Larva Coleoptera	0,33 a	50	0,18 a	20		
Larva Diptera	0,18 a	30	0,13 a	20		

_					
Protura	1,13 a	70	0,40 b	40	
Psocoptera	0,13 a	40	0,08 a	30	
Sternorryncha	0,35 a	40	0,15 a	20	
Symphyla	0,35 a	70	0,03 b	10	
Thysanoptera	0,13 a	40	0,28 a	40	
Tricoptera	-	-	0,03	10	
Poduromorpha					
Brachystomellidae	0,05 a	20	0,05 a	20	
Hypogastruridae	0,08	20	-	-	
Tullbergiidae	-	-	0,03	10	
Entomobryomorpha					
Entomobryidae	0,40 a	80	0,50 a	70	
Isotomidae	0,28 a	60	1,43 a	50	
Paronellidae	0,05 a	20	0,05 a	10	
Cyphoderidae	0,10 a	10	0,13 a	30	
Oncopoduridae	-	-	0,03	10	
Symphypleona					
Sminthuridae	-	-	0,03	10	
Total indivíduos	19,05 a				
Riqueza média	4,70 a	3,38 b			
Shannon	2,28	2,19			
Pielou	0,50	0,47			

Os grupos Acari, Entomobryomorpha e Protura são encontrados em diferentes tipos de coberturas vegetais e considerados muito importantes na decomposição e manutenção da fertilidade do solo. Geralmente dominam em abundância e diversidade em ambientes com cobertura vegetal mais densa, riqueza de espécies e melhores condições microclimáticas, como em fragmentos florestais (EISENBEIS & WICHARD, 1987; MAJER et al., 2007; MELO et al. 2009; MANHÃES et al., 2013; MELONI & VARANDA, 2015).

O número total de indivíduos coletados nos pontos de fragmento florestal foram superiores aos de pasto, assim como a riqueza média de grupos. Alguns grupos também apresentaram superioridade no número de indivíduos nos fragmentos florestais, como Diplopoda, Protura e Symphyla. Apenas Formicidae apresentou superioridade numérica no pasto. Em relação aos demais grupos, em sua maioria foram mais frequentes na área florestal comparados ao pasto. Não houve diferenças no número de indivíduos total e de cada grupo entre os pontos para a mesma cobertura vegetal. O maior número de indivíduos e riqueza média verificado no ambiente florestal deve-se também às modificações ocorridas no agroecossistema, o que altera as condições abióticas do solo e os materiais em decomposição, modificando a densidade das populações, diversidade de espécies e funções ecológicas dos organismos do solo, principalmente quando estes pertencem à mesofauna (MELO et al., 2009; HENNERON et al., 2015). Além disso, sistemas florestais possuem uma alta produção de serrapilheira e um sistema de raízes desenvolvido, criando um ambiente favorável para a comunidade da fauna do solo (MANHÃES et al., 2013).

As famílias de colêmbolos não apresentaram diferenças no número de indivíduos entre as coberturas vegetais. Porém, é importante destacar a ausência de algumas famílias em determinadas coberturas vegetais, devido à diferenças nas condições microclimáticas destes

habitats (HEINIGER et al., 2014), como Tullbergiidae, Oncopoduridae Sminthuridae nos fragmentos florestais e Hypogastruridae no pasto (Tabela 11). Dentre os presentes apenas nos ambientes florestais, os membros da família Hypogastruridae são geralmente encontrados sob cascas de árvores no solo (COLEMAN et al., 2004). Já dentre os presentes apenas no pasto estão indivíduos da família Sminthuridae, vistos com maior frequência em vegetação de porte rasteiro (HOPKIN, 1997) (Tabela 10).

A maior percentagem de indivíduos com dispersão lenta ou média é verificado na floresta quando comparado ao pasto (Tabela 11). Isto se deve a características morfológicas associadas à maior exploração de ambientes subterrâneos na vegetação florestal, como pequeno tamanho corporal e de comprimento das pernas, pouca proteção contra a dessecação, proteção contra predação por excretas tóxicas (pseudocella). No ambiente de pasto os indivíduos apresentam características adaptadas a hábito de vida superficial, como grande tamanho, alta mobilidade (longas pernas e fúrcula), proteção contra dessecação e predação e corpo pigmentado (SALMON & PONGE, 2012; SALMON et al., 2014; SILVA et al., 2016). A grande dominância de indivíduos meio-rápidos e rápidos em ambas coberturas está relacionada à dominância de indivíduos da subordem Entomobryidae, moradores da superfície do solo e da serrapilheira (EISENBEIS & WICHARD, 1987; HOPKIN, 1997).

Tabela 11. Categorias de capacidade de dispersão dos colêmbolos coletados na área da subestação elétrica Vanhagem na Floresta Nacional de Ipanema, SP.

Cotogorio do	Flo	resta	Pasto		
Categoria de dispersão	Média (%)	Frequência (%)	Média (%)	Frequência (%)	
Lento	2,7	10	1,1	10	
Médio	21,6	40	10,3	50	
Meio Rápido	70,3	80	88,5	90	
Rápido	5,4	20	0,0	0	

Com estas diferenças na comunidade da mesofauna do solo entre as coberturas vegetais, justificou-se realizar a análise redundância (RDA) de forma separada, com seus respectivos dados abióticos. O conjunto de atributos ambientais nos pontos dos fragmentos florestais (eixo x = 28,8), assim como os do pasto (eixo x = 28,6), explicam 100% da variabilidade de suas respectivas comunidades da mesofauna do solo (Figuras 11 e 12). Separando os atributos, no ambiente florestal, o conjunto de características físicas e químicas e a caracterização ambiental também explicam sozinhos 100% da variabilidade. Apenas o estoque de serrapilheira não explicou a totalidade da variabilidade, mas houve uma alta porcentagem de 86,1%. No pasto, as características físicas e químicas do solo explicou toda a variabilidade, enquanto a caracterização ambiental 65,0%. A total explicação da variabilidade dos dados da mesofauna, em ambas as coberturas, pelo conjunto de atributos físicos e químicos do solo, caracterização ambiental e serrapilheira estocada (para os pontos de floresta), mostram que na área de estudo não há outro fator influenciando de modo significativo estas comunidades, o que ocorreria se houvesse efeitos de contaminantes (VAN DEN BRINK, 2008; VAN DER PERK, 2012).

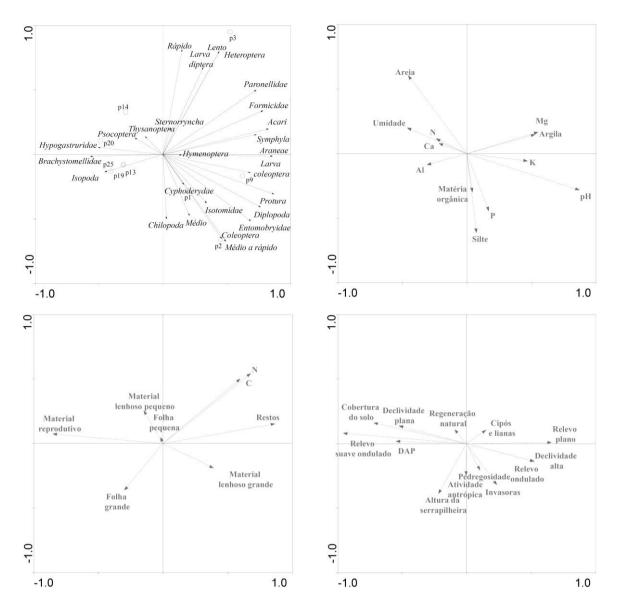


Figura 11. Análise de redundância (RDA) entre a comunidade da mesofauna e as características físicas e químicas do solo, caracterização ambiental e estoque de serrapilheira nos pontos de fragmento florestal, área da subestação elétrica Vanhagem na Floresta Nacional de Ipanema, SP.

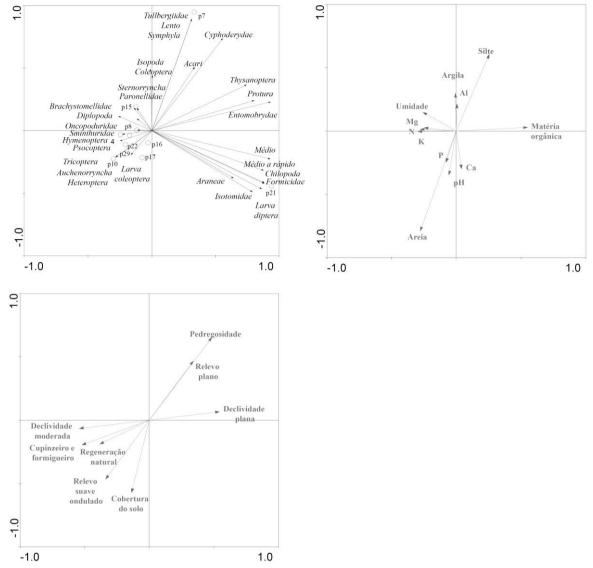


Figura 12. Análise de redundância (RDA) entre a comunidade da mesofauna e as características físicas e químicas do solo e a caracterização ambiental nos pontos de pasto, área da subestação elétrica Vanhagem na Floresta Nacional de Ipanema, SP.

As características físicas e químicas do solo mostraram-se relacionadas diretamente com a mesofauna (Figuras 10 e 11), assim como constatado por outros autores (LAVELLE & SPAIN, 2001; GARGNARLI et al., 2015). Dentre os componentes destas características, algumas relações com a mesofauna já são conhecidas, como a umidade (EISENBEIS & WICHARD, 1987, MENTA, 2012), a matéria orgânica que está relacionada com a decomposição e à qualidade da cobertura vegetal (WOLTERS, 2000; ARAÚJO et al., 2015; YUNFENG et al., 2015) e o pH por ser influenciado pela dominância de espécies arbóreas, disponibilidade de nutrientes e a própria umidade do solo (MENTA, 2012, MUELLER et al., 2015). As características ambientais também se mostram com um grande poder de explicação, principalmente na floresta. A importância de alguns atributos é notória e empírica, como por exemplo, a atividade antrópica, já que se trata de uma área degradada. Outros como relevo, declividade e pedregosidade estão ligados a processos erosivos, que causam grandes modificações no ambiente, principalmente na textura do solo (CHAPIN et al., 2011). Isto mostra que um único atributo abiótico (ex: física e química do solo) agrega relações com outros atributos (ex: estrutura da vegetação), o que promove seu elevado poder de explicação.

As interações existentes entre os grupos da mesofauna com os atributos abióticos, responsáveis pela variabilidade, são complexas e de difícil explicação. Um exemplo é o grupo coleoptera, que ocupam todos os estratos do solo, com uma grande diversidade de formas e hábitos alimentares, como predadoreas, fitófagas e saprófagas (EISENBEIS & WICHARD, 1987; COLEMAN et al., 2004). Entretanto outras podem ser explicadas a partir de informações da literatura. Os grupos Araneae e Chilopoda são os principais predadores da mesofauna habitantes do solo e serrapilheira, apresentando relações indiretas com o ambiente, estando mais relacionados com suas presas (EISENBEIS & WICHARD, 1987; COLEMAN et al., 2004).

No ambiente florestal, os grupos Acari e Collembola, principais representantes da mesofauna, possuem uma conhecida relação com o pH do solo (BIRKHOFER et al., 2012; HEINIGER et al., 2014; MUELLER et al., 2015). Para os colêmbolos das famílias Hypogastruridae e Brachystomellidae há uma maior abundância onde há uma espessa camada de serrapilheira (SANTORUFO et al., 2014), pois a maioria das espécies estão confinadas em solos úmidos (GREENSLADE, 1994). Os ácaros são abundantes em solos florestais e particularmente importantes na decomposição da serrapilheira (BINKLEY & FISHER, 2013), onde muitas espécies alimentam-se de detritos vegetais depositados sobre o solo (MENTA, 2012), como a fração "restos" da serrapilheira. Os isópodes terrestres possuem potentes peças mastigadoras, capazes de iniciar a decomposição e fragmentação de material vegetal sobre o solo, como as folhas de tamanho maior que 4 mm. Além disso, são altamente dependentes da temperatura e umidade do solo (EISENBEIS & WICHARD, 1987; COLEMAN et al., 2004; BINKLEY & FISHER, 2013). Os indivíduos da classe Diplopoda são os principais decompositores do solo, pois geralmente alimentam-se de detritos vegetais depositados sobre o solo (MENTA, 2012), como a fração restos da serrapilheira, que possuem uma maior concentração de nitrogênio, aumentando sua palatabilidade (WARREN & ZOU, 2002; GERLACH et al., 2012).

3.6 CONCLUSÕES

Na primeira avaliação a comunidade da mesofauna do solo mostrou-se influenciada pelos parâmetros físicos e químicos do solo, principalmente nos ambientes com presença de indivíduos arbóreos. A porcentagem da variabilidade explicada indica a ausência de efeitos de contaminantes desconhecidos na área da subestação elétrica, porém não exclui essa possibilidade definitivamente. Através do ensaio com *E. crypticus* não é possível fazer a mesma afirmação, pois seus resultados geram conclusões dúbias, que possivelmente seriam elucidadas apenas com a quantificação do possível contaminante em questão.

A seleção de pontos permitiu uma melhor caracterização ambiental, onde a variabilidade dos dados da comunidade da mesofauna do solo foi totalmente explicada pelos parâmetros abióticos, confirmando a inter-relação natural existente. Isto indica que outros fatores não caracterizados não exercem influência, o que não é esperado de possíveis contaminantes. Com isso, mesmo com um histórico de derramamento de óleo ascarel, gera-se um indício de que na camada superficial do solo não há contaminantes ou estes não estão biodisponíveis. Este tipo de abordagem, de fácil execução e análise de dados, é pioneiro no Brasil e deve ser melhor investigado em outras áreas e indicadores, com perspectiva que seja agregado a novos procedimentos de gerenciamento de áreas com histórico de contaminação, principalmente quando não se detectar o contaminante alvo.

4 CAPITULO II:

RISCO ECOLÓGICO E CRESCIMENTO INICIAL DE LEGUMINOSA ARBÓREA EM MATERIAL DE SOLO DE ANTIGA ÁREA DE MINERAÇÃO UTILIZADA COMO ESTANDE DE TIRO

4.1 RESUMO

Atividades de tiro possuem um grande potencial de causar contaminação por metais pesados, principalmente pelo chumbo. Já a atividade de mineração, além do impacto físico no ecossistema, causa aumento na concentração de bário no solo e na água. Estas atividades juntas potencializam os riscos à biota local, o que pode ser mensurado pela tríade de avaliação de risco ecológico. Além disso, é necessário avaliar a capacidade natural do ambiente para o restabelecimento da vegetação e consequentemente da retomada da ciclagem de nutrientes e matéria orgânica. Com isso, o objetivo deste estudo foi promover uma avaliação de risco ecológico no local e avaliar o potencial de crescimento inicial da leguminosa arbórea Albizia polycephala em material de solo proveniente desta área. O estande de tiro localiza-se em uma cava de mineração de calcário inativada, nas coordenadas 23°25'S/47°38'O. A coleta do material de solo foi realizada em agosto de 2015, a partir de dois transectos partindo do párabalas, contendo cinco pontos cada, equidistantes em cinco metros. Para cada ponto foram coletadas quatro subamostras na perpendicular do transecto, distantes um metro entre elas, na profundidade de 0-10 cm. Neste material de solo avaliou-se suas características físicas, químicas, concentração de metais pesados, comunidade de fungos micorrízicos arbusculares e da mesofauna edáfica, aspectos ecotoxicológicos e o crescimento inicial da leguminosa arbórea. Com exceção do ponto utilizado como referência (e5) todos os demais apresentaram concentrações de bário com potencial de interferir na biota do solo. Além disso, verificou-se uma alta concentração de chumbo no ponto e10, acima do tolerável inclusive para a saúde humana. Ambos metais promoveram altos valores de risco na linha de evidência química. A comunidade de fungos micorrízicos arbusculares foi representada por poucas espécies, em sua maioria tolerantes à contaminação. A comunidade da mesofauna do solo mostrou-se predominantemente influenciada por fatores do ambiente, indicando uma menor biodisponibilidade dos contaminantes aos organismos do solo. Os colêmbolos nesta comunidade são representandos principalmente por organismos meio-rápido, com hábito de vida superficial e também sem relação com os contaminantes em questão. Apesar destes resultados a agregação dos valores de risco na linha de evidência ecológica foram superiores ao considerado ideal para áreas naturais (0,25). Para a linha de evidência ecotoxicológica, verificou-se diferenças na sobrevivência e reprodução de Enchytraeus crypticus e Folsomia candida nos ensaios ecotoxicológicos, porém sem relação com os contaminantes avaliados. Este resultado pode estar relacionado a contaminantes não considerados e/ou às características limitante do material do solo do local, como o baixo teor de matéria orgânica. Com isso, houve uma grande variação nesta linha de evidência entre os pontos. O risco ecológico integrado superou o valor 0,25 em quase todos os pontos, o que motiva uma preocupação com os impactos dos usos novos e antigos do local. O crescimento da leguminosa não mostrou-se influenciado pela concentração dos contaminantes, ao contrário da colonização micorrízica que apresentou relação negativa com o bário. Com isso, constatou-se um potencial natural da área para a regeneração natural da vegetação que pode ser facilitado pela presença de microrganismos simbiontes ativos.

