



UNIVERSIDADE CATÓLICA DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA ACADÊMICA
COORDENAÇÃO GERAL DE PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM DESENVOLVIMENTO DE PROCESSOS AMBIENTAIS

Rafael Sá Leitão Barboza

**INFLUÊNCIA DO LODO DE ESGOTO NA
NODULAÇÃO E NO DESENVOLVIMENTO DO CAUPI
(*Vigna unguiculata* [L.] Walp)**

Recife

2007

Rafael Sá Leitão Barboza

**INFLUÊNCIA DO LODO DE ESGOTO NA
NODULAÇÃO E NO DESENVOLVIMENTO DO CAUPI
(*Vigna unguiculata* [L.] Walp)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento de Processos Ambientais da Universidade Católica de Pernambuco, como pré-requisito para obtenção do título de **Mestre em Desenvolvimento de Processos Ambientais**.

Área de Concentração: Desenvolvimento de Processos Ambientais

Linha de Pesquisa: Tecnologia e Meio Ambiente

Orientadora: Profa. Dra. Arminda Saconi Messias

Co-orientadora: Profa. Dra. Márcia do Vale Barreto Figueiredo

Recife

2007

B238i Barboza, Rafael Sá Leitão
Influência do lodo de esgoto na nodulação e no desenvolvimento
do caupi (*Vigna unguiculata* [L.] walp) / Rafael Sá Leitão Barboza ;
orientador Arminda Saconi Messias ; co-orientador Márcia do Vale
Barreto Figueiredo, 2007.
84 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Católica de Pernambuco.
Pró-reitoria Acadêmica, 2007.

1. Lodo de esgoto. 2. Resíduos sólidos. 3. Lodo de esgoto como
fertilizante. 4. Metais pesados. 5. Feijão-de-corda. 6. Nitrogênio –
Fixação. I. Messias Arminda Saconi. II. Figueiredo, Márcia do Vale
Barreto. III. Título.

CDU 628.381

COMISSÃO EXAMINADORA

Profa. Dra. Arminda Saconi Messias - Orientadora
UNIVERSIDADE CATÓLICA DE PERNAMBUCO, Recife-PE

Profa. Dra. Leonie Asfora Sarubbo
UNIVERSIDADE CATÓLICA DE PERNAMBUCO, Recife-PE

Profa. Dra. Carolina Etiene de Rosália e Silva Santos
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO, Recife-PE

Dedico esta dissertação aos meus pais, pois,
sem a presença e o apoio deles ao meu lado
não poderia ter concluído com exatidão.

AGRADECIMENTOS

À energia espiritual maior que vem de dentro de nós, e que sempre recorremos nos momentos difíceis.

Aos meus pais, Roberto Barboza e Miriam de Sá Leitão, e irmãos, Márcio Barboza, Myrian Barboza e Roberta Barboza, que sempre me deram total apoio em todos os degraus para que eu pudesse chegar até aqui.

Aos amigos da minha turma desse curso de mestrado, Alicia Jarra, Aline Barbosa, Antonio Cardoso, Antonio Lima, Daniel Oliveira, Josenildo, Humberto, Ricardo Rico e de outras turmas, Rosinete Cardoso, Aziel Alves, Renata Raimundo, Karla Costa, Leopoldo Barbosa, Denise Teixeira e Diogo Maia que puderam compartilhar momentos difíceis e construtivos durante o mestrado.

Às minhas orientadoras Arminda Messias e Márcia Figueiredo, que têm uma participação fundamental no desenvolvimento desse trabalho, lutando para que a dissertação pudesse ser concluída com exatidão e me modelando sutilmente para fazer parte da comunidade científica.

À CAPES, pelo fomento da bolsa de mestrado.

À FIUC, pelo apoio financeiro.

Ao corpo docente desse mestrado que continua se esforçando para elevar o nível do curso cada vez mais; em especial à Profa Galba que sempre se empenhou para que o mestrado continuasse a crescer.

À equipe do IPA, José de Paula, Hélio Burity, Luiza Bastos, Maria do Carmo, Eidy Simões, Sônia Formiga, Almira, Mannuella Vilanova, Elisângela Cabral, Sue Ellen, Aníbia Vicente, Mário, Lúcia e Rita que sempre estiveram presentes, sempre me ensinaram, sempre me ajudaram e sempre vou ser grato pela construção desse degrau.

Ao Odemar Reis, estatístico do IPA, pelo apoio estatístico e pelo eterno aprendizado adquirido durante vários momentos.

Ao Pró-reitor Prof. Junot Cornélio, que nos ajudou e tranqüilizou em momentos difíceis.

Aos funcionários da Universidade Católica de Pernambuco, Sérgio, Nicéas, Elane e Cristiano que fizeram mais que os seus papéis, criaram um vínculo onde sempre nos ajudavam quando precisávamos.

Ao auxílio do professor Néelson Duran e sua equipe do laboratório de Química Biológica do Departamento de Química da UNICAMP, durante minha estadia em Campinas pelo projeto PROCAD.

Aos amigos e parentes, que mesmo com pequenos gestos e atitudes puderam mudar nosso humor, e levantar o astral nos momentos difíceis.

Às novas amigas, Hannelore e Vanessa Lima, que me deram total apoio em etapas dessa dissertação.

SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS	v
SUMÁRIO	vi
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	ix
RESUMO	x
ABSTRACT	xi
CAPÍTULO 1	12
1.1 Introdução	13
1.2 Objetivos	15
1.2.1 Objetivo Geral.....	15
1.2.2 Objetivos Específicos	15
1.3. Revisão de Literatura	16
1.3.1 Lodo de esgoto (LE)	16
1.3.1.1 Benefícios do uso do lodo de esgoto	17
1.3.1.2 Metais pesados	20
1.3.1.2.1 Mobilidade de metais pesados no solo	22
1.3.1.2.2 Fitodisponibilidade / fitotoxicidade de metais pesados	23
1.3.1.3 Uso associado a outras fontes nutricionais	25
1.3.1.4 Critérios de aplicação	26
1.3.1.5 Regulamentação / legislação	26
1.3.2 Feijão caupi (<i>Vigna unguiculata</i> [L.] Walp.)	29
1.3.3 Fixação biológica de nitrogênio (FBN)	32
1.3.3.1 Efeito do lodo de esgoto na fixação biológica do nitrogênio	35
1.4 Referências Bibliográficas	36
CAPÍTULO 2	
Avaliação do potencial de uso do lodo de esgoto associado à inoculação de estirpes de <i>Bradyrhizobium</i> spp. em caupi (<i>Vigna unguiculata</i> [L.] Walp)	50
Resumo	51
Abstract	52
1 Introdução	52
2 Material e Métodos	54

	Página
3 Resultados e Discussão	56
4 Conclusões	61
Agradecimentos	62
Referências	62
Tabelas e Figuras	67
CAPÍTULO 3	
CONCLUSÕES GERAIS	77
ANEXOS	
Normas para publicação da revista internacional BIORESOURCE TECHNOLOGY, ISSN: 0960-8524	79

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1	Etapas do experimento desenvolvido em casa de vegetação 73
Figura 2	Plantas de caupi, cv IPA 206, com diferentes doses de LE incorporado ao solo e inoculadas com estirpes de <i>Bradyrhizobium</i> spp., no 45° DAP em casa de vegetação..... 74
Figura 3	Influência da quantidade de lodo de esgoto no pH do solo 75
Figura 4	Alteração na matéria seca da parte aérea (MSPA) e da raiz (MSR) do caupi e na matéria fresca dos nódulos (MFNod) nas diferentes doses de lodo de esgoto 76

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1.1	Concentração de metais pesados em resíduos orgânicos, fertilizantes minerais e produtos utilizados na agricultura 21
Tabela 1.2	Teores de metais pesados em solos de diferentes regiões do Brasil 22
Tabela 1.3	Comparação das concentrações máximas permitidas de metais pesados em lodo de esgoto para fins agrícolas, entre os EUA, Comunidade Européia (CE) e o Brasil 28
Tabela 1.4	Concentrações máximas permitidas pela Resolução CONAMA nº. 375, de agosto de 2006, sobre a regulamentação do uso agrícola do lodo de esgoto 29
Tabela 1	Caracterização química e de fertilidade do solo, coletado na Estação Experimental de Itapirema – IPA, Goiana / PE, e do lodo de esgoto na Estação de Tratamento de Esgoto da Mangueira, Recife/PE 67
Tabela 2	Caracterização física do solo coletado na Estação Experimental de Itapirema - IPA, Goiana / PE 68
Tabela 3	Comparação das concentrações máximas permitidas de metais pesados em lodo de esgoto para fins agrícolas, entre os EUA, Comunidade Européia (CE) e o Brasil 69
Tabela 4	Médias e funções polinomiais para os níveis de lodo de esgoto nas variáveis pH, capacidade de troca catiônica (CTC), Ca, Mg, Na e P 70
Tabela 5	Médias e funções polinomiais para os níveis de lodo de esgoto nas variáveis matéria seca da parte aérea (MSPA) e raiz (MSR), matéria fresca dos nódulos (MFNod), nitrogênio total acumulado na raiz (NTR) e parte aérea (NTPA) e teor de leghemoglobina (LHb) nas plantas de caupi 71
Tabela 6	Comparação entre as estirpes de <i>Bradyrhizobium</i> spp. pelas médias das variáveis matéria seca da parte aérea (MSPA) e raiz (MSR), matéria fresca dos nódulos (MFNod), nitrogênio total acumulado na raiz (NTR) e parte aérea (NTPA) e teor de leghemoglobina (LHb) 72

RESUMO

O intenso crescimento urbano aumentou a geração de resíduos domésticos e industriais, principalmente o lodo de esgoto, necessitando de um destino adequado. Este é um resíduo sólido proveniente do tratamento final do esgoto, o qual necessita de um destino adequado, pois, apresenta-se com alto teor de agentes patogênicos e metais pesados. A alternativa mais viável para a destinação desses resíduos é a sua aplicação na agricultura como condicionante do solo, aliado à capacidade de algumas plantas, da ordem *Leguminosae*, de realizar simbiose com microrganismos, genericamente chamados de rizóbios, capazes de aumentar o aporte de nitrogênio disponível no solo. Com base no exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar as diferentes doses de lodo de esgoto que viabilizem a melhor interação com as bactérias fixadoras de nitrogênio na produtividade do caupi, visando maximizar a produção agrícola dentro do conceito de sustentabilidade, assim como aperfeiçoar o destino ambientalmente adequado para os resíduos urbanos, encontrando seu potencial na reciclagem agrícola. O experimento foi conduzido em casa de vegetação da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA) utilizando-se o delineamento experimental de blocos casualizados (quatro blocos) e os tratamentos foram constituídos com cinco estirpes de *Bradyrhizobium* spp. (EI 6; NFB 700; BR 2001; BR 4406; BR 3267) e lodo de esgoto em quatro níveis diferentes (0, 25, 50 e 75 Mg · ha⁻¹), incluindo a testemunha absoluta (sem inoculação na dose zero de lodo). O lodo de esgoto foi proveniente da Estação de Tratamento de Esgoto da Mangueira, Recife/PE, incorporado ao solo proveniente da Estação Experimental de Itapirema – IPA, Goiana / PE. A cultivar de caupi utilizada foi a cv “IPA 206” inoculada com uma suspensão bacteriana contendo 10⁹ UFC · mL⁻¹. A colheita foi efetuada aos 45 dias e foram avaliadas as seguintes variáveis: matéria seca da raiz (MSR) e parte aérea (MSPA), matéria fresca dos nódulos (MFNod), nitrogênio total da parte aérea (NTPA) e raiz (NTR) e teor de leghemoglobina (LHb). A produção de matéria seca do caupi apresentou melhores resultados na dose equivalente a 75 Mg · ha⁻¹, não sofrendo influência das estirpes inoculadas. Essa dose também se mostrou promissora no aumento da capacidade de troca de cátions (CTC), Ca, Mg e Na no solo, sem gerar riscos, a curto prazo. A matéria fresca dos nódulos apresentou-se em maior abundância na dose equivalente a 25 Mg · ha⁻¹. A estirpe EI-6 apresentou maior matéria fresca dos nódulos. A aplicação de lodo de esgoto e o uso das estirpes NFB 700 e BR 4406 apresentam potencial para produção de grãos no caupi.

Palavras-chave: *Bradyrhizobium* spp., fixação biológica de N₂, simbiose, resíduo sólido

ABSTRACT

The intense urban growth, production of domestic and industrial residues has been increased, mainly sewage sludge. This residue has high amount of pathogenic organisms and heavy metals. The viable alternative for this residue destination is its use in agriculture improving the chemical, physical and biological soil characteristics. Allied of the capacity of some plants, *Leguminosae* order, to carry through symbiosis with microorganisms, generically called rhizobia, which are capable of increase nitrogen uptake in soil. The present work had as objective the evaluation of different levels of sewage sludge that make possible the best interaction with fixing nitrogen bacteria in the productivity of cowpea, aiming at to maximize the agricultural production inside of the concept of sustainable development, supplying an ambiently safe destination for the solid residues with its potential in agriculture recycling. The experiment was conducted in a greenhouse of Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA), with experimental design adopted of randomized blocks (four blocks) containing five strains of *Bradyrhizobium* spp. (EI-6, NFB 700, BR 2001, BR 4406 and BR 3267) and sewage sludge in four different levels (0, 25, 50 and 75 Mg · ha⁻¹) including control (without inoculation of the equivalent level of sewage sludge of 0 Mg · ha⁻¹). The sewage sludge proceeding from Sewage Treatment Station from Mangueira, Recife/PE, incorporated in the soil, from IPA Experimental Station in Itapirema/PE. The cowpea, cultivar "IPA 206", used was inoculated by a bacterial suspension with 10⁹ CFU · mL⁻¹. Plants were harvested at 45 days, to measure shoot and root dry matter (SDM and RDM), nodule fresh matter (NodFM), total nitrogen (NTR and NTS) and leghemoglobin content (LHb). The cowpea dry matter showed higher results with the equivalent level of sewage sludge of 75 Mg · ha⁻¹, however were not affected inoculated strains. This equivalent level of sewage sludge demonstrated content increment of CEC (cation exchange capacity), Ca, Mg, and Na in the soil after application. The nodule fresh matter was presented in higher quantity of equivalent level of sewage sludge 25 Mg · ha⁻¹. The strains EI-6 presented higher nodule fresh matter. The application of this residue as fertilizer and the use of the strains NFB 700 and BR 4406 showed that these treatments can be used for seeds production in cowpea.

Key words: *Bradyrhizobium* spp., biological N₂ fixation, symbiosis, solid residue

CAPÍTULO 1

CAPÍTULO 1

1.1 Introdução

Os solos, em geral, necessitam de uma proteção contra as intempéries do clima, apresentando a cobertura vegetal como principal agente protetor. A vegetação, além de dar proteção ao solo, apresenta um papel primordial para a sobrevivência de outros seres vivos que utilizam o mesmo nicho ecológico, garantindo a essência dos ecossistemas ali existentes. O ambiente vem sofrendo conseqüências desastrosas das ações antrópicas, tais como a expansão de áreas de cultivo, pecuária extensiva, implantação de projetos errôneos de irrigação, mineração e queimadas, as quais, têm reduzido a cobertura vegetal de grandes áreas, podendo desencadear o último estágio de degradação, a desertificação (FERREIRA et al., 1994). A falta de um desenvolvimento sustentável provoca transformações que vêm crescendo de maneira descontrolada, principalmente nos grandes centros urbanos. O crescente aumento populacional proporciona um maior aporte de efluentes domésticos e industriais para as Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs), transferindo quantidades consideráveis de nutrientes dos solos agrícolas para os resíduos urbanos (FROSSARD & MOREL, 1995).

Cerca de 60 % do montante de nutrientes inorgânicos presentes em alimentos são despejados nos esgotos, após tomarem parte no metabolismo humano (KVARNSTORM & NILSSON, 1999). O crescimento de uma consciência ecológica tem forçado os responsáveis pela coleta dos esgotos a tratar estes efluentes, antes de retornar aos rios e córregos (RIBEIRINHO et al., 2004). O resíduo gerado no tratamento do esgoto, denominado lodo de esgoto (LE), exige uma alternativa segura para sua destinação final, em termos de saúde pública e aceitabilidade ambiental (ANDREOLI, 2001). No Brasil, a disposição final do LE, geralmente, é o aterro sanitário. Além do alto custo, que pode chegar a 50 % do custo operacional de uma ETE, a disposição de um resíduo com elevada carga orgânica no aterro, agrava ainda mais o problema com o manejo do lixo urbano (PIRES, 2005).

Por outro lado, a necessidade do aumento da produção agrícola mundial vem sendo prejudicada pelo desgaste e diminuição da fertilidade dos solos cultivados, conduzindo ao uso de fertilizantes químicos de alto custo (SILVA NETO, 2001). Para que tal situação seja contornada, uma alternativa eficaz é a reciclagem dos nutrientes contidos no LE em áreas agrícolas (SELBACH & CAMARGO, 2000) e na recuperação de áreas degradadas (ANDREOLI & PEGORINI, 1999). Sob o ponto de vista ambiental, a reciclagem agrícola do LE é a alternativa de menor impacto para a sua disposição final, propiciando, também, economia de energia e de reservas naturais, na medida em que diminui as necessidades de

fertilização mineral (SANTOS & BETTIOL, 2001; SILVA et al., 2002; HARRISON et al., 2003).

No Brasil, o uso agrícola de LE, ainda, não está amplamente difundido; entretanto, já faz parte de programas nacionais de controle de impactos ambientais. A Agenda 21 brasileira possui uma área temática intitulada “Agricultura Sustentável”, onde vários aspectos da atual situação da agricultura brasileira são abordados (PIRES, 2005). A produção de LE no Brasil, no início do século XXI, foi estimada entre 150 e 220 mil Mg de matéria seca · ano⁻¹. Sua aplicação no Brasil deve crescer substancialmente nos próximos anos, seguindo uma tendência mundial e acompanhando a demanda gerada por um acentuado crescimento no volume de esgoto tratado (TSUTIYA, 2001; PIRES, 2005).

A conservação dos recursos naturais vem ganhando importância estratégica nos últimos anos, indicando que reservas naturais de fósforo devem durar cerca de 500 anos, frente ao consumo mundial de 10 milhões Mg · ano⁻¹. Em vista disto, a total utilização de esgotos tratados em solos acarretaria na redução do consumo de fertilizantes fosfatados a 40 % do atualmente empregado (FRANK, 1998).

Em média, no Brasil, 75 % dos custos com aquisição de fertilizantes são gastos com fertilizantes nitrogenados e, apenas, 39 % dos fertilizantes nitrogenados consumidos no País são produzidos por empresas nacionais (IPTESP, 1981). Industrialmente, a produção de fertilizante nitrogenado consome energia derivada de fontes não renováveis, especialmente o petróleo (VIDOR et al., 1983), e sua aplicação, de maneira equivocada, pode ser prejudicial quando lixiviado para rios, lagos ou águas subterrâneas na forma de nitratos (GRIFFITH et al., 1994).

Na simbiose entre plantas leguminosas e microrganismos, genericamente denominados de rizóbios, há uma troca de exsudatos radiculares (carboidratos) e nitrogênio entre os mesmos, possibilitando maior aptidão para colonizar áreas degradadas (SOUZA & SILVA, 1996). Há uma estratégia nutricional superior ao da planta não colonizada, proporcionando abdicção do uso de fertilizantes nitrogenados e, por conseguinte, redução significativa dos custos da recuperação de áreas impactadas (DIAS et al., 1995), proteção do solo contra erosão, produção de massa vegetal rica em nutrientes e reestruturação do solo, melhorando as suas características físicas, químicas e biológicas (SANTANA FILHO et al., 1997).

No Brasil, o melhor exemplo de utilização de inoculantes é a cultura da soja, onde a fertilização química nitrogenada é totalmente substituída pela utilização de inoculantes, o que representou uma economia para o país de cerca de US\$ 3 bilhões, no ano de 2005 (HUNGRIA et al., 2005).

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo Geral

Avaliar as diferentes doses de lodo de esgoto que viabilizem a melhor interação com as bactérias fixadoras de nitrogênio na produtividade do caupi, minimizando os custos agrícolas quando da utilização do rizóbio como fornecedor de nitrogênio e do lodo de esgoto como fonte de matéria orgânica e de nutrientes necessários ao desenvolvimento vegetal.

1.2.2 Objetivos Específicos

1. Verificar a eficiência simbiótica das estirpes de *Bradyrhizobium* spp. na simbiose com o caupi, selecionando as que forneçam maior produtividade.
2. Determinar os efeitos da aplicação do lodo de esgoto sobre atributos químicos do solo.

1.3 Revisão de Literatura

1.3.1 Lodo de esgoto (LE)

O LE é um resíduo de origem urbana resultante do tratamento de efluentes domésticos, apresentando composição bastante variável. As diferenças encontradas variam com o tipo de processo empregado (primário, lodo bruto produzido nos decantadores primários; lodo ativado, produzido em reatores biológicos; e lodo digerido, processo de estabilização biológica), com a localização fisiogeográfica das ETEs (que reflete os hábitos alimentares da população), com o balanço de nutrientes dos alimentos consumidos, com a época do ano e com a descarga de resíduos industriais (VIDOR, 1999; TSUTIYA, 2000).

Biossólido é o nome dado ao lodo resultante do tratamento de esgoto, com características que permitam sua reciclagem de maneira racional e ambientalmente segura; caso contrário, são empregados os termos torta, lodo ou sólidos. O termo biossólido foi criado e divulgado em todo mundo para incentivar o uso de esgotos como fertilizantes e condicionadores de solo (PIRES, 2005; USEPA, 1999).

