

**A COMPOSTAGEM DO LODO TÊXTIL E SEU EFEITO SOBRE  
INDICADORES BIOLÓGICOS**

**ADEMIR SÉRGIO FERREIRA DE ARAÚJO**  
Engenheiro Agrônomo

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. **REGINA TERESA ROSIM MONTEIRO**

Tese apresentada à Escola Superior de  
Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de  
São Paulo, para obtenção do título de Doutor  
em Ecologia de Agroecossistemas.

**PIRACICABA**  
Estado de São Paulo – Brasil  
Outubro – 2004

## ERRATA:

ADEMIR SÉRGIO FERREIRA DE ARAÚJO. A compostagem do lodo têxtil e seu efeito sobre indicadores biológicos

p.	item	linha	onde se lê	leia-se
viii	Resumo	14 <sup>a</sup>	<i>Rhizobium</i>	<i>Bradyrhizobium</i>
x	Summary	14 <sup>a</sup>	<i>Rhizobium</i>	<i>Bradyrhizobium</i>
35	Resumo	6 <sup>a</sup>	<i>Rhizobium</i>	<i>Bradyrhizobium</i>
36	Summary	5 <sup>a</sup>	<i>Rhizobium</i>	<i>Bradyrhizobium</i>
39	4.2	8 <sup>a</sup>	<i>Rhizobium</i>	<i>Bradyrhizobium</i>
44	4.3	28 <sup>a</sup>	<i>Rhizobium</i>	<i>Bradyrhizobium</i>
45	4.3	26 <sup>a</sup>	<i>Rhizobium</i>	<i>Bradyrhizobium</i>
46	4.3	4 <sup>a</sup> e 20 <sup>a</sup>	<i>Rhizobium</i>	<i>Bradyrhizobium</i>
76	6	3 <sup>a</sup>	O composto de lodo têxtil pode ser aplicado no solo...	O composto de lodo têxtil estudado neste trabalho pode ser aplicado no solo...
76	6	13 <sup>a</sup>	O composto de lodo têxtil aplicado nas dosagens...	O composto de lodo têxtil estudado neste trabalho aplicado nas dosagens...
76	6	15 <sup>a</sup> , 16 <sup>a</sup>	...importante na reutilização e transformação do lodo têxtil.	...importante na reutilização e transformação do lodo têxtil estudado neste trabalho.

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Araújo, Ademir Sérgio Ferreira de  
A compostagem do lodo têxtil e seu efeito sobre indicadores biológicos / Ademir  
Sérgio Ferreira de Araújo. --Piracicaba, 2004.  
89 p.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2004.  
Bibliografia.

1. Biomassa microbiana do solo 2. Compostagem de lodo 3. Feijão 4. Fertilizantes  
5. Indicador biológico 6. Indústria têxtil 7. Microbiologia do solo 8. Soja 9. Trigo I. Título

CDD 631.875

**"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte - O autor"**

Aos meus pais Zezita e Simão (In memoriam)

**DEDICO**

À Ângela, por seu amor e carinho  
e por todas as palavras de apoio.

**OFEREÇO**

## AGRADECIMENTOS

- A DEUS, por iluminar e guiar sempre a minha vida;
- À Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Regina Teresa Rosim Monteiro, pela orientação, amizade e ensinamentos oferecidos no decorrer do curso;
- Ao Cento de Energia Nuclear na Agricultura pelas condições oferecidas durante a realização deste trabalho.
- A Sr<sup>ª</sup> Katia Beltrame, da Bioland, pela cessão do lodo têxtil compostado;
- Ao Laboratório de Química Analítica, do CENA/USP, pela realização das análises químicas do composto e do lodo têxtil.
- Ao Prof. Dr. Paulo Trivelin, do CENA/USP, pela autorização de algumas análises químicas do composto.
- Ao Prof. Dr. Ricardo Azevedo, do Departamento de Genética da ESALQ/USP, pela autorização do uso do Laboratório e casa de vegetação.
- Ao Prof. Dr. Albenísio Silveira, da Universidade Federal do Ceará pela autorização do uso do Laboratório de Fixação de Nitrogênio – LabFix.
- Ao Josemir, do LabFix, UFC, pelo auxílio nas análises das nodulinas.
- À Dr<sup>ª</sup> Márcia Figueiredo, da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária, pelas sugestões e constante auxílio, mesmo que à distância, em algumas etapas do trabalho.
- Às Prof<sup>ªs</sup> Eulália Carvalho e Regina Lúcia, do Departamento de Fitotecnia, da Universidade Federal do Piauí, pela autorização do uso da casa de vegetação.
- A Embrapa Meio Norte pela cessão das sementes de soja e feijão-caupi, além da autorização do uso do medidor de área foliar.

- Agradecimento especial a Patrícia (Patmal) pela amizade e atenção, além da inestimável ajuda em algumas etapas do trabalho.
- Aos colegas do Laboratório de Ecotoxicologia Eduardo, Fernanda, Hélio, Luciana, Priscila e Wagner pelo agradável convívio durante o curso;
- Ao Pernetá Futebol Clube, agremiação que tive o prazer de participar da fundação e ao qual sou sócio vitalício, e aos atletas e amigos deste importante escrete: Dyeme, Gaúcho, Oriel, Farias, Vandeco, Quiabo, Tassiano Apodi, Ebert Flor, Esteban, Alejandro, Alfredo Bielsa, Rudimar, Goiano, Bira, Bora Nonatovich e Paulão.
- Aos amigos Eder, Tassiano, Rudimar, Maurisrael, Geraldo, Carol, Francisco Cláudio, Boanerges, Xavier, Mandai e Soraya pela boa amizade e auxílio em todos os momentos;
- Aos meus grandes amigos e irmãos Farias e Vandeco por todos os momentos felizes.
- A todos que direta ou indiretamente contribuíram para realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

	Página
RESUMO .....	viii
SUMMARY.....	x
1 INTRODUÇÃO .....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Lodo da industria têxtil .....	3
2.2 Compostagem.....	6
2.3 Os indicadores biológicos .....	9
2.4 Microrganismos do solo .....	10
2.5 Plantas superiores .....	14
3 EFEITO DO COMPOSTO DE LODO TÊXTEL NA BIOMASSA E ATIVIDADE MICROBIANA DO SOLO .....	17
RESUMO .....	17
SUMMARY.....	18
3.1 INTRODUÇÃO.....	19
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	20
3.2.1 Solo.....	20
3.2.2 Determinação do peso seco e capacidade de campo .....	21
3.2.3 Composto de lodo têxtil.....	21
3.2.4 Incubação do solo.....	22
3.2.5 Atividade microbiana do solo .....	22
3.2.6 Carbono da biomassa microbiana .....	23
3.2.7 Quociente respiratório ( $qCO_2$ ).....	24
3.2.8 Quantificação de bactérias e fungos.....	24

3.2.9 Delineamento experimental .....	25
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	25
4 EFEITO DO COMPOSTO DE LODO TEXTIL NO CRESCIMENTO E FIXAÇÃO BIOLÓGICA DO NITROGÊNIO EM SOJA E FEIJÃO-CAUPI.....	35
RESUMO .....	35
SUMMARY .....	36
4.1 INTRODUÇÃO.....	37
4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	38
4.2.1 Composto de lodo têxtil.....	38
4.2.2 Condições do experimento .....	39
4.2.3 Preparação dos extratos dos nódulos.....	40
4.2.4 Determinação da atividade da glutamina sintetase (GS).....	40
4.2.5 Determinação do conteúdo de proteínas totais.....	41
4.2.6 Determinação do teor de leghemoglobina .....	41
4.2.7 Delineamento experimental .....	42
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	42
5 EFEITO DO COMPOSTO DE LODO TÊXTIL NA GERMINAÇÃO, ELONGAÇÃO RADICULAR E CRESCIMENTO DE PLÂNTULAS DE SOJA E TRIGO.....	56
RESUMO .....	56
SUMMARY.....	57
5.1 INTRODUÇÃO.....	58
5.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	60
5.2.1 Composto de lodo têxtil.....	60
5.2.2 Bioensaio de germinação de sementes .....	60
5.2.3 Bioensaio de crescimento vegetal .....	61
5.2.3.1 Atividade da peroxidase.....	62
5.2.4 Delineamento experimental .....	63
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	63
6 CONCLUSÕES.....	76
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	77