Palavras - chave: Contaminação do solo. Metais pesados. Floresta Nacional.

4.2 ABSTRACT

Shooting activities have a great potential to cause contamination by heavy metals, especially by lead. Mining activity, in addition to the physical impact on the ecosystem, causes an increase in the concentration of barium in soil and water. These activities together potentiate the risks to the local biota, which can be measured by the triad of ecological risk assessment. In addition, it is necessary to evaluate the natural capacity of the environment for the restoration of vegetation and consequently the recovery of the cycling of nutrients and organic matter. Thus, the objective of this study was to promote an ecological risk assessment at the site and to evaluate the initial growth potential of the tree legume Albizia polycephala in soil material from this area. The firing range is located in an inactive limestone mining pit at the coordinates of 23°25'S / 47°38'O. The soil material was collected in August 2015, from two transects starting from the bullet, containing five points each, equidistant in five meters. For each point, four subsamples were collected at the perpendicular of the transect, distant one meter between them, at depth of 0-10 cm. This soil material was evaluated its physical, chemical, heavy metal concentration, community of arbuscular mycorrhizal fungi and soil mesopause, ecotoxicological aspects and the initial growth of the tree legume. With the exception of the point used as reference (e5) all the others had barium concentrations with potential to interfere in the soil biota. In addition, there was a high concentration of lead at point e10, which is even more tolerable for human health. Both metals promoted high risk values in the line of chemical evidence. The community of arbuscular mycorrhizal fungi was represented by a few species, most of them tolerant to contamination. The soil mesofauna community was predominantly influenced by environmental factors, indicating a lower bioavailability of contaminants to soil organisms. The collo- buds in this community are represented mainly by medium-fast organisms, with superficial habit of life and also unrelated to the contaminants in question. Despite these results, the aggregation of risk values in the line of ecological evidence was superior to that considered ideal for natural areas (0.25). For the line of ecotoxicological evidence, there were differences in survival and reproduction of Enchytraeus crypticus and Folsomia candida in the ecotoxicological tests, but unrelated to the contaminants evaluated. This result may be related to contaminants not considered and / or to the limiting characteristics of the local soil material, such as low organic matter content. With this, there was a great variation in this line of evidence between the points. The integrated ecological risk has exceeded 0.25 in almost all points, which motivates a concern with the impacts of the new and old uses of the place. The growth of the legume was not influenced by the concentration of the contaminants, in contrast to the mycorrhizal colonization that presented negative relation with the barium. With this, it was verified a natural potential of the area for the natural regeneration of the vegetation that can be facilitated by the presence of active symbiotic microorganisms.

Key words: Soil contamination. Heavy metals. National Forest.

4.3 INTRODUÇÃO

No Brasil a Floresta Nacional é uma categoria de unidade de conservação da natureza, onde é permitido o aproveitamento econômico direto de seus recursos, se realizado de forma planejada e regulamentada. Tem como função principal contribuir para a manutenção da diversidade biológica e dos recursos genéticos, preservação e restauração da diversidade. No interior do Estado de São Paulo, a Floresta Nacional de Ipanema é a detentora da maior biodiversidade da região (BRASIL, 2000). Entretanto, possui usos que podem ser conflitantes com suas funções de conservação, como um estande de tiro instalado em uma antiga cava de mineração de calcário.

Atividades de tiro possuem um grande potencial de causar contaminação do solo e da água por metais pesados. O chumbo é o metal em maior porcentagem na constituição das balas, embora arsênio e antimônio também possam estar presentes. Os principais determinantes para os níveis destes metais no solo são a frequência de uso, tipo de munição, propriedades do solo e o clima no estande de tiro (SORVARI et al., 2006; AHMAD et al., 2012). Já a atividade de mineração, embora devaste áreas pontuais na paisagem, causa enormes impactos no ecossistema, como perda de biodiversidade em todas suas formas e aumento na concentração de bário no solo e na água (SUWA et al., 2008; CHAER et al., 2011). Estas atividades juntas potencializam os riscos à saúde humana e à biota local (LUO et al., 2014a).

O chumbo encontra-se em segundo lugar na lista de substâncias tóxicas prioritárias da ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) e USEPA (U.S. Environmental Protection Agency). Em estandes de tiro, os riscos da presença deste metal tendem a aumentar por se tratar de um material processado, o que o torna mais solúvel e biodisponível (REID & WATSON, 2005). Com isso a reversão para um estado sem contaminação é praticamente impossível (SELONEN et al., 2014). Os organismos do solo são os primeiros afetados pela contaminação por esse metal pesado, impactando também a diversidade e a estrutura da comunidade microbiana e de plantas, a cadeia trófica, funções ecológicas, processos fisiológicos e bioquímicos importantes para a fotossíntese e para o metabolismo do nitrogênio (SINGH et al., 1997; RANTALAINEN et al., 2006; XU et al., 2012; SOUZA et al., 2012a; SELONEN & SETALA, 2015).

O bário é um metal alcalino presente naturalmente no solo sem nenhuma função biológica conhecida, com potencial de causar efeitos deletérios graves na maioria dos organismos (LLUGANY et al., 2000; SUWA et al., 2008; LAMB et al., 2013). É conhecido por ser bastante imóvel no solo (PICHTEL et al., 2000). Em locais contaminados, como em áreas de mineração, geralmente as escassas plantas contém altas concentrações de bário em suas estruturas, o que pode impactar sua produtividade e aumentar o movimento deste metal na cadeia trófica e no ecossistema (LLUGANY et al., 2000; LAMB et al., 2013).

Para a adequação de um local com estas atividades no contexto de conservação previsto em uma Floresta Nacional, são necessários estudos que avaliem os tipos de contaminantes presentes, suas concentrações e os efeitos nos organismos do solo. Um dos modelos existentes para a avaliação sobre possíveis contaminantes é a abordagem em tríade de evidências, que se baseia no desdobramento simultâneo e integrado das informações químicas, ecotoxicológicas e ecológicas de um local para avaliação de risco. A maior pretensão é reduzir as incertezas (de um falso positivo ou um falso negativo) e obter uma resposta mais precisa quando comparado a uma simples avaliação da concentração de poluentes no local (MESMAN et al., 2006; RUTGERS & JENSEN, 2011). Esta ferramenta provê aos gestores de risco informações sobre a natureza, magnitude e distribuição do risco

aos receptores ecológicos (BIDDINGER et al., 2008), permitindo alcançar um processo de remediação, mudança do uso do solo ou de seu manejo sustentável (RUTGERS & JENSEN, 2011; RIBÉ et al., 2012; NIEMEYER et al., 2015).

O sucesso de intervenção para a revegetação de uma área contaminada depende principalmente do restabelecimento da ciclagem de nutrientes e pela escolha da espécie vegetal (RAO & TAK, 2002; CHAER et al., 2011). Algumas espécies de leguminosas arbóreas possuem capacidade de germinar e crescer em solos com altas concentrações de contaminantes, como o chumbo (SOUZA et al., 2012). A leguminosa *Albizia polycephala* (Benth.) Killip ex Record é possui dispersão anemocórica, ocorrendo em florestas ombrófilas e estacionais, ocupando o dossel florestal, além de interessantes associações com bactérias do gênero *Rhizobium*, produzindo nódulos abundantes (CARVALHO, 2006), o que melhora a proteção da planta contra contaminantes, aumento da absorção de nutrientes pelas raízes e fixação de nitrogênio do ar em solos degradados. Além disso, quando também associada com fungos micorrízicos arbusculares são capazes de promover a fitoestabilização e imobilização de metais pesados (MA et al., 2006; LIN et al., 2007; CHAER et al., 2011; SOUZA et al., 2012a; XU et al., 2012; BAN et al., 2015). Essa simbiose tem comprovada eficiência em áreas de mineração de calcário (RAO & TAK, 2002).

Assim, a presença do estande de tiro em uma cava de mineração pode levar à contaminação por chumbo, além da possibilidade da pré-existência do bário. Estes fatores independentes ou combinados são prejudiciais aos organismos do solo e consequentemente a futuras atividades de revegetação florestal nesta área, por seu potencial tóxico para as plantas e microrganismos simbiontes. Com isso, o objetivo deste estudo foi promover uma avaliação de risco ecológico no local e avaliar o potencial de crescimento inicial da leguminosa arbórea *Albizia polycephala* em material de solo proveniente desta área.

4.4 MATERIAL E MÉTODOS

4.4.1 Área de Estudo

A Floresta Nacional de Ipanema estende-se por mais de 5 mil ha na região Sudeste do Estado de São Paulo, abrangendo os municípios de Iperó, Araçoiaba da Serra e Capela do Alto, entre as latitudes Sul de 23°25' e as longitudes Oeste 47°35' e 47°40', com altitudes entre 550 e 971 metros (ALBUQUERQUE & RODRIGUES, 2000; MMA/IBAMA, 2003; FÁVERO et al., 2004).

O estande de tiro localiza-se em uma cava de mineração de calcário inativada, nas coordenadas 23°25'S/47°38'O, na elevação média de 650 m. Provavelmente a instalação neste local visou um distanciamento seguro dos principais locais de visitação e redução da poluição sonora (AHMAD et al., 2012). O acesso à área se dá por uma pequena estrada entre duas encostas com acentuada declividade (originadas a partir do corte do terreno), que apresentam trechos cobertos por vegetação herbácea, arbustivas e arbóreas. No interior da cava o material de solo é incipiente ou inexistente, com exposição do maciço rochoso em alguns pontos, com vegetação escassa. Há áreas onde ocorrem alagamentos, pois no lado oeste há a formação de uma ravina, propiciando o acúmulo de material de solo e umidade, propiciando a presença de indivíduos arbóreos de médio porte (Figura 13). O lado leste é um vale ocupado por uma densa vegetação de gramínea de grande porte, principalmente *Melinis* minutiflora (P. Beauv.) e *Megathyrsus maximus* (Jacq.) B. K. Simon & S. W. L. Jacobs e alguns indivíduos arbóreos.

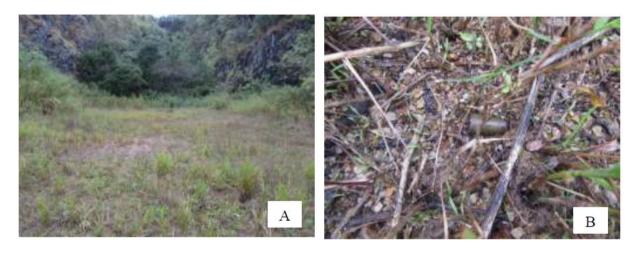


Figura 13. A: Aspecto geral do estande de tiro, com o lado oeste ao fundo. B: Capsula de bala encontrada sobre o material de solo.

As atividades do estande de tiro iniciaram entre 2008 e 2009, inicialmente para a formação e qualificação de servidores da academia nacional da biodiversidade (Acadebio). Entretanto servidores de outros órgãos como Aramar (Marinha), Ibama e da polícia também fazem treinos no local.

4.4.2 Estratégia de Amostragem na Área

A coleta do material de solo foi realizada em agosto de 2015, restrita à área considerada de influência do estande de tiro, em uma porção do terreno que não estava alagada. Inicialmente considerou-se o para-balas como o possível foco de contaminação na área. Com isso, a amostragem se deu por dois transectos partindo do pára-balas, contendo cinco pontos cada, equidistantes em cinco metros. Para cada ponto foram coletadas quatro

subamostras na perpendicular do transecto, distantes um metro entre elas, na profundidade de 0-10 cm. O material foi colocado em sacos plásticos identificados e levados ao laboratório. Esta estratégia visou avaliar a extensão da contaminação e de seus efeitos (Figura 14).

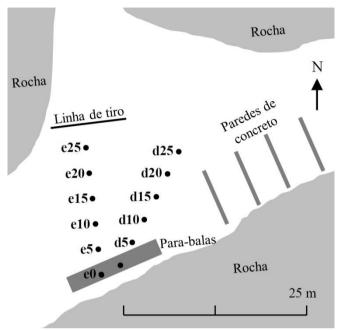


Figura 14. Distribuição dos pontos de amostragem de material de solo do estande de tiro na antiga área de mineração na Floresta Nacional de Ipanema, SP.

Uma parte das subamostras coletadas foi peneirada em malha de 2 mm para formar uma amostra composta de cada ponto. Nestas foram analisados o teor de matéria orgânica, textura (EMBRAPA, 2011), pH (KCL 1 mol L⁻¹) (ISO 10390, 2005), umidade (ISO 11465, 1993) e metais pesados totais (método SMWW 3120 B - Determinação de Metais Totais e Solúveis (Dissolvidos) por Espectrometria de Emissão Óptica).

4.4.3 Avaliação de Risco Ecológico

a) Linha de evidência química (ChLoE)

Os dados resultantes da análise química de metais pesados totais serão utilizados para o cálculo desta linha de evidência.

b) Linha de evidência ecológica (EcLoE)

Para a extração dos esporos de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) foram utilizados 50 g de material de solo de cada subamostra, através da técnica adaptada de peneiramento úmido (GERDEMANN & NICOLSON, 1963), e centrifugação em gradiente de densidade (JENKINS, 1964). Em seguida, com o auxílio de microscópio estereoscópio e uma placa de petri canelada, os esporos foram contados. A identificação das espécies foi feita segundo Schenck e Pérez (1988) e consulta aos sites da coleção internacional INVAN (http://invan.caf.wvu.edu/) e MycoBank (http://www.mycobank.org).

Amostrou-se a comunidade da mesofauna do solo utilizando a metodologia modificada do funil de Berlese-Tullgren (AQUINO et al., 2006). Para isso, em cada ponto coletou-se quatro amostras simples de solo de 100 g, na profundidade de 0-10 cm, que foram colocados em recipientes plásticos com tampas e identificados. Em laboratório cada amostra foi inserida em um recipiente plástico com uma grade de 2 mm em sua base, submetido a uma lâmpada incandescente de 20 W por 7 dias, com o propósito dos organismos reagirem ao

calor e moverem-se para baixo, caindo no frasco coletor contendo álcool 70%. Os indivíduos coletados foram contados e identificados em grandes grupos taxonômicos, de acordo com as descrições fornecidas por Dindal (1990). Sequencialmente, calculou-se o número de indivíduos, a riqueza total, a riqueza média e os índices de diversidade de Shannon Weaver (H = -∑ pi log pi) e a equabilidade de Pielou (e = H log R⁻¹), onde pi é a frequência relativa de indivíduos de cada grupo taxonômico e R é a riqueza definida como o número de diferentes unidades taxonômicas coletadas em cada área avaliada (ODUM & BARRETT, 2011). A ausência ou presença de grupos também foi considerada por sua simples ocorrência.

Os colêmbolos foram classificados quanto à sua capacidade de dispersão, baseado em um conjunto de características morfológico-funcionais, como proposto por Hopkin (1997) e Parisi et al. (2001). Em cada indivíduo foram observadas características e/ou aspecto da furca, ocelos, antenas, cor e pelos/escamas, sendo atribuídas notas conforme a Tabela 12. A soma das notas define a categoria de dispersão deste indivíduo: 1 - 5 = muito lento; 6 - 10 = lento; 11 - 15 = médio; 16 - 20 = meio rápido; 21 - 25 = rápido.

Tabela 12. Características morfológicas utilizadas para definir a categoria de dispersão dos colêmbolos.

Característica	Categoria	Nota
	Ausente	1
Furca	Curta	3
	Desenvolvida	5
	zero	1
	um a dois	2
Ocelos	três a quatro	3
	cinco a seis	4
	sete a oito	5
	< 25%	1
Comprimento da	25 a 50%	2
antena em relação	50 a 75%	3
ao corpo	75 a 100%	4
	> 100%	5
	Branco	1
	Creme ou cor fraca	2
Cor	Clara a média	3
	Azul escuro ou preto	4
	Colorido/Metálico/Manchado/Listrado	5
	Ausente	1
Pelos e escamas	Pêlos	3
	Escamas	5

c) Linha de evidência ecotoxicológica (ELoE)

Para os ensaios ecotoxicológicos, as subamostras de material de solo foram peneiradas em malha de 4 mm para formar uma amostra composta por ponto. A utilização desta malha foi necessária devido à grande quantidade de lascas de rocha e pequena quantidade de material de solo fino. Visando a completa eliminação de organismos da fauna edáfica as

amostras compostas foram submetidas a dois ciclos intercalados de congelamento e descongelamento, de 24 h cada (PESARO et al., 2003). Os ensaios com *F. candida* e *E. crypticus* seguiram as normas obrigatórias e recomendadas (ABNT NBR ISO 11267, 2011) e (ABNT NBR ISO 16387, 2012), respectivamente. Foi conduzido em câmara de incubação com controle de temperatura (18 a 22 °C), fotoperíodo (16 h de luz para 8 h de escuro) e intensidade luminosa (400 a 800 lux). A umidade do solo foi mantida constante ao longo do experimento e a variação média do pH entre o início e o final para todas pontos foi igual ou menor que 0,9.