Os métodos de disposição mais comuns para o lodo de ETEs são: incineração, aterro, disposição no oceano, recuperação de terrenos de mineração, digestão em lagoas e uso agrícola (HARRIS-PIERCE et al., 1995). Atualmente, diversos usos alternativos têm sido desenvolvidos, como: agregados leves para construção civil, fabricação de tijolos e cerâmicas, fonte de energia para produção de cimento e conversão do lodo em óleo combustível (TSUTIYA, 2001). Na Europa, a reciclagem e a disposição em aterros sanitários são as alternativas predominantes, onde são direcionados, para cada uma delas, cerca de 40 % do lodo produzido (DAVIS & HALL, 1997).

O pH do LE situa-se próximo à neutralidade, predominantemente na faixa de 6,0 a 7,0. A maioria dos lodos parcialmente desidratados apresenta em torno de 60 a 70 % de sólidos, dos quais a fração orgânica representa maior parte. O LE contém um teor de matéria orgânica que varia de 70 a 600 g · kg⁻¹ (SHUMAN, 1998). Assim sendo, o teor de carbono orgânico representa, aproximadamente, 30 % do lodo (base seca). Os teores de N (3,0 %), P (1,5 %) e S (1,1 %) são relativamente altos, enquanto o K (0,3 %) aparece em baixas concentrações (MELO & MARQUES, 2000; MELO et al., 2001). Apresenta médias concentrações de Ca (3,6 %) e Mg (0,4 %); os teores de Na (0,14 %) são considerados altos, podendo causar problemas de salinidade quando aplicadas grandes quantidades de lodo ao solo. Além dos macronutrientes, o lodo pode conferir altas concentrações de micronutrientes e metais pesados (Cr, Cd, Ni, Pb, Ba, Zn), os quais, em excesso, podem

provocar efeitos adversos na cadeia alimentar (ANDREOLI & FERNANDES, 1997; MESQUITA, 2002).

A aplicação do lodo de esgoto não deve ser feita diretamente nas áreas agrícolas, necessitando ser submetido, preliminarmente, a uma série de tratamentos anaeróbios e/ou aeróbios, com a finalidade de reduzir a sua carga orgânica e, também, a processos de higienização, para inviabilizar a presença de agentes patogênicos como bactérias, ovos de helmintos e cistos de protozoários que possam, eventualmente, por em risco a saúde humana e a dos animais (ANDREOLI et al., 1997; HENRY et al., 1994; BETTIOL & CAMARGO, 2000).

1.3.1.1 Benefícios do uso do lodo de esgoto

O lodo de esgoto tem apresentado bons resultados como fertilizante para diversas culturas, dentre elas azevém, soja e trigo (BROWN et al., 1997), couve e alface (MILLNER et al., 1982), milho (SILVA et al., 1997), feijão e girassol (DESCHAMPS & FAVARETTO, 1997), braquiária, guiso-de-cascavel, fedegoso, juá-bravo e beldroega (MATOS et al., 2004), mamoeiro (COSTA et al., 2001), alho e sorgo (DEL VAL et al., 1998), eucalipto e cedro (MELO et al., 2001). É, portanto, um potencial fertilizante em diversas condições de solo e clima, onde a aplicação deste resíduo pode ser feita desde plantas herbáceas até plantas lenhosas, dependendo do seu nível de higienização.

Dentre os efeitos do lodo de esgoto sobre as propriedades físicas do solo, condicionadas, principalmente, pela presença de matéria orgânica, destaca-se a melhoria no estado de agregação das partículas do solo. Isto ocorre devido à grande superfície específica e capacidade de troca de cátions, possibilitando maior número de ligações eletrostáticas entre partículas de solo, diminuição da densidade e aumento na aeração e retenção de água (BERNARDES, 1982; BARRETO, 1995; MELO & MARQUES, 2000). Quando há decomposição microbiana do lodo há formação de compostos importantes na cimentação e estabilidade de agregados (ANGERS, 1992).

Quanto aos aspectos químicos, a aplicação de lodo ao solo tem propiciado elevação dos teores de fósforo (SILVA et al., 2002), de carbono orgânico (CAVALLARO et al., 1993), da fração húmica da matéria orgânica (MELO et al., 1994), do pH, da condutividade elétrica e da capacidade de troca de cátions (OLIVEIRA et al., 2002).

A matéria orgânica é a principal responsável pela capacidade de troca catiônica (CTC) dos solos, atuando como reservatórios de nutrientes para as plantas (SEKI, 1995). Os cátions (Ca^{+2} , Mg^{+2} , K^+ , Al^{+3} , H^+ , Na^+ e NH_4^+ - são os principais) atraídos pelas cargas negativas da matéria orgânica estão em equilíbrio com a concentração dos mesmos na

solução do solo. À medida que os nutrientes (cátions) da solução são retirados, por lixiviação ou absorção das raízes, novos cátions são liberados (repostos) para a solução, através dos nutrientes adsorvidos na matéria orgânica (MO), estabelecendo-se um novo estado de equilíbrio (GOMES et al., 2001; ROBERTS et al., 1988). A matéria orgânica é, ainda, responsável pelo incremento da atividade biológica (VOLPE, 1995), o que favorece o desenvolvimento vegetal. Aggelides & Londra (2000) observaram redução da resistência à penetração com aplicação de lodo de esgoto e lixo urbano. Smith et al. (1997) e Souza et al. (2005) não observaram diferença nos valores de resistência à penetração, tampouco nos valores de umidade, na aplicação de lodo de esgoto em latossolos vermelho distrófico e eutroférico, sendo verificada pelos primeiros autores, que há influência sobre solos arenosos.

A adição anual de matéria orgânica, em relação ao volume de lodo aplicado, tem sido pesquisada por diversos autores. Experimentos conduzidos por Marques (1997) e Melo et al. (1994) em latossolo vermelho-escuro, cultivado com cana-de-açúcar, após incorporação de lodo de esgoto ($20 \text{ Mg} \cdot \text{ha}^{-1}$), mostraram aumento significativo de matéria orgânica.

A importância do pH na fertilidade do solo refere-se à sua relação com a disponibilidade e/ou indisponibilidade de elementos químicos, nutrientes ou não, às plantas. O pH do resíduo pode variar de acordo com a textura, capacidade tamponante do solo e o tratamento que o lodo recebeu (OLIVEIRA et al., 2002). Boeira et al. (2002) verificaram acidificação do solo com aplicações de lodo em doses variando entre $1,5$ e $32 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$.

Para o nitrogênio, é essencial que seja quantificado o seu teor disponível presente no LE e a quantidade máxima de lodo que forneça N, necessário às plantas, para que não ocorra em excesso. No caso de ocorrência de excedente, o mesmo pode sofrer o processo de nitrificação, o que poderia levar à contaminação de águas superficiais e subsuperficiais pela lixiviação do nitrato. Alimentos com alto teor de nitrato podem afetar a cadeia alimentar, uma vez que o nitrato no trato digestivo, pode ser reduzido a nitrito, sendo esta forma precursora das nitrosaminas, que são substâncias reconhecidamente carcinogênicas, ou quando o nitrito encontra-se presente na corrente sangüínea pode competir com o oxigênio da hemoglobina, provocando diversos riscos à saúde de recém-nascidos. A quantidade de N recomendada varia de acordo com a cultura, podendo ser obtida em boletins técnicos de adubação de culturas, publicados por diversos centros de pesquisa do país (GOMES et al., 2001).

Alguns autores recomendam que a quantidade de LE a ser aplicada seja, normalmente, feita tomando-se como referência os teores de N no resíduo (MELO et al.,

2001); porém, Vieira & Cardoso (2003) afirmam que não é viável utilizar a dose do lodo baseada no requerimento de N pela cultura e na fração de mineralização do resíduo, pois pode ocasionar perdas de N do ecossistema solo.

Trabalhos demonstraram altos teores de N (chegando até 5 % de nitrogênio total) no lodo de esgoto (DOUGLAS & MAGDOFF, 1991; ANDRÉ, 1994; FERNANDES & ANDREOLI, 1997). Barros et al. (2002) e Nascimento et al. (2004) verificaram ocorrência de aumento dos teores de nitrogênio em plantas, que foram proporcionais ao aumento das doses de lodo de esgoto adicionadas.

Segundo resultados de Costa et al. (2001), a adição de óxido de cálcio ao LE, para higienização, além de proporcionar aumento do teor de cálcio, promoveu uma redução nos teores de N e P, devido ao aumento do volume do lodo final, provocando diluição. Outro fator que, provavelmente, contribuiu para a redução do N foi sua perda por volatilização, ocasionada pela elevação do pH e da temperatura, também em função da cal.

Daros et al. (1993) verificaram efeito residual de N e P do solo, adubado com lodo, na produção do milho com subsequente plantio associado de aveia e ervilhaca. Mazzarino et al. (1998) afirmam que a liberação do P pelo lodo depende do tipo do solo e da origem do resíduo. Silva et al. (2002) comprovaram que o lodo utilizado obteve eficiência 25 % superior à do superfosfato triplo como fonte de fósforo para o milho.

Em estudo do sistema radicular de mamoeiros, pôde-se observar que os tratamentos que receberam o lodo higienizado com cal virgem proporcionaram maior valor para o peso seco da raiz, em relação aos tratamentos que receberam o lodo sem higienização. Esse efeito pode ser atribuído à importância do Ca no crescimento radical, bem como na precipitação do Al (COSTA et al., 2001).

A aplicação de doses crescentes de lodo de esgoto promoveu diminuição do pH e aumento nos teores de matéria orgânica, N, P, K, Na, Ca e Mg dos solos, em culturas de milho e feijão; porém, a matéria seca de ambas as culturas ficou abaixo da obtida pela fertilização mineral completa (NASCIMENTO et al., 2004).

Galdos et al. (2004) e Tsadilas et al. (1995) observaram maior produção de grãos, em cultivo de milho, com aplicação de lodo de esgoto, assim como Cripps et al. (1992) que verificaram uma produtividade de grãos 47 % maior com aplicação de lodo em comparação com adubação convencional. Silva et al. (2002) relataram maior produção de grãos em relação à testemunha absoluta e à adubação NPK por três anos, após uma aplicação do lodo, demonstrando seu efeito residual.

1.3.1.2 Metais pesados

Segundo Tiller & McBride (2004), o termo metal pesado pode ser usado como uma denominação globalizada, utilizada para os elementos classificados como poluentes ambientais. Essa classificação envolve tanto elementos metálicos, como semi-metálicos e não metálicos, com densidade acima de $5 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$. O prejuízo ambiental dos elementos potencialmente tóxicos, inseridos através de ações antrópicas, vai depender não só do elemento químico presente, mas também da concentração, que varia em função de fatores como pH e potencial de óxido-redução. Através da absorção pelas plantas, que alimentarão os herbívoros, com efeito acumulativo, os metais podem entrar na cadeia alimentar, chegando aos consumidores de primeira ordem e, por conseguinte, ao homem.

As concentrações de metais pesados no lodo são determinadas pela atividade e pelo tipo de desenvolvimento urbano e industrial da área que abastece a estação de tratamento, tornando as taxas desses elementos superiores aos níveis de nutrição requeridos pelos vegetais e animais (ALLOWAY, 1995). Os metais pesados mais encontrados em lodo de esgoto são: Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Fe, Co, Mn, Mo, Hg, Sn e Zn.

Quando absorvidos em grande quantidade pelo ser humano, os metais pesados se depositam no tecido ósseo e gorduroso e deslocam minerais nobres dos ossos e músculos para a circulação, provocando doenças. O consumo habitual de água e alimentos contaminados com metais pesados coloca em risco a saúde. As populações que moram em torno das fábricas de baterias artesanais, indústrias de cloro-soda que utilizam mercúrio, indústrias navais, siderúrgicas e metalúrgicas, correm risco de serem contaminadas (HUE, 1995).

Através de estudos realizados, foi verificado que os metais pesados podem provocar efeitos adversos sobre os processos microbiológicos do solo, como na biomassa microbiana e na concentração de ATP no solo, na fixação de nitrogênio por bactérias heterotróficas e cianofíceas, na nitrificação, no amônio adicionado e na atividade da nitrogenase (McGRATH et al., 1994; McGRATH et al., 1988).

Segundo Andreoli & Pegorini (2000), o uso agrícola do lodo de esgoto foi bastante pesquisado em todo o mundo, não havendo registro de nenhum efeito adverso sobre o ambiente, como por exemplo a poluição com metais pesados, quando o mesmo foi utilizado seguindo quaisquer das diferentes regulamentações existentes. A longo prazo, entretanto, o aumento da concentração de metais no solo, resultante da aplicação do lodo, torna-se uma preocupação justificada, pois, se não adequadamente controlado, pode ameaçar a cadeia trófica (HUE, 1995).

A completa remoção dos contaminantes metálicos dos solos é um processo que nem sempre garante 100 % de eficácia devido a variabilidade de vida útil dos metais pesados no solo, sendo de 70 a 510 anos para o Zn, 13 a 1100 anos para o Cd, 300 a 1500 anos para o Cu e 740 a 5900 anos para o Pb (MELO et al., 2004).

A Tabela 1.1 mostra a concentração de metais pesados em alguns insumos agrícolas.

Tabela 1.1 Concentração de metais pesados em resíduos orgânicos, fertilizantes minerais e produtos utilizados na agricultura

Produto agrícola	Cd	Cr	Cu	Fe	Hg	Mn	Mo	Ni	Pb	Zn
	-----mg · kg ⁻¹ (base seca)-----									
Aguapé	-	-	33	-	-	-	-	17	33	50
Calcário	-	-	2-125	-	-	40- 1200	0,1- 15	-	-	-
Composto de lixo	0,01- 100	1,8- 410	13- 3580	23325	0,09- 2,1	60- 3900	22	0,9-279	1,3- 2240	82- 5894
Esterco bovino	-	-	38- 160	7336	-	552	16	3	1,52	128- 330
Esterco galinha	4,4	-	31	-	-	350	-	4,4	38	245
Esterco porco	-	-	1100	-	-	-	-	8,3	13	1009
Fertilizante N	-	-	1-15	-	-	-	1-7	-	-	-
Fertilizante P	-	-	1-300	-	-	40- 2000	0,1- 60	-	-	-
LODO DE ESGOTO	0- 3410	8- 40600	50- 8000	42224	1-260	242	9,2	6-5300	2-7000	90- 49000
Pesticida	-	-	12-50	-	-	-	-	-	-	-
Torta de mamona	-	-	33	2876	-	77	-	-	-	156

Fonte: Kabata-Pendias & Pendias (1992), Ross (1994), Raji et al. (1997), Melo & Marques (2000).

1.3.1.2.1 Mobilidade de metais pesados no solo

Embora seja o solo uma barreira natural de proteção para os aquíferos subterrâneos, os fatores que governam sua capacidade em reter metais pesados são extremamente complexos, o que dificulta sobremaneira o seu entendimento e as possibilidades de previsões acerca do comportamento desses elementos, principalmente a longo prazo. Sabe-se que a maior ou menor mobilidade dos metais pesados será determinada pelos atributos do solo, como teores e tipos de argila, pH, CTC, teor de MO, entre outros, que influenciarão as reações de adsorção/dessorção, precipitação/dissolução, complexação e oxirredução (OLIVEIRA & MATTIAZZO, 2001).

Os metais pesados presentes nos solos, derivam da rocha de origem, proporcionando diferentes concentrações em regiões distintas. Campos et al. (2003), encontraram diversos teores de metais pesados, num estudo em 19 latossolos, no Brasil, apresentados na Tabela 1.2.

Tabela 1.2. Teores de metais pesados em solos de diferentes regiões do Brasil

Elemento	Concentração (mg · kg ⁻¹)
Cd	0,66 ± 0,19
Cu	65 ± 7,4
Ni	18 ± 12
Pb	22 ± 9
Zn	39 ± 24

Fonte: Campos et al. (2003)

Em solos tratados com LE, a mobilidade de metais pesados tem sido apontada como nula ou muito baixa (EMMERICH et al., 1982; BAXTER et al., 1983; CHANG et al., 1984). No entanto, a persistência da capacidade do solo em reter tais elementos, em função do tempo, dos níveis de ocorrência da contaminação, dos fatores climáticos envolvidos e das taxas de degradação da carga orgânica dos diferentes resíduos contaminantes, vem sendo muito questionada por alguns autores (McBRIDE, 1995; McBRIDE et al., 1997).

Altafin (2005) verificou que com a aplicação de doses de até 80 Mg · ha⁻¹ não é prevista a disponibilidade de Cd e Pb na cultura de arroz.

Segundo Oliveira & Mattiazzo (2001), não houve nenhuma mobilidade do Cu, Cr, Cd e Ni ao final dos dois anos experimentais, utilizando biossólido (nas doses 33, 66 e 99 Mg ·

ha⁻¹) em um latossolo amarelo distrófico cultivado com cana-de-açúcar. Porém, foi evidente a movimentação do Zn no perfil do solo. Amaral Sobrinho et al. (1998) também verificaram a movimentação do Zn em profundidade, o que reforça estudos realizados por Hue (1995), indicando o Zn como sendo o metal pesado que apresenta maior potencial de lixiviação, provavelmente pelo aumento da acidez do meio. Araújo & Nascimento (2005) utilizaram como dose máxima de aplicação de lodo de esgoto 243 Mg · ha⁻¹, provocando diminuição da mobilidade de Zn nos solos incubados com lodo, com transferência do elemento ligado à fração matéria orgânica, para a fração residual.

Sims & Patrick (1986) relataram que Fe, Mn e Zn apresentaram maior disponibilidade, na fração trocável do solo, para as plantas em pH mais ácido (abaixo de 5,2). Resultados semelhantes foram observados por Borges & Coutinho (2004).

Em trabalho realizado em latossolo vermelho eutroférico cultivado com girassol e com aplicação de biossólido, foi evidenciado que a aplicação não afetou os teores totais de Cu, Fe, Mn, Cd, Cr e Pb no solo. Apenas houve efeito da aplicação do resíduo nos teores totais de Ni e Zn; contudo, os valores encontrados estão dentro dos teores permitidos pela legislação, constituindo-se um problema a longo prazo (RIBEIRINHO et al., 2004). Resultados semelhantes foram obtidos por Melo et al. (2002).

1.3.1.2.2 Fitodisponibilidade / fitotoxicidade de metais pesados

Metais pesados presentes em lodo de esgoto, são motivos de preocupação no uso agrícola, em função da possibilidade de aumento de sua concentração em plantas desenvolvidas nessas áreas, podendo afetar seu crescimento e a saúde de animais e do homem, que se alimentam dessas plantas.

O fato de o metal pesado estar presente no solo não significa que esteja numa forma prontamente assimilável pelas plantas, podendo permanecer por longos períodos sem que sejam absorvidos em quantidades tóxicas. Estudos têm demonstrado não haver correlação entre o teor total de metais pesados no solo e sua fitotoxicidade (EGREJA FILHO, 1993). Portanto, para se conhecer a contaminação, em termos dos efeitos sobre as plantas e a cadeia alimentar, é necessário determinar as concentrações fitodisponíveis desses metais (LESCHBER et al., 1985).

O teor total de metais presentes no solo não é um parâmetro adequado para fazer previsões de fitodisponibilidade; todavia, essa determinação objetiva-se à obtenção de dados sobre o acúmulo destes elementos ao longo do tempo (KIEKENS & COTTENIE, 1985).

Alguns autores evidenciaram aumento nos teores de Cd, Cu (RITTER & EASTBURN, 1978; REDDY et al., 1989; AL-JALOUD et al., 1995; PIERRISNARD, 1996; LOGAN et al., 1997), Cr, Ni e Zn em milho, feijão e sorgo, com o aumento nas doses de aplicação de lodo de esgoto, a partir de $40,5 \text{ Mg} \cdot \text{ha}^{-1}$ (BOARETTO et al., 1992; ANDRÉ, 1994; OLIVEIRA, 1995; ANJOS & MATTIAZZO, 2000). A absorção de maiores quantidades de Zn pelas plantas, nos tratamentos com lodo de esgoto, considerados bem acima da faixa considerada adequada para a cultura de milho, de acordo com Malavolta et al. (1989), pode ter ocasionado menor produtividade deste tratamento.

A aplicação de lodo, na dose de $20 \text{ Mg} \cdot \text{ha}^{-1}$, enriquecido com Cd ($84,4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) e Zn ($569,1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), em latossolo vermelho-amarelo e argissolo vermelho-amarelo, aumentou significativamente a biomassa vegetal do arroz sem apresentar sintomas de toxidez, apresentando-se tolerantes a teores elevados de Cd e Zn. Na dose de $80 \text{ Mg} \cdot \text{ha}^{-1}$, também não houve toxidez; porém, não houve aumento significativo da produção de biomassa (OLIVEIRA et al., 2005).

Em uma pesquisa realizada com braquiária, guiso-de-cascavel, fedegoso, juá-bravo e beldroega para determinar níveis de metais pesados, foi observado que para o Cu, só o juá-bravo apresentou teores acima da concentração normal ($18 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), nas folhas, que de acordo com Ross (1994), se encontra entre 4 a $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Para os teores de Zn, as folhas das espécies de braquiária, fedegoso, guiso-de-cascavel e juazeiro apresentaram teores ($176, 208, 100, 366 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, respectivamente), acima do limite crítico, de $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, observado por Ross (1994), indicando contaminação (MATOS et al., 2004).

Vieira et al. (2005) não observaram aumentos nos teores de metais pesados (Fe, Cu, Zn, Pb, Cd e Ni), em grãos de soja, nas doses $1,5; 3$ e $6 \text{ Mg} \cdot \text{ha}^{-1}$.

