



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

NAGOMI KISHINO

**PROPRIEDADES MICROBIOLÓGICAS, BIOQUÍMICAS,  
QUÍMICAS E CRESCIMENTO DE PLANTAS DE SOJA E  
TRIGO EM SOLOS ACRESCIDOS DE LODO GALVÂNICO**

---

Londrina  
2011

NAGOMI KISHINO

**PROPRIEDADES MICROBIOLÓGICAS, BIOQUÍMICAS,  
QUÍMICAS E CRESCIMENTO DE PLANTAS DE SOJA E  
TRIGO EM SOLOS ACRESCIDOS DE LODO GALVÂNICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito à obtenção do título de Mestre em Microbiologia.

Orientador: Prof. Dr. Marco Antonio Nogueira

Londrina  
2011

NAGOMI KISHINO

**PROPRIEDADES MICROBIOLÓGICAS, BIOQUÍMICAS,  
QUÍMICAS E CRESCIMENTO DE PLANTAS DE SOJA E  
TRIGO EM SOLOS ACRESCIDOS DE LODO GALVÂNICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito à obtenção do título de Mestre em Microbiologia.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Marco Antonio Nogueira  
UEL – Londrina - PR

---

Prof. Dr. André Luiz Martinez de Oliveira  
UEL – Londrina - PR

---

Prof. Dr. Osmar Rodrigues Brito  
UEL – Londrina - PR

Londrina, 09 de maio de 2011.

## **DEDICO**

Ao meu avô, a quem devo minha  
formação pessoal e profissional.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Prof. Dr. Marco Antonio Nogueira, que há quatro anos me acolheu no laboratório e me orientou na microbiologia ambiental, quando eu ainda nem imaginava a importância desta área. Muito obrigada pelo apoio, atenção, amizade, incentivo, pela grande contribuição em minha formação científica e pela oportunidade de realizar mais este trabalho.

Agradeço também ao Prof. Dr. André Luiz Martinez de Oliveira e ao Prof. Dr. Osmar Rodrigues Brito, membros da comissão examinadora, pelas valiosas contribuições a este trabalho.

Ao Prof. Dr. Cássio Prete, que cedeu a casa de vegetação onde foi conduzido este experimento e esteve presente na fase experimental deste trabalho, dando sugestões e acompanhando o trabalho.

À Marta, pela amizade e pelo apoio sem o qual não sei como teria conduzido minhas análises.

Ao Fernando, que me ajudou em praticamente tudo o que fiz neste experimento. Muito obrigada pelo carinho, por me encorajar e por estar sempre presente nos momentos difíceis destes dois anos - e em todos os outros.

A todos os colegas do LAMAAR, do LEM e da Embrapa, pela amizade e ajuda.

À minha mãe, pela paciência e pelo incentivo.

Um carinho muito especial ao Tuff, Tox, Tofu, Tobi, Tito, Tami e Tigrinho (meus gatos).

Muito obrigada a todos que de alguma forma ajudaram na realização deste trabalho.

KISHINO, Nagomi. **Propriedades microbiológicas, bioquímicas, químicas e crescimento de plantas de soja e trigo em solos acrescidos de lodo galvânico.** 2009/2011. 74 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2011.

## RESUMO

Atualmente, as estratégias de disposição de resíduos sólidos são uma preocupação crucial que afeta a saúde humana e ambiental. O resíduo sólido produzido pelos processos de galvanização apresenta altas concentrações de metais pesados (elementos-traço) como Ni, Cr e Cu, que podem ser usados para simular condições de multicontaminação industrial. O objetivo deste estudo foi determinar os efeitos de doses de lodo galvânico em três solos representativos do Paraná, Brasil, no desenvolvimento de plantas de soja e de trigo e em algumas propriedades químicas, bioquímicas e microbiológicas do solo. As plantas de soja foram cultivadas no solo nas doses de 0%, 0,2%, 0,4% e 0,6% (m/m) de lodo galvânico seco. 68 dias após a semeadura, as plantas foram removidas e a produção de fitomassa, colonização micorrízica, pH do solo, C da biomassa microbiana e a atividade da desidrogenase foram avaliadas. Depois desta etapa, cultivaram-se plantas de trigo no mesmo solo por 99 dias e se realizaram as avaliações de produção de fitomassa, colonização micorrízica, pH do solo, respiração, P disponível, C e N da biomassa microbiana e atividade das enzimas desidrogenase, fosfatases ácida e alcalina e urease. Os resultados indicaram efeitos negativos do lodo galvânico nas plantas de soja e de trigo e na biomassa e atividade microbiana do solo. Os efeitos da contaminação foram diferentes para cada solo, uma vez que a toxicidade dos elementos-traço depende do tipo de solo e suas propriedades físicas e químicas. De forma geral, maior toxicidade foi observada nos solos arenosos do que no solo argiloso, o que indica que estratégias mais cuidadosas devem ser usadas nos solos arenosos para prevenir os efeitos negativos da contaminação. As plantas de trigo cultivadas em sucessão foram mais tolerantes à contaminação que as plantas de soja. Porém, novos estudos devem ser realizados para determinar a disponibilidade dos elementos-traço em solos contaminados, bem como a absorção e o acúmulo destes nas plantas.

**Palavras-chave:** Lodo galvânico. Contaminação. Elementos-traço. Soja. Trigo.

KISHINO, Nagomi. **Microbiological, biochemical and chemical soil properties and growth of soy bean and wheat plants in soil added with galvanic waste.** 2009/2011. 74 f. Dissertation (Master's degree in Microbiology) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2011.

## **ABSTRACT**

Nowadays, solid wastes management strategies are a crucial issue that affects human and environmental health. The solid waste produced from galvanization process presents high concentrations of heavy metals (trace elements) like Ni, Cr and Cu, which can be used to simulate industrial multi contamination conditions. The aim of this study was to assess the effects of doses of galvanic waste in three representative soil types from Paraná, Brazil, on development of soy bean and wheat plants and some chemical, biochemical and microbiological soil properties. Soy bean plants were cultivated in soil added with doses of 0%, 0,2%, 0,4% and 0,6% (m/m) of dry galvanic waste. After 68 days of sowing, soy bean plants were removed and fitomass production, mycorrhizal colonization, soil pH, microbial biomass C and dehydrogenase activity were evaluated. After that, wheat plants were cultivated in the same soil for 99 days and evaluations of fitomass production, mycorrhizal colonization, soil pH, respiration, P, microbial biomass C and N and dehydrogenase, acid and alkaline phosphatases and urease activities were performed. Results indicated the negative effects of galvanic waste on soy bean and wheat plants and microbial biomass and activity. Contamination effects were different within each soil, since trace elements toxicity depends on soil types and its physical and chemical properties. In general, higher toxicity were observed in sandy soils in comparison to clay soil indicating that more careful strategies should be used on sandy soils to avoid the contamination negative effects. Wheat plants were more tolerant toward contamination than soy bean plants. However, more studies must be carried out in order to determine trace elements availability in contaminated soils, as well as their intake and accumulation in plants.

**Keywords:** Galvanic waste. Contamination. Trace elements. Soy bean. Wheat.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Características químicas e granulométricas dos solos antes da instalação do experimento. NVef: Nitossolo Vermelho eutroférico; LBa: Latossolo Bruno álico; LVwf: Latossolo Vermelho acriférico .....	25
<b>Tabela 2</b> – Características químicas do lodo galvânico .....	39
<b>Tabela 3</b> – Ensaio de lixiviação do lodo galvânico, em comparação com os limites máximos estabelecidos pela NBR 10004/2004.....	40
<b>Tabela 4</b> – Ensaio de solubilização do lodo galvânico, em comparação com os limites máximos estabelecidos pela NBR 10004/2004 .....	40
<b>Tabela 5</b> – Valores médios de CO <sub>2</sub> liberado pela comunidade microbiana em 100 g de terra em 936 h de incubação, em função de doses de lodo galvânico. NVef: Nitossolo Vermelho eutroférico; LBa: Latossolo Bruno álico .....	42
<b>Tabela 6</b> – Valores médios de altura de plantas de soja, 15 dias após a emergência, em função das doses de lodo galvânico. NVef: Nitossolo Vermelho eutroférico; LBa: Latossolo Bruno álico.....	43
<b>Tabela 7</b> – Valores médios de produção de massa seca de parte aérea das plantas de soja na época de formação de vagens, em função das doses de lodo galvânico. NVef: Nitossolo Vermelho eutroférico; LBa: Latossolo Bruno álico; LVwf: Latossolo Vermelho acriférico .....	45
<b>Tabela 8</b> – Sobrevivência das plantas de soja 68 dias após a emergência, em função das doses de lodo galvânico nos três solos estudados.....	47
<b>Tabela 9</b> – Valores médios de pH em função das doses de lodo galvânico nos três solos estudados: NVef: Nitossolo Vermelho eutroférico; LBa: Latossolo Bruno álico; LVwf: Latossolo Vermelho acriférico .....	48
<b>Tabela 10</b> – Valores médios de colonização micorrízica das raízes de soja, em função das doses de lodo galvânico nos três solos	

estudados: NVef: Nitossolo Vermelho eutroférico; LBa: Latossolo Bruno álico; LVwf: Latossolo Vermelho acriférico.....	49
<b>Tabela 11</b> – Valores médios para C da biomassa microbiana e atividade da desidrogenase, em função das doses de lodo galvânico, nos três solos estudados: NVef: Nitossolo Vermelho eutroférico; LBa: Latossolo Bruno álico; LVwf: Latossolo Vermelho acriférico .....	50
<b>Tabela 12</b> – Valores médios para produção de massa seca de parte aérea, de espigas e de raízes das plantas de trigo na época de espigamento, em função das doses de lodo galvânico, nos três solos estudados: NVef: Nitossolo Vermelho eutroférico; LBa: Latossolo Bruno álico; LVwf: Latossolo Vermelho acriférico.....	52
<b>Tabela 13</b> – Valores médios de pH dos solos em função das doses de lodo galvânico nos três solos estudados: NVef: Nitossolo Vermelho eutroférico; LBa: Latossolo Bruno álico; LVwf: Latossolo Vermelho acriférico .....	55
<b>Tabela 14</b> – Valores médios de colonização micorrízica das raízes de trigo, em função das doses de lodo galvânico, nos três solos estudados: NVef: Nitossolo Vermelho eutroférico; LBa: Latossolo Bruno álico; LVwf: Latossolo Vermelho acriférico.....	56
<b>Tabela 15</b> – Valores médios de P disponível no solo, em função das doses de lodo galvânico, nos três solos estudados: NVef: Nitossolo Vermelho eutroférico; LBa: Latossolo Bruno álico; LVwf: Latossolo Vermelho acriférico.....	56
<b>Tabela 16</b> – Valores médios das atividades da desidrogenase, da fosfatase ácida e da fosfatase alcalina, em função das doses de lodo galvânico, nos três solos estudados: NVef: Nitossolo Vermelho eutroférico; LBa: Latossolo Bruno álico; LVwf: Latossolo Vermelho acriférico .....	58
<b>Tabela 17</b> – Valores médios para C da biomassa, em função das doses de lodo galvânico, nos três solos estudados: NVef: Nitossolo Vermelho eutroférico; LBa: Latossolo Bruno álico; LVwf: Latossolo Vermelho acriférico.....	61
<b>Tabela 18</b> – Valores médios de CO <sub>2</sub> liberado por 100 g de terra em 1056 h	

de incubação, em função das doses de lodo galvânico, nos três solos estudados: NVef: Nitossolo Vermelho eutroférico; LBa: Latossolo Bruno álico; LVwf: Latossolo Vermelho acriférico.....63

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – a) Lodo galvânico *in natura*; b) após secagem em estufa; c) moído e peneirado .....26
- Figura 2** – Liberação de CO<sub>2</sub> em 100 g de terra em função do tempo para cada dose de lodo galvânico. a) Nitossolo Vermelho eutroférico; b) Latossolo Bruno álico .....42
- Figura 3** – Aspecto geral das plantas de soja, 20 dias após a emergência. Da esquerda para a direita: 0%, 0,5%, 1%, 2%, 4%, 6%, 8% e 10% de lodo galvânico (m/m). a) Nitossolo Vermelho eutroférico; b) Latossolo Bruno álico .....44
- Figura 4** – Aspecto geral das plantas de soja, 15 dias após a semeadura. Da esquerda para a direita: 0%, 0,2%, 0,4% e 0,6% de lodo galvânico (m/m). a) Nitossolo Vermelho eutroférico; b) Latossolo Bruno álico; c) Latossolo Vermelho acriférico. ....46
- Figura 5** – Aspecto geral das plantas de trigo, 90 dias após a semeadura. Da esquerda para a direita: 0%, 0,2%, 0,4% e 0,6% de lodo galvânico (m/m) nos três solos estudados: a) Nitossolo Vermelho eutroférico; b) Latossolo Bruno álico; c) Latossolo Vermelho acriférico .....53
- Figura 6** – Liberação de CO<sub>2</sub> em 100 g de terra em função do tempo para cada dose de lodo galvânico. a) Nitossolo Vermelho eutroférico; b) Latossolo Bruno álico; c) Latossolo Vermelho acriférico.....62

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>ABETRE</b>	Associação Brasileira de Tratamento de Resíduos
<b>ABNT</b>	Associação Brasileira de Normas Técnicas
<b>ANAVA</b>	Análise de variância
<b>CETESB</b>	Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo
<b>COODETEC</b>	Cooperativa Central de Pesquisa Agrícola
<b>CTC</b>	Capacidade de troca catiônica
<b>EPA</b>	Environmental Protection Agency
<b>IAP</b>	Instituto Ambiental do Paraná
<b>IAPAR</b>	Instituto Agrônômico do Paraná
<b>IUPAC</b>	International Union of Pure and Applied Chemistry
<b>LBa</b>	Latossolo Bruno Álico
<b>LVwf</b>	Latossolo Vermelho Acriférrico
<b>MO</b>	Matéria orgânica
<b>MUB</b>	Modified universal buffer (tampão universal modificado)
<b>NBR</b>	Norma Brasileira
<b>NVef</b>	Nitossolo Vermelho Eutroférico
<b>pNF</b>	p-nitrofenol
<b>rpm</b>	Rotações por minuto
<b>TFSA</b>	Terra fina seca ao ar
<b>THAM</b>	Tris-hidroximetil aminometano
<b>TPF</b>	Trifenil formazan
<b>TTC</b>	Cloreto de 2,3,5 trifeniltetrazólio

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>16</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>23</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>24</b>
4.1	LODO GALVÂNICO	25
4.1.1	Avaliações	26
4.1.1.1	pH do lodo galvânico	26
4.1.1.2	Caracterização química	26
4.1.1.3	Teste de lixiviação	27
4.1.1.4	Teste de solubilização	27
4.2	EXPERIMENTO I	28
4.2.1	Avaliações	28
4.2.1.1	Respirometria	28
4.2.1.2	Plântulas de soja	29
4.3	EXPERIMENTO II	29
4.3.1	Avaliações	30
4.3.1.1	Plantas de soja	30
4.3.1.2	Colonização micorrízica	30
4.3.1.3	pH do solo	31
4.3.1.4	C da biomassa microbiana	31
4.3.1.5	Desidrogenase	32
4.4	EXPERIMENTO III	32
4.4.1	Avaliações	33
4.4.1.1	Plantas de trigo	33
4.4.1.2	Colonização micorrízica	34

4.4.1.3	pH do solo .....	34
4.4.1.4	P disponível .....	34
4.4.1.5	Fosfatases ácida e alcalina .....	35
4.4.1.6	Desidrogenase .....	35
4.4.1.7	Urease .....	36
4.4.1.8	C da biomassa microbiana .....	36
4.4.1.9	N da biomassa microbiana .....	37
4.4.1.10	Respirometria .....	38
4.5	ANÁLISES ESTATÍSTICAS .....	38
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>39</b>
5.1	LODO GALVÂNICO .....	39
5.2	EXPERIMENTO I .....	41
5.3	EXPERIMENTO II .....	45
5.4	EXPERIMENTO III .....	51
	<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>64</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>65</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O solo é considerado um sistema dinâmico quanto aos aspectos físicos, químicos e biológicos. Da fração biológica, destacam-se os microrganismos, que desempenham importantes funções nos ciclos do C, N, P e S e nas transformações da matéria orgânica, com reflexos diretos na fertilidade do solo e no desenvolvimento de vegetais.

A atividade microbiana do solo varia de acordo com o tipo de solo, pH, umidade, temperatura, composição química, aeração e conteúdo de matéria orgânica, bem como o uso e o manejo de substâncias xenobiontes. Alterações ambientais de origem natural ou antrópica modificam as relações entre os componentes da comunidade microbiana, que passam a depender das novas circunstâncias do meio.

Desta forma, é possível fazer inferências acerca da saúde do solo a partir da avaliação de determinados grupos microbianos. Os indicadores químicos, bioquímicos e microbiológicos de qualidade do solo constituem uma importante ferramenta para o desenvolvimento e aprimoramento de práticas ambientalmente sustentáveis.

Atualmente, em razão de exigências legais, a destinação de resíduos orgânicos e inorgânicos representa um grande desafio, pois seu tratamento e disposição inadequados levam à poluição da água, do ar e do solo, com impactos negativos sobre a saúde ambiental e humana.

A indústria de galvanoplastia gera um resíduo que apresenta altos teores de metais pesados (elementos-traço), que pode ser utilizado para simular situações de multicontaminação do solo. Esses metais pesados, quando em excesso no solo, podem dificultar ou até mesmo impedir o estabelecimento da vegetação, como consequência direta do efeito tóxico do elemento em excesso ou efeito indireto sobre a comunidade microbiana do solo. Além disso, a intensidade do efeito negativo depende de diversos fatores, como o tipo de solo, teor de argila, matéria orgânica, pH e capacidade de troca catiônica do solo considerado.

Na região norte do Estado do Paraná, a cultura predominantemente explorada no verão é a de soja, que pode ser sucedida pela cultura do trigo no inverno. Essa sucessão soja-trigo predominou nas décadas de 1980 e 1990, e até

os dias de hoje ainda é usado por muitos agricultores da região. São culturas de grande importância econômica que podem ter suas produtividades reduzidas em caso de contaminação do solo por metais pesados.

O objetivo deste trabalho foi simular níveis crescentes de contaminação por lodo galvânico em três tipos de solo, representativos da região norte do Estado do Paraná, e avaliar os efeitos dessa contaminação no desenvolvimento de plantas de soja e de trigo, cultivados em sucessão, e em algumas propriedades químicas, bioquímicas e microbiológicas do solo.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Conceitualmente, metais pesados são elementos de alta densidade comumente relacionados a situações de contaminação. O termo metal pesado foi inicialmente definido como elemento de densidade maior que  $4 \text{ g cm}^{-3}$  (Bjerrum, 1936). Porém, atualmente, diferentes definições podem ser encontradas, como elementos de densidade superior a  $5 \text{ g cm}^{-3}$  (Parker, 1989; Morris, 1992),  $6 \text{ g cm}^{-3}$  (Thornton, 1995) ou raio atômico maior que 20 (Alloway, 1990; Malavolta *et al.*, 2006). Apesar destas especificações, a utilização deste termo parece estar mais relacionada ao potencial tóxico dos elementos do que às suas definições baseadas em densidade ou raio atômico. Uma das inconsistências deste termo é o fato de que os metais pesados também incluem semi-metais e ametais (Matos *et al.*, 1996), como o As, formando um grupo heterogêneo do ponto de vista da química fundamental. Além disso, há uma tendência a assumir que os metais pesados e seus compostos têm propriedades tóxicas, o que muitas vezes não é comprovado (Duffus, 2002). Os metais pesados também não pertencem a qualquer grupo químico que lhes possa atribuir as mesmas propriedades físico-químicas, biológicas e toxicológicas.