## A COMPOSTAGEM DO LODO TÊXTIL E SEU EFEITO SOBRE INDICADORES BIOLÓGICOS

Autor: Ademir Sérgio Ferreira de Araújo

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Regina Teresa Rosim Monteiro

### RESUMO

Este trabalho teve por objetivo avaliar o uso do composto de lodo têxtil e seus efeitos sobre indicadores biológicos. O estudo foi realizado em três experimentos: a) no primeiro experimento foi avaliado, *in vitro*, o efeito do composto de lodo têxtil na biomassa e atividade microbiana do solo. Um delineamento inteiramente casualizado com três repetições foi usado e os tratamentos consistiram de: 1- solo (S), 2- solo + composto de lodo têxtil (SC), 3- solo + lodo têxtil (SL), 4- solo + palha de trigo (SP), 5- solo + composto + palha de trigo (SCP), 6- solo + lodo + palha de trigo (SLP); b) no segundo experimento foi avaliado, em casa de vegetação, o efeito do composto no crescimento e fixação biológica do nitrogênio da soja e do feijão-caupi. Um delineamento em blocos casualizados com seis repetições foi usado e os tratamentos consistiram de: 1- sem fertilização, 2- fertilização com nitrogênio, fósforo e potássio mineral, 3- 19 t ha<sup>-1</sup> composto + fósforo e potássio mineral, 4- inoculação com *Rhizobium*, 5- inoculação + 9,5 t ha<sup>-1</sup> do composto, 6- inoculação + 19 t ha<sup>-1</sup> do composto, 7- inoculação + 38 t ha<sup>-1</sup> do composto; c) no terceiro experimento foi avaliado o efeito de concentrações do composto sobre a germinação de sementes e crescimento de plântulas de soja e trigo em

hidroponia. Um delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições foi usado e os tratamentos consistiram de: 1- 0 g l<sup>-1</sup> ; 2- 19 g l<sup>-1</sup>; 3- 38 g l<sup>-1</sup>; 4- 76 g l<sup>-1</sup> e 5- 152 g l<sup>-1</sup>. Os resultados mostraram que a aplicação do composto aumentou a biomassa e atividade microbiana do solo. O número de bactérias apresentou um aumento significativo com a aplicação do composto, enquanto que não houve mudanças na população fúngica. Não houve efeitos negativos do composto no número e na massa dos nódulos das raízes da soja e do feijão-caupi. A atividade da glutamina sintetase (GS) e a concentração de leghemoglobina nos nódulos não foram prejudicadas com a aplicação do composto ao solo. As concentrações do composto não apresentaram toxicidade para a germinação de sementes e alongação radicular da soja e do trigo. Houve toxicidade do composto para o crescimento de plântulas de soja e trigo em concentrações a partir de 38 g l<sup>-1</sup>. O composto de lodo têxtil aplicado em dosagens adequadas apresenta efeitos positivos nas propriedades microbiológicas do solo. Os indicadores biológicos são ferramentas adequadas para a avaliação do efeito do composto de lodo têxtil sobre o solo e as plantas. A compostagem é uma alternativa importante na reutilização e transformação do lodo têxtil em um produto recomendável para aplicação no solo.

# THE COMPOSTING OF TEXTILE SLUDGE AND ITS EFFECT ON BIOLOGICAL INDICATORS

Author: Ademir Sérgio Ferreira de Araújo

Adviser: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Regina Teresa Rosim Monteiro

## SUMMARY

This research aimed to evaluate the use of textile sludge compost and its effects on biological indicators. The study was conducted in three experiments: a) the first experiment evaluated, in vitro, the effect of textile sludge compost in the biomass and soil microbial activity. A completely randomized design with three replicates was used and the treatments consisted of: 1- soil (S), 2- soil plus textile sludge composted (SC), 3- soil plus textile sludge untreated (SL), 4- soil plus wheat straw (SP), 5- soil plus textile sludge composted and wheat straw (SCP), 6- soil plus textile sludge untreated and wheat straw (SLP); b) the second experiment, at greenhouse conditions, evaluated the effect of compost in the plant growth and biological nitrogen fixation of soybean and cowpea. A randomized block design with six replicates was used and the treatments consisted of: 1- no fertilization, 2- fertilization with nitrogen, phosphorus and potassium, 3- 19 t ha<sup>-1</sup> of textile sludge compost plus phosphorus and potassium fertilization, 4- inoculation with *Rhizobium*, 5- inoculation plus 9.5 t ha<sup>-1</sup> of compost, 6- inoculation plus 19 t ha<sup>-1</sup> of compost, 7- inoculation plus 38 t ha<sup>-1</sup> of compost; c) the third experiment evaluated the effect

of compost to seed germination and seedlings growth of soybean and wheat. A completely randomized design with four replicates was used and the treatments consisted of: 1- 0 g l<sup>-1</sup> , 2- 19 g l<sup>-1</sup>, 3- 38 g l<sup>-1</sup>, 4- 76 g l<sup>-1</sup> and 5- 152 g l<sup>-1</sup>. The results showed that the application of compost increased the biomass and soil microbial activity. Bacterial number showed a significant increase with application of compost, while there were not changes in fungal number. There were not negative effects of the compost on nodule number and weight of soybean and cowpea. Nodule glutamine synthetase (GS) activity and leghemoglobin concentration was not prejudiced with the application of compost to the soil. There was not toxicity of compost concentrations on seed germination and root elongation of soybean and wheat. There was toxicity to seedlings growth of soybean and wheat in concentrations of compost starting 38 g l<sup>-1</sup>. The textile sludge compost applied in appropriate doses presents positive effects in the microbiological properties of soil. The biological indicators are appropriate keys for evaluation of the effect of textile sludge compost on soil and plants. The composting is an important alternative in the reutilization and transformation of textile sludge in an product advisable to application on soil.

## 1 INTRODUÇÃO

O aumento da industrialização no mundo traz como consequência a geração cada vez maior de resíduos. Uma grande parte destes resíduos tem destino incerto e na maioria das vezes são expostos ao ambiente podendo causar contaminação. Esta situação é comum em várias partes do Brasil e do mundo. Atualmente, com as novas leis de proteção ambiental e a implantação de novas e exigentes diretrizes na gestão de lodos e resíduos sólidos para as indústrias, torna-se necessário o desenvolvimento de métodos alternativos e eficazes para substituição ao simples descarte desses resíduos em aterros sanitários (Moreira et al., 2001).

Este é um dos principais desafios a serem enfrentados pelas indústrias do ramo têxtil. O volume de água utilizado durante o processamento é, em geral, muito grande e conseqüentemente ocorre a geração de altas quantidades de efluentes a serem tratados antes do despejo no ambiente. O efluente possui alguns elementos químicos, tais como nitrogênio, fósforo e potássio, mas também outros componentes que são tóxicos para o ambiente, podendo apresentar atividade mutagênica e cancerígena.

Durante o processo de tratamento dos efluentes têxteis ocorre a geração do lodo, proveniente do processo de decantação. Este lodo, por possuir grandes quantidades de matéria orgânica, pode ser utilizado para fins agrícolas. Entretanto, torna-se necessário a avaliação quanto a presença ou não de substâncias que no final possam causar danos ao ambiente e ao homem.

Em vista disto, existe a necessidade de valorizar lodos e resíduos de diferentes naturezas, utilizando-o como matéria prima para a produção de um

material utilizável. Dentre todas as formas de reutilização de lodo, a compostagem tornou-se um dos processos alternativos mais difundidos de tratamento (Carvalho, 2002).