Silva et al. (1998) verificaram aumento nos teores de P, S, Ca, Cu e Zn com o aumento da dose aplicada até $30 \text{ Mg} \cdot \text{ha}^{-1}$, provocando aumento da produtividade agrícola sem contaminação do solo por teores elevados de metais pesados (Cu e Zn), provenientes do LE.

Oliveira (1995) estudou o efeito de doses de lodo de esgoto ($0, 50, 100$ e $150 \text{ Mg} \cdot \text{ha}^{-1}$) em areia quartzosa e latossolo roxo, em condições de casa de vegetação, e sob dois níveis de pH, sobre o Zn, e encontrou aumento na disponibilidade do metal somente quando na aplicação da maior dose.

Existem mecanismos de tolerância das plantas às concentrações elevadas de metais pesados, tais como: restrição no transporte da raiz para a folha; acumulação nos tricomas; exsudatos que podem complexar os metais; tipo de ligação entre o metal e o componente da parede celular; produção de compostos intracelulares com propriedades quelantes;

bombeamento ativo para os vacúolos. Estes mecanismos podem ocorrer, isolados ou simultaneamente, conferindo maior tolerância ao estresse causado pela presença desses metais (STEFFENS, 1990).

É provável que um conjunto de propriedades do solo e do resíduo tais como: conteúdo de matéria orgânica, teor de óxidos de ferro, alumínio e manganês, tipos e concentrações dos minerais de argila, fosfatos, silicatos, CTC, relação macro e microporos e teor de umidade contribuam para o aumento da retenção (imobilização) de metais pesados com o tempo de aplicação, reduzindo o risco de contaminação desse material (McBRIDE, 1995; MAZUR, 1997; OLIVEIRA, 1998; MELO et al., 2004).

De acordo com Oliveira et al. (2003), o aumento da dose de lodo (20, 40 e 80 $\text{Mg} \cdot \text{ha}^{-1}$) aplicado ao solo fez decrescer o teor de chumbo (Pb), indicando a incorporação deste a compostos inorgânicos como óxidos, hidróxidos e oxidróxidos de Fe e Mn. Assim sendo, os teores e a solubilidade de Cd, Pb e Zn, associados a compostos de Fe e Mn, decresceram com o tempo de incubação (12, 16, 24 e 169 semanas) .

Galdos et al. (2004) verificaram aumento nos teores de Cu, Ni e Zn no solo e aumentos de Zn na planta, com aplicações de lodo de esgoto (10,8 e 21,6 $\text{Mg} \cdot \text{ha}^{-1}$) comparadas aos tratamentos sem aplicação de resíduos.

A imobilidade do Cu foi observada por Dowdy et al. (1991) e Chino et al. (1992) em experimentos de campo, com aplicação de elevadas doses de lodo de esgoto (110 $\text{Mg} \cdot \text{ha}^{-1}$), monitorados por períodos de 9, 12 e 14 anos. A imobilidade do Cu, normalmente, é atribuída à formação de complexos organo-metálicos estáveis e de baixa solubilidade.

Bertoncini & Mattiazzo (1999) evidenciaram a imobilização do Cr em solos tratados com lodo de esgoto. Estes atribuíram a imobilidade do Cr à sua presença na forma trivalente (Cr^{3+}), a qual poderia ter sido precipitada como hidróxidos de formas genéricas em meio alcalino ou pouco ácido, ter sido complexado junto a moléculas orgânicas ou adsorvido à superfície dos minerais.

1.3.1.3 Uso associado a outras fontes nutricionais

Anjos & Mattiazzo (2000) adicionaram N e P através de fertilizantes, nos tratamentos com biossólidos no cultivo de milho, porque foi constatado deficiência destes macronutrientes, que desapareceu após a adubação. Silva (1995) também verificou que quando se aplicou o biossólido sem suplementação de N, houve um ligeiro amarelecimento das folhas mais velhas de cana-de-açúcar, característico da deficiência de N.

Simonete & Kiehl (2002), utilizando as doses 10, 20, 30, 40 e 50 Mg · ha⁻¹, verificaram que os teores de P contidos no lodo, independentes das doses aplicadas, são adequados para o desenvolvimento das plantas.

Guedes (2005) verificou maior produção e efeito residual do lodo de esgoto, na dose 10 Mg · ha⁻¹ associado à fertilização com K e P, em comparação com a aplicação completa de fertilizantes minerais, mantendo estoques de nutrientes ao final da rotação. Silva et al. (2002) e Nascimento et al. (2004) sugerem que doses maiores que 60 Mg · ha⁻¹ de lodo ou suplementação com fertilizantes minerais, seriam necessários para obtenção de altas produtividades para a maioria das culturas.

Houve aumento de matéria seca de milho com as doses 10, 20, 30, 40 e 60 Mg · ha⁻¹ de lodo; porém, abaixo da obtida pela fertilização mineral completa (NASCIMENTO et al., 2004). A produção de matéria seca de milho aumentou com a dose de lodo, na presença ou ausência de potássio (SIMONETE & KIEHL, 2002). Verificou-se maior produção de matéria seca do sorgo granífero com a adição de K (OLIVEIRA, 1995). O potássio, em virtude da baixa concentração no lodo, advinda de sua alta solubilidade em água, tem sido o elemento de maior necessidade de suplementação, com fertilizante mineral, quando da utilização do lodo para adubação (ROSS et al., 1990; MELO et al., 1997).

1.3.1.4 Critérios de aplicação

Os critérios para aplicação de biossólido deveriam ser baseados, também, nos atributos do solo e não, apenas, nos teores totais de metais no biossólido. O conhecimento de como esses atributos influenciam o comportamento dos metais, torna-se então, capaz de demonstrar a quantidade de resíduo que um solo possa receber (BORGES & COUTINHO, 2004).

Alguns inventários foram criados para monitoramento e gestão da disposição dos biossólidos no espaço geográfico, constando levantamentos de dados ambientais (solo, água, geologia, geomorfologia e vegetação), uso atual do solo rural e urbano e contexto institucional. Gomes et al. (2001) propuseram um inventário, seguindo-se a localização das áreas potencialmente aptas à reciclagem de lodos, obtidas pela eliminação das áreas incompatíveis com os atributos ambientais necessários e os requisitos de legislação. Para isso, foram consideradas a distância de recursos hídricos, a mancha urbana, áreas inundáveis e a declividade do terreno, entre outros fatores. A aptidão agrícola dos solos foi avaliada a partir dos níveis de fertilidade atual, de sua capacidade de recuperação física e química por adição orgânica, além do risco de erosão dos mesmos.

1.3.1.5 Regulamentação / legislação

No Brasil, a legislação federal relacionada ao uso agrícola do lodo de esgoto apresenta-se na Resolução 375, de 29 de agosto de 2006, representada pelo CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente, órgão consultivo e deliberativo do SISNAMA - Sistema Nacional do Meio Ambiente, instituído pela Política Nacional do Meio Ambiente (Lei nº. 6.938/81), regulamentada pelo Decreto 99.274/90 do Ministério do Meio Ambiente (BRASIL, 2006).

Antes da elaboração da Resolução 375, alguns pesquisadores utilizavam regulamentações estaduais impostas por órgãos competentes como a CETESB (Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do estado de São Paulo) e o IAP (Instituto Ambiental do Paraná).

No Estado de Pernambuco, não há regulamentação quanto ao uso de lodo de esgoto; porém, inclui-se na Lei nº. 12.008/01 que dispõe sobre a política estadual de resíduos sólidos regulamentada pelo Decreto nº. 23.941/02. Como parte dos objetivos do Capítulo II do Artigo 2º desta Lei, lê-se: “proteger o meio ambiente, garantir seu uso racional e estimular a recuperação de áreas degradadas; evitar o agravamento dos problemas ambientais gerados pelos resíduos sólidos...” “... ampliar o nível de informações existentes de forma a integrar ao cotidiano dos cidadãos a questão de resíduos sólidos e a busca de soluções para a mesma.”

As regulamentações mais utilizadas para os níveis de metais pesados em LEs, apresentadas na Tabela 1.3, são a norma P 4230 da CETESB, baseada na legislação dos Estados Unidos da América, USEPA (United States Environmental Protect Agency) 40 CFR Part 503, a norma do IAP, no qual utilizou como referência, os parâmetros da legislação espanhola, sendo bastante semelhante ao atual regulamento existente na CE (Comunidade Européia) (86/278/EEC) (USEPA, 1982; CETESB, 1999; IAP, 2003; MELO et al., 2006; BRASIL, 2006).

Tabela 1.3. Comparação das concentrações máximas permitidas de metais pesados em lodo de esgoto para fins agrícolas, entre os EUA, CE (Comunidade Européia) e o Brasil

Metal	USEPA*	CETESB*	IAP*	CE*	CONAMA*
----- (mg · kg ⁻¹) -----					
Arsênio	75	75	nd	nd	41
Bário	nd	Nd	nd	nd	1300
Cádmio	85	85	20	20-40	39
Chumbo	840	840	750	nd	300
Cobre	4300	4300	1000	1000-1750	1500
Crômio	nd	Nd	nd	1000-15000	1000
Mercúrio	57	57	16	16-25	17
Molibdênio	75	75	nd	nd	50
Níquel	420	420	300	300-400	420
Selênio	100	100	nd	nd	100
Zinco	7500	7500	2500	2500-4000	2800

nd = não definido.

*CETESB (Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do estado de São Paulo); CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente); CE (Comunidade Européia); IAP (Instituto Ambiental do Paraná); USEPA (United States Environmental Protect Agency).
Fonte: USEPA (1982), CETESB (1999), IAP (2003), Melo et al. (2006), BRASIL (2006).

A aplicação agrícola de lodos de ETEs apresenta três grupos de parâmetros, segundo Gomes et al. (2001):

- *Parâmetros de controle ambiental* → teores de metais pesados admissíveis no biossólido e no solo, eficiência dos métodos de higienização e pós-tratamento do lodo;
- *Parâmetros econômicos* → viabilidade econômica do uso agrícola;
- *Parâmetros operacionais* → recomendações agrônômicas; dose ideal e limite; época e formas de incorporações e culturas recomendadas.

Os lodos provenientes de ETEs possuem, comprovadamente, inúmeros microrganismos patogênicos, cuja variedade dependerá das condições socioeconômicas e epidemiológicas das diferentes comunidades (RÉNDON et al., 2002). O CONAMA com sua Resolução nº. 375/06 regulamenta limites para a presença de organismos patogênicos (Tabela 1.4).

Tabela 1.4. Concentrações máximas permitidas pela Resolução CONAMA n°. 375, de agosto de 2006, sobre a regulamentação do uso agrícola do lodo de esgoto

Tipo de lodo de esgoto ou produto derivado	Concentração de patógenos	
A	Coliformes termotolerantes	< 10 ³ NMP / g de ST
	Ovos viáveis de helmintos	< 0,25 ovo / g de ST
	<i>Salmonella</i>	Ausência em 10 g de ST
	Vírus	< 0,25 UFP ou UFF / g de ST
B	Coliformes termotolerantes	< 10 ⁶ NMP / g de ST
	Ovos viáveis de helmintos	< 10 ovos / g de ST

ST = Sólidos totais; NMP = Número mais provável; UFF = Unidade formadora de foco; UFP = Unidade formadora de placa.

Fonte: BRASIL (2006).

Segundo o Artigo 2º do Capítulo 1 da Resolução n°. 357/05 do CONAMA, define-se coliformes termotolerantes como: bactérias gram-negativas, em forma de bacilos, oxidase-negativas, caracterizadas pela atividade da enzima β -galactosidase. Podem crescer em meios contendo agentes tenso-ativos e fermentar a lactose nas temperaturas de 44 - 45 °C, com produção de ácido, gás e aldeído. Além de estarem presentes em fezes humanas e de animais homeotérmicos, ocorrem em solos, plantas ou outras matrizes ambientais que tenham sido contaminados por material fecal.

O descumprimento do disposto na Resolução n°. 375 do CONAMA, de agosto de 2006, sujeitará os infratores às penalidades previstas na Lei Estadual n° 11.516/97 do estado de Pernambuco, que dispõe sobre o licenciamento ambiental e infrações contra o meio ambiente, e/ou pode ser enquadrado na lei de crimes ambientais, Lei n°. 9.605/98, e no Decreto n°. 3179/99.

1.3.2 Feijão Caupi (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.)

As plantas da ordem *Leguminosae* apresentam características peculiares, tais como a presença de fruto como legume, um porte extremamente variável, havendo entre elas pequenas plantas herbáceas, plantas lenhosas de médio porte ou lianas de caules. A principal importância desse vegetal para a humanidade é na alimentação, devido a sua facilidade de plantio, rápido comércio, hábito alimentar e alto valor nutritivo. A maioria das leguminosas apresenta sementes ricas em proteínas e amido e algumas ricas em óleo,

como a soja. As leguminosas já eram cultivadas para alimento pelo homem antigo, desde o fim da idade da pedra e do bronze (CARDOSO et al., 1992). Possuem importância ornamental, fornecem boa madeira para diversos fins, delas se extraem fibras, gomas, resinas, corantes e produtos medicinais. Outras são tóxicas, prejudicando as pastagens, ou servindo para a execução de condenados, pela ingestão de suas sementes, como faziam muitos povos africanos com a fava-de-calabar (*Physostigma venenosum*) (BARSA, 1993). Segundo Fred et al. (1932), existem referências escritas de Theophrastus, 370 - 285 a.C., sobre o valor das leguminosas como recondicionantes do solo, quando a ele incorporadas.

As leguminosas têm a capacidade de realizar simbiose com microrganismos capazes de aumentar o aporte de nitrogênio disponível no solo. De acordo com as conclusões de Dias et al. (1995), observa-se que a utilização de leguminosas associadas a bactérias fixadoras de nitrogênio (rizóbios) e a fungos micorrízicos arbusculares na recuperação de áreas degradadas, mostra-se promitente em função da simplicidade, da grande produção de biomassa e da capacidade de adaptação dessas espécies.

O caupi, feijão de corda, feijão de praia, feijão miúdo, ervilha de vaca, feijão macassar, feijão catador, feijão gerutuba e feijão fradinho (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) é uma espécie de leguminosa amplamente distribuída no mundo, principalmente nos países da África (JOHNSON & RAYMOND, 1964; LIMA, 1980; SOUZA, 1991). Acredita-se que o caupi foi introduzido na América Latina no século XVI, pelos colonizadores espanhóis e portugueses, primeiramente nas colônias espanholas e, em seguida, no Brasil, provavelmente pelo Estado da Bahia (WATT, 1978; FREIRE FILHO et al., 1981; FREIRE FILHO, 1988). A partir da Bahia, o caupi foi levado pelos colonizadores para outras áreas da região Nordeste e para outras regiões do país. É responsável por gerar, aproximadamente, 2,5 milhões de empregos, sendo nutricionalmente importante para 27 milhões de pessoas, apenas no nordeste brasileiro (FREIRE FILHO et al., 1999). Considerada uma cultura tropical, tolerante a altas temperaturas e a estiagens prolongadas, é de grande reconhecimento social e econômico, características estas que permitem o seu cultivo, com bons resultados, nas regiões semi-áridas do Nordeste brasileiro (IPA, 1989), sendo consumido em todas as classes de renda do país.

De acordo com Malavolta (1971) e Lopes (1998) parece provável que altas temperaturas, má distribuição das precipitações pluviométricas, umidades excessivas, métodos inadequados de cultivo, carência nutricional dos solos, juntamente com a falta de investimentos contribuam, sensivelmente, para acarretar a baixa produtividade dessa cultura.

Pela sua rusticidade e capacidade de se desenvolver bem em solos de baixa fertilidade,

constitui, também, uma opção como fonte de matéria orgânica, a ser utilizada como adubo verde na recuperação de solos naturalmente pobres em fertilidade ou esgotados pelo seu uso intensivo (OLIVEIRA & CARVALHO, 1998).

É a principal cultura de subsistência do semi-árido e fonte de proteínas de baixo custo, notadamente, para as populações carentes. Em anos de escassez do produto, devido à sua rusticidade, rapidez e baixo custo de produção, o caupi é, estrategicamente, cultivado em lugar de outras culturas, para a produção de grãos secos, assegurando altos retornos econômicos na sua exploração (MELO, 1999). Constitui-se, também, o produto básico da alimentação humana em diversos países, graças, sobretudo, à sua riqueza em proteínas, ao seu elevado conteúdo energético e aos altos teores de cálcio, fósforo, sódio, potássio, ferro e vitaminas (A e C).

Seu valor nutricional é superior ao do feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.), haja vista possuir maior conteúdo de metionina, cisteína e triptofano, apresentando, portanto, uma proteína de melhor qualidade. É difundido em várias regiões do país como hortaliça, para produção de grãos verdes e vagens, e bastante utilizada na produção de ramos e folhas para alimentação animal, consumida naturalmente (OLIVEIRA & CARVALHO, 1998).

Sob condições de agricultura irrigada, essa cultura apresenta potencial genético para produções elevadas (acima de 2000 kg ha⁻¹), que foi confirmada pelo IBGE (2002), onde em 2002 houve um rendimento da cultura do caupi de 3290 kg ha⁻¹, mesmo não existindo uma boa disponibilidade de materiais genéticos selecionados para essas condições. Além disso, sob irrigação, o aproveitamento do N₂ (nitrogênio atmosférico) a partir da fixação simbiótica é maximizado, favorecendo a produtividade, a economia de fertilizantes nitrogenados e a qualidade do ambiente.

Da mesma forma que ocorre com as cultivares de caupi, verifica-se uma limitação de germoplasma de rizóbio com potencial para fixação de N₂ sob as mais diversas condições de cultivo. Entre outros fatores citados, destaca-se a carência de nitrogênio na planta, resultado da baixa disponibilidade desse elemento no solo. Vários autores demonstraram que o nitrogênio é o nutriente absorvido em maior quantidade pelo feijoeiro, necessitando desse nutriente até o final do seu ciclo (HAAG et al., 1967; COBRA NETO et al., 1971; MACHADO et al., 1981).

Trabalhando com caupi, Silva et al. (1985) e Stamford et al. (1980) conseguiram significativos aumentos na produtividade dessa cultura com o emprego de fertilizante nitrogenado. O caupi foi considerado uma leguminosa de nodulação específica, mas em pouco tempo se tornou uma das leguminosas de nodulação mais promíscua, o que hoje é confirmado por saber-se que rizóbios isolados de diversas outras leguminosas são capazes

de induzir a formação de nódulos eficientes ou ineficientes naquela (EARDLY et al., 1985; MARTINEZ et al., 1985; BROMFIELD & BARRAN, 1990; HUNGRIA et al., 1993; LAGUERRE et al., 1993). Devido a sua indubitável importância agrônômica, econômica e nutritiva é uma das poucas espécies vegetais escolhidas pela National Aeronautics and Space Administration - NASA para ser cultivada e estudada nas estações espaciais (EHLERS & HALL, 1997).

1.3.3 Fixação biológica de nitrogênio (FBN)

O nitrogênio é um dos elementos essenciais existentes em maior abundância na natureza, mas é o mais crítico em relação ao atendimento às necessidades das plantas. Cerca de 78 % do ar atmosférico é constituído de nitrogênio gasoso e, aproximadamente, 95 % do nitrogênio existente no solo encontra-se sob forma orgânica. Portanto, apenas 5 % do nitrogênio do solo encontram-se sob forma inorgânica (amônio e nitrato), de rápida assimilação pelas plantas.

Estudos comparativos realizados no Brasil revelam ser o nitrogênio o nutriente utilizado em maior quantidade na agricultura, sendo do conhecimento técnico-agronômico que, de maneira geral, há necessidade de quantidade relativamente alta desse elemento no solo, a fim de que sejam obtidas produções compensadoras - de acordo com a necessidade da cultura (LODEIRO et al., 2000).

Fassbender (1967) afirma que o nitrogênio é o macronutriente requerido em maior quantidade pelas plantas. Esse maior consumo de fertilizantes nitrogenados tem explicação no fato de que os solos das regiões tropicais, como os do Brasil, salvo raras exceções, apresentam baixos níveis de nitrogênio mineral, seja devido à rápida mineralização da matéria orgânica e conseqüente imobilização do nitrogênio disponível por microrganismos saprófitos; seja pela rápida oxidação da amônia para nitratos e conseqüente lixiviação deste no solo, principalmente em épocas de chuvas abundantes; seja pelas perdas sob a forma gasosa devido à presença de microrganismos desnitrificadores no solo (CARDOSO & GALLI, 1975; DÖBEREINER & CAMPELO, 1977). Dos macronutrientes gastos na adubação, em termo quantitativo, o mais retirado do campo de cultivo na forma de produto colhido é o nitrogênio (ROSOLEM, 1987). Assim sendo, para que haja aumentos significativos na produtividade das culturas nessa região, há necessidade, entre outras, da aplicação de quantidades necessárias de nitrogênio, geralmente requeridas em grandes concentrações.

As leguminosas têm, ao seu dispor, duas fontes de nitrogênio: o mineral, proveniente do solo e/ou fertilizante e o nitrogênio fixado biologicamente através da simbiose com bactérias dos gêneros *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Allorhizobium*, *Sinorhizobium*,

Azorhizobium e *Mesorhizobium* que são denominados genericamente de rizóbios (VARGAS & HUNGRIA, 1997), tendo considerável importância agrícola. A subida vertiginosa dos preços dos fertilizantes nitrogenados, devido ao consumo de energia fóssil em sua fabricação, aliada aos graves problemas de poluição causados pelo uso intensivo desses fertilizantes, tem deixado à agricultura, dos países em desenvolvimento e dos desenvolvidos, apenas as alternativas de maximizar a fixação biológica de nitrogênio, otimizar a distribuição e emprego dos compostos nitrogenados dentro das plantas e tornar mais eficiente a utilização de carboidratos pelos nódulos (NEVES, 1992). O uso da técnica natural de fixação biológica de nitrogênio pode contribuir com um incremento de mais de $200 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{ano}^{-1}$ de nitrogênio em solos agrícolas (BROADBENT et al., 1982)

O crescimento e a produção das leguminosas são, pelo menos em parte, resultados da interação entre as cultivares das plantas, as estirpes de rizóbios e as condições ambientais em que o sistema simbiótico se desenvolve e que afetam a assimilação, distribuição e utilização do carbono e nitrogênio pelas plantas. A disponibilidade de nitrogênio para as sementes em desenvolvimento determina a produção e depende de uma fixação de nitrogênio que se prolongue até o período de enchimento dos grãos (NEVES & RUMJANEK, 1997).