De fato, apesar de sua ampla utilização nas últimas décadas, o termo metais pesados não é regulamentado por órgãos oficiais. Não existe, portanto, uma definição ou uma lista oficial de elementos considerados como metais pesados, o que pode ocasionar problemas de interpretação na legislação e na literatura científica. Assim, em 2002, a IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) recomendou o abandono do termo metais pesados e sua substituição pelo termo elementos-traço, que foi adotado neste trabalho. Este termo abrange elementos que normalmente ocorrem em baixas concentrações em solos, plantas, tecidos, água etc., na ordem de partes por milhão ou menos (Duffus, 2002). Na área ambiental, os elementos-traço podem contemplar elementos que ocorrem em concentrações menores que  $1000 \text{ mg kg}^{-1}$  em solos e plantas (Sparks, 1995; Essington, 2004), enquanto em animais os elementos essenciais costumam ser divididos, de acordo com sua abundância, em majoritários, traços e micro-traços. Os elementos-traço são considerados aqueles que se encontram nos animais nas concentrações entre  $0,01$  a  $100 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ , enquanto os elementos majoritários se

encontram em concentrações acima desta faixa e os micro-traços, abaixo (Cornelis *et al.*, 1994).

A maior parte dos elementos-traço ocorre de forma natural no ambiente, proveniente do material de origem dos solos, e em concentrações não prejudiciais aos organismos. A relação entre a composição do solo e o material de origem é mais evidente na formação *in situ* em comparação aos solos originados sobre materiais previamente intemperizados (Fadigas, 2002). Muitos destes elementos-traço desempenham papel essencial ao metabolismo de organismos, como Co, Cu, Cr, Fe, Mo, Mn, Ni, Se, V e Zn, enquanto outros não têm essencialidade comprovada nos sistemas biológicos, como Ag, Al, As, Cd, Hg, Pb, Sb e Sr. Independentemente de apresentarem papel metabólico, os elementos mencionados são considerados potencialmente tóxicos quando em excesso.

As fontes antropogênicas dos elementos-traço incluem defensivos agrícolas, rejeitos orgânicos e industriais, resíduos de mineração e queima de combustíveis fósseis, o que leva à poluição de extensas áreas. De forma geral, os elementos-traço introduzidos no ambiente pelo homem podem atingir concentrações elevadas, que ultrapassam o limite de tolerância dos organismos. Com isso, altera-se o ciclo biogeoquímico destes elementos, o que pode acarretar consequências graves aos ecossistemas devido ao seu potencial tóxico e à sua persistência no ambiente. Os elementos-traço mais comumente associados ao risco ambiental são Cd, Pb, Ni e Cr (Ross, 1994), embora Zn e Cu também sejam considerados contaminantes comuns no solo (Dudka *et al.*, 1996).

A atividade metalúrgica constitui uma importante fonte antrópica de elementos-traço, como As, Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn (Moreira; Siqueira, 2006). O processo de galvanização ou galvanoplastia é aplicado na indústria de tratamento de superfície de peças metálicas e consiste na transferência de íons metálicos contidos em uma solução para uma superfície por meio de eletrólise. O resíduo, obtido na lavagem das peças após a eletrodeposição, geralmente é tratado no próprio local por precipitação seguida de decantação, gerando um lodo tóxico que deve ser disposto em aterros tecnicamente capacitados ou enviados para estações de reciclagem e recuperação de metais (Curto, 2003).

No Paraná, não são permitidos a disposição desse lodo em aterros sanitários e seu co-processamento em fornos de cimento. A Lei Estadual nº 12.493/99 estabelece princípios, procedimentos, normas e critérios de

gerenciamento de resíduos, que estão sob a responsabilidade de seus geradores. O IAP (Instituto Ambiental do Paraná) estabelece os critérios para a emissão de Autorizações Ambientais para as Atividades de Gerenciamento de Resíduos Sólidos, necessárias para a disposição final desses resíduos. O armazenamento temporário de resíduos é permitido por no máximo um ano. Assim, “as empresas do Paraná, que possuem este tipo de resíduo, estocam em seus pátios aguardando uma solução do IAP ou até possuírem quantidades suficientes para destinarem para co-processamento no estado de Rio de Janeiro, onde os órgãos ambientais permitem este processo” (Borgo, 2005).

Segundo a NBR 10004/2004, o lodo galvânico é classificado como Resíduo Sólido Industrial Perigoso de classe I, devido à alta concentração de elementos-traço em sua composição (ABNT, 2004). Esse lodo é considerado o mais perigoso dentre os resíduos produzidos pela indústria metalúrgica. A disposição final do lodo galvânico deve ocorrer sob condições controladas. No entanto, a ABETRE (Associação Brasileira de Tratamento de Resíduos) estima que no Brasil 70% dos resíduos industriais são descartados de forma inadequada, levando à contaminação do solo em diversas áreas (Furtado, 2005). No Brasil, entre 2002 e 2006, o número de áreas contaminadas aumentou de 255 para 1822, das quais 6,5% apresentaram contaminação por elementos-traço (CETESB, 2006). Este número pode ser ainda maior devido ao descarte clandestino, que não permite que a contaminação seja imediatamente detectada.

No solo, a contaminação por elementos-traço pode levar à perda da cobertura vegetal, alteração na estrutura do solo, aumento da erosão e perda de nutrientes e de matéria orgânica (Ribeiro-Filho *et al.*, 1999). Quanto ao impacto sobre a comunidade microbiana do solo, o excesso de elementos-traço pode provocar a desnaturação de proteínas e bloqueios de sítios de ligação de enzimas (Siqueira *et al.*, 1994), prejudicando diversos processos metabólicos (Obbard, 2001). Com isso, pode ocorrer decréscimo no número e na atividade dos microrganismos do solo, como as reduções na nitrificação, na atividade de diversas enzimas, na decomposição microbiana de celulose e na mineralização da matéria orgânica (Embrapa, 2001). Kandeler *et al.* (1996), ao avaliarem o efeito da contaminação por elementos-traço sobre a atividade de 13 enzimas do solo, constataram a inibição da atividade de enzimas relacionadas aos ciclos do N, P e S, enquanto as enzimas

relacionadas ao ciclo do C foram pouco afetadas, possivelmente devido a alterações na comunidade microbiana do solo.

Os elementos-traço no solo podem ocorrer em formas pouco solúveis e não prontamente assimiláveis, podendo permanecer longos períodos sem ser absorvido em quantidades tóxicas (Simonete; Kiehl, 2002). Isto ocorre porque a disponibilidade destes elementos depende de diversos fatores, como as características químicas e físicas do meio e a concentração dos elementos no resíduo. O pH, o conteúdo de matéria orgânica e as propriedades químicas do solo são alguns dos fatores que influenciam a disponibilidade dos elementos-traço, interferindo na sua toxicidade aos sistemas biológicos a eles expostos.

A disponibilidade dos elementos-traço depende basicamente dos processos de adsorção, complexação e precipitação destes elementos no solo (Khan; Scullion, 2000; Camargo *et al.*, 2001). As reações de adsorção e dessorção são os principais mecanismos que influenciam a disponibilidade dos elementos-traço no ambiente (Canter *et al.*, 1987; Camargo *et al.*, 2001). A adsorção corresponde à ligação de um elemento ou substância na interface entre a superfície sólida dos constituintes do solo e a solução adjacente (Sposito, 1983), enquanto a dessorção é a liberação dos íons para a fase líquida. A adsorção é favorecida em presença de argilas, óxidos e hidróxidos metálicos e matéria orgânica, que constituem os principais substratos para a retenção dos elementos-traço. A força com que os íons ficam retidos depende dos tipos de interação com a superfície das partículas, que podem ser divididos em adsorção específica e não específica. Na adsorção específica, ocorrem ligações fortes, de natureza covalente ou iônica. Essas interações são seletivas e altamente dependentes do pH, além de pouco influenciadas pela concentração iônica da solução do solo (Camargo *et al.*, 2001). Por outro lado, na adsorção não específica, a ligação ocorre pela atração eletrostática, o que resulta em menor força de retenção (Meurer, 2004). Estas reações são reversíveis e formam ligações relativamente fracas (Ford *et al.*, 2001), tendo pouca influência na disponibilidade de elementos-traço (Camargo *et al.*, 2001). A complexação envolve a formação de complexos solúveis entre os elementos-traço e os íons orgânicos ou inorgânicos dissolvidos. Neste processo, as frações humificadas da matéria orgânica e os óxidos são as superfícies reativas mais importantes. Também podem ocorrer reações de precipitação dos elementos-traço presentes na solução do solo. Essas reações são favorecidas em meios mais

alcalinos, dependendo também do potencial redox, da temperatura e da massa do elemento químico (Knox *et al.*, 1993).

A maior superfície específica, maior CTC (capacidade de troca catiônica), a presença de óxidos e hidróxidos e o maior conteúdo de matéria orgânica favorecem as reações de imobilização dos elementos-traço. Dentre esses, o pH é o fator mais importante que determina a disponibilidade de elementos-traço no solo, visto que influencia a interação dos íons com os óxidos e hidróxidos metálicos (Bibak, 1994), os mecanismos de adsorção (específica e não específica) (Yu *et al.*, 1997) e as reações de precipitação (Knox *et al.*, 1993). De forma geral, o aumento do pH do solo diminui a disponibilidade dos elementos-traço no solo, atenuando sua toxicidade sobre os organismos (Kabata-Pendias; Pendias, 1992; Uren, 1992).

Além desses fatores, os microrganismos podem converter os elementos-traço a formas orgânicas ou oxidar/reduzir as formas inorgânicas. Essas transformações podem originar compostos de maior toxicidade, como, por exemplo, o monometilmercúrio ( $\text{CH}_3\text{Hg}^+$ ) ou o dimetilmercúrio ( $\text{CH}_3\text{HgCH}_3$ ), formados pela metilação do Hg por processos físico-químicos ou microbianos (Weber, 1999; Ullrich *et al.*, 2001). Essas formas orgânicas são mais rapidamente absorvidas e retidas nos tecidos animais do que a forma metálica (Paul; Clark, 1989). Da mesma forma, Cd, Pb e Sn apresentam maior toxicidade quando estão em formas orgânicas. Por outro lado, os microrganismos também podem diminuir a disponibilidade de elementos-traço (Klauberg-Filho *et al.*, 2005), apresentando potencial para a biorremediação de solos contaminados.

Os riscos ligados aos elementos-traço dependem de sua concentração e das características do meio onde se encontram. Assim, as condições próprias de cada local (pH do solo, CTC, matéria orgânica, comunidade microbiana etc.) influenciam a disponibilidade e a toxicidade dos elementos-traço, de forma que locais distintos podem apresentar diferentes níveis de tolerância à contaminação. Desta forma, os teores máximos de elementos-traço permitidos no solo devem variar de acordo com a legislação de cada país ou região. Esses valores têm sido estabelecidos desde a década de 1970, inicialmente nos países europeus, quando se começou a cogitar a entrada de elementos-traço na cadeia alimentar (Klauberg-Filho, 2005). Os valores orientadores incluem valores de referência e de intervenção, que são utilizados com o objetivo de recuperar, manter ou melhorar a

qualidade ambiental, visando à segurança no uso e na ocupação dos solos. Os valores de referência e de intervenção referem-se, respectivamente, aos teores naturais encontrados no solo e aos limites acima dos quais há risco potencial à saúde humana. Os valores de referência são obtidos pelo diagnóstico específico de cada área. Já os valores de intervenção utilizam modelos matemáticos que consideram a concentração inicial de elementos-traço no ambiente e simulam seu comportamento, estimando as concentrações resultantes nas fases do solo. O risco da contaminação tem como referência o impacto na saúde humana, o que é avaliado pela probabilidade de incidência de câncer e pela ingestão diária tolerada pelo organismo (CETESB, 2001).

Os valores orientadores para os elementos-traço foram estabelecidos primeiramente na Holanda, cuja metodologia para avaliação de riscos, denominada C-Soil, foi aceita e utilizada em diversos países. Na Europa, novos critérios para determinar os limites orientadores foram revisados, criando-se normas nacionais específicas. Consideram-se valores máximos permitidos para solos não poluídos; valores para solos considerados poluídos, que devem ser estudados para se determinar sua toxicidade; e níveis considerados perigosos, que necessitam ser remediados (Aguilar *et al.*, 1999; Moreno *et al.*, 2009).

Embora essa lista de valores seja bem definida em países como os Estados Unidos e a Alemanha, os dados disponíveis no Brasil ainda são incipientes. No Estado de São Paulo, a CETESB (Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo) iniciou em 1996 um projeto para se determinar os valores de referência e de intervenção para os solos, com base na metodologia utilizada na Holanda, estabelecendo-se um único valor para cada elemento-traço em todo o Estado. Estes resultados, apresentados em 2001, têm servido de base para a formulação de valores para outros Estados, como Minas Gerais e Rio Grande do Sul.

Verifica-se, por essa extrapolação, que os valores determinados para os diferentes Estados brasileiros pouco consideraram a heterogeneidade dos solos e de fontes poluidoras. Isto constitui uma falha, pois mesmo em classes de solos relativamente homogêneas, diferentes processos pedogenéticos podem levar a uma distribuição heterogênea de elementos-traço no solo. Além disso, a toxicidade dos elementos-traço depende de fatores como o pH, teor de matéria orgânica e CTC do solo, de modo que os organismos presentes em solos com características

químicas distintas podem apresentar diferentes níveis de tolerância à mesma concentração de um elemento-traço.

Portanto, os valores orientadores de uma região específica não devem ser extrapoladas a outra (Moreno, 2009), como vem ocorrendo no Brasil. Esta generalização prejudica a tomada de decisões racionais e seguras para o uso de solos, como adotar os métodos mais adequados para remediar uma área contaminada; designar áreas com maior tolerância aos elementos-traço para a disposição de alguns resíduos; aplicar insumos de acordo com as concentrações iniciais dos elementos no solo, evitando a poluição e o desperdício de insumos; ou evitar a atividade agrícola em solos cujas concentrações naturais de elementos-traço possam oferecer algum risco à saúde humana.

Os microrganismos desempenham importante papel nos ciclos biogeoquímicos, na fertilidade do solo e na promoção do desenvolvimento vegetal. Estudos têm demonstrado que a contaminação do solo por elementos-traço pode afetar a biomassa microbiana (Brookes; MacGrath, 1984; Fließbach *et al.*, 1994; Barajas Aceves *et al.*, 1999; Chander; Joergensen, 2001; Espírito-Santo, 2004), a estrutura da comunidade microbiana (Reber, 1992; Kandeler *et al.*, 1996), a taxa de mineralização da matéria orgânica (Valsecchi *et al.*, 1995), a respiração microbiana e a atividade enzimática dos solos (Valsecchi *et al.*, 1995; Dias-Júnior *et al.*, 1998; Chew *et al.*, 2001; Espírito-Santo, 2004). A comunidade microbiana se adapta rapidamente a novas condições ambientais, de modo que as mudanças ocorridas na comunidade microbiana podem preceder as alterações nas propriedades físicas e químicas do solo, constituindo assim um indicador mais rápido de possíveis situações de contaminação (Pankhurst *et al.*, 1995; Gianfreda; Bollag, 1996). No entanto, os critérios de estabelecimento de limites máximos permitidos de elementos-traço no solo pouco consideram a sensibilidade da comunidade microbiana à contaminação (Giller *et al.*, 1998), o que seria uma grande contribuição aos estudos necessários para o estabelecimento de valores limites, bem como para melhorar a legislação ambiental brasileira.

### **3 OBJETIVOS**

O objetivo deste trabalho foi simular níveis crescentes de contaminação por lodo galvânico em três tipos de solo, representativos da região norte do Estado do Paraná, e avaliar os efeitos do resíduo no desenvolvimento de plantas de soja e de trigo cultivadas em sucessão, e em algumas propriedades químicas, bioquímicas e microbiológicas do solo.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no laboratório de Ecologia Microbiana e na casa de vegetação do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Londrina, no período de novembro de 2009 a março de 2011. Utilizou-se terra coletada da camada superficial (0 a 15 cm) de três solos representativos da região norte do Estado do Paraná.

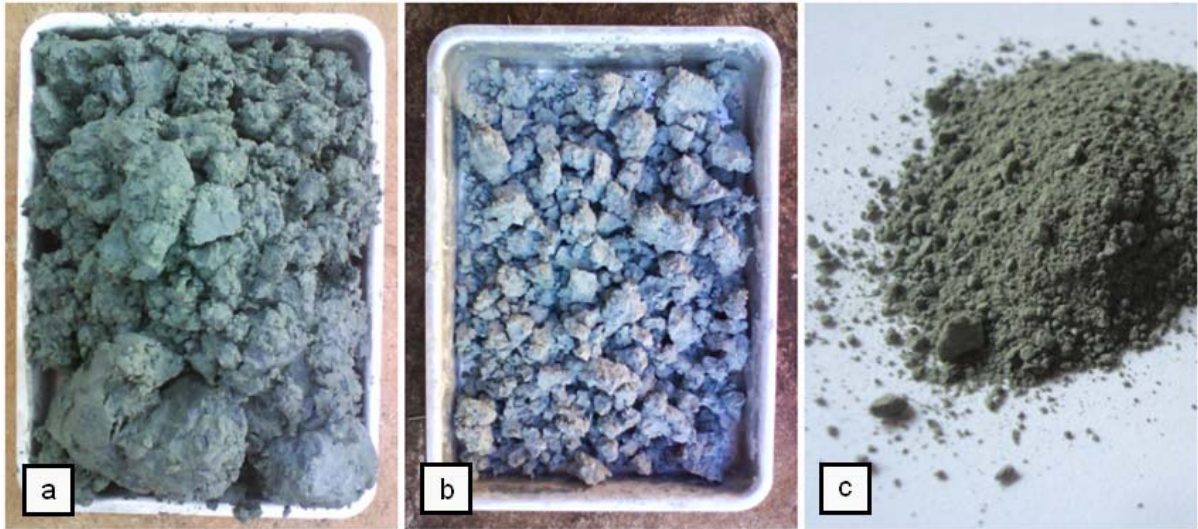
O primeiro solo foi coletado na fazenda experimental do IAPAR (Instituto Agrônômico do Paraná), no município de Londrina, PR (23°23'S 51°11'W). Este solo, de textura argilosa e baixa acidez, tem origem nas rochas basálticas da formação Serra Geral e é classificado como Nitossolo Vermelho eutroférico (NVef) (Embrapa, 1999). O segundo solo, originário das rochas areníticas das formações Pirambóia e Botucatu, foi obtido no município de São Jerônimo da Serra, PR (23°44'S 50°40'W), a 80 km de Londrina. Este solo, de textura arenosa e alta acidez, é classificado como Latossolo Bruno álico (LBa) (Embrapa, 1999). O terceiro solo ocorre no município de Jaguapitã, PR (23°06'S 51°31'W), a 60 km de Londrina, e é classificado como Latossolo Vermelho acriférico (LVwf) (Embrapa, 1999), que apresenta textura arenosa e alta acidez. As características químicas e as frações granulométricas destes solos são mostradas na Tabela 1.