A compostagem é um processo biológico de degradação da matéria orgânica, transformando-a em húmus e nutrientes prontamente disponíveis para as plantas. Devido ao grande número de espécies microbianas envolvidas no processo de compostagem pode ocorrer a mineralização de moléculas bastante complexas, liberando os nutrientes e possibilitando a perda da toxicidade e mutagenicidade que poderiam estar presentes na composição química inicial do lodo.

Entretanto, a aplicação destes compostos maturados ao solo pode ocasionar mudanças na comunidade microbiana e, dependendo das características do composto, pode ocorrer aumento ou diminuição das atividades bioquímicas dos microrganismos. Os microrganismos promovem a decomposição da matéria orgânica, liberando nutrientes no solo para o crescimento vegetal, além de participarem dos ciclos biogeoquímicos. Adicionalmente, as plantas superiores são sensíveis a mudanças que ocorrem no solo e podem apresentar sintomas visíveis de toxicidade.

Os indicadores biológicos são, portanto, importantes para se estudar e avaliar o impacto antropogênico sobre o ambiente edáfico, fornecendo resultados para recomendação de aplicação de produtos orgânicos no solo.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o uso do composto de lodo têxtil e seus efeitos sobre indicadores biológicos.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Lodo da indústria têxtil**

O crescimento da industrialização no mundo tem contribuído, decididamente, para o aumento da geração de resíduos sólidos potencialmente tóxicos. Desta forma, existe a crescente preocupação quanto à disposição final destes resíduos no ambiente. A disposição dos resíduos industriais, a aplicação de biossólidos e efluentes de esgoto têm potencial de contaminar o solo com grandes quantidades de compostos químicos orgânicos e/ou inorgânicos. Algumas medidas adotadas para solucionar esta contaminação têm ocasionado outros problemas mais sérios. A queima dos resíduos em áreas abertas ou incineradores tem sido a principal fonte de poluição do ar. O uso de aterros sanitários pode ocasionar poluição da superfície do solo e do lençol freático causando perigo à saúde pública. Além disso, a indisponibilidade e o alto custo das áreas próximas aos centros urbanos tem tornado a deposição deste resíduo muito cara e impraticável.

As indústrias têxteis, que consomem grandes quantidades de água e agentes químicos para a fabricação dos seus produtos, contribuem para a geração cada vez maior de resíduos. Os processos têxteis geram efluentes volumosos, complexos, de elevada carga orgânica e teores significativos de sais inorgânicos (Duenser, 1992). Os compostos orgânicos são: amido, dextrinas, gomas, ceras, pectinas, álcoois, ácido acético, sabões, detergentes e corantes; já os compostos inorgânicos são hidróxido de sódio, carbamatos e sulfatos (Balan, 1999).

Os corantes são compostos aromáticos que constituem somente uma pequena parte do volume total de resíduo no processamento têxtil (Balan & Monteiro, 2001a), sendo considerados os principais contaminantes encontrados nos efluentes, devendo ser removidos antes da descarga nos corpos de água ou no solo (Banat et al. 1996). Os principais métodos desenvolvidos para a remoção dos corantes são os tratamentos físicos e químicos. Estes métodos incluem floculação físico-química combinada com flotação, eletroflotação, floculação com  $\text{Fe(II)/Ca(OH)}_2$ , membrana filtrante, coagulação eletrocinética, destruição eletroquímica, troca iônica, irradiação, precipitação, ozonização, adsorção e carbono ativado (Nigam et al., 2000). Outros métodos envolvem oxidação química utilizando hipoclorito de sódio para remoção dos corantes. Entretanto estas técnicas liberam aminas aromáticas, que são carcinogênicas, além de outros compostos tóxicos (Banat et al., 1996).

O tratamento de resíduos têxteis por processos biológicos pode ser possível e tem recebido muita atenção no mundo inteiro (Banat et al., 1996). De acordo com estes autores, os principais processos biológicos disponíveis são: lodo aeróbio ativado, reatores aeróbios-anaeróbios, reatores aeróbios-anaeróbios fluidizados e reatores anaeróbios. O processo de tratamento de efluentes utilizados pela maioria das indústrias brasileiras é o lodo ativado (Balan, 1999), onde ocorre uma combinação de etapas aeróbias e anaeróbias que parecem ser benéficas em alcançar a detoxificação necessária.

O sistema biológico de lodo ativado é reconhecidamente, o mais representativo dentre os utilizados pelas indústrias, principalmente as indústrias têxteis. Em lagoas aeradas, o efluente é submetido à oxidação por microrganismos, reduzindo-se eficientemente a carga poluidora que será lançada no ambiente (Kamida, 2004). Após este tratamento ocorre a geração de lodo biológico que vem sendo disposto no ambiente em aterros sanitários e/ou lagos de secagem, havendo pouca informação sobre a contaminação do solo e do lençol freático (Bumpus, 1995). De acordo com Stanigher (1987), existem várias formas de processar o lodo a ser eliminado, porém os métodos

são muito onerosos e dependentes de grandes áreas. Dentre as formas de tratamento, estão os leitos de secagem (tanques onde o lodo é espalhado para secagem natural), filtro prensa ou centrifugação para remoção da água que é descartada nos rios. O resíduo semi-sólido (lodo têxtil) é geralmente disposto, após secagem, em aterros sanitários. Entretanto, segundo Conchon et al. (1997), a disposição do lodo em aterros sanitários traz alguns inconvenientes, tais como a necessidade de grandes áreas, exigência de monitoramento e possibilidade de contaminação do lençol freático.

Esta forma de disposição e manejo do lodo utilizado no Brasil é semelhante em outros países, tais como a Polônia (Cebula, 1976), a África do Sul (Botha, 1984), a Itália (Silvestri et al., 1995) e a Índia (Kaushik & Garg, 2003). Kaushik & Garg (2003) reportam que na Índia o lodo têxtil é disposto em áreas agrícolas, depósitos abertos, ao longo de rodovias e aterros sanitários, podendo poluir a superfície do solo e o lençol freático causando perigo à saúde pública.

Segundo Conchon et al. (1997) a geração de lodo têxtil, em base úmida, é da ordem de 1 a 100 toneladas por dia. Devido as suas características físico-químicas, os lodos residuais tem sido estudados para atuarem como adubo orgânico (ETAD, 1995), principalmente por sua alta concentração em nitrogênio (Wanucha, 1997).

Algumas pesquisas vêm sendo realizadas visando a utilização do lodo a ser empregado diretamente como fertilizante (Wanucha, 1997; Conchon et al., 1997), porém com algumas restrições relacionadas ao alto teor de determinados minerais que limitam seu uso. Silva et al. (2003) avaliaram a utilização do lodo, oriundo de indústria têxtil, no solo e observaram que o resíduo apresentou um potencial positivo e promissor de uso como fertilizante agrícola. Entretanto, os autores sugerem a necessidade de estudos complementares para obtenção de resultados conclusivos, inclusive a avaliação dos efeitos do lodo sobre o ambiente do solo.

Alternativamente, o processo de compostagem tem sido proposto como forma de tratamento do lodo. Segundo Conchon et al. (1997) o problema encontrado em relação ao produto é a sua rejeição pelo mercado, mas nenhuma alusão é feita quanto a coloração final dos mesmos. Segundo Kaushik & Garg (2003), a transformação do lodo industrial em compostagem tem dupla vantagem: por um lado, o resíduo é convertido em um produto de valor agregado, e, por outro, controla a poluição como consequência do aumento da industrialização.

## **2.2 Compostagem**

Existem vários conceitos para compostagem. Kiehl (1985) a define como um processo fermentativo, microbiológico e controlado de decomposição de materiais orgânicos, transformando-os em um produto mais estável, total ou parcialmente humificado – o composto. Segundo Carvalho (2002), a compostagem é um processo de bio-oxidação aeróbia, exotérmica, de um substrato orgânico heterogêneo no estado sólido, realizada por um número complexo de microrganismos, caracterizada por ter como produto final água e CO<sub>2</sub>, com simultânea liberação de matéria orgânica que se estabiliza após a maturação.