O organismo teste da espécie *Enchytraeus crypticus* foram criados em placas de petri contendo meio ágar, em um ambiente de temperatura constante de 20 ± 2 °C. Utilizaram-se recipientes cilíndricos transparentes (40 mL) com tampa, contendo 30 g do solo úmido e 50 mg de aveia em flocos finos (alimento). Em cada recipiente, foram inseridos 10 indivíduos clitelados, selecionados e coletados em estereomicroscópio. Semanalmente os potes foram abertos para aeração e correção da umidade do solo, e adição de 25 mg de aveia sobre a superfícies do solo nos recipientes com organismos. O ensaio teve duração de 28 dias. Ao final, os recipientes foram preenchidos com solução de Rosa de Bengala a 1 % de etanol, promovendo a coloração dos organismos e facilitando a contagem dos adultos e juvenis sob estereomicroscópio.

Os indivíduos de *Folsomia candida* foram criados em substrato formado por gesso e carvão ativado, na proporção de 8:1, em um ambiente de temperatura constante de 20±2 °C. No ensaio, utilizaram-se recipientes cilíndricos transparentes (80 mL), contendo 30 g de solo úmido e 2 mg de fermento seco granulado (alimento). Em cada recipiente, foram adicionados 10 indivíduos sincronizados com 10 a 12 dias de vida. Semanalmente os potes foram abertos para aeração e correção da umidade do solo, e adição de 2 mg de fermento granulado sobre a superfície do solo, nos recipientes com organismos. O ensaio teve duração de 28 dias. Ao final, o solo contendo os organismos foi colocado em um recipiente maior (500 mL), sendo adicionada água destilada até sua total cobertura e promovendo leve agitação com espátula, promovendo a flutuação dos organismos vivos. Algumas gotas de tinta de carimbo na cor azul-escura foram utilizadas para destacar os organismos. Os indivíduos adultos foram contados visualmente; e os juvenis, pela contagem manual em fotografias no software ImageToll 3.0.

4.4.4 Cálculo do Risco Ecológico

Os cálculos utilizados propõe transformar os valores de cada atributo em uma escala de 0 a 1, onde 0 seria o menor risco ecológico e 1 o máximo. Para isso, dependendo da natureza dos dados diferentes fórmulas são aplicadas.

Na linha de evidência química considerou-se a concentração de bário em cada ponto dividida pelo valor de prevenção (Concentração / 350) e do chumbo pela mesma concentração encontrada, já que o a concentração verificada é superior ao valor de investigação.

Na linha de evidência ecológica a comunidade da mesofauna e os traits funcionais foram calculados na escala de 0 a 1 através do método BKX, onde o dado de cada categoria (ordens no caso da mesofauna e características morfológicas para os traits funcionais) em cada ponto é dividido pela referência (x/e5). Após isso é calculado o log de cada dado (log (x)), seguido pelo cálculo da soma de todos os dados por ponto, cujo resultado é multiplicado por -1. Por fim o valor é dividido pelo número de categorias. O cálculo para a comunidade dos fungos micorrízicos é baseada na resposta positiva na referência pela amostra controle. Assim, inicialmente o número de esporos encontrado em cada ponto é dividido por 110, um valor ligeiramente superior ao encontrado por e10 (106). Para o cálculo na escala 0 a 1, cada dado é calculado pela fórmula (referência – X) / (1 – referência).

Na linha de evidência ecotoxicológica, os dados de sobrevivência de F. candida e E. crypticus foram inicialmente submetidos à fórmula (10-X)/10. Após isso, cada dado foi calculado em relação à referência pela fórmula (X-referência)/(1-referência). Para a reprodução destes organismos, cada dado de reprodução foi dividido pela referência (x/e5). Após isso é calculado o log de cada dado $(\log (x))$, seguido pela multiplicação por por -1. Após isso cada dado foi submetido à fórmula $1-(10^X)$.

Para integrar os dados em cada linha de evidência foi calculado o log (1-X) de cada dado, calculada a média simples para cada ponto e calculado na escala de 0 a 1 pela fórmula 1-(10^x). Para o cálculo do risco integrado, o cada dado foi submetido à formula log (1-X), seguido pela média simples das três linhas de evidência e por fim pela fórmula 1-(10^X).

4.4.5 Avaliação do Crescimento Inicial da Leguminosa Albizia polycephala

No laboratório, o material de solo foi seco ao ar por 48 horas e peneirado em malha de 4 mm. A utilização desta malha foi necessária devido à grande quantidade de lascas de rocha e pequena quantidade de material de solo fino. Após isso, formou-se uma amostra composta de cada ponto, a partir da mistura das sub-amostras.

As sementes de *Albizia polycephala*, adquiridas comercialmente foram desinfectadas superficialmente por imersão em hipoclorito de sódio a 2% por 3 minutos. Em seguida foi realizada a escarificação mecânica, utilizando lixa (nº 100) para facilitar a absorção de água pela semente. Duas sementes forma dispostas em cada tubete de plástico rígido de 60 ml, contendo o material de solo peneirado. A plântula que apresentou o 1º par de folhas foi mantida no tubete, sendo a outra cortada em sua base. O experimento foi conduzido em casa de vegetação não estéril à temperatura média de 25°C e umidade próxima a 60%, em delineamento de blocos inteiramente casualizados com dez repetições, durante 60 dias.

Após a semeadura, foram realizadas avaliações quinzenais de altura (utilizando régua com escala em centímetros) e diâmetro na altura do colo (utilizando paquímetro digital com escala em milímetros). Ao final, foram realizadas avaliações do peso da matéria seca da parte aérea (g) da matéria seca da raiz (g), da matéria seca de nódulos (g) e taxa de colonização das raízes (%). Para avaliar a colonização micorrízica das raízes, estas foram inicialmente lavadas em água corrente e coletou-se aleatoriamente 0,5 g de raízes finas por amostra. Individualizadas em tubos de ensaio, foram submetidas na sequência ao hidróxido de potássio 2,5% por 24 horas, lavagem em água corrente, ácido clorídrico 1% por 24 horas e corante azul de metila 0,05% em glicerol acidificado por 24 horas. A porcentagem de estruturas fúngicas na raiz foi quantificada pelo método de interseção em placa quadriculada, onde a amostras são dispostas em uma placa de Petri com um quadriculado de ½ polegada e observadas em microscópio estereoscópico. Foram observados 100 segmentos de raízes cruzando as linhas do quadriculado em cada amostra, verificando a presença ou ausência da colonização.

Os dados foram analisados quanto à homogeneidade das variâncias pelo teste Levele, e quanto à normalidade, pelo teste Kolmogorov-Smirnov. Os dados paramétricos e não paramétricos foram comparados entre os pontos pelo teste de Scott-knott e Friedman e as análises de correlação de Pearson e Spearman, respectivamente, a 5%. Para minimizar as diferenças nos atributos do solo e analisar os efeitos dos contaminantes, os pontos foram divididos em grupos a partir da análise de componentes principais (PCA) (LEPS & SMILAUER, 2003) utilizando os dados de física e química (com exceção dos contaminantes) do material do solo.

4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.5.1 Avaliação de Risco Ecológico

O material de solo da área de estudo apresenta de baixo (<2%) a médio (2 – 6%) teor de matéria orgânica (de acordo com USEPA, 2004). Apresenta característica principalmente siltosa (SANTOS et al. 2005) ou Loam pela classificação internacional (USDA). O material de solo do ponto *e0* foi classificado como franco argiloso. Na tabela 13 são apresentadas as características físicas e químicas dos pontos amostrados e a concentração dos metais que apresentaram valores de referência superiores ao de investigação (CETESB, 2014). Na tabela 14 apresenta-se a concentração de outros metais pesados verificados nos pontos e15 e d15.

Tabela 13. Características físicas e químicas e concentração de metais pesados do material de solo nos pontos amostrados do estande de tiro na antiga área de mineração na Floresta Nacional de Ipanema, SP.

Ponto	e5	e10	e15	e20	e25	d5	d10	d15	d20	d25
Matéria orgânica (%)	0,50	0,57	0,86	2,29	1,34	0,83	0,90	0,67	1,43	2,17
pH (KCl 1M)	6,98	7,1	7,13	7,72	7,89	7,22	7,53	7,41	7,43	7,39
Umidade %	14,04	14,91	17,73	20,14	13,84	13,13	20,55	19,77	16,23	12,86
Areia (%)	15	50,5	44,8	46,2	51,3	33,2	22,5	13,2	49,3	45,5
Argila (%)	19,3	21,7	20,6	16,2	12,2	24,4	18,7	21,5	19,9	20,9
Silte (%)	65,7	27,8	34,6	37,6	36,5	42,4	58,8	65,3	30,8	33,6
Bário (mg kg ⁻¹)	66,1	298,8	226,2	266,8	305,5	187,7 *	346,4	330,2*	241,9	173,5
Chumbo (mg kg ⁻¹)	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5	674,3*	< 0,5	< 0,5

Tabela 14. Concentração de outros metais pesados no do material de solo nos pontos e15 e d15 amostrados do estande de tiro na antiga área de mineração na Floresta Nacional de Ipanema, SP.

Metal pesado	Referência de Qualidade	Prevenção	Investigação	e15	d15
Cobre (mg kg ⁻¹)	35	60	760	27,6	27,3
Cromo (mg kg ⁻¹)	40	75	150	6,03	7,21
Níquel (mg kg ⁻¹)	13	30	190	16,3	19,6
Zinco (mg kg ⁻¹)	60	86	1900	53,2	63,9

Para minimizar uma possível influência de variações nas características do solo entre os pontos amostrados, realizou-se uma análise multivariada de componentes principais, considerando o teor de matéria orgânica, o pH e as porcentagens de areia, silte e argila. Com exceção do ponto e0, os demais formaram um único grupo, o que indica semelhanças entre si e, consequentemente, pouca influência destes fatores nos resultados ecotoxicológicos e ecológicos. A diferenciação do ponto e0 é explicada por se tratar de um solo de característica argilosa inserido na área, com a função de para-balas, sendo desconsiderado para as demais avaliações.

Geralmente em estandes de tiro observa-se um gradiente de contaminação por chumbo (MIGLIORINI et al., 2005). Porém apenas no ponto *d15* este metal está presente e em concentração de 674,3 mg kg⁻¹, acima do valor de referência mais extremo, denominado de intervenção, de 150 mg kg⁻¹ para áreas agrícolas, segundo os critérios do órgão ambiental do Estado de São Paulo (CETESB, 2014). Quando o valor de um contaminante ultrapassa o valor de prevenção existem riscos potenciais, diretos ou indiretos, à saúde humana, considerando um cenário de exposição padronizado (CONAMA, 2009).

A concentração de bário, com exceção do ponto *e5*, ultrapassa somente os valores de prevenção de 120 mg kg⁻¹, que são mais brandos comparados aos valores de investigação. Entretanto os valores de prevenção são estabelecidos com base em ensaios de fitotoxicidade ou em avaliação de risco ecológico. Segundo o órgão ambiental, quando este é ultrapassado há prejuízo nas principais funções ecológicas do solo, como: sustentação da vida de forma geral (animais e plantas); manutenção do ciclo de nutrientes; capacidade de degradação e transformação de substâncias químicas e organismos (CONAMA, 2009). Com isso, constatase a importância na avaliação de risco no local.

Para proceder com a análise e considerando que as características do material do solo são encontrados apenas no interior da cava de mineração, selecionou-se o ponto *e5* como referência de comparação.

a) Comunidade de fungos micorrízicos arbusculares

O número de esporos de fungos micorrízicos nos pontos investigados não apresentou diferenças em relação ao ponto referência (e5). Em relação à diversidade, observa-se em todos os pontos avaliados a pequena quantidade de espécies (Tabela 15), o que também foi observado em uma antiga área de mineração de gesso (MERGULHÃO et al., 2010).

Tabela 15. Comunidade de fungos micorrízicos arbusculares nos pontos amostrados da antiga área de mineração utilizada como estande de tiro.

Ponto	Esporos g ⁻¹ solo	Espécies
e5 (Referência)	34.8 ± 11.0	Glomus macrocarpum
e10	$106,3 \pm 52,1$	Glomus etunicatum
e15	$18,7 \pm 8,1$	Glomus etunicatum
e20	$35,6 \pm 7,0$	Glomus etunicatum
e25	$97,6 \pm 68,8$	Acaulospora scrobiculata
d5	$82,4 \pm 19,7$	Glomus etunicatum
d10	$50,7 \pm 16,9$	Glomus etunicatum
d15	$84,6 \pm 23,9$	Entrophospora infrequens / Glomus faciculatus
d20	$54,5 \pm 18,4$	Glomus faciculatus
d25	$22,4 \pm 4,1$	Glomus etunicatum

Contaminantes como os metais pesados podem atuar como um forte agente seletivo, permitindo que apenas espécies melhor adaptadas (através de mecanismos metabólicos) a esta exposição consigam completar o ciclo de vida (DEL VAL et al., 1999; PAWLOWSKA & CHARVAT, 2004; ZAREI et al., 2008). Uma estratégia utilizada por estes fungos, além da adaptação, é não ocupar microhabitats do solo onde há maior concentração de íons do metal (PAWLOWSKA & CHARVAT, 2004). Além disso, nestes ambientes onde houve exploração mineral, a ausência de plantas também é um fator limitante para a baixa diversidade de espécies de FMA (SILVA et al., 2005). O entendimento destes fatores pode facilitar o manejo

dos microorganismos úteis em estratégias futuras de recuperação florestal e/ou biorremediação do local (DEL VAL et al., 1999).

O gênero *Glomus* é dominante na área de estudo, onde a espécie *G. etunicatum* foi identificada para a maioria dos pontos. Esta espécie de FMA já foi observada em outras áreas de solo contaminado por metais pesados, com alta frequência de ocorrência (ZAREI et al., 2008; WU et al., 2010) e taxa de colonização micorrízica em uma leguminosa arbórea sob contaminação por cobre (LINS et al., 2006). Apenas no solo referência identificou-se a espécie *G. macrocarpum*, apesar desta ser capaz de suportar condições de contaminação por chumbo acima de 300 mg kg⁻¹ (ANDRADE et al., 2004; SILVA et al., 2005).

Em relação às demais espécies, *E. infrequens* foi encontradas apenas no ponto com elevada concentração de chumbo. Esta espécie já foi identificada em antiga área de mineração contaminada com arsênio (GONZALES-CHAVEZ et al., 2002). A espécie *A. scrobiculata* foi identificada apenas no ponto *e25*, onde se encontra um dos níveis mais elevados de bário, embora possa ser sensível a contaminação por metais pesados (SCHNEIDER et al., 2013)

A presença desta comunidade de fungos micorrízicos na área de estudo é de extrema importância, pois auxiliam as plantas a tolerar a toxicidade dos metais pesados e na proteção de suas raízes. Com isso tem grande potencial de promover um importante papel no estabelecimento da vegetação nativa (ANDRADE et al., 2004; ZAREI et al., 2008) e na formação de uma camada de serrapilheira sobre o solo, que proverá alimento e habitat para a fauna do solo (FROUZ et al., 2008). Além disso, há o estímulo para outros grupos de organismos da comunidade microbiana (VAN AARLE et al., 2003).

b) Comunidade da mesofauna do solo

A mesofauna do solo amostrada foi representada por 679 indivíduos pertencentes a 21 grupos, sendo os principais representantes Acari, Formicidae e algumas famílias de Collembola. Não se verificou diferenças no número total de indivíduos e riqueza média de espécies entre o ponto referência e os demais, assim como para cada um dos grupos quando estes ocorriam no ponto referência.

Os grupos Acari e Entomobryomorpha são encontrados em diferentes tipos de coberturas vegetais e considerados muito importantes na decomposição e manutenção da fertilidade do solo. Geralmente dominam em abundância e diversidade em ambientes com grande riqueza de espécies vegetais e composição densa, pois há melhores condições microclimáticas (EISENBEIS & WICHARD, 1987; MAJER et al., 2007; MELO et al. 2009; MANHÃES et al., 2013; MELONI & VARANDA, 2015).

O conjunto de atributos do solo explicaram 77,0% (x = 28,2%; y = 22,0%) da variabilidade dos dados da comunidade da mesofauna, através da análise de redundância (RDA). Dentre estes atributos considerados, as concentrações dos metais bário e chumbo são menos relevantes para a comunidade da mesofauna do solo se comparados à porcentagem de argila, o pH e a umidade, por exemplo (Figura 15), o que pode ser notado pelo comprimento do vetor que o representa.

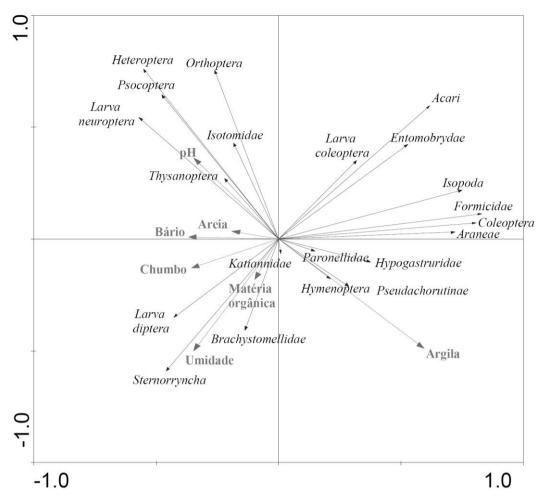


Figura 15. Análise de redundância da comunidade da mesofauna do solo com os atributos ambientais na antiga área de mineração utilizada como estande de tiro

A textura do solo é uma importante característica para a comunidade da mesofauna do solo, pois está diretamente relacionada à umidade e ao teor de matéria orgânica (LAVELLE & SPAIN, 2001), porém esta relação é pouco explorada e explicada na literatura, principalmente para a mesofauna. A influência do pH já é melhor conhecida, principalmente para ácaros e colêmbolos, sendo intensificada principalmente em locais mais conservados (BIRKHOFER et al., 2012; HEINIGER et al., 2014; MUELLER et al., 2015; SILVA et al., 2016), também influenciada pela umidade do solo (MENTA, 2012, MUELLER et al., 2015).