**Tabela 1** – Características químicas e granulométricas dos solos antes da instalação do experimento. NVef: Nitossolo Vermelho eutroférico; LBa: Latossolo Bruno álico; LVwf: Latossolo Vermelho acriférico.

	Parâmetros	NVef	LBa	LVwf
Químicos	P (mg/dm <sup>3</sup> )	20,4	7,4	25,6
	C (g/kg)	19,2	3,9	14,6
	MO (g/kg)	52,0	6,6	25,2
	pH (CaCl <sub>2</sub> )	6,0	4,2	6,2
	Al (cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	0,0	0,6	0,0
	H + Al (cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	3,4	5,7	2,2
	Ca (cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	4,3	0,8	3,3
	Mg (cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	3,3	0,5	2,4
	K (cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	1,6	0,1	0,9
	Soma de bases (cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	9,3	1,4	6,6
	CTC (cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	12,7	7,1	8,8
	Saturação por base (%)	73,0	19,9	75,0
	Frações granulométricas	Argila (%)	80	19
Silte (%)		14	4	2
Areia (%)		6	77	85

#### 4.1 LODO GALVÂNICO

O lodo galvânico utilizado neste trabalho foi obtido de uma empresa que emprega a galvanoplastia no acabamento de peças metálicas de uso doméstico. As características e a classificação deste resíduo constam no Anexo A da NBR 10004/2004 com os códigos de identificação F006 e F008 (ABNT, 2004). Esta norma classifica os resíduos sólidos quanto aos seus riscos potenciais ao meio ambiente e à saúde pública, visando o manuseio e a destinação adequados desses resíduos. O lodo galvânico constitui um resíduo alcalino, não inflamável, não corrosivo e não reativo com água. O resíduo obtido foi caracterizado quanto ao pH, teores totais de alguns elementos, teste de lixiviação e teste de solubilização. Para os experimentos em vasos, utilizou-se lodo galvânico seco em estufa a 60°C por três dias, moído e passado em peneira de malha de 0,71 mm (Figura 1).



**Figura 1** – a) Lodo galvânico *in natura*; b) após secagem em estufa; c) moído.e peneirado.

#### 4.1.1 Avaliações

##### 4.1.1.1 pH do lodo galvânico

O pH do lodo galvânico foi determinado pelo método EPA (Environmental Protection Agency) 9045c. Uma amostra fresca de 20 g de lodo galvânico foi transferida a frascos de extração e misturada a 20 mL de H<sub>2</sub>O deionizada. Os frascos foram agitados a 200 rpm por cinco minutos e, após a decantação, realizou-se a leitura em potenciômetro calibrado (EPA, 1996).

##### 4.1.1.2 Caracterização química

Os teores totais de alguns elementos presentes no lodo galvânico foram determinados por espectrometria de absorção atômica. Os elementos analisados foram Al, Ca, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Ni, S, Si, V e Zn.

#### 4.1.1.3 Teste de lixiviação

O teste de lixiviação consiste na passagem de material solvente através do resíduo, simulando fenômenos de arraste, diluição e dessorsão. Isto possibilita avaliar o comportamento do resíduo quando em contato com soluções aquosas, o que está relacionado ao risco de liberação de elementos perigosos ao ambiente. O método empregado foi o descrito na NBR 10005/87 (ABNT, 1987a).

Uma amostra seca de 100 g de lodo galvânico foi misturada a 1,6 L de H<sub>2</sub>O deionizada, que constitui o meio lixivante. A mistura foi agitada em equipamento do tipo jar-test por 24 horas. No período inicial de agitação (aos 15, 30 e 60 minutos), mediu-se o pH da mistura e adicionou-se ácido acético (CH<sub>3</sub>COOH) 0,5 N quando necessário, a fim de manter o pH da mistura abaixo de 5. Após a agitação, a mistura foi filtrada em membrana de fibra de vidro de 0,45 µm de porosidade. Em seguida, 50 mL do extrato obtido foram misturados a 5 mL de ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>), submetendo-se essa mistura à digestão por microondas em sistema fechado. O teor de elementos-traço no extrato digerido foi determinado por espectrometria de absorção atômica. Os parâmetros avaliados foram os teores de Ag, As, Ba, Cd, Cr, F, Hg, Pb e Se.

#### 4.1.1.4 Teste de solubilização

O teste de solubilização foi realizado conforme o procedimento descrito na NBR 10006/87 (ABNT, 1987b). Uma amostra seca de 250 g de lodo galvânico foram misturados a 1 L de H<sub>2</sub>O deionizada, agitando-se a mistura por cinco minutos. A mistura foi deixada em repouso por sete dias e filtrada em membrana de fibra de vidro de 0,45 µm de porosidade. O extrato obtido foi submetido à digestão e à determinação de elementos-traço pelo mesmo modo descrito para o teste de lixiviação. Os parâmetros avaliados foram os teores de Ag, Al, As, Ba, Cd, Cr, Cu, F, Fe, Hg, Mn, Na, Pb, Se e Zn, além de cianetos, cloretos, fenóis, nitratos e sulfatos.

## 4.2 EXPERIMENTO I

O Experimento I foi desenvolvido com o objetivo de avaliar o efeito do lodo galvânico na atividade respiratória microbiana do solo e no desenvolvimento inicial de plântulas de soja. Os resultados obtidos foram utilizados para definir as doses de lodo utilizadas nos dois experimentos seguintes. O delineamento experimental empregado foi o inteiramente casualizado com três repetições, em arranjo fatorial 2 x 8, em que os fatores foram dois tipos de solo e oito doses de lodo galvânico. Utilizaram-se amostras de 100 g dos solos N<sub>Vef</sub> e L<sub>Ba</sub>, às quais foram acrescidas doses de lodo galvânico correspondentes a 0, 0,5%, 1%, 2%, 4%, 6%, 8% e 10% da massa de terra e acondicionados em frascos de incubação com tampa. O lodo foi incorporado em todo o volume da terra e a umidade foi corrigida para 65% da capacidade máxima de retenção de água de cada solo, além de água destilada equivalente a 50% da massa de lodo. A produção de CO<sub>2</sub> destas amostras foi determinada pelo método de Alef (1995). A respirometria foi mensurada ao longo do tempo de incubação inicialmente com 24 horas, sendo o período entre as leituras espaçado gradativamente à medida que a atividade biológica diminuía. As amostras foram mantidas a 28°C durante o período de incubação, que teve duração de 39 dias (936 h).

Após o período de incubação, as amostras foram transferidas para recipientes plásticos e foram semeadas com cinco sementes de soja, cultivar BRS 184, fornecendo-se água conforme a necessidade. As plântulas foram avaliadas quanto à altura 15 dias após a emergência.

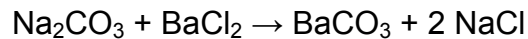
### 4.2.1 Avaliações

#### 4.2.1.1 Respirometria

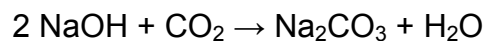
A respirometria foi avaliada pelo método de Alef (1995), em que o CO<sub>2</sub> liberado é capturado por uma solução de NaOH, permitindo estimar a atividade respiratória microbiana.

Em cada frasco de incubação, com 100 g de terra, colocou-se um pequeno frasco aberto contendo 10 mL de solução de NaOH 0,5 M, que serviu de

armadilha para a captura do CO<sub>2</sub>. A reação entre o CO<sub>2</sub> e o NaOH produz carbonato de sódio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), que foi precipitado com 1 mL de solução saturada de cloreto de bário (BaCl<sub>2</sub>) para a estabilização do carbonato durante a titulação, conforme a reação:



O C liberado na forma de CO<sub>2</sub> foi quantificado por titulação do NaOH remanescente com solução padronizada de HCl 0,5 M com duas gotas do indicador fenolftaleína. Na titulação, ocorre a passagem da coloração rósea à transparente, que permite quantificar o NaOH que não reagiu, e assim estimar a quantidade de CO<sub>2</sub> produzida pela atividade microbiana, considerando que para cada molécula de CO<sub>2</sub> produzida, duas de NaOH foram consumidas, conforme a reação:



A quantidade de CO<sub>2</sub> liberado durante todo o período de incubação foi expressa em mg por 100 g de amostra.

#### 4.2.1.2 Plântulas de soja

As plantas de soja foram avaliadas quanto à altura 15 dias após a emergência, com o auxílio de um paquímetro.

### 4.3 EXPERIMENTO II

Com base nos resultados do Experimento I, observou-se que a dose de 0,5% de lodo galvânico já resultou em significativa alteração na atividade microbiana e no desenvolvimento das plântulas de soja em ambos os solos. Assim, conduziu-se um experimento em vasos em casa de vegetação com doses crescentes de lodo adicionado ao solo até a dose máxima de 0,6%. Neste experimento, além dos dois tipos de solo utilizados no Experimento I, incluiu-se o LVwf. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 15 repetições, em arranjo fatorial 3 x 4, em que os fatores foram três tipos de solo (NVef, LBa e

LVwf) e quatro doses de lodo galvânico (0%, 0,2%, 0,4% e 0,6% m/m). Cada parcela experimental foi representada por um vaso com 3 kg de terra. O lodo galvânico foi aplicado antes da semeadura e incorporado em todo o volume de terra. A umidade foi corrigida para 65% da capacidade máxima de retenção de cada solo, acrescida de água equivalente a 50% da massa de lodo no respectivo tratamento.

A semeadura foi realizada a 2-3 cm de profundidade, distribuindo-se cinco sementes de soja, cultivar BRS 184, inoculadas com *Bradyrhizobium*. Uma semana após a emergência das plântulas, realizou-se o desbaste deixando duas plantas por vaso. Durante o período experimental, as plantas foram irrigadas conforme as necessidades. Ao longo do desenvolvimento das plantas, cada vaso foi adubado com 150 mg de Ca, 252 mg de K, 150 mg de Mg, 100 mg de P e 198 mg de S, fornecidos sob as formas  $K_2HPO_4$ ,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  e  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ .

Após 68 dias de cultivo, na fase de formação de vagens, as plantas foram colhidas para as avaliações e a terra de cada vaso foi amostrada. Uma parte de cada amostra de terra foi deixada para secar ao ar, enquanto outra foi acondicionada em sacos plásticos e armazenada à temperatura de 5°C. Foram avaliados o pH do solo (Pavan *et al.*, 1992), o C da biomassa microbiana (Vance *et al.*, 1987; Anderson e Ingram, 1996) e a atividade da enzima desidrogenase (Casida *et al.*, 1964). As plantas foram avaliadas quanto à produção de massa seca da parte aérea e colonização micorrízica (Phillips; Hayman, 1970; Giovannetti; Mosse, 1980).

#### 4.3.1 Avaliações

##### 4.3.1.1 Plantas de soja

Aos 68 dias de cultivo, as plantas foram colhidas, acondicionadas em sacos de papel tipo Kraft e secas em estufa a 60°C por 72 horas para a avaliação da produção de massa seca de parte aérea, utilizando-se uma balança digital de precisão.

##### 4.3.1.2 Colonização micorrízica

As raízes das plantas de soja foram coradas utilizando o método de Phillips e Hayman (1970). Após lavagem em água corrente, as raízes foram

colocadas em grades, cobertas com KOH 10% e deixadas em vapor fluente por 50 minutos. Decorrido este tempo, descartou-se o KOH e as raízes foram lavadas três vezes com H<sub>2</sub>O destilada. Em seguida, as raízes foram cobertas com HCl 0,1 N, agitadas e novamente lavadas com H<sub>2</sub>O destilada por três vezes. Na sequência, as raízes foram coradas com azul de tripan 0,05% e colocadas em vapor fluente por 10 minutos. As raízes coradas foram observadas em estereomicroscópio no aumento de 80 vezes. As taxas de colonização micorrízica foram estimadas pela presença ou pela ausência de estruturas micorrízicas como hifas, arbúsculos e vesículas ao longo das raízes, pelo método da placa quadriculada de Giovannetti e Mosse (1980). Os resultados foram expressos em porcentagem de colonização radicular.

#### 4.3.1.3 pH do solo

O pH do solo foi determinado pela metodologia descrita por Pavan *et al.* (1992), em que se estima a atividade de íons H<sup>+</sup> na suspensão do solo com solução de CaCl<sub>2</sub>. Dez gramas de terra fina seca ao ar (TFSA) foram transferidos a frascos de extração e adicionados a 25 mL de CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O 0,01 M. Os frascos foram agitados a 200 rpm por 15 minutos e, após a decantação, realizou-se a leitura em potenciômetro calibrado.

#### 4.3.1.4 C da biomassa microbiana

Para a avaliação da biomassa microbiana, utilizou-se o método da fumigação-extração de Vance *et al.* (1987). Uma alíquota da amostra foi fumigada com clorofórmio, enquanto a outra, não fumigada, constituiu o controle.

A fumigação consistiu em expor 20 g de terra a clorofórmio livre de etanol em um dessecador forrado com papel de filtro umedecido, submetido a vácuo no escuro por 24 horas. Decorrido este período, retirou-se o vapor de clorofórmio por aplicação sucessiva de vácuo por seis vezes. Com a fumigação, ocorre a lise das células e liberação do seu conteúdo citoplasmático, cujo C é disponibilizado para análise. As amostras não fumigadas também foram submetidas a vácuo em outro dessecador, porém sem a presença do clorofórmio.

Para a extração do C, a terra foi transferida a frascos de extração, acrescida de solução extratora ( $K_2SO_4$  0,5M) e agitada a 200 rpm por 30 minutos. Após a decantação, o sobrenadante foi filtrado, obtendo-se o extrato.

O C da biomassa microbiana dos extratos foi determinado pelo método de Anderson e Ingram (1993), que se baseia na oxidação do C orgânico pelo dicromato de K ( $K_2Cr_2O_7$ ). Uma alíquota de 8 mL do extrato foi transferida a um tubo de digestão, ao qual se adicionaram 3 mL de dicromato de K 0,0667M e 15 mL de  $H_2SO_4$  concentrado, resultando em uma solução de coloração laranja. Os tubos foram aquecidos em um bloco digestor para acelerar o processo de oxidação do C. A solução obtida ao final do aquecimento, de coloração verde, foi titulada com sulfato ferroso amoniacal 0,0333M na presença do indicador ferroína, passando para azul-claro e chegando ao ponto final vermelho-intenso. Nesta etapa se quantificou o dicromato de K remanescente, ou seja, que não foi utilizado para oxidar o C presente no extrato. O C da biomassa microbiana foi estimado pela diferença entre os teores de C das amostras fumigadas e não-fumigadas, considerando um coeficiente  $K_C$  de 0,33. Os resultados foram expressos em  $\mu g\ g^{-1}$ .

#### 4.3.1.5 Desidrogenase

A atividade da desidrogenase foi determinada pelo método de Casida *et al.* (1964), baseado na extração com metanol e na determinação colorimétrica de trifênil formazan (TPF), de cor avermelhada, produzido pela redução de cloreto de 2,3,5 trifêniltetrazólio (TTC). Tubos de ensaio com 5 g de terra e 5 mL da solução aquosa de TTC 1,5 % foram incubados em banho-maria a 37°C por 24 horas. Adicionaram-se 10 mL de metanol, agitando-se a solução por um minuto. Após a decantação, o sobrenadante foi centrifugado a 3400 rpm por 10 minutos. A intensidade da cor avermelhada foi determinada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 485 nm. A quantidade de TPF produzida foi calculada com base na curva de calibração e expressa em  $\mu g\ g^{-1}\ 24\ h^{-1}$  a 37 °C.

#### 4.4 EXPERIMENTO III

Após a retirada das plantas de soja e da amostragem de solo do Experimento II, o restante da terra foi devolvido aos vasos e seguiu-se a semeadura

do trigo. O objetivo desta etapa foi avaliar o efeito residual do lodo galvânico sobre o desenvolvimento de plantas de trigo e algumas características microbiológicas e bioquímicas do solo. A semeadura do trigo foi realizada distribuindo em cada vaso cerca de 50 sementes da variedade COODETEC 104. Realizou-se o desbaste uma semana após a emergência das plântulas, deixando-se 15 plantas por vaso. Durante o período experimental, as plantas foram irrigadas conforme as necessidades. Cada vaso foi adubado com 150 mg de Ca, 252 mg de K, 150 mg de Mg, 200 mg de N, 100 mg de P e 198 mg de S, fornecidos sob as formas  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4$  e  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .

O experimento foi conduzido por 99 dias após a semeadura, até a época do espigamento do trigo. As plantas foram colhidas e uma nova amostra de terra coletada. Parte da terra foi armazenada a 5°C para as análises bioquímicas e microbiológicas, enquanto o restante foi seco ao ar para ser utilizado nas análises químicas.

As plantas foram avaliadas quanto à produção de massa seca de parte aérea, de espigas e de raízes, bem como a taxa de colonização micorrízica (Phillips; Hayman, 1970; Giovannetti; Mosse, 1980). As amostras de terra foram analisadas quanto ao pH e P disponível (Pavan *et al.*, 1992), atividades das fosfatases ácida e alcalina (Tabatabai; Bremner, 1969), da desidrogenase (Casida *et al.*, 1964) e da urease (Tabatabai; Bremner, 1972) e C e N da biomassa microbiana (Feije; Anger, 1972; Vance *et al.*, 1987; Bartlett; Ross, 1988). A respirometria do solo (Alef, 1995) foi acompanhada por um período de incubação de 44 dias (1056 h).

#### 4.4.1 Avaliações

##### 4.4.1.1 Plantas de trigo

Aos 99 dias de emergência, as plantas de trigo foram colhidas, acondicionadas em sacos de papel tipo Kraft e secas em estufa a 60°C por 72 horas para a avaliação da produção de massa seca da parte aérea, de espigas e de raízes, utilizando-se uma balança digital de precisão. Parte das raízes (ca. 0,1 g) foi utilizada para a determinação da taxa de colonização micorrízica.

#### 4.4.1.2 Colonização micorrízica

A colonização micorrízica foi determinada pelo método da placa quadriculada (Giovannetti; Mosse, 1980) após coloração segundo Phillips e Hayman (1970), conforme descrito no item 4.3.1.2.

#### 4.4.1.3 pH do solo

O pH foi determinado conforme a metodologia descrita por Pavan *et al.* (1992), descrito no item 4.3.1.3.