Durante a compostagem, os microrganismos transformam a matéria orgânica em dióxido de carbono, biomassa, calor e húmus como produto final. Os principais componentes da matéria orgânica são carboidratos, proteínas lipídios e lignina. A assimilação da matéria orgânica depende da capacidade dos microrganismos em produzir enzimas necessárias para a degradação do substrato. Substratos complexos requerem sistemas enzimáticos mais complexos e os microrganismos atuam nesses substratos degradando em moléculas menores que podem ser utilizados pelas células microbianas (Golueke, 1992).

O processo de compostagem se desenvolve em duas fases distintas. Na primeira fase, denominada de degradação ativa ou decomposição, o material orgânico atinge a bioestabilização, através de reações bioquímicas de oxidação mais intensas, com temperaturas variando entre 55 a 60°C. Na Segunda, também chamada de fase de maturação, ocorrem as reações bioquímicas de humificação, dando como produto final um material parcialmente mineralizado e altamente humificado (Kiehl, 1985).

Durante estas fases da compostagem ocorre uma sucessão de populações microbianas, que são as bactérias, os actinomicetos e os fungos (Golueke, 1991). O número total de microrganismos envolvidos não muda significativamente durante o processo, apenas a diversidade microbiana pode variar nas diferentes fases (Atkinson et al., 1996).

A compostagem pode ser realizada em condições aeróbias ou anaeróbias. Os processo aeróbios são metabolicamente mais ativos e rápidos do que os processos anaeróbios (Stratton et al., 1995). De acordo com Banat et al. (1996), a degradação de corantes têxteis sob condições aeróbias não gera aminas, que são produzidas sob condições anaeróbias.

Os corantes presentes no lodo têxtil possuem em sua composição materiais lignocelulósicos, que podem ser degradados pelos microrganismos, dentre eles os fungos basidiomicetos da “podridão branca” (Balan & Monteiro, 2001b). Além disso, existem cerca de 1600 espécies de basidiomicetos envolvidos na quebra da lignina, e que podem estar presentes na pilha de compostagem, sendo uma propriedade promissora a ser investigada na biodegradação de poluentes ambientais orgânicos e aromáticos (Rajarathanam et al., 1992). Trejo-Hernandez et al. (2001) citam que fungos basidiomicetos, principalmente *Agaricus* e *Pleorotus*, podem utilizar os compostos fenólicos presentes nos resíduos para seu crescimento, a partir da síntese de enzimas, viabilizando estes resíduos para uso agrícola.

A compostagem de resíduos industriais vem aumentando devido a necessidade de reciclagem do material orgânico. A disposição dos resíduos em

aterros é um método muito caro e as indústrias estão buscando uma via mais barata para reutilizar seus resíduos (Kapanen & Itavaara, 2001).

A compostagem é um dos métodos mais comuns utilizado no tratamento do lodo antes de sua aplicação em solos agrícolas. Neste processo, o lodo é misturado com agentes estruturantes, tais como cascas de árvores, palha e madeira, antes de ir para a decomposição aeróbia por várias semanas. O tratamento biológico antes da disposição pode mudar a matriz do lodo resultando em uma ligação forte dos compostos tóxicos na matriz ou em sua decomposição (Garcia et al., 1995).

O processamento de resíduos orgânicos via compostagem é uma técnica que tem sido utilizada para remover grandes quantidades destes resíduos, reduzindo a sua incineração ou disposição ao solo, e resolvendo o problema da poluição ambiental (Ndegwa & Thompson, 2001). A contribuição para a preservação ambiental proporcionada pela compostagem é substancial em termos da quantidade de material removido do tradicional despejo de resíduos.

A introdução de resíduos orgânicos industriais e municipais transforma o composto em um resíduo secundário (Gomez, 1998). Segundo o autor, as razões para se utilizar estes resíduos em compostagem são múltiplas: reciclagem de nutrientes de interesse agrícola, redução do volume inicial do resíduo, degradação de substâncias tóxicas, produção de energia e diminuição do conteúdo de metais pesados.

Vários resíduos industriais podem ser compostados juntamente com outros resíduos agrícolas, municipais e florestais, resultando na sua redução e reciclagem no ambiente. Resíduos de indústria de papel (Gijzen et al., 1988), madeira (Keener et al., 1994), destilaria (Sweeney & Graetz, 1991) e têxteis (Kaushik & Garg, 2003) tem sido utilizados em compostagem.

Cebula (1976) estudou o efeito de compostagem de lodos químicos e têxteis com resíduos municipais e sua utilização agrícola, avaliando o aspecto do composto e a presença de metais pesados no solo e nas plantas. O autor

observou que o composto possuía bom conteúdo de matéria orgânica e propriedades biológicas, estimulando o crescimento vegetal; e concluiu que compostos industriais tem potencial para uso agrícola. Novas tendências de compostagem de resíduos foram mostradas por Silvestri et al. (1995), que descreveram várias experiências de sucesso no uso de resíduos industriais e urbanos, entre eles os resíduos têxteis. Os autores mostraram que há possibilidade de se obter compostos de alta qualidade agronômica e ambiental para serem utilizados na agricultura. Entretanto, o impacto da aplicação desses compostos sobre os principais indicadores microbiológicos necessita ser avaliado, no sentido de se estabelecer concentrações adequadas desses resíduos no solo.

Recentemente, Kaushik & Garg (2003) estudaram a compostagem do lodo têxtil, utilizando minhocas, por um período de 90 dias e observaram que durante o processo houve a decomposição do resíduo e uma diminuição de metais pesados totais presentes no lodo têxtil inicial. Desta forma, os autores concluíram que a compostagem pode converter o resíduo em um produto adequado para uso agrícola.

Entretanto, existe a necessidade de avaliar o impacto ambiental da aplicação desses compostos ao solo. Segundo Frighetto & Valarini (2000), o grande desafio é desenvolver ou adaptar métodos para monitorar e avaliar o impacto de poluentes nos processos biológicos do solo e sobre os organismos que nele habitam, principalmente em condições de campo. Dessa forma os indicadores biológicos podem ser ferramentas importantes para estudar e avaliar os efeitos de poluentes sobre o ambiente edáfico.

### **2.3 Os indicadores biológicos**

As modificações no solo por atividades industriais e agrícolas podem resultar na redução da produtividade vegetal e em riscos potenciais para a saúde pública. O monitoramento do solo através do uso de análises de

microrganismos e plantas representa uma alternativa efetiva à análise química e física. Estas análises são competitivas em termos de custo e têm a vantagem de integrar as mudanças da condição do solo e seus efeitos no crescimento vegetal e na atividade biológica.

Bioindicadores são organismos ou uma comunidade de organismos sensíveis à poluição como fator de estresse e respondem por meio de alterações dos seus processos vitais (Larcher, 2000). O uso de bioindicadores pode produzir valiosas informações, não somente sobre a presença de compostos nocivos, mas ainda, sobre o impacto adverso destes sobre o ambiente.

### **2.3.1 Microrganismos do solo**

O solo é um importante recurso natural que precisa ser preservado e sua qualidade e produtividade melhorada. A qualidade do solo é definida como a capacidade de funcionamento como ecossistema e sustentação da produtividade agrícola, manutenção da qualidade ambiental, crescimento vegetal e animal (Doran, 2002).

Um grande número de microrganismos vive no solo e realizam várias funções que são essenciais para a manutenção da sua qualidade. Os microrganismos (bactérias, fungos e actinomicetos) contribuem para a manutenção da qualidade do solo, decomposição de resíduos animais e vegetais, controle dos ciclos biogeoquímicos (incluindo a fixação do  $N_2$ ), estruturação e o destino de agroquímicos e poluentes (Pankhurst et al., 1998). Além disso, devido o seu importante papel no funcionamento do solo, os microrganismos são potenciais indicadores de mudanças no manejo do solo em curtos e longos períodos (Pankhurst, 1994). Segundo Brookes (1995), a microflora do solo é primeiramente afetada quando ocorrem mudanças nas condições ambientais.

