

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ATIVIDADE ENZIMÁTICA EM LODO DE ESGOTO
CONTAMINADO COM CÁDMIO E USO EM SOLO
CULTIVADO COM SORGO.**

Elizio Ferreira Frade Junior

Engenheiro Agrônomo

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
Outubro de 2007

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ATIVIDADE ENZIMÁTICA EM LODO DE ESGOTO
CONTAMINADO COM CÁDMIO E USO EM SOLO
CULTIVADO COM SORGO.**

Elizio Ferreira Frade Junior

Orientador: Prof. Dr. Wanderley José de Melo

Co-orientador: Dr. Gabriel Mauricio Peruca de Melo

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Agronomia (Ciência do Solo).

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
Outubro de 2007

F799a Frade Junior, Elizio Ferreira
**Atividade enzimática em lodo de esgoto
contaminado com cádmio e uso em solo cultivado
com sorgo.** / Elizio Ferreira Frade Junior. -- Jaboticabal,
2007
xvi, 63 f.: il.; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual
Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias,
2007

Orientador: Wanderley José de Melo
Banca examinadora: Marcos Omir Marques, Cássio
Hamilton Abreu Junior.
Bibliografia

1. Bioquímica-enzima de lodo. 2. Biossólido. 3.
Metais pesados. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 631.879.2:633.17

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

ELIZIO FERREIRA FRADE JUNIOR - nascido em 24 de junho de 1974, em São Paulo - SP, é Técnico em Agropecuária, formado em 1993 pela Escola Agrícola Estadual de Jundiaí - SP. Engenheiro Agrônomo formado em maio de 2005 pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, trabalha na área de fertilidade dos solos e nutrição de plantas, resíduos urbanos industriais e poluição dos solos desde 1999. Em 2005, iniciou o curso de pós-graduação em Agronomia, área de concentração Ciência do Solo, mestrado, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias / UNESP - Câmpus de Jaboticabal, vindo a concluí-lo em outubro de 2007, sendo bolsista CAPES.

Epígrafe

“Vocês devem ensinar às suas crianças que o solo a seus pés é a cinza de nossos avós. Para que respeitem a terra, digam a seus filhos que foi enriquecida com as vidas de nosso povo. Ensinem às suas crianças o que ensinamos às nossas, que a terra é nossa mãe. Tudo que acontecer à terra acontecerá aos filhos da terra.”

Aos meus pais, **Elizio Ferreira Frade** e **Carmem Aparecida Machado Frade**, pelo amor, incentivo, paciência, ensinamentos de vida e principalmente pelo caráter e exemplo de família; à minha querida irmã, **Rose Stella**, e à minha avó, **Antonia Machado**, que foram incondicionais no amor, carinho e no estímulo para a superação e cumprimento de mais esta etapa da minha vida.

Dedico

Ao meu sobrinho, afilhado e AMIGO... **Lucas Machado Frade Galati**, pelo espírito de renovação em nossa família, pelos ensinamentos e ingenuidade em seu olhar, pelos abraços, sorrisos e alegria a cada volta para casa que foram fundamentais para que eu novamente o deixasse em busca de nossos sonhos!

Ofereço

AGRADECIMENTOS

A **DEUS**, por estar sempre presente, dando-me fé, força e que acima de tudo nos dá saúde e a oportunidade concedida da vida;

Ao Prof. Dr. Wanderley José de Melo, pela orientação, ensinamentos, amizade e paciência, sendo decisivo na elaboração e conclusão desse trabalho;

À FCAV-UNESP, especialmente ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, pela oportunidade de realização da pesquisa;

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudo;

Ao Dr. Gabriel Mauricio Peruca de Melo, pela orientação e ensinamentos durante a condução do experimento e análises;

Aos professores, Jorge de Lucas Junior, Marcos Omir Marques e Cássio Hamilton Abreu Junior, componentes das bancas examinadoras, pelas preciosas considerações apresentadas;

Aos funcionários do Departamento de Tecnologia, em especial do Laboratório de Biogeoquímica, Sueli A. Sangali Leite e Roberto A. Chelli, pelo inestimável auxílio nos experimentos e determinações analíticas;

Aos professores da UFRRJ, Eduardo Lima, Everaldo Zonta e Marcos Gervásio, pela iniciação científica e ensinamentos durante a graduação;

Às meninas da Rep. Farfaruei e aos meus companheiros de república, Ernesto Mouta e Roberto Savério, pela valiosa e eterna amizade, companheirismo, convivência agradável e horas de viola;

A todos os amigos dos programas de Graduação e Pós-Graduação da FCAV, em especial às estagiárias bolsistas do Laboratório de Biogeoquímica, Luma, Luciana, e Ana Carolina, pelo profissionalismo, amizade, momentos de descontração e inestimável trabalho e apoio na condução dessa pesquisa;

À amiga Neli, pelo apoio, incentivo, sugestões e revisões da dissertação;

Aos meus amigos Ruralinos, em especial a toda FAMILIA “Consulado Paulista da Agronomia”;

Aos meus dois irmãos e amigos, Jeff e Albrecht, pelo incentivo, apoio e amizade sincera desde os tempos de ginásio e colégio agrícola;

A AGROGEO ENGEHARIA, em especial aos amigos Fernando Andrade e Anarella Andrade, pela confiança depositada e incentivo para a conclusão deste curso;

A todos meus familiares e amigos, que mesmo longe, foram incansáveis no apoio, estímulo e confiança depositada;

Enfim, a todos que, de maneira direta ou indireta, contribuíram para o cumprimento de mais essa etapa de minha vida...

MUITO OBRIGADO!

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1 Resíduos.....	2
2.2 Lodo de esgoto.....	4
2.3 Atividade enzimática em resíduos.....	6
2.4 Cádmio.....	9
2.5 Metais pesados no solo.....	12
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	16
3.1 Local do experimento.....	16
3.2 Obtenção e caracterização do lodo de esgoto.....	16
3.3 Fontes de Cádmio para contaminar o lodo de esgoto.....	17
3.4 Preparo e contaminação do lodo de esgoto.....	18
3.5 Incubação e delineamento experimental.....	19
3.6 Determinação de atividades enzimáticas.....	20
3.6.1 Amilases.....	20
3.6.2 Arilsulfatases.....	21
3.6.3 Desidrogenases.....	21
3.6.4 Proteases.....	22
3.7 Curva de calibração para atividades enzimáticas.....	23
3.8 Obtenção e caracterização do solo.....	23
3.9 Preparo das amostras de terra.....	24
3.10 Planta teste.....	25
3.11 Instalação e desenvolvimento do experimento.....	25
3.12 Delineamento experimental e tratamentos.....	25
3.13 Avaliação da produção.....	26
3.14 Avaliação nas amostras de lodo.....	26
3.15 Amostragem e preparo das amostras de terra.....	26

3.16 Avaliações nas amostras de terra.....	26
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
4.1 Atividade Enzimática.....	28
4.1.1 Amilases.....	28
4.1.2 Arilsulfatases.....	31
4.1.3 Desidrogenases.....	34
4.1.4 Proteases.....	36
4.2 Produção de matéria seca e grãos da planta.....	38
4.3 Extração de Cádmio.....	41
4.3.1 Teores do lodo de esgoto incubado.....	41
4.3.2 Teores do solo com DTPA.....	42
4.3.3 Teores do solo com HNO ₃	44
4.3.4 Teores do solo com HF.....	45
5. CONCLUSÕES.....	48
6.REFERÊNCIAS.....	49

Índice de Tabelas

	Página
Tabela 1. Concentração total de alguns metais pesados em diversos solos do mundo.....	10
Tabela 2. Análise em amostra de lodo de esgoto da ETE da SABESP, localizada no município de Barueri – SP.....	17
Tabela 3. Solubilidade de Cd em H ₂ O, Cd total e cádmio disponível nas fontes dos contaminantes, solo e lodo de esgoto.....	18
Tabela 4. Análise da terra do Latossolo Vermelho distrófico.....	24
Tabela 5. Análise granulométrica da terra do Latossolo Vermelho distrófico.....	24
Tabela 6. Atividade de Amilases em lodo de esgoto contaminado e incubado com fontes de cádmio por 58 dias, expressas em mg kg ⁻¹ h ⁻¹	30
Tabela 7. Atividade de Arilsulfatases em lodo de esgoto contaminado e incubado com fontes de cádmio por 58 dias, expressas em µg g ⁻¹ h ⁻¹	33
Tabela 8. Atividade de Desidrogenases em lodo de esgoto contaminado e incubado com fontes de cádmio por 58 dias, expressas em µg g ⁻¹ 24h ⁻¹	35
Tabela 9. Atividade de Proteases em lodo de esgoto contaminado e incubado com fontes de cádmio por 58 dias, expressas em µg g ⁻¹ h ⁻¹	37
Tabela 10. Produção de matéria seca e grãos de sorgo granífero 120 dias após cultivo em Lvd tratado com lodo de esgoto acrescido de fontes de cádmio.....	40
Tabela 11. Teores de cádmio extraídos por DTPA, Acido Nítrico (HNO ₃) e Acido Fluorídrico (HF) em Lvd tratado com 10Mg kg ⁻¹ lodo de esgoto, aos 60 dias de cultivo do sorgo granífero.....	43
Tabela 12. Teores de cádmio extraídos por DTPA, Acido Nítrico (HNO ₃) e Acido Fluorídrico (HF) em Lvd tratado com 10Mg kg ⁻¹ lodo de esgoto, aos 120 dias de cultivo do sorgo granífero.....	43

Índice de Figuras

Página

Figura 1. Teores de cádmio extraídos por Mehlich I em lodo de esgoto incubado durante 58 dias com diferentes fontes do metal.....	41
Figura 2. Teores de cádmio extraídos por DTPA em lodo de esgoto incubado durante 58 dias com diferentes fontes do metal.....	41

ATIVIDADE ENZIMÁTICA EM LODO DE ESGOTO CONTAMINADO COM CÁDMIO E USO EM SOLO CULTIVADO COM SORGO.

RESUMO: O conhecimento de atributos bioquímicos dos resíduos, associado à disponibilidade de metais pesados em virtude da utilização de lodo de esgoto em solos agricultáveis, tem por objetivo fornecer ferramentas para minimizar os riscos de poluições ambientais trazidos pela utilização do lodo de esgoto nos solos. Portanto, para avaliar o efeito do nível de contaminação de cádmio nas propriedades bioquímicas do lodo de esgoto e posterior disponibilidade do metal no solo, foram incubadas amostras de 500g de lodo com CdCl_2 , CdSO_4 , $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ e Cd metálico em casa de vegetação. Posteriormente, lodo incubado e não incubado, na dose de 10 Mg ha^{-1} , foram adicionados a amostras de Latossolo Vermelho distrófico e cultivado com sorgo granífero. Determinaram-se as atividades enzimáticas de amilases, arilsulfatases, desidrogenases e proteases nas amostras de lodo incubadas durante 58 dias. Após incubação e cultivo de sorgo granífero com lodo incubado e não incubado, avaliaram-se os teores de cádmio extraídos com Mehlich I e DTPA no lodo incubado e a disponibilidade do metal em amostras de terra, coletadas aos 60 e 120 dias de cultivo, com os extratores DTPA, HNO_3 e HF. As fontes de cádmio adicionadas ao LE alteraram a atividade enzimática de amilases, arilsulfatases, desidrogenases e proteases. A produção de matéria seca e grãos pela cultura do sorgo granífero não foram influenciadas pelos tratamentos no lodo, assim como, pelas fontes acrescidas de cádmio. A extração de cádmio do solo foi influenciada pelo período de incubação.

Palavras Chave: biossólidos, bioquímica, enzimas de lodo, extratores, metais pesados, resíduos

ENZYMATIC ACTIVITY IN SEWAGE SLUDGE CONTAMINATED WITH CADMIUM AND UTILIZATION IN SOIL CULTIVATED WITH SORGHUM.

ABSTRACT: Knowing the biochemical attributes of residues, associated with the heavy metals availability due to the use of sewage sludge in cropped soils, aims to supply tools in order to minimize the risks of environmental pollution brought by the use of that residue as a fertilizer. However, in order to evaluate the effect of the contamination level by the addition of cadmium on the biochemical properties of the sewage sludge and the posterior metal availability in the soil, 500g of sludge were incubated with CdCl_2 , CdSO_4 , $\text{Cd}(\text{NO}_3)$ or metallic Cd in a green house. Incubated and no-incubated sewage sludge was then added to a Typic Haplorthox in the rate 10 mg/ha and sorghum was grown. Enzymatic activity of amylases, arylsulphatases, dehydrogenases and proteases in the sewage sludge samples incubated for 58 days were evaluated. Cadmium was evaluated in the sewage sludge incubated for 58 days using the extractors Mehlich I and DTPA and in soil samples obtained at the 60th and 120th days of sorghum cultivation using the extractors DTPA, HNO_3 and HF. The results demonstrated that the time of incubation, as well as the cadmium sources, clearly influenced sewage sludge enzymatic activities by increasing and decreasing the activities. Cadmium sources did not alter significantly the amounts of metal extracted from incubated sewage sludge with Mehlich I and DTPA extractors. Cadmium extraction from soil samples treated with sewage sludge incubated with Cd was greater with DTPA and HNO_3 extractors. The different Cd sources added to sewage sludge affected the activity of amylases, arylsulphatases, dehydrogenases and proteases in the residue. Dry matter and grain production by sorghum were not affected by the treatments applied to sewage sludge (incubation and no-incubation) and by the Cd sources. Cd extracted from the soil was affected by the incubation of sewage sludge after Cd contamination.

Keywords: biosolids, biochemistry, sludge enzyme, extractors, heavy metals, residues

1. INTRODUÇÃO

A disposição inadequada de resíduos contamina a água e o solo, causando poluição dos recursos naturais, riscos à boa qualidade do ambiente e, conseqüentemente, da população. As alterações no ambiente edáfico devido ao uso de resíduos envolvem processos ainda complexos e desconhecidos ao homem, pois as contaminações influenciam os organismos dos resíduos, seus diversos processos metabólicos e a dinâmica microbiológica. A disposição de lodo de esgoto no solo pode se tornar um grande problema ambiental, pois às vezes ele contém quantidades consideráveis de metais pesados potencialmente tóxicos às plantas e, principalmente, às comunidades microbianas do solo, alterando a dinâmica de ciclagem de nutrientes. A atividade enzimática é um componente crítico de todos os ecossistemas naturais ou manipulados pelo homem, sendo um agente regulador da taxa de decomposição da matéria orgânica e principalmente da ciclagem dos elementos nos solos.

Diversos trabalhos têm se preocupado com a avaliação dos possíveis problemas ambientais relacionados com a utilização agrícola do lodo de esgoto, principalmente com a introdução de metais pesados no sistema solo, porém são raros os estudos que avaliam as transformações que ocorrem nos resíduos devido à presença de metais durante o processo de sua geração.