Através da análise de redundância verificou-se a relação da família Brachystomellidae, caracteristicamente euedáfica (GREENSLADE, 1994), com uma maior umidade, teor de matéria orgânica e baixo pH. Ao contrário, nota-se uma relação da família Entomobrydae, de hábito principalmente edáficos sobre a serrapilheira ou solo (HOPKIN 1997), com solos de baixo teor de matéria orgânica e alto valor de pH, como preconizado por SILVA et al. (2016). Para as demais famílias não é possível fazer relações com o ambiente, devido ao ainda elevado nível taxonômico.

Assim, na área de estudo com o histórico de mineração e o uso atual de treinamento de tiro, a comunidade da mesofauna está sendo influenciada principalmente pelas características do ambiente. Entretanto, sabe-se que a comunidade de microartrópodes é um indicador sensível a contaminantes do solo, pois apresentam alterações na diversidade e a densidade de alguns grupos, como ácaros, colêmbolos, enquitreídeos, proturos e sínfilos (MIGLIORINI et al., 2004; MIGLIORINI et al., 2005; SANTORUFO et al., 2014; SELONEN et al., 2014).

Esta menor influência dos metais pesados no estande de tiro é um resultado que também foi observado por outros autores, podendo estar relacionada à baixa disponibilidade e/ou solubilidade destes para os organismos do solo (LOCK et al., 2003; MIGLIORINI et al., 2004). Assim,

Os colêmbolos da área de estudo pertencem a quatro categorias de capacidade de dispersão. A categoria onde ocorre o maior número de indivíduos é o meio rápido, para a qual não houve diferenças entre os pontos amostrados em relação à referência (e5). As categorias de dispersão bem como a distribuição dos indivíduos nelas não se mostraram relacionada aos teores de bário e à presença de chumbo, já que no ponto referência todos os organismos pertencem a uma única categoria de dispersão, assim como no ponto d15 que é o único onde ambos metais pesados estão presentes (Tabela 16).

Tabela 16. Nota média da classificação dos colêmbolos para cada *trait* funcional e representatividade dos *traits* de dispersão na antiga área de mineração utilizada como estande de tiro.

Ponto	Furca	Ocelos	Antena	Cor	Pelos e escamas	Lento	Médio	Meio rápido	Rápido
e5	5	5	2	3	3	-	-	1,75 (100 %)	-
e10	4	4	1	3	3	0,25 (7 %)	0,75 (20 %)	2,75 (73 %)	-
e15	4	5	1	4	3	-	-	1,75 (100 %)	-
e20	3	5	1	4	3	-	-	6,50 (93 %)	0,50 (7 %)
e25	4	4	1	4	3	0,50 (8 %)	1,50 (24 %)	4,25 (68 %)	-
d5	5	5	2	4	3	-	0,25 (7 %)	2,75 (73 %)	0,75 (20 %)
d10	3	5	1	4	3	-	-	32,75 (100 %)	-
d15	3	5	1	4	3	-	-	8,0 (100 %)	-
d20	3	4	1	3	3	1,75 (15 %)	0,50 (4 %)	9,75 (81 %)	-
d25	3	5	1	3	3	-	0,75 (33 %)	1,25 (56 %)	0,25 (11 %)

Avaliando-se a média ponderada dos *traits* morfológicos na área de estudo e na Tabela X, os indivíduos possuem furca desenvolvida, de cinco a oito olhos, antenas curtas, coloridos e com pêlos, o que condiz com a predominância de organismos meio-rápidos e com o ambiente em estudo, ou seja, aberto (adaptados à alta luminosidade), com pouca vegetação e/ou de porte rasteiro (EISENBEIS & WICHARD, 1987; HOPKIN, 1997; SALMON & PONGE, 2012; SALMON et al., 2014; SILVA et al., 2016; WINCK et al., 2017).

Em solos contaminados espera-se uma redução no número de espécies e consequentemente nos estratos explorados do solo, assim como observado no local em estudo, onde há uma grande predominância de indivíduos habitantes da superfície do solo (epigéicos). Dependendo do contaminante e no local onde estes se concentram, são esperando efeitos mais marcantes indivíduos epigeicos ou euedáficos (HEUPEL et al., 2002). Entretando, como não há relação com teores dos contaminantes investigados, não é possível confirmar esta relação.

c) Ensaios ecotoxicológicos

A sobrevivência e a reprodução de F. candida e E. crypticus em alguns dos pontos avaliados apresentaram diferenças em relação à referência (Figura 16). Porém este resultado não apresentou relação significativa com os teores de bário (p<0,05) e com a presença de chumbo no ponto d15.

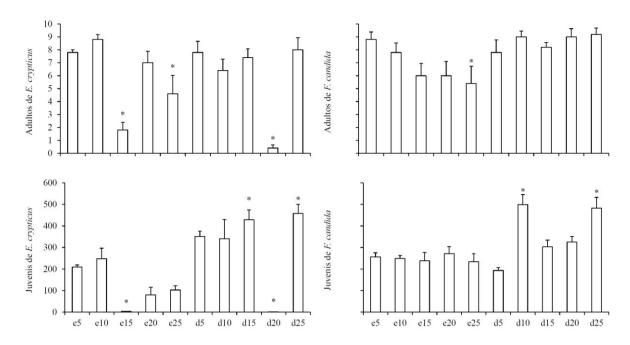


Figura 16. Sobrevivência e reprodução de *E. crypticus* e *F. candida* em solo proveniente de cava de mineração utilizada como estande de tiro.

Apesar destes resultados sabe-se que os metais pesados causam toxicidade em organismos do solo. Há poucas informações ecotoxicológicas sobre o bário na literatura, mas já observou-se que um solo contaminado com barita (sufato de bário) causou a mortalidade e a perda de peso do oligoqueto *E. fetida* (LAMB et al., 2013). Para o chumbo, já verificou-se que concentrações de 947 mg/kg e 478 mg/kg, esta segunda menor que a verificada no ponto d15, causaram uma redução em 50% na reprodução de *E. crypticus* e *F. candida*, respectivamente (KUPERMAN et al., 2009).

Com isso, uma hipótese para existir diferenças pode estar ligada a presença de contaminantes não avaliados ou a uma influência direta das características físicas e químicas do material de solo na área de estudo e sua relação com as exigências ecológicas dos organismos teste. Sobre esta segunda hipótese, as exigências ecológicas para F. candida não está bem estabelecida, mas observou-se que modificações no comportamento de fuga, sobrevivência e reprodução foram influenciados por propriedades do solo, como o alto teor de matéria orgânica e o pH (NIEMEYER et al., 2010; LUO et al., 2014c). Para E. crypticus sabese que sua sobrevivência e reprodução não são afetadas se estiverem na faixa de pH entre 4.3 - 8,2; matéria orgânica entre 1,2 - 42% e argila entre 1 a 29% (KUPERMAN et al., 2006; ABNT NBR ISO 16387, 2012; VAŠÍČKOVÁ et al., 2015). Com isso, os teores de matéria orgânica (Tabela 12) nos pontos e5, e10, e15, d5, d10 e d15 estão abaixo do que é considerado ideal, o que pode ter influenciado nos resultados. Outro fator a ser considerado, porém indireto, é que a degradação das balas, a toxicidade e biodisponibilidade dos metais pesados também são influenciadas pelos atributos do solo (SORVARI et al., 2006; BRADHAM et al., 2006; KARJALAINEN et al., 2009; CHAPMAN et al., 2013; LUO et al., 2014a; SELONEN & SETALA, 2015), tornando a avaliação dose-resposta mais complexa quando se compara solos com algumas diferenças físicas e químicas, mesmo que pequenas.

Outros autores também relataram a dificuldade de interpretar parâmetros toxicológicos derivados de estudos de campo, devido a co-contaminantes, derivados da degradação dos contaminantes e variações nas propriedades do solo (LUO et al., 2014a). Com isto, enfatiza-se a importância da avaliação ecotoxicológica dentro do contexto de tríade de evidência, pois contempla o efeito de outros fatores não considerados em seus resultados, sendo considerada

uma ferramenta mais realista para a avaliação de risco ambiental (JENSEN et al., 2006; SORVARI et al., 2013)

d) Avaliação de risco ecológico

Para a linha de evidência química apenas os pontos d5 e d25 apresentaram valores de risco abaixo do limite máximo de 0,25 para áreas naturais (Tabela 17), segundo critério sugerido por Jensen & Mesman (2006). Os valores superiores a este limite estão relacionados principalmente ao teor de bário, já que a presença do chumbo foi verificada apenas no ponto d15, onde atingiu-se o maior valor de risco de 0,97. Para o cálculo destes valores utilizou-se como referência as concentrações no ponto d5, ou seja, zero para o chumbo e 66,1 mg kg⁻¹ para o bário. Uma outra alternativa testada foi utilizar os valores de solo referência da Cetesb (2014), de 17 mg kg⁻¹ para o chumbo e 75 mg kg⁻¹ para o bário, porém gerou os mesmos resultados de risco na linha de evidência química.

Tabela 17. Resultado de cada atributo e do conjunto nas linhas de evidência química (ChLoE), ecológica (EcLoE) e ecotoxicológica (ELoE) na antiga área de mineração utilizada como estande de tiro.

attitzada como estande de tiro.									
	e10	e15	e20	e25	d5	d10	d15	d20	d25
Ba	0,78	0,46	0,64	0,81	0,29	0,98	0,91	0,53	0,23
Pb	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,99	0,00	0,00
Evidência química (ChLoE)	0,53	0,27	0,40	0,56	0,16	0,87	0,97	0,31	0,12
Comunidade da mesofauna do solo	0,55	0,71	0,70	0,75	0,65	0,78	0,74	0,73	0,61
Comunidade de fungos micorrizicos	0,95	0,00	0,01	0,83	0,63	0,21	0,66	0,26	0,00
Traits funcionais em collembola	0,17	0,22	0,23	0,23	0,09	0,26	0,26	0,25	0,18
Evidência ecológica (EcLoE)	0,74	0,39	0,39	0,68	0,51	0,50	0,60	0,47	0,32
Juvenis E. crypticus	0,00	0,99	0,62	0,51	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00
Juvenis F. candida	0,03	0,07	0,00	0,09	0,25	0,00	0,00	0,00	0,00
Adultos E. crypticus	0,00	0,77	0,10	0,41	0,00	0,18	0,05	0,95	0,00
Adultos F. candida	0,11	0,32	0,32	0,39	0,11	0,00	0,07	0,00	0,00
Evidência ecotoxicológica (ELoE)	0,04	0,79	0,30	0,37	0,10	0,05	0,03	0,88	0,00

Na linha de evidência ecológica a comunidade da mesofauna do solo apresentou valores de risco com pouca variação entre os pontos, de 0,55 a 0,78, porem superior ao limite ideal para áreas naturais (0,25), sendo este o maior contribuidor para os maiores valores na linha de evidência ecológica. Essa homogeneidade entre os pontos pode estar relacionada ao método da análise BKX triad utilizada, onde valores muito altos ou muito baixos não contribuem fortemente na média, já que são submetidos à base logaritimica. Semelhante à comunidade da fauna, o risco calculado a partir dos *traits* de dispersão dos colêmbolos apresentou pequena variação, porém mais próxima ao limite de 0,25. A comunidade de fungos micorrízicos, representada pelo número de esporos, apresentou uma ampla variação de risco, do zero a 0,95. Esta variação pode estar associada à ocorrência diferenciada das espécies entre os pontos.

Na linha de evidência ecotoxicológica nota-se uma ampla variação de risco, derivado principalmente dos diferentes resultados gerados pelos dois organismos testes. De forma geral a sobrevivência e reprodução de *E. crypticus* revelou maiores riscos quando comparado ao que foi verificado com *F. candida*, resultado já verificado para contaminação por metais

(NIEMEYER et al., 2015). Entretanto, em algums pontos (e10 e d5) ocorre o oposto, ou seja, os valores do risco derivado dos ensaios com F. candida são ligeiramente maiores. Com isso denota-se a diferença na sensibilidade aos contaminantes e a importancia do uso de mais de um organismo teste.

Na área de estudo o maior valor de risco ecológico integrado foi 0,78 no ponto d15. Dentre os pontos avaliados apenas o d25 está abaixo do risco ecológico de 0,25, ou seja, os usos atuais e anteriores na área de estudo causaram impactos ecológicos não compatíveis com uma área natural, principalmente com os objetivos conservacionistas de uma unidade de conservação. Além disso, os pontos d10 e d15, que apresentaram os maiores valores de risco, ultrapassam até valores limites para áreas destinadas a usos industriais, como por exemplo, a própria atividade de mineração. Para estes pontos (d10 e d15), destaca-se os altos valores da linha de evidência química, assim como previsto por Sorvari et al. (2013) que aponta este fator como principal para altos valores no risco integrado.

Em todos os pontos constatou-se risco nas linhas de evidência química e ecológica, onde nos pontos *e10*, *d5*, *d10*, *d15* e *d25* a linha de evidência ecotoxicológica não ultrapassou 0,1. Isto indica que os teores dos metais pesados considerados na área de estudo são relevantes e relacionados principalmente a efeitos ecológicos preocupantes. A pouca ou ausência de evidência ecotoxicológica nos pontos citados pode estar revelando um efeito mais complexo dos contaminantes no sistema ecológico do local (comparado ao efeito sobre uma única espécie usada no bioensaio), como na cadeia trófica, interações entre comunidades animais e vegetais, nas condições ambientais (pH, umidade) e processos ecológicos (decomposição e ciclagem de nutrientes, por exemplo), o que não e possível avaliar através de ensaios ecotoxicológicos.

A ausência de equilíbrio entre as três linhas de evidência, principalmente nos pontos citados acima, geram altos valores de desvio padrão no cálculo do risco (Figura 17). Este fato poderia sugerir a necessidade de uma nova avaliação mais refinada e complexa de risco ecológico. Porém, como apenas um ponto não ultrapassou o risco ecológico limite-alvo para áreas naturais e como o estande de tiro ainda está ativo, eliminam-se qualquer dúvida da necessidade de rever se os usos dados à área são compatíveis com a finalidade de uma floresta nacional, ou seja, contribuir para a manutenção da diversidade biológica e dos recursos genéticos, preservação e restauração da diversidade de ecossistemas naturais (BRASIL, 2000)

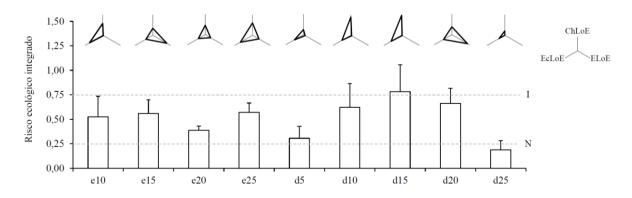


Figura 17. Risco ecológico integrado nos pontos avaliados da cava de mineração utilizada como estande de tiro.

4.5.2 Crescimento Inicial da Leguminosa Albizia polycephala

No estande de tiro localizado na cava de mineração de calcário, apenas no ponto *d15* há contaminação por chumbo segundo os critérios do órgão ambiental do Estado de São Paulo (CETESB, 2014) e do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA, 2009), por ultrapassar o valor de intervenção de 150 mg kg⁻¹ para áreas agrícolas. A concentração de bário em alguns pontos ultrapassa os valores de prevenção estipulado de 120 mg kg⁻¹. Os valores de prevenção são estabelecidos com base em ensaios de fitotoxicidade ou em avaliação de risco ecológico. Quando a concentração de algum contaminante ultrapassa seu limite estipulado, há prejuízo nas funções principais do solo, como: sustentação da vida de animais, plantas e outros organismos vivos; manutenção do ciclo de nutrientes; capacidade de degradação e transformação de substâncias químicas e organismos (CONAMA, 2009). Portanto, mesmo que nenhum dos pontos amostrados seja considerados contaminado por bário, a leguminosa arbórea se enquadra como um organismo propício a ser afetado pelos metais presentes, e a avaliação do seu crescimento inicial pode gerar importantes informações sobre a funcionalidade do solo do local.

O crescimento inicial da leguminosa não apresentou correlação significativa (p>0,05) com os atributos físicos e químicos do material de solo e com o bário, o que pode ser resultado da influência dos microrganismos simbiontes. A colonização micorrízica apresentou correlação significativa (p<0,05) com os macronutrientes Ca (r = -0,75) e P (r = -0,60), com o pH (r = -0,80), porcentagem de argila (r = 0,85) e com a concentração de bário (r = -0,82). O peso de nódulos apresentou relação com alguns parâmetros de crescimento da leguminosa, como o diâmetro (r = 0,74) e peso da parte área (r = 0,87). As correlações negativas entre a colonização micorrízica e os macronutrientes cálcio e fósforo refletem a função do fungo micorrízico nesta simbiose em condições desfavoráveis, como em material de solo proveniente de minas (MA et al., 2006), aumentando a capacidade de absorção quando os nutrientes são escassos ou na presença de metais pesados que possam interferir em sua absorção e transporte (LIN et al., 2007; MUHAMMAD et al., 2008; SOUZA et al., 2012a). Em áreas de mineração de calcário já se relatou o aumento da absorção de nutrientes com a inoculação com fungos micorrízicos (RAO & TAK, 2002).