#### 4.4.1.4 P disponível

O P disponível no solo foi determinado pelo método descrito por Pavan *et al.* (1992). Em um frasco, 5 g de TFSA foram submetidos à extração com 50 mL de solução Mehlich I e agitados a 200 rpm por 5 minutos. Após a decantação, uma alíquota de 5 mL do sobrenadante foi transferida para um tubo de ensaio, no qual se adicionaram 10 mL de solução de molibdato de amônio e uma pitada de ácido ascórbico. Após 30 minutos, realizou-se a leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda de 630 nm. A quantidade de P foi calculada com base em uma curva de calibração e expressa em  $\text{mg kg}^{-1}$ . O extrator e a solução de molibdato de amônio foram preparados conforme os procedimentos descritos a seguir:

- Mehlich I: Misturaram-se 25 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1 N e 50 mL de HCl 1 N, completando-se o volume para 1 L com  $\text{H}_2\text{O}$  destilada.
- Solução de molibdato de amônio: Foram preparadas duas soluções: na primeira, dissolveram-se 20 g de molibdato de amônio em cerca de 200 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  destilada; na segunda, 2 g de subcarbonato de bismuto em cerca de 500 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  destilada e 150 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado. As duas soluções foram misturadas e o volume completado para 1 L com  $\text{H}_2\text{O}$  destilada. Na seqüência, transferiram-se 300 mL dessa solução

para um balão volumétrico, completando-se o volume para 1 L com H<sub>2</sub>O destilada.

#### 4.4.1.5 Fosfatases ácida e alcalina

A atividade das fosfatases ácida e alcalina foi avaliada pelo método de Tabatabai e Bremner (1969), em que a enzima catalisa a conversão de p-nitrofenil fosfato de sódio em p-nitrofenol (pNF), que apresenta coloração amarela. Adicionaram-se em um tubo de ensaio 1 g de terra, 4 mL de tampão universal modificado (MUB) e 1 mL de solução de p-nitrofenil fosfato de sódio 0,05 M. A mistura foi agitada por alguns segundos e incubada em banho-maria a 37°C. Decorrido este tempo, paralisou-se a reação com a adição de 1 mL de CaCl<sub>2</sub> 0,5 M e 4 mL de NaOH 0,5 M. A suspensão foi filtrada e centrifugada a 5000 rpm por 10 minutos. A intensidade da cor amarela do sobrenadante foi determinada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 420 nm. A quantidade de pNF produzida foi calculada com base na curva de calibração e expressa em  $\mu\text{g g}^{-1} \text{h}^{-1}$  a 37°C. O MUB foi preparado conforme o procedimento descrito a seguir:

- Solução estoque de MUB: Em 488 mL de NaOH 1 N, dissolveram-se na seguinte ordem: 12,1 g de tris (hidroximetil) aminometano (HOCH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CNH<sub>2</sub>), 11,6 g de ácido maléico (C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>4</sub>), 14 g de ácido cítrico (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>) e 6,3 g de ácido bórico (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>). Após a homogeneização, completou-se o volume para 1 L com H<sub>2</sub>O destilada.
- Solução MUB: Transferiram-se 200 mL da solução estoque de MUB para um balão volumétrico. O pH foi ajustado para 6,5 (para fosfatase ácida) e 11 (para fosfatase alcalina), completando-se o volume para 1 L com H<sub>2</sub>O destilada.

#### 4.4.1.6 Desidrogenase

A atividade da desidrogenase foi determinada pelo método de Casida *et al.* (1964), descrito no item 4.3.1.5.

#### 4.4.1.7 Urease

A atividade da urease foi avaliada pelo método de Tabatabai e Bremner (1972), que se baseia na conversão da uréia ( $\text{NH}_2\text{CONH}_2$ ) em amônio ( $\text{NH}_4^+$ ). Tubos de ensaio contendo 1 g de terra, 9 mL de tampão THAM e 1 mL de solução de uréia 0,2 M foram agitados e incubados a 37°C por duas horas. Adicionaram-se 40 mL de solução de  $\text{KCl-Ag}_2\text{SO}_4$  e agitaram-se novamente os tubos. O conteúdo dos tubos foi filtrado. Uma alíquota de 20 mL do filtrado foi destilada com adição de MgO para a determinação do  $\text{N-NH}_4^+$ . O destilado foi recolhido em 10 mL de solução indicadora de N até um volume de aproximadamente 50 mL. Realizou-se em seguida a titulação do destilado com  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,0025 N. Os resultados foram expressos em  $\mu\text{g g}^{-1} \text{h}^{-1}$  a 37°C. O tampão, a solução de  $\text{KCl-Ag}_2\text{SO}_4$  e a solução indicadora de N foram preparados conforme os procedimentos descritos a seguir:

- Tampão THAM: Dissolveram-se 6,1 g de THAM em 950 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  destilada, corrigiu-se o pH para 9 e completou-se o volume para 1 L com  $\text{H}_2\text{O}$  destilada.
- $\text{KCl-Ag}_2\text{SO}_4$ : Dissolveram-se 0,1 g de  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$  e 188 g de KCl em  $\text{H}_2\text{O}$  destilada, completando-se o volume para 1L.
- Solução indicadora de N: Dissolveram-se 100 g de ácido bórico ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ) em cerca de 500 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  destilada. Adicionaram-se 100 mL de solução indicadora, preparada com 0,1 g de verde de bromocresol ( $\text{C}_{21}\text{H}_{14}\text{Br}_4\text{O}_5\text{S}$ ) e 0,066 g de vermelho de metila ( $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2$ ), completando-se o volume com etanol. Após a homogeneização, completou-se o volume para 5 L com  $\text{H}_2\text{O}$  destilada.

#### 4.4.1.8 C da biomassa microbiana

Para a avaliação da biomassa microbiana, utilizou-se o método da fumigação-extração de Vance *et al.* (1987), descrito no item 4.3.1.4. O extrato obtido foi utilizado para a determinação tanto do C quanto do N da biomassa microbiana.

O C da biomassa microbiana foi determinado pelo método de Bartlett e Ross (1988), que se baseia na oxidação do C orgânico pelo permanganato de K. Em um tubo de ensaio, adicionaram-se 1 mL de extrato da fumigação-extração, 1 mL de solução de permanganato de K e 1 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Após o tempo de reação de 16 horas, realizou-se a leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda de 495 nm, calculando-se a quantidade de C nos extratos com base na curva de calibração. O C da biomassa microbiana foi estimado pela diferença entre os teores de C das amostras fumigadas e não-fumigadas, considerando um coeficiente K<sub>C</sub> de 0,33. Os resultados foram expressos em µg g<sup>-1</sup>. A solução de permanganato foi preparada conforme o procedimento descrito a seguir:

- Solução de permanganato de K: Adicionaram-se na seguinte ordem: 75 mL de pirofosfato (Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) 0,1 M, 12 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5 M, 5 mL de permanganato de K (KMnO<sub>4</sub>) 0,1 M e 20 mL de MnSO<sub>4</sub>. As soluções foram homogeneizadas e o volume completado para 250 mL com H<sub>2</sub>O destilada.

#### 4.4.1.9 N da biomassa microbiana

O N da biomassa microbiana foi determinado conforme o método de Feije e Anger (1972). Misturaram-se em um tubo de digestão 20 mL de extrato da fumigação-extração, 0,5 g de catalisador CuSO<sub>4</sub>:K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (10:1) e 1,5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. A mistura foi mantida em estufa a 105°C por 16 horas. Em seguida, os tubos foram levados a um bloco digestor, onde permaneceu a 350°C por três horas. Após a digestão, as amostras foram submetidas a duas diluições. Na primeira, adicionou-se H<sub>2</sub>O destilada até completar um volume de 30 mL; na segunda, transferiu-se 1 mL da primeira diluição a outro tubo, onde se adicionou H<sub>2</sub>O destilada até completar um volume de 10 mL. Transferiram-se 2 mL da segunda diluição para um tubo de ensaio, adicionando-se em seguida 7 mL de solução A (preparada a partir da solução de Na<sub>2</sub>-EDTA pH 10), 1 mL de solução B e 1 mL de solução C. Após a homogeneização dos tubos, realizou-se a leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda de 630 nm, calculando-se a quantidade de N nos extratos com base na curva de calibração. O N da biomassa microbiana foi estimado pela diferença entre os teores de N das amostras fumigadas e não-fumigadas,

considerando um coeficiente  $K_N$  de 0,54. Os resultados foram expressos em  $\mu\text{g g}^{-1}$ . As soluções de  $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ , A, B e C foram preparadas conforme os procedimentos descritos a seguir:

- Solução de  $\text{Na}_2\text{-EDTA}$  pH 10: Dissolveram-se 12,7 g de  $\text{Na}_2\text{-EDTA}$  em 900 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  destilada, corrigiu-se o pH para 10 e completou-se o volume para 1 L com  $\text{H}_2\text{O}$  destilada.
- Solução A: Dissolveram-se 5 g de  $\text{NaOH}$  em 30 mL de solução de  $\text{Na}_2\text{-EDTA}$  pH 10 e completou-se o volume para 2 L com  $\text{H}_2\text{O}$  destilada.
- Solução B: Dissolveram-se 10 g de fenol ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$ ) e 0,05 g de nitroprussiato de sódio ( $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) em  $\text{H}_2\text{O}$  destilada, completando-se o volume para 1 L.
- Solução C: Dissolveram-se 5 g de  $\text{NaOH}$ , 9,4 g de fosfato dissódico ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4\cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ) e 31,8 g de fosfato de sódio tribásico ( $\text{Na}_3\text{PO}_4\cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ) em 20 mL de  $\text{NaOCl}$  5%. Completou-se o volume para 1 L com  $\text{H}_2\text{O}$  destilada.

#### 4.4.1.10 Respirometria

A respirometria foi determinada pelo método de Alef (1995), descrito no item 4.2.1.1.

#### 4.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANAVA), utilizando o programa SISVAR. Quando necessário, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% ou ajustadas a equações de regressão polinomial.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 LODO GALVÂNICO

O lodo galvânico apresentou caráter alcalino, de pH 9,43. Os teores totais de alguns elementos presentes no resíduo são listados na Tabela 2.

**Tabela 2** - Características químicas do lodo galvânico.

Elementos químicos	Teores totais (g kg <sup>-1</sup> )
Ca	329,45
Mg	236,33
Ni	143,13
Cr	83,46
Fe	56,92
Cu	49,37
Si	37,76
Al	24,72
S	19,26
Zn	16,91
K	2,07
V	0,63

O teste de lixiviação foi realizado com o objetivo de simular a liberação de contaminantes do resíduo em condições ácidas, que podem ocorrer devido à decomposição da matéria orgânica presente em outros resíduos, que se misturariam ao lodo em uma área de deposição (ABNT, 1987a). Segundo este ensaio, o lodo galvânico oferece risco de liberação de elementos perigosos ao ambiente, visto que as concentrações de Cd e Cr ultrapassam o limite permitido pela NBR 10004/2004 (Tabela 3).

**Tabela 3** – Ensaio de lixiviação do lodo galvânico, em comparação com os limites máximos estabelecidos pela NBR 10004/2004.

Parâmetros	Teores totais (mg L <sup>-1</sup> )	Limite máximo (mg L <sup>-1</sup> )
As	0,005	1
Ba	0,23	70
Cd	27	0,5
Pb	0,97	1
Cr	5,7	5
F	97	150
Hg	<0,001	0,1
Ag	<0,0001	5
Se	0,005	1

Já o ensaio de solubilização (Tabela 4) mostrou que as concentrações de Cd, Pb, Fe, cianetos e cloretos se encontram acima dos limites permitidos pela NBR 10004/2004. Este ensaio é realizado com o intuito de verificar, em situações de contato com água, a capacidade de o resíduo prejudicar seus padrões de potabilidade (ABNT, 1987b).

**Tabela 4** – Ensaio de solubilização do lodo galvânico, em comparação com os limites máximos estabelecidos pela NBR 10004/2004.

Parâmetros	Teores totais (mg L <sup>-1</sup> )	Limite máximo (mg L <sup>-1</sup> )
Al	0,05	0,2
As	0,008	0,01
Ba	0,013	0,7
Cd	10,76	0,005
Pb	0,08	0,01
CN <sup>-</sup>	2,16	0,07
Cl <sup>-</sup>	289	250
Cu	0,001	2
Cr	0,001	0,05
Fenol	0,005	0,01
Fe	0,56	0,3
F	0,54	1,5
Mn	<0,003	0,1
Hg	<0,001	0,001
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	5,08	10
Se	<0,001	0,01
Na	138	200
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	219	250
Zn	3,45	5

## 5.2 EXPERIMENTO I

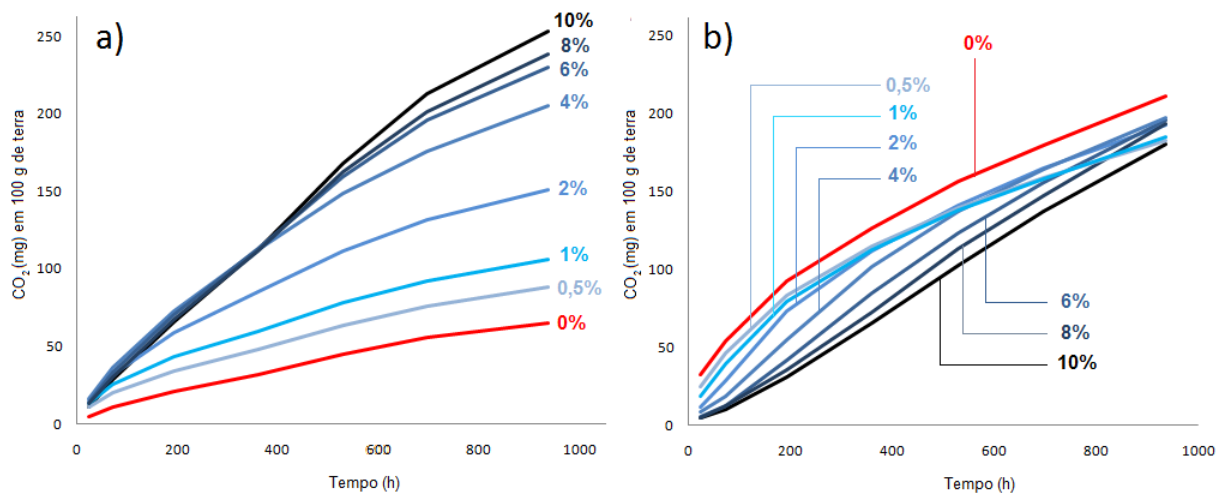
Verificou-se neste experimento que a adição de lodo galvânico ao solo influenciou a atividade microbiana e o desenvolvimento inicial de plântulas de soja nos dois solos testados, porém de formas distintas. Esta diferença foi decorrente das próprias características químicas e granulométricas de cada solo, que podem influenciar a disponibilidade e, conseqüentemente, a toxicidade dos elementos-traço.

De forma geral, o NVef atenuou os efeitos tóxicos do lodo galvânico sobre a atividade microbiana e o desenvolvimento das plantas. Isto provavelmente ocorreu devido ao elevado teor de argila deste solo (80%) e maior CTC ( $12,7 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ), o que implica em maior superfície específica disponível para a adsorção de elementos-traço. Os hidróxidos e oxihidróxidos presentes neste solo, principalmente de Fe, também são capazes de adsorver os elementos-traço (Kabata-Pendias; Pendias, 1992). Este solo também apresenta maior teor de matéria orgânica ( $52 \text{ g kg}^{-1}$ ), cujas frações humificadas possuem sítios capazes de reter cátions, bem como grupos funcionais que formam complexos ou quelatos com os elementos-traço (Abreu *et al.*, 2007). Além disso, o NVef apresenta pH 6, e as reações de precipitação dos elementos-traço são favorecidas por um meio menos ácido. Estes fatores contribuíram para uma menor disponibilização de elementos-traço neste solo, possibilitando maior tolerância tanto de plantas quanto de microrganismos à adição do lodo galvânico.

Por outro lado, o LBa apresentou menor teor de argila (17%), menor CTC ( $7,1 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ) e menor conteúdo de matéria orgânica ( $6,6 \text{ g kg}^{-1}$ ), o que desfavoreceu a adsorção dos elementos-traço. Além disso, o LBa é mais ácido (pH 4,2) que o NVef. Estes fatores contribuíram para uma maior disponibilização dos elementos-traço no solo, aumentando as possibilidades de causar toxicidade às plantas e aos microrganismos.

A produção de  $\text{CO}_2$  em resposta à adição do resíduo comportou-se de maneira distinta em cada um dos solos (Figura 2). No NVef (Figura 2a), o resíduo estimulou a produção de  $\text{CO}_2$  ao longo do período de incubação. Isso pode ter ocorrido porque o estresse causado pelos elementos-traço, embora não tenha atingido uma condição letal, levou os microrganismos a empregarem mais energia para sua manutenção, o que resultou em maior respiração da comunidade

microbiana (Anderson; Domsch, 1993; Fließbach *et al.*, 1994; Leita *et al.*, 1995; Kandeler *et al.*, 1996). O efeito atenuante deste solo, decorrente de sua superfície específica, CTC, matéria orgânica e pH, permitiu a sobrevivência dos microrganismos na presença do lodo galvânico. Já o LBa (Figura 2b) apresentou resultado oposto ao encontrado no NVef. De forma geral, a adição do resíduo inibiu a liberação de CO<sub>2</sub> pela comunidade microbiana do solo. Em comparação com o NVef, o LBa possui propriedades que contribuem para maior disponibilidade e toxicidade de elementos-traço. Embora o resíduo possa estimular a atividade microbiana dentro de certos limites, como observado no NVef, a alta disponibilização de elementos-traço no LBa pode ter ultrapassado os limites de tolerância dos microrganismos, ocasionando a morte celular e a inibição da respiração (Tabela 5).



**Figura 2** – Liberação de CO<sub>2</sub> em 100 g de terra em função do tempo para cada dose de lodo galvânico. a) Nitossolo Vermelho eutroférico; b) Latossolo Bruno álico.

**Tabela 5** – Valores médios de CO<sub>2</sub> liberado pela comunidade microbiana em 100 g de terra em 936 h de incubação, em função de doses de lodo galvânico. NVef: Nitossolo Vermelho eutroférico; LBa: Latossolo Bruno álico.

Respirometria (µg CO <sub>2</sub> desprendido em 100 g de terra em 936 h)											
Solo	Doses de lodo (%)								Média	Regressão	ANAVA
	0	0,5	1	2	4	6	8	10			
NVef	65 b	88 b	106 b	151 b	205 a	230 a	238 a	253 a	167	$y = -2,4x^2 + 42x + 69$ $r^2 = 0,99$	Solo (S): * Lodo (L): *
LBa	211 a	183 a	185 a	193 a	198 a	196 b	193 b	180 b	192	$y = -0,9x + 196$ $r^2 = 0,1$	S x L: *
Média	138	136	145	172	201	213	216	217	-	-	-

Médias seguidas por letras distintas, na mesma dose, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

O lodo galvânico também prejudicou o desenvolvimento das plântulas de soja nos dois solos, como indicado pelos ajustes de regressão linear decrescentes (Tabela 6). Assim como para a atividade microbiana (respirometria), a toxicidade do resíduo foi maior no LBa, no qual a emergência e o crescimento das plantas chegaram a ser quase totalmente inibidos nas doses de 8% e 10% de lodo.