O conhecimento do papel desses metais na microbiota do solo, assim como no sistema solo-planta, quantificando as formas disponíveis que podem ser absorvidas pelas raízes das plantas, é de suma importância para que se possam estabelecer normas e alternativas a fim de minimizar os riscos de contaminações ambientais nos solos. Sendo assim, o objetivo desse estudo foi verificar se as fontes de Cd, adicionadas ao lodo de esgoto oriundo da Região Metropolitana de São Paulo, alteram a atividade de enzimas nele presentes, influenciam a disponibilidade de cádmio no solo e a produção de matéria seca e de grãos pela cultura do sorgo granífero.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Resíduos

Resíduo, originada da palavra em latim *residuu* (MICHAELIS, 2002), significa o que resta, resto, sobra ou remanescente de algum processo ou produto, podendo, em casos específicos, se transformar novamente em produto ou subproduto, dependendo da finalidade.

Da conscientização do problema gerado pelo acúmulo de resíduos derivados da atividade humana no meio urbano e rural, iniciada na década de 60 em vários países, surgiu, na década de 70, em nosso meio, a necessidade de adotar práticas adequadas para a disposição de resíduos produzidos pela agroindústria álcool-açucareira, destacando-se entre eles a vinhaça. A partir desse problema, surgiu na década de 80 a necessidade de remediar a produção de resíduos urbanos industriais, com maior ênfase para o lodo de esgoto, lixo urbano e os resíduos de curtume, devido aos problemas gerados pela crescente população e pelo acúmulo de resíduos no solo e aquíferos (TEDESCO et al., 1999).

À medida que as cidades crescem, com o desenvolvimento econômico e industrial, surgem simultaneamente problemas ambientais devido à geração cada vez maior de resíduos. As conseqüências causadas por esses resíduos constituem uma ameaça à qualidade de vida do homem e do ecossistema como um todo.

O uso do solo para descartes de resíduos orgânicos começou a ser estudado e avaliado criticamente quando, pela primeira vez, em 1991, no XXII Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, em Porto Alegre, demonstrou-se a preocupação emergente do setor industrial em resolver o problema de acúmulo de resíduos no ambiente. O reaproveitamento nos solos surge como uma alternativa para o descarte de resíduos da atividade humana e, desta forma, sendo possível transformá-la em subprodutos por meio da capacidade cicladora do solo, proporcionados pela ampla diversidade de espécies microbianas e de vias metabólicas (NAHAS, 1993).

De acordo com a NBR 10004, ABTN (1987), que classifica os resíduos sólidos quanto aos riscos potenciais ao meio ambiente e à saúde pública, para que possam ter

manuseio e destinação adequada, são divididos em Classe I - PERIGOSOS, Classe II - NÃO INERTES e Classe III - resíduos INERTES. O resíduo em estudo está enquadrado na Classe I, perigosos.

No Brasil, o método de disposição mais comum é em aterro, muitas vezes indevidamente projetado e operado. As Estações de Tratamento de Efluentes (ETE's), maiores e mais recentes, utilizam aterros corretamente dimensionados e operados. Em diversos países, muitos subprodutos industriais ou resíduos contendo micronutrientes são comercializados como fertilizantes, sendo a maior parte deles como fonte de Zn e Mn. Segundo MORTVEDT (1987), alguns subprodutos industriais podem conter também metais pesados contaminantes, como cádmio, chumbo, níquel em concentrações muito variáveis, porém, em virtude das doses de micronutrientes usadas serem baixas, com a adição do metal pesado seria ainda menor.

Os resíduos têm despertado interesses de usos nas atividades agrícolas de duas formas, pela aplicação direta no solo, como fertilizante alternativo, ou pela recuperação de nutrientes contidos em sua constituição, porém a possibilidade da contaminação do solo é um fator limitante, já que estes, se absorvidos em níveis elevados pelas plantas componentes da cadeia alimentar, podem causar efeitos deletérios à saúde humana e animal (NOGUEIRA, 1990). Quanto maior é o grau de industrialização de uma região, maiores são as tendências de elevação dos teores de metais pesados nos resíduos. Nos processos de tratamento de efluentes essencialmente biológicos, a participação de esgotos industriais promove quedas nos rendimentos, em decorrência dos efeitos tóxicos exercidos pelos metais pesados sobre a população atuante de microrganismos (MARQUES et al., 2001).

Os efluentes residenciais são compostos por mais de 99,9% de água, sendo o restante (inferior a 0,1%) composto de matéria em suspensão, dissolvida em estado coloidal em solução, matéria orgânica e inorgânica, bem como microrganismos, que em contato com o solo possuem características que alteram a dinâmica dos organismos dos solos, interferindo no equilíbrio e nas funções exercidas no ambiente edáfico. Os resíduos de origem orgânica podem ser incorporados ao solo diretamente ou após a compostagem, isto é, processo de oxidação biológica aeróbia que transforma os lodos

em matéria humidificada. O húmus é um bom condicionante de solos, pois aumenta a porosidade e permite maior aeração e atividade microbiana (FILHO & MACHT, 1998). Dessa forma, ao se empregar resíduos nos solos, deve-se considerar a concentração em micronutrientes metálicos e as possíveis relações no sistema solo - planta. O conhecimento da composição química do resíduo demonstrará como a aplicação deve ser definida em função de se eliminar o perigo das contaminações (GLORIA, 1992). Diante disso, a ciência busca soluções para tais problemas, com o objetivo de contribuir para o bem estar social da humanidade e, conseqüentemente, para a vida populacional num ambiente sadio com um desenvolvimento tecnológico viável (OLIVEIRA, 1995).

2.2 Lodo de esgoto

Lodo de esgoto (LE) é o nome dado para o resíduo sólido gerado pelos sistemas de tratamento de águas residuárias (FERNANDES & ANDREOLI, 1997). Trata-se de um material heterogêneo, cuja composição química varia em função do local de origem, ou seja, se de uma área tipicamente residencial ou industrial, da época do ano e do nível social da comunidade (MELO et al., 2001).

A produção de esgoto doméstico (residencial, comercial, público e também o esgoto de pequenas indústrias), bem como as quantidades de água do subsolo que se infiltram nas redes de esgoto, é muito importante para se estimar as características do esgoto sanitário. As quantidades de esgoto doméstico produzido, expresso em litros por habitante por dia, são afetadas por diversos fatores, como clima, tamanho e condições econômicas da população, grau de industrialização da área, medição do serviço de água, oferta e custo da água, entre outros (SOBRINHO, 2001).

O lodo de esgoto é o resultado do tratamento dos resíduos líquidos urbanos por bactérias e outros microrganismos, que quebram as moléculas orgânicas que servem como fonte de energia para seu desenvolvimento, utilizando os nutrientes para crescerem e se reproduzirem. Quando eles morrem, vão constituir a massa orgânica de lodo. Segundo SANTOS et al. (1997), a produção de LE da SABESP, na Região

Metropolitana de São Paulo (RMSP), passará de 100 toneladas/dia (base seca) para 784 toneladas/dia em 2015. Segundo este mesmo autor, o volume de LE produzido na RMSP corresponde a 93% do total produzido no estado, sendo que o interior e o litoral contribuem com 5 e 2%, respectivamente. Existem diversos tipos de resíduos produzidos, porém merece destaque o lodo das Estações de Tratamento de Esgoto, pois este tipo de tratamento é o que mais produz lodo.

A gestão de resíduos das ETE's apresenta um alto grau de complexidade, uma vez que extrapola os limites da estação e possui custo elevado, que pode variar de 20 a 60% dos gastos totais de operação. Não obstante, uma má gestão do resíduo pode comprometer os benefícios sanitários e ambientais que são esperados do tratamento dos esgotos (ANDREOLI, 2001).

Para a aplicação do LE em determinadas áreas agrícolas como uso benéfico, devem-se respeitar certos limites de aplicação que garantam segurança na utilização, evitando possíveis problemas ambientais, como presença de microrganismos patogênicos, concentrações elevadas de nitrato e metais pesados, atração de vetores, dentre outros. No estado de São Paulo, foram elaboradas normas para regularizar a utilização do LE na agricultura e minimizar os possíveis impactos negativos causados pela disposição inadequada deste resíduo nos solos (CETESB, 1999).

Ao longo do tratamento de esgotos, alguns componentes concentram-se em proporções variáveis no lodo. Da mesma forma que alguns componentes orgânicos e minerais conferem características benéficas ao lodo, outros podem ser indesejáveis do ponto de vista sanitário e ambiental, por conterem, em sua composição, metais pesados, microrganismos patogênicos e poluentes orgânicos. A presença destes componentes é função da qualidade do esgoto bruto e do sistema de tratamento que, por meio de diversos processos de higienização, conforme a destinação prevista, podem desinfetar os lodos de maneira a reduzir os níveis de microrganismos patogênicos. Já os poluentes orgânicos e metais pesados requerem métodos de remoções considerados economicamente inviáveis, sendo a melhor estratégia evitarem tal contaminação nos esgotos brutos (CESARIO SILVA et al., 2001).

Sob o ponto de vista nutricional agrícola, o LE pode não ser um material bem balanceado. Apesar do LE geralmente ser rico em matéria orgânica, N, P, Ca e micronutrientes, a proporção entre os nutrientes às vezes não é a adequada para a espécie vegetal em determinados solos. A lenta mineralização do biossólido também pode ser prejudicial, sob o ponto de vista nutricional e produtivo, pois a conseqüente liberação dos nutrientes pode não ocorrer no momento em que a cultura mais necessite. Dessa maneira, em certos casos, torna-se necessária uma complementação com fertilizantes minerais, para compensar esta lenta mineralização do LE e melhorar a fertilidade dos solos e a nutrição das plantas.

A utilização do LE, aproveitando seu potencial fertilizante e condicionador de solos para promover o crescimento de plantas, representa a possibilidade de associar ganhos para o produtor, por meio do aumento da produtividade das culturas e redução do uso de fertilizantes minerais. Vários trabalhos relatam ganhos na produtividade de culturas agrícolas, dentre eles, os de BOARETTO et al. (1992) e SIMONETE et al. (2003).

O aumento da produtividade das culturas normalmente acontece simultaneamente à melhoria da fertilidade do solo e do estado nutricional das plantas. MELO et al. (2001) observaram que vários autores, trabalhando com diferentes biossólidos, em diferentes condições e culturas, também detectaram efeito positivo sobre a fertilidade de solos e a nutrição de plantas. Os benefícios, assim como os efeitos adversos provocados pelo uso do LE, têm sido bastante discutidos pela literatura, sendo que as principais limitações estão relacionadas a organismos patogênicos, compostos orgânicos persistentes, sais solúveis e metais pesados (MELO et al., 1994). Segundo ADRIANO (1986) & ALOOWAY (1990b), a adição de LE nos solos pode contribuir para a poluição com metais pesados.

2.3 Atividade enzimática em resíduos

A revisão bibliográfica sobre a atividade enzimática ou microbiana, específica em resíduos, revelou uma lacuna na literatura, visto que, o foco dos trabalhos desenvolvidos sobre efeitos de metais pesados em atividade microbiana estão voltados para solos, não atentando para as características microbiológicas intrínsecas de cada resíduo. Sendo assim, a revisão está fundamentada em atividade microbiana em solos decorrente do uso de resíduos.

O solo é um habitat extremamente complexo e dinâmico devido a suas características heterogêneas. Tais características permitem que os organismos com metabolismos adversos possam conviver em conjunto, interagindo em estado de equilíbrio dinâmico, muitas vezes com relações de dependências essenciais para sua sobrevivência, proporcionando assim, condições ideais para uma biodiversidade extremamente elevada e conseqüentemente de complexa compreensão. Segundo MOREIRA & SIQUEIRA (2006), estas mesmas características são os principais impedimentos para a introdução de tecnologias de manejo biológico, cujo efeito no solo é, em muitos casos, impossível de prever. Os microrganismos dos solos se encontram em populações mistas, muito heterogêneas, podendo ocorrer entre estas espécies microbianas associações favoráveis, como a simbiose, e as desfavoráveis, como as interações antagônicas.

Os microambientes existentes no solo e que favorecem o desenvolvimento de grupos específicos de microrganismos variam de acordo com os diversos fatores, como a variação de temperatura, umidade, pH, salinidade, concentração de húmus, presença de poluentes, dentre outros. Os microrganismos do solo são utilizados também para avaliar os efeitos dos diferentes materiais no processo de mineralização e disponibilidade de nutrientes do solo.

A atividade microbiana é um fator crítico de todos os ecossistemas naturais ou manipulados pelo homem, nos quais a atividade é um agente regulador da taxa de decomposição da matéria orgânica e principalmente da ciclagem dos elementos nos solos (JENKINSON & LADD, 1981). Os processos de avaliação mais empregados são a liberação de CO₂, biomassa de carbono, atividade enzimática, contagem de microrganismos fixadores de nitrogênio e mineralização de nitrogênio (BROOKES,

1995). As desidrogenases são consideradas enzimas que refletem a atividade microbiana do meio, uma vez que fazem uso do NAD^+ como transportador de elétrons (NANNIPIERI et al., 1980).

A deposição de metais pesados no solo é de grande importância para a ecologia microbiana. Muitos metais como o zinco, cobre e ferro são essenciais aos microrganismos, mas devido às suas características podem se tornar extremamente tóxicos quando presentes em elevadas concentrações no solo ou substratos orgânicos em decomposição. ZAMANI et al. (1984) avaliaram a imobilização do zinco pelos microrganismos de um solo médio arenoso. O solo com microrganismos reteve 25% mais zinco em 72 horas de incubação, sendo que a retenção desse mineral devido à presença dos microrganismos no solo apresentou valores diferenciados em função do tipo de solo.

Vários processos biológicos são afetados diretamente pelos metais do solo, como o estado de oxidação, substituição, dentre outros. As células microbianas podem se beneficiar com o ganho de energia ou serem prejudicadas pela redução da energia disponível. Segundo LEITA et al. (1995), a atividade microbiana em solos contaminados pode ser maior em decorrência do elevado consumo energético dos microrganismos no desígnio de garantir a sobrevivência. A toxicidade exercida pelos metais pesados pode, além de reduzir e suprimir, até destruir frações de comunidades microbianas e conduzir à substituição da composição microbiana do solo (FLIEBBACH et al., 1994). As propriedades dos metais são interativas, de modo que o metal solúvel pode se apresentar como um composto de baixa ou sem toxicidade ou efeito nutriente na comunidade biológica. Como os microrganismos se desenvolvem alterando o meio, eles podem oxidar ou reduzir, aumentando a disponibilidade e toxicidade.

Os processos de adaptação são identificados no solo e a sobrevivência dos microrganismos depende desta situação complexa que requer uma grande variedade de mecanismos de adaptação. A capacidade de alterar o estado de oxidação dos metais é amplamente utilizada pela microflora do solo. BAUTISTA & ALEXANDER (1972) concluíram que a capacidade de reduzir selenato, vanadato, molibdato, arsenato e clorato foi descoberta nos microrganismos do solo.