As plantas dependentes da fixação biológica do N requerem mais fosfato (Pi) que as plantas que usam, exclusivamente, N mineral. Os níveis baixos de P podem afetar a simbiose, ao diminuir o suplemento de fotossintato ao nódulo, reduzir a taxa de crescimento bacteriana e a população total de isolados de *Rhizobium* e *Bradyrhizobium* (KEYSER & MUNNS, 1979)

Sob condição de limitação de nitrogênio mineral, as bactérias do grupo rizóbio formam nódulos simbióticos nas raízes de leguminosas. Nestes nódulos a bactéria na forma de bacteróides, converte nitrogênio atmosférico em amônia, que é utilizado pela planta como fonte de nitrogênio. Bactérias endofíticas são, também, importantes em ecossistemas florestais por aumentar efetivamente a plasticidade fenotípica e a longevidade das plantas hospedeiras sob variáveis ou deletérias condições ambientais (ex.: durante períodos de seca, privação de nutrientes ou ataque patogênico), de acordo com Uribe (1994) e Chanway (1998). O desenvolvimento dos nódulos é iniciado pela troca de sinais químicos moleculares entre a planta e o simbionte (SINGLETON et al., 1992; HUNGRIA et al., 1993).

Os nódulos e a planta hospedeira são perfeitamente interligados por meio de vasos xilemáticos e floemáticos e, portanto, totalmente integrados em termos hormonais e nutricionais. O processo de fixação do nitrogênio também requer um suprimento contínuo de carboidratos que forneçam tanto a energia para a redução do nitrogênio quanto os

esqueletos de carbono necessários à assimilação da amônia produzida. Durante os processos de infecção e desenvolvimento dos nódulos, a energia necessária às divisões celulares é obtida da oxidação dos carboidratos produzidos na parte aérea da planta hospedeira (NEVES, 1992; SILVEIRA et al., 2001).

Devido à existência de uma grande diversidade de espécies nativas de bactérias fixadoras de nitrogênio, que o fazem em baixo grau de eficiência, é necessária a obtenção de estirpes de rizóbios de alta qualidade, capazes de sobreviver e competir pela fixação eficiente do nitrogênio atmosférico na leguminosa alvo (MOAWAD et al., 1998; SILVEIRA et al., 2000; FIGUEIREDO et al., 2001 e 2002).

A nodulação é um processo de multi-passos que envolve plantas específicas e expressão genética bacteriana compatível. Os resultados de várias pesquisas têm indicado a participação de mediadores químicos no período inicial do processo de infecção das raízes das leguminosas. Flavonóides específicos são reconhecidos pelos rizóbios e, em alguns casos, este é um importante aspecto de reconhecimento do hospedeiro. Se o flavonóide for reconhecido, ocorrerá a multiplicação de células bacterianas através da ação de vários produtos de genes e a produção de uma pequena família de lipo-oligossacarídeos. A estrutura dos tipos de lipo-oligossacarídeos é o maior determinante da especificidade do hospedeiro (LAEREMANS & VANDERLEYDEN, 1998; DIOUF et al., 2000).

Leghemoglobinas (Lhbs) são proteínas hemo-constituíntes, presentes em células infectadas de nódulos de leguminosas e não leguminosas e estão difundidas em diversas espécies, estendendo-se de bactérias até mamíferos (APPLEBY et al., 1983; RIGGS, 1991; VINOGRADOV et al., 1993; HARDISSON, 1998). Hbs simbiótica, como a leghemoglobina (LHb) de espécies de leguminosas, só tem sido detectada em tecidos infectados da raiz e alguns nódulos da fixação de nitrogênio (APPLEBY, 1992; ARREDONDO-PETER et al., 1998). A molécula de leghemoglobina é um produto simbiótico sintetizado em resposta da infecção bacteriana (VERMA & LONG, 1983) onde há uma relação fisiológica entre LHb nodular e eficiência da fixação de nitrogênio (APPLEBY, 1984; BECANA & SPRENT, 1989; DAKORA, 1995).

1.3.3.1 Efeito do lodo de esgoto na fixação biológica do nitrogênio

As principais questões discutidas sobre o uso do lodo no solo, têm sido os riscos do acúmulo excessivo de metais pesados e sais solúveis que possam ser tóxicos para a microbiota do solo, particularmente para o “rizóbio” (GILLER et al., 1989).

A fixação biológica do nitrogênio é um processo bioquímico que pode ser utilizado como um importante instrumento de avaliação dos possíveis distúrbios provocados pela

aplicação de resíduos no solo (VISER & PARKINSON, 1992; BROOKES, 1995; WETZEL & WERNER, 1995). Contudo, há algumas divergências entre trabalhos realizados, sobre a influência negativa destes resíduos na microbiota do solo.

Sabe-se que *Bradyrhizobium spp.* possui maior resistência a metais pesados, no solo, do que *Rhizobium spp.*, havendo a possibilidade de maior desenvolvimento em solos que contenham lodo de esgoto (KINKLE et al., 1987). Todavia, ambos são considerados relativamente sensíveis aos efeitos tóxicos dos sais (SINGLETON & BOHLOOL, 1984).

Reddy et al. (1983) verificaram efeito negativo de metais pesados na sobrevivência de *B. japonicum* em solo tratado com lodo de esgoto, o qual reduz o potencial de nodulação em soja, concordando com os resultados de Abd-Alla et al. (1999). McGrath et al. (1988) observaram que a aplicação de lodo de esgoto em solos cultivados com trevo branco (*Trifolium repens* L) reduziu significativamente seu crescimento e a fixação de N.

Avaliando-se o efeito de metais pesados na nodulação e desenvolvimento de leguminosas (ervilha e trevo branco) observou-se que em solos, contendo $273 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ de Zn, que receberam doses de $100 \text{ Mg} \cdot \text{ha}^{-1}$ de lodo de esgoto, após 10 anos, foram encontrados nódulos em ambas as leguminosas. Onde a concentração Zn no solo superou essa faixa e a concentração de Cu atingiu $365 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, não foram encontrados nódulos e o percentual de nitrogênio (% N) foi significativamente inferior ao do tratamento controle (CHAUDRI et al., 2000).

Segundo Chaudri et al. (1993), Smith (1997) e Broos et al. (2005), o Zn é um metal pesado com propriedades fitotóxicas, em altas concentrações, por apresentar forte efeito redutor na quantidade de rizóbio em solo tratado com lodo de esgoto.

Contrariando algumas pesquisas, Selivanovskaya et al. (2001) utilizaram lodo de esgoto em solos da Rússia, e constataram aumentos de quatro vezes na biomassa microbiana e cerca de trinta e cinco vezes na atividade de fixação de nitrogênio, comparando-se com o tratamento sem resíduo.

Em um trabalho realizado com aplicação de bio sólido na dose $23 \text{ Mg} \cdot \text{ha}^{-1}$, associado com a inoculação de bactérias fixadoras de nitrogênio na cultura da soja, houve P suficiente para o desenvolvimento da planta, sem que o N presente no resíduo prejudicasse a fixação atmosférica de N_2 (VIEIRA et al., 2005).

1.4 Referências Bibliográficas

ABD-ALLA, H. M.; YAN, F.; SCHUBERT, S. Effects of sewage sludge application on nodulation, nitrogen fixation, and plant growth of faba bean, soybean and lupin. **Journal of Applied Botany**, v.73, p.69-75, 1999.

AGGELIDES, S. M.; LONDRA, P. A. Effects of compost produced from town wastes and sewage sludge on the physical properties of a loamy and clay soil. **Bioresource Technology**, v.71, p.253-259, 2000.

AL-JALOUD, A. A.; HUSSAIN, G.; AL-SAATI, A. J.; KARIMULLA, S. Effect of wastewater irrigation on mineral composition of corn and sorghum plants in a pot experiment. **Journal of Plant Nutrition**, v.18, p.1677-1692, 1995.

ALLOWAY, B. J. **Heavy metals in soil**. London, Blackie A & P, 1995. 368p.

ALTAFIN, L. **Ácidos orgânicos e solubilização de metais pesados em solos tratados com lodo de esgoto**. ESALQ/USP – Piracicaba, 2005. (Tese). 58 p.

AMARAL SOBRINHO, N. M. B.; VELLOSO, A. C. X.; COSTA, L. M.; OLIVEIRA, C. Mobilidade de metais pesados em solo tratado com resíduo siderúrgico. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.22, p. 345-353, 1998.

ANDRÉ, 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**. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Unesp/ Jaboticabal, 1994. (TCC). 123 p.

ANDREOLI, C. V. Resíduos sólidos do saneamento: processamento, reciclagem e disposição final. **RiMa, ABES**. Rio de Janeiro, 2001. 282p.

ANDREOLI, C. V.; FERNANDES, F. Principais fatores limitantes (metais pesados e patógenos) para o uso agrícola do lodo de esgoto no Paraná. **Sanare**, v.7, n.7, p. 68-72, 1997.

ANDREOLI, C. V.; FERNANDES, F.; DOMASZAK, S. C. **Reciclagem agrícola do lodo de esgoto**. Curitiba: Sanepar, 1997, 81 p.

ANDREOLI, C. V.; PEGORINI, E. S. Gestão pública do uso agrícola do lodo de esgoto. In: BETTIOL, W.; CAMARGO, O.A., eds. Impacto Ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto. Jaguariúna, **EMBRAPA Meio Ambiente**, p. 281-312, 2000.

ANDREOLI, C. V.; PEGORINI, E. S. **Plano de reciclagem agrícola de lodo de esgoto do município de Maringá**. Curitiba, Sanepar, 1999. 100p.

ANGERS, D. A. Changes in soil aggregation and organic carbon under corn and alfafa. **Soil Science American Journal**, v.56, p.1244-1249, 1992.

ANJOS, A. R. M.; MATTIAZZO, M. E. Metais pesados em plantas de milho cultivadas em latossolos repetidamente tratados com biossólido. **Scientia Agrícola**, v.57, p. 769-776, 2000.

APPLEBY, C.A. The origin and functions of haemoglobin in plants. **Science Progress**, v.76, p. 365-398, 1992.

APPLEBY, C.A. Leghemoglobin and Rhizobium Respiration. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 35, p. 443–478, 1984.

APPLEBY, C.A.; TJEPKEMA, J.D.; TRINICK, M.J. Hemoglobin in a non leguminous plant, *Parasponia*: Possible genetic origin and function nitrogen fixation. **Science**, v.220, p. 951–953, 1983.

ARAÚJO, J. C. T.; NASCIMENTO, C. W. A. Redistribuição entre frações e teores disponíveis de zinco em solos incubados com lodo de esgoto. Viçosa, **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.29, n.4, p. 635-644, 2005.

ARREDONDO-PETER, R.; HARGROVE, M.S.; MORAN, J.F.; SARATH, G.; KLUCAS, R.V. Plant Leucaena. **Plant Physiology**, v.118, p.1121-1126, 1998.

BARRETO, M. C. V. **Degradação da fração orgânica de diferentes resíduos e efeitos em algumas propriedades químicas e físicas de dois solos**. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, USP. Piracicaba, 1995. Tese (Doutorado). 106p.

BARROS, D. A. S; PEIXOTO, J.S.; NASCIMENTO, C. W. A.; MELO, E. E. C. Conteúdo de nitrogênio e produção de biomassa em milho e feijoeiro em solos submetidos a doses de lodo de esgoto. In: FERTBIO, 3. Rio de Janeiro, 2002. **Resumos...** Rio de Janeiro, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2002. CD-ROOM

BARSA, Enciclopédia. **Encyclopaedia Britannica do Brasil Publicações**. Rio de Janeiro – São Paulo, p. 91, 1993. (85-7026-298-1).

BAXTER, J. C; AGUILAR, M.; BROWN K. Heavy metals and persistent organics at a sewage sludge disposal site. **Journal of Environmental Quality**, v.12, p. 311-316, 1983.

BECANA, M.; SPRENT, J.I. Effect of nitrate on components of nodule leghemoglobins. **Journal Experimental of Botanic**, v. 40, p.725–731, 1989.

BERNARDES, L. F. **Efeitos da aplicação de lodo de esgoto nas propriedades físicas do Solo**. FCAV/ Unesp/ Jaboticabal, 1982. (TCC). 50p.

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

BETTIOL, W.; CAMARGO, A. O. Impacto ambiental do uso do lodo de esgoto. Jaguariúna, **EMBRAPA Meio Ambiente**. 2000. 312 p.

BOARETTO, R. S.; MURAOKA, T.; NAKAGAWA, J.; CHITOLINA, J. C. Níquel e cádmio em grãos de feijão produzidos em solo adubado com lodo de esgoto. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 20, Piracicaba, 1992. **Anais...** Piracicaba: SBCS, p.400-401, 1992.

BOEIRA, R. C.; LIGO, M. A. V.; DYNIA, J. F. Mineralização de nitrogênio em solo tropical tratado com lodos de esgoto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n.11, p. 1639-1647, 2002.

BORGES, M. R.; COUTINHO, E. L. M.; Metais pesados do solo após aplicação de biossólido. I – Fracionamento. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.28, p.543-555, 2004.

BRASIL. CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - CONAMA. **Resolução n.º 375 de 29 de agosto de 2006**. Define critérios e procedimentos, para o uso agrícola de lodos de esgoto gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados, e dá outras providências. DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO, Brasília-DF. Ministério do Meio Ambiente – MMA. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiano.cfm?codlegitipo=3>>. Acessado em: 15 de setembro, 2006.

BROADBENT, F.E.; NAKASHIMA, T.; CHANG, G.Y.. Estimation of nitrogen fixation by isotope dilution in block and greenhouse experiments. **Agronomy Journal**, v. 74, p.625–628, 1982.

BROMFIELD, E.S.P.; BARRAN, L.R. Promiscuous nodulation of *Phaseolus vulgaris*, *Macroptilium atropurpureum* and *Leucaena Leucocephala* by indigenous *Rhizobium meliloti*. **Canadian Journal of Microbiology**, v.36, p.369-372, 1990.

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

BROOS, K.; BEYENS, H.; SMOLDERS, E. Survival of rhizobia in soil is sensitive to elevated zinc in the absence of the host plant. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 37, p. 573–579, 2005.

BROWN, S.; ANGLE, J. S.; CHANEY, R. L. Correction of limed biosolid induced manganese deficiency on a long term field experiment. **Journal of Environmental Quality**, v.26, p.1375-1384, 1997.

CAMPOS, M. L.; PIERANGELI, M. A. P.; GUILHERME, L. R. G.; CURI, N. Baseline concentration of heavy metals in Brazilian latosols. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 34, p. 547-557, 2003.

CARDOSO, E.J.B.N. ; GALLI, F. Fixação do nitrogênio. In: AQUARONE, E.; BORZANI, W. ; LIMA, U. de A. **Biotecnologia**. Tópicos de Microbiologia Industrial. São Paulo: Edgar Blucher, 1975. p. 14-40.

CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P. **Microbiologia do Solo**. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. Campinas - São Paulo, p. 257-282, 1992.

CAVALLARO, N.; PADILLA, N.; VILLARRUBIA, J. Sewage sludge effects on chemical properties of acid soils. **Soil Science**, v.156, p.63-70, 1993.

CETESB - COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Aplicação de lodos de sistemas de tratamento biológico em áreas agrícolas**: critérios para projeto e operação. São Paulo, 1999.(Manual Técnico – P 4230). 32 p.

CHANG, A. C.; WARNEKE, J. E.; PAGE, A. L.; LUND, L. J. Accumulation of heavy metals in sewage sludge-tread soils. **Journal of Environmental Quality** v. 13, p. 87-91, 1984.

CHANWAY, C.P. Bacterial endophytes: ecological and practical implications. **Sydowia**, v. 50, p.149-170, 1998.

CHAUDRI, A.M.; ALLAIN, C.M.G.; BARBOSA-JEFFERSON, V.L.; NICHOLSON, F.A.; CHAMBERS, B.J.; McGRATH, S.P. A study of the impacts of Zn and Cu on two rhizobial species in soils of a long-term field experiment. **Plant and Soil**, v. 221, p. 167–179, 2000.

CHAUDRI, A.M.; McGRATH, S.P.; GILLER, K.E.; REITZ, E.; SAUERBECK, D.R. Enumeration of indigenous *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii* in soils previous treated with metal-contaminated sewage sludge. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 25, p.301-309, 1993.

CHINO, M.; SHIGEKO, G.; KUYMAZAWA, K. O. W. A. N.; YOSHIOKA, O.; TAKECHI, N.; INANAGA, S.; INOU, H.; DELONG, C.; YOUSSEF, R. A. Behavior of zinc and copper in soil with long term application of sewage sludge. **Soil Science and Plant Nutrition**. v. 38, p. 159-167, 1992.

COBRA NETO, A.; ACCORSI, W.R ; MALAVOLTA, E. Estudos sobre a nutrição mineral do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L. var. Roxinho). **Anais da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"**. Piracicaba: v.28, p.257-74, 1971.

COSTA, A. N.; COSTA, A .F. S.; MARQUES, M. O.; SANTANA, R. C. Resíduos sólidos do saneamento: processamento, reciclagem e disposição final. **RiMa, ABES**. Rio de Janeiro, cap.8, p. 189- 214, 2001.

CRIPPS, R. W.; WINFREE, S. K.; REAGAN, J. L. Effects of sewage sludge applications method on corn production. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.23, p.1705-1715, 1992.

DAKORA, F. A functional relationship leghemoglobin and nitrogenase based on novel measurements of two proteins in legume root nodules. **Annals of Botany**, v. 75, p. 49-54, 1995.

DAROS, C. O.; AITA, C.; CERITA, C. A.; FRIES, M. R. Lodo de esgoto: efeito imediato no milho e residual na associação aveia e ervilhaca. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.17, n.2, p.257-261, 1993.

DAVIS, R. D.; HALL. J. E. Production, treatment and disposal of wastewater sludge in Europe from a UK perspective. **European Water Pollution Control**. v.7, n.2, p.9-17, 1997.

DEL VAL, C.; BAREA, J. M.; AZCÓN-AGUILAR, C. Arbuscular mycorrhizal spore populations in heavy metal contaminated soils as affected by the host plant. **Applied Environmental Microbiology**, v. 65, p.718-723, 1998.

DESCHAMPS, C.; FAVARETTO, N. Efeito do lodo complementado com fertilizante mineral na produtividade e desenvolvimento da cultura do feijoeiro e do girassol. **Sanare**, v.8, p.33-38, 1997.

DIAS, L.E.; FRANCO, A.A.; CAMPELO, E.; FARIA, S.M de ; SILVA, E.M. Leguminosas florestais: aspectos relacionados con su nutrición y uso en la recuperación de suelos degradados. **Bosque**, v.16, n.1, p.121-127, 1995.

DIOUF, A.; LAJUDIE, P.; NEYRA, M.; KERSTERS, K.; GILLIS, M.; MARTINEZ-ROMERO, E.; GUEYE, M. Characterization of rhizobia that nodulate *Phaseolus vulgaris* in West Africa (Senegal and Gambia). **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, n.50, p.159-170, 2000.

DÖBEREINER, J.; CAMPELO, A.B. Importance of legumes and their contribution to tropical agriculture. In: HARDY, R.W.F. (Org.). A treatise on dinitrogen fixation. New York: John Wiley. **Agronomy and Ecology**, v.4, p. 191-220, 1977.

DOUGLAS, B. F.; MAGDOFF, F. R. An evaluation of nitrogen mineralization indices for organic residues. **Journal of Environmental Quality**, v.2, p. 368-372, 1991.

DOWDY, R. H.; LATTERELL, J. J.; HINESLY, T. D.; GROSSMAN, R. B.; SULLIVAN, D. L. Trace metal movement in an aerobic soil following 14 years of annual sludge applications. **Journal of Environmental Quality**, v.20, p.119-123, 1991.

EARDLY, B.D.; HANNAWAY, D.B.; BOTTOMLEY, P.J. Characterization of rhizobia from ineffective alfalfa nodules: ability to nodulate bean plants [*Phaseolus vulgaris* (L.) Savi.]. **Applied Environmental Microbiology**, v.50, p.1422-1427, 1985.

EGREJA FILHO, F. B. **Avaliação da ocorrência e distribuição química de metais pesados na compostagem de lixo domiciliar urbano**. Universidade Federal de Viçosa - Viçosa, 1993. (Mestrado). 174 p.

EHLERS, J.D.; HALL, A.E. Cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.) **Field Crops Research**, v.53, Issues 1-3, p. 187-204, 1997.

EMBRAPA. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Manual de métodos de análises dos solos**. Rio de Janeiro, 1997. 182p.

EMMERICH, W. E.; LUND, L. J.; PAGE, A. L.; CHANG, A. C. Movement of heavy metals in sewage sludge-treated soils. **Journal of Environmental Quality**, v.11, p.174-178, 1982.

FASSBENDER, H.W. **La fertilización del frijol (*Phaseolus* sp.)**. San Jose: Turrialba, n.17, v.1, p.46-52, 1967.