A escolha e utilização de bioindicadores microbianos devem levar em conta alguns critérios. Estes critérios foram descritos por Brookes (1995) e incluem: a) validade científica e importância para o funcionamento do solo; b) ser facilmente mensurável; c) facilidade de avaliação em vários tipos e condições do solo; d) sensibilidade para indicar poluição, mas robusto para não dar falso alarme. Doran & Zeiss (2000) descrevem, ainda, outros critérios importantes: a) sensibilidade a variação no manejo do solo; b) correlação com as funções edáficas; c) elucidação de processos no ecossistema utilizável para o manejo de solo; e d) análise fácil e com custo baixo.

Os parâmetros microbianos que podem ser usados como bioindicadores podem ser divididos em vários grupos. O primeiro grupo e provavelmente o mais largamente utilizado incluem as medidas da biomassa microbiana, respiração do solo e os parâmetros derivados destes. O segundo grupo inclui outras medidas de atividade microbiana, tais como atividade enzimática e mineralização de nutrientes. O terceiro grupo inclui a medida dos grupos funcionais de microrganismos (*Rhizobium*, micorrizas), e o quarto e mais recente grupo incluem as medidas da composição e diversidade funcional da comunidade microbiana (Pankhurst et al., 1998).

FlieBbach et al. (1994) reportam que a respiração do solo, a biomassa microbiana e a fixação biológica do nitrogênio são os três mais importantes parâmetros usados como bioindicadores microbianos.

A biomassa microbiana é definida como o componente vivo da matéria orgânica e normalmente representa entre 1 e 5% do carbono orgânico total do solo (Jenkinson & Ladd, 1981). A biomassa microbiana e sua atividade fornecem informações extremamente úteis sobre a dinâmica lábil da matéria orgânica do solo, trazendo conseqüências no funcionamento do ecossistema e na qualidade do solo (Wardle, 1995).

A biomassa microbiana tem sido usada para avaliar o impacto de pesticidas (Wardle & Parkinson, 1990), metais pesados (FlieBbach et al., 1994)

e lodo de esgoto compostado (Selivanovskaya et al., 2001) e não compostado (Cardoso & Fortes Neto, 2000).

Cardoso & Fortes Neto (2000) avaliaram a efeito da aplicação de doses crescentes de biossólido sobre a microbiota do solo e observaram que houve aumentos na respiração basal e no quociente metabólico do solo, enquanto que a biomassa microbiana não aumentou com a adição do biossólido. Os autores sugerem que a aplicação do biossólido ocasionou mudanças importantes no ambiente, na comunidade microbiana e na atividade dos microrganismos do solo.

A respiração do solo é um parâmetro usado para monitorar a decomposição da matéria orgânica, sendo considerada um importante indicador da atividade microbiana do solo (Anderson & Domsch, 1990). Entretanto, a respiração do solo é altamente variável e pode mostrar grandes flutuações dependendo do substrato, umidade e temperatura (Pankhurst et al., 1998), tornado difícil a interpretação das medidas da atividade microbiana em condições de campo (Brookes, 1995). Segundo Anderson (1982), para comparações válidas entre solos, as medidas de respiração normalmente são realizadas sob condições controladas em laboratório.

A exposição do ambiente a compostos nocivos pode causar mudanças fundamentais na atividade microbiana afetando a ciclagem de nutrientes no ecossistema (Kapanen & Itavaara, 2001). Segundo os mesmos autores, o ciclo do carbono é muito sensível a presenças de compostos nocivos, e a produção de CO<sub>2</sub> pode ser mensurada em teste de respiração de longa e curta duração.

A fixação biológica do nitrogênio (FBN) tem sido proposta como um importante parâmetro para avaliação de distúrbios que ocorrem no solo (Viser & Parkinson, 1992). Brookes (1995) recomenda a avaliação da FBN como um indicador de estresse no solo resultante da aplicação de compostos poluentes e, de acordo com Wetzell & Werner (1995), as reações apresentadas pelas leguminosas e o *Rhizobium*, bem como o processo de nodulação, são os

principais parâmetros relacionados com efeitos tóxicos da aplicação de compostos poluentes ao solo.

A combinação das medidas da biomassa microbiana e respiração do solo fornecem a quantidade de  $\text{CO}_2$  evoluída por unidade de biomassa, denominada quociente metabólico ( $q\text{CO}_2$ ). O quociente metabólico indica a eficiência da biomassa microbiana em utilizar o carbono disponível para biossíntese, sendo sensível indicador para estimar a atividade biológica e a qualidade do substrato (Saviozzi et al., 2002). O uso do  $q\text{CO}_2$  como uma medida de estresse microbiano no solo está baseada na teoria sobre a respiração da comunidade descrita por Odum (1985). Esta teoria descreve que o aumento na respiração da comunidade pode ser o primeiro sinal de estresse, uma vez que a reparação dos danos causados por distúrbios no solo requer desvio de energia do crescimento e reprodução para a manutenção celular. Portanto, durante um estresse na biomassa microbiana, haverá direcionamento de mais energia para a manutenção celular, em lugar do crescimento, de forma que uma proporção de carbono da biomassa será perdida como  $\text{CO}_2$ .

Selivanovskaya et al. (2001) investigaram o efeito do lodo de esgoto compostado e não compostado sobre a respiração do solo, biomassa microbiana e fixação do nitrogênio e observaram um aumento nestes parâmetros com a aplicação do lodo compostado. Por outro lado, houve um decréscimo significativo na fixação do nitrogênio no solo tratado com o lodo não compostado. Os autores concluem que o lodo compostado apresentou efeitos benéficos nas propriedades biológicas por disponibilizar altas quantidade de matéria orgânica para o solo.

A composição da população microbiana (bactérias, fungos, actinomicetos) tem sido usada para avaliar as mudanças na microbiota em resposta ao manejo, sendo um indicador do status biológico do solo (Roper & Ophel-Keller, 1997). Além disso, o efeito de contaminantes sobre a população total de microrganismos tem sido avaliado em vários estudos (Hicks et al., 1990)

### 2.3.2 Plantas superiores

As plantas constituem o mais importante componente do ecossistema, devido a sua habilidade de capturar energia solar e transformar em energia química, enquanto absorve dióxido de carbono e libera oxigênio para o ambiente. Como organismos sedentários, as plantas estão sempre expostas ao estresse ambiental e em maior quantidade do que os humanos e animais. Por essa razão elas podem ser utilizadas como bioindicadores em relação a uma variedade de substâncias tóxicas (Larcher, 2000).

A sensibilidade das plantas a compostos químicos no ambiente varia consideravelmente. Segundo Kapanen & Itavaara (2001) as plantas sensíveis a substância nocivas podem ser usadas como bioindicadoras. O uso de plantas em testes de toxicidade foi desenvolvido a partir dos parâmetros utilizados em estudos de Fisiologia Vegetal e Ciência das Plantas Daninhas. Inicialmente, os testes foram adotados para avaliar o efeito de compostos químicos simples ou complexos, e recentemente, têm sido usados para avaliar a contaminação do solo (Cushman & Meyer, 1990). Os ensaios de fitotoxicidade têm recebido a maior atenção por parte dos órgãos ambientais no mundo inteiro, sendo a germinação de sementes e o crescimento de plantas as mais comuns técnicas usadas para determinar a toxicidade de compostos orgânicos (Kapanen & Itavaara, 2001). Segundo os autores, um grande número de espécies de plantas tem sido recomendadas pela OECD, USEPA e USFDA (Tabela 2.2).

Os testes de germinação de sementes têm sido usados extensamente desde a introdução de protocolos padronizados de fitotoxicidade. A germinação é definida como o evento associado a reiniciação do crescimento embrionário em sementes maduras de plantas superiores. Vários processos fisiológicos, tais como indução hormonal, conversão do RNA, ativação de proteínas e divisão celular ocorrem após a embebição da semente com suficiente quantidade de água (Mayer & Poljakoff-Mayber, 1989). Apesar de ser recomendado para avaliar a toxicidade de substâncias químicas, Kapustka (1997) reporta que o

teste de germinação de sementes é relativamente insensível para muitas destas substâncias. Segundo o mesmo autor, a insensibilidade é resultado de dois fatores: a) algumas substâncias químicas podem não penetrar na semente e b) o embrião utiliza os nutrientes da reserva da semente e fica isolado do ambiente externo.