A associação do metal com um componente orgânico do solo, como os ácidos húmicos, tende a diminuir a sua disponibilidade e toxicidade. Os impactos positivos e negativos dos íons metálicos do solo nos processos biológicos e a adaptação geral do sistema dependem inicialmente da distribuição destes íons no meio, na forma solúvel, insolúvel ou em estado coloidal, e a cinética de reação resultante da transferência do metal entre os diferentes estados. Os efeitos biológicos na mobilidade dos metais no solo resultam da interação direta com os microrganismos (redução, alcalinização, incorporação na célula como um substituinte celular) através da solubilização indireta que ocorre pela reação de um produto do metabolismo microbiológico ou pela simples alteração do ambiente do solo pelos microrganismos.

Segundo MOREIRA & SIQUEIRA (2006), os elementos metálicos, além de sofrerem inúmeras transformações, estão também sujeitos à mineralização e à imobilização na biomassa microbiana. Essas transformações e outras maneiras de interação com microrganismos metais envolvem adsorção e dessorção, oxidação autotrófica e enzimática, absorção e bioacumulação na biomassa e transformações indiretas resultantes da atividade dos organismos, que apesar de tais mecanismos serem bem delineados, pouco se conhece a respeito da capacidade microbiana do solo em acumular metais, especialmente daqueles sem função fisiológica conhecida, como o Cd e o Hg.

2.4 Cádmi

O cádmio, metal pesado em função do peso específico maior que 5g cm^3 (MALAVOLTA, 1994; MELO et al. 1997; BERTON, 2000), apresenta concentração na crosta terrestre entre $0,15$ e $0,20\text{ mg kg}^{-1}$, sendo o 67º metal em ordem de abundância, encontrado na natureza quase sempre associado com o zinco, em proporções que variam de 1:100 a 1:1000, como na maioria dos minérios e solos, e é obtido como subproduto da refinação do zinco e de outros minérios. As maiores fontes de cádmio são a esfalerita e a wurtzita, dois minerais ZnS que apresentam teores médios entre 0,2

e 0,4%. Também é encontrado em minérios de Cu – Zn e Pb – Zn (MATTIAZZO-PREZOTTO, 1994). O Cd é fortemente associado ao Zn em relação à geoquímica, mas parece ter maior afinidade ao S que ao Zn, apresentando mobilidade superior que este último em ambientes ácidos. Segundo ALLOWAY (1990b), a concentração média de cádmio na crosta terrestre é de aproximadamente $0,1 \text{ mg kg}^{-1}$, enquanto que na maioria dos solos o seu conteúdo é menor que 1 mg kg^{-1} .

Os teores de metais pesados encontrados em solos são apresentados na Tabela 1 de autoria de ALLOWAY (1995). Os valores apresentados nestas tabelas são médias para os mais diversos solos do mundo. No Brasil, os levantamentos sobre os teores e formas dos metais pesados em solos cultivados e não cultivados são ainda escassos. Com relação ao Cd, RAMALHO et al. (2000) obtiveram valores totais entre 0,53 e 0,80 mg kg^{-1} .

Tabela 1 - Concentração total de alguns metais pesados em diversos solos do mundo.

Concentração em solos	Pb	Cd	Ni	Cr	Cu
	mg kg^{-1}				
Normal	2,0-300,0	0,01-2,0	2,0-750,0	5,0-1500,0	2,0-250,0
Crítica*	100,0-400,0	3,0-8,0	100,0	75,0-100,0	60,0-125,0

Fonte: Extraído de ALLOWAY (1995) * valores acima há possibilidade de toxicidade às plantas.

Durante os processos biogeoquímicos, o Cd pode apresentar-se em solução na forma catiônica Cd^{2+} , podendo ainda formar vários complexos iônicos como: CdCl^+ , CdOH^+ , CdHCO_3^+ , CdCl_3^- , CdCl_4^{2-} , $\text{Cd}(\text{OH})_3^-$ e $\text{Cd}(\text{OH})_4^{2-}$ e quelatos orgânicos, porém o estado de valência mais comum do cádmio no ambiente é 2+, sendo o pH e o potencial de oxidação os fatores mais importantes que controlam a mobilidade do Cd^{2+} (MELO, 2002). Em ambientes de oxidação, o Cd forma minerais (CdO , CdCO_3), sendo prontamente acumulado na forma de fosfato (KABATA-PENDIAS & PENDIAS, 1992).

Dentre os metais pesados, o Cádmio (Cd) é um dos elementos que tem despertado crescente interesse quanto aos efeitos na atividade microbiana do solo (HIROKI, 1992; FLIEBBACH et al., 1994; LAND et al., 2000; MORENO et al., 2002;

MORENO et al., 2003; STUCZYNSKI, 2003; DAI et al., 2004), visto que a concentração desse metal é aumentada no ambiente devido a diversas atividades humanas, como a adubação com fontes de fósforo, lodo de esgoto e efluentes industriais, que alteram as propriedades químicas, físicas e biológicas do solo.

O aumento anormal das concentrações de metais pesados nos solos de agricultura altamente técnica é resultado da deposição atmosférica e da aplicação de agrotóxicos, resíduos orgânicos e inorgânicos urbanos industriais, fertilizantes e corretivos (ALLOWAY, 1990b). Na lista dos metais pesados estão com maior frequência os seguintes elementos: Cu, Fe, Mn, Mo, Zn, Co, Ni, V, Ag, Cd, Cr, Hg e Pb. Entre os micronutrientes não essenciais ou tóxicos apresentam-se o Cd, Cr, Hg, Pb, entre outros, sendo elementos prejudiciais às plantas. Teores críticos de cádmio nos solos considerados potencialmente tóxicos são aqueles superiores a 3mg kg^{-1} (MALAVOLTA, 1994). Segundo MORTVEDT (1987), as rochas fosfatadas usadas na produção dos fertilizantes são as maiores fontes de contaminação com Cd em solos agrícolas.

O Cd é mais móvel em solos ácidos na faixa de pH 5,0 a 6,0, enquanto em solos alcalinos apresenta-se imóvel. Em termos de mobilidade, é conhecido por ser o metal mais móvel sob diferentes condições e com o aumento da alcalinidade, a adsorção de cádmio diminui, podendo esta função ser atribuída à competição com íons Ca^{2+} e Mg^{2+} . No perfil do solo, o Cd tende a estar presente em maiores concentrações no horizonte superficial, refletindo as adições provenientes de deposição atmosférica, de fertilizantes e reciclagem de plantas (ALLOWAY, 1990b).

A composição da solução do solo tem efeito marcante na adsorção e mobilidade de Cd em solos com cargas variáveis. Em baixas forças iônicas, pequenos aumentos na concentração do Ca do eletrólito suporte aumentam significativamente a mobilidade do Cd, sugerindo a adsorção preferencial de Ca. Devido a este comportamento, o Cd é altamente suscetível à lixiviação, sendo rapidamente deslocado ou desorvido por cátions competidores (KOOKANA & NAIDU, 1997). Em solos sob clima úmido, é mais provável que ocorra migração de Cd no perfil do solo do que o acúmulo no horizonte superficial. A contaminação do solo com Cd é considerada de grande risco para a

saúde. Contudo, devido ao grande acúmulo de cádmio no solo, algumas alternativas de manejos que visam aumentar o pH e CTC do solo vem sendo empregadas com sucesso, como a calagem, promovendo o aumento do pH do solo e a diminuição da disponibilidade de cádmio nos solos agricultáveis.

2.5 Metais pesados no solo

A avaliação dos teores dos metais pesados no solo representa a quantificação desses elementos em formas passíveis de serem quantificados por meio de extratores químicos, sendo influenciada pelos atributos do solo, natureza do elemento, presença de outros elementos e suas interações e à natureza dos resíduos orgânicos dispostos no solo (MARQUES et al., 2001). No solo, os metais encontram-se associados às partículas aniônicas que incluem uma grande variedade de argilas. Os componentes minerais do solo podem reagir mais rapidamente com as argilas do que a matéria orgânica.

Devido ao comportamento desses elementos, ainda existem dúvidas no que diz respeito à absorção dos metais pesados pelas plantas e à possibilidade desses elementos alcançarem concentrações tóxicas nos solos ou nas plantas e serem absorvidos em quantidades fitotóxicas. A disponibilidade de metais pesados em ambientes tratados com LE tem sido avaliada pela concentração total desses metais no solo. No entanto, o metal pesado pode estar presente, porém, não significa que esteja numa forma prontamente assimilável pelas plantas, podendo permanecer no solo por longos períodos sem ser absorvido em quantidades tóxicas (SIMONETE & KIEHL, 2002).

Os metais pesados contidos no LE, quando adicionados ao solo, sofrem inúmeras reações, que produzem diversos pares iônicos. De maneira geral, essas reações estão associadas aos processos de precipitação e dissolução, complexação com compostos orgânicos e ou inorgânicos e adsorção (ALLOWAY, 1990a). Esses processos são influenciados pelos atributos dos solos, como pH, textura e composição

mineral (teor e tipo de argilas, óxidos de ferro, alumínio e manganês), teor de matéria orgânica, troca de cátions (CTC), potencial de oxi-redução, composição do solo, temperatura do ambiente e atividade microbiana (ALLOWAY, 1990a; BERTONCINI & MATTIAZZO, 1999; OLIVEIRA & MATTIAZZO, 2001). A mobilidade de metais pesados depende não somente da reatividade da fase sólida, mas também da natureza do metal (CAMARGO et al., 2001).

Diante desses processos, a maior preocupação, em relação aos metais pesados, ocorre quando se aplicam, em solos cultivados, resíduos orgânicos contaminados muitas vezes, sendo essa prática repetida por anos (MARQUES et al., 2001). O balanço adição/extração de metais em solos indica que as concentrações desses elementos na superfície do solo tendem a aumentar com o crescimento das atividades industriais e agrícolas. Os efeitos da aplicação de biossólidos na composição do solo são de grande importância ambiental, sendo o objeto de vários estudos, pois em alguns solos os níveis limitantes de metais pesados já foram atingidos pela contaminação de resíduos industriais ou por aplicações pesadas e repetidas de biossólidos (MELO, 2002). Os níveis permitidos de metais pesados em áreas agrícolas podem ser avaliados, levando-se em consideração alguns fatores importantes para a aceitação de sua aplicação, tais como: conteúdo inicial de metais pesados no solo; quantidade total adicionada, carga total cumulativa de elementos metálicos, toxicidade desses elementos para as plantas, valores limites de concentração de metais pesados no solo, como: interação existente entre os elementos, características do solo (pH, carbonatos livres, matéria orgânica, umidade, teor de argila, etc) e sensibilidade da planta (KABATA-PENDIAS & PENDIAS, 1992).

A obtenção de dados sobre o acúmulo de metais pesados no solo, ao longo do tempo, é realizada por meio de determinação dos teores totais desses elementos, a qual, convencionalmente, é feita pela digestão de solo com ácido fluorídrico (HF), juntamente com outros ácidos. Porém, devido à dificultosa rotina de se trabalhar com HF, existe a preferência pelo uso de ácidos fortes, como HNO_3 ou misturas de ácidos, tais como ácido nítrico e perclórico ($\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$), que são mais comuns (ABREU et al., 1995).

Em trabalhos realizados a campo, OLIVEIRA (2001) avaliou os efeitos causados pela adição de lodo durante dois anos consecutivos, e constatou que, no final do segundo ano, houve aumento de Cu, Cr, Ni e Zn na camada de 0-20 cm, enquanto o Cd e Pb não foram detectados pelo método empregado no estudo. Essa baixa disponibilidade dos metais é atribuída ao LE (MARQUES et al., 2001), que atua como fonte reguladora da disponibilidade, sendo que a capacidade de adsorção do mesmo é que define a disponibilidade do metal. ANDRÉ (1994), estudando a utilização de LE tratado com KCl em doses crescentes para a cultura do sorgo granífero, ANDRADE (1999), avaliando os efeitos de doses crescentes de LE em plantas de *Eucalyptus grandis* e SIMONETE (2001), analisando propriedades químicas em argissolo após aplicação de LE cultivado com plantas de milho, tendo todos os resíduos de cádmio em sua composição, não encontraram, ou quando encontraram eram em níveis abaixo do limite de detecção da metodologia analítica, esse elemento na composição das plantas cultivadas, indicando que, nas condições em que foram conduzidos os experimentos, a disponibilidade do cádmio foi mínima.

Uma das maneiras práticas para se estimar a quantidade de metal disponível para as plantas em um determinado solo é o uso de extratores químicos que se assemelhem ao máximo possível com a capacidade de extração da planta a ser cultivada. A avaliação da disponibilidade de metais pesados por meio de extratores químicos é estudada por diversos autores inspirados no sucesso do extrator DTPA, pH 7,3, proposto por LINDSAY & NORVELL (1978) para estimar a disponibilidade de cobre, ferro, manganês e zinco em solos de reação próxima à neutralidade ou acima. XIU et al. (1991), em estudo de extratores para metais presentes em solos tratados com LE por cinco anos consecutivos, consideraram que HCl, DTPA e Mehlich-3 tenham apresentado alta correlação com o conteúdo de cádmio, cobre, níquel e zinco, presentes em plantas de milho e sorgo.

MELO et al. (1998b) adicionaram a um Latossolo Vermelho-Amarelo, em condições de vaso, o correspondente a $40,0 \text{ t ha}^{-1}$ de um lodo de esgoto tratado com CdCl_2 , de forma a obter concentrações de Cd de 15; 60; 240 e 690 mg kg^{-1} . Os resultados permitiram concluir que o DTPA é o extrator que apresentou melhor

correlação com o teor de Cd presente nas plantas. A qualidade das previsões de disponibilidade por meio de um único extrator depende também da reação solo - extrator, do tempo de extração e, em muitos casos, há necessidade de se incluir pH, CTC ou teor de argila na equação de regressão, a fim de melhorar o coeficiente de correlação entre o metal removido e a fitodisponibilidade (KIEKENS & COTTENIE, 1985; ABREU et al., 1995).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo compreendeu dois experimentos seqüenciais, o primeiro de acréscimo de metal no LE por meio de soluções contendo fontes de cádmio, incubado por 58 dias, avaliando-se neste período a atividade enzimática de amilases, arilsulfatases, desidrogenases e proteases. No segundo experimento, utilizaram-se as mesmas amostras de LE, acrescido de cádmio e incubado, no cultivo de *Sorghum bicolor* (L.) Moench (sorgo) em casa de vegetação, avaliando-se os teores de cádmio no solo.

O experimento de incubação do LE serviu de base para a avaliação dos efeitos da contaminação com fontes de cádmio no comportamento enzimático em lodo, visto que diversos autores focam as alterações microbiológicas causadas por metais pesados adicionados com lodo em solos, não atentando para as alterações causadas por metais no próprio resíduo. Posteriormente, foi feita extração de cádmio no solo cultivado com sorgo por meio de três extratores.