Estes resultados também indicam a existência de microrganismos ativos no material de solo do estande de tiro. Embora a alta concentração de metais possa interferir na associação micorrízica (GATTAI et al., 2011), os propágulos de fungos micorrízicos nunca desaparecem completamente, indicando uma alta tolerância e o poder de desenvolver sua própria estratégia de vida nestas condições (YANG et al., 2015). Geralmente a presença de colonização micorrízica favorece a nodulação e a habilidade de fixar nitrogênio em leguminosas arbóreas, mesmo em materiais de solo resultante de mineração (MA et al., 2006; LIN et al., 2007; SOUZA et al., 2012a). Entretanto neste estudo esta correlação não foi significativa (r = -0,52; p<0,05).

A análise de componentes principais, considerando também a fertilidade do solo, dividiu os pontos de amostragem na área do estande em dois grupos, com 75,3% da variabilidade explicada, sendo 52,8% pelo eixo x e 22,5% pelo eixo y. O grupo 1 foi formado pelas semelhanças no teor de silte, composto pelos pontos e5, d5, d10 e d15. O grupo 2 apresentou maior relação com o teor de areia, formado pelos pontos e10, e15, e20, e25, d20, d25. O ponto e0 apresentou maior relação com o teor de argila e areia fina, ficando isolado dos demais pontos. Com isso, a comparação entre os pontos nos parâmetros de crescimento será realizada dentro dos dois grupos formados.

Na avaliação do diâmetro ao longo do experimento não foram observadas diferenças entre as mudas cultivadas nos diferentes pontos de material de solo. Já para a altura observaram-se diferenças após 45 dias, onde as mudas crescendo no material de solo dos

pontos *e10*, *e15* e *e25* foram superiores aos demais pontos do grupo 2 (Tabela 18), embora isso não apresente uma relação com a concentração de bário (p>0,05).

Tabela 18. Diâmetro e altura das mudas de *Albizia polycephala* nos diferentes pontos de material de solo do estande de tiro na antiga área de mineração na Floresta Nacional de Ipanema, SP.

	Diâmetro (mm)				Altura (cm)				
Ponto	15	30	45	60	15	30	45	60	
	Dias				Dias				
	Grupo 1								
e5	1,37 a	1,45a	1,61a	1,91a	4,7A	5,5A	5,9A	6,2A	
d5	1,38 a	1,51a	1,79a	2,03a	5,6A	6,4A	6,6A	6,7A	
d10	1,43 a	1,58a	1,68a	1,94a	5,9A	6,7A	7,1A	7,3A	
d15	1,56 a	1,57a	1,78a	2,15a	5,1A	5,9A	6,5A	6,8A	
				Gru	ро 2				
e10	1,52a	1,75a	1,94a	2,31a	5,7A	6,8A	7,7A	8,4A	
e15	1,54a	1,61a	1,92a	2,27a	6,0A	7,4A	7,8A	8,5A	
e20	1,54a	1,58a	1,70a	1,94a	5,5A	6,1A	6,6B	7,2B	
e25	1,62a	1,72a	1,93a	2,21a	5,9A	6,6A	7,3A	8,0A	
d20	1,47a	1,55a	1,78a	2,06a	5,3A	6,2A	6,3B	6,6B	
d25	1,35a	1,47a	1,55a	1,84a	5,6A	6,0A	6,4B	6,7B	

Letras minúsculas e maísculas iguais não diferem pelo teste Friedman e Scott-Knott a 5%, respectivamente.

Ao final do experimento o peso da parte aérea e das raízes apresentaram diferenças entre os pontos amostrados. No grupo 1 as mudas cultivadas no material de solo do ponto d15 apresentaram maior peso da parte aérea. No grupo 2, o peso da parte aérea e raízes das mudas cultivadas no material de solo dos pontos e10, e15 e e25 foram superiores às demais (Figura 18).

O maior peso da parte aérea nas mudas cultivadas no material de solo do ponto d15, único com a presença de chumbo e bário, é o oposto do que se esperava para esta condição de contaminação. Em solos contaminados por chumbo geralmente ocorre diminuição do crescimento em leguminosas arbóreas, mesmo associadas a microrganismos (LE BOURLEGAT et al., 2007; MUHAMMAD et al., 2008; SOUZA et al., 2012), pois há maior gasto de energia da planta na manutenção à tolerância a este metal (RANTALAINEN et al., 2006) e efeitos negativos no conteúdo de pigmentos fotossintéticos (SOUZA et al., 2012).

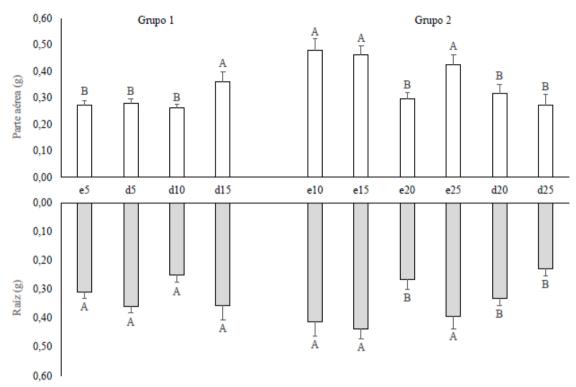


Figura 18. Peso da matéria seca e das raízes das mudas de *Albizia polycephala* nos diferentes pontos de material de solo do estande de tiro na antiga área de mineração na Floresta Nacional de Ipanema, SP.

O resultado encontrado pode estar associado a dois fatores agindo isoladamente ou em conjunto: (1) a simbiose com fungos micorrízicos diminui a translocação de chumbo da raiz para as folhas, acumulando o metal apenas nas raízes, protegendo a parte aérea da planta contra danos (YANG et al., 2007; BAN et al., 2015; YANG et al., 2015). Mesmo o chumbo não sendo um metal essencial para as plantas, ele é ativamente absorvido pelas raízes, se concentrando nas raízes, folhas e caule (SOUZA et al., 2012), sendo este o principal motivo da toxicidade na planta (SINGH et al., 1997). Naturalmente o chumbo apresenta limitada mobilidade na planta após absorção nas raízes (PICHTEL et al., 2000) e quando associada a fungos micorrízicos esta contenção nas raízes é maior, contribuindo para a tolerância ao metal e adicionalmente beneficiando a planta com nutrição e vigor (SOUZA et al., 2012); (2) a espécie Albizia polycephala não é influenciada pela contaminação de chumbo no local, como observado em outras leguminosas arbóreas (GATTAI et al., 2011). A sensibilidade das plantas ao chumbo, mesmo em altas doses, pode variar de acordo com suas características genéticas e fisiológicas (SINGH et al., 1997). Além disso, biodisponibilidade do chumbo depende de sua espécie no solo, que no estande de tiro pode ser como massicote (PbO), cerussite (PbCO₃), hidrocerussite (Pb₃[CO₃]₂[OH]₂) e anglesite (PbSO₄) (AHMAD et al., 2012).

Estas hipóteses abordam a falta de efeitos negativos, mas não o maior acúmulo de matéria seca. Um maior crescimento, nesta situação, pode ser atribuído em parte, à estimulação da função dos fungos micorrízicos na absorção de nutrientes como P, Ca e S, e à manutenção de uma alta relação P/Pb, Ca/Pb e S/Pb em suas raízes (YANG et al., 2008; SOUZA et al., 2012a).

Assim como a altura, as plantas crescendo no material de solo dos pontos e10, e15 e e25 apresentaram maior peso da matéria seca da parte aérea e raiz. Como afirmado anteriormente, este resultado não possui relação com os nutrientes do material do solo e a

concentração de bário. O bário é conhecido por ser tóxico para as plantas quando solúvel (LAMB et al., 2013), principalmente por sua atividade no fechamento de estômatos foliares, eficiência como bloqueador de canais de K⁺ e limitação da atividade fotossintética (LLUGANY et al., 2000; SUWA et al., 2008; MELO et al., 2011). Porém grande parte deste metal está presente no ambiente em formas de baixa solubilidade, com pouca quantidade possivelmente absorvida pelas plantas, apresentando poucos efeitos negativos diretos sobre as plantas (LLUGANY et al., 2000; PICHTEL et al., 2000). Com isso, as diferenças encontradas na altura e no peso da parte aérea e raiz possivelmente estejam relacionadas à complexa relação entre planta, nutrientes e os microrganimos simbiontes.

Para os microrganimos simbiontes da leguminosa, naturalmente presentes no material de solo, a porcentagem de colonização micorrízica nas raízes das mudas não diferiu entre os pontos. O peso de nódulos apresentou diferenças dentro do grupo 1, sendo os presentes nas raízes no material de solo do ponto *e5* inferiores ao *d10* e *d15* (Tabela 19).

Tabela 19. Colonização micorrízica e peso seco de nódulos nas mudas de *Albizia polycephala* nos diferentes pontos de material de solo do estande de tiro na antiga área de mineração na Floresta Nacional de Ipanema, SP.

Ponto	Colonização (%)	Nodulos (g)
	Grupo	=
e5	30,0A	0,018b
d5	31,6A	0,019ab
d10	19,8A	0,024a
d15	25,2A	0,044a
	Grupo	2
e10	27,1A	0,043a
e15	23,0A	0,046a
e20	24,7A	0,028a
e25	18,3A	0,043a
d20	24,4A	0,031a
d25	26,5A	0,025a

Letras minúsculas e maísculas iguais não diferem pelo teste Friedman e Scott-Knott a 5%, respectivamente.

A colonização micorrízica e o peso seco dos nódulos foram pouco afetados pela presença dos metais no solo, resultado diferente do relatado por outros autores (LIN et al., 2007; MA et al., 2006; GOHRE & PASZKOWSKI, 2006; LE BOURLEGAT et al., 2007; YANG et al., 2008; GATTAI et al., 2011; SOUZA et al., 2012a; SOUZA et al., 2012). A contaminação por metais pesados geralmente resulta na inibição da germinação e formação de esporos micorrízicos. Além disso, causa redução do número e eficiência dos nódulos na fixação de N₂. Esta afirmação contraria a única diferença encontrada para os microrganismos simbiontes, a menor massa seca de nódulos no material de solo no ponto *e5*, onde há menor concentração de bário.

4.6 CONCLUSÕES

A antiga cava de mineração utilizada como estande de tiro apresentou um risco ecológico elevado dentro do contexto de áreas naturais, determinado principalmente pelas concentrações dos metais bário e chumbo no local. Embora este risco não seja evidente quando se considera a relação direta da concentração dos metais com os indicadores ecológicos e ecotoxicológicos considerados, a integração das evidências mostra altos riscos, inaceitáveis inclusive para áreas industriais. Com isso, torna-se clara a necessidade rever este tipo de uso no local de acordo com a finalidade de uma unidade de conservação como a Floresta Nacional

A recuperação do local se mostrou viável através da análise do crescimento da leguminosa arbórea, que foi pouco influenciada pela presença do bário e chumbo. Possivelmente este resultado esteja relacionado à influência positiva exercida pelos microrganismos simbiontes no crescimento desta leguminosa. Entretanto, a continuação do treinamento de tiro pode comprometer seriamente este potencial promovido principalmente pelos microrganismos presentes no material do solo, devendo ser avaliado pelos gestores a adequação desta atividade dentro de uma unidade de conservação.

5 CONCLUSÕES GERAIS

Na Floresta Nacional de Ipanema parte do histórico de contaminação nas duas áreas de estudo estão ligados a importantes atividades e infra-estruturas criadas antes da sua criação, como ocorreu em muitas outras unidades de conservação no pais. Entretanto deve-se entender que no contexto da conservação da biodiversidade, estes refúgios muitas vezes representam seu único testemunho da biodiversidade da região. Com isso, todo o esforço deve ser feito para conhecer os potenciais riscos ecológicos, quando existente, gerando uma ferramenta que propicie a gestão eficiente na unidade. Além disso, por permitir e estimular atividades de pesquisa, a avaliação de áreas com histórico de contaminação nesta unidade de conservação permitiu e facilitou o acesso e a aplicação de conceitos e métodos com esta finalidade. Este exercício é fundamental para estimular e promover este tipo de avaliação no país, principalmente por ter inúmeras áreas contaminadas que não são conhecidas cientificamente.

Obviamente que este estudo não aborda em definitivo todos os problemas que podem ter sido gerado pelas contaminações. Na área de transformadores ainda é necessário uma avaliação da existência de contaminantes na água e no sedimento do lago, no histórico de doenças das pessoas que moram próximo e de possíveis contaminantes armazenados e/ou estocados de forma incorreta na subestação. Além disso, este estudo pode ser expandido para todas as subestações abandonadas ao longo desta linha férrea.

No estande de tiro espera-se que este estudo seja utilizado na avaliação dos impactos do treinamento de tiro no local. Caso o uso da área seja modificado, ou não, deve-se fazer novos estudos com a finalidade de monitoramento da concentração e efeitos ecológicos dos metais pesados encontrados.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABNT NBR 10004. **Resíduos Sólidos Classificação**. Associação Brasileira de Normas Técnicas, 2004. 77 p.
- ABNT NBR 10007. **Amostragem de resíduos sólidos**. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Normas Técnicas, 2004. 25 p.
- ABNT NBR ISO 11267. **Qualidade do solo inibição da reprodução de Collembola** (**Folsomia candida**) **por poluentes do solo**. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Normas Técnicas, 2011. 18 p.
- ABNT NBR ISO 16387. Qualidade do solo Efeitos de poluentes em Enchytraeidae (*Enchytraeus sp.*) Determinação de efeitos sobre a reprodução e sobrevivência. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Normas Técnicas, 2012. 35 p.
- AHMAD, M.; LEE, S. S.; MOON, D. H.; YANG, J. H.; OK, Y. S. A review of environmental contamination and remediation strategies for heavy metals at shooting range soils. In: MALIK, A.; GROHMANN, E. (Eds.). **Environmental protection strategies for sustainable development**. Springer Netherlands, 2012. p. 437-451.
- ALBUQUERQUE, G. B.; RODRIGUES, R. R. A vegetação do Morro de Araçoaiaba, Floresta Nacional de Ipanema, Iperó (SP). **Scientia Forestalis**, n. 58, p. 145-159, 2000.
- ALMEIDA, F. V.; CENTENO, A. J.; BISINOTI, M. C.; JARDIM. W. F. Substâncias tóxicas persistentes (STP) no Brasil. **Química Nova**, v. 30, n. 8, p. 1976-1985, 2009.
- ANDRADE, S. A. L.; ABREU, C. A.; ABREU, M. F.; SILVEIRA, A. P. D. Influence of lead additions on arbuscular mycorrhiza and *Rhizobium* symbioses under soybean plants. **Applied Soil Ecology**, v. 26, p. 123-131, 2004.
- ANTUNES, S. C.; CASTRO, B. B.; MOREIRA, C.; GONÇALVES, F.; PEREIRA, R. Community-level effects in edaphic fauna from an abandoned mining area: integration with chemical and toxicological lines of evidence. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 88, p. 65-71, 2013.
- AQUINO, A. M.; CORREIA, M. E. F.; BADEJO, M. A. Amostragem da mesofauna edáfica utilizando funis de berlese-tullgren modificado. Embrapa: Seopédica, 2006. 4p.
- ARAÚJO, A. S. F.; EISENHAUER, N.; NUNES, L. A. P. L.; LEITE, L. F. C.; CEZARZ, S. Soil surface-active fauna in degraded and restored lands of northeast Brazil. **Land Degradation & Development**, v. 26, p. 1-8, 2015.
- ASTRUP, T.; BODDUN, J. K.; CHRISTENSEN, T. H. Lead distribution and mobility in a soil enbankment used as a bullet stop at a shooting range. **Journal of Soil Contamination**, v. 8, n. 6, p. 653-665, 1999
- AUCLERC, A.; PONGE, J. F.; BAROT, S.; DUBS, F. Experimental assessment of habitat preference and dispersal ability of soil springtails. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 41, n. 1596-1604, 2009.
- BAIRD, D. J.; BAKER, C. J. O.; BRUA, R. B.; HAJUBABAEI, M.; MCNICOL, K.; PASCOE, T. J.; ZWART, D. Toward and knowledge infrastructure for traits-based ecological risk assessment. **Integrated Environmental Assessment and Management**, v. 7, n. 2, p. 209-215, 2010.