Tabela 2.1 Espécies de plantas recomendadas pela OECD, USEPA e USFDA

	Nome comum	Nome Científico
OECD	Arroz	<i>Oryza sativa</i>
	Trigo	<i>Triticum aestivum</i>
	Alface	<i>Lactuca sativa</i>
	Rabanete	<i>Raphanus sativus</i>
	Repolho	<i>Brassica campestris</i>
	Agrião	<i>Lepidium sativum</i>
	Mostarda	<i>Brassica sativum</i>
USEPA	Alface	<i>Lactuca sativa</i>
	Couve	<i>Brassica oleraceae</i>
	Soja	<i>Glycine max</i>
	Milho	<i>Zea mays</i>
	Cebola	<i>Allium cepa</i>
USFDA	Trigo	<i>Triticum aestivum</i>

Fonte: Kapanen & Itavaara (2001)

A alongação de raízes foi desenvolvida como um método de avaliação indireta da toxicidade (Weinstein et al., 1990). Neste caso, as raízes são expostas a extratos aquosos de compostos potencialmente tóxicos para o crescimento radicular.

Por outro lado, o teste de crescimento inicial de plântulas supera as deficiências da germinação de sementes e alongação radicular, pois a duração do teste proporciona uma exposição maior das plântulas às substâncias químicas e fornece uma melhor aproximação às condições de campo (Kapustka, 1997).

O crescimento vegetal pode ser definido de diferentes formas, tais como mudança na massa, no volume, no comprimento e no número de células que são formadas no meristema apical e no câmbio (Ingestad, 1982), e as medidas da altura, massa da parte aérea e raiz e comprimento radicular são parâmetros sensíveis deste crescimento, podendo ser utilizados como indicadores de respostas das plantas a presença de substâncias químicas tóxicas.

Além desses, outros indicadores, tais como o conteúdo de clorofila e a atividade enzimática, são utilizados para verificar o efeito de substâncias químicas presentes no solo sobre as plantas. O conteúdo de clorofila é utilizado para quantificar a performance e a capacidade das plantas em realizar a fotossíntese (Kapustka, 1997). A fotossíntese é o processo através do qual as plantas verdes transformam a energia luminosa em energia química (Magalhães, 1985). Sob condições normais, 97% da energia luminosa absorvida pela clorofila é convertida em energia química na fotossíntese, e condições de estresse podem resultar em perdas de 10% desta energia absorvida pelo pigmento, reduzindo a taxa fotossintética na planta (Kapustka, 1997). Desta forma, segundo o mesmo autor, a clorofila pode ser usada para avaliar a fitotoxicidade em testes de campo ou laboratório.

A atividade enzimática das plantas tem sido usada como indicador de estresse ambiental. Dentre as enzimas utilizadas como indicador, a peroxidase é altamente responsiva a fatores de estresse (Castilho, 1986). O aumento da atividade da peroxidase tem sido relatado como efeito fitotóxico de vários metais pesados, incluindo cádmio, cobre, chumbo, níquel e zinco (Pandolfini et al., 1992).

### **3 EFEITO DO COMPOSTO DE LODO TEXTIL NA BIOMASSA E ATIVIDADE MICROBIANA DO SOLO**

#### **RESUMO**

O objetivo deste trabalho foi avaliar, *in vitro*, o efeito da aplicação de composto de lodo têxtil na biomassa e atividade microbiana do solo, com e sem adição de palha de trigo. Os tratamentos consistiram de: solo (S), solo + composto de lodo têxtil (SC), solo + lodo têxtil (SL), solo + palha de trigo (SP), solo + composto + palha de trigo (SCP), solo + lodo + palha de trigo (SLP). As doses do composto e do lodo têxtil correspondem a 19 t ha<sup>-1</sup> (1,58 g frasco<sup>-1</sup>) e 6,4 t ha<sup>-1</sup> (0,53 g frasco<sup>-1</sup>), respectivamente. Os resultados foram avaliados aos 15, 30 e 60 dias de incubação. A aplicação do composto aumentou significativamente a biomassa e atividade microbiana do solo. O número de bactérias apresentou um aumento significativo com a aplicação do composto, enquanto que não houve mudanças na população fúngica. O tratamento com lodo têxtil (SL) apresentou biomassa e atividade microbiana inferior, comparado com o tratamento com composto (SC), porém não diferiu do controle (S). O composto de lodo têxtil aplicado em dosagens adequadas apresenta efeitos positivos nas propriedades microbiológicas do solo, podendo ser recomendado como condicionador de solos.

## **EFFECT OF TEXTILE SLUDGE COMPOST IN BIOMASS AND SOIL MICROBIAL ACTIVITY**

### **SUMMARY**

The objective of this work was to evaluate, *in vitro*, the effect of application of textile sludge compost on biomass and soil microbial activity, with and without wheat straw. The treatments consisted: soil (S), soil plus textile sludge composted (SC), soil plus textile sludge untreated (SL), soil plus wheat straw (SP), soil plus textile sludge composted and wheat straw (SCP), soil plus textile sludge untreated and wheat straw (SLP). Doses of compost and textile sludge corresponded to 19 t ha<sup>-1</sup> (1.58 g flaske<sup>-1</sup>) and 6.4 t ha<sup>-1</sup> (0.53 g flaske<sup>-1</sup>), respectively. Data were collected 15, 30 and 60 days of incubation. The application of compost increased significantly the biomass and soil microbial activity. Bacterial number showed a significant increase with application of compost. However, there were not changes in fungal number. Soil treated with textile sludge untreated (SL) showed a lower biomass and microbial activity, compared to compost (SC), however without difference from control (S). Textile sludge compost applied in appropriate doses presents positive effects on microbiological properties of soil, being recommended for use as soil amendment.

### 3.1 INTRODUÇÃO

A disposição de lodos industriais através de meios ambientalmente aceitáveis vem se tornando um grande desafio mundial. Em uma escala industrial têxtil, o lodo gerado do processo de tingimento é manejado mediante métodos destrutivos: disposição no solo e/ou incineração. Estes métodos ocasionam perdas de um recurso vantajoso e apresentam desvantagens econômicas e ambientais (Elvira et al., 1998).

O lodo biológico têxtil possui composição variável e normalmente estão presentes altos conteúdos de matéria orgânica, N, P, K e micronutrientes (Martinelli et al., 2002). Além disso, existe relativa quantidade de corantes com metais pesados e agentes patogênicos. Devido a essa composição e ao risco associado do uso agrícola direto deste lodo, a compostagem pode ser uma alternativa importante na reutilização e transformação deste resíduo em um produto adequado para aplicação no solo. Durante o processo, os nutrientes vegetais presentes no material são convertidos pela ação microbiana em formas mais solúveis e disponíveis às plantas (Ndegwa & Thompson, 2001). Além disso, segundo Araújo et al. (2001) a compostagem pode diminuir ou eliminar a toxicidade do lodo têxtil. Entretanto, estes autores recomendam uma completa avaliação do composto antes da sua aplicação no solo.

Atualmente, a avaliação de compostos orgânicos industriais para uso agrícola tem levado em consideração os teores das diversas substâncias químicas presentes, principalmente metais pesados, que podem estar presentes em concentrações elevadas (Kapanen & Itavaara, 2001). A utilização de indicadores microbiológicos para avaliar o impacto de poluentes no solo está baseada na relação dos microrganismos com o seu habitat e as propriedades químicas, físicas e biológicas (Brookes, 1995). Os microrganismos fazem parte da fração viva da matéria orgânica do solo e são responsáveis por uma parte importante do ciclo de nutrientes (Selivanovskaya et al., 2001), sendo primariamente afetados quando ocorrem mudanças nas condições ambientais

(Brookes, 1995). Desta forma, segundo Chander & Brookes (1993), os parâmetros microbianos são importantes indicadores de mudanças das condições do solo causadas por poluição química.