3.1 Local do experimento

Os experimentos de incubação e o cultivo da planta teste foram realizados em casa de vegetação (28 ± 5 °C) do Departamento de Tecnologia na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP, Câmpus de Jaboticabal, estado de São Paulo, Brasil ($21^{\circ}15'20''$ S, $48^{\circ}19'02''$ W).

3.2 Obtenção e caracterização do lodo de esgoto

O LE utilizado neste experimento foi obtido em 2005, na Estação de Tratamento de Efluentes (ETE) de Barueri (SP), administrada pela Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo (SABESP). Foram coletadas cinco sub-amostras do

material, secas ao ar, destorroadas, moídas e passadas em peneira com abertura de malha de 5 mm. A caracterização do material peneirado consta na tabela 2:

Tabela 2. Análise em amostra de lodo de esgoto da ETE da SABESP, localizada no município de Barueri – SP.

Umidade	pH_{H₂O}	pH_{CaCl₂}	N_{total}	P	Ca	Mg	S
%		0,01M	g kg ⁻¹	_____	g kg ⁻¹	_____	_____
79,8	6,4	6,2	25,0	18,7	21,3	3,8	6,8

Cd	Ni	Mn	Zn	Fe	Cu	Cr	Bo
_____ mg kg ⁻¹ _____							
8,70	299,08	206,10	2474,60	37514,00	997,94	799,30	75,15

Pb	Mo	Co	As	Se	Hg	Ba	Sb
_____ mg kg ⁻¹ _____							
169,60	10,00	7,57	0,05	0,02	6,14	106,64	0,14

A umidade e retenção de água das amostras de LE foram determinadas segundo MELO et al. (1998a); o pH em H₂O e em CaCl₂, P, K, Ca, Mg e S, segundo SILVA (1999), o N_{total}, determinado pelo método microKjeldahl, segundo SARRUGE & HAAG (1974), e os demais elementos determinados segundo United States Environmental Protection Agency - USEPA (1995), método 3050b, quantificados em espectrofotômetro de absorção atômica marca GBC, modelo Avanta, sendo os elementos Hg, Se e As quantificados com gerador de hidretos.

3.3 Fontes de cádmio para contaminar o lodo de esgoto

Para a contaminação, foram utilizadas fontes de cádmio com padrão analítico, sendo CdCl₂ (cloreto de cádmio), CdSO₄ (sulfato de cádmio), Cd(NO₃)₂ (nitrato de

cádmio) e Cd met. (cádmio metálico) produzidos pela Nuclear, Vetec, Vetec e Aldrich Chemical, respectivamente.

O íon cádmio, dentro do par iônico das fontes contaminantes, assim como na amostra de Latossolo Vermelho distrófico (LVd), foi quantificado por meio da metodologia proposta por USEPA (1995), método 3050b, adotado como metodologia de referência neste experimento, e o elemento quantificado em espectrofotômetro de absorção atômica. Também foi quantificado o Cd total presente nas fontes e no solo por meio de digestão fluorídrica, segundo JACKSON (1958), apresentando os resultados na tabela 3:

Tabela 3. Solubilidade de Cd em H₂O, Cd total e cádmio disponível nas fontes dos contaminantes, solo e lodo de esgoto.

	Cd solúvel H ₂ O	Cd total Digestão HF	Cd disponível USEPA 3050b
		mg kg ⁻¹	
Lodo de Esgoto	0,12	79,30	8,70
Solo LVd	0,03	1,25	0,40
		g kg ⁻¹	
CdCl₂	338,00	493,00	525,00
CdSO₄	263,00	422,00	437,00
Cd (NO₃)₂	182,00	327,00	363,00
Cd metálico	3,16	876,00	985,00

3.4 Preparo e contaminação do lodo de esgoto

Cinco amostras de 500 g de LE (base seca) foram passadas em peneira de abertura de malha de 5 mm e acrescidas de Cd por meio de soluções em água, de acordo com a quantidade do íon cádmio presente em cada fonte, adotando-se como referência a quantidade de cádmio determinada pelo método 3050b, segundo USEPA (1995), para alcançar a concentração final de cádmio nas amostras de lodo em 60 mg kg⁻¹.

A concentração pré-existente de cádmio no LE, segundo metodologia de referência, eram $8,70 \text{ mg Cd kg}^{-1}$ lodo, sendo adicionados $51,30 \text{ mg kg}^{-1}$ para atingir a concentração desejada de $60,00 \text{ mg kg}^{-1}$. De acordo com a concentração de cádmio em cada fonte contaminante, foram adicionadas soluções com 270 mL na concentração: $\text{CdCl}_2 = 48,90 \text{ mg kg}^{-1}$, $\text{CdSO}_4 = 58,70 \text{ mg kg}^{-1}$, $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 = 70,60 \text{ mg kg}^{-1}$ e Cd metálico = $26,00 \text{ mg kg}^{-1}$.

As amostras de LE foram acondicionadas em sacos de polietileno, adicionadas água destilada de modo a atingir 60% da capacidade de retenção de água do LE, sendo posteriormente vedadas para evitar perdas de umidade.

3.5 Incubação e delineamento experimental

Durante o período de 58 dias de incubação, foram realizadas sete amostragens no LE para determinação das atividades enzimáticas: 0 (12 horas após início da incubação), 7, 14, 21, 28, 43 e 58 dias após o início da incubação.

As amostras foram secas ao ar e à sombra por 24 horas, conservadas em sacos de polietileno e armazenadas em câmara seca para posterior análises. A determinação das atividades enzimáticas nas amostras de LE foi realizada entre 5 e 15 dias após a amostragem.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com os resultados agrupados em parcelas subdivididas 5×7 , sendo o tratamento principal as quatro fontes de cádmio (CdCl_2 , CdSO_4 , $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$, Cd metálico) e uma testemunha sem adição do metal; o tratamento secundário constituiu-se das sete épocas de amostragem, com quatro repetições. Os resultados obtidos foram analisados por meio do teste F que, se significativo, tiveram as médias comparadas pelo teste de tukey ao nível de probabilidade de 5% (PIMENTEL GOMES, 1978), utilizando-se para as análises dos dados o programa estatístico estat (ESTAT, 1994).

3.6 Determinação de atividades enzimáticas

As metodologias utilizadas para a determinação de atividades enzimáticas em lodo foram adaptadas dos métodos de solos, alterando-se a quantidade de amostras a ser avaliada.

3.6.1 Amilases

A atividade das amilases nas amostras de LE foi determinada de acordo com MELO et al. (1983). O princípio do método consiste na incubação das amostras de solo com o substrato da enzima, o amido, por um período de 24 horas em temperatura constante de 30°C, avaliando-se então a glicose produzida.

Em Erlenmeyer de 125 mL, contendo 5,0 g de lodo, adicionaram-se 2,5 mL de toluol, que funciona como inibidor do crescimento de microrganismos, deixando em repouso por 15 minutos à temperatura ambiente. Adicionou-se, em seguida, 20,0 mL de solução tampão de acetato fosfato 0,5M pH 5,5 e 20,0 mL de uma solução de amido a 2% (Merk) somente na amostra. No branco colocou-se amido após a incubação. Vedou-se o Erlenmeyer, colocaram-se as amostras em estufa tipo BOD a 30°C por um período de 24 horas e incubaram-se as amostras e o branco. Após o período de incubação, filtrou-se o conteúdo do Erlenmeyer em papel de filtro Watman nº1 ou similar e no filtrado procedeu-se à determinação do teor dos açúcares redutores.

Para a determinação dos açúcares redutores, transferiu-se 1 mL do extrato para o tubo de ensaio e adicionou-se em seguida 1,0 mL do reagente de cobre A + B (mistura 1:1). O tubo de ensaio foi vedado e aquecido em banho-maria em ebulição por 15 minutos. Retirou-se o tubo do banho-maria, deixando atingir à temperatura ambiente e adicionaram-se 2,0 mL de ácido fosfomolibídico. Agitaram-se bem as amostras até a remoção de toda a efervescência, adicionaram-se 2,0 mL H₂O deionizada, agitou-se novamente, deixando em repouso por 15 minutos e procedeu-se à leitura da

concentração em espectrofotômetro a 420 nm (coloração azul). A atividade enzimática de amilases no LE foi expressa em mg de glicose produzida por hora por quilograma de lodo seco.

3.6.2 Arilsulfatases

A atividade das arilsulfatases nas amostras de LE foi determinada segundo metodologia proposta por TABATABAI & BREMNER (1970). A metodologia consiste em incubar as amostras de LE por um período de 1 hora à temperatura constante de 37°C, com substrato p-nitrofenil sulfato de potássio, em presença de tolueno. Após a incubação, estimou-se colorimetricamente o teor de p-nitrofenil, liberado devido à ação da enzima.

Em Erlenmeyer de 125 mL, em amostra de 1,0 g de lodo, adicionou-se 2,5 mL de toluol, 4,0 mL de solução tampão de acetato de sódio anidro 0,5 M pH 5,8 e 1,0 mL de uma solução p-nitrofenil sulfato de potássio 0,005 N somente na amostra. No branco não se colocou p-nitrofenil para a incubação, e sim após a incubação. Vedou-se o Erlenmeyer, agitou-se, colocaram-se as amostras em estufa BOD a 37°C por um período de 1 hora (+ ou - 10 amostras de cada vez) e incubaram-se a amostra e o branco. Após o período de incubação, adicionou-se p-nitrofenil no branco, 1,0 mL de solução cloreto de cálcio 0,5 M e 4,0 mL solução de hidróxido de sódio 0,5 M. Agitou-se, filtrou-se em papel de filtro Watman nº1 ou similar e procedeu-se a leitura em espectrofotômetro a 400 nm (Coloração amarela). A atividade enzimática de arilsulfatases no LE foi expressa em µg p-nitrofenol liberado por hora por grama de lodo seco.

3.6.3 Desidrogenases

A atividade das desidrogenases nas amostras de LE foi determinada segundo metodologia proposta por THALMANN (1968). A metodologia baseia-se na estimação da taxa de redução do TTC (Tetrazolium) ao TPF (Trifenil Formazam) incubado na

ausência de luz, por um período de 24 horas à temperatura constante de 30 °C. Após a incubação, estimou-se colorimetricamente o teor de TPF liberado devido à ação da enzima.

Em tubo de ensaio, na amostra de 2,5 g de lodo, adicionaram-se 5,0 mL de solução de TTC somente na amostra. No branco não se colocou TTC, mesmo depois da incubação. Vedou-se o tubo de ensaio, agitou-se e colocaram-se as amostras em estufa BOD a 30°C por um período de 24 horas e incubaram-se a amostra e o branco. Após o período de incubação, foi adicionado 40,0 mL de acetona e agitou-se (Adicionar 20,0 mL de acetona, agitar, esperar 1 hora e colocar os outros 20,0 mL de acetona e agitar). Filtrou-se em papel de filtro Watman n°1 ou similar e procedeu-se a leitura em espectrofotômetro a 546 nm. (Coloração Violeta). A atividade enzimática de desidrogenases no LE foi expressa em µg TPF por 24 horas por grama de lodo seco.

3.6.4 Proteases

A atividade das proteases nas amostras de LE foi determinada segundo metodologia proposta por LADD & BUTLER (1972). A metodologia consiste em incubar as amostras de LE por um período de 2 horas à temperatura constante de 50°C sob agitação, em presença de caseína, utilizando posteriormente o reagente de Folin, que reage com aminoácidos, principalmente a tirosina, liberada pela hidrólise da caseína.

Em Erlenmeyer de 250 mL, na amostra de 1,0 g de lodo, adicionaram-se 5,0 mL de tampão TRIS 50 mM pH 8,1 e 5,0 mL de solução tampão de caseína somente na amostra. No branco não se colocou caseína para incubação, e sim após incubação. Vedou-se o Erlenmeyer, agitou-se e colocou-se a amostra em estufa BOD com agitador constante a 50°C por um período de 2 horas, incubando-se a amostra e o branco. Após o período de incubação, adicionaram-se 5,0 mL TCA e agitaram-se. Passaram-se as soluções para tubos de centrífuga e centrifugou-se por 10 minutos a 10000 rpm. Transferiu-se apenas o sobrenadante para os tubos de centrífuga, sem deixar passar terra. Após centrifugação, tomaram-se 5 mL do sobrenadante e adicionaram-se 7,5 mL

do reagente alcalino em béquer de vidro de 50 mL. Incubou-se por 15 minutos em temperatura ambiente, adicionaram-se 5,0 mL do reagente de Folin, filtrou-se em papel de filtro Watman nº1 ou similar e procedeu-se a leitura em espectrofotômetro a 700 nm (coloração azul). A atividade enzimática de proteases no LE foi expressa em µg tirosina por hora por grama de lodo seco.

3.7 Curva de calibração para atividades enzimáticas

Os dados das atividades enzimáticas, obtidos em espectrofotômetro, foram plotados em equações de calibração específica para cada atividade enzimática, sendo $y = 0,0032x$, $R^2 = 0,99$; $y = 0,0648x$, $R^2 = 0,99$; $y = 0,2529x$, $R^2 = 0,99$ e $y = 1,909x$, $R^2 = 0,98$ para amilases, arilsulfatases, desidrogenases e proteases, respectivamente.

3.8 Obtenção e caracterização do solo

A amostra de terra utilizada no segundo experimento, classificado como Latossolo Vermelho distrófico (LVd), classe textural média, foi coletado a uma profundidade de 0 - 0,20 m, na Fazenda Experimental de Ensino e Pesquisa da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP, Câmpus de Jaboticabal, Estado de São Paulo, Brasil.

Uma amostra composta por três subamostras de terra foi passada em peneira de abertura de malha com 2 mm, obtendo-se TFSA, e submetida a análises no Laboratório de Análise de Solo e Planta do Departamento de Solos da FCAV/UNESP para avaliação do nível de fertilidade e composição granulométrica, segundo CAMARGO et al. (1986) e RAIJ et al. (1987), apresentando os resultados contido na Tabela 4 e 5, respectivamente.

Tabela 4. Análise da terra do Latossolo Vermelho distrófico.

pH	M.O.	P	K	Ca	Mg	H + Al	SB	T	V
CaCl ₂ 0,01M	g dm ⁻³	Resina mg dm ⁻³	_____		mmol _c dm ⁻³		_____	_____	%
5,3	16	42	1,2	25,0	12,0	25,0	38,2	63,2	60

B	Cu	Fe	Mn	Zn	S-SO₄	Al
_____		mg dm ⁻³		_____		mmol _c dm ⁻³
0,2	1,4	21,0	8,0	0,6	4,0	0,0

Tabela 5. Análise granulométrica da terra do Latossolo Vermelho distrófico.

Argila	Limo	Areia		Classe
_____		Fina	Grossa	Textural
g kg ⁻¹		_____		
310	40	280	370	Média

3.9 Preparo das amostras de terra

Quarenta e cinco amostras de 10 kg de terra foram secas ao ar, destorroadas, passadas em peneira com 5 mm de abertura de malha, acondicionadas em sacos de polietileno e submetidas à calagem com calcário PRNT= 131, para elevação da saturação de bases a 70%, segundo Boletim 100 (RAIJ et al. 1997). As amostras submetidas à calagem foram mantidas a 60% da capacidade de retenção de água durante 30 dias e posteriormente secas ao ar, destorroadas e passadas novamente em peneira de 5 mm de abertura de malha. A capacidade de retenção de água da terra foi determinada segundo metodologia proposta por MELO et al. (1998a).