- BAIRD, D. J.; RUBACH, M.; VAN DEN BRINK, P. J. Trait-based ecological risk assessment (TERA): The new frontier? **Integrated Environmental Assessment and Management**, v. 4, n. 1, p. 2-3, 2008.
- BAN, Y.; XU, Z.; ZHANG, H.; CHEN, H.; TANG, M. Soil chemistry properties, translocation of heavy metals, and mycorrhizal fungi associated with six plant species growing on lead-zinc mine tailings. **Annals of Microbiology**, v. 65, p. 503-515, 2015.
- BANDARA, T.; VITHANAGE, M. Phytoremediation of shooting range soils. In: ANSARI, A. A.; GILL, S. S.; GILL, R.; LANZA, G. R.; NEWMAN, L. **Phytoremediation**. Springer International Publishing, 2016. p. 469-488.
- BATAGHIN, F. A.; PIRES, J. S. R.; BARROS, F. Epifitismo vascular em sítios de borda e interior em floresta estacional semidecidual no sudeste do Brasil. **Hoehnea**, v. 39, n. 2, p. 235-245, 2012.
- BELLO, F.; LAVOREL, S.; DÍAZ, S.; HARRINGTON, R.; CORNELISSEN, J. H. C.; BARDGETT, R. D.; BERG, M. P.; CIPRIOTTI, P.; FELD, C. K.; HERING, D.; SILVA, P. M.; POTTS, S. G.; SANDIN, L.; SOUSA, J. P.; STORKEY, J.; WARDLE, D. A.; HARRISON, P. A. Towards and assessment of multiple ecosystem processes and services via functional traits. **Biodiversity Conservation**, v. 19, p. 2873-2893, 2010.
- BENNETT, J. R.; KAUFMAN, C. A.; KOCH, I.; SOVA, J.; REIMER, K. J. Ecological risk assessment of lead contamination at rifle and pistol ranges using techniques to account for site characteristics. **Science of the Total Environment**, v. 374, p. 91-101, 2007.
- BEYER, A.; BIZIUK, M. Environmental fate and global distribution of polychlorinated biphenyls. In: WHITACRE, D. M. (Ed.). **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**. New York: Springer, 2009. p. 137-158.
- BIDDINGER, G. R.; CALOW, P.; DELORME, P.; HARRIS, G.; HOPE, B.; LIN, B.; SORENSEN, M. T.; VAN DEN BRINK, P. Managing risk to ecological populations. In: BARNTHOUSE, L. W.; MUNNS JR., W. R.; SORENSEN, M. T. **Population-level ecological risk assessment**. New York: Taylor & Francis, 2008. p. 7-39.
- BILDE, T. AXELSEN, J. A.; TOFT, S. The value of collembola from agricultural soils as food for a generalist predator. **Journal of Applied Ecology**, n. 37, p. 672-683, 2000.
- BINKLEY, D.; FISHER, R. F. Ecology and management of forest soils. Oxford: Wiley-Blackwell, 2013. p. 77-98.
- BORJA, J.; TALEON, D. M.; AURESENIA, J.; GALLARDO, S. Polychlorinated biphenyls and their biodegradation. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 1999-2013, 2005.
- BRADHAM, K. D.; DAYTON, E. A.; BASTA, N. T.; SCHRODER, J.; PAYTON, M.; LANNO, R. P. Effect of soil properties on lead bioavailability and toxicity to earthworms. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 25, n. 3, p. 769-775, 2006.
- BRASIL. Lei nº 9.985, de 18 de julho de 2000. **Regulamenta o art. 225, § 1º, incisos I, II, III e VII da Constituição Federal, institui o Sistema Nacional de Unidades de Conservação da Natureza e dá outras providências**. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/19985.htm>. Acesso em: 25/05/2014.
- BRUSSAARD, L. Soil fauna, guilds, functional groups and ecosystem processes. **Aplied Soil Ecology**, v. 9, p. 123-135, 1998.
- CACHADA, A.; LOPES, L. V.; HURSTHOUSE, A. S.; BIASIOLI, M.; GRCMAN, H.; OTABBONG, E.; DAVIDSON, C. M.; DUARTE, A. C. The variability of polychlorinated

- biphenyls levels in urban soils from five European cities. **Environmental Pollution**, v. 157, p. 511-518, 2009.
- CAO, X.; MA, L. Q.; CHEN, M.; HARDISON, D. W.; HARRIS, W. G. Lead transformation and distribution in the soils of shooting ranges in Florida, USA. **The Science of the Total Environment**, v. 307, p. 179-189, 2003.
- CARVALHO, P.E.R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Colombo: Embrapa Florestas, 2006. v. 2, 627p.
- CASTRO-FERREIRA, M. P.; ROELOFS, D.; VAN GESTEL, C. A. M.; VERWEIJ, R. A.; SOARES, A. M. V. M.; AMORIM, M. J. B. *Enchytraeus crypticus* as model species in soil ecotoxicology. **Chemosphere**, v. 87, p. 1222-1227, 2012.
- CCME Canadian Council of Ministers of the Environment. Canadian soil quality guidelines for the protection of environmental and human health. Winnipeg, 2007.
- CETESB Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. **Valores orientadores para solo e água subterrânea no Estado de São Paulo, 2014**. Disponível em: < http://sites.usp.br/sef/wp-content/uploads/sites/52/2015/03/47-
- CETESB2014_Valores_Orientadores_solo_agua.pdf> acesso em: 23 nov. 2016.
- CHAER, G. M.; RESENDE, A. S.; CAMPELLO, E. F. C.; FARIA, S. M.; BODDEY, R. M. Nitrogen-fixing legume tree species for the reclamation of severely degraded lands in Brazil. **Tree Physiology**, v. 31, p. 139-149, 2011.
- CHAPIN, F. S.; MATSON, P. A.; VITOUSEK, P. M. **Principles of terrestrial ecosystem ecology**. 2^a ed. New York: Springer, 2011. 536p.
- CHAPMAN, E. E. V.; DAVE, G.; MURIMBOH, J. D. A review of metal (Pb and Zn) sensitive and pH tolerant bioassay organisms for risk screening of metal-contaminated acidic soils. **Environmental Pollution**, v. 179, p. 326-342, 2013.
- CHAPMAN, E. E. V.; DAVE, G.; MURIMBOH, J. D. Ecotoxicological risk assessment of undisturbed metal contaminated soil at two remote lighthouse sites. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 73, p. 961-969, 2010.
- CHELINHO, S.; DOMENE, X.; CAMPANA, P.; NATAL-DA-LUZ, T.; SCHEFFCZYK, A.; ROMBKE, J.; ANDRÉS, P.; SOUSA, J. P. Improving ecological risk assessment in the Mediterranean area: selection of reference soil sand evaluating their influence of soil properties on avoidance and reproduction of two oligochaete species. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 30, n. 5, p. 1050-1058, 2011.
- CHEN, M.; DAROUB, S. H. Characterization of lead in soils of a rifle/pistol shooting range in central Florida, USA. **Soil and Sediment Contamination**, v. 11, n. 1, p. 1-17, 2002.
- CHRASTNY, V.; KOMAREK, M.; HAJEK, T. Lead contamination of an agricultural soil in the vicinity of a shooting range. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 162, p. 37-46, 2010.
- COLEMAN, D. C.; CROSSLEY JÚNIOR, D. A.; HENDRIX, P. F. Fundamentals of soil ecology. 2^a ed. California: Elsevier, 2004. 404p.
- CONAMA CONSELHO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE. **Resolução nº 420, de 28 de dezembro de 2009.** Disponível em: http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=620>. Acesso em: 27/05/2013.
- CORNELISEEN, J. H. C.; LAVOREL, S.; GARNIER, E.; DIAZ, S.; BUCHMANN, N.; GURVICH, D. E.; REICH, P. B.; STEEGE, H.; MORGAN, H. D.; VAN DER HEIJDEN, M. G. A.; PAUSAS, J. G.; POORTER, H. A handbook of protocols for standardized and easy

- measurement of plant functional traits worldwide. **Australian Journal of Botany**, v. 51, n. 4, p. 335–380, 2003.
- CRAIG, J. R.; RIMSTIDT, J. D.; BONNAFON, C. A.; COLLINS, T. K.; SCANLON, P. F. Surface water transport of lead at a shooting range. **Bulletin of Environmental Contamination Toxicology**, v. 63, p. 312-319, 1999.
- CROUAU, Y.; CHENON, P.; GISCLARD, C. The use of *Folsomia candida* (Collembola: Isotomidae) for the bioassay of xenobiotic substances and soil pollutants. **Applied Soil Ecology**, v. 12, p. 103–111, 1999.
- DARLING, C. T. R.; THOMAS, V. G. The distribution of outdoor shooting ranges in Ontario and the potential for lead pollution of soil and water. **The Science of the Total Environment**, v. 313, p. 235-243, 2003.
- DEL VAL, C.; BAREA, J. M.; AZCÓN-AGUILAR, C. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungus population in heavy-metal-contaminated soils. **Applied and Environmental microbiology**, v. 65, n. 2, p. 718-723, 1999.
- DENYES, M. J.; LANGLOIS, V.; RUTTER, A.; ZEEB, B. A. The use of biochar to reduce soil PCB bioavailability to *Cucurbita pepo* and *Eisenia fetida*. **Science of the Total Environment**, v. 437, p. 76-82, 2012.
- DIAZ, E.; SARKINS, J. E. S.; VIEBIG, SALDIVA, P. Measurement of airborne gunshot particles in a ballistic laboratory by sector field inductively coupled plasma mass spectrometry. **Forensic Science International**, v. 214, p. 44-47, 2012.
- DINDAL, D. L. Soil biology guide. New York: Wiley, 1990.
- DOLÉDEC, S.; STATZNER, B.; BOURNARD, M. Species traits for future biomonitoring across ecoregions: patterns along a human-impacted river. **Freshwater Biology**, v. 42, p. 737-758, 1999.
- DUGGAN, J.; DHAWAN, A. Speciation and vertical distribution of lead and lead shot in soil at a recreational firing range. **Soil & Sediment Contamination**, v. 16, p. 351-369, 2007.
- 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.
- EISENBEIS, G.; WICHARD, W. **Atlas on the biology of soil arthropods**. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 1987. 448p.
- EISENHAUER, N.; SABAIS, A. C. W.; SCHEU, S. Collembola species composition and diversity effects on ecosystem functioning vary with plant functional group identity. **Soil Biology & Biochemistry**, n. 43, p. 1697-1704, 2011.
- ELLERS, J.; DRIESSEN, G. Genetic correlation between temperature-induced plasticity of life-history traits in a soil arthropod. **Evolutionary Ecology**, v. 25, p. 473-484, 2011.
- EMBRAPA EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solos**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2011. 225 p.
- EVANGELOU, M. W. H.; HOCKMANN, K.; POKHAREL, R.; JAKOB, A.; SCHULIN, R. Accumulation of Sb, Pb, Cu, Zn and Cd by various plants species on two differente relocated military shooting range soils. **Journal of Environmental Management**, v. 108, p. 102-107, 2012.

- FÁVERO, O. A.; NUCCI, J. C.; BIASI, M. Vegetação natural potencial e mapeamento da vegetação e usos atuais das terras da Floresta Nacional de Ipanema, Iperó/SP: Conservação e Gestão Ambiental. **Revista Ra'e ga**, n. 8, p. 55-68, 2004.
- FAYIGA, A. O.; SAHA, U. K. Soil pollution at outdoor shooting ranges: health effects, bioavailability and best management practices. **Environmental Pollution**, v. 216, p. 135-14, 2016.
- FERNÁNDEZ, M. D.; CAGIGAL, E.; VEGA, M. M.; URZELAI, A.; BABÍN, M.; PRO, J.; TARAZONA, J. V. Ecological risk assessment on contaminated soils through direct toxicity assessment. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 62, p. 174-184, 2005.
- FERNANDEZ, M. D.; TARAZONA, J. V. Complementary approaches for using ecotoxicity data in soil pollution evaluation. New York: Nova Science Publishers, 2008.
- FROUZ, J.; PRACH, K.; PIZL, V.; HÁNEL, L.; STARY, J.; TAJOVSKY, K.; MATERNA, J.; BALIK, V.; KALCIK, J.; REHOUNKOVA. Interactions between soil development, vegetation and soil fauna during spontaneous succession in post mining sites. **European Journal of Soil Biology**, v. 44, p. 109-121, 2008.
- GARGNARLI, E.; GOGGIOLI, D.; TARCHI, F.; GUIDI, S.; NANNELLI, R.; VIGNOZZI, N.; VALBOA, G.; LOTTERO, M. R.; CORINO, L.; SIMONI, S. Case study of microarthopod communities to assess soil quality in different managed vineyards. **Soil Discuss**, v. 2, p. 67-84, 2015.
- GATTAI, G. S.; PEREIRA, S. V.; COSTA, C. M. C.; LIMA, C. E. P.; MAIA, L. C. Microbial activity, arbuscular mycorrhizal fungi and inoculation of woody plants in lead contaminated soil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 42, p. 859-867, 2011.
- GERDEMANN, J. W.; NICOLSON, T. H. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet-sieving and decanting. **Transactions of British Mycological Society**, v. 46, p. 235-244, 1963.
- GERLACH, A.; RUSSELL, D. J.; ROMBKE, J.; BRUGGEMANN, W. Consumption of introduced oak litter by native decomposers (Glomeridae, Diplopoda). **Soil Biology & Biochemistry**, v. 44, n. 1, p. 26-30, 2012.
- GOHRE, V.; PASZKOWSKI, U. Contribution of the arbuscular mycorrhizal symbiosis to heavy metal phytoremediation. **Planta**, v. 223, n. 6, p. 1115–1122, 2006.
- GONZALES-CHAVEZ, C.; HARRIS, P. J.; DODD, J.; MEHARG, A. A. Arbuscular mycorrhizal fungi confer enhanced arsenate resistance on *Holcus lanatus*. New Phytologist, v. 155, p. 163-171, 2002.
- GREENSLADE, P. Collembola. In: **Insects of Australia**. 2^a Ed. Melbourne University Press, 1991. p. 252-268.
- GREENSLADE, P. Collembola. In: HOUSTON, W. W. K (Ed.). **Zoological catalogue of Australia, v. 22. Protura, Collembola, Diplura**. Melbourne: CSIRO, 1994. p. 19-138.
- GREENSLADE, P.; VAUGHAN, G. T. A comparison of Collembola species for toxicity testing of Australian soils. **Pedobiologia**, v. 47, p. 171–179, 2003.
- GUO, J.; HUA, B.; LI, N.; YANG, J. Stabilizing lead bullets in shooting range soil by phosphate-based surface coating. **AIMS Environmental Science**, v. 3, n. 3, p. 474-487, 2016.
- HARDISON JÚNIOR, D. W.; MA, L. Q.; LUONGO, T.; HARRIS, W. G. Lead contamination in shooting range soils from abrasion of lead bullets and subsequent weathering. **Science of the Total Environment**, v. 328, p. 175-183, 2004.

- HEDDE, M.; VAN OORT, F.; LAMY, I. Functional traits of soil invertebrates as indicators for exposure to soil disturbance. **Environmental Pollution**, v. 164, p. 59-65, 2012.
- HEINIGER, C.; BAROT, S.; PONGE, J.; SALMON, S.; BOTTON-DIVET, L.; CARMIGNAC, D.; DUBS, F. Effect of habitat spatio temporal structure on collembolan diversity. **Pedologia**, v. 57, p. 103-117, 2014.
- HENNERON, L.; BERNARD, L.; HEDDE, M.; PELOSI, C.; VILLENAVE, C.; CHENU, C.; BERTRAND, M.; GIRARDIN, C.; BLANCHART, E. Fourteen years of evidence for positive effects of conservation agriculture and organic farming on soil life. **Agronomy for Sustainable Development**, v.35, p.169-181, 2015.
- HEYWOOD, E.; WRIGHT, J.; WIENBURG, C. L.; BLACK, H. I. J.; LONG, S. M. OSBORN, D.; SPURGEON, D. J. Factors influencing the national distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls in British soils. **Environmental Science & Technology**, v. 40, p. 7629-7635, 2006.
- HEUPEL, K. Avoidance response of different collembolan species to Betanal. **European Journal of Soil Biology**, v. 38, p. 273-276, 2002.
- HOPKIN, S. P. **Biology of the Springtails (Insecta: Collembola)**. New York: Oxford University Press, 1997.
- ISO 10390. **Soil quality Determination of pH**. Geneva: International Organization for Standardization, 2005. 14p.
- JEFFERY, S.; GARDI, C.; JONES, A.; MONTANARELLA, L.; MARMO, L.; MIKO, L.; RITZ, K.; PERES, G.; ROMBKE, J.; VAN DER PUTTEN, W. H. **European atlas of soil biodiversity**. European Union, 2010. p. 104-105.
- JENKINS, W. R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Report**, v. 28, p. 692, 1964.
- JENSEN, J.; MESMAN, M. Ecological risk assessment of contaminated land: Decision support for site specific investigations. Bilthoven: National Institute for Public Health and the Environment (RIVM), 2006. 136 pp.
- JENSEN, J.; MESMAN, M.; BIERKENS, J.; RUTGERS, M. Principles and concepts in ecological risk assessment. In: JENSEN, J.; MESMAN, M (Eds.). **Ecological risk assessment of contaminated land**: Decision support for site specific investigations. Bilthoven: National Institute for Public Health and the Environment, 2006. p. 11-18.
- JENSEN, J.; SOROKIN, N.; DIRVEN-VAN BREEMEN, E. M.; BOGOLTE, T.; ERLACHER E.; EHLERS, C.; TER LAAK, T.; HARTNIK, T.; BIERKENS, J.; RUTGERS, M.; MESMAN, M. A triad-based selection of tools for site-specific assessment of ecological risk. In: JENSEN, J.; MESMAN, M. Ecological risk assessment of contaminated land: decision support for site specific investigations. Bilthoven: National Institute for Public Health and the Environment (RIVM), 2006. p. 65-116.
- JORGENSEN, H. B.; HEDLUND, K.; AXELSEN, J. A. Life-history traits of soil collembolans in relation to food quality. **Applied Soil Ecology**, v. 38, p. 146-151, 2008.
- JORGENSEN, S. S.; WILLEMS, M. The fate of lead in soils: the transformation of lead pellets in shooting-range soils. **Ambio**, v. 16, n. 1, p. 11-15, 1987.
- KARJALAINEN, A.; KILPI-KOSKI, J.; VAISANEN, A. O.; PENTTINEN, S.; VAN GESTEL, C. A. M.; PENTTINEN, O. Ecological risks of an old wood impregnation mill: application of the triad approach. **Integrated Environmental Assessment and Management**, v. 5, n. 3, p. 379-389, 2009.