Os principais indicadores microbiológicos utilizados são a biomassa e a atividade microbiana do solo (Sparling, 1997). A biomassa microbiana é definida como o componente vivo da matéria orgânica do solo, sendo freqüentemente utilizada como um indicador altamente sensível do efeito de práticas agrícolas sobre o solo (Wardle, 1995). A respiração do solo é um importante indicador da atividade microbiana do solo (Anderson & Domsch, 1990). Além destes, o quociente respiratório tem sido utilizado como um indicador de estresse microbiano e mostra a eficiência da biomassa microbiana na utilização do carbono disponível para biossíntese, constituindo-se, por essa razão, um indicador da atividade biológica do solo (Wardle & Ghani, 1995).

O objetivo deste trabalho foi avaliar, *in vitro*, o efeito da aplicação de composto de lodo têxtil na biomassa e atividade microbiana do solo, com e sem adição de palha de trigo, como indicador da capacidade da reciclagem do carbono.

## **3.2 MATERIAL E MÉTODOS**

O trabalho foi realizado no Laboratório de Ecotoxicologia, da Divisão de Funcionamento de Ecossistemas Tropicais do Centro de Energia Nuclear na Agricultura - CENA/USP, Piracicaba, SP.

### **3.2.1 Solo**

O solo foi coletado de uma área cultivada com café, na Fazenda Experimental da ESALQ/USP, situada no município de Piracicaba/SP, sendo classificado como terra roxa estruturada. Foram coletadas subamostras do solo,

inteiramente ao acaso em uma área de um hectare, em 15 pontos na profundidade de 0-15 cm e que formaram a amostra composta. Na Tabela 3.1, estão apresentados os dados da análise química do solo, realizada pelo Departamento de Solos e Nutrição de Plantas, da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, da Universidade de São Paulo.

A amostra do solo foi deixada à temperatura ambiente, sendo em seguida peneirada em malhas de 2 mm, e então determinou-se o peso seco e a capacidade de campo. O restante da amostra foi acondicionada em saco plástico fechado, frouxamente, com barbante e papel (para possibilitar “respiro” para os microrganismos) e mantidos à temperatura de 4°C, para posterior análises.

### **3.2.2 Determinação do peso seco e capacidade de campo**

Amostras de 10 g de solo foram levadas para secar em estufa à temperatura de 105°C por 24 horas, em três repetições e a umidade foi determinada, em porcentagem, pela diferença dos pesos antes e após a secagem em estufa.

Na determinação da capacidade de campo (Costa, 1983), foram colocados 150 g da amostra de solo em um béquer de 500 mL de capacidade e foi adicionado gota a gota 2 mL de água destilada, com auxílio de uma pipeta, por 40 segundos. O torrão formado foi colocado em uma placa de Petri e levada à estufa para secar à temperatura de 105°C por 24 horas. A capacidade de campo foi calculada pelo peso seco da amostra que absorveu os 2 mL de água adicionados.

### **3.2.3 Composto de lodo têxtil**

O composto utilizado foi obtido a partir da mistura do lodo, coletado de uma indústria têxtil localizada em Americana/SP, com um material estruturante

(cavaco de madeira) necessário para composição da pilha de compostagem. O processo foi conduzido durante 90 dias. As características químicas do composto, amostrado em dez pontos diferentes na pilha, estão apresentadas na Tabela 3.2.

#### **3.2.4 Incubação do solo**

Amostras de 100 g do solo (peso seco), em três repetições, foram misturadas com o material orgânico (composto, lodo têxtil e palha de trigo) e incubadas a 24°C, no escuro.

Os tratamentos consistiram de: solo (S), solo + composto de lodo têxtil (SC), solo + lodo têxtil (SL), solo + palha de trigo (SP), solo + composto + palha de trigo (SCP), solo + lodo + palha de trigo (SLP).

As quantidades do composto, do lodo têxtil e da palha de trigo correspondem a 19 t ha<sup>-1</sup> (1,58 g frasco<sup>-1</sup>) e 6,4 t ha<sup>-1</sup> (0,53 g frasco<sup>-1</sup>) e 12 t ha<sup>-1</sup> (1,0 g frasco<sup>-1</sup>), respectivamente. As quantidades do composto e do lodo foram calculadas pelo conteúdo de nitrogênio no composto e no lodo em relação a recomendação de fertilização com 100 kg N ha<sup>-1</sup> (CETESB, 1999).

#### **3.2.5 Atividade microbiana avaliada pela liberação do dióxido de carbono**

A metodologia utilizada foi a descrita por Bartha & Pramer (1965), que quantifica o dióxido de carbono desprendido na respiração microbiana do solo.

As amostras do solo foram adicionadas em frascos Erlenmeyers de 250 mL, soldados a um tubo de ensaio de fundo arredondado. A umidade do solo foi ajustada para 75% da capacidade de campo. Após adição do solo, cada frasco Erlenmeyer foi fechado com um tubo contendo cal sodada, munido de uma torneira. O tubo de ensaio, coletor de dióxido de carbono, foi fechado com tampa de borracha perfurada deixando passar uma agulha de 15 cm de

comprimento. O sistema foi mantido hermeticamente fechado durante a incubação

O dióxido de carbono desprendido e coletado no álcali (KOH 0,2 mol.L<sup>-1</sup>), foi amostrado periodicamente, retirando-se os 10 mL de KOH, com auxílio de seringa, e adicionando novamente 10 mL de KOH preparado livre de CO<sub>2</sub>. A amostra de KOH retiradas foi transferidas para frascos Erlenmeyer de 125 mL, contendo 1,0 mL de BaCl<sub>2</sub> para precipitar todo o CO<sub>2</sub> capturado e 3 gotas de fenolftaleína como indicador, sendo então titulados com HCl 0,1 mol.L<sup>-1</sup> até a viragem, anotando-se o volume gasto.

O mesmo procedimento descrito acima foi utilizado para testemunhas sem adição de solo (branco). A quantificação do CO<sub>2</sub> desprendido foi realizado nos períodos de 2, 4, 8, 15, 30 e 60 dias após a incubação do solo, sendo calculado pela expressão (IBAMA, 1990):

$$\text{mg C-CO}_2 = [(\text{mL HCl}_{\text{gasto}} \text{ branco}) - (\text{mL HCl}_{\text{gasto}} \text{ tratamento})] \times N \times 22$$

Onde:

N : normalidade do HCl, determinada a cada coleta por titulação com NaOH 0,1 mol.L<sup>-1</sup>

### **3.2.6 Carbono da Biomassa microbiana**

O carbono da biomassa microbiana foi determinado pelo método de fumigação-extração (Vance et al., 1987). Para cada amostra analisada foram retiradas 2 subamostras de 10 gramas. A primeira subamostra foi submetida à fumigação com clorofórmio em um dessecador fechado a vácuo, por um período de 24 horas. A outra subamostra, não fumigada, foi armazenada por 24 horas na câmara fria. Após esse período, as subamostras fumigadas e não fumigadas foram retiradas do dessecador e da câmara fria. A elas foram adicionados 40 mL de K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0,5 mol.L<sup>-1</sup>), e colocadas pôr uma hora em um

agitador contínuo. Em seguida, as subamostras foram filtradas em papel de filtro.

O carbono orgânico dos extratos das duas subamostras foi determinado por digestão com dicromato de potássio ( $K_2Cr_2O_7$ ), ácido sulfúrico concentrado ( $H_2SO_4$ ) e ácido fosfórico ( $H_3PO_4$ ) em banho-maria por uma hora e, depois de resfriado, titulado com sulfato ferroso de amônio utilizando difenilamina sulfonato de bário como indicador. A biomassa microbiana foi avaliada no início da incubação do solo, aos 15, 30 e 60 dias.

### **3.2.7 Quociente respiratório ( $qCO_2$ )**

O quociente respiratório foi calculado pela divisão da respiração basal pelo carbono da biomassa microbiana.