3.10 Planta teste

A planta teste utilizada foi o sorgo granífero (*Sorghum bicolor* L. Moench), híbrido BR 306, que pertence à família Gramineae / Poaceae,

3.11 Instalação e desenvolvimento do experimento

O experimento foi desenvolvido durante 120 dias, de 13/07/2006 a 10/11/2006. Os vasos foram devidamente preenchidos com 10 kg de terra, com umidade corrigida. No fundo de cada vaso, colocou-se uma folha de papel de filtro para evitar perdas de terra. Utilizou-se semeadura direta em cada vaso, colocando-se 9 sementes por vaso, na profundidade de 1,0 a 2,0 cm, dispostas em cruz no centro de cada vaso. Após a semeadura, cada vaso foi irrigado com água suficiente para atingir 60% da capacidade máxima de retenção, determinada segundo MELO et al. (1998a).

Durante os primeiros 10 dias, os vasos foram irrigados com água desionizada, de modo a repor a água perdida por evaporação. Após 10 dias da semeadura do sorgo granífero, as regas foram feitas três vezes ao dia, mantendo-se a umidade constante de 60% da capacidade máxima de retenção de água, monitorada por meio de pesagens.

Aos 20 dias após a semeadura, as plântulas atingiram em média 15 a 20 cm de altura, em que foi realizado desbaste, mantendo-se apenas uma planta vigorosa, na região central do vaso, que foi cultivada por 120 dias. As plântulas podadas foram depositadas no vaso e incorporadas ao solo. Aos 60 dias, uma planta teste, extra ao experimento, foi retirada do vaso, pesada e seu peso descontado no valor da reposição de água, para garantir a constante umidade em 60% da capacidade máxima de retenção de água.

3.12 Delineamento experimental e tratamentos

O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2 x 4 x 4, com 2 tratamentos (formas de preparo de lodo, incubado e não incubado), 4 com fontes de cádmio (CdCl_2 , CdSO_4 , $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$, Cd metálico) e 4 repetições. Instalou-se também um tratamento testemunha, que não recebeu calcário e nenhuma adição de lodo de esgoto.

3.13 Avaliação da produção

A produção de grãos e de massa seca foi avaliada aos 120 dias por meio de pesagens do material seco em estufa com ventilação forçada entre 60 e 70 °C até peso constante. Os resultados obtidos foram analisados por meio de comparação das médias, e no caso em que o teste F foi significativo, as médias foram comparadas pelo teste de tukey ao nível de probabilidade de 5%, segundo PIMENTEL GOMES (1978).

3.14 Avaliação nas amostras de lodo

As amostras de LE incubadas foram analisadas quanto aos teores de cádmio extraídos por DTPA-TEA pH 7,3 e Mehlich I após 58 dias de incubação.

3.15 Amostragem e preparo das amostras de terra

Aos 60 e 120 dias de cultivo do sorgo granífero, realizou-se uma amostragem de terra, através de quatro subamostras feitas em cada vaso por meio de trado de rosca, em que, as amostras foram secas ao ar, destorroadas, passadas em peneira com 2 mm de abertura de malha e acondicionadas para posteriores análises em relação ao conteúdo de cádmio .

3.16 Avaliações nas amostras de terra

As amostras de terra foram analisadas quanto ao teor de cádmio total por meio de digestão fluorídrica (HF), segundo JACKSON (1958), e cádmio disponível aos extratores HNO_3 e extrator DTPA-TEA pH 7,3, segundo USEPA (1995) e SILVA (1999), respectivamente.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Atividade Enzimática

4.1.1 Amilases

Observando-se os dados contidos na Tabela 6, verificam-se variações iniciais na atividade enzimática de amilases, influenciadas pelas fontes de cádmio, sendo que a atividade do tratamento testemunha apresentou-se menor em relação aos tratamentos com o mesmo elemento. No tratamento acrescido de cádmio metálico foi que ocorreu a maior atividade no tempo zero. O cádmio metálico, menos solúvel comparado às outras fontes, possivelmente, foi menos tóxico aos microrganismos (já havia 12 horas de incubação) ou afetou menos as moléculas das amilases.

As fontes CdCl_2 , CdSO_4 e $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$, assim como a fonte Cd metálico, podem ter estimulado a atividade enzimática após 12 horas de incubação. Porém, devido à maior solubilidade e possível aumento na toxidez, as fontes CdCl_2 e CdSO_4 podem ter inibido o metabolismo dos microrganismos ou mesmo complexado-se com as moléculas enzimáticas, quando comparadas ao cádmio metálico menos solúvel e menos tóxico às comunidades microbianas, ou com menor potencial para reagir com as moléculas enzimáticas. A utilização de LE no solo pode prejudicar a atividade de amilases em função da solubilidade e concentração de metais pesados e outros produtos com potencial para a inibição de microrganismos e da atividade enzimática (YAMAUTI et al., 2004).

O tratamento testemunha apresentou menor atividade, sugerindo que o cádmio pode ter provocado aumento no metabolismo dos microrganismos do solo (estresse), levando a uma maior produção de moléculas de amilases para manter o estado vital. Este estresse pode causar dizimação de populações inteiras de microrganismos, antecipando o processo sucessório (FLIEBBACH et al., 1994). Os resultados reforçam a hipótese de que, devido à concentração, solubilidade e toxidez, metais como o Cd provocam aumento na atividade microbiana e inibição na atividade enzimática para garantir o equilíbrio metabólico dos microrganismos (LEITA et al., 1995).

As atividades enzimáticas tenderam a valores estáveis, evidenciando que os organismos presentes no LE, influenciados pelas fontes de cádmio, podem adaptar-se aos ambientes contaminados, permitindo a inferência de que ocorreram seleção e morte dos microrganismos e posterior disponibilização de nutrientes a organismos mais resistentes. A diminuição na atividade enzimática após sete dias de incubação do LE pode ser um indicador do desbalanço energético que sofre a comunidade microbiana por causa dos distúrbios ambientais (ANDERSON e DOMSCH, 1993; CHANDER e JOERGENSEN, 2001), nesse caso, causado pelos metais pesados.

Os tratamentos acrescidos de cádmio reduziram seus valores, tendendo a uma diminuição na atividade enzimática até 28 dias de incubação, porém a partir de 21 dias, nenhuma diferença foi verificada entre os tratamentos. As atividades enzimáticas foram crescentes e homogêneas até os 28 dias, demonstrando que após um período de estresse, pode ter ocorrido restabelecimento das comunidades microbianas e aumento da atividade enzimática de amilases, evidenciando que o cádmio tem um efeito tóxico inicial nas comunidades microbianas (OLIVER, 1997). Em solos poluídos com metais pesados, a respiração dos organismos correlaciona-se negativamente com a concentração de metais e esse efeito inibitório depende da concentração de matéria orgânica do solo (OHYA et al., 1988). Em solos contaminados com Pb, DOELMAN e HAANSTRA (1979) observaram redução na atividade enzimática com aumento deste elemento no solo.

O tempo de incubação também influenciou a atividade enzimática em todos os tratamentos, ocorrendo menor atividade até os 28 dias, com posterior aumento, evidenciando o restabelecimento da atividade microbiana decorrente de adaptações ao ambiente contaminado com o Cd.

As amilases, pertencentes ao grupo das hidrolases, e que estão ligadas ao ciclo do carbono, catalisam a hidrólise do amido, que é um homopolissacarídeo formado por moléculas de glicose em ligações glicosídicas α 1,4 e α 1,6. Sendo assim, a contaminação por metais via LE pode comprometer a dinâmica do carbono no solo, visto que as amilases são inibidas pelo Cd presente no resíduo.

Tabela 6. Atividade de amilases em lodo de esgoto contaminado e incubado com fontes de cádmio por 58 dias, expressas em $\text{mg kg}^{-1} \text{h}^{-1}$.

Dias de incubação	Amostragem do lodo de esgoto								TESTE F
	0	7	14	21	28	30/03	43	58	
FONTES	16/02/06	23/02	02/03	09/03	16/03	30/03	13/04	13/04	TESTE F
CdCl ₂	113,54 b A	67,50 b B	24,83 ab CD	28,53 a C	9,27 a D	26,11 a CD	60,16 a B	60,16 a B	**
CdSO ₄	102,35 bc A	68,96 b B	38,78 a C	23,84 a CD	13,90 a D	30,66 a CD	62,24 a B	62,24 a B	**
Cd(NO ₃) ₂	90,20 c A	86,20 a A	16,00 b D	22,20 a CD	11,74 a D	35,90 a C	67,71 a B	67,71 a B	**
CdMet.	214,58 a A	73,80 abB	37,30 a C	24,53 a CD	9,91 a D	28,15 a C	62,93 a B	62,93 a B	**
Test.	47,05 d BC	70,63 b A	26,53 ab D	23,34 a DE	8,30 a E	33,70 a CD	53,21 a B	53,21 a B	**
TESTE F	**	**	**	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Interação P x S	35,86 **								CV % (s) = 16,15
									CV % (p) = 14,40

Letras maiúsculas – comparação nas linhas; letras minúsculas – comparação nas colunas. Médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). ** Variância significativa ($P < 0,05$); NS Não significativo.

A redução da eficiência de decomposição de moléculas de glicose por células microbianas foi relatada em solos contaminados com $20 \mu\text{g}^{-1} \text{Cd g}^{-1}$ solo por CHANDER & JOERGENSEN (2001). O aumento na atividade de amilases observada no LE após 28 dias de incubação reflete os efeitos nocivos do Cd nas populações microbianas, no período que sucede à adição do metal pesado.

4.1.2 Arilsulfatases

Avaliando-se os resultados contidos na Tabela 7, verifica-se influência das fontes de cádmio sobre a atividade enzimática durante o período de incubação, assim como do tempo de incubação.

Observaram-se, no período inicial de incubação, alterações na atividade enzimática, sendo que, aos sete dias, detectaram-se os maiores valores de atividade, permitindo a inferência de que o aumento na atividade enzimática da arilsulfatase pode estar relacionado à maior toxicidade das fontes CdCl_2 e CdSO_4 em função da maior solubilidade (BANERJEE et al., 1997), se comparadas com as fontes $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ e Cd metálico. Os tratamentos acrescidos com CdCl_2 e CdSO_4 aumentaram a atividade enzimática no período, ao contrário dos demais tratamentos que diminuiram a atividade. A diminuição na atividade pode ser atribuída aos efeitos nocivos dos metais sobre a biomassa microbiana, diminuindo a síntese de novas moléculas enzimáticas (KANDELER et al., 1997).

O aumento na atividade enzimática pode ser consequência da elevação no número de biomoléculas ou pelas condições favoráveis dos fatores que aumentam a atividade, caso da concentração do substrato, faixa ideal de pH, temperatura, força iônica, presença de ativadores, como o caso do cloreto de sódio em relação à atividade de amilases (MELO, 1989). A elevação de atividade enzimática observada nos tratamentos acrescidos de CdCl_2 e CdSO_4 pode estar relacionada à solubilidade e à toxidez destes sais de Cd, principalmente o CdSO_4 , pois as arilsulfatases catalisam ésteres de sulfato, forma de enxofre orgânico, sendo inibidas por fontes minerais do elemento. Esta inibição exige maior consumo de energia pelos microrganismos e

conseqüentemente maior atividade para garantir a sobrevivência das comunidades microbianas (LEITA et al., 1995), podendo diminuir a disponibilidade de enxofre em solos tratados com LE contaminado com cádmio e comprometer o desenvolvimento das culturas. A solubilidade maior das fontes CdCl_2 e CdSO_4 , em relação à fonte cádmio metálico e $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$, pode explicar a inibição e conseqüentemente o maior estímulo da atividade microbiana. Com a fonte $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$, que apresenta solubilidade menor que as fontes CdCl_2 e CdSO_4 , não observou-se aumento de atividade e sim redução, demonstrando que a microbiota do lodo reage diferentemente em relação às fontes de cádmio, assim como em relação à solubilidade dos contaminantes. Em solos tratados com LE, a atividade enzimática correlaciona-se negativamente com a solubilidade de Cd (MORA et al., 2005).

As atividades enzimáticas a partir dos 14 dias de incubação evidenciam as adaptações sofridas pelas comunidades microbianas com a morte de algumas espécies e disponibilização de substratos para organismos mais resistentes aos efeitos tóxicos dos sais de Cd, favorecendo o restabelecimento da atividade enzimática. A testemunha apresentou comportamento semelhante aos tratamentos que receberam as fontes de cádmio após 14 dias de incubação, evidenciando que não apenas o acréscimo de fontes de cádmio, como também o período de incubação interferiu na atividade das arilsulfatases. As variações na atividade enzimática ao longo do tempo podem ser atribuídas à necessidade de adaptação dos microrganismos aos efeitos nocivos do cádmio, havendo seleção de indivíduos mais resistentes e, conseqüentemente, aumento da atividade em virtude da necessidade de manutenção do metabolismo microbiano para a sobrevivência dos microrganismos.

Tabela 7. Atividade de arilsulfatases em lodo de esgoto contaminado e incubado com fontes de cádmio por 58 dias, expressas em $\mu\text{g g}^{-1} \text{h}^{-1}$.

		Amostragem do lodo de esgoto								
Dias de incubação		0	7	14	21	28	43	58		
FONTES	16/02/06	23/02	02/03	09/03	16/03	30/03	13/04	TESTE F		
CdCl_2	52,07 ab BC	83,24 a A	15,88 a E	35,80 a CDE	42,80 ab BCD	22,98 a DE	61,94 ab AB	**		
CdSO_4	64,21 a B	104,71 a A	17,04 a E	28,80 a CDE	46,26 a BC	19,80 a DE	42,74 b BCD	**		
$\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$	40,11 b AB	29,96 b ABC	10,46 a C	19,88 a BC	21,37 b BC	21,51 a BC	49,70 ab A	**		
CdMet.	47,61 ab AB	34,66 b AB	8,94 a C	38,98 a AB	57,37 a A	28,33 a BC	42,80 b AB	**		
Test.	68,75 a A	16,51 b CD	9,76 a D	33,81 a BC	47,60 a AB	20,86 a CD	67,71 a A	**		
TESTE F	**	**	NS	NS	**	NS	**	**		
Interação P x S	8,95 **		CV % (p) = 31,30			CV % (s) = 28,03				

Letras maiúsculas – comparação nas linhas; letras minúsculas – comparação nas colunas. Médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). ** Variância significativa ($P < 0,05$); NS Não significativo.

4.1.3 Desidrogenases

Quando se observa a atividade de desidrogenases (Tabela 8), verificam-se influências das fontes de cádmio em datas distintas durante o período de incubação, sendo a atividade enzimática alterada após 7, 21, 28 e 58 dias, assim como houve alterações pelo tempo de incubação.