- KORASAKI, V.; MORAIS, J. W.; BRAGA, R. F. Macrofauna. IN: MOREIRA, F. M. S.; CARES, J. E.; ZANETTI, R. B.; STURMER, S. L. (Eds.) O ecossistema solo: componentes, relações ecológicas e efeitos na produção vegetal. Lavras: Editora UFLA, 2013. p. 121-137.
- KUPERMAN, R. G.; AMORIM, M. J. B.; ROMBKE, J.; LANNO, R.; CHECKAI, R. T.; DORARD, S. G.; SUNAHARA, G. I.; SCHEFFCZYK, A. Adaptation of the enchytraeid toxicity test for use with natural soil types. European Journal of Soil Biology, v. 42, s234-s243, 2006.
- KUPERMAN, R. G.; CHECKAI, R. T.; GARCIA, M. V. B.; ROMBKE, J.; STEPHENSON, G. L.; SOUSA, J. P. State of the science and the way forward for the ecotoxicological assessment of contaminated land. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 8, p. 811-824, 2009.
- LABARE, M. P.; BUTKUS, M. A.; RIEGNER, D.; SCHOMMER, N.; ATKINSON, J. Evaluation of lead movement from the abiotic to biotic at a small-arms firing range. **Environmental Geology**, v. 46, p. 750-754, 2004.
- LANGE, H. J.; SALA, S.; VIGHI, M.; FABERM J. H. Ecological vulnerability in risk assessment A review and perspectives. **Science of the Total Environment**, v. 408, n. 3871-3879, 2010.
- LAUGA-REYREL, F.; DECONCHAT, M. Diversity within the collembola community in fragmented coppice forests in south-western France. **European Journal of Soil Biology**, n. 35, p. 177-187, 1999.
- LAVELLE, P.; SPAIN, A. V. Soil Ecology. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2001.
- LE BOURLEGAT, J. M. G.; ROSSI, S. C.; CHINO, C. E.; SCHIAVINATO, M. A.; LAGÔA, A. M. M. A. Tolerância de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. ao metal pesado chumbo. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, supl. 2, p. 1017-1019, 2007.
- LEE, I.; KIM, O. K.; CHANG, Y.; BAE, B.; KIM, H.; BAEK, K. Heavy metal concentrations and enzyme activities in soil from a contaminated Korean shooting range. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 94, n. 5, p. 406-411, 2002.
- LEIVA, C.; AHUMADA, I.; SEPÚLVEDA, B.; RICHTER, P. Polychlorinated biphenyls behaviour in soil amended with biosolids. **Chemosphere**, v. 79, p. 273-277, 2010.
- LEPS J.; SMILAUER, P. Multivariate analysis of ecological data using Canoco. Cambridge: Cambridge University Press, 2003.
- LIESS, M.; SCHAFER, R. B.; SCHRIEVER, C. A. The footprint of pesticide stress in communities species traits reveal community effects of toxicants. **The Science of the Total Environment**, v. 406, p. 484-490, 2008.
- LIN, A.; ZHANG, X.; WONG, M.; YE, Z.; LOU, L.; WANG, Y.; ZHU, Y. Increase of multimetal tolerance of three leguminous plants by arbuscular mycorrhizal fungi colonization. **Environmental Geochemistry and Health**, v. 29, p. 473-481, 2007.
- LIN, Z.; COMET, B.; QVARFORT, U.; HERBERT, R. The chemical and mineralogical behaviour of Pb in shooting range soils from central Sweden. **Environmental Pollution**, v. 89, n. 3, p. 303 309, 1995.
- LINDBERG, N.; BENGTSSON, J. Population responses of oribatid mites and collembolans after drought. **Applied Soil Ecology**, v. 28, p. 163-174, 2005.
- LINS, C. E. L.; CAVALCANTE, U. M. T.; SAMPAIO, E. V. S. B.; MESSIAS, A. S.; MAIA, L. C. Growth of mycorrhized seedlings of *Leucaena leucocephala* in a copper contaminated soil. *Applied Soil Ecology*, v. 31, p. 181-185, 2006

- LLUGANY, M.; POSCHENRIEDER, C.; BARCELÓ, J. Assessment of barium toxicity in bush beans. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 39, p. 440-444, 2000.
- LOCK, K.; JANSSENS, F.; JANSSEN, C. R. Effects of metal contamination on the activity and diversity of springtails in an ancient Pb-Zn mining area at Plombieres, Belgium. **Europen Journal of Soil Biology**, v. 39, p. 25-29, 2003.
- LOUREIRO, S.; SOARES, A. M. V. M.; NOGUEIRA, A. J. A. Terrestrial avoidance behaviour tests as screening tool to assess soil contamination. **Environmental Pollution**, v. 138, p. 121-131, 2005.
- LUO, W.; VERWEIJ, R. A.; GESTEL, C. A. M. Contribution of soil properties of shooting fields to lead biovailability and toxicity to *Enchytraeus crypticus*. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 76, p. 235-241, 2014a.
- LUO, W.; VERWEIJ, R. A.; GESTEL, C. A. M. Determining the bioavailability and toxicity of lead contamination to earthworms requires using a combination of physicochemical and biological methods. **Environmental Pollution**, v. 185, p. 1-9, 2014b.
- LUO, W.; VERMEIJ, R. A.; VAN GESTEL, C. A. M. Assessment of the bioavailability and toxicity of lead polluted soils using a combination of chemical approaches and bioassays with the collembolan *Folsomia candida*. **Journal of Hazardous Materials**, v. 280, p. 524-530, 2014c
- MA, L. Q.; HARDISON Junior, D. W.; HARRIS, W. G.; CAO, X.; ZHOU, Q. Effects of soil property and soil amendment on weathering of abraded metallic Pb in shooting ranges. **Water, Air & Soil Pollution**, v. 178, p. 297-307, 2007.
- MA, Y.; DICKINSON, N. M. WONG, M. H. Beneficial effects of earthworms and arbuscular mycorrhizal fungi on establishment of leguminous trees on Pb/Zn mine tailings. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 38, p. 1403-1412, 2006.
- MAAB, S.; CARUSO, T.; RILLING, M. Functional role os microarthropods in soil aggregation. **Pedobiologia**, v. 58, n. 2-3, p. 59-63, 2015.
- MACKOVA, M.; PROUZOVA, P.; STURSA, P.; RYSLAVA, E.; UHLIK, O.; BERANOVA, K.; RESEK, J.; KURZAWOVA, V.; DEMNEROVA, K.; MACEK, T. Phyto/rhizoremediation studies using long-term PCB-contaminated soil. **Environmental Science and pollution research international**, v. 16, p. 817-829, 2009.
- MAJER, J.D.; BRENNAN, K.E.C.; MOIR, M.L. Invertebrates and the Restoration of a Forest Ecosystem: 30 Years of Research following Bauxite Mining in Western Australia. **Restoration Ecology**, v. 15, n. 4, p. S104-S115, 2007.
- MALMSTROM, A. Life-history traits predict recovery patterns in Collembola species after fire: a 10 year study. **Applied Soil Ecology**, v. 56, p. 35-42, 2012.
- MANHÃES, C. M. C.; GAMA-RODRIGUES, E. F.; MOÇO, M. K. S.; GAMA-RODRIGUES, A. C. Meso- and macrofauna in the soil and litter of leguminous trees in a degraded pasture in Brazil. Agroforest Systems, v. 87, n. 5, p. 993-1004, 2013.
- MANNINEN, S.; TANSKANEN, N. Transfer of lead from shotgun pellets to humus and three plant species in a finnish shooting range. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 24, p. 410-414, 1993.
- MARTINY, A.; PINTO, A. L. Aplicação da microscopia eletrônica de varredura à análise de resíduos de tiro. **Revista C & T**, p. 24-35, 2008.

- MELO, F. V.; BROWN, G. G.; LOUZADA, J. N. C.; LUIZÃO, F. J.; MORAIS, J. W.; ZANETTI, R. A importância da meso e macrofauna do solo na fertilidade e como bioindicadores. **Boletim Informativo da SBCS**, 2009.
- MELO, L. C. A.; ALLEONI, L. R. F.; CARVALHO, G.; AZEVEDO, R. A. Cadmium-and barium-toxicity effects on growth and antioxidant capacity of soybean (*Glycine max* L.) plants, grown in two soil types with differente physicochemical properties. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 174, p. 847-859, 2011.
- MELONI, F.; VARANDA, E. M. Litter and soil arthropod colonization in reforested semi-deciduous seasonal Atlantic forest. **Restoration Ecology**, v. 23, n. 5, p. 690-697, 2015.
- MENTA, C. Soil fauna diversity function, soil degradation, biological índices, soil restoration. In: LAMEED, G. A. (Ed.) **Biodiversity conservation and utilization in a diverse word**. Rijeka: InTech, 2012. p. 59-94.
- MERGULHÃO, A. C. E. S.; BURITY, H. A.; GOTO, B. T.; MAIA, L. C. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in a gypsum mining impacted semiarid area. **Acta Botânica Brasilica**, v. 24, n. 4, p. 1052-1061, 2010.
- MESMAN, M.; RUTGERS, M.; JENSEN, J. Using the triad in site specific assessment of contaminated soil. In: JENSEN, J.; MESMAN, M. **Ecological risk assessment of contaminated land: decision support for site specific investigations**. Bilthoven: National Institute for Public Health and the Environment (RIVM), 2006. p. 41-53.
- MIGLIORINI, M.; PIGINO, G.; BIANCHI, N.; BERNINI, F.; LEONZIO, C. The effects of heavy metal contamination on the soil arthropod community of a shooting range. **Environmental Pollution**, v. 129, p. 331-340, 2004.
- MIGLIORINI, M.; PIGINO, G.; CARUSO, T.; FANCIULLI, P. P.; LEONZIO, C.; BERNINI, F. Soil communities (Acari Oribatida; Hexapoda Collembola) in a clay pigeon shooting range. **Pedobiologia**, v. 49, p. 1-13, 2005.
- MMA/IBAMA Ministério do Meio Ambiente / Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Plano de Manejo da Floresta Nacional de Ipanema**. Brasil, 2003. 99 p.
- MORAIS, J. W.; OLIVEIRA, F. G. L.; BRAGA, R. F.; KORASAKI, V. Mesofauna. IN: MOREIRA, F. M. S.; CARES, J. E.; ZANETTI, R. B.; STURMER, S. L. (Eds.) **O** ecossistema solo: componentes, relações ecológicas e efeitos na produção vegetal. Lavras: Editora UFLA, 2013. p. 185-200.
- MOZAFAR, A.; RUH, R.; KLINGEL, P.; GAMPER, H.; EGLI, S.; FROSSARD, E. Effect of heavy metal contaminated shooting range soils on mycorrhizal colonization of roots and metal uptake by leek. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 79, p. 177-191, 2002.
- MUELLER, K. E.; EISENHAUER, N.; REICH, P. B.; HOBBIE, S. E.; CHADWICK, O. A.; CHOROVER, J.; DOBIES, T.; HALE, C. M.; JAGODZINSKI, A. M.; KALICKA, I.; KASPROWICZ, M.; KIELISZEWSKA-ROKICKA, B.; MODRZYNSKI, J.; ROZEN, A.; SKORUPSKI, M.; SOBCZYK, L.; STASINSKA, M.; TROCHA, L. K.; WEINER, J.; WIERZBICKA, A.; OLEKSYN, J. Light, earthworms, and soil resources as predictors of diversity of 10 soil invertebrate groups across monocultures of 14 trees pecies. **Soil Biology & Biochemistry**, p. 1-15, 2015.
- MUHAMMAD, S.; IQBAL, M. Z.; MOHAMMAD, A. Effect of lead and cadmium on germination and seedling growth of *Leucaena leucocephala*. **Journal of Applied Sciences and Environmental Management**, v. 12, n. 2, p. 61-66, 2008.

- MURRAY, K.; BAZZI, A.; CARTER, C.; EHLERT, A.; HARRIS, A.; KOPEC, M.; RICHARDSON, J.; SOKOL, H. Distribution and mobility of lead in soils at na outdoor shooting range. **Journal of Soil Contamination**, v. 6, n. 1, p. 79-93, 1997.
- NIEMEYER, J. C.; MOREIRA-SANTOS, M.; NOGUEIRA, M. A.; CARVALHO, G. M.; RIBEIRO, R.; SILVA, E. M.; SOUSA, J. P. Environmental risk assessment of a metal-contaminated area in the Tropics. Tier I: screening phase. **Journal of Soil and Sediments**, v. 10, p. 1557-1571, 2010.
- NIEMEYER, J. C.; MOREIRA-SANTOS, M.; RIBEIRO, R.; RUTGERS, M.; NOGUEIRA, M. A.; SILVA, E. M.; SOUSA, J. P. Ecological risk assessment of a metal-contaminated area in the tropics. Tier II: Detailed Assessment. **PloS ONE**, v. 10, n. 11, p. 1-25, 2015.
- NIEMEYER, J. C.; NOGUEIRA, M. A.; CARVALHO, G. M.; COHIN-DE-PINHO, S. J.; OUTEIRO, U.S.; RODRIGUES, G.G.; SILVA, E. M.; SOUSA, J. P. Functional and structural parameters to assess the ecological status of a metal contaminated area in the tropics. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 86, p. 188-197, 2012.
- ODUM, E. P.; BARRETT, G. W. **Fundamentos de Ecologia**. Tradução da 5ª edição norte-americana. São Paulo: Cengage Learning, 2011.
- OKKENHAUG, G.; GEBHARDT, K. G.; AMSTAETTER, K.; BUE, H. L.; HERZEL, H.; MARIUSSEN, E.; ALMAS, A. R.; CORNELISSEN, G.; BREEDVELD, G. D.; RASMUSSEN, G.; MULDER, J. Antimony (Sb) and lead (Pb) in contaminated shooting range soils: Sb and Pb mobility and immobilization by iron based sorbents, a field study. **Journal of Hazardous Materials**, v. 307, p. 336-343, 2016.
- PARISI, V.; MENTA, C.; GARDI, C.; JACOMINI, C.; MOZZANICA, E. Microarthropod communities as a tool to assess soil quality and biodiversity: a new approach in Italy. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 105, p. 323 333, 2005.
- PAWLOWSKA, T. E.; CHARVAT, I. Heavy-metal stress and developmental patterns of arbuscular mycorrhizal fungi. **Applied and environmental microbiology**, v. 70, n. 11, p. 6643-6649, 2004.
- PENTEADO, J. C. P.; VAZ, J. M. O legado das bifenilas policloradas (PCBs). **Química Nova**, v. 24, n. 3, p. 390-398, 2001.
- PESARO M, WIDMER F, NICOLLIER G, ZEYER J. Effects of freeze-thaw stress during soil storage on microbial communities and methidathion degradation. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 35, n. 8, p. 1049 1061, 2003.
- PICHTEL, J.; KUROIWA, K.; SAWYERR, H. T. Distribution of Pb, Cd and Ba in soils and plants of two contaminated sites. **Environmental Pollution**, v. 110, p. 171-178, 2000.
- PLAZA, G. A.; NALECZ-JAWECKI, G.; PINYAKONG, O.; ILLMER, P.; MARGESIN, R. Ecotoxicological and microbiological characterization of soil from heavy-metal- and hydrocarbon-contaminated sites. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 163, p. 477-488, 2010.
- PONGE, J.; DUBS, F.; GILLET, S.; SOUSA, J. P.; LAVELLE, P. Decreased biodiversity in soil springtail communities: the importance of dispersal and land use history in heterogeneous landscapes. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 38, p. 1158-1161, 2006.
- PONGE, J.P.; GILLET, S.; DUBS, F.; FEDOROF, E.; HAESE, L.; SOUSA, J.P.; LAVELLE, P. Collembolan communities as bioindicators of land use intensification. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 35, p. 813-826, 2003.

