

**MINERALIZAÇÃO DE UM BIOSSÓLIDO
INDUSTRIAL NO SOLO E O EFEITO DESSE
NA BIOMASSA E ATIVIDADE
MICROBIANA**

WAGNER LUIZ PONTES

2002

WAGNER LUIZ PONTES

**MINERALIZAÇÃO DE UM BIOSSÓLIDO INDUSTRIAL NO SOLO E
EFEITO DESSE NA BIOMASSA E ATIVIDADE MICROBIANA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Solos e Nutrição de Plantas, para obtenção do título de "Mestre".

Orientador

Prof. Dr. José Oswaldo Siqueira

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2002

Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA

Pontes, Wagner Luiz

Pontes, W. L. **Mineralização de um biossólido industrial no solo e efeito desse na biomassa e atividade microbiana.** 2002. 74p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.. -- Lavras : UFLA, 2002.

74 p. : il.

Orientador: José Oswaldo Siqueira.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia

I. Biossólido industrial. 2. Mineralização. 3. Carbono. 4. Nitrogênio. 5. Cinética. 6. Biomassa microbiana. 7. Atividade microbiana. 8. Atividade enzimática. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-631.64

WAGNER LUIZ PONTES

**MINERALIZAÇÃO DE UM BIOSSÓLIDO INDUSTRIAL NO SOLO E
EFEITO DESSE NA BIOMASSA E ATIVIDADE MICROBIANA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Solos e Nutrição de Plantas, para obtenção do título de "Mestre".

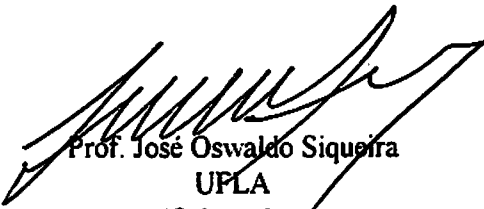
APROVADA em 22 de fevereiro de 2002

Prof. Luiz Roberto Guimarães Guilherme

UFLA

Prof. Fátima Maria de Souza Moreira

UFLA



Prof. José Oswaldo Siqueira
UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

A Deus.
por colocar
em meu caminho
somente as pessoas certas

OFEREÇO

À minha família

À minha filha, **NATHALIE**

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras e especialmente ao Departamento de Ciência do Solo pela confiança e oportunidades oferecidas para minha formação:

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos:

A Rhodia-ster S.A., por intermédio de Augusto E. Correa e Mauricio Petenusso, responsáveis pelo Convênio DCS/UFLA-Rhodia-ster:

Ao professor José Oswaldo Siqueira pela orientação, dedicação, confiança e além disso, amizade e muito respeito pelo seu profissionalismo:

Aos professores Luiz Roberto Guimarães Guilherme e Fátima M. S. Moreira pela orientação:

Ao amigo Dr. Marco Aurélio Carbone Carneiro pelo ensinamento, paciência e amizade demonstrada espontaneamente com os passar dos anos:

À amiga Isabel Trannin pela ajuda indispensável no transcórre deste trabalho:

Ao laboratorista Manuel Aparecido da Silva pela ajuda e amizade durante todo o período que trabalhei no laboratório:

Aos amigos Cláudio Roberto, Flávia Alcântara, Reginaldo e Alcivânia pela força, dedicação e amizade no decorrer deste trabalho.

Aos colegas, estagiários e funcionários do Departamento de Ciência do Solo pelos momentos de alegria:

Enfim, a todos que tiveram consideração por mim.

Obrigado

SUMÁRIO

	Página
RESUMO GERAL	i
GENERAL ABSTRACT	ii
CAPÍTULO 1	1
1 Introdução Geral	1
2 Referencial Teórico	3
2.1 Considerações gerais	3
2.2 Efeito na microbiota	5
3. Referências Bibliográficas	12
CAPÍTULO 2: Efeito do biossólido na mineralização do carbono e do nitrogênio	21
Resumo	21
Abstract	22
1 Introdução	23
2 Material e Métodos	24
3 Resultados e Discussão	30
4 Conclusões	37
5 Referências Bibliográficas	37
CAPÍTULO 3: Efeito de um biossólido na biomassa e atividade microbiana do solo	41
Resumo	41
Abstract	42
1 Introdução	43
2 Material e Métodos	46
2.1 O experimento	46

2.2 Métodos analíticos	49
2.3 Análise estatística	54
3. Resultados e Discussão	54
4 Conclusões	64
5 Referências Bibliográficas.....	65
ANEXOS	72

RESUMO GERAL

Pontes, Wagner Luiz. Mineralização de um biossólido industrial no solo e efeito desse na biomassa e atividade microbiana. 2002. Cap 1. 74 p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

A utilização de biossólido industrial como insumo agrícola, seus processos no solo e seu efeito na comunidade microbiana são ainda pouco documentados na literatura, havendo necessidade de se estudar, dentre outros aspectos, o processo de mineralização e a atividade microbiana no solo. Nesse estudo, objetivou-se avaliar o efeito da aplicação de um biossólido industrial na mineralização do carbono (C) e do nitrogênio (N), na biomassa e atividade microbiana do solo. O biossólido utilizado foi obtido da Estação de Tratamento de Efluentes (ETE) da empresa Rhodia-ster de Poços de Caldas (MG) e aplicado a um Cambissolo coletado na área da mesma empresa. Os experimentos foram desenvolvidos no Departamento de Ciência do Solo-UFLA, sendo que o primeiro foi conduzido no Laboratório de Microbiologia do Solo e constou de duas partes. Utilizaram-se quatro doses crescentes de biossólido (0, 24, 48 e 144 t ha⁻¹ base seca) em DIC. Na primeira parte avaliou-se a mineralização do C, e na segunda, a mineralização do N. Em ambos os casos, os dados foram ajustados à equação exponencial [$X_t = X_0 (1 - e^{-kt})$]. A dose de 144 t ha⁻¹ foi a que apresentou maior potencial de mineralização para C e N, sendo que a mineralização do C foi maior nos primeiros 16 dias de incubação, e para o N, maior na primeira e quarta semanas. O segundo experimento foi conduzido em casa de vegetação e constou da aplicação de doses crescentes de biossólido (0, 6, 12, 18, 24, 48, 96 e 144 t ha⁻¹ base seca), em DIC. As amostras coletadas foram analisadas quanto à biomassa microbiana (BM-C), à respiração basal (RES), ao qCO_2 , à urease (URE), à fosfatase ácida (FOS), à β -glucosidase (GLU) e à hidrólise do diacetato de fluoresceína (DAF). A BM-C atingiu o máximo aos 28 dias com a aplicação das doses 6 e 12 t ha⁻¹ (1.660 μ g C-CO₂ g solo⁻¹ h⁻¹), sendo menor nas doses mais elevadas de biossólido. A última decresceu com a elevação das doses de biossólido, ao contrário da RES que aumentou devido à maior necessidade de energia para a manutenção da população. O qCO_2 indicou efeito adverso de doses elevadas de biossólido para a microbiota. A FOS foi a única enzima estimulada com o aumento das doses de biossólido, sendo seu valor máximo de 10.900 μ g de PNP g solo⁻¹ h⁻¹. Outras enzimas não foram afetadas pela aplicação de biossólido.

Comitê Orientador Prof. José Oswaldo Siqueira - UFLA (Orientador), Prof. Luiz Roberto Guimarães Guilherme - UFLA e Prof^a. Fátima Maria de Souza Moreira - UFLA

GENERAL ABSTRACT

Pontes, Wagner Luiz. Mineralization of an industrial biosolid in the soil and its effect on microbial biomass and activity. 2002. Chap. 1. 74p. Dissertation (Master Program in Soils and Plant Nutrition) - Lavras Federal University, Lavras, MG.

There is very little information on the use of industrial biosolid as agricultural amendment. Therefore, prior to its utilization, it is important to have a better understanding of its behavior in the soil and its effects on the microbial community and activity. In this work, we aimed to evaluate the effect of a biosolid on the mineralization of carbon (C) and nitrogen (N), as well as on the microbial biomass and activity. In order to reach these goals, we used a biosolid produced by the Rhodia-ster industry, in Poços de Caldas (MG State, Southern Brazil), which was applied in Cambisol (Inceptisol) samples. Two experiments were conducted in the Soil Science Department of the Lavras Federal University (DCS/UFLA). The first one was carried out in the Soil Microbiology Laboratory, using four doses of biosolid (0, 24, 48 e 144 t ha⁻¹, based on dry weight) in complete randomized design. In the first part, C mineralization was assessed, while the second one dealt with N mineralization. For both cases, the data were adjusted to a kinetics exponential equation (first order), as follows: $X_t = X_o (1 - e^{-kt})$. The application of 144 t of biosolid per hectare presented the highest potential of C and N mineralization. For C, the process was more intense during the first 16 days of incubation, while more N was mineralized during the first and fourth weeks. The second experiment was conducted in a greenhouse, using crescent doses of biosolid (0, 6, 12, 18, 24, 48, 96 and 144 t ha⁻¹), following a complete randomized design. Soil samples were analyzed for microbial biomass-C (BM-C), basal respiration (RES), qCO_2 , urease (URE), acid phosphatase (FOS), β -glucosidase (GLU), and fluorescein diacetate hydrolysis (FDA). The highest BM-C (1660 $\mu\text{g C-CO}_2 \text{ g soil}^{-1} \text{ h}^{-1}$) was found at 28 days after the application of the doses 6 and 12 t ha⁻¹. In such conditions, there was an increase in microbial respiration, and consequently, highest incorporation of C in the biomass. The latter decreased with highest doses of biosolid, followed by highest RES, necessary to maintain the population. The qCO_2 indicated an adverse effect of highest doses of biosolid on the microbial community. With increasing doses, only the activity of the FOS was positively affected, reaching a maximum of 10900 $\mu\text{g PNP g soil}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Other enzymes were not influenced by biosolid application.

Guidance Committee: Prof. José Oswaldo Siqueira - UFLA (Major Professor), Prof. Luiz Roberto Guimarães Guilherme - UFLA e Prof. Fátima Maria de Souza Moreira - UFLA

CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO GERAL

O crescimento da população mundial nos últimos anos proporcionou aumento da urbanização, com maior demanda na produção de alimentos e produtos industrializados e, conseqüentemente, maior produção de resíduos orgânicos e inorgânicos. Estes resíduos podem ser oriundos da atividade industrial (vinhaça, resíduo de curtume e petroquímico), urbana (lodo de estação de tratamento de esgoto e composto de lixo) e agropecuária (de origem animal e vegetal), dentre outros (Tedesco et al., 1999). Enquanto as nações industrializadas buscam alternativas para escoar os 400 milhões de toneladas de resíduos produzidos anualmente, países como o Brasil convivem com sistemas totalmente precários, sem um projeto bem estruturado de disposição final para os mesmos. Em aproximadamente 75% dos municípios brasileiros o lixo é depositado em vazadouros a céu aberto, sendo que o restante recebe tratamento mais adequado, dos quais 12% correspondem a aterros controlados, 9% a aterros sanitários e 4% a compostagem, incineração e reciclagem (IBGE, 1998).

A necessidade de se obterem novas tecnologias e ações políticas para solucionar estes problemas fez com que países desenvolvidos, como os Estados Unidos, investissem em pesquisas para criar normas para melhor aproveitamento e/ou disposição destes resíduos. Atualmente, alternativas como disposição em aterro sanitário, reuso industrial, incineração, recuperação de áreas degradadas, decomposição natural ("landfarming") e uso agrícola têm sido as mais utilizadas como destino final, sendo este último o mais cogitado no momento, devido ao fato de estes materiais conterem matéria orgânica e fornecerem nutrientes para o solo. No entanto, até a sua aplicação no solo, o lodo de esgoto passa por uma série de

tratamentos, como adensamento, estabilização, condicionamento e desidratação. Estes processos visam degradar parcialmente ou estabilizar a matéria orgânica (Fernandes, 2000), diminuir a carga bacteriológica (Soccol & Paulino, 2000) e reduzir seu volume (Sobrinho, 2000), entre outros. No Brasil, a CETESB, através do documento *Sistemas de Aplicação de Biossólidos e Lodo de Tratamento Biológico em Áreas de Uso Agrícola*, apresentou as primeiras normas e limites de utilização desses resíduos na agricultura, fundamentadas nas normas da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA), denominada 40 CFR 503 (USEPA, 1996). No entanto, não são levados em consideração os fatores edafoclimáticos da região tropical, que se apresentam diferentes aos dos EUA.

O lodo de esgoto, resíduo obtido do tratamento das águas servidas (esgotos), sofre tratamento com o objetivo de despoluí-las ao máximo, permitindo seu retorno ao ambiente sem que sejam considerados agentes de poluição (Melo e Marques, 2000). A matéria orgânica e a inorgânica encontradas nessa água residual são separadas nas estações de tratamentos por diferentes processos, podendo passar por um tratamento mais simples, denominado primário, produzindo lodo digerido ou cru. Em outros processos, este lodo pode passar por operações de arejamento e decomposição biológica que correspondem a um tratamento secundário, obtendo-se o lodo ativado (Kiehl, 1985), mais tarde recebendo a denominação "biossólido".

Muitos trabalhos têm mostrado a viabilidade de emprego do biossólido de esgoto urbano na agricultura, na recuperação de áreas degradadas e no reflorestamento. Isto permite a disposição prática do material, a reciclagem de nutrientes e a manutenção do teor de matéria orgânica do solo, bem como o condicionamento de outras propriedades físicas, químicas e biológicas do mesmo. No entanto, são escassas, na literatura, pesquisas que relatem sobre a utilização

de biossólido industrial na agricultura e como este material interfere na comunidade microbiana e seus processos no solo. Para entender este fato, há necessidade de estudar, entre outros aspectos, o processo de mineralização e a atividade microbiana no solo que irá receber este tipo de material, ação necessária para qualificar um biossólido quanto ao seu potencial de uso em solos agrícolas.

Com este objetivo, avaliou-se o efeito da aplicação de um biossólido industrial na mineralização do C e N, na biomassa microbiana e na atividade microbiana do solo.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Considerações gerais

Biossólido é definido como um resíduo semi-sólido predominantemente orgânico, com teores variáveis de componentes inorgânicos, originado de sistemas de tratamento biológico de despejos líquidos urbanos ou industriais (Straus & Aquino Neto, 1998), nos quais passaram por processos de higienização, estabilização e secamento de modo a serem manuseados de forma segura (Melo & Marques, 2000). Este tipo de material possui um grande potencial em suprir, com o fornecimento de nutrientes, o desenvolvimento dos vegetais, além de melhorar as condições químicas, físicas e biológicas do solo (Melo & Marques, 2000). No entanto, sua composição bastante variável pode apresentar quantidades elevadas de metais pesados e limitar a sua aplicação no solo.

Para isto, as autoridades estabeleceram normas e critérios para o uso destes resíduos em áreas agrícolas, não somente para limitar a quantidade de metais pesados que podem ser adicionados ao solo, como também a presença de

compostos orgânicos tóxicos e de patógenos (CU Recommends, 1998). A preocupação com os metais pesados no biossólido é maior por que esses elementos podem se acumular no solo depois de repetidas aplicações, tornando-se tóxicos para as culturas, além de se acumularem na cadeia alimentar, podendo causar prejuízos à funcionalidade do sistema solo, já que no processo de tratamento estes elementos não são eliminados (Johnston et al., 1983). Segundo Bettiol et al. (1983), quando os teores de metais pesados encontram-se acima da faixa permitida pela legislação, o biossólido se torna restrito para o uso agrícola, podendo sofrer sinterização, produzindo um agregado leve, que é utilizado na construção civil, ser incinerado ou disposto em aterro sanitário.

Porém, entender os processos envolvidos na degradação do biossólido e seu efeito na microbiota é de suma importância. Segundo Lambais & Souza (2000), a aplicação de altas doses de biossólido pode implicar em modificações na comunidade microbiana e alterações na sua funcionalidade, devido à presença de compostos químicos tóxicos. Vários trabalhos comprovaram o uso do lodo de esgoto como substituto parcial dos fertilizantes minerais ou até mesmo substituição de pelo menos parte da calagem em função da metodologia do seu preparo (Melo & Marques, 2000). Bettiol & Carvalho (1982) verificaram o efeito benéfico para aproveitamento do lodo de esgoto urbano como fertilizante para as culturas de soja, arroz e feijão. Da Silva et al. (1998) observaram aumentos na produtividade de colmos e de açúcar quando utilizaram lodo de esgoto urbano da estação de tratamento de esgoto (ETE) de Barueri na adubação de soqueiras de cana-de-açúcar. Outras aplicações, como em fruticultura, no reflorestamento e na recuperação de áreas degradadas, também são alternativas interessantes dentro de critérios específicos de utilização (Sanepar, 1997).

Características como biomassa microbiana, respiração, atividade enzimática e mineralização têm sido amplamente documentadas por indicarem a

presença de agentes potencialmente poluentes (Fließbach et al., 1994; Chander et al., 1995; Brookes, 1995; Dahlin et al., 1997) e por serem processos importantes para manutenção da sustentabilidade do solo.

2.2 Efeito na microbiota

A biomassa microbiana (BM) é definida como a parte viva da matéria orgânica do solo e inclui bactérias, fungos, actinomicetos, algas e protozoários, que compreendem, em média, de 2 a 5% do C orgânico do solo (Jenkinson & Ladd, 1981) e de 1 a 5% do N total do solo (Smith & Paul, 1990). Possui importante papel na decomposição dos resíduos orgânicos pela ciclagem de nutrientes e pelo fluxo de energia no solo, influenciando tanto a mineralização da matéria orgânica quanto a estocagem do carbono e de outros nutrientes, como N e P (Jenkinson & Ladd, 1981). O curto período de ciclagem, em média de 0.15 anos (Bonde et al., 1991), e a rapidez de sua resposta às alterações de manejo (Powelson et al., 1987; Doran, 1980) a tornam um boa indicadora das mudanças que ocorrem no solo e, portanto passível de utilização para avaliar o impacto de compostos estranhos ao mesmo (Fließbach et al., 1994; Kandeler et al., 1996; Perucci et al., 2000).

A adição de resíduos orgânicos pode favorecer tanto o aumento (Leita et al., 1999) como a diminuição da biomassa microbiana (Chander & Brookes, 1993). Isto foi observado no trabalho realizado por Pascual et al. (1997), que estudando o efeito de duas doses de lodo de esgoto urbano sobre a biomassa microbiana em um solo, verificaram aumentos na biomassa carbono (BM-C) superiores a 700% na dose mais elevada em relação ao controle. O mesmo foi verificado por Chander et al. (1995) em um solo suplementado com lodo de esgoto, enriquecido com metal pesado. No entanto, há evidências de que os metais

pesados introduzidos através do lodo de esgoto causam acumulação de matéria orgânica e diminuição da taxa de ciclagem da matéria orgânica, provavelmente por causa do efeito inibitório sobre a biomassa microbiana (Chander et al., 1995; Leita et al., 1996). Isto foi comprovado por Chander & Brookes (1991) e Baáth et al. (1998), que observaram reduções nos valores de BM-C quando adicionaram em um solo lodo de esgoto enriquecido com metais pesados. Segundo Leita et al. (1995), os metais pesados afetam o crescimento, morfologia e metabolismo dos microrganismos no solo através de distúrbios funcionais, desnaturação das proteínas ou destruição da integridade da membrana celular. O fato de a biomassa microbiana responder rapidamente às alterações no solo a torna uma ferramenta de extrema importância no monitoramento de áreas em que se aplica grande quantidade deste composto.