O tratamento testemunha e o que recebeu CdSO_4 apresentaram elevação na atividade de desidrogenases, comparada aos demais tratamentos, permitindo inferir que estes causaram maior toxicidade às enzimas. Em todos os tratamentos com cádmio ocorreu redução significativa na atividade enzimática aos 21 dias, sendo a testemunha o tratamento que apresentou maior atividade no período. Tal comportamento pode ser atribuído à inibição da atividade em função da contaminação de cádmio, não podendo deixar de se considerar também, a possibilidade da síntese de novas moléculas enzimáticas em função do crescimento da população microbiana (MELO, 1989).

A redução da atividade aos 28 dias de incubação pode ser devido à toxicidade dos metais pesados que diminuíram a biomassa microbiana e, como conseqüência, a atividade enzimática (KANDELER et al., 1997). Aos 43 dias não houve diferença de atividade entre os tratamentos, evidenciando nova estabilidade ao se comparar os tratamentos que receberam Cd com a testemunha, podendo atribuir tal comportamento à diminuição do Cd disponível em função da complexação com a matéria orgânica do LE (FLIEBBACH et al., 1994).

A atividade enzimática foi crescente e homogênea entre os tratamentos após 28 dias de incubação, demonstrando possíveis adaptações às contaminações causadas pelos acréscimos de cádmio. A ineficiência dos organismos do solo em utilizar substratos para a própria sobrevivência pode ser atribuída aos efeitos nocivos dos metais pesados (CHANDER e JOERGENEN, 2001). Os efeitos negativos dos metais podem ser mascarados pelos efeitos benéficos da matéria orgânica que atua como substrato para os microrganismos presentes no LE e como agente de complexação de metais pesados (MORENO et al., 1999), diminuindo a toxicidade sobre a atividade de enzimas.

Tabela 8. Atividade de desidrogenases em lodo de esgoto contaminado e incubado com fontes de cádmio por 58 dias, expressas em $\mu\text{g}^{-1} 24\text{h}^{-1}$.

Dias de incubação	Amostragem do lodo de esgoto								TESTE F
	0	7	14	21	28	30/03	13/04	58	
FONTES	16/02/06	23/02	02/03	09/03	16/03	30/03	13/04	58	
CdCl ₂	0,85 a C	1,62 b C	1,58 a C	1,32 b C	1,02 ab C	3,96 a B	4,96 c A		**
CdSO ₄	0,47 a E	3,08 a C	1,70 a D	1,39 b DE	0,52 ab E	4,10 a B	5,06 bc A		**
Cd(NO ₃) ₂	0,79 a CD	1,71 b C	1,57 a C	1,19 b CD	0,34 b D	4,68 a B	5,97 a A		**
CdMet.	1,25 a C	1,90 b C	1,59 a C	1,62 b C	1,27 a C	4,08 a B	5,90 ab A		**
Test.	0,68 a E	3,05 a C	1,88 a D	2,58 a CD	0,20 b E	4,37 a B	6,30 a A		**
TESTE F	NS	**	NS	**	**	NS	**		**
Interação P x S	4,25 **		CV % (P) = 18,01			CV % (S) = 18,63			

Letras maiúsculas – comparação nas linhas; letras minúsculas – comparação nas colunas. Médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05). ** Variância significativa (P<0,05); NS Não significativo.

As desidrogenases são enzimas que estão envolvidas em processos oxidativos de diversas células microbianas e representam a bioatividade geral dos organismos do LE e dos solos. Neste trabalho, a atividade de desidrogenases diminuiu nos primeiros 30 dias de incubação, alertando que o cádmio adicionado ao solo via LE pode comprometer a atividade dos microrganismos e diminuir a taxa de matéria orgânica do solo e a disponibilidade de nutrientes para o crescimento das plantas. As alterações na atividade das desidrogenases, devido à presença de fontes de cádmio, ocorreram em períodos distintos da incubação, não sendo possível generalizar quanto ao efeito nocivo do cádmio durante todo o período em estudo.

4.1.4 Proteases

A atividade de proteases foi maior nos primeiros 14 dias de incubação, diminuindo aos 21 e em seguida sofreu aumentos e diminuições (Tabela 9). Houve aumento nos primeiros sete dias de incubação, exceto para o tratamento que recebeu CdCl_2 , que apresentou diminuição na atividade.

O aumento na atividade enzimática pode estar relacionado à disponibilidade de proteína disponível (KANDELER et al., 1999) no LE e cuja presença pode suplantar o efeito inibitório do Cd sobre a população microbiana (ALLOOWAY, 1995). O aumento da atividade de proteases pode também ser atribuído ao consumo de energia pelos microrganismos que, em ambiente contaminado, podem precisar de maior consumo de nitrogênio protéico, contribuindo para o aumento da atividade enzimática. Verificou-se redução na atividade enzimática após 7 dias de incubação, prolongando-se a queda até os 21 dias, atribuída à elevação no metabolismo dos microrganismos dos tratamentos que receberam Cd em virtude da toxicidade das fontes no período anterior, com demanda maior de nutrientes, incluindo material de natureza protéica.

Esta toxicidade exige maior consumo de energia pelos microrganismos e conseqüentemente maior atividade para garantir a sobrevivência das comunidades microbianas (LEITA et al., 1995). Porém, mesmo com o aumento de atividade aos sete dias, houve tendência de diminuí-la nos tratamentos que receberam Cd, embora o único que diferiu da testemunha foi o que recebeu CdCl₂. As amostras acrescidas de CdSO₄ demonstraram maior estabilidade ao efeito das fontes de Cd até os 58 dias.

A atividade de proteases decresceu em função do tempo de incubação com picos de máxima e mínima atividade, sendo que apenas a fonte CdCl₂, aos sete dias após o início da incubação, alterou a atividade enzimática. A redução da atividade em função do tempo de incubação pode ser atribuída à toxicidade dos metais pesados que diminuíram a atividade enzimática, ocasionando aos organismos do lodo ineficiência em utilizar substratos, devido aos efeitos nocivos dos metais pesados (CHANDER e JOERGENEN, 2001). Verificou-se, também, que a atividade foi decrescente ao longo do tempo de incubação em todos os tratamentos, apresentando picos de máxima atividade aos 7 e 28 dias e mínima aos 21 e 43 dias. A atividade foi menor ao final do período de incubação, não sendo detectadas diferenças significativas entre os tratamentos e, possivelmente, quaisquer decréscimos foram dependentes da população de microrganismos e do número de moléculas ativas de proteases.

4.2 Produção de matéria seca e grãos da planta

Observa-se (tabela 10) que não houve diferença na produção de grãos e matéria seca do sorgo granífero, quando se comparou a produção entre os tratamentos com lodo incubado e não incubado, assim como, quando se compararam as fontes de cádmio. Estes resultados podem ser atribuídos aos baixos teores de cádmio encontrados nas análises de terra, apresentando valores entre 0,1 mg kg⁻¹ para teores extraídos por DTPA-TEA pH 7,3 e 1,5 mg Cd kg⁻¹ lodo para teores totais extraídos por digestão fluorídrica. Constatou-se, com esses resultados, que a forma de preparo do lodo, incubado e não incubado, assim como as fontes acrescidas utilizadas, não alteraram a produção de grãos e matéria seca das plantas.

O acréscimo na produção de grãos e matéria seca pela cultura do sorgo granífero deve-se aos benefícios agronômicos do LE, assim como da calagem, como o aumento na disponibilidade de nutrientes, elevação no teor de MO com aumento na CTC (BATAGLIA et al., 1983; MELO et al., 1994; BERTON et al., 1997). Diversos trabalhos comprovam aumento na produção de matéria seca e grãos pelas culturas que receberam aplicações de LE.

Os dados encontrados neste trabalho corroboram com os resultados encontrados por OLIVEIRA (1995) que, utilizando um Latossolo vermelho escuro textura média, com doses acima de 4 Mg ha⁻¹ após 120 dias de cultivo, verificou aumento na produção de matéria seca total na cultura do sorgo. O mesmo autor observou acréscimo na produção de matéria seca por plantas de sorgo granífero com a aplicação de doses de LE de até 20 Mg ha⁻¹.

Aumentos lineares na produção de matéria seca de milho cultivado em solos tratados com doses crescentes de LE até 16Mg ha⁻¹ foram relatados por BERTON et al. (1997) que, utilizando biossólido associado ou não à calagem, verificaram aumento na produção de matéria seca da cultura. O uso de biossólido de siderurgia incrementa a produção de matéria seca em plantas de sorgo em dois tipos de latossolos, LV distrófico e LE distrófico (DEFELIPO et al., 1991). A utilização de 64 Mg ha⁻¹ de biossólido da ETE SABESP - SP aumentou a produção de grãos de sorgo em Latossolo Vermelho-Escuro distrófico textura média (ANDRÉ, 1994).

Trabalhos com o LE obtido na ETE da SABESP em Barueri, região metropolitana de São Paulo, também comprovam aumento na produção de colmos e açúcar em plantas de cana-de-açúcar cultivadas em Terra Roxa Estruturada (SILVA et al., 1998). A maior influência da porção orgânica do LE nas propriedades químicas do solo está na alteração do seu complexo coloidal e na capacidade de troca catiônica. O aumento do pH do solo, diminuição da acidez potencial e do alumínio trocável são atributos que influenciam uma maior produção das culturas.

Tabela 10. Produção de matéria seca e grãos de sorgo granífero, 120 dias após o cultivo em Lvd, tratado com lodo de esgoto e acrescido de fontes de cádmio.

Testemunha	Matéria seca 19,87	Grãos 20,63
Lodo de Esgoto		
Incubado	29,65 a	39,57 a
Não incubado	29,24 a	38,67 a
Fontes de Cádmio		
CdCl ₂	28,69 a	38,89 a
CdSO ₄	29,42 a	40,66 a
Cd(NO ₃) ₂	29,81 a	39,47 a
Cd Metálico	29,86 a	37,47 a
Média Geral	28,39	37,10
Desvio Padrão	1,88	3,50
CV (%)	6,63	9,43

Letras minúsculas – comparação nas colunas. Médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

A adição de resíduos nos solos promove o aumento da atividade bioquímica, favorecendo a ciclagem de nutrientes, disponibilizando nutrientes essenciais para as plantas e elevação da produção de grãos e matéria seca das culturas (ANDRÉ, 1994; VOLPE, 1995; BERTON et al., 1997; BANERJEE et al., 1997; MORENO et al., 1999; PASSIANOTO et al., 2001).

O LE é um resíduo que altera as propriedades físicas, químicas e biológicas do solo, melhora o nível de fertilidade, aumenta o teor de MO, eleva a capacidade de troca catiônica, fornecendo nutrientes às plantas e promove o crescimento de microrganismos fundamentais à ciclagem de nutrientes, como as arilsulfatases e proteases. Contudo, não há dúvidas de que o LE, utilizado de forma técnica e segura, é um extraordinário fertilizante orgânico que incrementa a produção das culturas agrícolas.

4.3 Extração de Cádmi

4.3.1 Teores do lodo de esgoto incubado

Os teores de cádmio extraídos por Mehlich I (figura 1) e DTPA-TEA pH 7,3 (figura 2) no LE, após 58 dias de incubação, com fontes do metal, demonstram que não houve alterações entre os tratamentos com fontes de cádmio, extraídos com ambos extratores, variando entre 38,7 (cádmio metálico) e 43,5 mg kg⁻¹ (CdCl₂) com o extrator Mehlich I, e 33,54 (cádmio metálico) e 33,12 mg kg⁻¹ com o extrator DTPA-TEA pH 7,3.

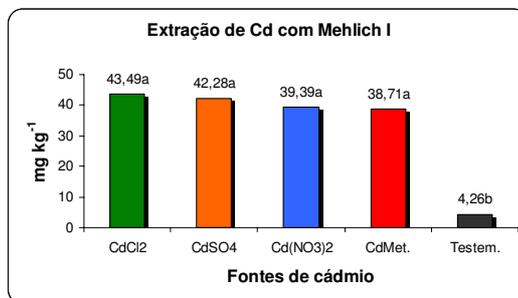


Figura 1. Teores de cádmio extraídos por Mehlich I em lodo de esgoto incubado durante 58 dias com diferentes fontes do metal.

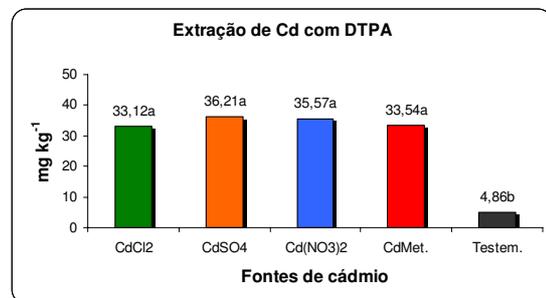


Figura 2. Teores de cádmio extraídos por DTPA em lodo de esgoto incubado durante 58 dias com diferentes fontes do metal.

Os resultados apresentados permitem a inferência de que os extratores Mehlich I e DTPA-TEA pH 7,3 são adequados para quantificar os teores de cádmio no resíduo nas condições experimentais estudadas, visto que, do teor inicial no resíduo de 8,70mg kg⁻¹ de cádmio foram extraídos 4,26 mg kg⁻¹ com Mehlich I, o que representa 49 % do total de cádmio presente no lodo incubado, ou seja, extraiu-se metade do cádmio presente no resíduo. Ao avaliar os teores após o acréscimo das fontes, que aumentou de 8,70mg kg⁻¹ para 60,00 mg kg⁻¹ de cádmio, o extrator Mehlich I extraiu o equivalente a 73%, 71%, 67% e 65% do total de cádmio presente no resíduo para as fontes CdCl₂, CdSO₄, Cd(NO₃)₂ e cádmio metálico, respectivamente, não havendo diferença entre as fontes nos teores de cádmio extraído.

Para teores extraídos com DTPA-TEA pH 7,3, na testemunha, extraiu-se 56% do total presente do metal, sendo mais da metade da quantidade deste existente no lodo incubado. Avaliando os teores após o acréscimo das fontes do metal, que cresceu de $8,70\text{mg kg}^{-1}$ para $60,00\text{ mg kg}^{-1}$ de cádmio, o extrator DTPA-TEA pH 7,3 extraiu o equivalente a 55%, 60%, 59% e 56% do total de cádmio presente no resíduo para as fontes CdCl_2 , CdSO_4 , $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ e cádmio metálico, respectivamente, não havendo diferença entre as fontes nos teores de cádmio extraído.

Quando comparados os teores de cádmio extraídos por Mehlich I e DTPA-TEA pH 7,3, verifica-se que, na testemunha, sem acréscimo de fontes de cádmio, o extrator DTPA-TEA pH 7,3 recuperou 56%, enquanto o extrator Mehlich I recuperou 49%, sendo o DTPA-TEA pH 7,3 mais eficiente nas condições estudadas. Porém, quando avaliamos as extrações em relação às fontes de cádmio adicionadas, verifica-se maior eficiência do extrator Mehlich I, recuperando teores maiores que o extrator DTPA-TEA pH 7,3.