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

FERREIRA, D. G.; MELO, H. P.; NASCIMENTO, P. S. J. **Avaliação do quadro de desertificação no Nordeste do Brasil: diagnósticos e perspectivas**. In: Conferência Nacional de Desertificação, Fortaleza, 1994.

FIGUEIREDO, M. V. B.; BURITY H. A.; MARGULHÃO A. C. E. S.; ARAÚJO W. M.; SALINAS C. R.; SILVEIRA J. A. G. Respuesta a la inoculación de *Bradyrhizobium* sp. en caupí (*Vigna unguiculata* L. Walp.) utilizando diferentes substratos de cultivos alternativos. **Investigación Agraria - Producción y Protección Vegetales**, v.17, n. 1, p. 27-34, 2002.

FIGUEIREDO, M.V.B.; BEZERRA-NETO, E.; BURITY, H.A. Water stress response on the enzymatic activity in cowpea nodules. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.32, p.195-200, 2001.

FRANK, R. The use of biosolids from wastewater treatment plants in agriculture. **Environmental Management**, v. 9, n. 4, p.165-169.1998.

FRED, E.B.; BALDININ, I.L.; McCOY, E. **Root nodule bacteria and leguminous plants**. Madison, 1932. 343 p.

FREIRE FILHO, F. R. Origem, evolução e domesticação do caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) In: ARAÚJO, J. P. P. de; WATT, E.E. (Org.) **O Caupi no Brasil**. Goiânia: EMBRAPA-CNPAP/ IBADAN: IITA, p.25-46, 1988.

FREIRE FILHO, F. R.; CARDOSO, M. J.; ARAÚJO, A. G. de; SANTOS, A.A. dos; SILVA, P. H. S. da. **Características botânicas e agronômicas de cultivares de feijão macassar** (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). Teresina: EMBRAPA-UEPAE, 1981. 40p. EMBRAPA-Teresina. (Boletim de Pesquisa, 4).

FREIRE FILHO, F.R.; RIBEIRO, V.Q.; BARRETO, P.D.; SANTOS, C.A.F. Melhoramento Genético de Caupi (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.) na região Nordeste. In: QUEIROZ, M.A.; GOEDET, C.O.; RAMOS, S.R.R. (ed.) **Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas para o Nordeste Brasileiro**. Petrolina: Embrapa Semi-árido / Brasília-DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1999. Disponível: <http://www.ctpsa.embrapa.br>. Acessado em 14 de abril de 2007.

FROSSARD, E.; MOREL, J. L. Assessment of phosphate fertilizing value of urban sewage sludges. In: **Soil management in sustainable agriculture**. Wye College, University of London, UK: Wye College Press, p. 226-230, 1995. 590p.

GALDOS, M. V.; DE MARIA, I. C.; CAMARGO, O. A. Atributos químicos e produção de milho em um latossolo vermelho eutroférico tratado com lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.28, p.569-577, 2004.

GILLER, K. E.; McGRATH, S. P.; HIRSCH, P. R. Absence of nitrogen fixation in clover grown on soil subject to long-term contamination with heavy metals is due to survival of only ineffective *Rhizobium*. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 21, p. 841-848, 1989.

GOMES, L.P.; COELHO, O.W.; COSTA, A.N.; MARQUES, M.O. Resíduos sólidos do saneamento: processamento, reciclagem e disposição final. **RiMa, ABES**. Rio de Janeiro, cap.7, p. 165-187, 2001.

GRIFFITH, J.J.; DIAS, L.E.; JUCKSCH, I. Novas estratégias ecológicas para a revegetação de áreas mineradas no Brasil. In: Simpósio Sul-americano, 1, e Simpósio Nacional, 2, sobre a Recuperação de Áreas Degradadas. **Anais...**, Foz do Iguaçu, Paraná, p. 31-43, 1994.

GUEDES, M. C. **Ciclagem de nutrientes após aplicação de lodo de esgoto (biossólido) sobre latossolo cultivado com *Eucalyptus grandis***. ESALQ/USP – Piracicaba, 2005. (Tese). 154 p.

HAAG, H.P.; MALAVOLTA, E.; GARGANTINI, H.; BLANCO, H.G. Absorção de nutrientes pela cultura do feijoeiro. Campinas: **Bragantia**, n.26, v.30, p. 381-91, 1967.

HARDISSON, R. Hemoglobins from bacteria to man: evolution of different patterns of gene expression. **Journal of Experimental Biology**, v.201, p. 1099-1117, 1998.

HARRISON, R. B.; GUERRINI, I. A.; HENRY, C. L.; COLE, D. W. **Reciclagem de resíduos industriais e urbanos em áreas de reflorestamento**. (Circular técnica IPEF), n.198, p.01-20, 2003.

HARRIS-PIERCE, R. L.; REDENTE, E. F.; BARBARICK, K. A. Sewage sludge application effects on runoff water quality in a semiarid grassland. **Journal of Environmental Quality**, v.24, p.112-115, 1995.

HENRY, C. L.; COLE, D. W.; HARRISON, R. B. Use of municipal sludge to restore and improve site productivity in forestry: The Pack Forest Sludge Research Program. **Forest Ecology and Management**, v.66, p.137-149, 1994.

HUE, N. V. Sewage sludge. In: RECHCIGL, J.E. ed. **Soil Amendments and Environmental Quality**. Boca Raton, CRC Press, p.168-199, 1995.

HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J. C.; CAMPO, R. J.; GRAHAM, P. H. The importance of nitrogen fixation to soybean cropping in South America. In: Werner, D.; Newton, W.E. (eds.). (org.). **Nitrogen fixation in agriculture, forestry, ecology, and the environment**. Dordrecht, Amsterdam: Springer, 2005, v.4, p. 25-42.

HUNGRIA, M.; FRANCO, A. A.; SPRENT, J.I. New sources of high-temperature tolerant rhizobia for *Phaseolus vulgaris* L. **Plant and Soil**, v.149, p.103-109, 1993.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento Sistemático de Produção Agrícola**, 2002. Disponível em <http://www.ibge.gov.br>. Acessado em 14 de outubro de 2005.

IAP. INSTITUTO AMBIENTAL DO PARANÁ. **Utilização Agrícola de Lodo de Estação de Tratamento de Esgoto**. 2003. 45 p.

IPA. EMPRESA PERNAMBUCANA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, Recife, v.6, p. 5-11, 1989.

IPTESP. **INSTITUTO de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo**. 1981.

JOHNSON, R. M.; RAYMOND, W. D. The chemical composition of some tropical food plant II – Pigeons peas and cowpeas. London: **Tropical Science**, v.2, p.68-73, 1964.

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

KEYSER, H.H.; MUNNS, D.N. Tolerance of rhizobia to acidity, aluminum and phosphate. **Soil Science Society of American Journal**, v.43, p. 519-523, 1979.

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

KINKLE, B. K.; ANGLE, J. S.; KEYSER, H. H. Long-term effects of metal-rich sewage sludge application on soil population of *Bradyrhizobium japonicum*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.53, p. 315-319, 1987.

KVARNSTORM, E.; NILSSON, M. Reusing phosphorus: engineering possibilities and economic realities. **Journal of Economic Issues** v. 33, n. 2, p.393-341. 1999.

LAEREMANS, T.; VANDERLEYDEN, J. Infection and nodulation signaling in *rhizobium* – *Phaseolus vulgaris* symbiosis. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, n.14, v.6, p.787-808, 1998.

LAGUERRE, G.; GENIAUX, E.; MAZURIER, S.I.; CASARTELLI, RR.; AMARGER, N. Conformity and diversity among field isolates of *Rhizobium leguminosarum* bv. *Viciae*, bv. *Trifolii* and bv. *Phaseoli* revealed by DNA hybridization using chromosome and plasmide probes. **Canadian Journal of Microbiology**, v.39, p.412-419, 1993.

LESCHBER, R.; DAVIES, R. D.; L'HERMITE, P. **Chemical methods for assessing bioavailability metals in sludge and soils**. London: Elsevier, 1985. 96p.

LIMA, G.A. Cultura do feijão de corda. Fortaleza: **Imprensa Oficial**, 1980. 199p.

LODEIRO, A. R.; GONZÁLEZ, P.; HERNÁNDEZ, A.; BALAGUÉ, L.J.; DAVELUKES, G. Comparison of drought tolerance in nitrogen-fixing and inorganic nitrogen-grow common beans. **Plant Science**, v.154, p.31-41, 2000.

LOGAN, T. J.; LINDSAY, B. J.; GOINS, L. E.; RYAN, J. A. Field assessment of sludge metal bioavailability to crops: sludge rate response. **Journal of Environmental Quality**, v.26, p.534-550, 1997.

LOPES, A.S. **Manual internacional de fertilidade do solo**. 2 ed., Piracicaba: POTAFOS, 1998. 177p.

MACHADO, J. R; ROSOLEM, C. A.; BALDUCCI JÚNIOR, J. J.; NAKAWA, J. Adubação foliar do feijoeiro. I. Estudo de épocas de aplicação de nitrogênio. In: Simpósio de Adubação Foliar, 1, Botucatu, 1981. **Anais...** Botucatu: FEPAF, 1981. p. 121.

MALAVOLTA, E. Nutrição e adubação. In: Simpósio Brasileiro de Feijão, 1, Campinas, 1971. **Anais...** Viçosa: UFV, 1971. p. 211-42.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. G.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba, Associação Brasileira para Pesquisas de Potássio e Fósforo, 1989, 201p.

MARQUES, M. O. **Incorporação de lodo de esgoto em solo cultivado com cana-de-açúcar**. FCAV. Jaboticabal, 1997. Tese (Livro Docência). 111p.

MARTINEZ, E.; PARDO, M.A.; PALACIOS, R.; CEVALLOS, M.A. Reiteration of nitrogen fixation gene sequences and specificity of *Rhizobium* in nodulation and nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris*. **Journal of General Microbiology**, v.131, p.1779-1786, 1985.

MATOS, A. P. R.; SILVA, J. P. P.; COSTA, M C R.; GADIOLI, J.L. Avaliação dos teores de metais pesados em solo e plantas de uma área utilizada para lavagens de peças e deposição de resíduos industriais. In: FERTBIO, Lages, 2004. **Resumos...** Lages, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2004. CD-ROOM.

MAZUR, N. **Níquel, chumbo, zinco e cobre em solos que receberam composto de resíduos sólidos urbanos**. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 1997. (Tese de Doutorado). 129p.

MAZZARINO, M. J.; LAOS, F.; SATTI, P.; MOYANO, S. Agronomic and environmental aspects of utilization of organic residues in soils of the Andean-Atacama region. **Soil Science and Plant Nutrition**, v.44, p.105-113, 1998.

McBRIDE, M. B. Toxic metal accumulation from agricultural use of sludge: are USEPA regulations protective. **Journal of Environmental Quality**, n.24, p.5-18, 1995.

McBRIDE, M. B.; RICHARDS, B. K.; STEENHUIS, T.; RUSSO, J. J.; SAUVÉ, S. Mobility and solubility of toxic metals and nutrients in soil fifteen years after sludge application. **Soil Science**, v.162, p.487-500, 1997.

McGRATH, S. P.; BROOKES, P. C; GILLER, K. E Effects of potentially toxic metals in soil derived from past applications of sewage sludge as nitrogen fixation by *Trifolium repens* L. **Soil Biology and Biochemistry**, n.20, p. 415-424, 1988.

McGRATH, S. P.; CHAUDRI, A. M.; GILLER, K. E. Long-term effects of land application of sewage sludge: soils, microorganism and plants. In: WORLD CONGRESS OF SOIL SCIENCE, 15. Acapulco, 1994. **Proceedings...** Acapulco, México, p. 517-533, 1994.

MELO, A. R. B. **Utilização de nitrato e ajustamento osmótico em plantas de feijão de corda (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.) submetidas a diferentes níveis de estresse salino.** UFC. Fortaleza, 1999. (Tese de doutorado). 255p.

MELO, G. M. P.; MELO, V. P.; MELO, W. J. **Metais pesados no ambiente decorrente da aplicação de lodo de esgoto em solo agrícola.** CONAMA - Apresentado na Reunião do GT Lodo de Esgoto, 3, 2004. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/reunalt.cfm?cod_reuniao=728>. Acessado em: 28 de jun. 2006.

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

MELO, W. J.; MARQUES, M. O.; FERREIRA, M. E.; MELO, G. M. P.; MELO, V. P. Chemical properties and enzyme activity in a sewage sludge-treated soil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.33, p.1643-1650, 2002.

MELO, W. J.; MARQUES, M. O.; MELO, V. P. O uso agrícola do biossólidos e as propriedades do solo. In: TSUTIYA, M. T.; COMPARINI, J. B.; ALEM SOBRINHO, P.; HESPANHOL, L; CARVALHO, P. C. T.; MELFI, A.J.; MELO, W. J.; MARQUES, M. O. (Ed). **Biossólidos na agricultura.** Cap. 12. SABESP, Escola Politécnica, USP, ESALQ-USP / Nupegel, UNESP – Jaboticabal, São Paulo, p.289-363, 2001.

MELO, W. J.; MARQUES, M. O.; SANTIAGO, G.; CHELLI, 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**, v.18, p.449-455, 1994.

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., Rio de Janeiro, 1997. **Palestras...** Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1997. CD-ROOM

MESQUITA, A. A. **Remediação de áreas contaminadas por metais pesados provenientes de lodo de esgoto.** Seropédica, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2002. (Mestrado). 68p.

MILLNER, P. D.; LUMSDEN, R. D.; LEWIS, J. A. Controlling plant disease with sludge compost. **Biocycle**, v.53, p. 50-52, 1982.

MOAWAD, H.; BADR EL-DIN, S.M.S.; ABDEL-AZIZ, R.A. Improvement of biological nitrogen fixation in Egyptian Winter legumes through better management of Rhizobium. **Plant and Soil**, v.204, n.1, p. 95-106, 1998.

NASCIMENTO, C. W. A.; BARROS, D. A. S.; MELO, E. E. C.; OLIVEIRA, A. B. Alterações químicas em solos e crescimento de milho e feijoeiro após aplicação de lodo de esgoto. Viçosa. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, p. 385-392, 2004.

NEVES, M.C.P. Como os microrganismos do solo obtêm energia e nutrientes. In: Cardoso, E.J.B.N.; TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P. **Microbiologia do Solo**. Sociedade Brasileira de Ciências do Solo, p.17-31, 1992.

NEVES, M.C.P.; RUMJANEK, N.G. Diversity and adaptability of soybean and cowpea rhizobia in tropical soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v.29, p.889-895, 1997.

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

OLIVEIRA, C.; AMARAL SOBRINHO, N. M. B.; MARQUES, V. S.; MAZUR, N. Efeitos da aplicação do lodo de esgoto enriquecido com cádmio e zinco na cultura do arroz. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.29, p.109-116, 2005.

OLIVEIRA, C.; AMARAL SOBRINHO, N. M. B.; MAZUR, N. Solubilidade de metais pesados em solos tratados com lodo de esgoto enriquecido. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.27, p.171-181, 2003.

OLIVEIRA, F. C. **Metais pesados e formas nitrogenadas em solos tratados com lodo de esgoto**. Piracicaba, ESALQ/USP, 1995. (Tese de Doutorado). 90p.

OLIVEIRA, F. C.; MATTIAZZO, M. E.; MARCIANO, C. R.; ROSSETO, R. Efeitos de aplicações sucessivas de lodo de esgoto em latossolo amarelo distrófico cultivado com cana-de-açúcar: carbono orgânico, condutividade elétrica, pH e CTC. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.26, p.505-519, 2002.

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 Agricola**, v.4, p.807-812, 2001.

OLIVEIRA, I. P.; CARVALHO, A. M. A. cultura do caupi nas condições de clima e de solo dos trópicos úmidos e semi-árido do Brasil. In: ARAÚJO, J. P. P; WATT, E. E. **O caupi no Brasil**. Brasília: EMBRAPA-CNPAP, 1998. p. 60-96,

PIERRISNARD, F. **Impact de l'amendement des boues résiduaires de la ville de Marseille sur des sols a vocation agricole: comportement du Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn, des hydrocarbures et des composés polaires**. Facolte des Sciences et Techniques de Saint-Jerome, Université de Droit d'Economie et des Sciences d'AIX-MARSEILLE. 1996. These (Docteur). 408p.

PIRES, A. M. M. **Lodo de Esgoto**. AMBIENTEBRASIL. EMBRAPA Meio Ambiente, 2005. Disponível em: < www.cnpma.embrapa.br/>. Acessado em 14 de maio, 2006.

RAIJ, B.van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo. In: **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. Campinas, Instituto Agrônomo-FUNDAG, 1997. p. 31. (Boletim Técnico, 100).

REDDY, G. B.; CHENG, C. N.; DUNN, S. J. Survival of *Rhizobium japonicum* in soil-sludge environment. **Soil Biology and Biochemistry**. v.15, p. 343-345. 1983.

REDDY, M. R.; LAMECK, D.; REZANIA, M.E. Uptake and distribution of copper and zinc by soybean and corn from soil treated with sewage sludge. **Plant and Soil**, v.113, p.271-274, 1989.

RÉNDON, C. M.; CISNEROS, B. E. J.; PÉREZ, J. A. B. Evaluación microbiologica de un lodo residual de México: perspectivas de reuso. In: Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria Y Ambiental, 28. **Anais...** Cancún, México. 2002.

RIBEIRINHO, V. S.; MELO, W. J.; MELO, G. M. P.; MELO, V. P.; BERTIPAGLIA, L. A. Teores totais de metais pesados em latossolo cultivado com girassol em função da aplicação de biossólido. In: FERTBIO, Lages, 2004. Lages, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. **Anais...** CD-ROOM, 2004.

RIGGS, A.F. Aspects of the origin and evolution of non-vertebrate hemoglobins. **American Zoologist**, v. 31, p. 535-545, 1991.

RITTER, W.F.; EASTBURN, R.P. The uptake of heavy metals from sewage sludge applied to land by corn and soybeans. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.9, p.799-811, 1978.

ROBERTS, J. A.; DANIELS, W. L.; BELL, J. C.; MARTENS, D. C. Tall fescue production and nutrient status on southwest Virginia mine soils. **Journal of Environmental Quality**, v.17, p.55-62, 1988.

ROSOLEM, C.A. **Nutrição e Adubação do feijoeiro**. Piracicaba, Associação Brasileira para pesquisa do Potássio e do Fosfato, 1987. (Boletim Técnico, 8). 91p.

ROSS, C. A.; AITA, C.; CERETTA, C. A.; FRIES, M. R. Utilização de lodo de esgoto como fertilizante: efeito imediato no milho e residual na associação de aveia + ervilhaca. In: Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas, 23., Santa Maria, 1990. **Resumos...** Santa Maria, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p. 20. 1990.

ROSS, S. M. Source and forms of potentially toxic metals in soil plant systems. In: ROSS, S. M. (ed.). **Trace Metal Sins**, p. 3-25, 1994.

SANTANA FILHO, S.; CARDOSO, I. M.; PEREIRA NETO, J. T. Utilização de compostos orgânicos de lixo urbano na recuperação de áreas degradadas. In: Simpósio Nacional de Áreas Degradadas – SINRAD, 3, Viçosa: SOBRADE/UFV, **Anais...** p 403-406, 1997.

SANTOS, I.; BETTIOL, W. Efeito do lodo de esgoto no crescimento micelial de fitopatógenos habitantes do solo na podridão do colo de plântulas de feijoeiro, causadas por *Sclerotium rolfsii*, em condições controladas. **Ecossistema**, v. 26, p.157-161. 2001.

SEKI, L. T. **Estudo da aplicação de doses de calcário e de lodo de esgoto na cultura de aveia branca (*Avena sativa* L.) cv. UFRGS-7, cultivada em latossolo vermelho-escuro**. FCAV/UNESP. Jaboticabal, 1995. (TCC). 63p.

SELBACH, P. A.; CAMARGO, F. A. Q. Resíduos orgânicos: fontes de nutrientes e contaminantes. In: FERTBIO 2000, Santa Maria. **Anais...** CD-ROOM. 2000.

SELIVANOVSKAYA, S. Y.; LATYPOVA, V. Z.; KIYAMOVA, S. N.; ALIMOVA, F. K.; Use of microbial parameters to assess treatment methods of municipal sewage sludge applied to grey forest soils of Tatarstan. **Agriculture Ecosystems & Environment**, v. 86, p. 145-153, 2001.

SHUMAN, L. M. Effect of organic matter on the distribution of manganese, copper, iron and zinc in soil fractions. **Soil Science**, v.140, p.192-198, 1998.

SILVA NETO, J. P. **Efeito da inoculação de fungos micorrízicos em mudas de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis Sims. F. flavicarpa Deg*) em substrato com biossólido.** Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife, 2001, 125p. (Dissertação de mestrado).

SILVA, F. C. **Uso agrônômico de lodo de esgoto:** efeitos em fertilidade do solo e qualidade da cana-de-açúcar. Piracicaba: ESALQ/USP, 1995. 170p.

SILVA, F. C.; BOARATTO, A. E.; BERTON, R. S.; ZOTELLI, H. B.; PEIXE, C. A.; MENDONÇA, E. Cana-de-açúcar cultivada em solo adubado com lodo de esgoto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v. 33, n.1, p. 1-8, 1998.

SILVA, J. E.; RESCK, D. V. S.; SHARMA, R. D. Utilização do lodo de esgoto como fonte de fósforo e nitrogênio para milho. In: Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 26., Rio de Janeiro. **Anais...** Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1997. CD-ROOM.

SILVA, J. E.; RESCK, D. V. S.; SHARMA, R. D. Alternativa agrônômica para o biossólido produzido no Distrito Federal. I – Efeito na produção de milho e na adição de metais pesados em Latossolo no cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.26, p.487-495, 2002.

