

UTILIZAÇÃO DE CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS NA AVALIAÇÃO DA DEGRADAÇÃO OU RECUPERAÇÃO DE UMA ÁREA SOB MINERAÇÃO DE FERRO⁽¹⁾

A. V. TRINDADE⁽²⁾, P. H. GRAZZIOTTI⁽³⁾ & M. R. TÓTOLA⁽⁴⁾

RESUMO

O estado de degradação e, ou, recuperação de diferentes sítios de uma área de mineração de ferro no município de Mariana (MG) foi avaliado pela atividade microbiana, número de esporos de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e população total de fungos e bactérias. Os substratos presentes em cada sítio, caracterizados como Rejeito de flotação (Rj), Solo superficial (SS), Subsolo (Ss), Subsolo com vegetação (SsV), Área em revegetação (AR) e Mata secundária (MS), foram amostrados na profundidade de 10-25 cm, retirando-se uma amostra composta, formada por oito amostras simples. A atividade microbiana foi avaliada pela evolução de CO₂ em amostras ao natural e com adição de sacarose ou sacarose + uréia. Fez-se também a determinação de características químicas e teor de umidade. A colonização do substrato SsV por gramíneas e plantas de candeia (*Vanillosmopsis erythropappa* Schult. Bip.) foi acompanhada pelo número de esporos de FMA, teor de carbono orgânico e atividade microbiana. Os esporos de FMA só foram observados em áreas com vegetação. O armazenamento da camada superficial de solo (sítio SS) reduziu os teores de carbono orgânico, nitrogênio total, número de esporos de FMA e atividade microbiana. Nos substratos resultantes da atividade mineradora, houve necessidade do fornecimento conjunto de carbono e nitrogênio para estimular a atividade microbiana. As características microbiológicas avaliadas apresentaram valores maiores no sítio de mata secundária do que nos demais amostrados, indicando que aqueles em recuperação não possuíam o mesmo equilíbrio biológico. As avaliações microbiológicas do solo foram capazes de distinguir os estados de perturbação ou recuperação das diferentes áreas estudadas.

Termos de indexação: atividade microbiana, fungos micorrízicos, respiração, bactérias.

⁽¹⁾ Trabalho apresentado no XXV Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, em 23-28 de julho de 1995. Recebido para publicação em março de 1998 e aprovado em maio de 2000. Parcialmente financiado pelo CNPq.

⁽²⁾ Pesquisador, Embrapa Mandioca e Fruticultura, Rua Embrapa s/n, Caixa Postal 007, CEP: 44380-000 Cruz das Almas (BA). E-mail: aldo@cnpmf.embrapa.br.

⁽³⁾ Técnico Especializado III, Embrapa Recursos Genéticos, SAIN Parque Rural, Av. W5 Norte, CEP: 70770-900 Brasília (DF). E-mail: grazziott@cenargen.embrapa.br

⁽⁴⁾ Professor do Departamento de Microbiologia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), CEP 36570-001 Viçosa (MG).

SUMMARY: USE OF MICROBIOLOGICAL PROPERTIES ON THE EVALUATION OF DEGRADATION/RECLAMATION OF AN AREA UNDER IRON MINING

*Different sites of an iron mining from Mariana, Minas Gerais, Brazil, were evaluated for determining the degree of their degradation or reclamation, using microbial activity of soil, spore numbers of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and total count of fungi and bacteria. Each site contained a substrate characterized as flotation refuse (Rj), Soil without vegetation (SS), Subsoil (Ss), Subsoil with vegetation (SsV), site under recuperation (AR) and forest (MS), and was sampled at 10-25 cm. Establishment of grasses and "candeia" (*Vanillosmopsis erythropappa* Schult. Bip.) plants in subsoil samples increased spore number of AMF, organic carbon content and microbial activity obtained by addition of sucrose and sucrose + urea. Spores of AMF were detected in sites with plant growth, only. Topsoil storage reduced organic carbon content, total nitrogen, spore number of AMF and microbial activity. In the material/substrates generated by iron mining, microbial activity responded only after carbon and nitrogen addition. Microbiological parameters evaluated were greater on the (undisturbed) forest site than on the other soils or substrates, indicating that the sites under reclamation were not under the same biological equilibrium. Soil microbiological evaluation could distinguish the degree of degradation or reclamation of the different sites studied.*

Index terms: microbial activity, mycorrhizal fungi, respiration, bacteria.