A atividade microbiana, segundo Nannipieri (1984), é utilizada como uma maneira de melhor compreender os processos de mineralização e visualizar mais profundamente a intensidade dos fluxos de energia do solo. A respiração de organismos do solo pode ser definida como o consumo de oxigênio ou liberação de gás carbônico decorrentes da atividade de bactérias, fungos, algas, actinomicetos e protozoários, compreendendo todas as trocas gasosas do metabolismo dos mesmos (Anderson, 1982). Tal processo é resultado da degradação de substâncias orgânicas, como a que ocorre durante a mineralização do lodo de esgoto, bem como de diversos outros processos metabólicos que têm na produção de gás carbônico o estágio final da mineralização dos compostos de carbono.

Com a aplicação de lodo de esgoto, é possível ocorrer tanto um efeito estimulatório na respiração, devido ao aumento de C orgânico e disponibilidade de nutrientes que irão favorecer a microbiota do solo, como também um efeito inibitório (Fließbach et al., 1994). Pascual et al. (1997), estudando a adição de

um resíduo orgânico no solo, verificaram aumentos na atividade microbiana. Estes autores observaram um aumento na liberação de CO_2 no início do experimento, na dose mais elevada, decrescendo com o passar dos dias, indicando que a adição de compostos ricos em C ativaram a atividade microbiana do solo. Entretanto, a presença de metais pesados e de xenobióticos nos resíduos orgânicos pode contribuir também para a redução da atividade da microbiota do solo (Fließbach et al., 1994; Landi et al., 2000; Perucci et al., 2000). Desta forma, a produção de CO_2 é uma das maneiras de avaliar o efeito da aplicação de lodo de esgoto sobre a comunidade microbiana do solo.

O quociente metabólico ($q\text{CO}_2$) é considerado uma característica importante na avaliação dos efeitos das condições ambientais sobre a atividade microbiana do solo, sendo referido como taxa de respiração específica da biomassa (Anderson & Domsch, 1993). Segundo estes autores, o $q\text{CO}_2$ pode ser usado como um indicador de estresse ambiental, pois é estimado através da relação de duas características (respiração e BM-C) sensíveis às mudanças ambientais, sendo expresso pela quantidade de CO_2 por unidade de biomassa por determinado tempo. Maiores valores de $q\text{CO}_2$ são encontrados em condições adversas devido ao maior consumo de energia para manutenção da população microbiana existente, o que pode ser observado com frequência em solos ácidos (Anderson & Domsch, 1993), em solos contaminados com metais pesados (Dias-Júnior et al., 1998; Fließbach et al., 1994), também em sistemas jovens em relação a sistemas maduros (Anderson e Domsch, 1989) e em solos que receberam adição recente de resíduos orgânicos (Joergensen et al., 1996). Isto faz com que os microrganismos consumam mais substrato para manter sua biomassa nessas condições de estresse devido a um processo de seleção e adaptação (Chander & Brookes, 1993). Cardoso & Neto (2000) verificaram aumentos gradativos de $q\text{CO}_2$ com o aumento das doses de biossólido urbano aplicadas em

uma área experimental com espécies arbóreas, mostrando um efeito do bio sólido sobre o ambiente, a comunidade e a atividade microbiana.

Outra forma de medir a atividade microbiana no solo é através da atividade enzimática. Atualmente são conhecidos mais de 50 enzimas do solo, entre intra e extracelulares, sendo as hidrolases (β -glucosidase, fosfatase e urease) e as oxi-redutases (desidrogenases e catalases) as classes mais estudadas, por participarem de reações catalíticas na degradação da matéria orgânica (Gianfreda & Bollag, 1996)

A interpretação da atividade enzimática, juntamente com outras características, como biomassa e respiração, pode contribuir para melhor entendimento sobre os efeitos dos agroquímicos, práticas de cultivos, fatores ambientais na microbiota (Skujins, 1978; Nannipieri, 1994), servir como diferenciador de ambientes (Kulinska et al., 1982), no monitoramento de áreas mineradas (Klein et al., 1985; Carneiro, 2000), no monitoramento de solos contaminados com metais pesados (Chander & Brookes, 1991; Kandeler et al., 1996; Landi et al., 2000) e para avaliar os impactos da aplicação de resíduos orgânicos, como, por exemplo, bio sólidos, nos processos bioquímicos do solo (Serra-Witling et al., 1995; Gagnon et al., 2000).

Vários trabalhos relatam o efeito estimulatório na atividade enzimática do solo com a adição de resíduos orgânicos, como esterco, restos de cultura e lodo de esgoto. Sastre et al., (1996) verificaram aumento da atividade enzimática da urease, fosfatase e β -glucosidase de 112, 275 e 412%, respectivamente, em relação ao controle, em um solo fertilizado com lodo de esgoto. Esta elevação da atividade enzimática provavelmente se deve ao incremento de matéria orgânica e nutrientes, estimulando a microbiota e, conseqüentemente, a síntese destas enzimas. No entanto, o estímulo pela adição de matéria orgânica proveniente do lodo pode encobrir o efeito inibitório de metais pesados na atividade da fosfatase

e urease (Juma & Tabatabai, 1977; Frankenberger et al., 1983), já que estes materiais possuem quantidades elevadas de metais pesados, que podem afetar severamente a atividade enzimática.

Outra atividade que apresenta grande potencial é a hidrólise do diacetato de fluoresceína (DAF), o qual é hidrolisado por várias enzimas, como as protease, lipase e esterase (Guibault & Kramer, 1964; Rotman & Papermaster, 1966), ligadas à decomposição inicial dos resíduos orgânicos e liberadas pelos decompositores primários, como bactérias e fungos (Söderström, 1977; Lundgren, 1981). Devido a estes fatos, a hidrólise do DAF é considerada como indicadora do potencial enzimático do solo (Dick et al., 1996), podendo ser utilizada na avaliação dos efeitos provocados pela adição de resíduos orgânicos ao solo, como foi observado por Chantigny et al., (2000). Estes verificaram que a adição de bioestabilizado industrial promoveu efeito positivo sobre a hidrólise do DAF, indicando um estímulo na atividade microbiana do solo com adição deste resíduo.

Mineralização do C e N

O interesse na aplicação de bioestabilizado no solo tem crescido muito entre os pesquisadores, porque restaura a matéria orgânica do solo, contribuindo para aumentar a sua fertilidade. A decomposição dos materiais orgânicos adicionados ao solo é um importante aspecto da análise da estabilidade da matéria orgânica e é essencial para compreender o valor dos diferentes resíduos que podem ser utilizados na melhoria da fertilidade do solo (Saviozzi et al., 1993). O processo de decomposição, denominado mineralização, é caracterizado pela diminuição do conteúdo de matéria orgânica e um aumento da disponibilidade de minerais previamente imobilizados na forma orgânica.

Vários autores têm utilizado diversas técnicas para medir o grau de mineralização do carbono: O₂ consumido, CO₂ emitido, diminuição da matéria orgânica e o desaparecimento de constituintes específicos como a celulose e a lignina (Pascual et al., 1998). Apesar da emissão de CO₂ ser considerada exatamente um reflexo do grau de mineralização do carbono do solo (Levi-Minzi et al., 1990; Saviozzi et al., 1993), é preciso levar em consideração que experimentos de incubação, em curto prazo, são severamente limitados, quando há necessidade de extrapolar resultados de ciclagem da matéria orgânica em condições de laboratório para as condições de campo (Hsieh et al., 1981). Outra forma para entender o grau de mineralização do carbono seria estudar a cinética de decomposição pelo ajustamento dos valores de emissão de CO₂, através de modelos matemáticos. A equação de Stanford & Smith (1972) foi a primeira equação de cinética de primeira ordem descrita na bibliografia; depois surgiram outros modelos em função de hipóteses, para os quais a mineralização dependeria da variação do grau de estabilização dos diferentes grupos de substratos, e a combinação de várias equações de primeira ordem (Molina et al., 1980; Lindemann & Cardenas, 1984).

O nitrogênio é um dos elementos mais dinâmicos no solo, e sua disponibilidade é, freqüentemente, limitante ao crescimento das plantas e à produtividade das culturas (Döbereiner, 1990) e sua ciclagem altamente dependente das transformações do C (Page et al., 1983). A mineralização do nitrogênio consiste na transformação de formas orgânicas do nitrogênio para NH₄⁺ e NO₃⁻, que são assimiláveis pelas plantas e microrganismos do solo. Durante a mineralização do N orgânico, seus componentes são transformados em velocidades variáveis, em N inorgânico, podendo ser acumulados em função do seu elevado grau de recalcitrância e resistência ao ataque microbiano (Janssen, 1996). Estas transformações geralmente são influenciadas por vários fatores

como temperatura, pH, umidade, manejo de solo e adição de compostos orgânicos, dentre outros (Stenvenson, 1986).

O potencial de mineralização do nitrogênio do solo é definido como a fração presente no nitrogênio orgânico susceptível à mineralização, pressupondo que a mineralização siga uma cinética de primeira ordem (Stanford & Smith, 1972), em que se quantifica a capacidade de um bio sólido em fornecer minerais de origem orgânica para a solução do solo por um determinado período de tempo. Vários são os métodos para determinar o potencial de mineralização, sendo o da incubação, com ou sem lixiviação, baseado nos estudos de Stanford & Smith (1972), Parker & Sommers (1983) e Beaucham et al., (1986), o mais utilizado. Estes métodos, através de modelos matemáticos, tentam representar a dinâmica do ciclo do nitrogênio, estimar o potencial de mineralização do nitrogênio (N_0) e a constante da taxa de mineralização (k). No entanto, a principal dificuldade destes modelos, segundo Camargo et al. (1999), é expressar o tamanho de certos compartimentos e fluxos, como o N orgânico em relação ao N mineral.

O estudo da quantificação do potencial de mineralização em solos que receberam bio sólido é de extrema importância, pois a quantidade máxima deste composto que o solo pode receber ocorre em função da disponibilidade de N para as plantas após o processo de mineralização. Diversos autores estudaram a mineralização do N presente no lodo de esgoto (Lindemann & Cardenas, 1984; Lindeman et al., 1988; Hassen et al., 1998; He et al., 2000), no entanto, para as condições tropicais, ainda são raros ou inexistentes os trabalhos com bio sólido. A quantidade de N mineralizado encontrado pelos autores é bastante variável e está intimamente relacionado com o tipo de lodo, a taxa de aplicação, o tipo e as características do solo e procedimento experimental utilizado (Parker & Sommers, 1983; Garau et al., 1986). He et al. (2000), trabalhando com bio sólido, encontraram quantidades de nitrogênio que ultrapassavam 12.000 mg

kg⁻¹ em apenas 60 dias de incubação. Segundo Mengel (1996), é nos períodos iniciais da incubação que as formas mais lábeis são liberadas.

A maioria dos estudos atende apenas às condições de aplicação de biossólido em clima temperado, havendo necessidade de um número maior de pesquisas para que se possa compreender melhor a dinâmica do carbono e do nitrogênio, quando este for utilizado como fertilizante ou condicionador do solo.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSON, J. P. E. Soil respiration. In: PAGE, A. L.; MILLER, R. H.; KEENEY, D. R. (Ed.) *Method of soil analysis*. 2. ed. Part 2. Madison: American Society of Agronomy/Soil Science Society of America, 1982. p.831-871.
- ANDERSON, T. H.; DOMSCH, K. H. The metabolic quotient for CO₂ (q_{CO_2}) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v. 25, n. 3, p. 393-395. Mar. 1993.
- ANDERSON, T. H.; DOMSCH, K. H. Ratio of microbial biomass carbon to total organic in arable soils. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v. 21, n. 4, p. 471-479. 1989.
- BAATH, E.; DÍAZ-RAVIÑA, M.; FROSTEGARD, A.; CAMBELL, C. D. Effect of metal-rich sludge amendments on the soil microbial community. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v. 64, n. 1, p. 238-245, Jan. 1998.
- BEAUCHAMP, E. G.; REYNOLDS, W. D.; BRASCHE-VILLENEUVE, D.; KIRBY, K. Nitrogen mineralization kinetics with different soil pretreatments and cropping histories. *Soil Science Society of America Journal*, Madison, v. 50, n. 6, p. 1478-1483. Nov./Dec. 1986.

BETTIOL, W.: CARVALHO, P. C. T. Utilização de lodo de esgoto primário e fertilizantes organo-mineral IPT na cultura de milho. **Fertilizantes**, São Paulo, v. 4, p. 14-15, 1982.

BETTIOL, W.: CARVALHO, P. C. T.: FRANCO, B. J. D. C. Utilização do lodo de esgoto como fertilizante. **O solo**, Piracicaba, v. 75, n. 1, p. 44-54, 1983.

BONDE, T. A.: ROSSWALL, T.: VICTORIA, R. L. The dynamics of soil organic matter and soil microbial biomass following clearfelling and cropping of a tropical rainforest soil in the Central Amazon. In: BONDE, T. A. **Size and dynamics of active soil organic matter fraction as influenced by soil management**. Linköping University, 1991. Cap. 7, p. 1-19.

BROOKES, P. C. The use of microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy metals. **Biology and Fertility Soils**, Berlin, v. 19, n. 4, p. 269-279, Mar. 1995.

CAMARGO, F. A. de O.: GIANELLO, C.: TEDESCO, M. J.: VIDOR, C. Nitrogênio orgânico do solo. In: SANTOS, G. de A.: CAMARGO, F. A. de (Ed.). **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre: Genesis, 1999. p. 117-137.

CARDOSO, E. J. B. N.: NETO, P. F. Aplicabilidade do biossólido em plantações florestais: III. Alterações microbianas no solo. In: BETTIOL, W.: CAMARGO, O. A. (Ed.). **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto**. Jaguariúna, SP: EMBRAPA Meio Ambiente, 2000. p. 197-208.

CARNEIRO, M. A. C. **Características bioquímicas do solo em duas cronossequências de reabilitação em áreas de mineração de baixa**. 2000. 166p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavra, Lavras, MG.

COMPANHIA DE SANEAMENTO BÁSICO DO PARANÁ. **Manual técnico para utilização do lodo de esgoto no Paraná**. Curitiba: SANEPAR, 1997. 96p.

CHANDER, K.: BROOKES, P. C. Effects of heavy metals from past applications of sewage sludge on microbial biomass and organic matter accumulation in a sandy loam and silty loam U. K. soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 23, n. 10, p. 927-932, Out. 1991.

CHANDER, K.: BROOKES, P. C. Residual effects of zinc, copper and nickel in sewage sludge on microbial biomass in a sandy loam. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 25. n. 9. p. 1231-1239, Sept. 1993.

CHANDER, K.: BROOKES, P. C.: HARDING, S. A. Microbial biomass dynamics following addition of metal-enriched sewage sludges to a sandy loam. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 27. n. 11. p. 1409-1421, Nov. 1995.

CHANTIGNY, M. H.: ANGERS, D. A.: BEAUCHAMP, C. J. Active carbon pools and enzyme activities in soils amended with de-inking paper sludge. **Canadian Journal of Soil Science**, Ottawa, v. 80. n. 1. p. 99-105, Feb. 2000.

CU RECOMMENDS. Land application of sewage sludges. In: **Cornell Recommends for Integrated Field Crop Management.** A Cornell Cooperative Extension Publication, 1998.

DAHLIN, S.: WITTER, E.: MARTENSSON, A.: TURNER, A.: BAATH, E. Where's the limit? Changes in the microbiological properties of agricultural soils at low levels of metal contamination. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 29. n. 9. p. 1405-1415. Sept. 1997.

DA SILVA, F. C.: BOARETO, A. E.: BERTON, R. S.: ZOTELLI, H. B.: PEIXE, C. A.: MENDONÇA, E. Cana-de-açúcar cultivada em solo adubado com lodo de esgoto: nutrientes, metais pesados e produtividade. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33. n. 1. p.1-8. Jan. 1998.

DIAS-JÚNIOR, H. E.: MOREIRA, F. M. S.: SIQUEIRA, J. O.: SILVA, R. Metais pesados, densidade e atividade microbiana em solo contaminado por rejeitos de indústria de zinco. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 22. n. 4. p. 631-640. out./dez. 1998.

DICK, R. P.: BREAKWELL, D. P.: TURCO, R. F. Soil enzyme activities and biodiversity measurements as integrative microbiological indicators. In: **DORAN, J. W.: JONES, A. J. Methods for Assessing soil quality.** Madison: Soil Science Society of America. 1996. p.247-272.

DÖBEREINER, J. O nitrogênio na agricultura brasileira. In: **SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE NITROGÊNIO EM PLANTAS.** 1.. 1990. Itaguaí.

Anais.... Itaguai: Sociedade Brasileira de Fisiologia Vegetal, 1990. p.3-26. 1990.

DORAN, J. W. Soil microbial and biochemical changes associated with reduced tillage. *Soil Science Society America Journal, Madison, v. 44, n. 4, p. 765-771, July/Aug. 1980.*

FERNANDES, F. Estabilização e higienização de biossólidos. In: BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A. (Ed.). *Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto. Jaguariúna, SP: EMBRAPA Meio Ambiente. 2000. p.45-67.*

FLIEßBACH, A.; MARTENS, A.; REBER, H. H. Soil microbial biomass and microbial activity in soils treated with heavy metal contaminated sewage sludge. *Soil Biology and Biochemistry, Oxford, v. 26, n. 9, p. 1201-1205, Sept. 1994.*

FRANKENBERGER, W. T.; JOHANSON, J. B.; NELSON, C. O. Urease activity in sewage sludge amended soil. *Soil Biology and Biochemistry, Oxford, v. 15, n. 5, p. 543-549, 1983.*

GAGNON, B.; LALANDE, R.; SIMARD, R. R.; ROY, M. Soil enzyme activities following paper sludge addition in a winter cabbage-sweet corn rotation. *Canadian Journal of Soil Science, Madison, v. 80, n. 1, p. 91-97, Feb. 2000.*

GARAU, M. A.; FELIPÓ, M. T.; VILLA, C. R. Nitrogen mineralization of sewage sludges in soils. *Journal of Environmental Quality, Madison, v. 15, n. 3, p. 225-228, July/Sept. 1986.*

GIANFREDA, L.; BOLLAG, J. M. Influence of natural and anthropogenic factors on enzyme activity in soil. In: STOTZKY, G.; BOLLAG, J. M. *Soil Biochemistry. New York: M. Dekker. 1996. v. 9, p.123-193.*

GUILBAULT, G. G.; KRAMER, D. N. Fluorometric determination of lipase, acylase, alpha- and gamma-chymotrypsin and inhibitors of these enzymes. *Analytical Chemistry, Washington, v. 36, n.13, p. 409-412, 1964.*

HASSEN, A.; JEDIDID, N.; CHERIF, M.; M'HIRI, A.; BOUDABOUS, A.; CLEEMPUT, O. van. Mineralization of nitrogen in a clayey loamy soil amended with organic wastes enriched with Zn, Cu and Cd. *Bioresource Technology, Oxford, v. 64, n. 1, p. 39-45, Apr. 1998.*

HE, Z. L.; ALVA, A. K.; YAN, P.; LI, Y. C.; CALVERT, D. V.; STOFFELLA, P. J.; BANKS, D. J. Nitrogen mineralization and transformation from composts and biosolids during field incubation in a sandy soil. *Soil Science*. Baltimore, v. 165, n. 2, p. 161-169, Feb. 2000.