**Tabela 6** – Valores médios de altura de plantas de soja, 15 dias após a emergência, em função das doses de lodo galvânico. NVef: Nitossolo Vermelho eutroférico; LBa: Latossolo Bruno álico.

Altura de plantas (cm)											
Solo	Doses de lodo (%)								Média	Regressão	ANOVA
	0	0,5	1	2	4	6	8	10			
NVef	19 A	18 a	18 a	17 a	17 a	10 a	11 a	7 a	14,7	$y = -1,1x + 19,1$ $r^2 = 0,88$	Solo (S): * Lodo (L): *
LBa	9 B	13 b	9 b	5 b	6 b	4 b	0 b	0 b	5,9	$y = -1,1x + 10,5$ $r^2 = 0,84$	S x L: *
Média	13,9	15,9	13,3	11,3	11,9	6,9	5,8	3,7	-	-	-

Médias seguidas por letras distintas, na mesma dose, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

As plantas cultivadas em ambos os solos apresentaram folhas cloróticas em todos os tratamentos com lodo (Figura 3). Os elementos-traço presentes em maior quantidade no lodo galvânico são o Ni ( $143,13 \text{ g kg}^{-1}$ ), o Cu ( $49,37 \text{ g kg}^{-1}$ ) e o Cr ( $83,5 \text{ g kg}^{-1}$ ). O Ni e o Cu são elementos essenciais às plantas, visto que o Ni tem papel estrutural e funcional em enzimas como a urease (Brown *et al.*, 1987) e o Cu constitui um co-fator essencial de metaloproteínas, além de participar da fotossíntese, respiração mitocondrial e respostas ao estresse oxidativo (Marschner, 1995; Raven *et al.*, 1999). Já o Cr não tem essencialidade comprovada em plantas.



**Figura 3** – Aspecto geral das plantas de soja, 20 dias após a emergência. Da esquerda para a direita: 0%, 0,5%, 1%, 2%, 4%, 6%, 8% e 10% de lodo galvânico (m/m). a) Nitossolo Vermelho eutroférico; b) Latossolo Bruno álico.

Em concentrações elevadas, como as utilizadas neste experimento, estes elementos são prejudiciais às plantas. O Ni pode causar distúrbios no ciclo de Calvin, causando acúmulo de ATP e NADPH, inibindo o transporte de elétrons (Krupa *et al.*, 1993). Em um estudo com plantas de lentilha, Gautam e Pandey (2008) constataram que o excesso de Ni no solo reduziu significativamente a matéria seca, conteúdo de clorofila e a atividade das enzimas catalase e amilase. O Cu pode inibir a atividade de enzimas e causar danos oxidativos, podendo causar clorose e necrose nas folhas das plantas (Marschner, 1995). Já o Cr, embora Mei *et al.* (2002) tenham constatado tolerância de plantas de soja a níveis elevados do elemento, o que levou estes autores a sugerirem o uso da soja na fitorremediação, as plantas ainda podem apresentar sinais de fitotoxicidade, que podem ser acentuados pela presença de outros contaminantes. Em plantas de soja, o Cr pode ocasionar a redução no número e no peso de nódulos de *Bradyrhizobium*, na fixação biológica de N e na absorção de P, K, Ca e Mg (Castilhos *et al.*, 2001), bem como clorose foliar, redução de crescimento e morte das plantas (Mertz, 1969).

Além destes elementos-traço, devem-se considerar também os elementos encontrados em menor quantidade no lodo galvânico, que também

podem exercer efeitos negativos sobre as plantas. Neste ponto, é necessário considerar que também ocorrem efeitos aditivos ou antagônicos dos elementos traço em casos de multicontaminação, como é o caso do lodo galvânico (Fließbach *et al.*, 1994; Welp; Brümmer, 1997). Outro fato importante é que as plantas também podem ter sido afetadas pelo excesso ou deficiência de nutrientes, uma vez que os elementos-traço podem prejudicar a absorção de elementos como Zn, Cu, Fe e Mn por inibição competitiva.

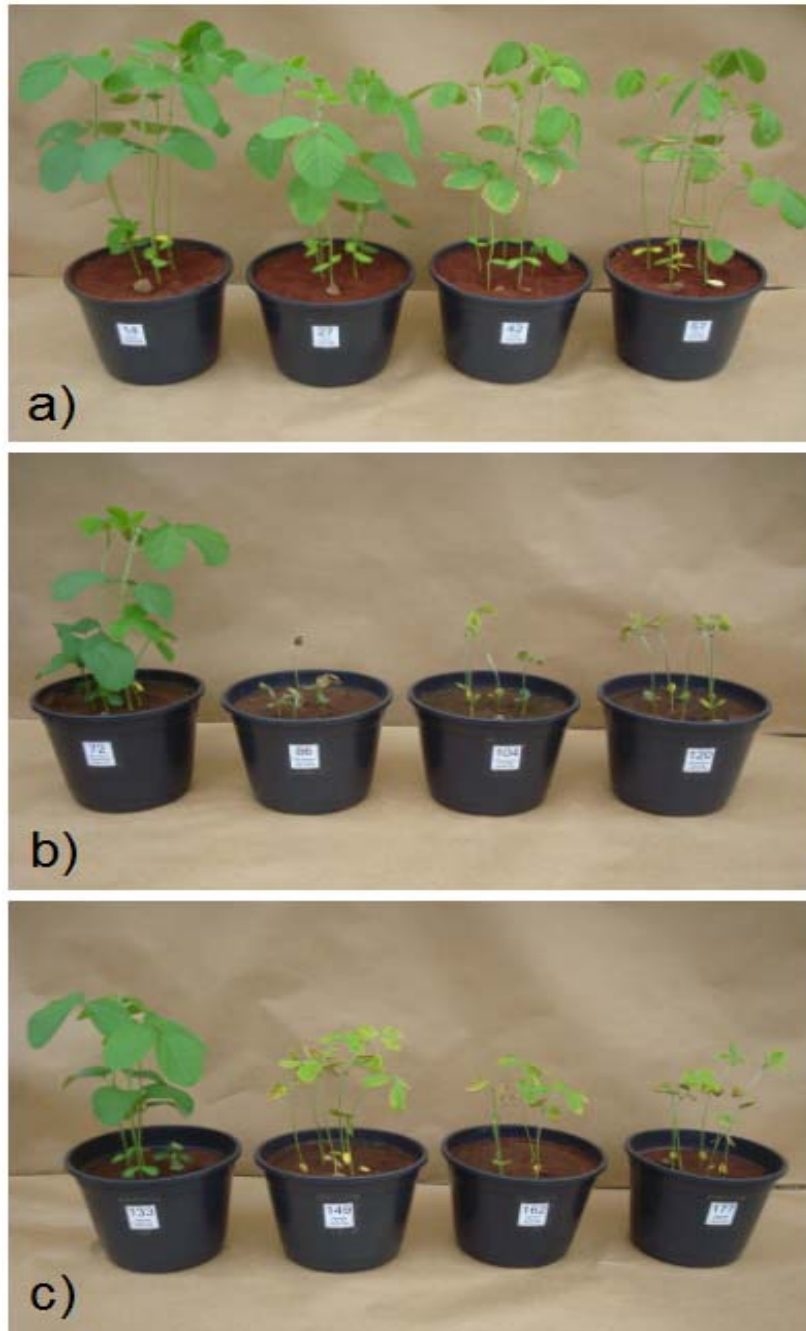
### 5.3 EXPERIMENTO II

No experimento em vasos cultivados com plantas de soja, observou-se que o lodo galvânico prejudicou o desenvolvimento das plantas nos três solos. De forma geral, o aumento das doses ocasionou um decréscimo na produção de massa seca de parte aérea (Tabela 7) e aumentou a letalidade das plantas no LBa e no LVwf (Tabela 8). O aspecto geral das plantas de soja em cada solo pode ser visualizado na Figura 4.

**Tabela 7** – Valores médios de produção de massa seca de parte aérea das plantas de soja na época de formação de vagens, em função das doses de lodo galvânico. NVef: Nitossolo Vermelho eutroférico; LBa: Latossolo Bruno álico; LVwf: Latossolo Vermelho acriférico.

Solo	Doses de lodo (%)				Média	Regressão	ANAVA
	0	0,2	0,4	0,6			
NVef	4,7 c	4,6 a	3,2 a	3,2 a	3,9	$y = -2,9x + 4,8$ $r^2 = 0,83$	Solo (S): *
LBa	6,1 b	0,2 b	0,2 b	0,2 b	1,7	$y = 36,2x^2 - 30,5x + 5,7$ $r^2 = 0,93$	Lodo (L): *
LVwf	9,1 a	0,6 b	0,3 b	0,3 b	2,6	$y = 52,6x^2 - 44,9x + 8,7$ $r^2 = 0,95$	S x L: *
Média	6,6	1,8	1,3	1,2	—		-

Médias seguidas por letras distintas, na mesma dose, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.



**Figura 4** – Aspecto geral das plantas de soja, 15 dias após a sementeira. Da esquerda para a direita: 0%, 0,2%, 0,4% e 0,6% de lodo galvânico (m/m). a) Nitossolo Vermelho eutroférico; b) Latossolo Bruno álico; c) Latossolo Vermelho acriférico.

Assim como observado no Experimento I, as diferentes respostas à adição do resíduo foram decorrentes das características de cada solo, que podem ter determinado diferentes níveis de disponibilização de elementos-traço. O NVeF apresenta fatores que favorecem a imobilização dos elementos-traço. Esta característica levou a uma diminuição gradativa da massa seca da parte aérea de

plantas com o aumento das doses de lodo (Tabela 7), além de possibilitar 100% de sobrevivência de plantas em todos os tratamentos (Tabela 8). Todavia, apesar da menor toxicidade do resíduo, em termos de desenvolvimento das plantas no NVef, observaram-se manchas cloróticas e lesões nas folhas das plantas dos tratamentos com 0,4% e 0,6% de lodo, que constituem sintomas da toxicidade dos elementos-traço presentes no resíduo (Figura 4a)

**Tabela 8** – Sobrevivência das plantas de soja 68 dias após a emergência, em função das doses de lodo galvânico nos três solos estudados.

Solo	Sobrevivência de plantas (%)			
	Doses de lodo (%)			
	0	0,2	0,4	0,6
NVef	100	100	100	100
LBa	100	13	60	90
LVwf	100	93	80	97

Já os solos arenosos (LBa e LVwf) apresentaram características favoráveis à maior disponibilização de elementos-traço, o que resultou em uma redução mais drástica da massa seca da parte aérea das plantas e na morte de plantas. Os efeitos tóxicos do lodo galvânico foram mais acentuados no LBa. Neste solo, as menores doses de lodo foram mais prejudiciais às plantas do que as maiores doses (Figura 4b). Embora aparentemente contraditório, esse comportamento pode ser explicado pelo caráter alcalino do resíduo (pH 9,43). As doses crescentes de lodo aumentaram o pH do solo, o que provavelmente desfavoreceu as reações de disponibilização dos elementos-traço, atenuando sua toxicidade. Por outro lado, as menores doses de lodo não elevaram tanto o pH do solo, o que propiciou maior disponibilidade de elementos-traço nestes tratamentos. Isto também se refletiu na mortalidade de plantas, que foi maior nas menores doses de lodo no LBa (Tabela 8).

No LVwf, as plantas apresentaram comportamento mais próximo ao observado no LBa (Figura 4c). Apesar de o teor de argila do LVwf (13%) ser ainda mais baixo que o do LBa, o LVwf apresentou maior teor de matéria orgânica (25,2 g kg<sup>-1</sup>) e CTC (8,8 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>), além de pH superior ao LBa nos tratamentos com lodo. Devido a estes fatores, a toxicidade dos elementos-traço no LVwf não foi tão acentuada quanto no LBa, possibilitando maior tolerância e sobrevivência de plantas (Tabela 8). Os valores de pH dos solos em função das doses de lodo são indicados

na Tabela 9. Embora o crescimento de plantas possa diminuir o pH do solo, o caráter alcalino do lodo galvânico levou ao aumento do pH nos três solos testados.

**Tabela 9** – Valores médios de pH em função das doses de lodo galvânico nos três solos estudados: NVef: Nitossolo Vermelho eutroférico; LBa: Latossolo Bruno álico; LVwf: Latossolo Vermelho acriférico.

Solo	pH do solo				Média	Regressão	ANAVA
	Doses de lodo (%)						
	0	0,2	0,4	0,6			
NVef	6,0 a	6,5 b	6,9 b	7,1 b	6,6	$y = 1,8x + 6,1$ $r^2 = 0,98$	Solo (S): *
LBa	4,1 c	5,0 c	5,8 c	6,4 c	5,3	$y = 3,8x + 4,2$ $r^2 = 0,99$	Lodo (L): *
LVwf	5,4 b	7,1 a	7,6 a	7,9 a	7,0	$y = -9,4x^2 + 9,7x + 5,4$ $r^2 = 0,99$	S x L: *
Média	5,2	6,2	6,8	7,1	-	-	-

Médias seguidas por letras distintas, na mesma dose, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

O resíduo também se mostrou prejudicial aos fungos micorrízicos. No NVef, houve a diminuição do percentual de colonização micorrízica com o aumento das doses de lodo (Tabela 10), possivelmente pela ação tóxica direta do resíduo sobre os fungos micorrízicos, combinada à diminuição da produção de fitomassa do hospedeiro. Os elementos-traço também podem diminuir a diversidade e a abundância de fungos micorrízicos, prejudicando a simbiose com as plantas (Gildon; Tinker, 1983; Val *et al.*, 1999; Andrade *et al.*, 2004). Nos outros solos não foi possível avaliar as raízes devido à quantidade reduzida de material ou pela morte das plantas.

**Tabela 10** – Valores médios de colonização micorrízica das raízes de soja, em função das doses de lodo galvânico nos três solos estudados: NVef: Nitossolo Vermelho eutroférico; LBa: Latossolo Bruno álico; LVwf: Latossolo Vermelho acriférico.

Solo	Doses de lodo (%)				Média	Regressão	ANOVA
	0	0,2	0,4	0,6			
NVef	60,5	25,0	13,2	3,6	25,6	$y = 162,1x^2 - 188,5x + 59,5$ $r^2 = 0,99$	Solo (S): *
LBa	48,4	-	-	-	-	-	Lodo (L): *
LVwf	6,4	-	-	-	-	-	S x L: *
Média	38,5	-	-	-	-	-	-

A análise do C da biomassa microbiana também indicou o efeito prejudicial do lodo galvânico sobre a comunidade microbiana. De forma geral, o aumento das doses de lodo levou à redução do C da biomassa (Tabela 11), o que pode ter ocorrido devido à toxicidade direta dos elementos-traço sobre os microrganismos. Esse efeito negativo foi constatado em solos com concentrações elevadas de Ni por Moreno *et al.* (2003). A toxicidade dos elementos-traço aumenta a demanda energética para a manutenção e a reparação das células microbianas, o que reduz sua eficiência metabólica e, conseqüentemente, a síntese de constituintes celulares, resultando na diminuição da biomassa microbiana (Anderson, 1994; Fließbach *et al.*, 1994; Barajas Aceves *et al.*, 1999; Chander; Joergensen, 2001).

**Tabela 11** – Valores médios para C da biomassa microbiana e atividade da desidrogenase, em função das doses de lodo galvânico, nos três solos estudados: NVef: Nitossolo Vermelho eutroférico; LBa: Latossolo Bruno álico; LVwf: Latossolo Vermelho acriférico.

C da biomassa microbiana ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )							
Solo	Doses de lodo (%)				Média	Regressão	ANAVA
	0	0,2	0,4	0,6			
NVef	226,2	182,3	186,8	188,1	195,2 b	-	Solo (S): *
LBa	141,8	126,3	131,2	95,9	122,2 c	-	Lodo (L): *
LVwf	464,2	443,4	410,7	391,1	441,6 a	-	S x L: <sup>ns</sup>
Média	277,4	250,6	242,9	225,0	-	$y = - 85,6x + 278,7$ $r^2 = 0,86$	-
Atividade da desidrogenase ( $\mu\text{g TPF g}^{-1}$ dia a 37 °C)							
Solo	Doses de lodo (%)				Média	Regressão	ANAVA
	0	0,2	0,4	0,6			
NVef	17,1 a	15,3 a	10,9 a	9,3 a	13,2	$y = - 13,8x + 17,3$ $r^2 = 0,96$	Solo (S): *
LBa	3,8 c	4,5 b	2,6 b	2,2 b	3,3	$y = - 3,4x + 4,3$ $r^2 = 0,67$	Lodo (L): *
LVwf	11,5 b	2,8 b	2,2 b	2,1 b	4,7	$y = 53,7x^2 - 46,6x + 11,1$ $r^2 = 0,95$	S x L: *
Média	10,8	7,5	5,3	4,6	-	-	-

Médias seguidas por letras distintas, na mesma dose, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

No entanto, resultados obtidos por Espírito-Santo (2004) indicaram maiores teores de C da biomassa microbiana em áreas com maior contaminação por elementos-traço, ao passo que a atividade microbiana se mostrou prejudicada. Isto pode ocorrer devido aos nutrientes presentes no resíduo, que podem favorecer o crescimento microbiano e a produção de biomassa (Haider *et al.*, 1991). Além disso, outros estudos mostraram que a contaminação do solo pode não causar alteração no C da biomassa microbiana (Chander; Brookes, 1993; Chander *et al.*, 1995).

Assim, o C da biomassa microbiana, isoladamente, pode levar a interpretações equivocadas do impacto de elementos-traço no solo. A biomassa microbiana deve ser considerada juntamente com dados referentes à atividade microbiana do solo, como enzimas, que têm sido usadas como indicadores de contaminação do solo por elementos-traço (Gianfreda *et al.*, 2005).

De forma geral, o aumento das doses de lodo levou à redução da atividade da desidrogenase (Tabela 11). Esta enzima participa da cadeia de

transporte de elétrons, podendo ser utilizada como indicadora da atividade metabólica dos microrganismos do solo (Casida *et al.*, 1964). A adição de lodo galvânico afetou negativamente a atividade da enzima, porém de forma distinta para cada solo. No Nvef, apesar da toxicidade dos elementos-traço, a atividade da enzima foi maior que nos outros solos em todos os tratamentos devido à maior atividade intrínseca da desidrogenase neste solo. A atividade da enzima no LBa foi a mais baixa entre os três solos, inclusive no controle. Com a adição do lodo, houve uma diminuição gradativa da atividade neste solo. Já no LVwf, a atividade no controle foi intermediária em relação aos outros solos, mas caiu drasticamente com a adição do resíduo.

Além de a atividade desta enzima estar relacionada à atividade metabólica, a interação entre os tipos de solo e as doses de lodo foi significativa para esta análise, ou seja, a resposta da enzima à contaminação por elementos-traço foi diferente entre os tipos de solo. Neste caso, pode-se considerar que a desidrogenase constituiu um indicador mais sensível do que a biomassa microbiana. Isto pode ser vantajoso, visto que a mensuração da atividade da desidrogenase é relativamente fácil e rápida, podendo ser empregada para o monitoramento da atividade metabólica microbiana em áreas contaminadas. Em áreas industriais contaminadas com Ni, Zn, Cd e Pb, Tyler (1981) também observou correlação negativa entre a concentração de metais e a atividade da desidrogenase.