INTRODUÇÃO

No Brasil, desde o final da década de 80, as empresas mineradoras que geram impacto sobre o meio ambiente são obrigadas, por lei, a criar programas de recomposição florística das áreas afetadas. A revegetação dessas áreas é essencial para alcançar um desenvolvimento sustentável e deve acontecer desde o estabelecimento das atividades extrativistas até um longo período após o encerramento destas (Motta Neto et al., 1994).

A atividade de mineração causa, de início, uma degradação pontual na área de atuação, pela retirada da vegetação nativa, da camada superficial de solo e da geração de rejeito. Dessa atividade, resultam substratos que podem apresentar características inadequadas ao desenvolvimento vegetal, como, por exemplo: baixa taxa de infiltração de água, desuniformidade das superfícies, baixa aeração, presença de metais pesados, deficiência de nutrientes, alta salinidade e valores extremos de pH (Lamont, 1978; Fox, 1984). Tais alterações causam queda na produtividade e degradação do ecossistema (Siqueira et al., 1994). A recuperação dessas áreas vai depender, dentre outros fatores, de uma microbiota ativa, já que este é um componente chave na manutenção de um ecossistema em equilíbrio, em virtude de sua participação na ciclagem de nutrientes e de mudanças físico-químicas necessárias para a formação de uma camada propícia ao enraizamento e crescimento das plantas. A população microbiana do solo exerce papel fundamental para o perfeito funcionamento do

sistema solo-planta, especialmente nos ecossistemas naturais onde a fertilidade do solo depende, quase que inteiramente, dos processos microbianos (Siqueira et al., 1994).

O efeito danoso da ação do homem no ecossistema, tal como a atividade de mineração de carvão sobre a comunidade microbiana do solo, tem sido documentado (Rives et al., 1980; Stroo & Jencks, 1982; Williamson & Johnson, 1990). Williamson & Johnson (1990) observaram que a maioria das bactérias presentes na camada superficial de solo, estocada em montes, mostrava-se inviável e que a biomassa fúngica viável foi menor do que aquela de solos não perturbados.

Sendo assim, características microbiológicas, tais como: biomassa, atividade (respiração, ATP, atividade enzimática etc.), contagem direta e indireta da população microbiana, quantificação de microrganismos específicos (fungos micorrízicos, bactérias fixadoras de N₂, etc.), podem ser usadas nas avaliações de estado de equilíbrio de áreas submetidas a diferentes ações antrópicas.

Mediante uso de Análise de Componentes Principais, Bentham et al. (1992) observaram que índices microbiológicos (atividade da desidrogenase do solo, ATP e ergosterol) possibilitaram a distinção entre habitat, quanto ao estado de recuperação, o que não foi possível com o uso de características físico-químicas isoladas.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o estado de degradação e, ou, de recuperação de sítios de uma área de mineração de ferro, com base em características microbiológicas.

MATERIAL E MÉTODOS

O município de Mariana, MG, situa-se em área dominada por depósitos naturais de minério de ferro. Escolheu-se uma das mineradoras da região para se fazer uma avaliação do impacto gerado pela atividade extrativista. Foram amostrados diferentes solos ou substratos resultantes das operações de lavra, tendo como controle uma área adjacente não perturbada, visando à avaliação da atividade microbiana, número de esporos de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e população total de fungos e bactérias. Segue-se a descrição de cada material amostrado:

Rejeito de flotação (Rj) - Substrato gerado pelo processo físico-químico de extração de ferro, com granulometria arenosa, de composição dominada por quartzo, mas que continha elevados teores de ferro. É depositado em piscinas e constituiu-se de depósito recente, sem presença de vegetação.

Solo Superficial (SS) - Camada de solo retirada da área de lavra (mina), depositada ao ar livre, para posterior recomposição da área. Este material apresentava material orgânico aparente, como pedaços de caule e raízes.