HSIEH, Y. P.; DOUGLAS, L. A.; MOTTO, H. L. Modeling sewage sludge decomposition in soil: 1. Organic carbon transformation. *Journal of Environmental Quality*, Madison, v. 10, n. 1, p. 54-59, 1981.

IBGE. *Infraestrutura e meio ambiente*. Rio de Janeiro, 1998.

JANSSEN, B. H. Nitrogen mineralization in relation to C:N ratio and decomposability of organic materials. *Plant Soil*, The Hague, v. 181, n. 1, p. 39-45, Apr. 1996.

JENKINSON, D. S.; LADD, J. M. Microbial biomass in soil: movement and turnover. In: PAUL, E. A.; LADD, J. M. (Ed.). *Soil biochemistry*. New York: Marcel Dekker, 1981. p.368-386.

JOERGENSEN, R. G.; MEYER, B.; RODEN, A.; WITTKER, B. Microbial activity and biomass in mixture treatments of soil and biogenic municipal refuse compost. *Biology and Fertilizer Soils*, Berlin, v. 23, n. 1, p. 43-49, July 1996.

JOHNSTON, N. B.; BECKETT, P. H. T.; WATERS, C. J. Limits of zinc and copper toxicity from digested sludge applied to agricultural land. In: DAVIS, R. D.; HUCKER, C.; L'HERMITE, P. (Ed.). *Environmental effects of organic and inorganic contaminants in sewage sludge*. Reidel: Dordrecht, 1983. p. 75-82.

JUMA, N. G.; TABATABAI, M. A. Effects of trace elements on phosphatase activity in soils. *Soil Science Society American Journal*, Madison, v. 41, n. 2, p. 343-346, Mar./Apr. 1977.

KANDELER, E.; KAMPICHLER, C.; HORAK, O. Influence of heavy metals on the functional diversity of soil microbial communities. *Biology and Fertility Soils*, Berlin, v. 23, n. 3, p. 299-306, Oct. 1996.

KIEHL, E. J. *Fertilizantes orgânicos*. Piracicaba: Agronômica Ceres, 1985. 492p.

KLEIN, D. A.: SORENSEN, D. L.: REDENTE, E. F. Soil enzymes: a predictor of reclamation potential and progress. In: TATE, R. L. III: KLEIN, D. A. (Ed.). *Soil reclamation processes: microbiological analyses and applications*. New York: Dekker, 1985. p.141-171.

KULINSKA, D.: CAMARGO, V. L. L.: DROZDOWICZ, A. Enzyme activities in "Cerrado" soils in Brazil. *Pedobiologia, Leirzig*, v. 24, n. 2, p. 101-107. 1982.

LANDI, L.: RENELLA, G.: MORENO, J. L.: FALCHINI, L.: NANNIPIERI, P. Influence of cadmium on the metabolic quotient, L-D-glutamic acid respiration ratio and enzyme activity: microbial biomass ratio under laboratory conditions. *Biology and Fertility Soils, Berlin*, v. 32, p. 8-16. 2000.

LEITA, L.: DE NOBILI, M.: MUHLBACHOVA, G.: MONDINI, C.: MARCHIOL, L.: ZERBI, G. Bioavailability and effects of heavy metals on soil microbial biomass survival during laboratory incubation. *Biology Fertility Soils, Berlin*, v. 19, n. 2/3, p. 103-108, Oct. 1995.

LEITA, L.: DE NOBILI, M.: MONDINI, C.: MUHLBACHOVA, G.: MARCHIOL, L.: BRAGATO, G.: CONTIN, M. Influence of inorganic and organic fertilization on soil microbial biomass, metabolic quotient and heavy metal bioavailability. *Biology and Fertility Soils, Berlin*, v. 28, n. 4, p. 371-376, Feb. 1999.

LEITA, L.: MUHLBACHOVA, G.: MONDINI, C.: MARCHIOL, L.: DE NOBILI, M. Soil microbial biomass as a marker of heavy metal contamination and bioavailability. In: ROSEN, D.: TEL-OR, E.: HADAR, Y.: CHEN, Y. (Ed.). *Modern agriculture and the environment*. Kluwer: Dordrecht. 1996. p. 449-457.

LEVI-MINZI, R.: RIFFALDI, R.: SAVIOZZI, A. Carbon mineralization in soil amended with different organic materials. *Agriculture Ecosystem Environmental, Amsterdam*, v. 31, n. 4, p. 325-335. Aug. 1990.

LINDEMANN, W. C.: CARDENAS, M. Nitrogen mineralization potential and nitrogen transformations of sludge-amended soil. *Soil Science Society American Journal, Madison*, v. 48, n. 5, p. 1072-1077. Sept./Oct. 1984.

LINDEMANN, W. C.: CONNELL, G.: URQUHART, N. S. Previous sludge addition effects on nitrogen mineralization in freshly amended soil. *Soil Science Society American Journal*, Madison, v. 52, p. 109-112. Jan./Feb. 1988.

LUNDGREN, B. Fluorescein diacetate as a stain of metabolically active bacteria in soil. *Oikos*, Copenhagen, v. 36, n. 1, p. 17-22. 1981.

LAMBAIS, M. R.: SOUZA, A. G. de. Impacto de biossólidos nas comunidades microbianas dos solos. In: BETTIOL, W.: CAMARGO, O. A. (Ed.). *Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto*. Jaguariúna, SP: EMBRAPA Meio Ambiente, 2000. p.269-279.

MELO, W. J.: MARQUES, O. M. Potencial do lodo de esgoto como fonte de nutrientes para as plantas. In: BETTIOL, W.: CAMARGO, O. A. (Ed.). *Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto*. Jaguariúna, SP: EMBRAPA Meio Ambiente, 2000. p.109-141

MENGEL, K. Turnover of organic nitrogen in soils and its availability to crops. *Plant and Soil*, The Hague, v. 181, n. 1, p. 83-93, Apr. 1996.

MOLINA, J. A. E.: CLAPP, C. E.: LARSON, W. E. Potentially mineralizable nitrogen in soil: the simple exponential model does not apply to the first 12 weeks of incubation. *Soil Science Society American Journal*, Madison, v. 44, n. 2, p. 442-443. Mar./Apr. 1980.

NANNIPIERI, P. Microbbial biomass and activity measurements in soil: ecological significance. In: KLUG, M. J.: REDDY, C. A. (Ed.). *Current perspectives in microbial ecology*. Washington: America Society for Microbiology, 1984. p.515-521.

NANNIPIERI, P. Productivity, sustainability and pollution. In: PARKHURST, C. E.: DOUBE, B. M.: GUPTA, V. V.: GRACE, P. R. (Ed.). *Soil biota - management in sustainable farming systems*. Adelaide: CSIRO, 1994. p.238-244.

PAGE, A. L.: GLEASON, T. L.: SMITH JR, J. E.: ISKANDAR, I. K.: SOMMERS, L. E. Utilization of minicipal wastewater and sludge on land. *Biocycle*, Washington, v. 25, n. 4, p. 26-30. 1983.

PARKER, C. F.: SOMMERS, L. E. Mineralization of nitrogen in sewage sludges. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 12, n. 1, p. 150-156. 1983.

PASCUAL, J. A.: GARCIA, C.: HERNANDEZ, T.: AYUSO, M. Carbon mineralization in an arid soil amended with organic wastes of varying degrees of stability. **Communications in Soil Science Plant Analysis**, New York, v. 29, n. 7/8, p. 835-846. 1998.

PASCUAL, J. A.: GARCIA, C.: HERNANDEZ, T.: AYUSO, M. Changes in the microbial activity of an arid soil amended with urban organic wastes. **Biology and Fertility Soils**, Berlin, v. 24, n. 4, p. 429-434. May 1997.

POWLSON, D. S.: BROOKES, P. C.: CHRISTENSEN, B. T. Measurement of soil microbial biomass provides an indication of changes in total soil organic matter due to straw incorporation. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 19, n. 2, p. 159-164. Feb. 1987.

PERUCCI, P.: DUMONTET, S.: BUFO, S. A.: MAZZATURA, A.: CASUCCI, C. Effects of organic amendment and herbicide treatment on soil microbial biomass. **Biology and Fertility Soils**, Berlin, v. 32, n. 1, p. 17-23, Oct. 2000.

ROTMAN, B.: PAPERMASTER, B. W. Membrane properties of living mammalian cells as studied by enzymatic hydrolysis of fluorogenic ester. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, Washington, v. 55, n. 1, p. 134-141. 1966.

SASTRE, I.: VICENTE, M. A.: LOBO, M. C. Influence of the application of sewage sludges on soil microbial activity. **Bioresource Technology**, Oxford, v. 57, n. 2, p. 19-23. July 1996.

SAVIOZZI, A.: LEVI-MINZI, R.: RIFFALDI, R. Mineralization parameters from organic materials added to soil as a function of their chemical composition. **Bioresource Technology**, Oxford, v. 45, n. 2, p. 131-135. 1993.

SERRA-WITTLING, C.: HOUOT, S.: BARRIUSO, E. Soil enzymatic response to addition of municipal solid-waste compost. **Biology and Fertility Soils**, Berlin, v. 20, n. 4, p. 226-236. Sept. 1995.

SKUJINS, J. History of abiotic soil enzyme research. In: BURNS, R. G. (Ed.). *Soil enzymes*. London: Academic Press, 1978. p.1-49.

SOBRINHO, P. A. Tratamento de esgoto e geração de lodo. In: BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A. (Ed.). *Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto*. Jaguariúna, SP: EMBRAPA Meio Ambiente, 2000. p. 11-24.

SOCOL, V. T.; PAULINO, R. C. Riscos de contaminação do agroecossistema com parasitos pelo uso do lodo de esgoto. In: BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A. (Ed.). *Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto*. Jaguariúna, SP: EMBRAPA Meio Ambiente, 2000. p. 245-258.

SÖDERSTRÖM, B. E. Vital staining of fungi in pure cultures and in soil with fluorescein diacetate. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v. 9, n. 1, p.59-63. 1977.

SMITH, J. L.; PAUL, E. A. The significance of soil microbial biomass estimations. In: BOLLAG, J. M.; STOTZKY, G. (Ed.). *Soil biochemistry*. New York: M. Dekker, 1990. v. 6. p.357-396.

STANFORD, G.; SMITH, S. J. Nitrogen mineralization potentials of soils. *Soil Science Society American Proceedings*, Madisno, v. 36, n. 3, p. 465-472, May/June 1972.

STEVENSON, F. J. *Cycles of soil-carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur, micronutrients*. New York: John Wiley & Sons, 1986. 380p.

STRAUS, E. L.; AQUINO NETO, V. de. Normalização e Monitoramento da Gestão de Biossólidos - Exigências Ambientais para Aplicação de Biossólidos em Áreas Agrícolas. In: SEMINÁRIO SOBRE GERENCIAMENTO DE BIOSSÓLIDOS DO MERCOSUL, 1., 1998, Curitiba. Anais... Curitiba: SANEPAR/ABES, 1998. p.301-306.

TEDESCO, M. J.; SELBACH, P. A.; GIANELLO, C.; CAMARGO, F. A. de O. Resíduos orgânicos no solo e os impactos no ambiente. In: SANTOS, G. de A.; CAMARGO, F. A. de O. (Ed.). *Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais*, 1999. p.159-196.

U. S. EPA. Standards for the use and Disposal of Sewage Sludge (40 CFR Parts 257. 403 and 503)- Updated July/1996.

CAPÍTULO 2

EFEITO DO BIOSSÓLIDO NA MINERALIZAÇÃO DO CARBONO E DO NITROGÊNIO

RESUMO

Pontes, Wagner Luiz. Efeito do biossólido na mineralização do carbono e do nitrogênio. 2002. Cap. 2. 20p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

O aumento desordenado da população e das atividades industriais tem resultado em impactos ambientais indesejáveis, principalmente pelo despejo de esgotos em mananciais hídricos. Do tratamento de esgoto é gerado o lodo de esgoto ou biossólido, geralmente rico em matéria orgânica e nutrientes, o que possibilita sua utilização na agricultura para manter a fertilidade e condicionar o solo. A utilização de biossólido industrial como insumo agrícola, seus processos no solo e seu efeito na comunidade microbiana são ainda pouco documentados na literatura. Para qualificar o biossólido produzido pela indústria Rhodia-ster de Poços de Caldas (MG) quanto ao seu potencial de uso como fertilizante, foi conduzido um experimento para determinar a mineralização do carbono (C) e do nitrogênio (N) quando aplicado a amostras de Cambissolo, tratado com doses crescentes de biossólido (0, 24, 48 e 144 t ha⁻¹ base seca), sendo estes tratamentos distribuídos em DIC com 6 repetições e constando de duas partes. Na primeira parte, avaliou-se a mineralização do C pela respiração, e na segunda, a mineralização do N, conforme metodologia proposta por Stanford & Smith (1972). A mineralização do C baseou-se na captura do CO₂ liberado pelo solo durante incubação num período de 31 dias, enquanto a mineralização do N foi estimada no período de 9 semanas. Em ambos os casos, os dados foram ajustados à equação exponencial de cinética de primeira ordem [$X_t = X_{\infty} (1 - e^{-kt})$]. A dose de 144 t ha⁻¹ foi a que apresentou maior potencial de mineralização, tanto para C como para N, sendo que a mineralização do C foi maior nos primeiros 16 dias de incubação enquanto, para o N, foi maior na primeira e quarta semana. O C foi liberado mais rápido para o ambiente ($t_{1/2} = 2$ semanas), e o N, em um processo mais lento, foi liberado após $t_{1/2} = 8,6$ semanas.

Comitê Orientador Prof. José Oswaldo Siqueira - UFLA (Orientador), Prof. Luiz Roberto Guimarães Guilherme - UFLA e Profª. Fátima Maria de Souza Moreira - UFLA

ABSTRACT

Pontes, Wagner Luiz. Application of biosolid and its effect on the mineralization of carbon and nitrogen. 2002. Chap. 2 20p. Dissertation (Master Program in Soils and Plant Nutrition) - Lavras Federal University, Lavras, MG.

One of the negative impacts promoted by the increase in population and industrial activity is the large production of domestic and industrial sewage. The sewage sludge, or biosolid, is the product of the treatment of such material and has been tested as agricultural fertilizer or amendment, due to its richness in nutrients and organic carbon. However, there is very little information on the use of industrial biosolid as amendment, mainly with respect to its behavior in the soil and effect on the microbial community. In this work we aimed to evaluate the quality of a biosolid produced by the Rhodia-ster industry, in Poços de Caldas (Minas Gerais State, Southern Brazil), and to verify its potential as organic amendment. In order to reach these objectives, we determined the mineralization of carbon (C) and nitrogen (N) in soil (Inceptisol) samples treated with crescent doses of the biosolid (0, 24, 48 and 144 t ha⁻¹, based on dry weight), which were distributed in a completely randomized experimental design, with six replicates. The experiment was divided in two main parts: in the first one, we evaluated the C mineralization by the CO₂ evolution from soil during a incubation period of 31 days; and in the second part, the N mineralization was estimated according to the methodology proposed by Stanford and Smith (1992) over a 9-week period. For both cases, the data were adjusted to a kinetics exponential equation (first order), as follows: $X_t = X_0 (1 - e^{-kt})$. The application of 144 t ha⁻¹ of biosolid per hectare presented the highest potential of C and N mineralization. For C, the process was more intense during the first 16 days of incubation, while more N was mineralized during the first and fourth weeks. In addition, the emission of C to the environment was faster ($t_{1/2} = 2$ weeks) than that of N ($t_{1/2} = 8.6$ weeks).

Guidance Committee: Prof. José Oswaldo Siqueira - UFPA (Major Professor), Prof. Luiz Roberto Guimarães Guilherme - UFPA e Profª. Fátima Maria de Souza Moreira - UFPA

1 INTRODUÇÃO

O aumento desordenado do crescimento populacional e das atividades industriais tem resultado em impactos ambientais indesejáveis, principalmente pelo despejo de esgotos nos rios e mananciais. Atualmente, para atender às exigências da legislação ambiental em vigor, os órgãos reguladores estabeleceram normas para tratamento de seus esgotos, antes de serem jogados no meio ambiente. Do tratamento são gerados resíduos como o biossólido, que contém matéria orgânica e nutrientes que podem ser reciclados nos solos agrícolas para manter a fertilidade e condicionar o solo. A matéria orgânica mineralizável fornece carbono, energia e nutrientes aos microrganismos, tornando-se essencial avaliar a mineralização do biossólido incorporado no solo e seus efeitos na microbiota e na matéria orgânica e nutrientes do solo (Anderson, 1982). Como resultado da atividade heterotrófica, os microrganismos transformam os materiais orgânicos em biomassa e CO_2 e N-NH_4^+ . Existem inúmeras maneiras para avaliar a decomposição dos compostos orgânicos no solo, dentre as quais a respirometria (Nannipieri et al., 1990), que indica a velocidade do processo de mineralização do biossólido, bem como diversos outros processos metabólicos, sendo um indicador da perda de carbono orgânico, da reciclagem de nutrientes e resposta ao manejo do solo (Parkin et al., 1996).

Juntamente com a mineralização do carbono do biossólido ocorre a mineralização do N-orgânico deste, via amonificação. Este processo é de grande interesse ambiental e agrônômico, pois a liberação do N-orgânico se relaciona com o valor fertilizante do material e também com o seu potencial como poluente, no caso de haver excesso de liberação de N-mineral e outros elementos que podem ser poluentes como os metais pesados (Andreoli & Pegorini, 1998). A quantidade de N a ser mineralizado em determinado período irá depender de

fatores como temperatura, umidade, aeração, quantidade e natureza do material orgânico presente (Mary et al., 1996). Devido ao teor relativamente elevado de nitrogênio em biossólidos, este elemento é o fator importante na determinação da quantidade de lodo que pode ser aplicado ao solo (Straus, 2000). O N ocorre em diversas formas que compõem frações lábeis e estáveis quimicamente, e para a determinação dessas frações, o manual da CETESB propõe métodos de incubação com ou sem lixiviação baseados nos experimentos de acompanhamento da taxa de mineralização montados por Beauchamp et al., (1986), Parker & Sommers (1983) e Stanford & Smith (1972). O N das frações mais lábeis é liberado nos períodos iniciais do processo de mineralização (Mengel, 1996; Geypens & Vanderdriech, 1996) e sua estimativa indica a potencialidade do material em fornecer esse elemento às plantas, sendo de grande interesse na adubação (Camargo et al., 1999) e na valoração do biossólido como insumo agrícola.