Ambos os extratores são recomendados para cádmio em solos, porém neste trabalho com LE, o extrator que recuperou maiores teores de cádmio foi o Mehlich I, que extraiu quantidades de cádmio superiores à metade do presente no LE.

4.3.2 Extração do solo com DTPA

Os resultados obtidos nas análises realizadas, nas condições em que foi desenvolvido o experimento, permitem fazer as observações que seguem.

No tratamento principal, lodo incubado e não incubado, os teores de cádmio extraídos do solo pelo extrator DTPA-TEA pH 7,3 aos 60 dias de cultivo com sorgo granífero (Tabela11) foram maiores com LE incubado comparado ao tratamento sem incubação.

Tabela 11. Teores de cádmio extraídos por DTPA, ácido nítrico (HNO₃) e ácido fluorídrico (HF), em LVd tratado com 10Mg kg⁻¹ lodo de esgoto, aos 60 dias de cultivo do sorgo granífero.

Lodo de Esgoto	EXTRATORES		
	DTPA	HNO ₃	HF
		mg kg ⁻¹	
Incubado	0,11 a	0,72 a	1,48 a
Não incubado	0,10 b	0,63 b	1,47 a
Fontes de Cádmio		mg kg ⁻¹	
CdCl ₂	0,12 a	0,67 a	1,58 a
CdSO ₄	0,10 a	0,68 a	1,44 a
Cd(NO ₃) ₂	0,10 a	0,65 a	1,44 a
Cd Metálico	0,11 a	0,70 a	1,46 a
Média Geral	0,09	0,63	1,45
Desvio Padrão	0,02	0,09	0,12
CV (%)	24,43	13,44	8,42

Letras minúsculas – comparação nas colunas. Médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Tabela 12. Teores de cádmio extraídos por DTPA, ácido nítrico (HNO₃) e ácido fluorídrico (HF), em LVd tratado com 10Mg kg⁻¹ lodo de esgoto, aos 120 dias de cultivo do sorgo granífero.

Lodo de Esgoto	EXTRATORES		
	DTPA	HNO ₃	HF
		mg kg ⁻¹	
Incubado	0,13 a	0,66 a	1,37 a
Não incubado	0,11 b	0,59 b	1,37 a
Fontes de Cádmio		mg kg ⁻¹	
CdCl ₂	0,13 a	0,61 a	1,32 a
CdSO ₄	0,12 a	0,63 a	1,38 a
Cd(NO ₃) ₂	0,12 a	0,61 a	1,40 a
Cd Metálico	0,12 a	0,65 a	1,40 a
Média Geral	0,11	0,60	1,35
Desvio Padrão	0,02	0,04	0,11
CV (%)	14,42	6,72	7,85

Letras minúsculas – comparação nas colunas. Médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Estes resultados demonstram que o tratamento destinado ao LE após a adição de Cd influencia a disponibilidade do metal no solo e conseqüentemente pode influenciar a produção das culturas, visto que o cádmio é um elemento tóxico às plantas. Durante o período de incubação podem ter ocorrido transformações como oxidação, formação de complexos solúveis, dentre outras, que podem afetar a disponibilidade do metal (BAUTISTA & ALEXANDER, 1972).

Os elementos metálicos podem ter sofrido inúmeras transformações e estão sujeitos à mineralização e à imobilização na biomassa microbiana, ocorrendo interferência direta nos teores extraídos dos metais, porém pouco se conhece a respeito da capacidade dos organismos do solo em acumular metais, especialmente daqueles sem função fisiológica conhecida, como o Cd (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006).

Resultados semelhantes foram encontrados nas análises de solos aos 120 dias de cultivo do sorgo granífero (tabela 12), sendo o tratamento com LE incubado o que disponibilizou maiores quantidades de cádmio, comparado com o tratamento sem incubação, comprovando que a incubação interferiu na disponibilidade de cádmio.

Avaliando os tratamentos secundários de fontes de cádmio, não houve diferença entre os tratamentos, sendo que todas as fontes disponibilizaram, independente do par iônico, teores semelhantes do elemento metálico em estudo. Considera-se $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$ como valor de referência de cádmio em solos não contaminados. Sendo assim, os teores extraídos por DTPA-TEA pH 7,3, apresentam-se abaixo do valor de referência.

4.3.3 Extração do solo com HNO_3

Ao avaliar os resultados obtidos (tabela 11 e 12), observa-se que as quantidades de cádmio extraídas por digestão nítrica, USEPA (1995), no tratamento com lodo incubado e não incubado, apresentaram maiores valores com o LE incubado, diferindo do tratamento com lodo não incubado. O extrator ácido (HNO_3) recuperou quantidades superiores de cádmio presente no solo tratado com LE incubado, comparado com valores de cádmio presente no solo com LE não incubado. Estes resultados

apresentam mesma tendência de extração com referência ao tratamento principal, sendo que os valores extraídos por DTPA-TEA pH 7,3 também apresentaram maiores valores, quando avaliados no solo com LE incubado.

A baixa porcentagem de recuperação do metal pode ser devido à formação de complexos insolúveis (OLIVEIRA, 1998). O efeito da adsorção da matéria orgânica provavelmente substitui o efeito do pH no controle da biodisponibilidade dos metais no solo (KING e DUNLOP, 1982). Outras formas de insolubilização também podem ter ocorrido como precipitação e coprecipitação com óxidos de ferro, alumínio e manganês.

Outro fator que pode condicionar a disponibilidade de metais nos solos é a atividade de microrganismos, influenciada pelos tratamentos do resíduo que interferiu nos teores do metal. Os maiores valores verificados no tratamento com LE incubado podem ser em função da complexação dos metais, toxicidade e posterior liberação do elemento no solo, por meio da decomposição da comunidade microbiana, pois a biomassa microbiana é capaz de seqüestrar íons metálicos em soluções aquosas mesmo quando as células estão mortas. Outro fator que governa a disponibilidade dos elementos-traço é a sua concentração na solução do solo, a qual, por sua vez, depende da liberação do elemento retido em seus componentes sólidos, por meio da dessorção. Estes processos de ligação dos elementos-traço podem ter resultado na formação de complexos de esfera interna com microrganismos, que utilizam o metal e são de liberação mais lenta e difícil, podendo ocorrer apenas após a morte e decomposição do organismo no solo (OLIVEIRA, 2004).

Os teores disponíveis de cádmio nos tratamentos secundários com fontes do metal não apresentaram diferença entre os tratamentos, concluindo-se que, independente do par iônico presente, os teores do elemento disponível no solo não sofreram alterações.

4.3.4 Extração do solo com HF

Os teores totais de cádmio no solo, ao contrário dos teores extraídos com DTPA-TEA pH 7,3 e HNO₃, não foram influenciados pelo tratamento de incubação do lodo,

não sendo encontrada diferença entre os tratamentos, assim como, entre as fontes de cádmio acrescidas. Os valores superiores, comparados aos valores extraídos por digestão nítrica (USEPA, 1995), comprovam a eficiência do ácido fluorídrico em extrair todos os metais presentes no solo. A maior fração recuperada pelo extrator HF deve-se provavelmente à capacidade do mesmo em desestruturar óxidos de ferro e alumínio não cristalinos e cristalinos até frações residuais, e também moléculas orgânicas, tornando o metal disponível à quantificação.

Os valores totais de cádmio, superiores aos valores extraídos por DTPA – TEA pH 7,3 e HNO₃, podem estar relacionados ao elemento complexado nas moléculas orgânicas dos microrganismos e moléculas enzimáticas, quando comparadas ao elemento livre em solução e adsorvido de forma não específica às partículas do solo. Sendo assim, teores extraídos por DTPA e HNO₃ quantificam formas livres em solução e podem ser recuperados por extratores orgânicos com menor potencial de extração do metal. Estes resultados eram esperados, visto que o HF tem grande potencial para desestruturar silicatos nos solos e conseqüentemente moléculas orgânicas e enzimáticas.

Considerando-se a grande importância dos microrganismos na ciclagem de carbono, nitrogênio e outros nutrientes por meio da decomposição do material orgânico do solo, formação de húmus, fixação de nitrogênio e outros processos, a atividade enzimática em solos decorrente do uso de resíduos pode ser afetada por metais não quantificados por extratores convencionais como DTPA, sendo necessária a quantificação total desses contaminantes. A capacidade de sobrevivência à toxidez por metais pode ser devido a características inerentes ao organismo, especialmente de sua parede celular ou de sua capacidade de interagir com os metais pesados que entram na célula, por meio de sistemas de transporte modificado, ligações intracelulares e compartimentização ou transformação (GADD, 1993). Esses metais podem estar disponíveis na solução do solo de forma livre ou complexados à matéria orgânica, e até mesmo adsorvidos especificamente, e mesmo assim, tornarem-se tóxicos aos microrganismos e causarem efeitos inibitórios na biomassa microbiana.

Os teores de cádmio que podem ter causado redução da atividade microbiana e, até mesmo, provocado substituições de populações de microrganismos que habitam o solo, podem não ter sido quantificados pelos extratores DTPA-TEA pH7,3 e HNO₃, dificultando a elucidação dos processos de contaminação de microrganismos por metais. Os valores totais de cádmio extraídos por HF demonstram que esse método de extração é capaz de quantificar nos solos valores antes não elucidados por extratores convencionais como DTPA e HNO₃. Poucos estudos relatam os efeitos específicos de metais pesados em resíduos e nas comunidades microbianas do lodo.

Contudo, teores totais de metais quantificados nos solos são de extrema importância para o entendimento dos processos de contaminação e toxidez de microrganismos, disponibilizando índices necessários para identificar problemas em áreas de produção, monitorar a mudança na qualidade do solo relacionado ao manejo de uma agricultura sustentável, e à assistência na formulação e avaliação do uso da terra (SIQUEIRA et al., 1994). Este trabalho contribuiu, portanto, para uma melhor compreensão da relação entre metais, resíduos e microrganismos e seus diferentes sistemas de manejo e mudanças resultantes na ecologia microbiana do solo e suas funções, sendo extremamente importante e necessário para o desenvolvimento de sistemas de produção mais eficientes e sustentáveis.

5. CONCLUSÕES

- As fontes de cádmio adicionadas ao LE alteraram a atividade enzimática de amilases, arilsulfatases, desidrogenases e proteases.

- A produção de matéria seca e grãos pela cultura do sorgo granífero não foram influenciadas pelos tratamentos no lodo, assim como, pelas fontes acrescidas de cádmio.

- A extração de cádmio no solo foi influenciada pelo período de incubação.

6. REFERÊNCIAS

ABREU, C. A.; ABREU, M. F.; RAIJ, B. VAN; SANTOS, W. R. Comparação de métodos de análise para avaliar a disponibilidade de metais pesados em solos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.19, n.3, p.463-468, 1995.

ADRIANO, D. C. **Trace elements in the terrestrial environment**. New York: Spring, 1986. 533p.

ALLOWAY, B. J. Cadmium. In: ALLOWAY, B. J. (Ed.). **Heavy metals in soils**. Glasgow: Blackie and Son, 1995. p.107-108.

ALLOWAY, B. J. The origin of heavy metals in soils. In: ALLOWAY, B. J. (Ed.). **Heavy metals in soils**. New York: John Wiley, 1990a. p. 29-39.

ALLOWAY, B. J. Cadmium. In: ALLOWAY, B. J. (Ed.). **Heavy metals in soils**. New York: John Wiley, 1990b. p. 122 -151.

ANDERSON, T. H.; DOMSCH, K. H. The metabolic quotient for CO₂ (qCO₂) 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**, Elmsford, v.25, n.3, p.393-395, 1993.

ANDRADE, C. A. **Nitratos e metais pesados no solo e em plantas de Eucalyptus grandis após aplicação de bio sólido da ETE de Barueri**. 1999. 65f. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1999.

ANDRE, E. M. **Atividade biológica do solo e disponibilidade de nutrientes e metais pesados para a cultura do sorgo granífero em solo acrescido de lodo de esgoto**.

1994. 123f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1994.

ANDREOLI, C. V.; PEGORINI, E. S.; FERNANDES, F. Disposição do lodo no solo. In: VON SPERLING, M.; ANDREOLI, C. V.; FERNANDES, F. (Ed.). **Lodo de esgotos: tratamento e disposição final**. Belo Horizonte: DESA-UFMG, 2001. p.319-397. (Princípios do tratamento biológico de águas residuárias, v.6)

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Classificação de resíduos sólidos**: NBR-10004. Rio de Janeiro, 1987.

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

BANERJEE, M. R.; BURTON, D. L.; DEPOE, S. Impact of sewage sludge application on soil biological characteristics. **Agriculture Ecosystem Environmental**, Amsterdam, v.66, n.3, p.241-249, 1997.

BAUTISTA, E. M.; ALEXANDER, M. Reduction of inorganic compounds by soil microorganisms. **Soil Science Society America Proceedings**, Madison, v.36, p.918-920, 1972.

BERTON, R. S. Riscos de contaminação do agroecossistema com metais pesados. In: BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A. (Ed). **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto**. Jaguariúna: EMBRAPA Meio Ambiente, 2000. p.259-268.

BERTON, R. S.; VALADARES, J. M. A. S.; CAMARGO, O. A.; BATAGLIA, O. C. Peletização do lodo de esgoto e adição de CaCO₃ na produção de matéria seca e

absorção de Zn, Cu e Ni pelo milho em três Latossolos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.21, n.4, p.685-691, 1997.

BERTONCINI, E. I.; MATTIAZZO, M. E. Lixiviação de metais pesados em solos tratados com lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.23, n.3, p.737-744, 1999.

BOARETO, A. E.; MURAO, K. A. T.; NAKAGAWA, J.; CHITOLINA, J. C. Níquel e Cádmio em grãos de feijão produzidos em solo incubado com Le. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 20., 1992, Piracicaba. **Anais...** Campinas: Fundação Cargil, 1992. p. 400-401

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

CAMARGO, O. A. de; ALLEONI, L. R. F.; CASAGRANDE, J. C. Reações dos micronutrientes e elementos tóxicos. In: FERREIRA, M. E.; CRUZ, M. C. P. da; RAIJ, B. van; ABREU, C. A. de (Ed.). **Micronutrientes e elementos tóxicos na agricultura**. Jaboticabal: CNPq/FAPESP/ POTAFOS, 2001. p. 89-124.

CAMARGO, O. A.; MONIZ, A. C.; JORGE, J. A.; VALADARES, J. M. A. S. **Métodos de análise química, mineralógica e física de solos do Instituto Agrônomo de Campinas**. Campinas: IAC, 1986. 94p. (Boletim Técnico, 106).