Subsolo (Ss) - Material com baixo teor de Fe que não é utilizado para extração do minério, sendo caracterizado como Itabirito Anfibolítico, na forma de depósito ao ar livre sem presença de vegetação ou material de natureza orgânica, visível.

Subsolo com Vegetação (SsV) - Depósito antigo do mesmo material de origem que o Ss e que foi deixado ao ar livre na base de uma encosta, apresentando vegetação nativa (gramíneas, candeia, entre outras espécies).

Área em Revegetação (AR) - Área que foi terraplenada e que recebeu material do tipo SS. Inicialmente, foi colonizada por vegetação rasteira nativa; posteriormente, foi plantada com espécies nativas em espaçamento 2 x 2 m.

Mata Secundária (MS) - Área não perturbada, com dominância de embaúba (*Cecropia pachystachya* Trecul) e muitas espécies rasteiras (subosque).

Inicialmente, fez-se a limpeza do local de coleta (para retirada de vegetação, quando existente), retirando-se amostras ao acaso, com enxada e pá reta, na profundidade de 10-25 cm. De cada sítio, foram tomadas oito amostras simples de, aproximadamente, 1 kg, que, juntas, formaram uma amostra composta. Estas foram colocadas em sacos plásticos com a umidade natural e deixadas em câmara fria (18°C), por 48 h, quando se fez o processamento e foram iniciadas as avaliações.

No preparo, as amostras foram, inicialmente, passadas em peneira de malha de 4 mm de abertura,

para homogeneização. De cada amostra, foram tomadas subamostras de 100 g para realização do ensaio de atividade microbiana, medida pela respiração. Ao mesmo tempo, tomaram-se amostras de 100 g para determinação de umidade, no momento do início da incubação, para posterior correção dos valores de respiração obtidos. Os valores de umidade foram: Rj = 14 dag kg⁻¹; SS = 16,7 dag kg⁻¹; Ss = 13,7 dag kg⁻¹; SsV = 13,8 dag kg⁻¹; AR = 17,3 dag kg⁻¹; MS = 30,5 dag kg⁻¹.

No ensaio de respiração, além do material nas suas condições originais, foram introduzidos dois tratamentos: fornecimento de sacarose (1,2 dag kg⁻¹) e sacarose (1,2 dag kg⁻¹) + uréia (0,06 dag kg⁻¹), considerando-se o solo com sua umidade natural. O experimento foi realizado com duas repetições. Utilizou-se um sistema de fluxo contínuo com as amostras depositadas em erlenmeyer de 125 mL, com um tubo para entrada de ar isento de CO₂ [após passagem em colunas de CaCl₂, NaOH e solução de Ba(OH)₂] e outro de saída do ar respirado, o qual era coletado em solução de NaOH e, posteriormente, titulado com HCl 0,5 mol L⁻¹, usando-se fenolftaleína (1 dag L⁻¹) como indicador. A determinação foi feita durante 159 h, coletando-se amostras em intervalos variáveis, mas nunca superiores a 24 ou inferiores a 7,5 h. No total, foram feitas 10 tomadas de dados. Após a titulação, fez-se o cálculo do teor de CO₂ em cmol kg⁻¹ de solo seco.

Na contagem do número de unidades formadoras de colônias (UFC) de bactérias e fungos, utilizou-se o método da inoculação no sistema "pour plate" de suspensões diluídas de solo em meio ágar nutriente, para bactérias (Wollum II, 1982) com adição de 50 mg L⁻¹ de ciclohexamida e meio Martin para fungos, com adição de 30 mg L⁻¹ de estreptomicina (Wollum II, 1982). O plaqueamento foi feito por meio de diluições 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴ e 10⁻⁵. As placas foram acondicionadas em estufa à temperatura de 24-29°C, avaliando-se o número de UFC aos três dias, para bactérias, e aos sete dias, para fungos.

Para avaliar o número de esporos de FMA, tomaram-se duas subamostras de 20 g e extração pela técnica de peneiramento úmido e centrifugação em solução de sacarose (Gerdemann & Nicolson, 1963). Fez-se contagem total, utilizando-se placa circular concêntrica.