Neste estudo, avaliou-se a mineralização do carbono e do nitrogênio em amostras de solo que receberam quantidades crescentes de biossólido da indústria Rhodia-ster de Poços de Caldas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi desenvolvido em casa de vegetação do Departamento de Ciência do Solo – UFLA, de outubro a dezembro de 2000. O experimento foi instalado empregando-se um biossólido originado da Estação de Tratamento de Efluente (ETE), da empresa Rhodia-ster de Poços de Caldas (MG), que produz resina e fibras pet. No tratamento do esgoto gerado na

indústria, emprega-se a digestão "aeróbica", adicionando compostos como NaOH, Na_3PO_4 e Na_2CO_3 , que tornam o lodo alcalino. A caracterização química do biossólido encontra-se na tabela 1, sendo realizada conforme metodologias descritas por Eaton et al. (1985). O pH foi determinado em água na relação 1:1; a umidade foi determinada gravimetricamente a 65°C ; o carbono orgânico por titulometria com FeSO_4 1 mol L^{-1} , após digestão com $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ e H_2SO_4 ; o N-total foi analisado após digestão com H_2SO_4 e catalisadores, destilação em meio alcalino e titulação com H_2SO_4 (0.025 mol L^{-1}); a quantificação do P foi feita por espectrofotometria, utilizando-se o método do amarelo de molibdênio; o K e Na foram quantificados por titulação com EDTA (0.01 mol L^{-1}); o S foi quantificado por método gravimétrico, após precipitação com BaCl_2 ; Zn, Mn, Fe, e Cu foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica.

Empregaram-se, no estudo, amostras de um Cambissolo coletado em camada de 0 a 20 cm, na área da empresa Rhodia-ster, mantido sem cultivo e sob vegetação de gramínea (*Brachiaria* spp) por 5 anos. Este solo foi escolhido por estar sendo empregado em outros estudos de avaliação agrônômica do biossólido a campo. O solo foi submetido à calagem, na própria área, com calcário dolomítico na dosagem de $2,5 \text{ t ha}^{-1}$. As amostras foram secas ao ar, peneiradas em malhas de 2 mm, analisadas (Tabela 2) e armazenadas por 7 meses até o uso. Os atributos físicos do solo foram determinados no Laboratório de Física do Solo do Departamento de Ciência do Solo da UFLA, seguindo metodologias descritas em EMBRAPA (1997), e as análises químicas foram realizadas no Laboratório de Fertilidade do Solo do Departamento de Ciência do Solo da UFLA (Tabela 2).

Tabela 1. Caracterização química do biossólido.

Características	Umidade natural
pH em CaCl ₂ (0.01 mol L ⁻¹)	6,8
Umidade total, %	90,9
M. orgânica total (combustão), g kg ⁻¹	52,7
M. orgânica (compostável), g kg ⁻¹	36,9
M. org. resistente a compostagem, g kg ⁻¹	15,8
Carbono total (org. e mineral), g kg ⁻¹	29,3
Carbono orgânico, g kg ⁻¹	20,6
Resíduo mineral total, g kg ⁻¹	38,4
Resíduo mineral insolúvel, g kg ⁻¹	17,5
Resíduo mineral solúvel, g kg ⁻¹	21,0
Nitrogênio total, g kg ⁻¹	3,5
Fósforo (P ₂ O ₅), g kg ⁻¹	24,5
Potássio (K ₂ O), g kg ⁻¹	0,7
Cálcio (Ca), g kg ⁻¹	0,6
Magnésio (Mg), g kg ⁻¹	0,2
Enxofre (S), g kg ⁻¹	0,3
Relação C/N (C total e N total)	8/1
Cobre (Cu), mg kg ⁻¹	9
Manganês (Mn), mg kg ⁻¹	63
Zinco (Zn), mg kg ⁻¹	67
Ferro (Fe), mg kg ⁻¹	1.732
Sódio (Na), mg kg ⁻¹	262

O pH foi determinado em água, na relação 1:2,5: Ca, Mg, Na e Al trocáveis, extraídos com KCl 1 mol L⁻¹, analisados por titulometria; P e K foram extraídos por Mehlich 1 e analisados, respectivamente, por colorimetria e fotometria de chama (Vettori, 1969). O carbono orgânico foi determinado pela oxidação com dicromato de potássio, segundo Rajj & Quaggio (1991); e Zn, Cu, Mn, Fe, Cd e Pb por espectrofotometria de absorção atômica (Bataglia et al., 1983).

Tabela 2. Caracterização química e física do Cambissolo.

pH	P	K	Mn	Fe	Zn	Cu	Cd	Pb	Na
-----mg dm ⁻³ -----									
6,3	1	117	6	23	0,4	0,7	0,1	1,3	7,4

Mg	Ca	Al	H+Al	V	C _{org}	Areia	Silte	Argila
-----cmol _c dm ⁻³ -----			%		dag kg ⁻¹		-----g kg ⁻¹ -----	
1,7	4,2	0	3,6	63,3	2,5	80	270	650

H+Al: acidez potencial; V: saturação por bases; C_{org}: carbono orgânico.

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Microbiologia do Solo no Departamento de Ciência do Solo – UFLA, constando de duas partes. Na primeira, avaliou-se a mineralização do carbono no solo através da respiração (Alef & Nannipieri, 1995), e na segunda, a mineralização do N no solo, conforme metodologia proposta por Stanford & Smith (1972). Em ambas as partes do estudo, quatro doses crescentes de biossólido (0, 24, 48 e 144 t ha⁻¹ base seca) foram aplicadas ao solo utilizando delineamento inteiramente casualizado com 6 repetições.

A mineralização do C baseou-se na captura do CO₂ liberado pelo solo durante incubação por período de 31 dias, empregando-se a metodologia de Alef & Nannipieri (1995), sendo esta avaliada aos 1, 2, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 16, 19, 22, 25 e 31 dias.

Tabela 3. Análise química do solo após a aplicação das doses de biossólido logo após a montagem do experimento.

Doses t ha ⁻¹	pH água	P	K	Na	V
		-----mg dm ⁻³ -----			%
0	5,8	2	158	3,7	72
24	5,8	11	170	22,1	72
48	5,9	14	175	36,8	72
144	6,2	32	179	93,8	76

Doses t ha ⁻¹	Ca	Mg	H+Al	SB	t	T
	-----cmol _c dm ⁻³ -----					
0	5,8	3,2	3,6	9,4	9,5	13
24	5,5	3,4	3,6	9,3	9,4	13
48	5,6	3,0	3,6	9,0	9,1	12
144	5,4	3,5	2,9	9,4	9,5	12

Durante a incubação, a umidade do solo foi ajustada para 60% do volume total de poros (VTP). Para cada determinação do CO₂, pesaram-se 25 g de cada tratamento em copinhos plásticos que foram colocados em potes de 1,5 L, juntamente com um frasco com 20 mL de NaOH (0,05 mol L⁻¹): em seguida, os potes foram lacrados e incubados a 28°C. Os frascos com NaOH eram substituídos por outros a cada determinação. Ao retirá-los dos potes, adicionaram-se 5 mL de BaCl₂ (0,5 mol L⁻¹) para interromper a reação, precipitando o carbonato, sendo os frascos titulados com HCl (0,05 mol L⁻¹) empregando fenolftaleína (1%) como indicador. A quantidade de CO₂ liberada por grama de solo foi obtida pela seguinte equação:

$$\text{CO}_2 = ((V_o - V) \times 1.1) / \text{pss}$$

Onde: V_o = volume de HCl usado para titulação do controle:

V = volume do HCl usado para a amostra de solo:

pss = peso seco de 1 g de solo úmido:

1.1 = fator de conversão 1 mL 0,05 mol L⁻¹ NaOH igual a 1.1 mg CO₂.

A mineralização do N foi estimada, no período de 9 semanas, conforme metodologia de Stanford & Smith (1972). Empregaram-se 15 g de uma mistura de solo e biossólido em cada dose, mais 15 g de areia (20 mesh). A areia sofreu um tratamento à parte, sendo lavada com H₂SO₄ concentrado, na proporção de 1000 g de areia:500 mL H₂SO₄, durante 12 horas, para eliminação de elementos que poderiam interferir no experimento: em seguida, foi lavada com água corrente até atingir o pH da água e seca a 70°C por 4 horas. A mistura foi homogeneizada prevenindo-se a segregação de partículas durante a transferência para os tubos de lixiviação. Estes "tubos de lixiviação" foram feitos a partir de recipientes plásticos do tipo garrafas "pet", tendo na extremidade inferior um pedaço de tecido (murim), apoiados em copinhos plásticos, colocados dentro de potes de 1,5 L e incubados em estufa no escuro a 35°C para evitar a formação de algas (Pottker & Tedesco, 1979).

As amostras para análises foram coletadas aos 7, 14, 28, 35, 42, 49, 58 dias de incubação. O nitrogênio mineralizado inicial foi lixiviado com 100 mL de CaCl₂ (0,01 mol L⁻¹). A seguir, adicionaram-se 25 mL de uma solução nutritiva composta de CaSO₄.2H₂O (0,005 mol L⁻¹), MgSO₄ (0,002 mol L⁻¹), Ca(H₂PO₄).2H₂O (0,005 mol L⁻¹) e K₂SO₄ (0,0025 mol L⁻¹). Do lixiviado, transferiram-se 25 mL para um tubo de 100 mL, o qual foi levado para um microdestilador Kjeldhal, para determinação dos teores de N-NO₃⁻ e N-NH₄⁺. Para determinação do N-NO₃⁻, adicionou-se 0,2 g de MgO, coletando ± 35 mL de

destilado. No mesmo tubo acrescentou-se uma pitada (0,2 g) da mistura de Liga de Devarda e coletaram ± 35 mL do destilado para determinação do N-NH_4^+ . O destilado foi coletado em erlenmeyer contendo 5 mL de ácido bórico e determinado por colorimetria, utilizando HCl ($0,0071428 \text{ mol L}^{-1}$) (Bremner & Mulvaney, 1982).

No estudo da cinética de mineralização do carbono e nitrogênio, os dados foram ajustados à equação exponencial empregada por Stanford & Smith (1972), como segue:

$$X_t = X_n (1 - e^{-kt}), \text{ sendo:}$$

X_t : a quantidade total mineralizável do elemento analisado.

X_n : o elemento potencialmente mineralizável.

k : constante da taxa de mineralização.

O tempo necessário para atingir metade da mineralização do C_n e N_n ($t_{1/2}$) foi calculado pela equação: $t_{1/2} = 0,693/k$.

Os resultados de carbono e nitrogênio mineralizado (C_m e N_m), carbono e nitrogênio potencialmente mineralizável (C_n e N_n) e a constante da taxa de mineralização (k) foram submetidos à análise de variância utilizando o programa estatístico SISVAR (Ferreira, 1999).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A mineralização do C apresentou oscilações durante o período de 31 dias de incubação para todas as doses (Figura 1), sendo mais acentuadas na maior dose de biossólido, que teve maior liberação de CO_2 que os demais tratamentos por conter maior quantidade de material orgânico decomponível e apresentou

maior mineralização no período estudado. embora as taxas tendessem a decrescer a partir do 5º dia. O carbono mineralizado acumulado (C_m) aumentou com o aumento das doses de biossólido aplicadas (Tabela 4). alcançando valores de até 3.199 mg kg⁻¹ para dose de 144 t ha⁻¹. Isto corresponde a um aumento de 234% do CO₂ liberado em relação ao solo sem biossólido.

No estudo de cinética. o coeficiente de determinação (r^2) foi igual ou superior a 0.99. para as doses estudadas, mostrando um perfeito ajuste dos dados à equação de cinética de primeira ordem proposta por Stanford & Smith (1972). Estes dados e os valores de C_0 e k . para todas as doses. podem ser vistos na tabela 4. O ajuste pela equação exponencial de cinética de primeira ordem levou a valores superiores de carbono potencialmente mineralizável (C_0) em relação aos encontrados para carbono mineralizado acumulado (C_m) no final do período de incubação. 31 dias (Tabela 4).

A constante da taxa de mineralização (k) não foi influenciada pela aplicação de lodo. apresentando o valor médio de 0,0412 dia⁻¹. indicando que a cada dia. em torno de 4% do C potencialmente mineralizável (C_0) era liberado para o solo. Valores semelhantes foram encontrados por Bernal et al. (1998) em experimento realizado com lodo de esgoto compostado em solos silte argilosos com teores de C orgânico variando de 4,6 a 10 g kg⁻¹. Geralmente, parte do C decomponível do material é consumida no processo de tratamento do lodo. de modo que o biossólido contenha compostos decomponíveis com degraabilidade lenta (Tsutya. 2000). A meia-vida estimada para o C_0 ($t_{1/2}$) foi. em média. de 16.9 dias. Isto mostrou que em torno da metade C_0 foi consumida até a metade do tempo de incubação (31 dias). Ao final do experimento. a relação C_m/C_0 . apontou que 70% do C_0 havia sido mineralizado. indicando que o período de incubação poderia ser um pouco maior. havendo ainda uma quantidade expressiva de C decomponível.

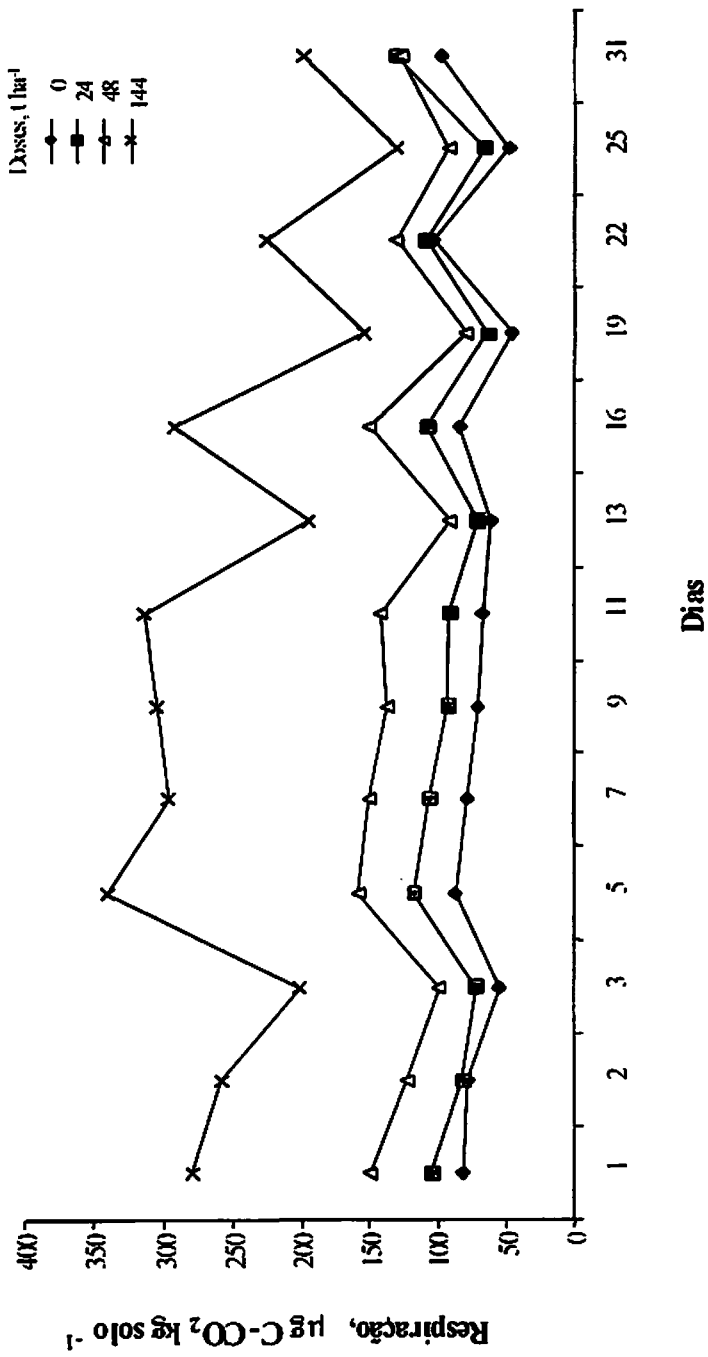


Figura 1. Mineralização do carbono em diferentes períodos de incubação, em solo que recebeu doses crescentes de biossólido.

Tabela 4. Valores estimados do potencial de mineralização (C_n) e da constante da taxa de mineralização (k) para as doses de bio sólido.

Doses t ha ⁻¹	C_m -----mg kg ⁻¹ -----	C_n	k dia ⁻¹	$t_{1/2}$ dia	r^2
0	956 d	1338 c	0,0420 a	16,5	0,99
24	1209 c	1662 bc	0,0470 a	14,7	0,99
48	1582 b	2201 b	0,0380 a	18,2	1,00
144	3199 a	4550 a	0,0379 a	18,3	1,00

C_m : carbono mineralizado acumulado no final dos 31 dias; $t_{1/2}$: tempo necessário para atingir metade da mineralização do C_n ; C_{org} : carbono orgânico no solo. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível 5%.

A taxa de mineralização de nitrogênio no solo, nas diversas épocas de avaliação, encontra-se na figura 2. Verifica-se que na dose 144 t ha⁻¹ ocorreu uma maior mineralização durante todo o período de incubação, sendo essas diferenças variáveis com o período, porém com comportamento semelhante para as doses. A partir da primeira semana observou-se uma redução da mineralização, devido, provavelmente, aos microrganismos estarem imobilizando mais do que mineralizando; em seguida ocorreu uma elevação dos valores da mineralização até a quarta semana, quando ocorreu nova redução, indicando ciclos de mineralização e imobilização do N pela microbiota. Este processo estabilizou-se em valor médio de 30 mg kg⁻¹. O mesmo comportamento foi observado para as demais doses.

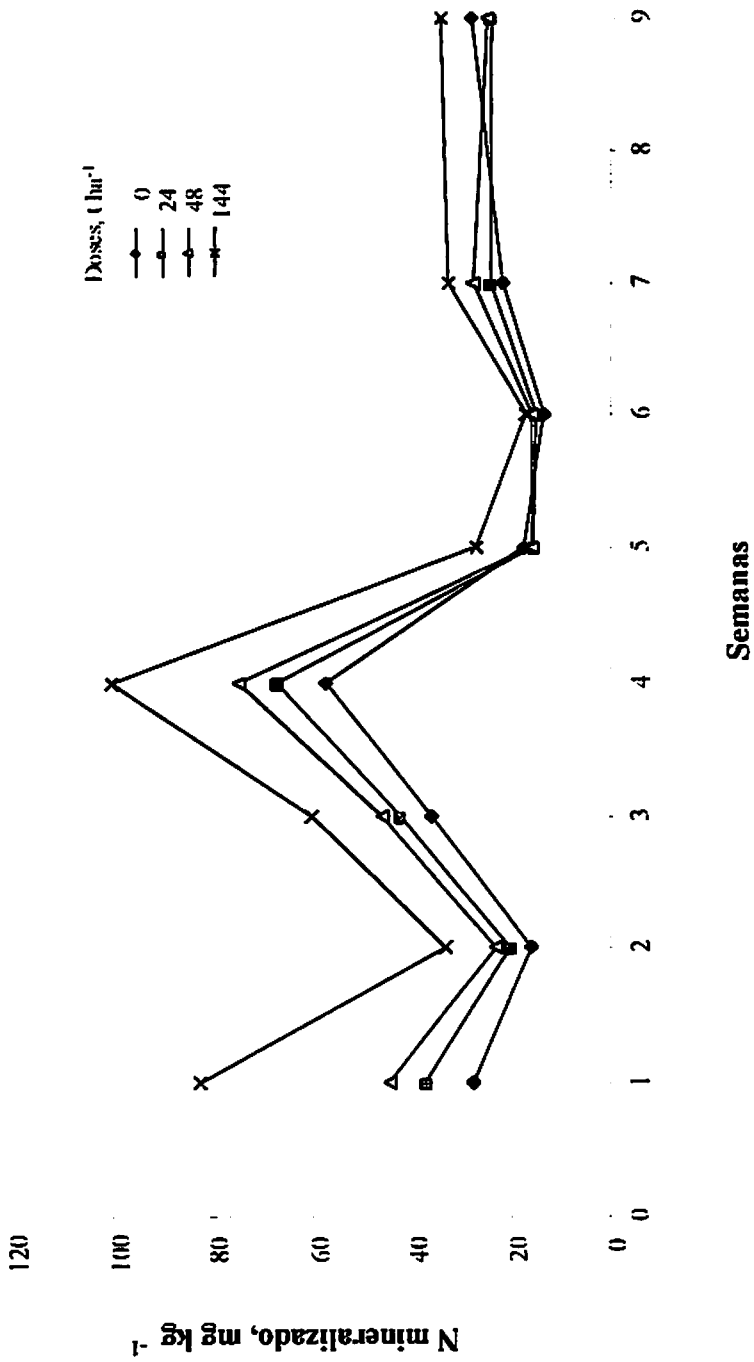


Figura 2. Mineralização do nitrogênio em diferentes períodos de incubação, em solo que recebeu doses crescentes de biofertilizante, conforme Stanford & Smith (1972).