CESÁRIO SILVA, S. M.; FERNANDES, F.; SOCCOL, V. T.; MORITA, D. M. Principais contaminantes do lodo. In: VON SPERLING, M.; ANDREOLI, C. V.; FERNANDES, F. (Ed.). **Lodo de esgotos: tratamento e disposição final**. Belo Horizonte: DESA-UFMG, 2001. p.61-121. (Princípios do tratamento de águas residuárias, v.6).

CHANDER, K.; JOERGENSEN, R. G. Decomposition of ^{14}C glucose in two soils with different amounts of heavy metal contamination. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v.33, n.13, p.1811-1816, 2001.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. **Aplicação de lodos de sistemas de tratamento biológico em áreas agrícolas**: critérios para projeto e operação. São Paulo: CETESB, 1999. 32p. (Manual Técnico).

DAI, J.; BECQUER, T.; ROUILLER, J. H.; REVERSAT, G.; REVERSAT-BERNHARD, F.; LAVELLE, P. Influence of heavy metals on C and N mineralisation and microbial biomass in Zn-, Pb-, Cu-, and Cd-contaminated soils. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v.25, n.2, p.99-109, 2004.

DEFELIPO, B. V.; NOGUEIRA, A. V.; LOURES, E. G.; ALVAREZ, Z. V. H. Eficiência agrônômica do lodo de esgoto proveniente de uma siderúrgica. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.15, n.3, p.389-393, 1991.

DOELMAN, P.; HAANSTRA, L. Effect of lead on soil respiration and dehydrogenase activity. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v.11, n.5, p.475-479, 1979.

ESTAT: sistema para análises estatísticas (V. 2.0). Jaboticabal: Departamento de Ciências Exatas, FCAV-UNESP, 1994.

FERNANDES, F.; ANDREOLI, C. V. (Coord.). **Manual técnico para utilização agrícola do lodo de esgoto no Paraná**. Curitiba: SANEPAR, 1997. 96p.

FILHO, J. A. S.; MACHT, A. **Roteiro complementar de licenciamento e fiscalização**: indústria de papel e celulose. Recife: CPRH/GTZ, 1998. 95p.

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

GADD, G. M. Metals and micro-organisms: a problem of definition. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v.100, p.197-204, 1993

GLORIA, N. A. Uso agrônômico de resíduos. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 20., 1992, Piracicaba. **Anais...** Campinas: Fundação Cargil, 1992. p.195-212.

HIROKI, M. Effects of heavy metal contamination on soil microbial population. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v.38, n.1, p.141-147, 1992.

JACKSON, M. L. **Soil chemical analysis**. New Jersey: Prentice Hall, 1958. 498p.

JENKINSON, D. S.; LADD, J. N. Microbial biomass in soils: measurement and turnover. In: PAUL, E. A.; LADD, J. N. (Ed.). **Soil biochemistry**. New York: Marcel Decker, 1981. p.415-471.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants**. Florida: CRC Press, 1992. 365p.

KANDELER, E.; PALLI, S.; STEMMER, M.; GERZABEK, M.H. Tillage changes, microbial biomass and enzyme activities in particle-size fractions of a Haplic Chernozem. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 31, n.9, p.1253-1264, 1999.

KANDELER, E.; KAMPICHLER, C.; HORAK, O. Influence of heavy metals on the functional diversity of soil microbial communities. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v.23, n.3, p.299-306, 1997.

KIEKENS, L.; COTTENIE, A. Principles of investigations on the mobility and plant uptake of heavy metals. In: LESCHEBER, R.; DAVIS, R. D.; L'HERMITÉ, P. (Ed.). **Chemical methods for assessing bio-available metal in sludges and soils**. London: Elsevier, 1985. p.32-41.

KING, L. D.; DUNLOP, W. R. Application of sewage sludge in soils high inorganic matter. **Journal Environmental Quality**, Madison, v. 11, p.608 – 616, 1982.

KOOKANA, R. S.; NAIDU, R. Effect of soil solution composition on cadmium transport through variable charge soils. **Geoderma**, Amsterdam, v.84, n.1-3, p.235-248,1997.

LADD, J. N.; BUTLER, J. H. A. Short-term assay of soil proteolytic enzyme activities using proteins and dipeptide derivatives as substrates. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v.4, n.1, p.19-30, 1972.

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

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 Soil**, Berlin, v.19, n.2, p.103-108, 1995.

LINDSAY, W. L.; NORVELL, W. A. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese and copper. **Soil Science Society America Journal**, Madison, v.42, n.3, p.421-428, 1978.

MALAVOLTA, E. **Fertilizantes e seu impacto ambiental: metais pesados, mitos, mistificação e fatos.** São Paulo: Produquímica, 1994. 119p.

MATTIAZZO-PREZOTTO, M. E. **Comportamento de cobre, cádmio, cromo, níquel e zinco adicionados a solos de clima tropical em diferentes valores de pH.** 1994. 197f. Tese (Livre Docência) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1994.

MARQUES, M. O.; MELO, W. J.; MARQUES, T. A. Metais pesados e o uso de biossólidos na agricultura. In: TSUTIYA, M. T. **Biossólido na agricultura.** São Paulo: SABESP, 2001. p. 365 - 403.

MELO, V. P. **Propriedades químicas e disponibilidade de metais pesados para cultura do milho em dois latossolos que receberam adição de biossólido.** 2002. 134f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2002.

MELO, W. J.; MARQUES, M. O.; MELO, V. P. O uso agrícola do biossólido e as propriedades do solo. In: TSUTIYA, M. T. **Biossólido na agricultura.** São Paulo: SABESP, 2001. p. 289-363.

MELO, W. J.; MELO, G. M. P. de; BERTIPAGLIA, L. M. A.; MELO, V. P. **Experimentação sob condições controladas.** Jaboticabal: FUNEP, 1998a. 82p.

MELO, W. J.; PEREIRA, M. L.; MURAOKA, T.; MARQUES, M. O.; MELO, G. M. P.; MELO, V. P. Efeito do lodo de esgoto, acrescido de cádmio, sobre plantas de sorgo cultivadas em latossolo. In: SEMINÁRIO SOBRE GERENCIAMENTO DE BIOSSÓLIDOS DO MERCOSUL, 1., 1998, Curitiba. **Anais...** Curitiba: Companhia de Saneamento do Paraná, 1998b. p. 191-199.

MELO, W. J.; MARQUES, M. O.; SILVA, F. C.; BOARETTO, A. E. Uso de resíduos sólidos urbanos na agricultura e impactos ambientais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 26., 1997, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: SBCS, 1997. 1 CD-ROM.

MELO, W. J.; MARQUES, M. O.; SANTIAGO, G.; CHEELI, R. A.; LEITE, S. A. S. Efeito de doses crescentes de lodo de esgoto sobre frações da matéria orgânica e CTC de um latossolo cultivado com cana de açúcar. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 18, n. 3, p. 449-455, 1994.

MELO, W. J.; PIZAURO JR., J. M.; SARTORI, J. L.; KANESIRO, M. A. B. Amilase em solos do município de Jaboticabal (SP). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 7, n. 2, p. 213-215, 1983.

MELO, W. J. Enzimas no solo. In: MONIZ, A. C. (Ed.). **A responsabilidade social da ciência do solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1989. p.365-378.

MICHAELIS: dicionário da língua portuguesa. São Paulo: Editora Melhoramentos Ltda., 2002, 869p.

MORA, A. P.; ORTEGA-CALVO, J. J.; CABRERA, F.; MADEJÓN, E. Changes in enzyme activities and microbial biomass after “in situ” remediation of a heavy metal-contaminated soil. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v 28, n.2, p.125–137, 2005.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. Ecologia do solo. In: **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: UFLA, 2006. p. 83-161.

MORENO, J. L.; GARCIA, C.; HERNÁNDES, T. Toxic effect of cadmium and nickel on soil enzymes and the influence of adding sewage sludge. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 54, n. 2, p.377-386, 2003.

MORENO, J. L.; HERNÁNDEZ, T.; PEREZ, A.; GARCÍA, C. Toxicity of cadmium to soil microbial activity: effect of sewage sludge addition to soil on the ecological dose. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 21, n.2, p.149-158, 2002.

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

MORTVED, I. J. Cadmium levels in soils and plant from some long-term soil fertility experiments in United States of America. **Journal Environmental Quality**, Madison, v.16, p.137-142, 1987.

NAHAS, E. A produtividade das culturas e a preservação do ambiente pelo uso de resíduos agrícolas. In: GIANELLO, C. (Ed.). **Produzir sem degradar**. Porto Alegre: UFRGS/DS, 1993. p.111-140.

NANNIPIERI, P.; CECCANTI, B.; CERVELLI, S.; MATARESE, E. Extraction of phosphatase, urease, proteases, organic carbon, and nitrogen from soil. **Soil Science Society America Journal**, Madison, v.44, n.5, p. 1011-1016, 1980.

NOGUEIRA, A. V. **Eficiência agrônômica como fertilizante, de um lodo de esgoto e de dois resíduos provenientes de indústria siderúrgicas**. 1990. 85f. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1990.

OHYA, H.; FUJIWARA, S.; KOMAI, Y.; YAMAGUCHI, M. Microbial biomass and activity in urban soils contaminated with Zn and Pb. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v.6, n.1, p.9-13, 1988.

OLIVEIRA, V. C. **Atividade enzimática, população e análise de DNA da biodiversidade microbiana do solo em agroecossistemas do semi-árido**. 2004. 108f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Aplicada) – Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2004.

OLIVEIRA, F. C; MATTIAZZO, M. E. Mobilidade de metais pesados em um Latossolo Amarelo distrófico tratado com lodo de esgoto e cultivado com cana-de-açúcar. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.58, n. 4, p.807-812, 2001.

OLIVEIRA, C. **Avaliação do potencial de contaminação de dois solos agrícolas com lodo de esgoto enriquecido com cádmio, chumbo e zinco**. 1998. 191p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1998.

OLIVEIRA, F. C. Metais pesados em formas nitrogenadas em solos tratados com lodo de esgoto. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 52, n.2, p.360-367, 1995.

OLIVER, M. A. Soil and human health: a review. **European Journal Soil Science**, Oxford, v.48, n.4, p.573–592, 1997.

PASSIANOTO, C. C.; CASTILHOS, D. D.; CASTILHOS, R. M. V.; LIMA, A. C. R. de ; LIMA, C. L. R. de. Microbial activity and biomass in soil affected by two tannery sludges additions. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 7, n. 2, p.125-130, 2001.

PIMENTEL GOMES, F. **Estatística experimental**. 8. ed. São Paulo: Nobel, 1978. p.295-322.

RAIJ, B. van; CANTARELA, H.; SAWAZAKI, E. Sorgo-granífero, forrageiros e vassouras. In: RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLAN, A. M. C.

Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo. 2. ed., rev. atual. Campinas: Instituto Agronômico, 1997. 285p. (Boletim Técnico, 100).

RAIJ, B. van; QUAGGIO, J. A.; CANTARELLA, H.; FERREIRA, M. E.; LOPES, A. S.; BATAGLIA, O. C. **Análise química do solo para fins de fertilidade.** Campinas: Fundação Cargil, 1987. 170p.

RAMALHO, J. F. G. P.; AMARAL SOBRINHO, N. M. B.; VELLOSO, A. C. X. Contaminação da microbacia de caetés com metais pesados pelo uso de agroquímicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, n.7, p. 1289-1303, 2000.

SANTOS, H. F.; TSUTIYA, M. T.; MIKI, M. K.; EBERT, R.; DELATORRE, C.; FURUKAWA, N. A.; MAYOR, M. S.; KAMIYAMA, H.; MACEDO, L. S.; MORAES, I. P. S. **Crítérios para o uso agrícola dos biossólidos de ETEs da SABESP.** São Paulo: SABESP, 1997. 35 p.

SARRUGE, J. R.; HAAG, H. P. **Análises químicas em plantas.** Piracicaba: ESALQ, 1974. 56p

SILVA, F. C. da. **Manual de análises de solos, plantas e fertilizantes.** Campinas: Embrapa Solos, 1999. 370p.

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

SIMONETE, M. A. **Alterações nas propriedades químicas de um argissolo adubado com lodo de esgoto e desenvolvimento e acúmulo de nutrientes em plantas de**

milho. 2001. 89f. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

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

SIMONETE, M. A.; KIEHL, J. C.; ANDRADE, C. A.; TEIXEIRA, C. F. A. Efeito do lodo de esgoto em um Argissolo e no crescimento e nutrição de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.38, n.10, p.1187-1195, 2003.

SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S; GRISI, B. M.; HUNGRIA, M.; ARAUJO, R. S.; **Microrganismos e processos biológicos do solo**: perspectiva ambiental. Brasília: EMBRAPA- SPI, 1994. 142p. (Documentos, 45).

SOBRINHO, P. A. Tratamento de esgoto e geração de lodo. In: TSUTIYA, M. T. **Biossólido na agricultura**. São Paulo: SABESP, 2001. p. 7-40.

STUCZYNSKI, T. I.; McCARTY, G. W.; SIEBIELEC, G. Response of soil microbiological activities to cadmium, lead, and zinc salt amendments. **Journal Environmental Quality**, Madison, v. 32, n. 4, p.1346-1355, 2003.

TABATABAI, M. A.; BREMNER, J. M. Arilsulphatase activity of soils. **Soil Science Society American Proceedings**, Madison, v.34, n.2, p.225-229, 1970.

THALMANN, A. Zur methodic der bestimmung dehydrogenaseaktivitat in bodemn mittels triphenyltetrazoliumchlorid (TTC). **Landwirtschaftliche Forschung**, Frankfort, v.21, p. 249-258, 1968.

TEDESCO, M. J.; SELBACH, P. A.; GIANELO, C.; CAMARGO, A. O. Resíduos

orgânicos no solo e os impactos no ambiente. In: SANTOS, G. A.; CAMARGO, F. A. O. **Fundamentos da matéria orgânica do solo**. Porto Alegre: GENESIS, 1999. p.159-198

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **EPA/832-B- 93-005**: a guide to the biossolids risk assessments for the EPA Part 503 rule. Washington, 1995. 143p.

VOLPE, A. **Absorção de NPK por azevém e atividade enzimática de um latossolo tratado com biossólido contaminado com cádmio**. 1995. 74f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1995.

XIU, H.; TAYLOR, J. W.; TADESSE, W.; ADRIANO, D. C. Comparison of extractants for available sludge-borne metals: a residual study. **Water Air Soil Pollution**, Dordrecht, v.57-58, p.913-922, 1991.

YAMAUTI, M. S.; MELO, W. J.; SOUSA, J. I.; NUNES, A. S.; MODA, L. S.; MELO, V. P. Atividade de amilase e arilsulfatase em Latossolo sob plantio direto de milho safrinha fertilizado com biossólido. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 16., 2004, Ilha Solteira. **Anais...** Ilha Solteira: Universidade Estadual Paulista, 2004. 1 CD-ROM.

ZAMANI, B.; KNEZEK, B. D.; DAZZO, F. B. Biological immobilization of zinc and manganese in soil. **Journal Environmental Quality**, Madison, v.137, n.2, p.351-359, 1984.