De cada amostra, retiraram-se subamostras para determinação de pH e teores de matéria orgânica e nitrogênio total (EMBRAPA, 1979).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em comparação ao Ss, a colonização do substrato SsV por gramíneas e candeia foi acompanhada de maior número de esporos de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) (Figura 1), teor de carbono

orgânico (Quadro 1) e atividade microbiana obtida pela adição de sacarose e sacarose + uréia (Figura 2). A importância da presença da cobertura vegetal sobre a microbiota havia sido observada em um trabalho na região sul do Brasil, a respeito de diferentes tipos de manejo do solo sobre a população microbiana. Os resultados mostraram um decréscimo de 65% na biomassa microbiana, quando se retirou a vegetação de um campo nativo, apresentando os menores valores de biomassa e atividade microbiana, quando comparados aos diferentes sistemas de cultivos, consorciados ou não, além do campo nativo (Cattelan & Vidor, 1990a). A população de fungos, actinomicetos, solubilizadores de fosfato e, principalmente, a de bactérias foi afetada pela retirada da cobertura vegetal neste ecossistema (Cattelan & Vidor, 1990b).

Dentre os sítios estudados, esporos de FMA só ocorreram em áreas com presença de vegetação ou

raízes (SS, SsV, AR e MS), devido à condição de simbiote obrigatório destes fungos, os quais dependem da planta hospedeira para obter carbono e, conseqüentemente, completar o seu ciclo de vida. Dentre esses sítios, o número de esporos de FMA foi maior na área de mata secundária (não-perturbada), o que pode ser considerado um indicativo de que os substratos em recomposição ou recuperação não atingiram o equilíbrio natural antes presente. A quantificação de fungos e bactérias (UFC/g de solo seco, Quadro 1) mostrou maiores populações desses microrganismos na área de mata secundária, o que corrobora os dados de esporos de FMA. No rejeito, não foi detectada a presença de fungos, o que pode ser resultado do elevado valor de pH apresentado por aquele substrato.

Os substratos SS e AR, que correspondem à camada superficial de solo, apresentaram teores de

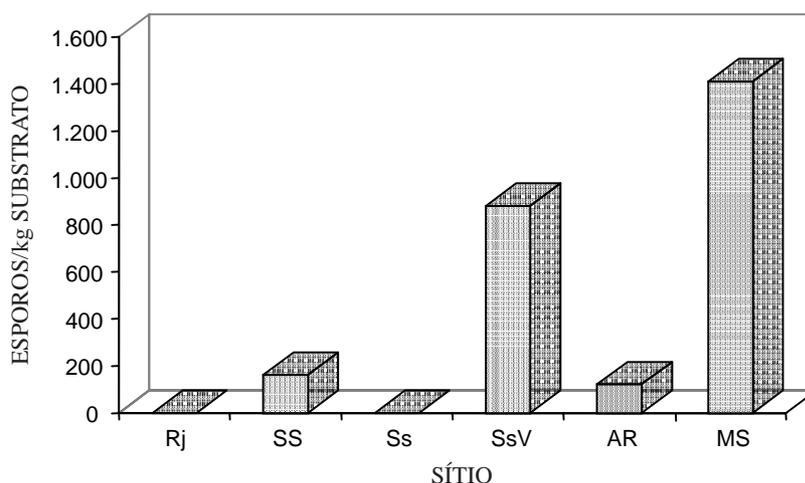


Figura 1. Número de esporos de fungos micorrízicos arbusculares em diferentes sítios em área de mineração de ferro (Rejeito de flotação (Rj); Solo Superficial (SS); Subsolo (Ss); Subsolo com Vegetação (SsV); Área em Revegetação (AR); Mata Secundária (MS).