- RANTALAINEN, M.; TORKKELI, M.; STROMMER, R.; SETALA, H. Lead contamination of an old shooting range affecting the local ecosystem A case study with a holistic approach. **Science of the Total Environment**, v. 369, p. 99-108, 2006.
- RANZANI, G.; FREIRE, O.; KINJO, T.; FRANÇA, G. U. **Projeto ETA 70: Fazenda Ipanema, carta de Solos da Fazenda Ipanema**. Piracicaba: Departamento de solos, 1965. 55p.
- RAO, A. V.; TAK, R. Growth of different tree species and their nutrient uptake in limestone mine spoil as influenced by arbuscular mycorrhizal (AM)-fungi in Indian arid zone. **Journal of Arid Environments**, v. 51, p. 113-119, 2002.
- REID, B. J.; WATSON, R. Lead tolerance in *Aporrectodea rosea* earthworms from a clay pigeon shooting site. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 37, p. 609-612, 2005.
- RIBÉ, V.; AULENIUS, E.; NEHRENHEIM, E.; MARTELL, U.; ODLARE, M. Applying the triad method in a risk assessment of a former surface treatment and metal industry site. **Journal of Hazardous Materials**, v. 207-208, p. 15-20, 2012.
- ROBINSON, B. H.; BISCHOFBERGER, S.; STOLL, A.; SCHROER, D.; FURRER, G.; ROULIER, S.; GRUENWALD, A.; ATTINGER, W.; SCHULIN, R. Plant uptake of trace elements on a Swiss military shooting range: uptake pathways and land management implications. **Environmental Pollution**, v. 153, p. 668-676, 2008.
- RODRIGUES, A. P. C.; CASTILHOS, Z. C.; CESAR, R. G.; ALMOSNY, N. R. P.; LINDE-ARIAS, A. R.; BIDONE, E. D. **Avaliação de risco ecológico: conceitos básicos, metodologia e estudo de caso**. Rio de Janeiro: CETEM/MCT, 2011. (Série Estudos e Documentos, 78).
- RODRÍGUEZ-SEIJO, A.; ALFAYA, M. C.; ANDRADE, M. L.; VEGA, F. A. Copper, chromium, nickel, lead and zinc levels and pollution degree in firing range soils. Land **Degradation & Development**, v.27, p.1721–1730, 2016.
- RODRÍGUEZ-SEIJO, A.; CACHADA, A.; GAVINA, A.; DUARTE, A. C.; VEJA, F. A.; ANDRADE, M. L.; PEREIRA, R. Lead and PAHs contaminantion of an old shooting range: a case study with a holistic approach. **Science of the Total Environment**, v. 575, p. 367-377, 2017.
- ROONEY, C. P.; MCLAREN, R. G.; CONDRON, L. M. Control of lead solubility in soil contaminated with lead shot: effect of soil pH. **Environmental Pollution**, v. 149, p. 149-157, 2007.
- ROONEY, C. P.; MCLAREN, R. G.; CRESSWELL, R. J. Distribution and phytoavailability of lead in a soil contaminated with lead shot. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 166, p. 535-548, 1999.
- RUBACH, M. N.; ASHAUER, R.; BUCHWALTER, D. B.; LANGE, H. J.; HAMER, M.; PREUSS, T.; TOPKE, K.; MAUND, S. J. Framework for traits-based assessment in ecotoxicology. **Integrated Environmental Assessment and Management**, v. 7, n. 2, p. 172-186, 2011.
- RUSEK, J. Biodiversity of collembola and their functional role in ecosystem. **Biodiversity** and Conservation, v. 7, p. 1207-1219, 1998.
- SAFE, S. Toxicology, structure-function relation-ship, and human and environmental health impacts of polychlorinated biphenyls: progress and problems. **Environmental Health Perspectives**, v. 100, p. 259-268, 1992.

- SALMON, S.; PONGE, J. F.; GACHET, S.; DEHARVENG, L.; LEFEBVRE, N.; DELABROSSE, F. Linking species, traits and habitat characteristics of collembola at European scale. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 75, p, 73-85, 2014.
- SALMON, S.; PONGE, J. F. Species traits and habitats in springtail communities: A regional scale study. **Pedobiologia**, v. 55, p. 295-301, 2012.
- SANDERSON, P.; NAIDU, R.; BOLAN, N.; BOWMAN, M.; MCLURE, S. Effect of soil type on distribution and bioaccessibility of metal contaminants in shooting range soils. **Science of the Total Environment**, v. 438, p. 452-462, 2012.
- SANTORUFO, L.; CORTET, J.; ARENA, C.; GOUDON, R.; RAKOTO, A.; MOREL, J. L.; MAISTO, G. An assessment of the influence of the urban environment on collembolan communities in soils using taxonomy- and trait-based approaches. **Applied Soil Ecology**, v. 78, p. 48-56, 2014.
- SANTOS, R. D.; LEMOS, R. C.; SANTOS, H. G.; KER, J. C.; ANJOS, L. H. C. Manual de descrição e coleta de solo no campo. Viçosa: SBCS, 2005. 100p.
- SCHAFER, R. B.; KEFFORD, B. J.; METZELING, L.; LIESS, M.; BURGERT, S.; MARCHANT, R.; PETTIGROVE, V.; GOONAN, P.; NUGEGODA, D. A trait database of stream invertebrates for the ecological risk assessment of single and combined effects of salinity and pesticides in South-East Australia. **Science of the Total Environment**, v. 409, p. 2055-2063, 2011.
- SCHENCK, N. C.; PEREZ, Y. A manual of identification of vesicular –arbuscular mycorrhizal fungi. 2rd ed. Florida: University of Florida, 1988.
- SCHEUHAMMER, A. M.; NORRIS, S. L. The ecotoxicology of lead shot and lead fishing weights. **Ecotoxicology**, v. 5, p. 279-295, 1996.
- SCHNEIDER, J.; STURMER, S. L.; GUILHERME, L. R. G.; MOREIRA, F. M. S.; SOARES, C. R. F. S. Arbuscular mycorrhizal fungi in arsenic-contaminated areas in Brazil. **Journal of Hazardous Materials**, v. 262, p. 1105-1115, 2013.
- SELONEN, S.; LIIRI, M.; SETALA, H. Can the soil fauna of boreal forests recover from lead-derived stress in a shooting range area? **Ecotoxicology**, v. 23, p. 437-448, 2014.
- SELONEN, S.; LIIRI, M.; STROMMER, R.; SETALA, H. The fate of lead at abandoned and active shooting ranges in a borel pine forest. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 31, n. 12, p. 2771-2779, 2012.
- SELONEN, S.; SETALA, H. Soil processes and tree growth as shooting ranges in a boreal forest reflect contaminantion history and lead induced changes in soil food webs. **Science of the Total Environment**, v. 518-519, p. 320-327, 2015.
- SHINZATO, E. T.; TONELLO, K. C.; GASPAROTO, E. A. G.; VALENTE, R. O. A. Escoamento pelo tronco em diferentes povoamentos florestais na Floresta Nacional de Ipanema em Iperó, Brasil. **Scientia Forestalis**, v. 39, n. 92, p. 395-402, 2011.
- SILVA, G. A.; TRUFEM, S. F. B.; SAGGIN JÚNIOR, O. J.; MAIA, L. C. Arbuscular mycorrhizal fungi in a semiarid copper mining area in Brazil. **Mycorrhiza**, v. 15, p. 47-53, 2005.
- SILVA, P. M.; CARVALHO, F.; DIRILGEN, T.; STONE, D.; CREAMER, R.; BOLGER, T.; SOUSA, J. P. Traits of collembolan life-form indicate land use types and soil properties across an European transect. **Applied Soil Ecology**, v. 97, p. 69-77, 2016.

- SINGER, A. C.; JURY, W.; LUEPROMCHAI, E.; YAHNG, C. S.; CROWLEY, D. E. Contribution of earthworms to PCB bioremediation. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 33, p. 765-776, 2001.
- SINGH, R. P.; TRIPATHI, R. D.; SINHA, S. K.; MAHESHWARI, R.; SRIVASTAVA, H. S. Responde of higher plants to lead contaminated environment. **Chemosphere**, v. 34, n. 11, p. 2467-2493, 1997.
- SLATER, H.; GOUIN, T.; LEIGH, M. B. Assessing the potential for rhizoremediation of PCB contaminated soils in northern regions using native tree species. **Chemosphere**, v. 84, p. 199-206, 2011.
- SNEDDON, J.; CLEMENTE, R.; RIBY, P.; LEPP, N. W. Source-pathway-receptor investigation of the fate of trace elementes derived from shotgun pellets discharged in terrestrial ecosystems managed for game shooting. **Environmental Pollution**, v. 157, p. 2663-2669, 2009.
- SORVARI, J.; ANTIKAINEN, R.; PYY, O. Environmental contamination at Finnish shooting ranges the scope of the problem and management options. **Science of the Total Environment**, v. 366, p. 21-31, 2006.
- SOUZA, J. P. Avaliação retrospectiva do risco ambiental: esquema de avaliação de risco para solos contaminados. In: ABRANTES, I.; SANTOS, S. (Eds). **Manual Prático para a Gestão Ambiental**. Lisboa: Verlag Dashofer, 2005.
- SOUZA, L. A.; ANDRADE, S. A. L.; SOUZA, S. C. R.; SCHIAVINATO, M. A. Arbuscular mycorrhiza confer Pb tolerance in *Calopogonium mucunoides*. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 34, p. 523-531, 2012.
- SOUZA, P. C.; MARTOS, H. L. Estudo do uso público e análise ambiental das trilhas em uma unidade de conservação de uso sustentável: Floresta Nacional de Ipanema, Iperó SP. **Revista Árvore**, v. 32, n. 1, p. 91-100, 2008.
- SOUZA, S. C. R.; ANDRADE, S. A. L.; SOUZA, L. A.; SCHIAVINATO, M A. Lead tolerance and phytoremediation potential of Brazilian leguminous tree species at the seedling stage. **Journal of Environmental Management**, v. 110, p. 299-307, 2012.
- STAM, E. M.; VAN DE LEEMKULE, M. A.; ERNSTING, G. Trade-offs in the life history and energy budget of the parthenogeneti collembolan *Folsomia candida* (Willem). **Oecologia**, v. 107, p. 283-292, 1996.
- STATZNER, B.; BECHE, L. A. Can biological invertebrate traits resolve effects of multiple stressors on running water ecosystems? **Freshwater Biology**, v. 55, p. 80-119, 2010.
- SUWA, R.; JAYACHANDRAN, K.; NGUYEN, N. T.; BOULENOUAR, A.; FUJITA, K.; SANEOKA, H. Barium toxicity effects in soybean plants. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 55, p. 397-403, 2008.
- SYLVESTRE, M. Prospects for using combined engineered bacterial enzymes and plant systems to rhizoremediate polychlorinated biphenyls. **Environmental Microbiology**, v. 15, n. 3, p. 907-915, 2013.
- TU, C.; TENG, Y.; LUO, Y.; LI, X.; SUN, X..; LI, Z.; LIU, W.; CHRISTIE, P. Potential for biodegradation of polychlorinated biphenyls (PCBs) by *Sinorhizobium meliloti*. **Journal of Hazardous Materials**, v. 186, p. 1438-1444, 2011.
- USEPA. **Framework for inorganic metals risk assessment**. Draft EPA/630/P-04/068B, 20460. Washington: U. S. Environmental Protection Agendy, 2004.

- VAN AARLE, I. M. SODERSTROM, B.; OLSSON, P. A. Growth and interactions of arbuscular mycorrhizal fungi in soils from limestone and acid rock habitats. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 35, p. 1557-1564, 2003.
- VAN DEN BRINK, P. J. Ecological risk assessment: from book-keeping to chemical stress ecology. **Environmental Science & Technology**, v. 42, p. 8999-9004, 2008.
- VAN DEN BRINK, P. J. Traits-based approaches in bioassessment and ecological risk assessment: strengths, weaknesses, opportunities and threats. **Integrated Environmental Assessment and Management**, v. 7, n. 2, p. 198-208, 2011.
- VAN DEN BRINK, P. J.; RUBACH, M. N.; CULP, J. M.; PASCOE, T.; MAUND, S. J.; BAIRD, D. J. Traits-based ecological risk assessment (TERA): realizing the potential of ecoinformatics approaches in ecotoxicology. **Integrated environmental assessment and management**, v. 7, n. 2, p. 169-171, 2010.
- VAN DER PERK, M. Soil and water contamination. 2nd ed. Leiden: CRC Press, 2012. 417p.
- VAN STRAALEN, N. M. Biodiversity of ecotoxicological responses in animals. **Netherlands Journal of Zoology**, v. 441/442, p. 112–129, 1994.
- VANDERWALLE, M.; BELLO, F.; BERG, M. P.; BOLGER, T.; DOLÉDEC, S.; DUBS, F.; FELD, C. K.; HARRINGTON, R.; HARRISON, P. A.; LAVOREL, S.; SILVA, P. M.; MORETTI, M.; NIEMELA, J.; SANTOS, P.; SATTLER, T.; SOUSA, J. P.; SYKES, M. T.; VANBERGEN, A. J.; WOODCOCK, B. A. Functional traits as indicators of biodiversity response to land use changes across ecosystems and organisms. **Biodiversity and Conservation**, v. 19, p. 2921-2947, 2010.
- VASICKOVA, J.; VANA, M.; KOMPRODOVA, K.; HOFMAN, J. The variability of standard artificial soils: Effects on the survival and reproduction of springtail (*Folsomia candida*) and potworm (*Enchytraeus crypticus*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 114, p. 38-43, 2015.
- VASILYEVA, G. K.; STRIJAKOVA, E. R.; NIKOLAEVA, S. N.; LEBEDEV, A.; SHEA, P. J. Dynamics of PCB removal and detoxification in historically contaminated soils amended with activated carbon. **Environmental Pollution**, v. 158, p. 770-777, 2010.
- VIOLLE, C.; NAVAS, M.; VILE, D.; KAZAKOU, E.; FORTUNEL, C.; HUMMEL, I.; GARNIER, E. Let the concept of trait be functional! **Oikos**, v. 116, p. 882-892, 2007.
- WANG, P.; ZHANG, Q.; WANG, Y.; WANG, T.; XIAOMIN, L.; YINGMING, L.; DING, L.; JIANG, G. Altitude dependence of polychlorinated biphenyls (PCBs) and polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in surface soil from Tibetan Plateau, China. **Chemosphere**, v. 76, p. 1498-1504, 2009.
- WANG, T.; WANG, Y.; FU, J.; WANG, P.; LI, Y.; ZHANG, Q.; JIANG, G. Characteristic accumulation and soil penetration of polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyls ethers in wastewater irrigated farmlands. **Chemosphere**, v. 81, p. 1045-1051, 2010.
- WARREN, M. W.; ZOU X. Soil macrofauna and litter nutrients in three tropical tree plantations on a disturbed site in Puerto Rico. **Forest Ecology and Management**, v. 170, n. 1-3, p. 161–171, 2002.
- WINCK, B. R.; SÁ, E. L. S.; RIGOTTI, V. M.; CHAUVAT, M. Relationship belween landuse and functional diversity of epigeic Collembola in Southern Brazil. **Applied Soil Ecology**, v. 109, p. 49-59, 2017

- WOLTERS, V. Biodiversity of soil animals and its function. **European Journal of Soil Biology**, v. 37, p. 221-227, 2001.
- WOLTERS, V. Invertebrate control of soil organic matter stability. **Biology and Fertility of Soils**, v. 31, n. 1-19, 2000.
- WU, F. Y.; BI, Y. L.; LEUNG, H. M.; YE, Z. H.; LIN, X. G.; WONG, M. H. Accumulation of As, Pb, Zn, Cd and Cu and arbuscular mycorrhizal status in populations of *Cynodon dactylon* grown on metal contaminated soils. **Applied Soil Ecology**, v. 44, p. 213-218, 2010.
- XU, L.; TENG, Y.; LI, Z.; NORTON, J. M.; LUO, Y. Enhanced removal of polychlorinated biphenyls from alfalfa rhizosphere soil in a field study: the impact of a rhizobial inoculum. **Science of the Total Environment**, v. 408, p. 1007-1013, 2010.
- YANG, R.; TANG, J.; YANG, Y.; CHEN, X. Invasive and non-invasive plants differ in response to soil heavy metal lead contamination. **Botanical Studies**, v. 48, p. 453-458, 2007.
- YANG, R.; YU, G.; TANG, J.; CHEN, X. Effects of metal lead on growth and mycorrhizae of a invasive plant species (*Solidago canadenses* L.). **Journal of Environmental Sciences**, v. 20, p. 739-744, 2008.
- YANG, Y.; HAN, X.; LIANG, Y.; GHOSH, A.; CHEN, J.; TANG, M. The combined effects of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and lead (Pb) stress on Pb accumulation, plant growth parameters, photosynthesis, and antioxidante enzymes in *Robinia pseudoacacia* L. **Plos One**, v. 10, n. 12, p. 1-24, 2015.
- YU, J.; WANG, T.; HAN, S.; WANG, P.; ZHANG, Q.; JIANG, G. Distribution of polychlorinated biphenyls in an urban riparian zone affected by wastewater treatment plant effluent and the transfer to terrestrial compartment by invertebrates. **Science of the Total Environment**, v. 463-464, p. 252-257, 2013.
- YUNFENG, J.; XIUQIN, Y.; FUBIN, W. Composition and spatial distribution of soil mesofauna along an elevation gradiente on the north slope of the Changbai Mountains, China. **Pedosphere**, v. 25, n. 6, p. 811-824, 2015.
- ZAREI, M.; SALEH-RASTIN, N.; JOUZANI, G. S. Arbuscular mycorrhizal abundance in contaminated soils around a zinc and lead deposit. **European Journal of Soil Biology**, v. 44, p. 381-391, 2008.
- ZEPPELINI FILHO, D.; BELLINI, B. C. **Introdução ao estudo dos Collembola**. João Pessoa: Editora da UFPB, 2004.