No estudo de cinética, o coeficiente de determinação (r^2) foi igual ou superior a 0,94, para as doses estudadas, mostrando um bom ajuste dos dados à equação de cinética de primeira ordem proposta por Stanford & Smith (1972). Esses dados, bem como os valores de N_0 e k para todas as doses, podem ser vistos na tabela 5.

Os resultados obtidos pela aplicação do modelo exponencial de cinética de primeira ordem encontram-se na tabela 5. O nitrogênio mineralizado acumulado (N_m) só diferiu na maior dose de biossólido, quando foi superior aos demais tratamentos, fato também observado para o nitrogênio potencialmente mineralizável (N_0). Os valores de N_0 variaram de 491 a 725 mg kg⁻¹, sendo superiores aos encontrados por Boyle & Paul (1989), de 191 a 579 mg kg⁻¹, para doses de até 180 t ha⁻¹. Os valores encontrados por Garau et al. (1986) também foram menores que os encontrados neste estudo. Os autores encontraram, para os dois tipos de solos estudados, 102 e 207 mg kg⁻¹, na dose 20 t ha⁻¹, valores esses menores que os obtidos para a dose 24 t ha⁻¹ neste experimento. Esta diferença encontrada nos valores de N_0 pode ser devida à quantidade de substâncias orgânicas facilmente decomponíveis contida no lodo após os processos de higienização ou à presença de substâncias inibidoras para os microrganismos. Em um estudo realizado por Hassen et al. (1998) com diferentes tipos de resíduos orgânicos, os autores verificaram que o solo acrescido de lodo de esgoto foi o que apresentou maior N_0 , mostrando ser uma fonte promissora de N para as culturas, quando mineralizado, como observado neste estudo, em que o N_0 aumentou em 48% em relação ao solo sem biossólido. Isto corresponde a um potencial de fornecimento de N superior ao estimado, em 400 kg ha⁻¹.

A constante da taxa de mineralização (k) do N, como observado para a mineralização do C, também não foi influenciada pela aplicação de biossólido. Esta foi, em média, de 0,0808 semana⁻¹, ou seja, em torno de 8% por semana, no

período de 9 semanas de incubação. Nos artigos revisados para este estudo, os valores de k tiveram grande variação Boyle & Paul (1989) encontraram valores abaixo de $0,0200 \text{ semana}^{-1}$. Lindermann & Cardenas (1984) em torno de $0,1020 \text{ semana}^{-1}$; e Garau et al. (1986), até $0,1575 \text{ semana}^{-1}$. Os valores de k dependem da natureza do material e das condições ambientais.

Tabela 5. Valores estimados do potencial de mineralização (N_n) e da constante da taxa de mineralização (k) para as doses de bio sólido.

Doses $t \text{ ha}^{-1}$	N_m	N_n	k	$t_{1/2}$	r^2
	----- mg kg^{-1} -----		semana^{-1}	semana	
0	217,41 b	491,60 b	0,0730 a	9,5	0,97
24	245,38 b	483,28 b	0,0831 a	8,3	0,98
48	272,47 b	524,10 b	0,0841 a	8,2	0,97
144	387,19 a	725,05 a	0,0831 a	8,3	0,94

N_m : nitrogênio mineralizado acumulado no final das 9 semanas; $t_{1/2}$: tempo necessário para atingir metade da mineralização do N_n ; N_n : nitrogênio total. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível 5%.

A meia-vida do N_n , que indica o tempo gasto para mineralizar metade do N_n , ($t_{1/2}$) foi ligeiramente menor no solo com bio sólido, com média de 8,6 semanas, porém sem influência da dose. Esse valor é baixo se comparado com o relatado por Boyle & Paul (1989), que encontraram 34 semanas, embora Garau et al. (1986) tenham encontrado 5 semanas. Esta variação é devida à fatores como tipo de solo, taxas de aplicação, temperatura e natureza do material aplicado, entre outros, que afetam significativamente a mineralização do N (Chae & Tabatabai, 1986; Garau et al., 1986). Stanford & Smith (1972) encontraram valores de $t_{1/2}$ de 12,8 semanas para solos sem incorporação de bio sólido. Verifica-se que a meia-vida do N é muito superior à do C, que foi da ordem de 2 semanas. Isto porque o N mineralizado sofre grande imobilização no início do processo de mineralização do bio sólido.

4 CONCLUSÕES

1. O modelo matemático de mineralização proposto por Stanford & Smith (1972) apresentou bom ajuste para as doses estudadas, tanto para a mineralização do nitrogênio como para a mineralização do carbono.

2. A mineralização do carbono foi maior nos primeiros 16 dias e a mineralização do nitrogênio foi maior na primeira e quarta semana.

3. O bio-sólido aplicado no solo apresentou rápida mineralização para o carbono ($t_{1/2} = 2$ semanas) e lenta mineralização ($t_{1/2} = 8.6$ semanas) para o nitrogênio.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEF, K.; NANNIPIERJ, P. (Ed.) *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*. London: Academic Press, 1995. 576p.

ANDERSON, J. P. E. Soil respiration. In: PAGE, A. L.; MILLER, R. H.; KEENEY, D. R. (Ed.). *Method of soil analysis*. 2. ed. Part 2. Madison, American Society of Agronomy/Soil Science Society of America, 1982. p.831-871.

ANDREOLI, C. V.; PEGORINI, E. S. Proposta de roteiro para elaboração de planos de distribuição de lodo. In: SEMINÁRIO SOBRE GERENCIAMENTO DE BÍOSSÓLIDOS DO MERCOSUL, 1.. 1998. Curitiba, PR. *Anais...* Curitiba: SANEPAR/ABES, 1998. p.231-237.

BATAGLIA, O. C.; FURLANI, A. M. C.; TEIXEIRA, J. P. F.; FURLANI, P. R.; GALLO, J. R. *Métodos de análise química de plantas*. Campinas: Instituto Agrônômico, 1983. 48p. Boletim Técnico, 78.

BEAUCHAMP, E. G.: REYNOLDS, W. D.: BRASCHE-VILLENEUVE, D.: KIRBY, K. Nitrogen mineralization kinetics with different soil pretreatments and cropping histories. *Soil Science Society America Journal*, Madison, v. 50, n. 6, p. 1478-1483. Nov./Dec. 1986.

BERNAL, M. P.: NAVARRO, A. F.: SANCHES-MONEDERO, M. A.: ROIG, A.: CEGARRA, J. Influence of sewage sludge compost stability and maturity on carbon and nitrogen mineralization in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v. 30, n. 3, p. 305-313. Mar. 1998.

BOYLE, M.: PAUL, E. A. Carbon and nitrogen mineralization kinetics in soil previously amended with sewage sludge. *Soil Science Society America Journal*, Madison, v. 53, n. 1, p. 99-103. Jan./Feb. 1989.

BREMNER, J. M.: MULVANEY, R. L. Nitrogen – total. In: PAGE, A. L. (Ed.) *Methods of soil analysis*. Madison: American Society of Agronomy, 1982. v. 2. cap. 31, p.595-624.

BURKET, J. Z.: DICK, R. P. Microbial and soil parameters in relation to N mineralization in soils of diverse genesis under differing management systems. *Biology and Fertility Soils*, Berlin, v. 27, n. 4, p. 430-438. Sept. 1998.

CAMARGO, F. A. de O.: GIANELLO, C.: TEDESCO, M. J.: VIDOR, C. Nitrogênio orgânico do solo. In: SANTOS, G. de A.: CAMARGO, F. A. de (Ed.). *Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais*. Porto Alegre: Genesis, 1999. p. 117-137.

CHAE, Y. M.: TABATABAI, M. A. Mineralization of nitrogen in soils amended with organic waste. *Journal of Environmental Quality*, Madison, v. 15, p. 193-198. 1986.

EATON, A. D.: CLESCERI, L. S.: GRENNBERG, A. E. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 19. ed. Washington: APHA/AWWA/WEF, 1995. 1082p.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. *Manual de métodos de análise de solos*. 2. ed. Rio de Janeiro: EMBRAPA-CNPS, 1997. 212p.

FERREIRA, D. F. *SisVar - programa estatístico*. Versão 4. 2 (Build 39). 1999-2003. Departamento de Ciências Exatas. Universidade Federal de Lavras, 1999.

GARAU, M. A.: FELIPÓ, M. T.: VILLA, C. R. Nitrogen mineralization of sewage sludges in soils. *Journal of Environmental Quality*, Madison, v. 15, n. 3, p. 225-228, July/Sept. 1986.

GEYPENS, M.: VANDERDRIECHE, H. Advisory systems for nitrogen fertilizer recommendation. *Plant and Soil*, The Hague, v. 181, n. 1, p. 31-38, Apr. 1996.

HASSEN, A.: JEDIDID, N.: CHERIF, M.: M'HIRI, A.: BOUDABOUS, A.: CLEEMPUT, O. van. Mineralization of nitrogen in a clayey loamy soil amended with organic wastes enriched with Zn, Cu and Cd. *Bioresource Technology*, Oxford, v. 64, n. 1, p. 39-45, Feb. 1998.

KIRCHMANN, H. Animal and municipal organic wastes and water quality. *Soil Processes and Water Quality*, v. 13, p. 164-232, 1984.

LINDEMANN, W. C.: CARDENAS, M. Nitrogen mineralization potential and nitrogen transformations of sludge-amended soil. *Soil Science Society America Journal*, Madison, v. 48, n. 5, p. 1072-1077, Sept./Oct. 1984.

MARY, B.: RECOUS, S.: DARWIS, D.: ROBIN, D. Interaction between decomposition of plant residues and nitrogen and nitrogen cycling in soil. *Plant and Soil*, The Hague, v. 181, n. 1, p. 71-82, Apr. 1996.

MENGEL, K. Turnover of organic nitrogen in soils and its availability to crops. *Plant and Soil*, The Hague, v. 181, n. 1, p. 83-93, Apr. 1996.

NANNIPIERI, P.: GREGO, S.: CECCANTI, B. Ecological significance of the biological activity in soil. *Soil Biochemistry*, New York, v. 6, p. 293-355, 1990.

PARKER, C. F.: SOMMERS, L. E. Mineralization of nitrogen in sewage sludges. *Journal of Environmental Quality*, Madison, v. 12, n. 1, p. 150-156, 1983.

PARKIN, T. B.: DORAN, J. W.: FRANCO-VIZCAÍNO, E. Field and laboratory tests of soil respiration. In: DORAN, J. W.: JONES, A. J. *Methods for assessing soil quality*. Madison: Soil Science Society of America, 1996. p.231-245.

POTTKER, D.: TEDESCO, M. J. Efeito do tipo e tempo de incubação sobre a mineralização da matéria orgânica e nitrogênio total em solos do Rio Grande do

Sul. Revista Brasileira de Ciência do Solo, Campinas. v. 3, n. 1, p. 20-24, jan./abr. 1979.

RAIJ. B. van.: QUAGGIO, J. A. Fertilidade do solo e adubação. Piracicaba: Cres/Potafos. 1991. 343p.

STRAUS. E. L. Normas da utilização de lodos de esgoto na agricultura. In: BETTIOL. W.: CAMARGO. O. A. (Ed.). Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto. Jaguariúna. SP: EMBRAPA Meio Ambiente. 2000. p.215-224.

TABATABAI, M. A.: BREMNER. J. M. Assay of urease activity in soil. Soil Biology and Biochemistry, Oxford, v. 4, p. 479-487. 1972.

TSUTIYA. M. T. Alternativas de disposição final de biossólidos gerados em estações de tratamento de esgotos. In: BETTIOL. W.: CAMARGO. O. A. (Ed.). Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto. Jaguariúna, SP: EMBRAPA Meio Ambiente. 20000. p.109-141.

VETTORI. L. Métodos de análises do solo. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1969. 24p. Boletim Técnico 7.

CAPÍTULO 3

EFEITO DE UM BIOSSÓLIDO NA BIOMASSA E ATIVIDADE MICROBIANA DO SOLO

RESUMO

Pontes, Wagner Luiz. Efeito de um bio sólido na biomassa e atividade microbiana do solo. 2002. Cap. 3. 31p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Lavras. Lavras. MG.*

A atividade humana é geradora permanente e crescente, em função do crescimento populacional, de resíduos, sejam de origem doméstica ou de atividade industrial. Estes resíduos, tais como o esgoto produzido pelas indústrias e cidades, ao ser tratado e higienizado gera um grande volume de resíduos orgânicos que, após passarem por tratamentos específicos, geram o bio sólido. Uma das formas de aproveitamento deste resíduo, que contém materiais orgânicos e nutrientes, é a sua utilização como fertilizantes e condicionadores de solo. Para isto, é preciso compreender o impacto ambiental destes resíduos na comunidade e atividade microbiana. Nesse experimento, objetivou-se avaliar o efeito da aplicação de doses crescentes (0, 6, 12, 18, 24, 48, 96 e 144 t ha⁻¹ base seca) do bio sólido produzido pela indústria Rhodia-ster S.A., de Poços de Caldas (MG), na biomassa e atividade microbiana de um Cambissolo. Os tratamentos foram feitos em triplicata e distribuídos ao acaso, em casa de vegetação. As amostras coletadas foram analisadas quanto à biomassa microbiana (BM-C), à respiração basal (RES), ao qCO_2 , à urease (URE), à fosfatase ácida (FOS), a β -glucosidase (GLU) e à hidrólise do diacetato de fluoresceína (DAF). A BM-C atingiu o máximo aos 28 dias com a aplicação das doses 6 e 12 t ha⁻¹ (1.660 μ g C-CO₂ g solo⁻¹ h⁻¹), havendo aumento da população microbiana e, conseqüentemente, maior incorporação de carbono na biomassa. A última decresceu com a elevação das doses de bio sólido, ao contrário da RES que aumentou devido à maior necessidade de energia para a manutenção da população. O qCO_2 indicou efeito adverso de doses elevadas de bio sólido para a microbiota. A FOS foi a única enzima estimulada com o aumento das doses de bio sólido, sendo seu valor máximo de 10.900 μ g de PNP g solo⁻¹ h⁻¹.

Comitê Orientador Prof. José Oswaldo Siqueira - UFPA (Orientador), Prof. Luiz Roberto Guimarães Guilherme - UFPA e Prof.^a Fátima Maria de Souza Moreira - UFPA

ABSTRACT

Pontes, Wagner Luiz. Application of biosolid and its effect on the microbial biomass and activity in the soil. 2002. Chap. 3 30p. Dissertation (Master Program in Soils and Plant Nutrition) - Lavras Federal University, Lavras, MG.*

The treatment of domestic and industrial sewage generates a large volume of organic residues that, after specific process, will originate the sewage sludge (biosolid). One of the alternatives to use this material is its application as soil fertilizer or amendment. Nevertheless, it is necessary to better understand the environmental impact of its application, especially on the microbial community and activity in the soil. In this work we used a biosolid produced by the Rhodia-ster industry, in Poços de Caldas (Minas Gerais State, Southern Brazil). Our main objective was to evaluate the impact of the application of crescent doses of this biosolid (0, 6, 12, 18, 24, 48, 96 and 144 t ha⁻¹) on the microbial community and activity of a Cambisol (Inceptisol). The experiment was conducted in a greenhouse, and the treatments (doses) were applied in triplicates and subsequently randomized. Soil samples were analyzed for microbial biomass-C (BM-C), basal respiration (RES), $q\text{CO}_2$, urease (URE), acid phosphatase (FOS), β -glucosidase (GLU), and fluorescein diacetate hydrolysis (FDA). The highest BM-C (1660 $\mu\text{g C-CO}_2 \text{ g soil}^{-1} \text{ h}^{-1}$) was found at 28 days after the application of the doses 6 and 12 t ha⁻¹. In such conditions, there was an increase in the microbial population, and consequently, higher incorporation of C in the biomass. The latter decreased with higher doses of biosolid, followed by higher RES, which was necessary to maintain the population. The $q\text{CO}_2$ indicated a negative effect of higher doses of biosolid on the microbial community. With the increasing doses, only the activity of the FOS was positively affected, reaching a maximum of 10900 $\mu\text{g PNP g soil}^{-1} \text{ h}^{-1}$.


Guidance Committee: Prof. José Oswaldo Siqueira - UFPA (Major Professor), Prof. Luiz Roberto Guimarães Guilherme - UFPA e Profª. Fátima Maria de Souza Moreira - UFPA

1 INTRODUÇÃO

A atividade humana é geradora permanente e crescente, em função do crescimento populacional, de resíduos, sejam de origem doméstica ou de atividade industrial. Várias indústrias, dos mais diferentes setores, surgem para atender à demanda da produção de alimentos e outros bens de consumo que proporcionem melhores condições de vida ao homem. Estas, além de aumentarem em consumo de água e energia, são responsáveis por enorme produção de águas residuárias e lodos diversos (Melo & Marques, 2000).

O esgoto produzido pelas indústrias e cidades, ao ser tratado e higienizado, gera um grande volume de resíduos orgânicos que, após passarem por tratamentos específicos, geram o biossólido. Uma das formas de aproveitamento deste resíduo, que contém materiais orgânicos e nutrientes, é a utilização como fertilizantes e condicionadores de solo (Andreoli & Pegorini, 1998). Entretanto, para a sua utilização na agricultura, devem ser considerados alguns aspectos, como concentração de metais pesados, compostos orgânicos tóxicos e presença de patógenos (Tsutiya, 2000). Para isto, é preciso compreender o impacto ambiental destes resíduos na comunidade e atividade microbiana.

A aplicação de lodo pode ter efeito estimulatório, devido ao aumento de carbono e nutriente disponíveis (Chantigny et al., 2000), ou inibitório, devido à presença de elementos tóxicos para os microrganismos, como, por exemplo, os metais pesados (Stroo & Jencks, 1982). Portanto, o comportamento da população microbiana depende da qualidade e quantidade do resíduo que está sendo adicionado ao solo.



Os microrganismos responsáveis pela decomposição e mineralização da fração orgânica utilizam parte dos compostos contido nos resíduos como fonte de nutrientes e energia para a formação de sua biomassa (Gama-Rodrigues, 1999). Além de atuar como um estoque lábil de nutrientes, a biomassa microbiana é muito sensível às alterações promovidas no solo pelas práticas de manejo (Grisi, 1996), pela mineração (Carneiro, 2000) e pela aplicação de produtos poluentes (Dar, 1996), sendo considerada um indicador da qualidade do solo (Dick et al., 1996).