SILVA, P.M. da; TSAI, S.M.; BONETTI, R.. Response to inoculation and N fertilization for increased yield and biological nitrogen fixation of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Plant and Soil**, v.152, p.123-130, 1985.

SILVEIRA, J.A.G. da; COSTA, R.C.L. da; OLIVEIRA, J.T.A. Drought-induced effects and recovery of nitrate assimilation and nodule activity in cowpea plants inoculated with *Bradyrhizobium* spp. under moderate nitrate level. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.32, p. 187-194, 2001.

SILVEIRA, P. M.; ZIMMERMANN, F. J. P.; SILVA, S. C.; CUNHA, A. A. Amostragem e variabilidade espacial de características químicas de um latossolo submetido a diferentes sistemas de preparo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 10, p. 2057-2064, out. 2000.

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

SIMS, J. L.; PATRICK, W.H. J. R. The distribution of micronutrients cations in soil under conditions of varying redox potencial and pH. **Soil Science Society of American Journal**, v.42, p.259-262, 1986.

SINGLETON, P. W.; BOHLOOL, B. B. Effect of salinity on nodule formation by soybean. **Plant Physiology**, v. 74, p. 72-76, 1984.

SINGLETON, P.W.; BOHLOOL, B.B.; NAKAO, P.L. Legume response to rhizobial inoculation in the tropics: myths and realities. In: Mythes and Science soils in the tropics. SSSP Special Publication n.29. Madison. **Soil Science Society of America**, 1992. p.5-155.

SMITH, C. W.; JOHNSTON, M. A.; LORENTZ, S. The effect of soil compaction and soil physical properties on the mechanical resistance of South African forestry soils. **Geoderma**, v.78, p.93-111, 1997.

SMITH, S.R. Rhizobium in soils contaminated with copper and zinc following the long-term application of sewage sludge and other organic wastes. **Soil Biology and Biochemistry**, vol. 29, p.1475-1489, 1997.

SOUZA, F. A.; SILVA, E. M. R. **Micorrizas arbusculares na revegetação de áreas degradadas**. In: Avanços em fundamentos e aplicação de micorrizas. Ed. J.O. Siqueira, UFLA/DCS e DCF, p. 255-290, 1996.

SOUZA, L. V. **Efeito da deficiência hídrica sobre o crescimento, a fixação do nitrogênio e a produção do caupi**. Recife: UFRPE, 1991. (Mestrado). 89p.

SOUZA, Z.M.; BEUTLER, A.N.; MELO, V.P.; MELO, W.J. Estabilidade de agregados e resistência à penetração em latossolos adubados por cinco anos com biossólido. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.29, p.117-123, 2005.

STAMFORD, N. P.; NEPTUNE, A.M.L.; SILVA, I. P. Efeito do potássio em presença do N mineral na nodulação, crescimento e absorção de nutrientes por *Vigna unguiculata* (L) Walp. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.4, n.2, p. 93-103, maio/agosto, 1980.

STEFFENS, J. C. The heavy metal-binding peptides of plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.41, p.553-75, 1990.

TILLER, L. D.; McBRIDE, M. B. Mobility and extractability of cadmium, copper, nickel and zinc in organic mineral soils columns. **Soil Science**, v. 134, p. 198-205, 2004.

TSADILAS, C. D.; MATSI, T.; BARBAYIANNIS, N.; DIMOYIANNIS, D. Influence of sewage sludge application on soil properties on the distribution and availability of heavy metals fractions. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.26, p.2603-2619, 1995.

TSUTIYA, M. T. Alternativas de disposição final de biossólidos gerados em estações de tratamento de esgoto. In: BETTIOL, W. & CAMARGO, O. A. (Ed) **Impacto Ambiental do Uso Agrícola do Lodo de Esgoto**. Jaguariúna: EMBRAPA Meio Ambiente, 2000. cap. 4, p. 69-106.

TSUTIYA, M. T. Alternativas de disposição final de biossólidos. In: TSUTIYA, M.T.; COMPARINI, J. B.; SOBRINHO, P. A.; HESPANHOL, I.; CARVALHO, P. C. T.; MELFI, A. J.; MELO, W.J.; MARQUES, M. O. eds. **Biossólidos na Agricultura**. São Paulo, SABESP, 2001. 468p.

URIBE, L. Formacion de nodulos de rhizobium: Factores que pueden conferir ventaja competitiva. **Agronomia Costaricense**, v. 18, n.1, p.121-131, 1994.

USEPA – U. S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Biosolids generation use and disposal in the United States**. Municipal and Industrial Solid Waste Division, Office of Solid Waste, 1999. 75p.

USEPA – U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Standards for the use and disposal of sewage sludge**. Washington: EPA, 1982. (Code of Federal Regulation 40 CFR Part 503).

VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M. Fixação biológica do N₂ na cultura da soja. In: VARGAS, M.A.T.; HUNGRIA, M., eds. **Biologia dos solos de cerrados**. Planaltina, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, p. 297-360. 1997.

VERMA, D.P.; LONG, S. The molecular biology of *Rhizobium*-legume symbiosis. **International Review of Cytology**, v. 158, p.151-162, 1983.

VIDOR, C. Descarte de lodo de estações de tratamento de efluentes domésticos no solo. In: TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C. (Ed.) **Manejo racional de resíduos no solo**. Porto Alegre: DS/UFRGS, p. 128-150, 1999.

VIDOR, C.; KOLLING, J.; FREIRE, J.R.J.; SCHOLLES, D.; BROSE, E.; PEDROSO, M.H.T. **Fixação biológica do nitrogênio pela simbiose entre *Rhizobium* e Leguminosas**. Porto Alegre, 1983. p.1-52. (Boletim Técnico IPAGRO).

VIEIRA, R. F.; TANAKA, R. T.; TSAI, M. S., PEREZ, D. V.; SOUSA SILVA, C. M. M. Disponibilidade de nutrientes no solo, qualidade de grãos e produtividade da soja em solo adubado com lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 40, n. 9, 2005.

VIEIRA, R. F.; CARDOSO, A. A. Variações nos teores de nitrogênio mineral em solo suplementado com lodo de esgoto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.38, n.7, p. 867-874, 2003.

VINCENT, J.M. **A manual for the practical study of the root nodule bacteric**. Oxford, Scientific Publications, 1970. p. 163

VINOGRADOV, S.N.; WALTZ, D.A.; POHAJDAK, B.; MOENS, L.; KAPP, O.H.; SUZUKI, T.; TROTMAN, C.N.A. Adventitious variability? The amino acid sequences of nonvertebrate globins. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 106 B; p. 1-26, 1993.

VISER, A.; PARKINSON, D. Soil biological criteria as indicator of soil quality: soil microorganisms. **American Journal of Alternative Agriculture**, v.7, p.33-37, 1992.

VOLPE, A. **Absorção de NPK por azevém e atividade enzimática de um latossolo tratado com lodo de esgoto contaminado com cádmio**. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Jaboticabal, 1995. (TCC). 74p.

WATT, E. E. **First annual report on the EMBRAPA/IITA - Cowpea Program in Brasil**. Goiânia, EMBRAPA-CNPAF, 1978. 55p.

WETZEL, A.; WERNER, D. Ecotoxicological evaluation of contaminated soil using the legume root nodule symbiosis as effect parameters. **Environmental Ecotoxicology and Water Quality**, v.10, p.127-133. 1995.

CAPÍTULO 2

CAPÍTULO 2

Avaliação do potencial de uso do lodo de esgoto associado à inoculação de estirpes de *Bradyrhizobium* spp. em caupi (*Vigna unguiculata* [L.] Walp)

Rafael Sá Leitão Barboza.¹, Arminda Saconi Messias^{1,2,*}, Márcia do Vale Barreto Figueiredo²,
Vanessa Natalia de Lima³, Odemar Vicente Reis²

¹Universidade Católica de Pernambuco - UNICAP. Mestrado em Desenvolvimento de Processos Ambientais, 50050-900 Recife, PE, Brasil.

²Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA. 50761-000 Recife, PE, Brasil.

³Universidade Católica de Pernambuco - UNICAP. Pibic Júnior Facepe, 50050-900 Recife, PE, Brasil.

*55 81 2119-4376 / saconi@unicap.br

50050-900, Rua do Príncipe, 526. UNICAP, Bloco G4, 8º andar, Recife, PE, Brasil.

Resumo

Com o objetivo de avaliar o potencial de uso do lodo de esgoto (LE) associado à inoculação de estirpes de *Bradyrhizobium* spp. em caupi, o experimento conduzido em casa de vegetação utilizou cinco estirpes de *Bradyrhizobium* spp. (EI-6; NFB700; BR2001; BR4406; BR3267) e quatro níveis de LE (0, 25, 50 e 75 Mg·ha⁻¹). Após 45 dias de experimento foram avaliadas as variáveis: matéria seca da raiz (MSR) e parte aérea (MSPA), matéria fresca dos nódulos (MFNod), N total da parte aérea (NTPA) e raiz (NTR) e teor de leghemoglobina (LHb). A dose equivalente a 75 Mg·ha⁻¹ demonstrou ser promissora no aumento da MSR, MSPA da planta e capacidade de troca de cátions - CTC, Ca, Mg, e Na no solo. A MFNod apresentou-se em maior abundância na estirpe EI-6 e, isoladamente, na dose equivalente a 25 Mg·ha⁻¹. A aplicação de LE e as estirpes NFB700 e BR4406 apresentam potencial para produção de grãos no caupi.

Palavras-chave: *Bradyrhizobium* spp., fixação biológica de N₂, simbiose, resíduo sólido.

Abstract

The work's aim was to evaluate the sewage sludge (SS) potential associated with inoculation of *Bradyrhizobium* spp. lineages in cowpea. The experiment was conducted in a greenhouse, with five strains of *Bradyrhizobium* spp. (EI-6, NFB700, BR2001, BR4406 and BR3267) and four SS levels (0, 25, 50 and 75 Mg · ha⁻¹). Plants were harvested at 45 days, to measure shoot and root dry matter (SDM and RDM), nodule fresh matter (NodFM), total nitrogen (NTR and NTS) and leghemoglobin content (LHb). The equivalent level of SS 75 Mg · ha⁻¹ supplied higher values in SDM, RDM and increased CEC, Ca, Mg, and Na in the soil. The strain EI-6 and the equivalent level of SS 25 Mg · ha⁻¹ had supplied higher quantity of NodFM. The SS application and the use of the strains NFB 700 and BR 4406 showed that these treatments can be used for seeds production in cowpea.

Key words: *Bradyrhizobium* spp., biological N₂ fixation, symbiosis, solid residue.

1 Introdução

Inconseqüentes ações antrópicas, como expansão das áreas de cultivo, pecuária extensiva, errôneos projetos de irrigação, produção de energia para diversos fins, mineração e queimadas, exigem novos conceitos e novas alternativas para a sustentabilidade (Ferreira et al., 1994). A necessidade do aumento da produção agrícola mundial vem sendo prejudicada pelo desgaste e diminuição da fertilidade dos solos cultivados, conduzindo ao uso de custosos fertilizantes químicos (Silva Neto, 2001). Para que tal situação seja contornada, uma alternativa eficaz é a reciclagem dos nutrientes contidos no lodo de esgoto (LE), em áreas agrícolas (Selbach e Camargo, 2000) e na recuperação de áreas degradadas (Andreoli e Pegorini, 1999). Sob o ponto de vista ambiental, a reciclagem agrícola do LE é a alternativa de menor impacto para a sua disposição final, propiciando, também, economia de energia e de reservas naturais na medida em que diminui as

necessidades de fertilização mineral (Santos e Bettiol, 2001; Silva et al., 2002; Harrison et al., 2003).

Cerca de 60 % do montante de nutrientes inorgânicos presentes em alimentos são despejados nos esgotos, após tomarem parte no metabolismo humano (Kvarnstorm e Nilsson, 1999). No Brasil, o uso agrícola de LE, ainda, não está amplamente difundido; entretanto, já faz parte de programas nacionais de controle de impactos ambientais. A Agenda 21 Brasileira possui uma área temática intitulada “Agricultura Sustentável”, onde vários aspectos da atual situação da agricultura brasileira são abordados (Pires, 2005). A produção de LE no Brasil, no início do século XXI, foi estimada entre 150 e 220 mil Mg de matéria seca · ano⁻¹. Sua aplicação no Brasil deve crescer substancialmente nos próximos anos, seguindo uma tendência mundial e acompanhando a demanda gerada por um acentuado crescimento no volume de esgoto tratado (Tsutiya, 2001; Pires, 2005).

O LE tem apresentado bons resultados como fertilizante para diversas culturas, dentre elas azevém, soja e trigo (Brown et al., 1997), couve e alface (Millner et al., 1982), milho (Silva et al., 1997), feijão e girassol (Deschamps e Favaretto, 1997), braquiária, guiso-de-cascavel, fedegoso, juá-bravo e beldroega (Matos et al., 2004), mamoeiro (Costa et al., 2001), alho e sorgo (Del Val et al., 1998), eucalipto e cedro (Melo et al., 2001). É, portanto, um potencial fertilizante em diversas condições de solo e clima, onde a aplicação deste resíduo pode ser feita desde plantas herbáceas até plantas lenhosas, dependendo do seu nível de higienização.

Dentre os efeitos do lodo de esgoto sobre as propriedades físicas do solo, condicionadas, principalmente, pela presença de matéria orgânica, destaca-se a melhoria no estado de agregação das partículas do solo com aumento na aeração e retenção de água (Bernardes, 1982; Barreto, 1995; Melo e Marques, 2000). O LE também induz alterações nas propriedades químicas do solo, podendo fornecer aumento nos teores de fósforo (Silva et al., 2002), de carbono orgânico (Cavallaro et al., 1993), da fração húmica da matéria

orgânica (Melo et al., 1994), do pH, da condutividade elétrica e da capacidade de troca de cátions (Oliveira et al., 2002).

Outra atividade que objetiva o desenvolvimento sustentável aliado à redução de custos é o uso de leguminosas associadas a microrganismos fixadores de nitrogênio atmosférico. Nessa relação harmônica, a leguminosa possui uma capacidade de sobrevivência superior às plantas não inoculadas, pois apresenta uma alternativa nutricional adicional. Aplicando-se LE em culturas de leguminosas inoculadas há incremento de nutrientes necessários para seu desenvolvimento; contudo, o teor de metais pesados existentes no resíduo pode contribuir para a redução da fixação biológica de nitrogênio, devido a sua toxicidade (Selbach e Camargo, 2000; Broos et al., 2005; Vieira et al., 2005).

O trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar o potencial de uso do lodo de esgoto em diferentes níveis de concentração associado à inoculação com diferentes estirpes de *Bradyrhizobium* spp. em caupi, assim como determinar sua eficiência simbiótica.

2 Material e Métodos

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, na sede da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária - IPA, utilizando o solo coletado na Estação Experimental de Itapirema - IPA, município de Goiana/PE, que, após coleta, foi seco ao ar, destorroado, peneirado (cinco mm) e analisado quanto aos atributos de fertilidade (Embrapa, 1997).

O resíduo sólido empregado foi o lodo de esgoto, proveniente da Estação de Tratamento de Esgoto da Mangueira, Recife/PE, utilizando-se doses equivalentes a 0, 25, 50 e 75 Mg · ha⁻¹, escolhidas de acordo com resultados obtidos em experimentos anteriores (Messias, 1998) que, após coleta, foi seco ao ar, peneirado e analisado quimicamente (Brasil, 1983).

As estirpes de *Bradyrhizobium* utilizadas foram: BR 2001; BR 4406 e BR 3267 (EMBRAPA CNPAB-RJ – Seropédica – RJ - sendo a última recomendada pela RELARE (Rede de Laboratório para Recomendação, Padronização e Difusão de Tecnologia de Inoculantes Microbianos de Interesse Agrícola); NFB 700 (Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE, Núcleo de Fixação Biológica do N₂ nos Trópicos - NFBT); EI 6 – (Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária - IPA).

O experimento foi conduzido num delineamento em quatro blocos casualizados, com cinco estirpes de *Bradyrhizobium* spp. e lodo de esgoto em quatro níveis, incluindo a testemunha absoluta (sem inoculação na dose zero de lodo) totalizando-se 96 parcelas (vasos com 6 kg de solo).

As estirpes foram purificadas em meio YMA (Ágar, manitol e extrato de levedura), com o indicador vermelho congo e repicadas em triplicatas (Vincent, 1970). Os inóculos se desenvolveram em meio YM (Manitol e extrato de levedura) em frascos erlenmeyers de 125,0 mL, contendo 25,0 mL do meio (Vincent, 1970) e incubadas em agitador rotatório (160 rpm) com temperatura controlada (28 °C).

No plantio do feijão caupi, cultivar IPA 206, as sementes foram desinfestadas com álcool a 70 %, por um minuto, e solução de hipoclorito de sódio a 2,5 %, por cinco minutos, e lavadas com água deionizada estéril. Foram utilizadas seis sementes · vaso⁻¹, seguindo-se da inoculação com seis mL · vaso⁻¹ da cultura líquida de *Bradyrhizobium* contendo 10⁹ UFC · mL⁻¹ (Figura 1). Os nutrientes foram fornecidos às plantas, semanalmente, na forma de solução nutritiva, sem nitrogênio (Hoagland e Arnon, 1950).

Após a emergência, foi efetuado o desbaste, deixando-se duas plantas · vaso⁻¹. A colheita foi efetuada aos 45 dias após o plantio (DAP) (Figura 2), sendo observadas, diariamente, durante todo o desenvolvimento. Após o período determinado, foram retiradas amostras do solo, de cada vaso, para realização da análise de fertilidade (Embrapa, 1997). As plantas foram coletadas separando-se a parte aérea da raiz por um corte, no caule, na

altura da cicatriz cotiledonar. Posteriormente, todo o material foi seco em estufa de aeração forçada, a 65 °C, por 72 horas, para pesagem da matéria seca. Os nódulos foram retirados em sala refrigerada e condicionados em freezer -70 °C para pesagem da matéria fresca (MFNod) e posterior determinação da leghemoglobina (LHb). A LHb do nódulo foi extraída pela solução de Drabkin e a concentração foi determinada em espectrofotômetro (540nm) (Wilson e Reisenauer, 1963) utilizando hemoglobina humana como padrão.

O material vegetal foi moído, em moinho tipo Wiley, provido de peneira com abertura de 0,42 mm, e posteriormente foi conduzido para determinação do nitrogênio total, pelo método Kjeldahl (Silva, 1990).

Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística utilizando-se o programa SAS (SAS, 1990).

3 Resultados e Discussão

Os resultados obtidos a partir das análises física, química e de fertilidade do solo e do lodo de esgoto, antes da montagem do experimento, estão apresentados nas Tabelas 1 e 2. Levando-se em consideração a Resolução nº. 375, de 29 de agosto de 2006, regulamentada pelo CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente (Tabela 3), para o teor de alguns metais pesados presentes no LE, não foram encontrados níveis acima do limite máximo permitido para os avaliados nesse trabalho. As regulamentações mais utilizadas para os níveis de metais pesados em LEs, apresentadas na Tabela 3, são a norma P 4230 da CETESB (Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do estado de São Paulo), baseada na legislação dos Estados Unidos da América, USEPA (United States Environmental Protect Agency) 40 CFR Part 503, a norma da IAP (Instituto Ambiental do Paraná), a qual utilizou como referência, os parâmetros da legislação espanhola, sendo bastante semelhante ao atual regulamento existente na CE (Comunidade Européia) (86/278/EEC) (Usepa, 1982; Cetesb, 1999; IAP, 2003; Melo et al., 2006; Brasil, 2006).

Todas as variáveis apresentaram respostas independentes à influência da interação entre o LE, em doses crescentes, e a inoculação das estirpes de *Bradyrhizobium* spp. Sendo assim, o LE e os microrganismos utilizados forneceram respostas isoladas na nodulação e desenvolvimento do caupi.

Os resultados do pH, variável independente, apresentaram uma diminuição quadrática com o aumento da aplicação da dose de lodo de esgoto. Após 14 dias da incubação das doses de lodo de esgoto com o solo, antes do plantio, constatou-se alteração no pH do solo entre os tratamentos, divergindo entre 6,3, para o tratamento da testemunha absoluta (TA) e 6,0 para o tratamento com maior dose de LE, 75 Mg · ha⁻¹. Ao final do experimento, foi constatada diminuição mais acentuada do pH em relação à maior aplicação de lodo de esgoto no solo (Figura 3; Tabela 4).

Resultados semelhantes à acidificação do solo, quando aplicadas doses crescentes de LE, foram encontrados por outros autores (Boeira et al., 2002; Oliveira et al., 2002; Simonete e Kiehl, 2002; Nascimento et al., 2004).

O pH é um fator determinante da disponibilidade de metais no solo, indicando que quanto mais ácido, maior será a solubilidade e conseqüente disponibilidade desses elementos (Borkerte, 1991; Kabata-Pendias e Pendias, 1992; Bolan et al., 2003).

De acordo com alguns estudos, foi verificado que os metais pesados podem provocar efeitos adversos sobre os processos microbiológicos do solo, como na biomassa microbiana, na concentração de ATP no solo e na fixação de nitrogênio por bactérias heterotróficas (McGrath et al., 1988; McGrath et al., 1994). Porém, o fato do metal pesado estar presente no solo não significa que esteja numa forma prontamente assimilável pelas plantas, podendo permanecer por longos períodos sem que sejam absorvidos em quantidades tóxicas. Estudos têm demonstrado não haver correlação entre o teor total de metais pesados no solo e sua fitotoxicidade (Egreja Filho, 1993). Portanto, para se conhecer a contaminação, em termos dos efeitos sobre as plantas e a cadeia alimentar, é necessário determinar as concentrações fitodisponíveis desses metais (Leschber et al., 1985).