#### 5.4 EXPERIMENTO III

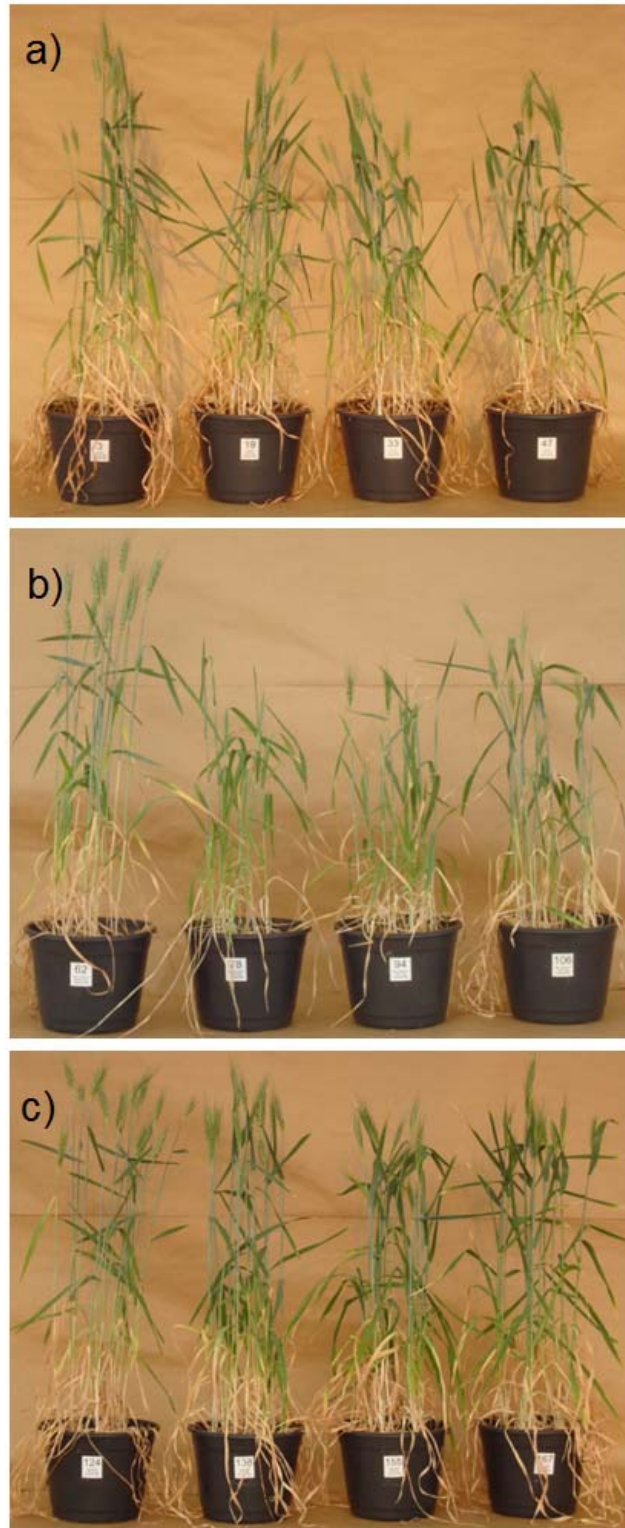
No experimento com trigo, cultivado no mesmo solo em sucessão à cultura da soja, o lodo galvânico também prejudicou o desenvolvimento das plantas, reduzindo a produção de massa seca de parte aérea, de espigas e de raízes (Tabela 12). A adição do resíduo diminuiu a massa seca da parte aérea e de espigas em todos os solos, porém de forma mais drástica no LBa, provavelmente devido à maior disponibilidade dos elementos-traço neste solo. No entanto, neste solo, um ajuste de regressão quadrático indicou queda da produção do controle para a primeira dose, mas um aumento da fitomassa nas demais doses. Para os demais solos (Nvef e LVwf), houve apenas uma diminuição da massa das plantas seguindo um modelo linear. O efeito negativo do lodo sobre as plantas de trigo foi menos evidente que os

observados para as plantas de soja cultivadas anteriormente. O aspecto geral das plantas de trigo em função das doses de lodo pode ser observado na Figura 5.

**Tabela 12** – Valores médios para produção de massa seca de parte aérea, de espigas e de raízes das plantas de trigo na época de espigamento, em função das doses de lodo galvânico, nos três solos estudados: NVef: Nitossolo Vermelho eutroférico; LBa: Latossolo Bruno álico; LVwf: Latossolo Vermelho acriférico.

Massa seca de parte aérea (g)							
Solo	Doses de lodo (%)				Média	Regressão	ANAVA
	0	0,2	0,4	0,6			
NVef	12,7 b	12,5 b	10,8 b	10,1 b	11,5	$y = -4,7x + 12,9$ $r^2 = 0,93$	Solo (S): *
LBa	12,2 b	3,9 c	5,4 c	8,0 c	7,4	$y = 67,2x^2 - 45,8x + 11,7$ $r^2 = 0,90$	Lodo (L): *
LVwf	14,6 a	14,0 a	13,2 a	13,1 a	13,7	$y = -2,7x + 14,5$ $r^2 = 0,92$	S x L: *
Média	13,2	10,1	9,8	10,4	-	-	-
Massa seca de espigas (g)							
Solo	Doses de lodo (%)				Média	Regressão	ANAVA
	0	0,2	0,4	0,6			
NVef	3,4 c	3,4 a	1,9 a	1,8 b	2,6	$y = -3,2x + 3,6$ $r^2 = 0,84$	Solo (S): *
LBa	5,2 a	0,3 b	0,5 b	1,2 b	1,8	$y = 34,5x^2 - 26,6x + 4,9$ $r^2 = 0,94$	Lodo (L): *
LVwf	4,4 b	3,4 a	2,3 a	2,7 a	3,2	$y = 8,6x^2 - 8,3x + 4,5$ $r^2 = 0,95$	S x L: *
Média	4,3	2,4	1,6	1,9	-	-	-
Massa seca de raízes (g)							
Solo	Doses de lodo (%)				Média	Regressão	ANAVA
	0	0,2	0,4	0,6			
NVef	2,2 b	1,9 b	2,3 b	2,4 c	2,2	ns	Solo (S): *
LBa	3,6 a	1,5 b	1,7 b	3,6 b	2,6	$y = 24,9x^2 - 14,8x + 3,5$ $r^2 = 0,99$	Lodo (L): *
LVwf	3,2 a	4,8 a	3,5 a	4,7 a	4,1	$y = 1,6x + 3,6$ $r^2 = 0,25$	S x L: *
Média	2,9	2,8	2,5	3,6	-	-	-

Médias seguidas por letras distintas, na mesma dose, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.



**Figura 5** – Aspecto geral das plantas de trigo, 90 dias após a semeadura. Da esquerda para a direita: 0%, 0,2%, 0,4% e 0,6% de lodo galvânico (m/m) nos três solos estudados: NVeF: Nitossolo Vermelho eutroférico; LBa: Latossolo Bruno álico; LVwf: Latossolo Vermelho acriférico.

No NVEf, a adição de lodo galvânico levou à diminuição gradativa das massas secas da parte aérea e de espigas, sugerindo o atraso no desenvolvimento das plantas. No LBA, observaram-se efeitos tóxicos mais acentuados, no mesmo padrão observado no experimento com soja, em que as plantas foram mais afetadas nos tratamentos com as menores concentrações de lodo, enquanto os efeitos negativos diminuíram nas maiores doses. Assim como observado no cultivo de soja, devido ao caráter alcalino do lodo galvânico, é provável que o aumento do pH nas maiores doses tenha propiciado menor disponibilidade e, conseqüentemente, menor toxicidade dos elementos-traço. Já as plantas cultivadas no LVwf tiveram maior desenvolvimento da parte aérea em relação às cultivadas nos outros solos. Além disso, o comportamento das plantas cultivadas neste solo, que se assemelhava ao do LBA no experimento com soja, passou a apresentar respostas semelhantes ao NVEf no experimento com trigo, com um decréscimo gradativo da fitomassa.

Embora os valores de pH do solo tenham se mantido semelhantes aos do experimento com soja (Tabela 13), os efeitos tóxicos do lodo galvânico foram menores nas plantas de trigo em comparação com a soja, chegando a estimular a produção de matéria seca de raízes, que aumentou linearmente com as doses de lodo. No Experimento III, a adição de lodo não causou a morte de plantas. Essa diferença pode ser atribuída à maior resistência desta espécie vegetal ao excesso de elementos-traço. Espécies distintas de plantas apresentam diferentes respostas a níveis de metais no solo, visto que podem apresentar comportamento fisiológico diferenciado (Siqueira *et al.*, 1994; Whiting *et al.*, 2004; Xiao *et al.*, 2008), de modo que algumas apresentam maior tolerância e outras são suscetíveis, podendo culminar na morte da planta (Paiva *et al.*, 2002). Essa diferença também pode ter ocorrido devido ao tempo decorrido entre a aplicação do lodo galvânico e o desenvolvimento das plantas, pois, uma vez incorporados, os elementos-traço são mobilizados pelas frações do solo, de forma distinta para cada tipo de solo. Chen *et al.* (2008) constataram inibição do crescimento de plântulas de trigo em solos ácidos contaminados com Cr, enquanto esse efeito não foi observado em solos alcalinos. Gajewaska *et al.* (2006) verificaram redução da atividade metabólica e da absorção de água e de nutrientes de plantas de trigo cultivadas em solos contaminados com Ni.

**Tabela 13** – Valores médios de pH dos solos em função das doses de lodo galvânico nos três solos estudados: NVef: Nitossolo Vermelho eutroférico; LBa: Latossolo Bruno álico; LVwf: Latossolo Vermelho acriférico.

Solo	Doses de lodo (%)				Média	Regressão	ANAVA
	0	0,2	0,4	0,6			
NVef	6,2 a	6,5 b	6,8 b	7,0 b	6,6	$y = - 1,1x^2 + 2,2x + 6,2$ $r^2 = 0,99$	Solo (S): *
LBa	4,2 b	4,8 c	5,6 c	6,3 c	5,2	$y = 3,6x + 4,2$ $r^2 = 0,99$	Lodo (L): *
LVwf	6,1 a	7,3 a	7,8 a	7,9 a	7,3	$y = - 6,8x^2 + 7,1x + 6,1$ $r^2 = 0,99$	S x L: *
Média	5,5	6,2	6,8	7,1	-	-	-

Médias seguidas por letras distintas, na mesma dose, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

O percentual de colonização micorrízica no tratamento sem lodo galvânico foi menor nas raízes de trigo em relação às raízes de soja. No entanto, a associação nas raízes de trigo foi menos prejudicada pela adição de lodo galvânico, visto que no NVef, a redução da colonização na maior dose de lodo foi de 94% na soja e 51% no trigo (Tabela 14). Esta diferença pode ser decorrente da perda de toxicidade devido ao primeiro cultivo e da maior capacidade da rizosfera do trigo de reduzir a solubilidade de elementos-traço, devido aos processos de oxirredução e formação de complexos (Baker; Brooks, 1989). Embora os elementos-traço geralmente reduzam a germinação de esporos e a colonização micorrízica das raízes (Nogueira, 1996), algumas espécies podem ser favorecidas em ambientes contaminados e atuar como agentes protetores, podendo diminuir a absorção de elementos tóxicos pelas plantas (Dueck *et al.*, 1986; Weissenhorn *et al.*, 1995; Leyval *et al.*, 1997) ou atenuar o desbalanço nutricional causado pelo excesso de elementos-traço no solo (Siqueira *et al.*, 1999). A colonização micorrízica também foi influenciada pelo tipo de solo, sendo os menores valores observados nas plantas cultivadas no LVwf, que por sua vez apresentou os teores mais elevados de P disponível (Tabela 15) mesmo no controle, aumentando com a adição do lodo galvânico. É conhecido o fato de que a alta disponibilidade de P é um dos principais fatores que afetam negativamente a colonização micorrízica (Siqueira *et al.*, 1994; Smith e Read, 1997), o que pode auxiliar a justificar os menores valores de

colonização observados no LVwf. O lodo galvânico não afetou os teores de P disponível no NVef e no LBa.

**Tabela 14** – Valores médios de colonização micorrízica das raízes de trigo, em função das doses de lodo galvânico, nos três solos estudados: NVef: Nitossolo Vermelho eutroférico; LBa: Latossolo Bruno álico; LVwf: Latossolo Vermelho acriférico.

Colonização micorrízica (%)							
Solo	Doses de lodo (%)				Média	Regressão	ANOVA
	0	0,2	0,4	0,6			
NVef	11,7	5,9	6,8	5,7	7,5 a	-	Solo (S): *
LBa	11,8	6,2	6,4	3,9	7,1 a	-	Lodo (L): *
LVwf	5,2	3,9	3,3	3,1	3,9 b	-	S x L: <sup>ns</sup>
Média	9,6	5,3	5,5	4,3	-	$y = 18,9x^2 - 19,3x + 9,3$ $r^2 = 0,90$	-

Médias seguidas por letras distintas, na mesma dose, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

**Tabela 15** – Valores médios de P disponível no solo, em função das doses de lodo galvânico, nos três solos estudados: NVef: Nitossolo Vermelho eutroférico; LBa: Latossolo Bruno álico; LVwf: Latossolo Vermelho acriférico.

P disponível no solo (mg dm <sup>-3</sup> )							
Solo	Doses de lodo (%)				Média	Regressão	ANOVA
	0	0,2	0,4	0,6			
NVef	15,5 c	17,2 b	16,2 b	15,6 b	16,1	ns	Solo (S): *
LBa	21,8 b	18,5 b	17,4 b	17,2 b	18,7	ns	Lodo (L): *
LVwf	50,8 a	59,5 a	62,7 a	65,6 a	59,6	$y = 23,8x + 52,5$ $r^2 = 0,92$	S x L: *
Média	29,4	31,6	32,1	32,8	-	-	-

Médias seguidas por letras distintas, na mesma dose, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

De forma geral, as atividades das enzimas analisadas neste trabalho foram prejudicadas pela adição do lodo galvânico. Diversos estudos demonstraram que o aumento da concentração de elementos-traço no solo reduz a atividade enzimática (Tyler, 1974; Karaca *et al.*, 2002; Kizilkaya, 2004; Moreno *et al.*, 2009). Esse efeito prejudicial pode ser explicado pela inibição ou inativação da enzima pelos elementos-traço, pela alteração na comunidade de microrganismos que

sintetizam as enzimas ou pela combinação desses fatores (Nannipieri, 1994; Kandeler *et al.*, 2000). Wyszowska *et al.* (2006) constataram que as fosfatases ácida e alcalina são mais tolerantes à contaminação por Cu, Zn, Ni e Pb em relação à desidrogenase ou à urease. Estes autores sugerem a sensibilidade de algumas enzimas ao excesso de elementos-traço na seguinte ordem: desidrogenase > urease > fosfatase alcalina > fosfatase ácida. As atividades das enzimas avaliadas neste trabalho variaram de acordo com as doses do lodo galvânico e os tipos de solo, os quais podem apresentar diferentes atividades intrínsecas dessas enzimas. As atividades da fosfatase ácida, da fosfatase alcalina, da desidrogenase e da urease são indicadas na Tabela 16.

**Tabela 16** – Valores médios das atividades da desidrogenase, da fosfatase ácida e da fosfatase alcalina, em função das doses de lodo galvânico, nos três solos estudados: NVef: Nitossolo Vermelho eutroférico; LBa: Latossolo Bruno álico; LVwf: Latossolo Vermelho acriférico.

Atividade da fosfatase ácida ( $\mu\text{g pNF g}^{-1} \text{h}^{-1}$ a 37 °C)							
Solo	Doses de lodo (%)				Média	Regressão	ANOVA
	0	0,2	0,4	0,6			
NVef	194,0 c	141,0 b	122,8 b	100,1 b	139,5	$y = 189,3x^2 - 263,5x + 192$ $r^2 = 0,98$	Solo (S): *
LBa	268,1 b	234,9 a	206,3 a	157,6 a	216,8	$y = -97,8x^2 - 121,4x + 266,9$ $r^2 = 0,99$ conferir	Lodo (L): *
LVwf	331,9 a	41,8 c	40,5 c	21,1 c	108,9	$y = 1692x^2 - 1482x + 316,6$ $r^2 = 0,93$	S x L: *
Média	264,7	139,2	123,2	92,9	-	-	-
Atividade da fosfatase alcalina ( $\mu\text{g pNF g}^{-1} \text{h}^{-1}$ a 37 °C)							
Solo	Doses de lodo (%)				Média	Regressão	ANOVA
	0	0,2	0,4	0,6			
NVef	153,3 a	134,2 a	123,4 a	110,1 a	130,2	$y = -70,3x + 151,3$ $r^2 = 0,99$	Solo (S): *
LBa	21,9 b	32,9 b	35,9 b	55,4 b	36,5	$y = 51,8x + 21$ $r^2 = 0,92$	Lodo (L): ns
LVwf	26,1 b	25,5 b	41,2 b	34,9 c	31,9	$y = 20,9x + 25,7$ $r^2 = 0,52$	S x L: *
Média	67,1	64,2	66,8	66,8	-	-	-
Atividade da desidrogenase ( $\mu\text{g TPF } \mu\text{g}^{-1} \text{dia}$ a 37 °C)							
Solo	Doses de lodo (%)				Média	Regressão	ANOVA
	0	0,2	0,4	0,6			
NVef	10,9 b	9,5 a	5,5 a	3,4 a	7,3	$y = -13,2x + 11,3$ $r^2 = 0,97$	Solo (S): *
LBa	3,7 c	3,0 b	3,0 b	2,1 ab	2,9	ns	Lodo (L): *
LVwf	18,0 a	2,4 b	1,3 c	0,8 b	5,6	$y = 94,8x^2 - 83,3x + 17,3$ $r^2 = 0,95$	S x L: *
Média	10,9	4,9	3,3	2,1	-	-	-
Atividade da urease ( $\mu\text{g N g}^{-1} \text{h}^{-1}$ a 37°C)							
Solo	Doses de lodo (%)				Média	Regressão	ANOVA
	0	0,2	0,4	0,6			
NVef	71,9	65,1	59,1	53,4	62,4 a	-	Solo (S): *
LBa	44,8	20,4	29,5	31,6	31,6 b	-	Lodo (L): *
LVwf	41,9	33,2	26,9	20,5	30,6 b	-	S x L: ns
Média	52,9	39,6	38,5	35,2	-	$y = 62,5x^2 - 64,7x + 52,2$ $r^2 = 0,94$	

Médias seguidas por letras distintas, na mesma dose, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

A fosfatase ácida, que pode ter origem animal, vegetal ou microbiana, atua na hidrólise de fosfatos mono e diésteres, contribuindo para a disponibilização de fosfato às plantas e microrganismos (Amador *et al.*, 1997). Sua atividade é geralmente estimulada no solo com baixos teores de P disponível a fim de aumentar a absorção deste nutriente (Makoi; Ndakidemi, 2008). Neste trabalho, verificou-se que o aumento das doses de lodo galvânico reduziu a atividade da fosfatase ácida nos três solos (Tabela 16), o que também foi observado nos trabalhos de Carneiro *et al.* (2003), Moreno *et al.* (2003) e Revoredo e Melo (2007). Isto pode ter ocorrido porque a atividade da fosfatase ácida é favorecida em solos mais ácidos (Dick, 1994), de forma que o aumento do pH ocasionado pela adição de lodo levou à redução da atividade desta enzima. Não se pode descartar, também, o efeito negativo direto dos elementos-traço, que podem inativar a enzima. No NVef e no LBa, a adição do resíduo levou a uma diminuição gradativa da atividade da fosfatase ácida. Já no LVwf, a atividade da enzima no tratamento sem lodo foi maior que nos outros solos, mas caiu drasticamente a partir da primeira dose do resíduo, possivelmente devido à maior elevação do pH ocorrida neste solo, combinada à inativação enzimática causada pelos elementos-traço.