Quadro 1. Características químicas e biológicas de diferentes sítios em área de mineração

Substrato ⁽¹⁾	pH H ₂ O (2,5:1)	C-orgânico	N-total	Relação C/N	Fungo (x 10 ³)	Bactéria (x 10 ⁸)
		— g kg ⁻¹ —			— UFC/g de solo seco ⁽²⁾ —	
Rj	8,39	2,5	0,3	8,3	nd ⁽³⁾	0,2
SS	5,16	11,0	1,4	7,9	43,0	1,7
Ss	5,52	1,8	0,5	3,6	2,7	1,5
SsV	5,70	5,4	0,5	10,8	20,0	9,0
AR	5,25	9,7	0,9	10,8	9,7	0,01
MS	4,59	61,0	4,1	14,9	97,0	121

⁽¹⁾ Rejeito de flotação (Rj); Solo Superficial (SS); Subsolo (Ss); Subsolo com Vegetação (SsV); Área em Revegetação (AR); Mata Secundária (MS). ⁽²⁾ UFC - unidade formadora de colônia. ⁽³⁾ Não detectado.

carbono orgânico e nitrogênio total muito abaixo dos valores encontrados na área de mata secundária. Isso pode ser reflexo do período de armazenamento da camada superficial de solo, que deve ter propiciado a decomposição de carbono orgânico e perda por lixiviação do nitrogênio após sua mineralização, sem entrada de matéria orgânica. A ocorrência de pequeno número de esporos de FMA nas amostras de SS e AR, quando comparadas à MS, indica que o processo de armazenamento da camada superficial de solo não conservou as condições naturais ocorrentes na área. No entanto, a adição da camada de solo como veículo de sementes e de microrganismos tem sido adotada, em face de sua importância para o estabelecimento da vegetação em áreas mineradas (Riches & Jones, 1979). Barth (1989) considerou que a maior importância desse material nos programas de recuperação talvez se deva à presença de microrganismos benéficos. No entanto, o manejo que é dado a esse material durante a estocagem, por períodos longos, pode reduzir sua eficiência como fonte de inóculo de microrganismos (Rives et al., 1980), o que foi confirmado pelos resultados obtidos neste trabalho.

A atividade microbiana, medida pela emissão de CO₂, foi baixa nas amostras em condição natural (sem adição de carbono ou nitrogênio) em todas as áreas, embora tenha apresentado valores maiores na mata secundária (MS) e no rejeito (Rj) (Figura 2). O incremento de CO₂ em função do tempo também foi maior nesses dois sítios, como demonstram os coeficientes lineares das equações ajustadas aos dados. Para o sítio MS, a maior atividade microbiana está relacionada com a maior população de microrganismos (fungos e bactérias) observada naquela área (Quadro 1). No rejeito, a atividade deve-se basicamente à população de bactérias já que não foi detectado crescimento de fungos nessa amostra. Tendo em vista que o rejeito estava sujeito à condição de anaerobiose, devido ao excesso de umidade, é possível que o método utilizado para quantificação da população de microrganismos (bactérias e fungos) não tenha sido capaz de detectar alguma população específica existente naquela condição. Por outro lado, a umidade utilizada na avaliação da respiração microbiana para o rejeito foi menor do que aquela ocorrente na área onde a amostra foi coletada; sendo assim, a eliminação ou redução da condição de anaerobiose pode ter provocado maior atividade em decorrência da busca de um novo equilíbrio pela população microbiana.

A menor atividade microbiana observada nas áreas referentes a Ss e SsV deve ser reflexo de serem materiais provenientes de subsolo, enquanto as menores atividades nas áreas SS e AR (provenientes de camada superficial de solo) devem ser decorrentes da redução da população microbiana causada pelo processo e, ou, período de armazenamento ao ar livre. Williamson & Johnson (1990) concluíram que grande parte da biomassa na camada superficial de solo

empilhado estava morta e que parte da microflora sobrevivente existia em formas inativas.

A atividade microbiana do solo de mata secundária com adição de carbono (C) ou carbono mais nitrogênio (C + N), como na condição natural, permaneceu maior do que a dos demais sítios estudados. Na amostra de mata secundária, o fornecimento isolado de carbono promoveu níveis de atividade microbiana similares àqueles obtidos com o fornecimento conjunto de carbono e nitrogênio (Figura 2), apesar da maior relação C/N (Quadro 1).