Outras variáveis, também, demonstraram diferença significativa entre aplicações crescentes de LE ao solo, respondendo de forma quadrática para o Ca e de forma linear para a CTC (capacidade de troca catiônica), o Mg e o Na. Apenas o P não apresentou diferença significativa com o incremento das doses de LE (Tabela 4). O acréscimo da CTC e dos elementos Ca, Na e Mg, de acordo com as doses de LE utilizadas, corroboram resultados obtidos por Nascimento et al. (2004).

De acordo com os resultados, a CTC demonstrou bons resultados com o incremento das doses de LE aplicadas ao solo, pois, desempenha um papel fundamental no efeito residual desse resíduo no solo, onde, juntamente com a grande superfície específica da matéria orgânica, presente no LE, possibilita maior número de ligações eletrostáticas entre partículas de solo, diminuição da densidade e aumento na aeração e retenção de água (Bernardes, 1982; Barreto, 1995; Melo e Marques, 2000; Oliveira et al., 2002).

O aumento dos teores de P e Mg são fundamentais para enriquecer a fertilidade do solo; o de Ca propicia o crescimento radicular e precipita o Al presente no solo (Costa et al., 2001).

Apesar do aumento da fertilidade do solo, alguns elementos podem se tornar prejudiciais quando lixiviados para corpos hídricos, podendo acarretar problemas semelhantes à eutrofização. O P, em teores elevados, torna-se um dos principais responsáveis por esse processo, porém, sua utilização, proveniente de esgotos urbanos, é de extrema necessidade devido ao decréscimo de fontes naturais de fósforo. Essa necessidade de aproveitamento do P decorre da “quebra” de seu ciclo natural por atividades antrópicas (Vaclav, 2000).

O acréscimo do nível de Na, também, pode ser prejudicial quando implica em elevação da salinidade do solo (Mesquita, 2002).

Com o aumento das doses de LE aplicadas ao solo, também ficou evidenciado o aumento de produção de matéria seca do caupi. A matéria seca da parte aérea (MSPA) aumentou consideravelmente, representada por uma função quadrática. A matéria seca da

raiz (MSR), mesmo representada por uma função linear, apresentou pouco crescimento (Tabela 5; Figura 4).

Sabe-se que o incremento de resíduos, rico em matéria orgânica, em solos agrícolas, propicia um aumento acentuado da matéria seca das plantas, comparando-se com tratamentos ausentes de resíduo. Resultados de aumento da biomassa, com aplicação de doses crescentes de LE, também foram encontrados em outros trabalhos (Simonete e Kiehl, 2002; Nascimento et al., 2004).

Observou-se maior produção de matéria fresca dos nódulos (MFNod) quando aplicada a dose equivalente a $25 \text{ Mg} \cdot \text{ha}^{-1}$. Com o aumento das doses aplicadas, a MFNod decresceu numa função cúbica (Figura 4).

A resposta da MFNod em função do aumento da dose de LE aplicada pode ser justificada pela presença dos metais no resíduo, pois, em concentrações específicas, podem suprimir o desenvolvimento dos microrganismos ali presentes. Cada microrganismo possui uma tolerância específica, ou uma capacidade de resiliência própria para cada tipo e quantidade de elementos existentes.

As doses de LE aplicadas ao solo não apresentaram diferença significativa no teor de leghemoglobina (LHb) (Tabelas 5 e 6), assim como não apresentou diferença significativa em relação aos tratamentos inoculados com as diferentes estirpes (introduzidas e nativas), apesar das mesmas terem apresentado, no interior dos nódulos do caupi, coloração rosada em diferentes tonalidades (dados não apresentados).

Devido à sensibilidade que a LHb possui, a presença de outros nódulos de rizóbios nativos do solo pode ter influenciado sua resposta. A LHb é um produto simbiótico, no qual a parte globina é sintetizada pela planta em resposta à infecção do rizóbio (Verma e Long, 1983) e a LHb formada ocorre antes da fixação do N_2 (Freire, 1992). O teor de LHb nos nódulos varia com a espécie de leguminosa, com a estirpe de rizóbio utilizada, assim como depende do processo de difusão do oxigênio através de células infectadas nos nódulos (Lira-Ruam et al., 2000).

Quanto ao nitrogênio total acumulado na raiz (NTR) e na parte aérea (NTPA), não houve diferença significativa entre os tratamentos, assim sendo, as doses de LE aplicadas ao solo e as estirpes inoculadas não influenciaram significativamente no nitrogênio total acumulado pelo caupi (Tabelas 5 e 6). Todavia, com a aplicação das doses crescentes de LE, mesmo sem ter demonstrado diferenças expressivas, houve aumento nos teores de NTR e NTPA.

Apenas a variável MFNod apresentou diferença estatística entre as estirpes inoculadas, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), apresentando os melhores resultados com a estirpe EI-6 (Tabela 6).

Mesmo com a MFNod alta, os resultados da estirpe EI-6 não diferiram significativamente, entre as demais estirpes inoculadas e em diferentes doses de LE, nas variáveis NTR, NTPA e LHb, sugerindo que a mesma não apresenta maior potencial na fixação de nitrogênio atmosférico.

Reddy et al. (1983) verificaram efeito negativo de metais pesados na sobrevivência de *B. japonicum* em solo tratado com lodo de esgoto, o qual reduz o potencial de nodulação em soja, concordando com os resultados de Abd-Alla et al. (1999). McGrath et al. (1988) observaram que a aplicação de lodo de esgoto em solos cultivados com trevo branco reduziu significativamente seu crescimento e a fixação de N.

As estirpes utilizadas no experimento não demonstraram diferenças significativas na MSR e MSPA da raiz do caupi; porém, a testemunha absoluta (TA) apresentou resultados maiores na MSPA e semelhantes na MSR, possivelmente, devido à presença de rizóbios nativos no solo (Tabela 6).

Durante as observações realizadas, diariamente, ao longo dos 45 dias do experimento, em casa de vegetação, percebeu-se o crescimento de vagens no 36º dia após o plantio (Figura 1i). Os tratamentos com aplicação de lodo de esgoto nos três níveis (25, 50, 75 Mg · ha⁻¹) ausentes de inoculação, e nos tratamentos inoculados com as estirpes NFB

700 e a BR 4406 nos três níveis de adubação com LE, apresentaram crescimento precoce de vagens. É fundamental realizar maiores estudos sobre a possibilidade do potencial desses tratamentos na produção de grãos, tornando-se, igualmente, necessário avaliar o teor de metais pesados transferidos aos grãos, a fim de evitar quaisquer prejuízos provocados por esses elementos (Hue, 1995). Uma vez que, o desenvolvimento precoce das vagens se deu na presença do lodo, sua aplicação, em doses menores, seria mais importante economicamente e ambientalmente e mais fácil de manejar.

Inicialmente é possível indicar que as estirpes BR 2001, BR 3267 e IPA 206 e a dose de LE 75 Mg · ha⁻¹ podem ser indicadas na produção da parte aérea do caupi para forragem animal ou como adubo verde, verificando-se os teores de metais pesados absorvidos para evitar quaisquer prejuízos fitotóxicos, todavia, estudos em campo devem ser realizados.

4 Conclusões

A produção de matéria seca, da parte aérea e raiz do caupi, apresentou melhores resultados com a aplicação de lodo de esgoto na dose equivalente a 75 Mg · ha⁻¹, não sofrendo influência das estirpes inoculadas. Essa mesma dose mostrou-se promissora para o aumento de CTC, Ca, Mg, e Na no solo, sem gerar riscos a curto prazo. A matéria fresca dos nódulos apresentou-se em maior abundância na dose equivalente a 25 Mg · ha⁻¹. As plantas de caupi inoculadas com a estirpe EI-6 apresentaram maior matéria fresca dos nódulos. A leghemoglobina presente nos nódulos e o nitrogênio total acumulado pelo caupi não apresentaram diferenças significativas entre as doses de LE aplicada e nem entre as estirpes inoculadas. A aplicação de lodo de esgoto e a inoculação das estirpes NFB 700 e BR 4406, no caupi, apresentam potencial para produção de grãos. Doses elevadas de lodo de esgoto podem aumentar a quantidade disponível de elementos potencialmente tóxicos para as plantas, pela quantidade de lodo inserida e pela acidificação do pH, aumentando a

solubilidade desses elementos no solo; portanto, tornam-se necessárias, constantes avaliações dos níveis desses elementos, pois, esses oferecem riscos a longo prazo.

Agradecimentos

À CAPES, que fomentou a bolsa de mestrado; à FIUC, pelo apoio financeiro; ao Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais e Laboratório de Química da UNICAP, pela disponibilização dos laboratórios e materiais; ao IPA, pela disponibilização de materiais, do Laboratório de Biologia do Solo e da casa de vegetação; ao professor Néelson Duran e sua equipe do Laboratório de Química Biológica do Departamento de Química da UNICAMP, pela determinação da leghemoglobina.

Referências

- ABD-ALLA, H. M.; YAN, F.; SCHUBERT, S. 1999. Effects of sewage sludge application on nodulation, nitrogen fixation, and plant growth of faba bean, soybean and lupin. **Journal of Applied Botany**, v.73, p.69-75.
- ANDREOLI, C. V.; PEGORINI, E. S. 1999. **Plano de reciclagem agrícola de lodo de esgoto do município de Maringá**. Curitiba, Sanepar. 100p.
- BARRETO, M. C. V. 1995. **Degradação da fração orgânica de diferentes resíduos e efeitos em algumas propriedades químicas e físicas de dois solos**. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", USP. Piracicaba. Tese (Doutorado).106p.
- BERNARDES, L. F. 1982. **Efeitos da aplicação de lodo de esgoto nas propriedades físicas do Solo**., FCAV/ Unesp/ Jaboticabal. (TCC). 50p.
- BOEIRA, R. C.; LIGO, M. A. V.; DYNIA, J. F. 2002. Mineralização de nitrogênio em solo tropical tratado com lodos de esgoto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n.11, p. 1639-1647.
- BOLAN, N. S.; ADRIANO, D. C.; CURTIN, D. 2003. Soil acidification and liming interactions with nutrient and heavy metal transformation and bioavailability. **Advances in Agronomy**, v. 78, p. 215-272.
- BORKERTE, C. M. 1991. Manganês. In: Simpósio sobre micronutrientes na agricultura, 1, Jaboticabal, 1988. **Anais...** Piracicaba: POTAFOS, CNPQ1, p.173-190.

BRASIL. CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE – CONAMA 2006. **Resolução n.º 375 de 29 de agosto de 2006**. Define critérios e procedimentos, para o uso agrícola de lodos de esgoto gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados, e dá outras providências. DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO, Brasília-DF. Ministério do Meio Ambiente – MMA. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiano.cfm?codlegitipo=3>>. Acessado em: 15 de setembro, 2006.

BRASIL. 1983. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. **Análise de corretivos, fertilizantes e inoculantes: métodos oficiais**. Brasília. Laboratório Nacional de Referência Vegetal. 104p.

BROOS, K.; BEYENS, H.; SMOLDERS, E. 2005. Survival of rhizobia in soil is sensitive to elevated zinc in the absence of the host plant. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 37, p. 573–579.

BROWN, S.; ANGLE, J. S.; CHANEY, R. L. 1997. Correction of limed biosolid induced manganese deficiency on a long term field experiment. **Journal of Environmental Quality**, v.26, p.1375-1384.

CAVALLARO, N.; PADILLA, N.; VILLARRUBIA, J. 1993. Sewage sludge effects on chemical properties of acid soils. **Soil Science**, v.156, p.63-70.

CETESB. 1999. COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Aplicação de lodos de sistemas de tratamento biológico em áreas agrícolas: critérios para projeto e operação**. São Paulo (Manual Técnico – P 4230). 32 p.

COSTA, A. N.; COSTA, A. F. S.; MARQUES, M. O.; SANTANA, R. C. 2001. Resíduos sólidos do saneamento: processamento, reciclagem e disposição final. **RiMa, ABES**. Rio de Janeiro, cap.8, p. 189- 214.

DEL VAL, C.; BAREA, J. M.; AZCÓN-AGUILAR, C. 1998. Arbuscular mycorrhizal spore populations in heavy metal contaminated soils as affected by the host plant. **Applied Environmental Microbiology**, v. 65, p.718-723.

DESCHAMPS, C.; FAVARETTO, N. 1997. Efeito do lodo complementado com fertilizante mineral na produtividade e desenvolvimento da cultura do feijoeiro e do girassol. **Sanare**, v.8, p.33-38.

EGREJA FILHO, F. B. 1993. **Avaliação da ocorrência e distribuição química de metais pesados na compostagem de lixo domiciliar urbano**. Universidade Federal de Viçosa – Viçosa. (Mestrado).174 p.

EMBRAPA. 1997. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Manual de métodos de análises dos solos**. Rio de Janeiro. 182p.

FERREIRA, D. G.; MELO, H. P.; NASCIMENTO, P. S. J. 1994. **Avaliação do quadro de desertificação no Nordeste do Brasil: diagnósticos e perspectivas**. In: Conferência Nacional de Desertificação, Fortaleza.

FREIRE, J. R. J. 1992. Fixação do nitrogênio pela simbiose rizóbio/leguminosas. In: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S. M.; NEVES, M.C. P. (Eds), Microbiologia do solo, **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, p.121-140.

HARRISON, R. B.; GUERRINI, I. A.; HENRY, C. L.; COLE, D. W. 2003. **Reciclagem de resíduos industriais e urbanos em áreas de reflorestamento**. (Circular técnica IPEF, 198), p.01-20.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, H. I. 1950. The water-culture method for growing plants without soil. **California Experimental Agriculture Station**. (Circular. 347. Berkeley). 32p.

HUE, N. V. 1995. Sewage sludge. In: RECHCIGL, J.E. ed. **Soil amendments and environmental quality**. Boca Raton, CRC Press, p.168-199.

IAP. INSTITUTO AMBIENTAL DO PARANÁ. 2003. **Utilização Agrícola de Lodo de Estação de Tratamento de Esgoto**. 45 p.

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

KVARNSTORM, E.; NILSSON, M. 1999. Reusing phosphorus: engineering possibilities and economic realities. In: **Journal of Economic Issues** v. 33, n. 2, p.393-341.

LESCHBER, R.; DAVIES, R. D.; L'HERMITE, P. 1985. **Chemical methods for assessing bioavailability metals in sludge and soils**. London: Elsevier. 96p.

LIRA-RUAM, K; SARATH, G; KLUCAS, R.V.; ARREDONDO-PETER, R. 2000. Characterization of leghemoglobin from a Mimosoid legume, *Leucaena esculental*, root nodules. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**. v. 12, p. 37-44.

MATOS, A. P. R.; SILVA, J. P. P.; COSTA, M C R.; GADIOLI, J.L. 2004. Avaliação dos teores de metais pesados em solo e plantas de uma área utilizada para lavagens de peças e deposição de resíduos industriais. In: FERTBIO, Lages, 2004. **Resumos...** Lages, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. CD-ROOM.

McGRATH, S. P.; BROOKES, P. C; GILLER, K. E. 1988. Effects of potentially toxic metals in soil derived from past applications of sewage sludge as nitrogen fixation by *Trifolium repens* L. **Soil Biology and Biochemistry**, n.20, p. 415-424.

McGRATH, S. P.; CHAUDRI, A. M.; GILLER, K. E. 1994. Lon-term effects of land application of sewage sludge: soils, microorganism and plants. In: WORLD CONGRESS OF SOIL SCIENCE, 15. Acapulco, 1994. **Proceedings...** Acapulco, México, p. 517-533.

MELO, G. M. P.; MELO, V. P.; MELO, W. J. 2004. **Metais pesados no ambiente decorrente da aplicação de lodo de esgoto em solo agrícola**. CONAMA - Apresentado na Reunião do GT Lodo de Esgoto, 3. 2004. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/reunalt.cfm?cod_reuniao=728>. Acessado em: 28 de jun. 2006.

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

MELO, W. J.; MARQUES, M. O.; MELO, V. P. 2001. O uso agrícola do biossólidos e as propriedades do solo. In: TSUTIYA, M. T.; COMPARINI, J. B.; ALEM SOBRINHO, P.; HESPANHOL, L; CARVALHO, P. C. T.; MELFI, A.J.; MELO, W. J.; MARQUES, M. O. (Ed). **Biossólidos na agricultura**. Cap 12. Sabesp, Escola Politécnica, USP, ESALQ-USP / Nupegel, UNESP – Jaboticabal, São Paulo.

MELO, W. J.; MARQUES, M. O.; SANTIAGO, G.; CHELLI, R. A.; LEITE, S. A. S. 1994. 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**, v.18: p.449-455.

MESQUITA, A. A. 2002. **Remediação de áreas contaminadas por metais pesados provenientes de lodo de esgoto**. Seropédica, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. (Mestrado) p. 68.

MESSIAS, A. S. 1998. **Reaproveitamento agrônomico de um lodo proveniente de indústria têxtil**. Recife: s.ed. 85 p.

MILLNER, P. D.; LUMSDEN, R. D.; LEWIS, J. A. 1982. Controlling plant disease with sludge compost. **Biocycle**, v.53, p. 50-52.

NASCIMENTO, C. W. A.; BARROS, D. A. S.; MELO, E. E. C.; OLIVEIRA, A. B. 2004. Alterações químicas em solos e crescimento de milho e feijoeiro após aplicação de lodo de esgoto. Viçosa. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, n. 2.

OLIVEIRA, F. C.; MATTIAZZO, M. E.; MARCIANO, C. R.; ROSSETO, R. 2002. Efeitos de aplicações sucessivas de lodo de esgoto em latossolo amarelo distrófico cultivado com cana-de-açúcar: carbono orgânico, condutividade elétrica, pH e CTC. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.26, p.505-519.

PIRES, A. M. M. 2005. **Lodo de Esgoto**. AMBIENTEBRASIL. EMBRAPA Meio Ambiente. Disponível em: < www.cnpma.embrapa.br/>. Acessado em 14 de maio, 2006.

REDDY, G. B.; CHENG, C. N.; DUNN, S. J. 1983. Survival of *Rhizobium japonicum* in soil-sludge environment. **Soil Biology and Biochemistry**. v.15, p. 343-345.

SANTOS, I.; BETTIOL, W. 2001. Efeito do lodo de esgoto no crescimento micelial de fitopatógenos habitantes do solo na podridão do colo de plântulas de feijoeiro, causadas por *Sclerotium rolfsii*, em condições controladas. **Ecossistema**, v. 26, p.157-161.

SAS. **Software Institute**. 1990. Version 6, first Edition. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

SELBACH, P. A.; CAMARGO, F. A. Q. 2000. Resíduos orgânicos: fontes de nutrientes e contaminantes. In: FERTBIO 2000, Santa Maria. **Anais...** CD-ROOM.

SILVA, D. J. 1990. **Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos)**. 2. ed.. Imprensa Universitária. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa. 235 p.

SILVA NETO, J. P. 2001. **Efeito da inoculação de fungos micorrízicos em mudas de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis Sims. F. flavicarpa Deg*) em substrato com biossólido**. Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife. 125p. (Mestrado).

SILVA, J. E.; RESCK, D. V. S.; SHARMA, R. D. 1997. Utilização do lodo de esgoto como fonte de fósforo e nitrogênio para milho. In: Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 26., Rio de Janeiro. **Anais...** Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. CD-ROOM.

SILVA, J. E.; RESCK, D. V. S.; SHARMA, R. D. 2002. Alternativa agronômica para o biossólido produzido no Distrito Federal. I – Efeito na produção de milho e na adição de metais pesados em Latossolo no cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.26, p.487-495.

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

TSUTIYA, M. T. 2001. Alternativas de disposição final de biossólidos. In: TSUTIYA, M.T.; COMPARINI, J. B.; SOBRINHO, P. A.; HESPANHOL, I.; CARVALHO, P. C. T.; MELFI, A. J.; MELO, W.J.; MARQUES, M. O. eds. **Biossólidos na Agricultura**. São Paulo, SABESP, 468p.

USEPA.1982. U.S. Environmental Protection Agency. **Standards for the use and disposal of sewage sludge**. Washington: EPA. (Code of Federal Regulation 40 CFR Part 503).

VACLAV, S. 2000. Phosphorus in the environment: natural flows and human interferences. **Annual Review of Energy and the Environment**. v. 25, p.53-88.

VERMA, D.P.; LONG, S. 1983. The molecular biology of *Rhizobium*-legume symbiosis. **International Review of Cytology**, v. 158, p.151-162.

VIEIRA, R. F.; TANAKA, R. T.; TSAI, M. S., PEREZ, D. V.; SOUSA SILVA, C. M. M. 2005. Disponibilidade de nutrientes no solo, qualidade de grãos e produtividade da soja em solo adubado com lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 40, n. 9.

VINCENT, J.M. 1970. **A manual for the practical study of the root nodule bacteric**. Oxford, Scientific Publications. p. 163.

WILSON D. O.; REISENAUER H. M. 1963. Determination of leghemoglobin in legume nodules. **Analytical Biochemistry**, v.6, p. 27.