A atividade da fosfatase alcalina, produzida por fungos e bactérias do solo (Dakora; Phillips, 2002), foi influenciada pela adição de lodo galvânico diferencialmente entre os tipos de solo (Tabela 16). No Nvef, houve efeito inibitório da enzima, possivelmente pela toxicidade do lodo galvânico sobre estes microrganismos e pela inativação enzimática causada pelos elementos-traço. Gülser e Erdogan (2007) encontraram correlações negativas entre a atividade da fosfatase alcalina e o teor de Ni e Fe, elementos presentes no lodo galvânico. Este resultado também corrobora estudos com solos contaminados com Ni (Kuperman; Carreiro, 1997; Revoredo; Melo, 2007), Pb (Andrade; Silveira, 2004), Cu (Wang *et al.*, 2007), As e Cd (Lorenz *et al.*, 2006), que mostraram que a atividade desta enzima é inibida na presença dos elementos-traço. No entanto, o lodo galvânico estimulou a atividade da fosfatase alcalina no LBa e no LVwf. Este efeito permite supor que o aumento do pH é estimulante à atividade da enzima quando esta é naturalmente baixa no solo, como pode ser observado neste caso, em que a atividade da enzima no tratamento controle do LBa e do LVwf é cerca de 7 e 6 vezes menor que no Nvef, respectivamente. Moreno *et al.* (2003) consideraram a fosfatase a enzima mais

sensível para a avaliação de solos contaminados com elementos-traço, em relação à urease,  $\beta$  glucosidase e protease.

A atividade da desidrogenase diminuiu gradativamente no NVef e de forma mais drástica no LVwf com o aumento das doses de lodo. Estes resultados também enfatizam o efeito negativo do aumento da contaminação do solo com lodo galvânico, porém seu efeito depende das condições do solo. Já o LBa apresentou a menor atividade da enzima entre os três solos, mesmo no controle, assim como observado no experimento com soja, o que indica baixa atividade intrínseca da desidrogenase neste solo. Nestas condições, a atividade da enzima não foi significativamente afetada pela adição do resíduo.

A adição do lodo também afetou a atividade da urease, embora não se tenha observado interação significativa entre os tipos de solo e as doses de lodo. As maiores atividades da urease foram observadas no NVef, possivelmente devido à maior atividade intrínseca desta enzima neste solo. No LBa, as menores doses de lodo foram mais prejudiciais que as maiores doses, assim como observado para a produção de fitomassa do trigo. Embora um dos componentes do lodo galvânico, o Ni, seja parte do sítio ativo da urease (Malavolta *et al.*, 2006), a alta concentração deste e dos demais elementos-traço pode ter contribuído para a morte de células e a inativação da enzima. A inibição da atividade da urease por elementos-traço foi constatada nos trabalhos de Carneiro *et al.* (2003), Moreno *et al.* (2003) e Revoredo e Melo (2007).

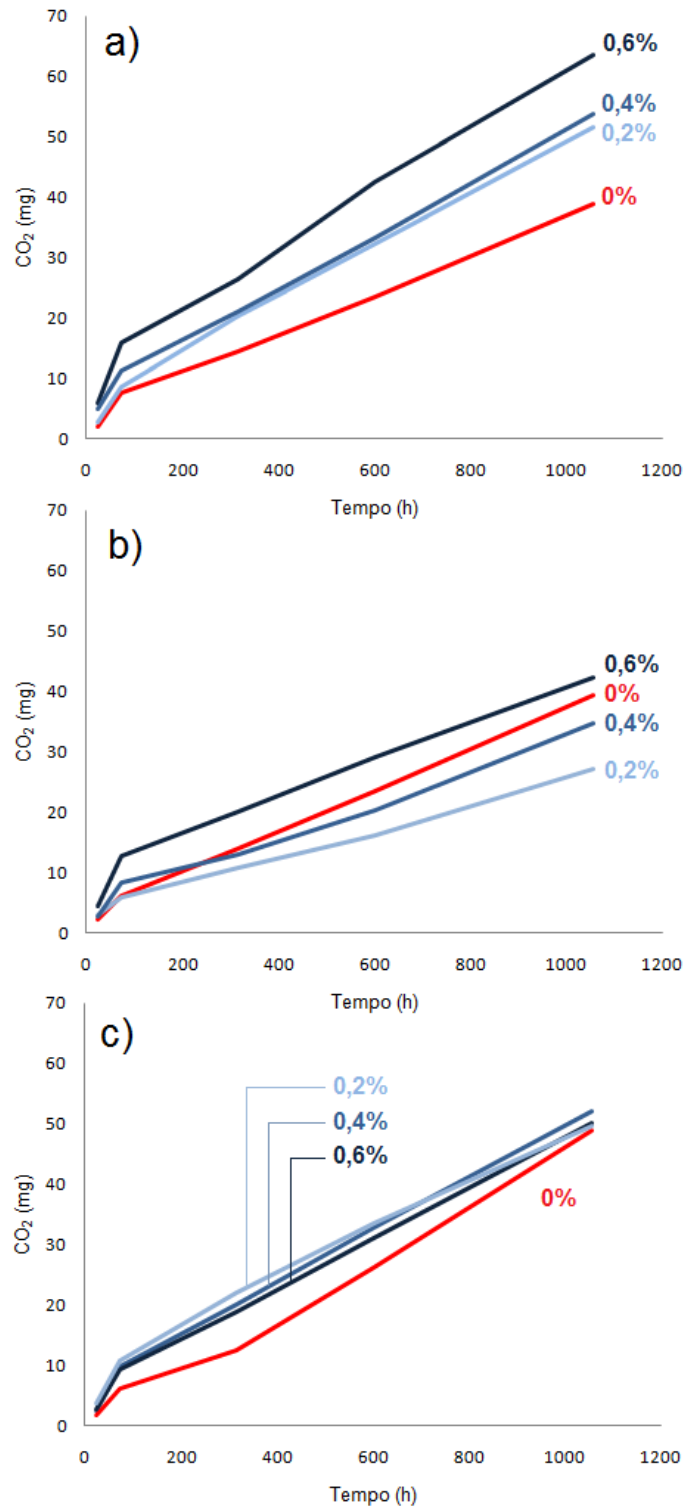
A biomassa microbiana, tanto de C quanto de N, sofreu maiores efeitos negativos no LVwf (Tabela 17). A redução da biomassa pode ter sido causada pelos efeitos tóxicos dos elementos-traço sobre a comunidade microbiana, que prejudicam o metabolismo dos microrganismos e, por conseguinte, a síntese de componentes celulares (Anderson, 1994; Chander; Joergensen, 2001). A biomassa microbiana foi negativamente influenciada pela presença de elementos-traço (Carneiro *et al.*, 2003), como Ni (Berton *et al.*, 2006; Revoredo; Melo, 2007) e Cu (Merrington *et al.*, 2002).

**Tabela 17** – Valores médios para C da biomassa, em função das doses de lodo galvânico, nos três solos estudados: NVef: Nitossolo Vermelho eutroférico; LBa: Latossolo Bruno álico; LVwf: Latossolo Vermelho acriférico.

C da biomassa microbiana ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )							
Solo	Doses de lodo (%)				Média	Regressão	ANOVA
	0	0,2	0,4	0,6			
NVef	209,4 a	213,2 a	197,4 a	190,4 a	202,6	ns	Solo (S): *
LBa	91,0 b	92,9 b	98,8 b	88,4 b	92,8	ns	Lodo (L): *
LVwf	166,4 a	179,2 a	94,0 b	49,7 b	122,3	$y = -217,6x + 187,6$ $r^2 = 0,84$	S x L: *
Média	155,6	161,8	130,1	109,5	-	-	-
N da biomassa microbiana ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )							
Solo	Doses de lodo (%)				Média	Regressão	ANOVA
	0	0,2	0,4	0,6			
NVef	29,0 a	24,9 a	16,0 a	13,9 a	20,9	$y = -27,1x + 29,1$ $r^2 = 0,95$	Solo (S): *
LBa	9,5 b	8,7 b	6,9 a	14,8 a	10,0	ns	Lodo (L): *
LVwf	28,1 a	19,1 ab	12,1 a	7,2 a	16,6	$y = -34,8x + 27,0$ $r^2 = 0,98$	S x L: *
Média	22,2	17,6	11,7	11,9	-	-	-

Médias seguidas por letras distintas, na mesma dose, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

A produção de  $\text{CO}_2$  pelos microrganismos do solo pode constituir um bom indicador da contaminação do solo por elementos-traço (Vanhala; Ahtiainen, 1994; Zimakowska-Gnoinska *et al.*, 1999). Dumontet *et al.* (1992), ao estudar áreas contaminadas com Cu, Zn, Ni, Cd e Pb, verificaram que a respiração apresentou maior sensibilidade à contaminação em comparação à fosfatase ácida. No entanto, como observado no Experimento I, a atividade microbiana varia de acordo com as características do solo e o grau de toxicidade dos elementos-traço, de modo que a respiração pode ser estimulada, inibida ou até mesmo não ser influenciada pela contaminação (Doelman; Haanstra, 1984; Brookes *et al.*, 1986; Fließbach *et al.*, 1994; Insam *et al.*, 1996). Neste caso, a adição de lodo galvânico ao NVef estimulou a taxa de liberação de  $\text{CO}_2$  do NVef (Figura 6a; Tabela 20), assim como ocorreu no Experimento I, porém os efeitos do lodo galvânico não foram significativos no LBa e no LVwf (Figuras 6b e 6c; Tabela 20).



**Figura 6** – Liberação de CO<sub>2</sub> em 100 g de terra em função do tempo para cada dose de lodo galvânico. a) Nitossolo Vermelho eutroférico; b) Latossolo Bruno álico; c) Latossolo Vermelho acriférico.

**Tabela 18** – Valores médios de CO<sub>2</sub> liberado por 100 g de terra em 1056 h de incubação, em função das doses de lodo galvânico, nos três solos estudados: NVef: Nitossolo Vermelho eutroférico; LBa: Latossolo Bruno álico; LVwf: Latossolo Vermelho acriférico.

Respirometria (µg CO <sub>2</sub> desprendido em 100 g de solo em 1056 h)							
Solo	Doses de lodo (%)				Média	Regressão	ANOVA
	0	0,2	0,4	0,6			
NVef	38,9 a	51,5 a	53,8 a	63,5 a	51,9	$y = 38,1x + 40,5$ $r^2 = 0,94$	Solo (S): *
LBa	39,3 a	27,0 b	34,7 b	42,2 b	35,8	ns	Lodo (L): *
LVwf	48,9 a	49,6 a	52,2 a	50,2 ab	50,2	ns	S x L: *
Média	42,4	42,7	46,9	52,0	-	-	-

Médias seguidas por letras distintas, na mesma dose, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

## CONCLUSÕES

1) De forma geral, a adição de lodo galvânico ao solo prejudicou as plantas de soja e de trigo cultivados em sucessão, bem como a comunidade microbiana avaliada no solo após cada cultura.

2) Os efeitos da contaminação por lodo galvânico foram distintos para cada tipo de solo. Solos arenosos (Latosolo Bruno álico e Latossolo Vermelho acriférico) sofreram maiores efeitos negativos da contaminação em relação ao solo argiloso (Nitossolo Vermelho eutroférico). Isto pode sugerir estratégias de manejo de solos visando à prevenção de efeitos adversos de sua contaminação, em que maiores cuidados devem ser dados aos solos arenosos, devido à maior susceptibilidade destes aos efeitos prejudiciais da contaminação sobre suas funções, sobretudo de origem (micro) biológica.

3) As plantas de trigo cultivadas em sucessão se mostraram mais tolerantes à contaminação do solo por lodo galvânico do que as plantas de soja.

4) A atividade das enzimas desidrogenase, fosfatase ácida e fosfatase alcalina foram indicadores mais sensíveis à contaminação do solo por lodo galvânico em relação à urease.

5) Estudos mais detalhados devem ser realizados para se avaliar qual é a disponibilidade de elementos-traço no solo contaminado com lodo galvânico, bem como a absorção e acúmulo destes nas plantas.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, C. A.; LOPES, A. S.; SANTOS, G. Micronutrientes. In: NOVAIS, R. F.; ALVARES, V. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CARTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (Ed.). **Fertilidade do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p.645-736.
- AGUILAR, J.; DORRONSORO, C.; GÓMEZ-ARIZ, J. L.; GALAN, E. Los criterios y estandares para declarar un suelo contaminado en Andalucía y la metodología y técnicas de toma de muestras y analisis para su investigacion. S, **Investigacion y desarrollo medioambiental en Andalucía**, Universidad de Sevilla, 1999.
- ALEF, K. Soil respiration. In: ALEF, K.; NANNIPIERI, P. **Methods in applied soil microbiology and biochemistry**. London: Academic Press, 1995. p.214-219.
- ALLOWAY, B. J. **Heavy metals in soils**. New York: John Wiley & Sons, 1990.
- AMADOR, J. A.; GLUCKSMAN, A. M.; LYONS, J. B.; GORRES, J. H. Spatial distribution of soil phosphatase activity within a riparian forest. **Soil Science**, 162, p.808-825, 1997.
- ANDERSON, T. H. Physiological analysis of microbial communities in soil: applications and limitations. In: RITZ, K. D.; GILLER, K. E. (Ed.). **Beyond the biomass**. London: British Society of Soil Science, 1994. p.67-76.
- ANDERSON, J. D.; INGRAM, J. S. I. **Tropical soil biology and fertility: A handbook of methods**. Wallingford, CAB International, 1996.
- ANDERSON, T. H.; DOMSCH, K. H. The metabolic quotient for CO<sub>2</sub> (qCO<sub>2</sub>) 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**, v.25, n.3, p.393-395, 1993.
- ANDRADE, S.A.L.; ABREU, C.A.; ABREU, M.F.; SILVEIRA, A.P.D. Influence of lead additions on arbuscular mycorrhiza and Rhizobium symbioses under soybean plants. **Applied Soil Ecology**, v.26, p.123-131, 2004.
- ANDRADE, S. A. L.; SILVEIRA, A. P. D. Biomassa e atividade microbianas do solo sob influência de chumbo e da rizosfera da soja micorrizada **Pesq. agropec. bras.**, v.39, n.12, p.1191-1198, 2004.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR ISO 10.004: **Resíduos sólidos: classificação**. Rio de Janeiro: ABNT, 2004.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 10.005: **Lixiviação de resíduos: procedimento**. Rio de Janeiro: ABNT, 1987a.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 10.006: **Solubilização de resíduos: procedimento**. Rio de Janeiro: ABNT, 1987b.

BAKER, A. J. M.; BROOKES, R. R. Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements - a review of their distribution, ecology and phytochemistry. **Biorecovery**, v.1, p.81-126, 1989.

BARAJAS ACEVES, M.; GRACE, C.; ANSORENA, J.; DENDOOVEN, L.; BROOKES, P. C. Soil microbial biomass and organic C in a gradient of zinc concentrations in soils around a mine spoil tip. **Soil Biology and Biochemistry**, v.31, p.867-876, 1999.

BARTLETT, R. J.; ROSS, D. S. Colorimetric determination of oxidizable carbon in acid soil solutions. **Soil Science Society of America Journal**. v.52, p.1191-1192, 1988.

BERTON, R. S.; PIRES, A. M. M.; ANDRADE, S. A. L.; ABREU, C. A.; AMBROSANO, E. J.; SILVEIRA, A. P. D. Toxicidade do níquel em plantas de feijão e efeitos sobre a microbiota do solo. **Pesq. agropec. bras.**, v.41, n.8, p.1305-1312, 2006.

BIBAK, A. Cobalt, copper and manganese adsorption by aluminum and iron oxides and humic acid. **Commun. Soil Sci. Plant Anal.**, v.25, p.3229-3239, 1994.

BJERRUM, N. **Bjerrum's Inorganic Chemistry**, London, 1936.

BORGO, S.C. Minimização e reciclagem de lodo galvânico e poeira de jateamento. **Dissertação** (Mestrado em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental). Universidade Federal do Paraná, 2005.

BROOKES, P. C.; HEIJNEN, C. E.; McGRATH, S. P.; VANCE, E. D. Soil microbial biomass estimates in soils contaminated with metals. **Soil Biol. Biochem.**, v.18, p.383-388, 1986.

BROOKES, P. C.; MACGRATH, S. P. Effects of metal toxicity on the size of the soil microbial biomass. **Journal of Soil Science**, v.35, p.341-346, 1984.

BROWN, P. H.; WELCH, R. M.; CARY, E. E. Nickel: A micronutrient essential for higher plants. **Plant Physiology**, v.85, p.801-803, 1987.

CAMARGO, O. A.; ALLEONI, R. F.; CASAGRANDE, J. C. Reações dos micronutrientes e elementos tóxicos no solo. In: FERREIRA, M. E.; CRUZ, M. C. P.; RAIJ, B.; ABREU, C. A. (Ed.). **Micronutrientes e elementos tóxicos na agricultura**. Jaboticabal: CNPq; FAPESP; POTAFOS, 2001. p. 89-124.

CANTER, L. W., KNOX, R. C.; FAIRCHILD, D. M. **Ground Water Quality Protection**. Michigan: Lewis Publishers, Inc. 1987.

CARNEIRO, M. A. C.; MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. Atividade enzimática e biomassa microbiana em solo contaminado com metais pesados. In: Congresso Brasileiro de Ciência do Solo - **Solo: alicerce dos sistemas de produção**. Ribeirão Preto: SBCA, 2003.

CASIDA, L. E.; KLEIN, D. A.; SANTORO, T. Soil dehydrogenase activity. **Soil Science**, v.98, p.371-376, 1964.

CASTILHOS, D. D.; COSTA, C.N.; PASSIANOTO, C. C.; LIMA, A. C. R.; LIMA, C. L. R.; MULLER, V. Adição de cromo hexavalente no crescimento, nodulação e absorção de nutrientes em soja. **Ciência Rural**, 31, 6, 2001.