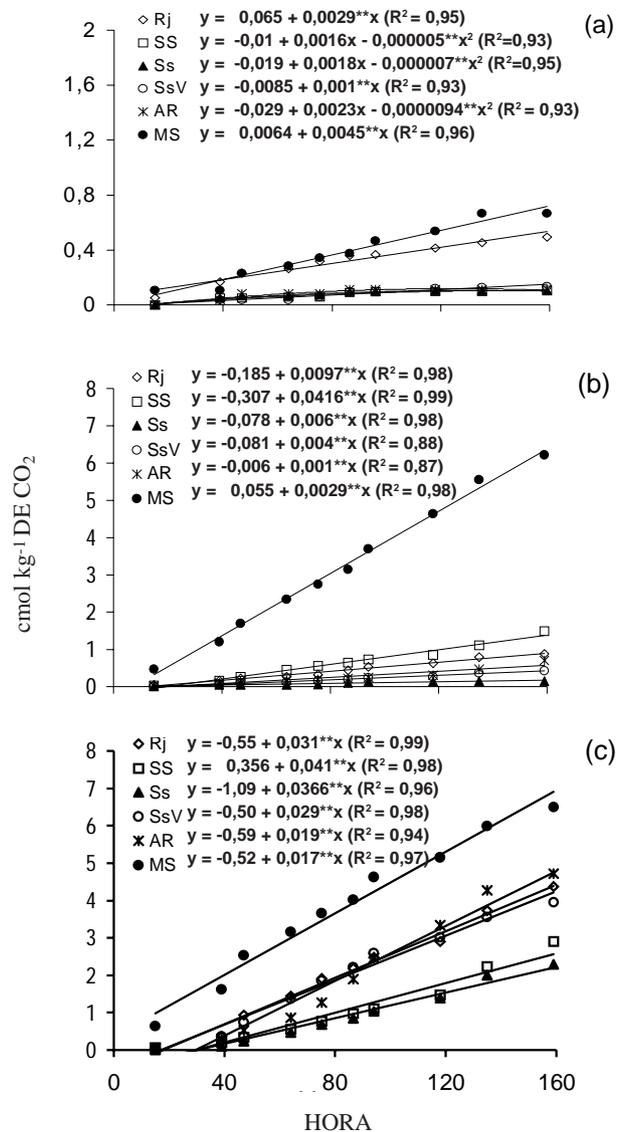


Figura 2. Respiração microbiana de diferentes substratos representantes de sítios de área de mineração de ferro, ao natural (a), com adição de sacarose (b) e de sacarose + uréia (c). [Rejeito de flotação (Rj); Solo Superficial (SS); Subsolo (Ss); Subsolo com Vegetação (SsV); Área em Revegetação (AR); Mata Secundária (MS)]. (coeficientes significativos a 1%, teste t).**

Isto mostra que, neste sítio, o carbono encontra-se em formas humificadas ou que a composição da serapilheira não é favorável à atuação dos microrganismos. Nos demais sítios, no entanto, a atividade microbiana respondeu melhor à aplicação conjunta de carbono e nitrogênio, explicando-se pelos baixos teores desses nutrientes nas amostras, em relação à mata florestal. Esses resultados demonstram a importância da adição de fontes de carbono e nitrogênio nos sítios ou substratos a serem recuperados, visando à melhoria das condições bioquímicas, o que poderá favorecer a revegetação e retomada do equilíbrio antes presentes nessas áreas.

Mesmo com o fornecimento de carbono e nitrogênio, a atividade microbiana, medida pela respiração, nas áreas perturbadas não atingiu o mesmo patamar observado na área de mata secundária. Isto confirma o impacto exercido pela atividade de mineração sobre a população microbiana, bem como reforça a validade de utilização de métodos de avaliações biológicas como indicadores de degradação e, ou, recuperação.