TABELAS E FIGURAS

Tabela 1. Caracterização química e de fertilidade do solo, coletado na Estação Experimental de Itapirema – IPA, Goiana / PE, e do lodo de esgoto na Estação de Tratamento de Esgoto da Mangueira, Recife/PE

Característica	Solo	Lodo
pH (H ₂ O)	6,3	5,1
P (mg · kg ⁻¹)	20	45,0
Cu (mg · kg ⁻¹)	1,5	155,0
Fe (mg · kg ⁻¹)	1,6	16,9
Zn (mg · kg ⁻¹)	1,8	548,0
Mn (mg · kg ⁻¹)	5,0	207,0
Pb (mg · kg ⁻¹)	---	120,0
Na (cmolc/dm ³)	0,08	0,3
K (cmolc/dm ³)	0,15	2,1
Ca (cmolc/dm ³)	3,40	9,4
Mg (cmolc/dm ³)	0,55	1,2
H (cmolc/dm ³)	2,21	---
S (cmolc/dm ³)	3,21	---
CTC (cmolc/dm ³)	5,70	---
N (g · kg ⁻¹)	---	22,5
C (g · kg ⁻¹)	1,39	285,9
MO (g · kg ⁻¹)	2,4	493,0
Relação C/N	---	12,7
V (%)	56,32	---

Tabela 2. Caracterização física do solo coletado na Estação Experimental de Itapirema - IPA, Goiana / PE

Composição Granulométrica	
Areia	89,6 %
Argila	7,4 %
Silte	3,0 %
Silte/Argila	0,4 %
Argila Natural	3,9 %
Classe Textural	areia
Densidade	
Global	1,5 g/cm ³
Partícula	2,7 g/cm ³
Umidade	
1/3 atm	5,28 %
15 atm	3,09 %
Água útil	2,19 %
Umidade residual	0,91 %
Condutividade Hidráulica	25,44 cm/h

Tabela 3. Comparação das concentrações máximas permitidas de metais pesados em lodo de esgoto para fins agrícolas, entre os EUA, Comunidade Européia (CE) e o Brasil

Metal	USEPA	CETESB	IAP	CE	CONAMA
	----- (mg · kg ⁻¹) -----				
Arsênio	75	75	nd	nd	41
Bário	nd	nd	nd	nd	1300
Cádmio	85	85	20	20-40	39
Chumbo	840	840	750	nd	300
Cobre	4300	4300	1000	1000-1750	1500
Crômio	nd	nd	nd	1000-15000	1000
Mercúrio	57	57	16	16-25	17
Molibdênio	75	75	nd	nd	50
Níquel	420	420	300	300-400	420
Selênio	100	100	nd	nd	100
Zinco	7500	7500	2500	2500-4000	2800

nd = não definido.

*CETESB (Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do estado de São Paulo); CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente); CE (Comunidade Européia); IAP (Instituto Ambiental do Paraná); USEPA (United States Environmental Protect Agency).

Fonte: Usepa (1982), Cetesb (1999), Iap (2003), Melo et al. (2006), Brasil (2006).

Tabela 4. Médias e funções polinomiais para os níveis de lodo de esgoto nas variáveis pH, capacidade de troca catiônica (CTC), Ca, Mg, Na e P

Níveis (Mg · ha ⁻¹)	pH	CTC	Ca	Mg	Na	P
		----- (cmolc · dm ⁻³) -----				(mg · kg ⁻¹)
TA	5,99*	5,9*	2,833*	0,718*	0,060*	17,208 ns
25	5,48*	6,7*	3,345*	0,875*	0,085*	15,208 ns
50	5,21*	7,5*	3,643*	0,972*	0,091*	19,250 ns
75	5,18*	7,9*	3,704*	1,108*	0,105*	22,083 ns
Função	Q	L	Q	L	L	---
dms	0,05	0,53	0,27	0,15	0,01	5,77

TA = Testemunha absoluta

* = significativo para as funções polinomiais pelo teste de F (p < 0,05).

ns = não significativo para as funções polinomiais pelo teste de F (p < 0,05).

L = Linear; Q = Quadrática; C = Cúbica.

dms = Diferença mínima significativa.

Resultados de fertilidade do solo foram realizados pelo Laboratório de Fertilidade do Solo do IPA/PE.

Tabela 5. Médias e funções polinomiais para os níveis de lodo de esgoto nas variáveis matéria seca da parte aérea (MSPA) e raiz (MSR), matéria fresca dos nódulos (MFNod), nitrogênio total acumulado na raiz (NTR) e parte aérea (NTPA) e teor de leghemoglobina (LHb) nas plantas de caupi

Níveis (Mg · ha ⁻¹)	MSPA	MSR (g · vaso ⁻¹)	MFNod	NTR --- (mg · vaso ⁻¹) ---	NTPA	LHb (mg · g ⁻¹ nódulos)
TA	8,021*	0,720*	1,458*	0,579 ns	8,025 ns	0,135 ns
25	10,550*	0,890*	1,725*	0,624 ns	13,719 ns	0,167 ns
50	11,920*	1,050*	1,191*	0,789 ns	12,985 ns	0,169 ns
75	12,822*	1,103*	0,800*	1,036 ns	15,573 ns	0,176 ns
Função	Q	L	C	---	---	---
dms	0,81	0,14	0,23	0,80	7,667	0,073

TA = Testemunha absoluta

* = significativo para as funções polinomiais pelo teste de F (p < 0,05).

ns = não significativo para as funções polinomiais pelo teste de F (p < 0,05).

L = Linear; Q = Quadrática; C = Cúbica.

dms = Diferença mínima significativa.

Tabela 6. Comparação entre as estirpes de *Bradyrhizobium* spp. pelas médias das variáveis matéria seca da parte aérea (MSPA) e raiz (MSR), matéria fresca dos nódulos (MFNod), nitrogênio total acumulado na raiz (NTR) e parte aérea (NTPA) e teor de leghemoglobina (LHb)

Estirpes	MSPA ----- (g · vaso ⁻¹)	MSR (g · vaso ⁻¹)	MFNod -----	NTR ---- (mg · vaso ⁻¹) ----	NTPA -----	LHb (mg · g ⁻¹ nódulos)
TA	11,074 a	0,942 a	1,075 b	1,005 a	8,411 a	0,120 a
EI-6	10,892 a	0,921 a	1,412 a	0,783 a	13,783 a	0,169 a
NFB 700	10,781 a	0,992 a	1,375 ab	0,918 a	13,418 a	0,180 a
BR 2001	10,647 a	0,905 a	1,262 ab	0,685 a	15,343 a	0,202 a
BR 4406	10,618 a	0,916 a	1,381 ab	0,633 a	9,819 a	0,157 a
BR 3267	10,959 a	0,964 a	1,256 ab	0,520 a	14,681 a	0,141 a
dms	1,11	0,19	0,32	1,104	10,455	0,099

TA = Testemunha absoluta

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05).

dms = Diferença mínima significativa.



Figura 1. Etapas do experimento desenvolvido em casa de vegetação. a = estirpe EI-6 em placa de Petri no meio YMA com indicador vermelho congo; b = incorporação do LE ao solo; c = plantio do caupi cv IPA 206; d = inoculação das estirpes de *Bradyrhizobium* spp. nas sementes de caupi; e, f = crescimento do caupi no 4º DAP (dia após plantio); g = plantas no 10º DAP; h = surgimento de flores; i = crescimento de vagens; j = raiz do caupi inoculada com a estirpe EI-6, após coleta do experimento



Figura 2. Plantas de caupi, cv IPA 206, com diferentes doses de LE incorporado ao solo e inoculadas com estirpes de *Bradyrhizobium* spp., no 45° DAP (dia após plantio) em casa de vegetação

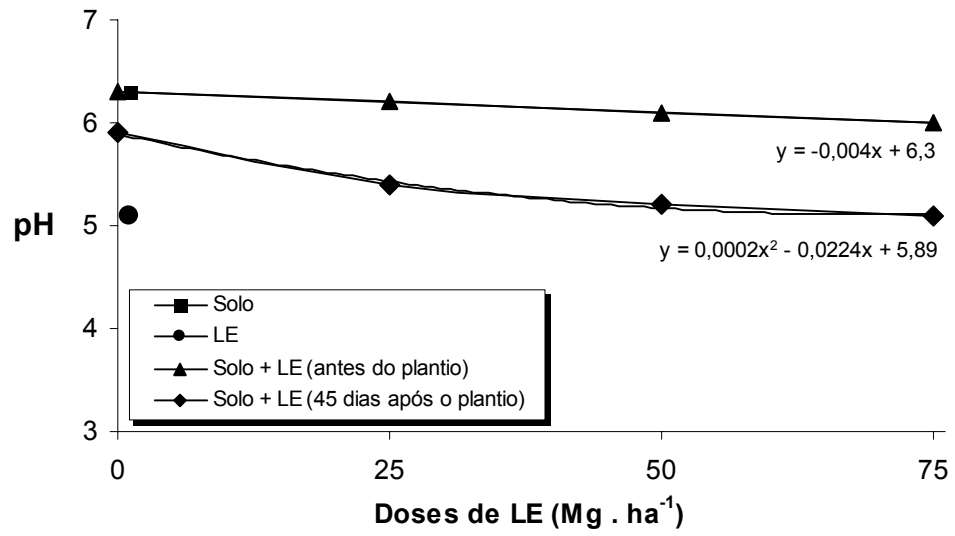


Figura 3. Influência da quantidade de lodo de esgoto no pH do solo

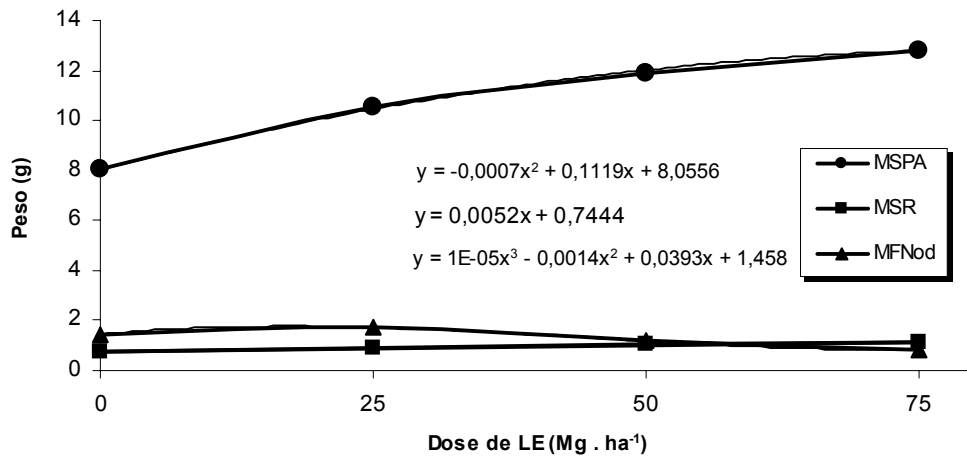


Figura 4. Alteração na matéria seca da parte aérea (MSPA) e da raiz (MSR) do caupi e na matéria fresca dos nódulos (MFNod) nas diferentes doses de lodo de esgoto

CAPÍTULO 3

CAPÍTULO 3

CONCLUSÕES GERAIS

- A dose de lodo de esgoto equivalente a $75 \text{ Mg} \cdot \text{ha}^{-1}$ mostrou-se promissora para o aumento de CTC, Ca, Mg, e Na no solo, sem gerar riscos, a curto prazo.
- Os níveis de fósforo, com doses crescentes do LE, não apresentaram valores distintos estatisticamente.
- A produção de matéria seca do caupi apresentou melhores resultados com a aplicação de LE na dose equivalente a $75 \text{ Mg} \cdot \text{ha}^{-1}$, porém não sofreu influência das estirpes inoculadas.
- Em relação aos elementos potencialmente tóxicos, o LE utilizado no experimento pode ser aplicado na agricultura brasileira, pois, até a dose máxima aplicada, que favoreceu a acidificação do solo, não apresentou teores de metais pesados acima dos limites permitidos pelo CONAMA.
- A matéria fresca dos nódulos apresentou-se em maior abundância com aplicação da dose de LE equivalente a $25 \text{ Mg} \cdot \text{ha}^{-1}$ e com a inoculação da estirpe EI-6, isoladamente.
- A aplicação de LE e o uso das estirpes NFB 700 e BR 4406, isoladamente, favoreceram o desenvolvimento acelerado de vagens no caupi.

ANEXOS

**Normas para publicação da revista internacional BIORESOURCE TECHNOLOGY, ISSN:
0960-8524.**

Disponível no site:

http://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/405854/authorinstructions



ELSEVIER

<http://www.elsevier.com>

BIORESOURCE TECHNOLOGY

Impact factor of this journal

2006: 2.180

Journal Citation Reports® 2007, published by Thomson Scientific

Guide for Authors

Guide for Authors - Contents list:

[Short Overview](#)

Manuscript Preparation:

[General](#)

[Structure](#)

[Text Layout](#)

[Corresponding Author](#)

[Abstract](#)

[Keywords](#)

[Symbols](#)

[Units](#)

[Maths](#)

[References](#)

[Illustrations](#)

[Colour Costs and Queries](#)

[Free Online Colour](#)

[Tables](#)

[Electronic Annexes](#)

[Supplying the Final Accepted Print Version with Disk](#)

Other:

[Notification](#)

[Copyright](#)

[PDF Proofs](#)

[Author Benefits](#)

[Online Paper Tracking](#)

[Enquiries](#)

[Useful Links](#)

[Short Overview](#)

Submission of papers:

For North and South America: By Mail: Manuscripts (3 copies plus a soft copy on CD) accompanied by a covering letter should be sent to the relevant submission address.

Submission address:

Papers from North and South America only: Dr S.C.Ricke, Food Science Dept., University of Arkansas, 2650 North Young Avenue, Fayetteville, AR 72704-5690, USA;

Papers from Asia-Pacific region and Europe only : Please use Elsevier's online submission system to submit to the journal. The direct link is <http://ees.elsevier.com/bite/> The Asia-Pacific region editor is Prof. Ashok Pandey and the European editor is Prof. V.A. Dodd.

Submission language: English (Link to the Oxford English Dictionary <http://dictionary.oed.com/entrance.dtl>)

English language help service: Upon request Elsevier will direct authors to an agent who can check and improve the English of their paper (before submission). Please contact authorsupport@elsevier.com for further information.

Types of contributions: Original research papers, review articles, case studies, short communications, book reviews.

Corresponding author: Clearly indicate who is responsible for correspondence at all stages of refereeing and publication, including post-publication. **Ensure that telephone and fax numbers (with country and area code) are provided in addition to the e-mail address and the complete postal address.** Full postal addresses must be given for all co-authors. Please consult a recent journal paper for style if possible.

Original material: Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, without the written consent of the Publisher.

Editor's requirements: No special requirements for this journal.

Detailed instructions on manuscript preparation and artwork instructions can be found below. The editor reserves the right to return manuscripts that do not conform to the instructions for manuscript preparation and artwork instruction, as well as paper that do not fit the scope of the journal, prior to refereeing.

Manuscript Preparation:

General:

Editors reserve the right to adjust style to certain standards of uniformity. Original manuscripts are discarded one month after publication unless the Publisher is asked to return original material after use. An electronic copy of the manuscript on disk should accompany the final accepted version. Please use Word, Word Perfect or LaTeX files for the text of your manuscript. (For further information about LaTeX submission, please go to <http://www.elsevier.com/locate/latex>.)

Structure:

Follow this order when typing manuscripts: Title, Authors, Affiliations, Abstract, Keywords, Main text, Acknowledgements, Appendix, References, Vitae, Figure Captions and then Tables. For submission in hardcopy, do not import figures into the text - see Illustrations. The corresponding author should be identified with an asterisk and footnote. All other footnotes (except for table footnotes) should be avoided. Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article and do not include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise.

Text Layout:

Use double spacing and wide (3 cm) margins on white paper. (Avoid full justification, i.e., do not use a constant right-hand margin.) Ensure that each new paragraph is clearly indicated. Present tables and figure legends on separate pages at the end of the manuscript. If possible, consult a recent issue of the journal to become familiar with layout and conventions. Number all pages consecutively, use 12 or 10 pt font size and standard fonts. If submitting in hardcopy, print the entire manuscript on one side of the paper only.

Corresponding author:

Clearly indicate who is responsible for correspondence at all stages of refereeing and publication, including post-publication. **Ensure that telephone and fax numbers (with country and area code) are provided in addition to the e-mail address and the complete postal address.** Full postal addresses must be given for all co-authors. Please consult a recent journal paper for style if possible.

Abstract:

Each paper should be provided with an Abstract of about 100-150 words, reporting concisely on the purpose and results of the paper.

Keywords:

Immediately after the abstract, provide a maximum of ten keywords (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible.

Symbols:

Abbreviations for units should follow the suggestions of the British Standards publication BS 1991. The full stop should not be included in abbreviations, e.g. m (not m.), ppm (not p.p.m.), '%' and '/' should be used in preference to 'per cent' and 'per'. Where abbreviations are likely to cause ambiguity or not be readily understood by an international readership, units should be put in full.

Units:

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If, in certain instances, it is necessary to quote other units, these should be added in parentheses. Temperatures should be given in degrees Celsius. The unit 'billion' is ambiguous and must not be used.

Maths:

Authors should make clear any symbols (e.g. Greek characters, vectors, etc.) which may be confused with ordinary letters or characters. Duplicated use of symbols should be avoided where this may be misleading. Symbols should be defined as they arise in the text and separate Nomenclature should also be supplied.

References:

All publications cited in the text should be presented in a list of references following the text of the manuscript.

Text: All citations in the text should refer to:

1. Single author: the author's name (without initials, unless there is ambiguity) and the year of publication;
2. Two authors: both authors' names and the year of publication;

3. Three or more authors: first author's name followed by 'et al.' and the year of publication. Citations may be made directly (or parenthetically). Groups of references should be listed first alphabetically, then chronologically.

Examples: "as demonstrated (Allan, 1996a, 1996b, 1999; Allan and Jones, 1995). Kramer et al. (2000) have recently shown"

List: References should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters "a", "b", "c", etc., placed after the year of publication.

Examples:

Reference to a journal publication:

Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2000. The art of writing a scientific article. *J. Sci. Commun.* 163, 51-59.

Reference to a book:

Strunk Jr., W., White, E.B., 1979. *The Elements of Style*, third ed. Macmillan, New York.

Reference to a chapter in an edited book:

Mettam, G.R., Adams, L.B., 1999. How to prepare an electronic version of your article, in: Jones, B.S., Smith, R.Z. (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*. E-Publishing Inc., New York, pp. 281-304.

Colour Costs and Queries:

For colour illustrations, a colour printing fee is charged to the author per colour page. Further information concerning colour illustrations and costs is available from Author Support at authorsupport@elsevier.ie, and at <http://authors.elsevier.com/locate/authorartwork>.

FREE ONLINE COLOUR

If, together with your accepted article, you submit usable colour and black/white figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in colour on the web (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in colour in the printed version. 'Usable' means the formats comply with our instructions. See the information about Illustrations at <http://authors.elsevier.com/locate/authorartwork>. For colour illustrations in the print journal see Colour Costs above.

Tables:

Tables should be numbered consecutively and given suitable captions and each table should begin on a new page. No vertical rules should be used. Tables should not duplicate results presented elsewhere in the manuscript (for example, in graphs). Footnotes to tables should be typed below the table and should be referred to by superscript lowercase letters.

Electronic Annexes

We strongly encourage you to submit electronic annexes, such as short videos, computer-enhanced images, audio clips and large databases. Please refer to the Artwork Instructions (Multimedia files) at <http://authors.elsevier.com/locate/authorartwork> for details on file types to be used. If you are submitting on hardcopy, please supply 3 disks/CD ROMs containing the electronic annex to the editor for review. In the text of your article you may wish to refer to the annex. This is not mandatory, however, if you do wish to refer to the annex in the text then please do so using this example: "?see Electronic Annex 1 in the online version of this article." Production will insert the relevant URL at the typesetting stage after this statement.

Supplying Final Accepted Text on Disk:

Once the paper has been accepted by the editor, an electronic version of the text should be submitted together with the final hardcopy of the manuscript. **The electronic version must match the hardcopy exactly.** We accept most wordprocessing formats, but Word, WordPerfect or LaTeX (see also <http://www.elsevier.com/locate/latex>) is preferred. Always keep a backup copy of the electronic file for reference and safety. Label the disk with your name, the journal title and any software used.

Save your files using the default extension of the program used. Electronic files can be stored on 3.5 inch diskette, ZIP-disk or CD (either MS-DOS or Macintosh).

Notification:

Authors will be notified of the acceptance of their paper by the editor. The Publisher will also send a notification of receipt of the paper in production.

Copyright:

All authors must sign the Transfer of Copyright agreement before the article can be published. This transfer agreement enables Elsevier to protect the copyrighted material for the authors, but does not relinquish the authors' proprietary rights. The copyright transfer covers the exclusive rights to reproduce and distribute the article, including reprints, photographic reproductions, microfilm or any other reproductions of similar nature and translations. Authors are responsible for obtaining from the copyright holder permission to reproduce any figures for which copyright exists. For more information please go to our copyright page <http://www.elsevier.com/copyright>

PDF Proofs:

One set of page proofs in PDF format will be sent by e-mail to the corresponding author, to be checked for typesetting/editing. The corrections should be returned within 48 hours. No changes in, or additions to, the accepted (and subsequently edited) manuscript will be allowed at this stage. Proofreading is solely the author's responsibility. Any queries should be answered in full. Please correct factual errors only, or errors introduced by typesetting. For more information on proofreading please go to our proofreading page <http://authors.elsevier.com/quickguide>. Please note that once your paper has been proofed we publish the identical paper online as in print.

Author Benefits:

No page charges: Publication in this journal is free of charge.

Free offprints: Twenty-five offprints will be supplied free of charge. Corresponding authors will be given the choice to buy extra offprints before printing of the article. Authors who pay for colour illustrations will receive an extra fifty offprints free of charge.

Author discount: Contributors to Elsevier journals are entitled to a 30% discount on all Elsevier books. See <http://www.elsevier.com/homepage/booksbutler> for more information.

Online Paper Tracking:

Authors can track the status of their accepted paper online at <http://authors.elsevier.com> using the reference supplied by the Publisher.