CHEN, C. P.; LEE, D. Y.; JUANG, K. W.; LIN, T. H. Phytotoxicity of soil trivalent chromium to wheat seedlings evaluated by chelating resin extraction method. **Soil Science**, 173, 9, 2008.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Inventário de resíduos sólidos ano de 2005**. Relatórios, Secretaria de Meio Ambiente CETESB. São Paulo: EPUSP, 2006.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Relatório de estabelecimento de valores orientadores para solos e águas subterrâneas no Estado de São Paulo**. CETESB, 2001.

CHANDER, K.; JOERGENSEN, R. G. Decomposition of  $^{14}\text{C}$  glucose in two soils with different amounts of heavy metal contamination. **Soil Biology and Biochemistry**, v.33, p.1811-1816, 2001.

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**, 27, 1995.

CHEW, I.; OBBARD, J. P.; STANFORTH, R. R. Microbial cellulose decomposition in soils from a rifle range contaminated with heavy metals. **Environmental Pollution**, v.111, p.367-375, 2001.

CORNELIS, R.; SABBIONI, E.; VAN DER VENNE, M. T. Trace element reference values in tissues from inhabitants of the European community. **The Science of the total environment**, v.158, p.191-226, 1994.

CURTO, K. A. S. Produção de cerâmicas porosas a partir de argila e resíduos. **Monografia** (Engenharia de Materiais). Universidade Federal de Santa Catarina, 2003.

DAKORA, F. D.; PHILLIPS, D. A. Root exudates as mediators of mineral acquisition in low-nutrient environments. **Plant and Soil**, v.245, p.35-47, 2002.

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**, v.22, p.631-640, 1998.

DICK, R. P. Soil enzymes activities as indicators of soil quality. In: DORAN, J.W.; COLEMAN, D. C.; BEZDICEK, D. F.; STEWART, B. A. (Ed.). **Defining soil quality for a sustainable environment**. Madison: Soil Science Society of American, 1994, p.107-124.

DOELMAN, P.; HAANSTRA, L. Short-term and long-term effects of cadmium, chromium, copper, nickel, lead and zinc on soil microbial respiration in relation to abiotic soil factors. **Plant Soil**, v.79, p.317-327, 1984.

DUDKA, S.; PIOTROWSKA, M.; TERELAK, H. Transfer of cadmium, lead, and zinc from industrially contaminated soil to crop plants: a field study. **Environ. Poll.**, v.94, p.181-188, 1996.

DUECK, T. A.; VISSER, P.; ERNST, W. H. O.; SCHAT, H. Vesicular-arbuscular mycorrhizae decrease zinc toxicity to grasses growing in zinc-polluted soil. **Soil Biol. Biochem.**, v.18, p.331-333, 1986.

DUFFUS, J. H. Heavy metals - A meaningless term? (IUPAC technical report). **Pure and Applied Chemistry**, v.74, n.5, p.793-807, 2002.

DUMONTET, S.; DINELB, H.; LÉVESQUEB, P. E. N. The distribution of pollutant heavy metals and their effect on soil respiration and acid phosphatase activity in mineral soils of the Rouyn-Noranda region, Québec. **The Science of The Total Environment**, v.121, p.231-245, 1992

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUARIA. **Os microrganismos e os metais pesados do solo**. Documento n.132, ISSN 1517-8498, 2001.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: EMBRAPA Produção de Informações, 1999.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Test methods for evaluating solid waste physical/ chemical methods - SW 846**. Richmond: EPA, 1996.

ESPÍRITO SANTO, A. A. Influência da poluição atmosférica e variáveis ambientais no comportamento de bioindicadores de solo no entorno de uma metalúrgica de cobre na Bahia. **Dissertação** (Mestrado em Ecologia e Biomonitoramento). Instituto de Biologia, Universidade Federal da Bahia, 2004.

ESSINGTON, M. E. **Soil and water chemistry**. Boca Raton: CRC Press, 2004.

FADIGAS, F. S. Concentrações naturais de metais pesados em algumas classes de solos brasileiros. **Bragantia**, v.61, n.2, p.151-159, 2002.

FEIJE, F.; ANGER, V. Spot test in inorganic analysis. **Analytical Chemistry Acta**. V.149, p.363-367, 1972.

FLIEBBACH, 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**, v.26, p.1201-1205, 1994.

FORD, R. G.; SCHEINOST, A. C.; SPARKS, D. L. Frontiers in metal sorption/precipitation mechanisms on soil mineral surfaces. **Advances in Agronomy**, v.74, p. 41-62, 2001.

FURTADO M. R. Aterros especiais: oferta responsável não impede de descarte em lixões. **Revista Química e Derivados**, n.434, p.12, 2005.

GAJEWASKA, E.; SKLODOWASKA, M.; SLOBA, M.; MAZUR, J. Effect of nickel on antioxidative enzyme activities, proline and chlorophyll contents in wheat shoots. **Biol. Plant**, 56, 2006.

GAUTAM, S.; PANDEY, S. N. Growth and biochemical responses of nickel toxicity on leguminous crop (*Lens esculentum*) grown in alluvial soil. **Res. Environ. Life Sci.**, 1, 2008.

GIANFREDA, L.; RAOA, M. A.; PIOTROWSKA, A.; PALUMBO, G.; COLOMBO, C. Soil enzyme activities as affected by anthropogenic alterations: intensive agricultural practices and organic pollution. **Science of the Total Environment**, v.341, p.265-279, 2005.

GIANFREDA, L.; BOLLAG, J. M. Influence of natural and antropogenic factors on enzyme activity in soil. In: STOTZKY, G.; BOLLAG, J.M. **Soil biochemistry**. New York: Marcel Dekker, 1996.

GILDON, A.; TINKER, P. B. Interactions of vesicular arbuscular mycorrhizal infection and heavy metals in plants. **New Phytologist**, v.95, p.247-261, 1983.

GILLER, K. E.; WITTER, E.; McGRATH, S. Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils: A review. **Soil Biol. Biochem.**, v.30, p.1389-1414, 1998.

GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist**, v.84, p.489-500, 1980.

GÜLSER, F.; ERDOĞAN, E. The effects of heavy metal pollution on enzyme activities and basal soil respiration of roadside soils. **Environ Monit Assess**, v.145; p.127-133, 2007.

HAIDER, J.; MURAMOTO, T.; AZAD, A. K. Estimation of microbial biomass carbon and nitrogen in Blangadesh soils. **Soil Science and Plant Nutrition**, 37, 1991.

INSAM, H.; HUTCHINSON, T. C.; REBER, H. H. Effects of heavy metal stress on the metabolic quotient of the soil microflora. **Soil Biology and Biochemistry**, v.28, p.691-694, 1996.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants**. Boca Raton: CRC Press, 1992.

KANDELER, E., TSCHERKO, D., BRUCE, K. D., STEMMER, M., HOBBS, P. J., BARDGETT, R. D. The structure and function of the soil microbial community in microhabitats of a heavy metal polluted soil. **Biology and Fertility of Soils**, v.32, p.390-400, 2000.

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

KARACA, A.; NASEBY, D. C.; LYNCH, J. M. Effect of cadmium contamination with sewage sludge and phosphate fertiliser amendments on soil enzyme activities, microbial structure and available cadmium. **Biology and Fertility of Soils**, v.35, p.428-434, 2002.

- KHAN, M.; SCULLION, J. Effect of soil on microbial responses to metal contamination. **Environmental Pollution**, v.110. p.115-125, 2000.
- KIZILKAYA, R. Cu and Zn accumulation in earthworm *L. terrestris* L. in sewage sludge-amended soil and fractions of Cu and Zn in casts and surrounding soil. **Ecological Engineering**, v.22, p.141-151, 2004.
- KLAUBERG FILHO, O.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S.; SOARES, C. R. F. S.; SILVA, S. Ecologia, função e potencial de aplicação de fungos micorrízicos arbusculares em condições de excesso de metais pesados. **Tópicos em Ciência do Solo**, v.4, p.85-144, 2005.
- KNOX, R. C., SABATINI, D. A.; CANTER, L. W. **Subsurface transport and fate processes**. Florida: Lewis Publishers, 1993.
- KRUPA, Z.; SIEDLECKA, A.; MAKSYMIEC, W.; BASZYNSKI, Y. T. In vivo response of photosynthetic apparatus of *Phaseolus vulgaris* L. to nickel toxicity. **Journal of Plant Physiology**, v.142, p.664-668, 1993.
- KUPERMAN, R. G.; CARREIRO, M. M. Soil heavy metal concentrations, microbial biomass and enzyme activities in a contaminated grassland ecosystem. **Soil Biology and Biochemistry**, 29, 1997.
- LEITA, L.; NOBILI, M. de; MUHLBACHOVA, G.; MONDINI, C.; MACHIOL, L.; ZERBI, G. Bioavailability and effects of heavy metals on soil microbial biomass during laboratory incubation. **Biology and Fertility of Soil**, 19, 2-3, 1995.
- LEYVAL, C.; TURNAU, K.; HASELWANDTER, K. Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function: physiological, ecological and applied aspects. **Mycorrhiza**, v.7, p.139-153, 1997.
- LORENZ, N.; HINTEMANN, T.; KRAMAREWA, T.; KATAYAMA, A.; YASUTA, T.; MARSCHNER, P.; KANDELER, E. Response of microbial activity and microbial community composition in soils to long-term arsenic and cadmium exposure. **Soil Biol. Biochem.**, v.38, p.1430-1437, 2006.
- MAKOI, J. H. R.; NDAKIDEMI, P. A. Selected soil enzymes: examples of their potential roles in the ecosystem. **Afr J Biotechnol**, v.7, p.181-191, 2008.
- MALAVOLTA, E.; MORAES, M. F.; LAVRES JÚNIOR, J.; MALAVOLTA, M. Micronutrientes e metais pesados - Essencialidade e toxicidade. In: PATERNIANI, E. (Ed.). **Ciência, agricultura e sociedade**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. p.117-154.
- MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London: Academic Press, 1995.
- MATOS, A. T. Mobilidade e formas de retenção de metais pesados em Latossolo Vermelho-Amarelo. **Rev. Bras. Cienc. Solo**, v.20, p.379-386, 1996.
- MEI, B.; PURYEAR, J. D.; NEWTON, R. J. Assessment of Cr tolerance and accumulation in selected plant species. **Plant and Soil**, 247, 2002.

MERRINGTON, G.; ROGERS, S. L.; VAN ZWIETEN, L. The potential impact of long-term copper fungicide usage on soil microbial biomass and microbial activity in an avocado orchard. **Australian Journal of Soil Research**, 40, 5, 2002.

MERTZ, W. E. Chromium occurrence and function in biological systems. **Physiology Reviews**, 49, 1969.

MEURER, E. J. **Fundamentos de química do solo**. Porto Alegre: Genesis, 2004.

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

MORENO, J. L.; BASTIDA, F.; HERNÁNDEZ, M. R. T.; GARCÍA, C. Soil organic carbon buffers heavy metal contamination on semiarid soils: Effects of different metal threshold levels on soil microbial activity. **European Journal of Soil Biology**, v.45, n.220–228, 2009.

MORENO, J. L.; GARCÍA, C.; HERNÁNDEZ, T. Toxic effect of cadmium and nickel on soil enzymes and the influence of adding sewage sludge. **European Journal of Soil Science**, 54, 2003.

MORRIS, C. **Academic Press Dictionary of Science and Technology**, San Diego: Academic Press, 1992.

NANNIPIERI, P. The potential use of soil enzymes as indicators of productivity, sustainability and pollution. In: PANKHURST, C. E.; DOUBLE, B. M.; GUPTA, V. V. S. R.; GRACE, P.R. (Eds.), **Soil biota. Management in sustainable farming systems** East Melbourne: CSIRO, 1994. p.238-244.

NOGUEIRA, A. V. As micorrizas e o excesso de metais. In: SIQUEIRA, J. O. (Ed.). **Avanços em fundamentos e aplicação de micorrizas**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 1996. p.135-174.

OBBARD, P. Ecotoxicological assessment of heavy metals in sewage sludge amended soils. **Appl. Geochem.**, 16, 2001.

PAIVA, H. N.; CARVALHO, J. G.; SIQUEIRA, J. O. Índice de translocação de nutrientes em mudas de cedro (*Cedrela fissilis* Vell.) e de Ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa* (Mart.) Standl.) submetidas a doses crescentes de cádmio, níquel e chumbo. **Revista Árvore**, v.26, p.467-473, 2002.

PANKHURST, C. E., HAWKE, B. G., MCDONALD, H. J., KIRKBY, C. A., BUCKERFIELD, J. C., MICHELSEN, P., O'BRIEN, K. A., GUPTA, V. V. S. R., DOUBE, B. M. Evaluation of soil biological properties as potential bioindicators of soil health. **Aust. J. Exp. Agr.**, v.35, p.1015-1028, 1995.

PARKER, S. P. **Dictionary of Scientific and Technical Terms**, New York: McGraw-Hill, 1989.

PAUL, E. A.; CLARK, F. E. **Soil microbiology and biochemistry**. San Diego: Academic Press, 1989.

PAVAN, M. A.; BLOCH, M. F.; ZEMPULSKI, H. C.; MIYAZAWA, M.; ZOCOLER, D. C. **Manual de análise química de solo e controle de qualidade**. Londrina: IAPAR, 1992.

PHILLIPS, J. M.; HAYMAN, D. S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. **Transactions of the British Mycological Society**, v.55, p.157-160, 1970.

RAVEN, J. A.; EVANS, E. C. W.; KORB, R. E. The role of trace metals in photosynthetic electron transport in O<sub>2</sub>-evolving organisms. **Photosynth. Res.**, v.60, p.111-149, 1999.

REBER, H. H. Simultaneous estimates of the diversity and the degradative capability of heavy-metal-affected soil bacterial communities. **Biology and Fertility of Soils**, v.13, p.81-186, 1992.

REVOREDO, M. D.; MELO, W. J. Wzzyme activity and microbial biomass in an oxisol amended with sewage sludge contaminated with nickel. **Sci. Agric.**, 64, 1, 2007.

RIBEIRO FILHO, M. R.; CURI, N.; SIQUEIRA, J. O.; MOTTA, P. E. F. Metais pesados em solos de área de rejeitos de indústria de processamento de zinco. **R. Bras. Ci. Solo**, v.23, p.453-464, 1999.

ROSS, S. M. **Toxic metals in soil-plant systems**. Chichester: John Willey & Sons, 1994.

SIMONETE, M. A.; KIEHL, J. C. Extração e fitodisponibilidade de metais em resposta a adição de lodo de esgoto no solo. **Scientia Agrícola**, v.59, n.3, p.555-563, 2002.

SIQUEIRA, J. O.; POUYÚ, E.; MOREIRA, F. M. S. Micorrizas arbusculares no crescimento pós-transplante de mudas de árvores em solo com excesso de metais pesados. **R. Bras. Ci. Solo**, v.23, p.569-580, 1999.

SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S.; GRISS, B. M.; HUNGRIA, M.; ARAÚJO, R. S. **Microrganismos e processos biológicos do solo; perspectiva ambiental**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994.

SMITH, S.; READ, D. J. **Mycorrhizal symbiosis**. London: Academic Press, 1997.

SPARKS, D. L. **Environmental soil chemistry**. San Diego: Academic Press, 1995.

SPOSITO, G. **Applied Environmental Geochemistry**. London: Academic Press, 1983

TABATABAI, M. A.; BREMNER, J. M. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. **Soil Biology and Biochemistry**, v.1, p.301-307, 1969.

TABATABAI, M. A.; BREMNER, J. M. Assay of urease activity in soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v.5, p. 479-487, 1972.

- THORNTON, I. **Metals in the global environment** - Facts and misconceptions. Ottawa: ICME, 1995.
- TYLER, G. Heavy metal pollution and soil enzyme activity. **Plant and Soil**, v.41, p.303-311, 1974.
- TYLER, G. Heavy metals in soil biology and biochemistry. In: PAUL, E. A; LADD J. N. **Soil biochemistry**. New York: Dekker, 1981. p.371-414.
- ULLRICH, S. M. Mercury in the aquatic environment: A review of factors affecting methylation. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v.3, n.31, p. 241-293, 2001.
- UREN, N. C. Forms, reactions, and availability of nickel in soils. **Advances in Agronomy**, v.48, p. 141-203, 1992.
- WANG, Y.; SHI, J.; WANG, H.; LIN, Q.; CHEN, X.; CHEN, Y. The influence of soil heavy metals pollution on soil microbial biomass, enzyme activity, and community composition near a copper smelter. **Ecotoxicol Environ Saf.** v.1, p.75-81, 2007.
- WEBER, J. H. Review of possible paths for abiotic methylation of mercury (II) in the aquatic environment. **Chemosphere**, n.26, p. 2063-2077, 1999
- WEISSENHORN, I.; LEYVAL, C.; BELGY, G.; BERTHELIN, J. Arbuscular mycorrhizal contribution to heavy metals uptake by maize (*Zea mays* L.) in pot culture with contaminated soil. **Mycorrhiza**, v.5, p.245-251, 1995.
- WELP, G.; BRÜMMER, G. W. Toxicity of increased amounts of chemicals and the dose-response curves for heterogeneous microbial populations in soil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 37, 1997.
- WHITING, S. N.; REEVES, R. D.; RICHARDS, D.; JOHNSON, M. S.; COOKE, J. A.; MALAISSE, F. Research priorities for conservation of metallophyte biodiversity and their potential for restoration and site remediation. **Restor. Ecol.**, 12, 2004.
- WYSZKOWSKA, J.; KUCHARSKI, J.; LAJSZNER, W. The effects of copper on soil biochemical properties and its interaction with other heavy metals. **Polish J. of Environ.** v.15, n.6, p.927-934, 2006.
- VAL, C.; BAREA, J. M.; AZCÓN-AGUILAR, C. Assessing the tolerance to heavy metals of arbuscular mycorrhizal fungi isolated from sewage sludge-contaminated soils. **Applied Soil Ecology**, v.11, p.261-269, 1999.
- VALSECCHI, G.; GIGLIOTTI, C.; FARINI, A. Microbial biomass, activity and organic matter accumulation in soils contaminated with heavy metals. **Biology and Fertility of Soils**, v.20, p.253-259, 1995.
- VANCE, E. D.; BROOKES, P. C.; JENKINSON, D. S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biology and Biochemistry**, v.19, p.703-707, 1987.

VANHALA, P. T.; AHTIAINEN, J. H. Soil respiration, ATP content, and Photobacterium toxicity test as indicators of metal pollution in soil. **Environmental Toxicology and Water Quality**, v.9, n.2, p.115-121, 1994.

YU, T. R. Specific adsorption of cations. In: YU, T.R. (Ed.). **Chemistry of variable charge soils**. New York: Oxford University Press, 1997. p.140-174.

XIAO, X.; CHEN, T.; AN, Z.; LEI, M.; HUANG, Z.; LIAO, X. Potential of *Pteris vittata* L. for phytoremediation of sites co-contaminated with cadmium and arsenic: the tolerance and accumulation. **J. Environ. Sci.**, 20, 2008.

ZIMAKOWSKA-GNOIŃSKA, D.; BECH, J.; TOBIAS, F. J. Assessment of the heavy metal pollution effects on the soil respiration in the Baix Llobregat (Catalonia, NE Spain) **Environmental Monitoring and Assessment**, v.61, n.2, p.301-313, 1999.