A respiração é definida pela produção de CO_2 ou consumo de O_2 pelos microrganismos do solo e é utilizada para avaliar a atividade microbiana (Anderson & Domsch, 1990), servindo como indicador microbiológico das modificações ocorridas no solo, com a adição de resíduos de plantas e animais, manejo e poluição do solo (Parkin et al., 1996).

O quociente metabólico ($q\text{CO}_2$), juntamente com a biomassa microbiana e a respiração, podem indicar a necessidade de energia para manutenção da comunidade microbiana (Anderson & Domsch, 1993), além de decidirem se o surgimento ou desaparecimento de populações microbianas em termos de energia é vantajoso ou não (Carneiro, 2000). O $q\text{CO}_2$ pode também indicar se uma comunidade está sob efeito de estresse pela adição de diferentes tipos de resíduos orgânicos.

A atividade enzimática também é empregada para avaliar a atividade de microrganismos do solo, servindo como um indicador de alterações nos processos funcionais (Bandick & Dick, 1999). É responsável por catalisar várias reações necessárias para a manutenção da atividade microbiana, decomposição de resíduos orgânicos, ciclagem de nutrientes e formação da matéria orgânica do solo (Dick et al., 1996).

Existem várias classes de enzimas (oxi-redutases, hidrolases, transferases, liases, isomerases e ligases), sendo as mais estudadas as hidrolases (β -glucosidase, fosfatase e urease) e as oxi-redutases (desidrogenases e catalases) (Gianfreda & Bollag, 1996).

A urease é uma enzima de fácil ocorrência na natureza, sendo encontrada em larga escala em microrganismos, plantas e animais (Dick et al., 1996). Possui a função de hidrolisar a uréia, liberando NH_3 e CO_2 para a atmosfera. Tem grande importância pelo fato de converter o nitrogênio da uréia em amônia quando a uréia é utilizada como fertilizante nos solos (Bremner & Mulvaney, 1978). Outro grupo de enzimas bastante estudado é o das fosfatases, que, em geral, levam este nome por englobar um grande grupo de enzimas que hidrolizam ésteres e anidridos do H_3PO_4 (Schmidt & Laskowski, 1961). A importância destas enzimas na nutrição de plantas e na mineralização do P tem gerado um grande número de trabalhos em diferentes solos (Speir & Ross, 1978). A enzima β -glucosidase tem a função de hidrolisar compostos à base de carbono, fornecendo substrato para obtenção de energia no desenvolvimento de plantas e microrganismos, sendo liberada principalmente por organismos e microrganismos do solo (Gianfreda & Bollag, 1994).

Outra determinação da atividade enzimática é a hidrólise do diacetato de fluoresceína (DAF). A hidrólise do diacetato de fluoresceína por células microbianas viáveis é um ótimo indicador da atividade heterotrófica global do solo (Diack, 1997), capaz de hidrolisar diferentes enzimas, como as proteases, lipases e esterases (Guilbault & Kramer, 1964; Rotman & Papermaster, 1966). Tem sido encontrada nos decompositores primários, como bactérias e fungos (Söderström, 1977; Lundgren, 1981), e possui um grande potencial de representar a atividade enzimática do solo (Schnürer & Rosswall, 1982).

A atividade enzimática é estimulada pela adição de fontes de resíduos orgânicos como esterco de gado, restos de cultura e lodo de esgoto no solo (Perucci, 1990; Perucci, 1992; Martens et al., 1992), além de participar de processos-chaves no solo, podendo, assim, ser utilizada para avaliar o efeito da aplicação de biossólido.

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da aplicação de um biossólido industrial na biomassa e atividade microbiana do solo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 O experimento

O presente estudo foi desenvolvido em casa de vegetação do Departamento de Ciência do Solo - UFLA, de março a junho de 2000. A caracterização do biossólido, assim com a do solo estão descritas no capítulo 2.

O estudo constou da aplicação de doses crescentes de biossólido (0, 6, 12, 18, 24, 48, 96 e 144 t ha⁻¹ base seca) em material de um solo, em recipientes em aço inox com capacidade para 25 kg de solo. Empregou-se o delineamento inteiramente casualizado, com 3 repetições cada, totalizando 24 parcelas.

As amostras para análises químicas e físicas do solo foram retiradas no mesmo dia em que o experimento foi montado, logo após a aplicação dos tratamentos. Os atributos físicos foram determinados no Laboratório de Física do Solo do Departamento de Ciência do Solo da UFLA, seguindo metodologias descritas em EMBRAPA (1997), e a caracterização química foi realizada no Laboratório de Fertilidade do Solo do Departamento de Ciência do Solo da UFLA.

(Tabela 1). O pH foi determinado em água, na relação 1:2,5. Ca, Mg, Na e Al trocáveis, extraídos com KCl 1 mol L⁻¹, foram analisados por titulometria; P e K foram extraídos por Mehlich 1 e analisados, respectivamente, por colorimetria e fotometria de chama (Vettori, 1969). O B foi extraído com água quente segundo metodologia de Reisenauer et al., (1973). O carbono orgânico foi determinado pela oxidação com dicromato de potássio, segundo Rajj & Quaggio, (1991); Zn, Cu, Mn, Fe, Cd e Pb foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica (Bataglia et al., 1983).

O biossólido foi adicionado ao solo nas quantidades descritas anteriormente e homogeneizado. A umidade do solo foi mantida em torno de 60% do volume total de poros (VTP) do solo, visando proporcionar condições adequadas de umidade para a degradação da matéria orgânica do biossólido. Os tratamentos foram colocados em sacos de polietileno com uma abertura na base, protegida por uma fina tela plástica para impedir o acúmulo de água quando da correção da umidade. Em seguida, os tratamentos foram acondicionados em recipientes, contendo 15 kg cada.

Durante o período de incubação, a umidade do solo foi mantida em 60% da VTP. As correções foram feitas a cada coleta de material para análises, por meio de adições de água deionizada. Aos 77 dias, o solo foi revolvido para melhorar a aeração e o umedecimento e evitar a compactação, para que não prejudicasse a atividade dos microrganismos. Os tratamentos foram incubados por 16 semanas, sendo que, a cada 2 semanas, amostras foram coletadas para análise de carbono da biomassa e respiração basal. Na 16ª semana, quando o experimento foi concluído, além das avaliações já mencionadas, foram determinadas as atividades da urease, da fosfatase ácida, da β -glucosidase e da hidrólise do diacetato de fluoresceína (DAF).

Tabela 1. Caracterização química e física da aplicação de doses de biossólido.

Doses t ha ⁻¹	pH água	P	K	Ca	Mg	Al	SB	t	T	V	C _{org}
		----mg dm ⁻³ ----		-----cmol _c dm ⁻³ -----							%
0	6,1	3	164	5,5	3,5	0	9,4	9,4	13,0	72,4	2,6
6	6,1	3	168	5,5	3,5	0	9,4	9,4	13,0	72,4	3,3
12	6,2	3	170	5,3	3,7	0	9,4	9,4	13,0	72,4	3,7
18	6,1	3	170	5,3	3,7	0	9,4	9,4	13,0	72,4	3,7
24	6,2	3	162	5,3	3,3	0	9,0	9,0	12,2	73,8	3,7
48	6,2	4	173	4,7	3,7	0	8,8	8,8	12,0	73,4	3,8
96	6,4	4	170	4,5	4,4	0	9,3	9,3	11,9	78,2	3,9
144	5,3	6	178	5,8	2,4	0,1	8,7	8,8	12,3	70,6	3,9

Doses t ha ⁻¹	Arcia	Silte	Argila	Zn	Cu	Mn	Fe	Cd	Pb	Na	B
	-----%-----			-----mg dm ⁻³ -----							
0	13	29	58	9,0	0,8	19,4	68	0,1	2,7	1,8	0,6
6	15	29	56	11,3	3,2	20,2	168	0,1	7,0	7,4	0,6
12	12	28	60	11,5	3,4	25,6	172	0,1	8,0	7,4	0,3
18	14	32	54	11,8	3,5	29,0	189	0,1	8,0	7,4	0,4
24	18	32	50	12,0	3,6	31,2	192	0,1	11,0	9,2	0,5
48	17	31	52	12,3	3,6	33,4	211	0,1	17,0	16,6	0,3
96	17	28	55	13,4	3,7	34,3	225	0,1	18,0	29,4	0,5
144	14	29	57	15,2	3,7	36,0	248	0,1	20,0	47,8	0,7

SB: soma de bases; t: CTC efetiva; T: CTC a pH 7,0; V: saturação por bases; C_{org}: carbono orgânico.

2.2 Métodos analíticos

A biomassa microbiana (BM-C) foi determinada pelo método da fumigação-extração (Vance et al., 1987). Para cada tratamento, foram pesadas 6 amostras de 25 g de solo, sendo 3 amostras fumigadas e 3 não fumigadas (controle). Após a fumigação, o carbono foi extraído com 100 mL de K_2SO_4 (0.5 mol L^{-1}), sob agitação. A partir do extrato obtido, fez-se a digestão com uma alíquota de 8 mL do mesmo, adicionando 2 mL de $K_2Cr_2O_7$ (66.7 mmol L^{-1}) e uma mistura de 2 partes de H_2SO_4 concentrado (10 mL) e uma parte de H_3PO_4 concentrado (5 mL). A mistura foi aquecida em chapa térmica a 90°C , por 5 minutos, contados após o surgimento das primeiras bolhas de fervura. Após o resfriamento, adicionaram-se 10 mL de água destilada e determinou-se o excesso de $K_2Cr_2O_7$ por titulação com sulfato ferroso amoniacal (33.3 mmol L^{-1}), usando difenilamina (1%) como indicador. Para saber a quantidade de dicromato consumida, fez-se uma digestão em branco, utilizando 8 mL de K_2SO_4 (0.5 mol L^{-1}). O carbono orgânico extraído de cada amostra foi determinado da seguinte maneira:

1. Fez-se a média das titulações dos brancos. Ex. 23.5 mL

2. Determinou-se a quantidade de dicromato que reage com 1 mL de sal.

Ex. para 2 mL $K_2Cr_2O_7$ ----- gastou 23,5 mL de sal

X mL $K_2Cr_2O_7$ ----- para 1 mL de sal

X = 0.085106 mL $K_2Cr_2O_7$

3. Determinou-se a quantidade de dicromato que reagiu (oxidou) com o carbono.

Ex. Dados: média da amostra = 15.5 mL

média do branco = 23.5 mL

Diferença entre o branco e a amostra resulta na quantidade de sal que não reagiu com dicromato, que significa a parte do dicromato que oxidou o carbono.

Então: $23.5 \text{ mL} - 15.5 \text{ mL} = 8 \text{ mL}$ de sal que não reagiu

Sabe-se que 1 mL de sal reage com $0.085106 \text{ mL K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, então:

1 mL de sal ----- $0.085106 \text{ mL K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$

8 mL de sal ----- X mL $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$

X = $0.6809 \text{ mL K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ que não reagiu

4. Determinou-se a quantidade de carbono na amostra.

Assume-se que 1 mL de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ é equivalente a $1.200 \mu\text{g}$ de carbono.

Então: 1 mL $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ----- $1.200 \mu\text{g}$ de C

$0.6809 \text{ mL K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ----- X μg de C

X = $817.02 \mu\text{g}$ de C

Pois $817.02 \mu\text{g}$ de C em 8 mL no extrator, sendo usados 100 mL do mesmo para a sua extração.

Então: 8 mL K_2SO_4 ----- $817.02 \mu\text{g}$ de C

100 mL K_2SO_4 ----- X μg de C

X = $10.212.77 \mu\text{g}$ de C

5. Determinou-se para μg de C g solo seco⁻¹.

Descontou-se o teor de água contido na amostra

Dividiu-se a quantidade de carbono na amostra pela massa de solo usada na extração.

Ex. 20 g solo seco ----- $10.212.77 \mu\text{g}$ de C

1 g solo seco ----- X μg de C

X = $510.64 \mu\text{g}$ de C g solo seco⁻¹

6. Por último:

$$\text{BM-C} = \frac{(\text{F} - \text{NF})}{\text{Kc}}$$

Onde: F = amostras fumigadas:

NF = amostras não fumigadas:

K_c = coeficiente de correção 0.30 proposto por Feigl et al. (1995).

O resultado foi expresso em μg de BM-C por grama de solo seco.

Para a respiração, determinou-se a taxa de liberação do dióxido de carbono (CO_2) capturado pelo NaOH, conforme metodologia de Isermeyer (1952), em Alef & Nannipieri (1995). Pesaram-se 25 g de solo em copinhos plásticos, que foram colocados em potes com capacidade para 1,5 L junto com um frasco com 20 mL de NaOH (0.05 mol L^{-1}) para capturar o CO_2 liberado. Em seguida, os potes foram lacrados e incubados no escuro por 3 dias, a 28°C . Após este período, adicionaram-se 5 mL de BaCl_2 ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$) para interromper a reação, precipitando o carbonato, e o material foi titulado com HCl (0.05 mol L^{-1}), utilizando fenolftaleína (1%) como indicador. A respiração foi obtida pela seguinte expressão:

$$\text{CO}_2 = ((V_0 - V \times 1.1)/\text{pss})/t$$

Onde: V_0 = volume de HCl usado para titulação do branco:

V = volume do HCl usado para a amostra de solo em mL:

pss = peso seco de 1 g de solo úmido:

1,1 = fator de conversão 1 mL $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ NaOH igual a 1,1

mg CO_2 :

t = tempo de incubação em minutos.

O resultado foi expresso em μg de C- CO_2 por grama de solo seco por hora.

A partir dos resultados da respiração basal e do C da biomassa microbiana das amostras, calculou-se, conforme Anderson & Domsch (1993), o quociente metabólico ($q\text{CO}_2$) para cada amostra. Este representa a quantidade de

C-CO₂ evoluída por unidade de C microbiano ($\mu\text{g C-CO}_2 \text{ mg BM-C}^{-1} \text{ h}^{-1}$) ou a taxa de respiração específica da biomassa.

No final do experimento (112 dias) retiraram-se amostras para determinação das atividades da urease, fosfatase ácida, β -glucosidase e hidrólise do diacetato de fluoresceína.

A urease foi determinada conforme método descrito por Tabatabai & Bremner (1972), que se baseia na determinação da amônia liberada após a incubação da amostra de solo com uma solução de uréia por 2 horas, a 37°C. Pesaram-se 5 g de solo em um frasco de 70 mL e adicionaram-se 0,2 mL de tolueno, 9 mL de tampão TRIS (50 mmol L⁻¹, pH 9) e 1 mL de solução de uréia (0,2 mol L⁻¹), sendo em seguida incubado por 2 horas em estufa incubadora à 37°C. Após a incubação, adicionaram-se aproximadamente 35 mL de KCl-Ag₂SO₄ para interromper a reação. Da solução obtida, pipetaram-se 20 mL, acrescentou-se 0,2 g de MgO e o material foi destilado em um microdestilador Kjeldhal (Keeney & Nelson, 1982). O destilado foi recolhido em um frasco contendo 5 mL de ácido bórico e uma solução de indicadores (vermelho de metila e verde de bromocresol) e titulado com H₂SO₄ (0,005 mol L⁻¹). Para cada amostra foi feito um controle, sendo que a uréia foi adicionada somente após a solução de KCl-Ag₂SO₄. A atividade da uréia foi expressa em mg de N-NH₄⁺ por grama de solo seco por hora.

A quantificação da fosfatase ácida é baseada na leitura em espectrofotômetro do *p*-nitrofenol resultante da atividade enzimática da fosfatase ácida, seguindo a metodologia descrita por Dick et al. (1996). Em um 1 g de solo adicionaram-se 0,2 mL de tolueno, 4 mL de tampão MUB (pH 6,5) e 1 mL *p*-nitrofenil-fosfato (PNF: 0,05 mol L⁻¹). A mistura foi colocada em banho-maria por uma hora, a 37°C, em seguida adicionaram-se 1 mL de CaCl₂ (0,5 mol L⁻¹) e 4 mL de NaOH (0,5 mol L⁻¹) para interromper a reação. Os frascos foram

levemente agitados e o sobrenadante filtrado em papel de filtro de boa qualidade. A quantificação foi feita pela intensidade da coloração amarela do filtrado, em espectrofotômetro a 410 nm. As amostras controle seguiram o mesmo procedimento, exceto para a adição de PNF, que foi colocado somente após a adição do CaCl_2 e do NaOH. A concentração foi obtida através da leitura de soluções padrão (0, 10, 20, 30, 40 e 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de p -nitrofenol) e o resultado foi expresso em μg de p -nitrofenol por grama de solo seco por hora.

A β -glucosidase foi determinada por espectrofotometria do p -nitrofenol, conforme descrito por Eivazi & Tabatabai (1988). Pesou-se 1 g da mistura em um frasco de 50 mL, adicionaram-se 0.25 mL de tolueno, 4 mL de tampão MUB (pH 6) e 1 mL da solução de p -nitrofenil- β -D-glucosídeo (PNG: 0,05 mol L^{-1}). Os frascos foram agitados por alguns segundos, fechados e incubados por uma hora, a 37°C. Em seguida, adicionaram-se 1 mL de CaCl_2 e 4 mL de tampão THAM (0,1 mol L^{-1} , pH 12), sendo os frascos novamente agitados e o sobrenadante filtrado em papel de filtro de boa qualidade. Assim como para a quantificação da fosfatase, a solução adquiriu uma coloração amarelada e a leitura foi feita em espectrofotômetro a 410 nm. As amostras controle seguiram o mesmo procedimento, exceto para a adição de PNG, que foi colocado somente após a adição de THAM (pH 12). A concentração foi obtida através da leitura de soluções padrão (0, 10, 20, 30, 40 e 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de p -nitrofenol). O resultado foi expresso em μg de p -nitrofenol por grama de solo seco por hora.

A hidrólise do diacetato de fluoresceína por células microbianas viáveis (Diack, 1997) é um ótimo indicador da atividade heterotrófica global do solo. A solução contendo diacetato de fluoresceína possui uma coloração transparente. No entanto, quando hidrolisada, a fluoresceína é ativada e a solução, então, adquire uma tonalidade verde-amarelada brilhante, o que permite sua

quantificação espectrofotométrica. Em um frasco de 100 mL, pesaram-se 3 g de solo e adicionaram-se 50 mL de solução tampão ($\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, pH 7) com fluoresceína ($\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{O}_{17}$), incubando o material sob rotação a 35°C, por 24 horas. Após este período, adicionaram-se 2 mL de acetona (50% v/v) para interromper a reação e centrifugou-se o solo em suspensão a 3.840 rpm, por 5 minutos. Em seguida, filtrou-se o sobrenadante com papel de filtro de boa qualidade e fez-se a leitura no aparelho de espectrofotometria a 490 nm. Para as amostras controle, o procedimento foi o mesmo descrito acima, apenas sem a adição do substrato (fluoresceína). Para obter a concentração de fluoresceína produzida nas amostras, utilizou-se solução padrão de 0, 100, 200, 300, 400 e 500 mg L⁻¹ de fluoresceína sódica ($\text{C}_{20}\text{H}_{10}\text{O}_5\text{Na}_2$). O resultado foi expresso em mg de fluoresceína por grama de solo seco por dia.