Considerando o grande volume de rejeito que é gerado pela atividade da mineração sendo a atividade microbiana indicadora de qualquer atividade que vise à sua incorporação como fonte de um novo ecossistema, deve-se basear, em princípio, no fornecimento de materiais orgânicos, que funcionem como fonte de C, N e regulador do pH. Na condição estudada, o fornecimento de C e N ao sistema também seria necessário para o melhor funcionamento da camada superficial de solo armazenada como substrato para a revegetação da área.

CONCLUSÕES

1. A atividade mineradora reduziu o teor de carbono, de nitrogênio, número de esporos de FMA, bem como a população e atividade de microrganismos do solo.

2. Nos materiais/substratos resultantes da atividade mineradora, houve necessidade de fornecimento de carbono e nitrogênio para retomada da atividade microbiana.

3. As avaliações microbiológicas do solo foram capazes de distinguir os estados de perturbação ou recuperação das diferentes áreas estudadas.

AGRADECIMENTOS

À SAMITRI, S.A., Mariana (MG), pelo apoio para a realização do trabalho, especialmente na pessoa do Pesquisador Rodrigo Dutra Amaral.

LITERATURA CITADA

- BARTH, R.C. Avaliação da recuperação de áreas mineradas no Brasil. Viçosa, Sociedade de Investigação Florestal, 1989. 41p. (Boletim técnico, 1)
- BENTHAM, H.; HARRIS, J.A.; BIRCH, P. & SHORT, K.C. Habitat classification and soil restoration assessment using analysis of soil microbiológicas and physicochemical characteristics. *J. App. Ecol.*, 29:711-718, 1992.
- CATTELAN, A.J. & VIDOR, C. Flutuações na biomassa, atividade e população microbiana do solo em função de variações ambientais. *R. Bras. Ci. Solo*, 14:133-142, 1990a.
- CATTELAN, A.J. & VIDOR, C. Sistemas de culturas e a população microbiana do solo. *R. Bras. Ci. Solo*, 14:125-132, 1990b.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Levantamento e conservação de solos. Manual de métodos de análises de solo. Rio de Janeiro, 1979. não paginado.
- FOX, J.E.D. Rehabilitation of mined lands. *For Abstr.*, 45:565-595, 1984.
- GERDEMANN, J.W. & NICOLSON, J.H. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 46:235-244, 1963.
- LAMONT, B.B. Biophysical constraints to the rehabilitation of mine wastes. In: FOX, J.E.D. ed. Rehabilitation of mined lands in western Australia. South Bentley, Western Australian Institute of Technology, 1978. p.37-45.
- MOTTA NETO, J.A.; MORAES, A. & LUCCHESI, L.A.C. Avaliação do uso de forrageiras e de adubações na recuperação de um solo degradado pela mineração de xisto-I. Propriedades químicas. In: SIMPÓSIO SUL AMERICANO E SIMPÓSIO NACIONAL DE RECUPERAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS, 1 e 2, Foz do Iguaçu. 1994. Anais. Curitiba, Fundação de Pesquisas Florestais do Paraná - FUPEP, 1994. p.257-265.
- RICHES, J.R.H. & JONES, H. Arid area mine Mt. Whaleback, Western Australia. *J. Soil Water Conserv.*, 35:223-229, 1979.
- RIVES, C.S.; BAJWA, M.I.; LIBERTA, A.E. & MILLER, R.M. Effects of topsoil storage during surface mining on the viability of vesicular-arbuscular mycorrhiza. *Soil Sci.*, 129:253-257, 1980.
- SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; GRISI, B.M.; HUNGRIA, M. & ARAUJO, R.S. Microrganismos e processos biológicos no solo: perspectiva ambiental. Brasília, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1994. 142p.
- STROO, H.F. & JENCKS, E.M. Enzyme activity and respiration in minesoils. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 46:548-553, 1982.
- WILLIAMSON, J.C. & JOHNSON, D.B. Determination of the activity of soil microbial populations in stored and restored soils at opencast coal sites. *Soil Biol. Biochem.*, 22:671-675, 1990.
- WOLLUM II, A.G. Cultural methods for soil microorganisms. In: MILLER, R.H. & KEENEY, D.R., eds. Methods of soil analysis: chemical and microbiological properties. Madison, Soil Science Society of America, 1982. p.781-802.