2.3 Análise estatística

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância utilizando o programa estatístico SISVAR (Ferreira, 1999).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os efeitos da aplicação de doses de biossólido nas características avaliadas no solo em diferentes épocas de incubação encontram-se na tabela 2. Verificou-se, para o carbono da biomassa microbiana (BM-C), efeito significativo do biossólido somente nas épocas 28 e 84 dias. Aos 28 dias, a dose 48 t ha⁻¹ apresentou uma redução em torno de 55% em relação ao controle (sem

aplicação de biossólido) (Figura 1). enquanto, para as demais doses aplicadas, não houve diferença significativa. Aos 84 dias, as únicas doses que diferiram significativamente do controle foram 18 e 96 t ha⁻¹, apresentando uma redução de 70 e 40%, respectivamente.

Tabela 2. Resumo das análises de variâncias das doses aplicadas de biossólido nas 8 épocas avaliadas.

Características	Épocas (dias)							
	14	28	42	56	70	84	98	112
Biomassa	ns	**	ns	ns	ns	**	ns	ns
Respiração	**	**	**	ns	ns	ns	ns	ns
qCO ₂	ns	**	**	ns	ns	ns	*	ns
Urease	-	-	-	-	-	-	-	ns
β-Glucosidase	-	-	-	-	-	-	-	ns
Fosfatase	-	-	-	-	-	-	-	**
Hidrólise DAF	-	-	-	-	-	-	-	ns

*: P≤0.05; **: P≤0.01; ns: não significativo.

Aos 28 dias, observou-se um aumento da BM-C com as doses 6 e 12 t ha⁻¹, atingindo valores de 1.664,72 e 1.661,87 µg g solo⁻¹, respectivamente, havendo aumento da população microbiana e, conseqüentemente, maior incorporação de carbono na biomassa (Figura 1). Valores semelhantes foram encontrados por Chander et al. (1995) em um solo incrementado com lodo de esgoto com baixa concentração de metais pesados. Os autores encontraram valores em torno de 1.250 µg g solo⁻¹ na dose 160 t ha⁻¹. Pascual et al. (1997) encontraram 1.400 µg g solo⁻¹ para a dose mais alta, estudando o impacto do lodo de esgoto na BM-C. Segundo Perucci (1992), esta elevação do BM-C pode ser atribuída à incorporação de materiais orgânicos facilmente biodegradáveis, os quais estimulam a atividade microbiana do solo, ou à incorporação de microrganismos

exógenos. A partir de 12 t ha⁻¹, a aplicação de biossólido promoveu diminuição da BM-C, apontando um efeito negativo em relação ao controle.

Esta queda nos valores de BM-C pode estar ligada à incorporação de elevadas quantidades de sódio e/ou, de metais pesados no solo, nas mais altas doses de biossólido, os quais podem afetar os microrganismos, prejudicando sua ação na decomposição dos resíduos, como verificado em outros estudos (Joergensen et al., 1996; Moreno et al., 1999). O efeito tóxico dos metais na microbiota, em muitos casos, pode ser amenizado com a presença de matéria orgânica (Lambais e Souza, 2000) e minerais de argila, pela formação de quelatos (Eivazi & Tabatabai, 1988). No entanto, quando as frações facilmente biodegradáveis são reduzidas, novamente pode ser observada a toxicidade dos metais (Chander et al., 1995). Chander & Brookes (1991) relatam que o fato de os microrganismos estarem sob efeito de estresse em solos contaminados com metais pesados e terem a biomassa reduzida se deve principalmente à ineficiência da biomassa, por não conseguir converter os compostos degradados em energia para aumento da população. No geral, verificou-se uma tendência de redução da BM-C a partir da dose 24 t ha⁻¹, mesmo não sendo estatisticamente significativa, mostrando um efeito inibitório do biossólido na população microbiana.

Aos 84 dias, observou-se efeito do biossólido na BM-C, porém este efeito é explicado pelo revolvimento que foi realizado aos 77 dias para melhorar a aeração e descompactar o material. Este revolvimento provavelmente estimulou espécies de microrganismos que estavam inativas, os quais decompõem compostos recalcitrantes. Como ocorrido aos 28 dias, observou-se a mesma tendência aos 84 dias, redução da BM-C a partir da dose 24 t ha⁻¹, apesar de não ter sido verificado diferença significativa.

A presença de agentes poluentes, como compostos orgânicos tóxicos ou metais pesados no biossólido, provavelmente pode ter afetado negativamente os

microrganismos aos 14 dias, ou até mesmo a necessidade de um tempo para readaptação ao meio, já que a suas condições originais foram alteradas com adição de elevadas quantidades de resíduos orgânicos. A presença de compostos tóxicos e metais pesados no solo faz com que parte da energia seja redirecionada para a manutenção da comunidade microbiana, reduzindo a mineralização do bio sólido (Anderson & Domsch, 1990; Leita et al., 1995).

Para a respiração, verificaram-se efeitos das doses de bio sólido aos 14, 28 e 42 dias (Tabela 2). Aos 14 dias observou-se elevação da respiração, para todas as doses em relação ao controle, com o aumento das doses de bio sólido (Figura 2). Verificaram-se aumentos de 172 e 118% em relação ao controle, para as doses 96 e 144 t ha⁻¹. Este aumento pode ser reflexo do efeito do bio sólido na atividade da comunidade microbiana, havendo necessidade de maior quantidade de energia para a manutenção da população ou devido a um maior incremento de carbono orgânico total no solo. No entanto, observou-se, na figura 1, que aos 14 dias não houve aumento da BM-C. Então, uma provável explicação seria a obtenção de energia na manutenção da população microbiana.

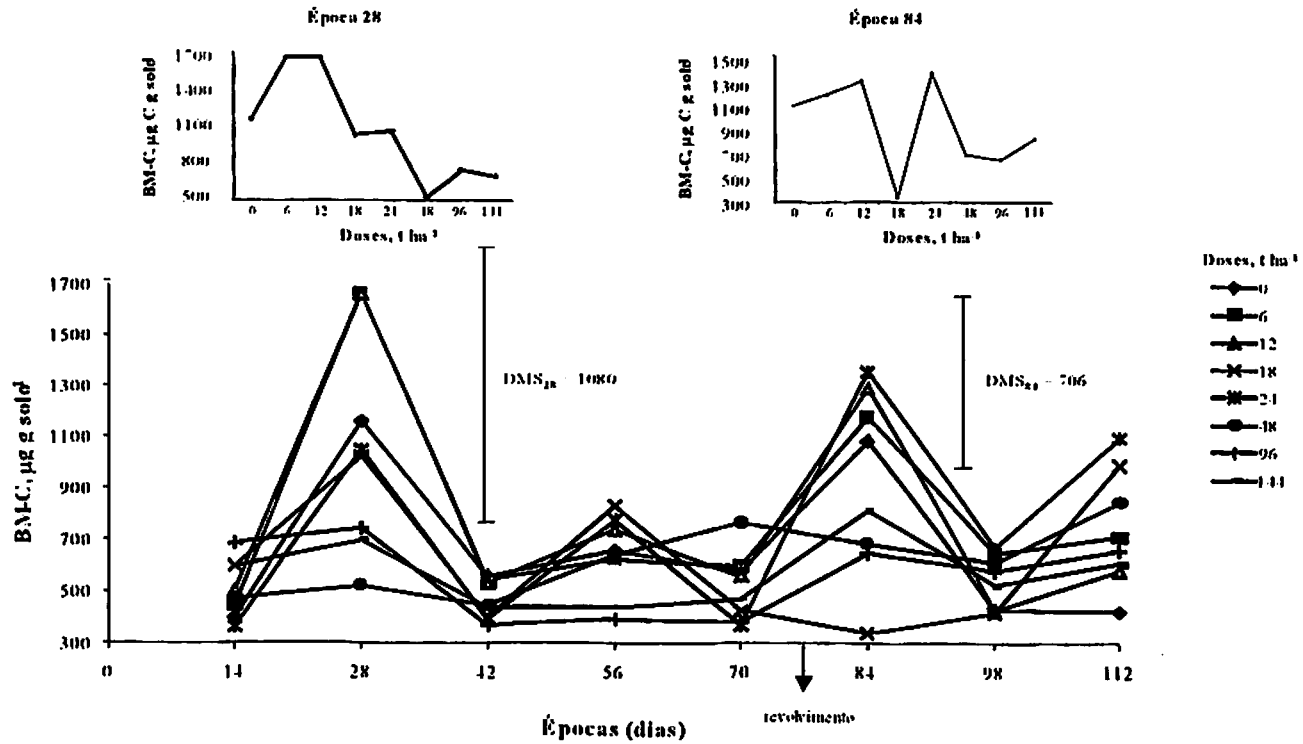


Figura 1. Efeito do biofósforo na BM-C do solo nas épocas avaliadas.

Aos 28 dias observaram-se aumentos de 42, 79 e 93% para as doses 48, 96 e 144 t ha⁻¹, respectivamente, em relação ao controle, sendo estes valores menores que os observados nos 14 dias (Figura 1). Além disso, essas foram as doses que proporcionaram os menores valores de BM-C aos 28 dias. Isto mostra que, conforme se elevou a dose de biossólido, a atividade dos microrganismos aumentou, havendo maior necessidade de energia para diminuir o efeito inibitório do biossólido.

Aos 42 dias, o controle já apresentou maior respiração juntamente com a maior dose de biossólido (144 t ha⁻¹) (Figura 2). Esta época mostrou dois pontos importantes: o primeiro, que a inibição provocada pelo biossólido nos microrganismos já havia diminuído, e o segundo, que os compostos facilmente assimiláveis haviam sido consumidos. A rápida degradabilidade de diversos tipos de resíduos orgânicos foi observada por Serra-Wittling et al. (1995), Wong & Lai (1996) e Pascual et al. (1997), variando sua decomponibilidade entre os 40 e 60 dias. Como explicação da queda da respiração, os autores relatam a redução de frações facilmente biodegradáveis, restando apenas as frações mais recalcitrantes ou a presença de compostos tóxicos aos microrganismos.

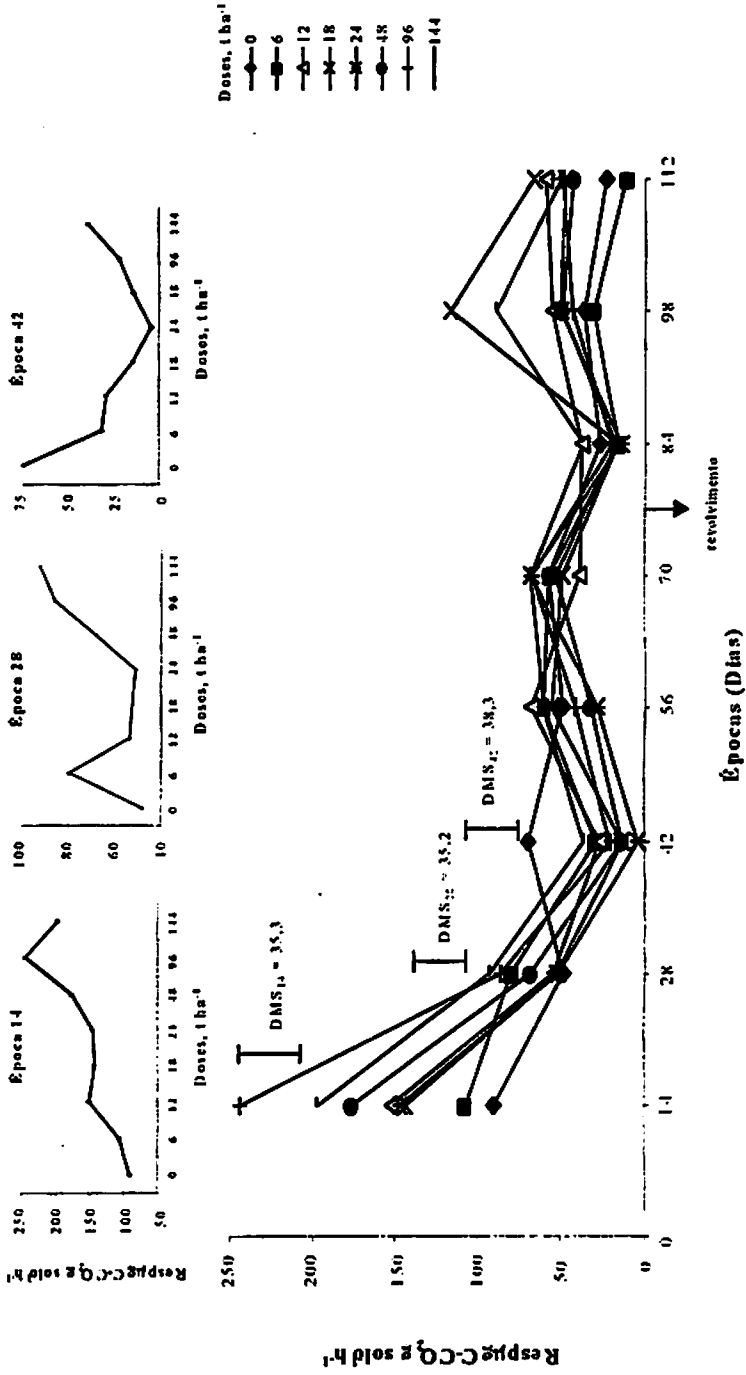


Figura 2. Efeito da aplicação de biossólido na respiração microbiana do solo nas épocas amostradas.

O quociente metabólico ($q\text{CO}_2$) apresentou efeito significativo da aplicação de biossólido para as épocas 28, 42 e 98 dias como visto na tabela 2. Aos 28 dias, verificou-se que as maiores doses de biossólido proporcionaram os maiores valores de $q\text{CO}_2$ (Figura 3). O mesmo foi encontrado por Khan & Scullion (1999) e Moreno et al. (1999), indicando um efeito de estresse do biossólido nos microrganismos. Aos 42 dias, os valores obtidos foram inferiores aos encontrados nos 28 dias. Além disso, as doses 0 e 144 t ha^{-1} não tiveram diferença significativa, já havendo, uma minimização do efeito inibitório sobre a microbiota. Pela figura 3, observou-se, também aos 98 dias, efeito do biossólido nos microrganismos, no entanto o mesmo não foi verificado para respiração e BM-C nesta mesma época, então uma explicação seria o revolvimento realizado aos 77 dias para melhorar a aeração do solo, tendo efeito somente 21 dias depois.

Muitos resultados de $q\text{CO}_2$, em resposta a solos contaminados ou não com metais pesados, na aplicação de biossólido, são contraditórios. Diversos autores relatam aumentos enquanto outros, redução nos valores de $q\text{CO}_2$ (Khan & Scullion 1999; Cardoso & Neto, 2000 e Landi et al., 2000), sendo este o principal fator de estresse para os microrganismos. Os altos valores encontrados neste trabalho mostraram uma menor eficiência da biomassa no uso do biossólido como substrato para obtenção de energia, corroborados por Joergensen, et al. (1996) e Khan & Scullion (1999). Além dos metais, as altas concentrações de sais utilizadas para o tratamento do esgoto também contribuem para elevação do $q\text{CO}_2$ (Joergensen, et al., 1996).

Foi observado efeito significativo da aplicação de biossólido apenas para a atividade da fosfatase ácida, o mesmo não ocorrendo para urease, β -glucosidase e hidrólise da fluoresceína diacetato (DAF), como pôde ser visto na tabela 2.

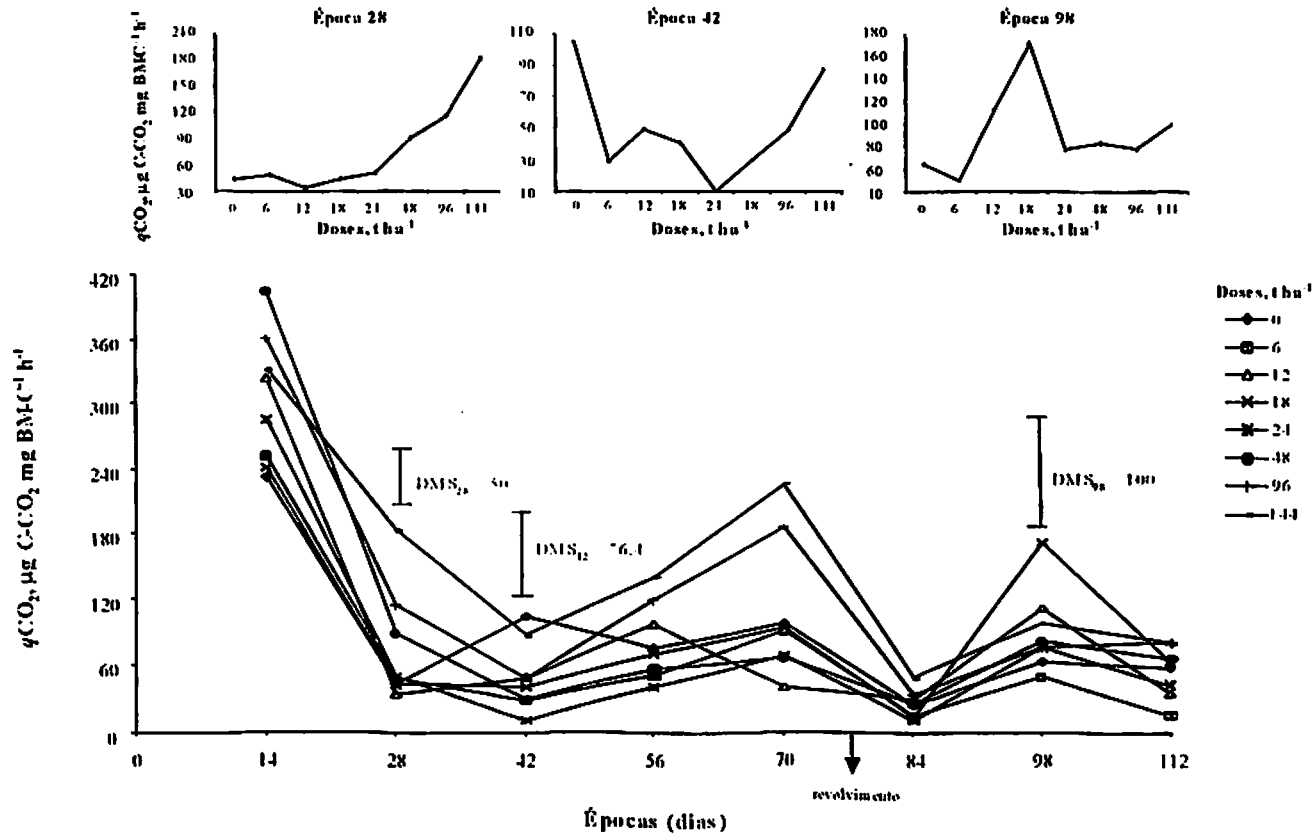


Figura 3. Valores de qCO_2 da aplicação de bio-sólido nas épocas avaliadas.

A atividade da enzima fosfatase ácida aumentou com a elevação das doses, sendo observados até 64% de aumento na dose mais alta (144 t ha⁻¹) em relação ao controle (Figura 4). Este aumento também foi verificado por Hattori (1988) e Gagnon et al. (2000) utilizando lodo de esgoto. Resultados semelhantes foram encontrados por Sastre et al. (1996) após 8 anos de aplicação de lodo urbano e industrial no solo, em que foram verificados valores de 10.000 e 8.000 µg PNP g solo⁻¹ h⁻¹, respectivamente, na dose de 50 t ha⁻¹. Segundo esses autores, estes altos valores para a fosfatase ácida se deram, provavelmente, à adição de nutrientes e matéria orgânica através do lodo, estimulando a atividade microbiana e, conseqüentemente, a síntese da fosfatase. Além disso, mostraram alta ciclagem de compostos à base de fósforo.

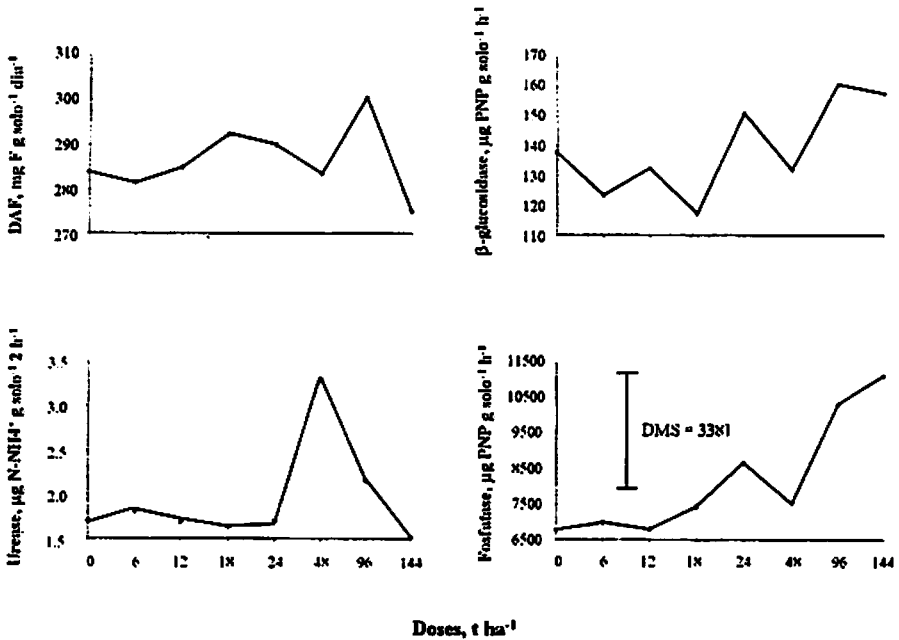


Figura 4. Efeito da aplicação de bio-sólido na atividade enzimática aos 112 dias.

As enzimas urease, β -glucosidase e a DAF avaliadas aos 112 dias apresentaram valores médios $1.99 \mu\text{g N-NH}_4^+ \text{ g solo}^{-1} 2\text{h}^{-1}$, $142.02 \mu\text{g PNP g solo}^{-1} \text{ h}^{-1}$ e $285.47 \text{ mg F g solo}^{-1} \text{ dia}^{-1}$, respectivamente. Para tentar explicar o não efeito do biossólido, Serra-Wittling et al. (1995) explanam que isto pode ocorrer em solos que receberam resíduos há mais tempo, para os quais se observa uma menor atividade microbiana. Vários fatores antropogênicos podem afetar a atividade enzimática no solo: no entanto, conforme se observou na maioria dos estudos, os principais problemas estariam ligados à presença de metais pesados, sais e pesticidas, dentre outros, os quais estão presentes no lodo de esgoto (Gianfreda & Bollag, 1996). Outra resposta poderia estar relacionada à metodologia utilizada na determinação da atividade destas enzimas, em que as condições originais do solo são alteradas sensivelmente, havendo necessidade de ajustes para as nossas condições.

4 CONCLUSÕES

1. A BM-C atingiu o máximo aos 28 dias com a aplicação das doses 6 e 12 t ha^{-1} ($1.660 \mu\text{g C-CO}_2 \text{ g solo}^{-1} \text{ h}^{-1}$), havendo aumento da população microbiana e, conseqüentemente, maior incorporação de carbono na biomassa, decrescendo com a elevação das doses de biossólido.
2. A respiração microbiana aumentou com a elevação das doses de biossólido nas primeiras três épocas, devido à necessidade de energia para a manutenção da população microbiana. Ao mesmo tempo mostrou uma rápida decomponibilidade do biossólido.

3. O $q\text{CO}_2$ indicou efeito adverso de doses elevadas de biossólido para a microbiota.

4. A atividade da fosfatase ácida aumento com a elevação doses de biossólido, enquanto a urease, β -glucosidase e a hidrólise do diacetato de fluoresceína, que não foram afetadas por este.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEF, K.; NANNIPIERI, P. (Ed.) **Methods in applied soil microbiology and biochemistry**. London: Academic Press, 1995. 576p.


ANDERSON, T. H.; DOMSCH, K. H. Application of eco-physiological quotients ($q\text{CO}_2$ and qD) on microbial biomass from soils of different cropping histories. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 22, p. 251-255, 1990.

ANDERSON, T. H.; DOMSCH, K. H. The metabolic quotient for CO_2 ($q\text{CO}_2$) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 25, n. 3, p. 393-395, Mar. 1993.

ANDREOLI, C. V.; PEGORINI, E. S. Proposta de roteiro para elaboração de planos de distribuição de lodo. In: SEMINÁRIO SOBRE GERENCIAMENTO DE BIOSSÓLIDOS DO MERCOSUL, 1.. 1998. Curitiba, PR. Anais.. Curitiba: SANEPAR/ABES. 1998. p.231-237.

BANDICK, A. K.; DICK, R. P. Field management effects on soil enzyme activities. **Soil Biology Biochemistry**, Oxford, v. 31, n. 11, p. 1471-1479, Oct. 1999.

BATAGLIA, O. C.; FURLANI, A. M. C.; TEIXEIRA, J. P. F.; FURLANI, P. R.; GALLO, J. R. **Métodos de análise química de plantas**. Campinas: Instituto Agrônômico. 1983. 48p. Boletim Técnico. 78.



BREMNER J. M.; MULVANEY, R. L. Urease activity in soils, p. 149-196. In: BURNS, R. G. (Ed.). **Soil enzymes**. London: Academic Press, 1978.

CARDOSO, E. J. B. N.; NETO, P. F. Aplicabilidade do biossólido em plantações florestais: III. Alterações microbianas no solo. In: BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A. (Ed.). **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto**. Jaguariúna, SP: EMBRAPA Meio Ambiente, 2000. p.197- 208.

CARNEIRO, M. A. C. **Características bioquímicas do solo em duas cronossequências de reabilitação em áreas de mineração de baixita**. 2000. 166p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

CHANDER, K.; BROOKES, P. C. Effects of heavy metals from past applications of sewage sludge on microbial biomass and organic matter accumulation in a sandy loam and silty loam U. K. soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 23, n. 10, p. 927-932. Out. 1991.

CHANDER, K.; BROOKES, P. C.; HARDING, S. A. Microbial biomass dynamics following addition of metal-enriched sewage sludges to a sandy loam. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 27, n. 11, p. 1409-1421, Nov. 1995.

CHANTIGNY, M. H.; ANGERS, D. A.; BEAUCHAMP, C. J. Active carbon pools and enzyme activities in soils amended with de-inking paper sludge. **Canadian Journal of Soil Science**, Ottawa, v. 80, n. 1, p. 99-105, Feb. 2000.

DAR, G. H. Effects of cadmium and sewage-sludge on soil microbial biomass and enzyme activities. **Bioresource Technology**, Oxford, v. 56, n. 2/3, p. 141-145. May/June 1996.

DIACK, M. **Relationships between soil biological and chemical characteristics and surface soil structural properties for use in soil quality**. 1997. 221p. Tese (Doutorado) – Purdue University, Purdue.

DICK, R. P.; BREAKWELL, D. P.; TURCO, R. F. Soil enzyme activities and biodiversity measurements as integrative microbiological indicators. In: DORAN, J. W.; JONES, A. J. **Methods for Assessing soil quality**. Madison: Soil Science Society of America, 1996. p.247-272.

EIVAZI, F.; TABATABAI, M. A. Glucosidases and galactosidases in soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 20, n. 5, p. 601-606, 1988.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solos**. 2. ed. Rio de Janeiro: EMBRAPA-CNPS. 1997. 212p.

FEIGL, B. J.; SPARLING, G. P.; ROSS, D. J.; CERRI, C. C. Soil microbial biomass in Amazonian soils: evaluation of methods and estimates of pool sizes. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 27, n. 11, p. 1467-1472, Nov. 1995.

FERREIRA, D. F. **SisVar - programa estatístico**. Versão 4. 2 (Build 39). 1999-2003. Lavras: Universidade Federal de Lavras. Departamento de Ciências Exatas. 1999.

GAGNON, B.; LALANDE, R.; SIMARD, R. R.; ROY, M. Soil enzyme activities following paper sludge addition in a winter cabbage-sweet corn rotation. **Canadian Journal of Soil Science**, Ottawa, v. 80, n. 1, p. 91-97, Feb. 2000.

GAMA-RODRIGUES, E. F. Biomassa microbiana e ciclagem de nutrientes. In: SANTOS, G. de A.; CAMARGO, F. A. de (Ed.). **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre: Genesis. 1999. p.227-240.

GIANFREDA, L.; BOLLAG, J. M. Effect of soil on the behavior of immobilized enzymes. **Soil Science Society America Journal**, Madison, v. 58, n. 5, p. 1672-1681, Nov./Dec. 1994.

GIANFREDA, L.; BOLLAG, J. M. Influence of natural and anthropogenic factors on enzyme activity in soil. In: STOTZKY, G.; BOLLAG, J. M. **Soil biochemistry**. New York: M. Dekker. 1996. v. 9, p.123-193.

GRISI, B. M. Participação da microbiota na ciclagem de nutrientes. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 4., 1996. Águas de Lindóia. **Anais...** Campinas: Software Gráfico Comercio e Serviços/Bicca Produções S/C. 1996. CD-ROM.

GUILBAULT, G. G.; KRAMER, D. N. Fluorometric determination of lipase, acylase, alpha- and gamma-chymotrypsin and inhibitors of these enzymes. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 36, n. 13, p. 409-412, 1964.

HASSEN, A.: JEDIDID, N.: CHERIF, M.: M'HIRI, A.: BOUDABOUS, A.: CLEEMPUT, O. van. Mineralization of nitrogen in a clayey loamy soil amended with organic wastes enriched with Zn, Cu and Cd. **Bioresource Technology**, Oxford. v. 64. n. 1. p. 39-45. Apr. 1998.

HATTORI, H. Microbial activities in soil amended with sewage sludges. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo. v. 34. p. 221-232. 1988.

JOERGENSEN, R. G.: MEYER, B.: RODEN, A.: WITTKE, B. Microbial activity and biomass in mixture treatments of soil and biogenic municipal refuse compost. **Biology and Fertility Soils**, Berlin. v. 23. n. 1. p. 43-49. July 1996.

KEENEY, D. R.: NELSON, D. W. Nitrogen organic forms. In: PAGE, A. L. (Ed.) **Methods of soil analysis: chemical and microbiological properties**. 2. ed. Madison: American Society of Agronomy/Soil Science Society of America, 1982. cap. 33. p. 643-698.

KHAN, M.: SCULLION, J. Microbial activity in grassland soil amended with sewage sludge containing varying rates and combinations of Cu, Ni and Zn. **Biology and Fertility Soils**, Berlin. v. 30. n. 3. p. 202-209. Dec. 1999.

LAMBAIS, M. R.: SOUZA, A. G. de. Impacto de biossólidos nas comunidades microbianas dos solos. In: BETTIOL, W.: CAMARGO, O. A. (Ed.). **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto**. Jaguariúna, SP: EMBRAPA Meio Ambiente. 2000. p. 269-279.

LANDI, L.: RENELLA, G.: MORENO, J. L.: FALCHINI, L.: NANNIPIERI, P. Influence of cadmium on the metabolic quotient, L-D-glutamic acid respiration ratio and enzyme activity: microbial biomass ratio under laboratory conditions. **Biology and Fertility Soils**, Berlin. v. 32. n. 1. p. 8-16. Oct. 2000.

LEITA, L.: DE NOBILI, M.: MUHLBACHOVA, G.: MONDINI, C.: MARCHIOL, L.: ZERBI, G. Bioavailability and effects of heavy metals on soil microbial biomass survival during laboratory incubation. **Biology and Fertility Soils**, Berlin. v. 19. n. 2/3. p. 103-108. Feb. 1995.

LUNDGREN, B. Fluorescein diacetate as a stain of metabolically active bacteria in soil. **Oikos**. v. 36. n. 1. p. 17-22. 1981.

MARTENS, D. A.; JOHANSON, J. B.; FRANKENBERGER, Jr., W. T. Production and persistence of soil enzymes with repeated addition of organic residues. *Soil Science*, Baltimore, v. 153, n. 1, p. 53-61, Jan. 1992.

MELO, W. J.; MARQUES, O. M. Potencial do lodo de esgoto como fonte de nutrientes para as plantas. In: BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A. (Ed.). *Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto*. Jaguariúna, SP: EMBRAPA Meio Ambiente, 2000. p.109-141.

MORENO, J. L.; HERNÁNDEZ, T.; GARCIA, C. Effects of a cadmium-contaminated sewage sludge compost on dynamics of organic matter and microbial activity in an arid soil. *Biology and Fertility Soils*, Berlin, v. 28, n. 3, p. 230-237, Jan. 1999.

PARKIN, T. B.; DORAN, J. W.; FRANCO-VIZCAÍNO, E. Field and laboratory tests of soil respiration. In: DORAN, J. W.; JONES, A. J. *Methods for assessing soil quality*. Madison: Soil Science Society of America, 1996. p. 231-245.

PASCUAL, J. A.; GARCIA, C.; HERNANDEZ, T.; AYUSO, M. Changes in the microbial activity of an arid soil amended with urban organic wastes. *Biology and Fertility Soils*, Berlin, v. 24, n. 4, p. 429-434, May 1997.

PERUCCI, J. A. Effect of the addition of municipal solid-waste compost on microbial biomass and enzyme activities in soil. *Biology and Fertl Soils*, Berlin, v. 10, n. 3, p. 221-226, 1990.

PERUCCI, P. Enzyme activity and microbial biomass in a field soil amended with municipal refuse. *Biology and Fertility Soils*, Berlin, v. 14, n. 1, p. 54-60, Sept. 1992.

RAIJ, B. van.; QUAGGIO, J. A. *Fertilidade do solo e adubação*. Piracicaba: Cres/Potafos, 1991. 343p.

REISENAUER, H. M.; WALSH, L. M.; HOEFT, R. G. Testing soils for sulfur, boron, molybdenum and chlorine. In: WALSH, L. M.; BEATON, J. O. (Ed.). *Soil testing and plant analyses*. Madison: SSSA, 1973. p.173-200.

ROTMAN, B.; PAPERMASTER, B. W. Membrane properties of living mammalian cells as studied by enzymatic hydrolysis of fluorogenic ester.

Proceedings of the National Academy of Science of the United State of America, Washington, v. 55, n.1, p. 134-141, 1966.

SASTRE, I. : VICENTE, M. A.: LOBO, M. C. Influence of the application of sewage sludges on soil microbial activity. *Bioresource Technology, Oxford, v. 57, n. 1, p. 19-23, July 1996.*

SCHNÜRER, J: ROSSWALL, T. Fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of total microbial activity in soil and litter. *Applied and Environmental Microbiology, Washington, v. 43, n. 6, p. 1256-1261, June 1982.*

SERRA-WITTLING, C.: HOUOT, S.: BARRIUSO, E. Soil enzymatic response to addition of municipal solid-waste compost. *Biology and Fertility Soils, Berlin, v. 20, n. 4, p. 226-236, Sept. 1995.*

SPEIR, T. W.: ROSS, D. J. Soil phosphatase and sulphatase. In: BURNS, R. G. (Ed.). *Soil enzymes, London: Academic Press, 1978.*

SÖDERSTRÖM, B. E. Vital staining of fungi in pure cultures and in soil with fluorescein diacetate. *Soil Biology and Biochemistry, Oxford, v. 9, n. 1, p. 59-63, 1977.*

STROO, H. F.: JENCHS, E. M. Enzyme activity and respiration in minesoils. *Soil Science Society of America Journal, Madison, v. 46, n. 3, p. 548-553, May/June 1982.*

TABATABAI, M. A.: BREMNER, J. M. Assay of urease activity in soil. *Soil Biology and Biochemistry, Oxford, v. 4, p. 479-487, 1972.*

TSUTIYA, M. T. Alternativas de disposição final de biossólidos gerados em estações de tratamento de esgotos. In: BETTIOL, W.: CAMARGO, O. A. (Ed.). *Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto. Jaguariúna, SP: EMBRAPA Meio Ambiente, 2000, p.109-141.*

VANCE, E. D.: BROOKES, P. C.: JENKINSON, D. S. An extraction method for measuring microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry, Oxford, v. 19, n. 6, p. 703-707, June 1987.*

VETTORI, L. *Métodos de análises do solo.* Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1969. 24p. Boletim Técnico. 7.

WONG, J. W. C.; LAI, K. M. Effect of an artificial soil mix from coal fly ash and sewage sludge on soil microbial activity. **Biology and Fertility Soils**, Berlin, v. 23, n. 4, p. 420-424, Nov. 1996.

ANEXOS

	Página
ANEXO A	
TABELA 1A	
Valores do carbono evoluído nas quatro doses estudadas durante o periodo de 31 dias.....	73
TABELA 2A	
Valores da fração NH_4^+ nas quatro doses estudadas durante o periodo de 9 semanas.....	74
TABELA 3A	
Valores da fração NO_3^- nas quatro doses estudadas durante o periodo de 9 semanas.....	74

TABELA 1A. Valores do carbono evoluído nas quatro doses estudadas durante o período de 31 dias.

Doses t ha ⁻¹	Épocas (µg C-CO ₂ kg solo ⁻¹)						
	1	2	3	4	5	6	7
0	80,75	77,54	54,32	86,58	77,72	70,08	66,43
24	104,03	81,71	71,33	116,70	105,66	92,31	91,01
48	149,26	122,05	98,78	157,74	149,59	136,35	140,96
144	278,75	257,94	201,06	339,57	296,19	304,32	313,68

Doses t ha ⁻¹	Épocas (µg C-CO ₂ kg solo ⁻¹)						
	8	9	10	11	12	13	
0	60,41	83,40	44,84	102,45	46,50	96,06	
24	70,62	107,18	62,76	107,40	65,06	128,94	
48	90,37	149,26	78,02	129,55	90,97	126,40	
144	194,79	291,65	153,18	225,37	128,79	197,93	

TABELA 2A. Valores da fração NH_4^+ nas quatro doses estudadas durante o período de 9 semanas.

Doses t ha ⁻¹	Épocas (mg kg ⁻¹)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
0	20,81	8,28	14,79	50,34	11,35	7,47	12,47	14,87
24	28,40	14,58	21,69	60,88	9,13	8,61	14,95	11,55
48	37,98	16,81	25,73	69,41	9,53	8,97	18,08	11,47
144	74,30	27,31	43,91	93,65	20,20	11,72	23,94	17,09

74

TABELA 3A. Valores da fração NO_3^- nas quatro doses estudadas durante o período de 9 semanas.

Doses t ha ⁻¹	Épocas (mg kg ⁻¹)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
0	6,79	7,43	21,01	7,11	6,18	5,98	9,24	13,29
24	8,85	5,82	20,56	6,10	6,18	6,22	9,24	12,60
48	6,50	6,10	20,20	5,53	6,18	6,91	9,65	13,41
144	8,08	5,86	16,12	6,42	6,91	5,45	8,99	17,25