### **3.2.8 Quantificação de bactéria e fungos**

Na determinação da comunidade microbiana presente no solo foi utilizada a técnica do número mais provável (NMP) em plaqueamento por gotas descrita por Jahnel et al. (1999), fazendo-se diluição em série à extinção.

Foram pesados 10 g de cada amostra de solo e adicionados em frascos contendo 90 mL de solução salina à 0,85%. Os frascos foram agitados por 10 minutos a 150 rpm em agitador circulante. A partir deste frasco, foram preparadas as diluições, para bactérias a partir de  $10^{-3}$  a  $10^{-7}$  e para fungos a partir de  $10^{-2}$  a  $10^{-6}$ . Em seguida foi tomada alíquota de 0,1 mL, com auxílio de micropipeta adicionando em tubos contendo 0,9 mL de meio de cultura com ágar a 1% e mantida em banho-maria a 45°C. Os meios de cultura utilizados foram o ágar-nutriente ( 5 g de peptona, 3 g de extrato de carne, 10 g de NaCl, 10 g de ágar, dissolvidos em 1 litro de água deionizada) para bactérias; e o

meio de Martin (1 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 1 g de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 5 g de peptona, 10 g de dextrose, 0,033 g de rosa bengala, 0,05 g de estreptomicina, 10 g de ágar, dissolvidos 1 litro de água deionizada) para fungos.

O plaqueamento foi feito com gotas do meio de cultura em alíquotas de 0,040 mL/gotas, com auxílio de micropipeta, utilizando 5 gotas de cada diluição colocadas, uma ao lado da outra, em placas de Petri estéreis. Em seguida as placas foram vedadas com Parafilm™ e incubadas durante 48 horas à 28°C.

Após este período foram feitas observações da presença de unidades formadoras de colônias (UFC). O NMP foi determinado utilizando uma tabela de ocorrência estatística. O número de microrganismos foi avaliado no início da incubação do solo, aos 15, 30 e 60 dias.

### **3.2.9 Delineamento experimental**

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com três repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) utilizando o aplicativo estatístico “SAS System Software” (SAS Institute, 1997), sendo as médias comparadas pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

## **3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O padrão de produção de  $\text{CO}_2$ , pela respiração do solo, em todos os tratamentos foi caracterizado por um aumento da atividade microbiana nos primeiros oito dias de incubação, seguida por uma diminuição e estabilização com o tempo (Figura 3.1). A aplicação do composto ao solo (SC) proporcionou um aumento significativo da atividade microbiana, aos oito dias, comparado ao controle (S). Já o solo tratado com o lodo têxtil (SL) não diferiu estatisticamente do controle em todas as avaliações. A média da respiração do solo, aos oito dias,

foi de 19,1, 35,1 e 28,9  $\mu\text{g C-CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ solo dia}^{-1}$ , para solo (S), solo + composto (SC) e solo + lodo (SP), respectivamente. O mesmo comportamento foi observado para os tratamentos com adição de palha de trigo como substrato (SP, SCP e SLP), onde a média da respiração aos oito dias foi de 174,5, 176,5 e 168,2  $\mu\text{g C-CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ solo dia}^{-1}$ , para o solo + palha (SP), solo + composto + palha (SCP) e solo + lodo + palha (SLP), respectivamente, mas sem apresentar diferenças significativas entre os tratamentos.

As curvas de liberação de  $\text{CO}_2$  apresentadas na Figura 1 mostram um comportamento característico de uma curva de crescimento microbiano, com a fase “log” ocorrendo entre 0 e 8 dias. Resultados semelhantes foram encontrados por Cardoso & Fortes Neto (2000) que utilizaram lodo de esgoto no solo e observaram uma curva de crescimento com a fase “lag” ocorrendo entre 0 e 15 dias e a fase “log” entre 15 e 30 dias. Este aumento temporal na respiração microbiana está, provavelmente, relacionado com a adição ao solo de um substrato prontamente disponível para os microrganismos, e sugerem nenhum aparente efeito prejudicial dos resíduos orgânicos na atividade microbiana (Bardgett et al., 1995).

Houve maior quantidade de  $\text{CO}_2$  acumulada nos tratamentos com a aplicação do composto (solo + composto e solo + composto + palha de trigo), em relação aos outros tratamentos, no final do período de incubação aos 60 dias (Figura 3.2). Já com a aplicação de lodo têxtil (SL) não houve diferenças significativas no acúmulo de  $\text{CO}_2$ , aos 60 dias, em relação ao controle. Estes resultados estão de acordo com os de Selivanovskaya et al. (2001) que observaram uma maior respiração do solo com a aplicação de lodo de esgoto compostado do que com o lodo não tratado.

Comparado com o controle (S e SP) os tratamentos com aplicação do composto (SC e SCP) mostraram aumento da biomassa microbiana, após 15 dias de incubação (Tabela 3.3). Por outro lado, houve uma diminuição da biomassa no tratamento solo + lodo têxtil + palha de trigo (SLP) em relação ao tratamento solo + palha de trigo (SP), indicando que o lodo possui substâncias

tóxicas que podem inibir o desenvolvimento de alguns microrganismos do solo. A biomassa microbiana é um dos parâmetros mais comumente usados em biologia do solo (Selivanovskaya et al., 2001) para mostrar efeito na qualidade solo, pela adição de poluentes. Estes resultados indicam que o composto proporcionou uma fonte de matéria orgânica para os microrganismos, favorecendo o aumento da biomassa microbiana para estes solos. Esse aumento da biomassa é por causa do crescimento da microbiota do solo em resposta a presença de fontes de carbono prontamente disponíveis (Saviozzi et al., 2002). Além disso, de acordo com a técnica utilizada, os resultados sugerem que a aplicação do composto ao solo não apresentou um efeito negativo aparente sobre a biomassa microbiana e, ainda, produziu em curto prazo um aumento na abundância dos microrganismos.

Ao final do período de incubação, aos 60 dias, houve uma diminuição da biomassa microbiana nos solos nos quais foram aplicados o composto e lodo, em relação ao controle, o qual apresentou um ligeiro aumento. Em relação aos solos com adição de palha de trigo, houve uma diminuição da biomassa em todos os tratamentos. Estes resultados sugerem que ocorreu a exaustão da fonte de carbono para os microrganismos diminuindo a biomassa ao final do período de incubação, uma vez que todo o carbono solúvel que atuava como fonte de energia para a atividade microbiana e biomassa foi degradada no início da incubação (Pascual et al., 1997).

Uma relação entre a respiração do solo e a biomassa microbiana pode ser expressa usando o quociente metabólico ( $qCO_2$ ), que é considerado um parâmetro importante do efeito de poluentes tóxicos sobre o metabolismo da biomassa microbiana (Perucci et al., 2000). Aos 15 dias, os valores de  $qCO_2$  dos solos tratados com o composto (SC e SCP) foram menores que os encontrados para os solos tratados com lodo (SL e SLP) e o controle (S e SP) (Tabela 3.4). Estes resultados indicam um efeito benéfico do composto no tamanho da biomassa microbiana, que mostrou baixa respiração. Por outro lado, a aplicação do lodo têxtil causou um aumento do  $qCO_2$ , em relação ao

controle. Este aumento no  $qCO_2$  pode ser considerado um indicativo de efeito negativo do lodo na microbiota do solo. De acordo com Anderson & Domsch (1990), em condição de estresse, os microrganismos utilizam grande parte da energia armazenada para a sua manutenção, reduzindo a atividade microbiana.

Ao final do período de incubação, aos 60 dias, houve uma diminuição gradativa do  $qCO_2$  em todos os tratamentos. Entretanto, o solo tratado com o composto apresentou maior  $qCO_2$  em relação ao controle. Provavelmente, a diminuição da fonte de carbono no solo, conforme citado anteriormente, tenha levado os microrganismos a perderem o carbono acumulado, na forma de  $CO_2$  pela respiração, diminuindo a sua biomassa (Cardoso & Forte Neto, 2000). Resultados semelhantes foram encontrados por Selivanovskaya et al. (2001) utilizando composto de lodo de esgoto aplicado ao solo.

Houve um aumento significativo no número de bactérias no tratamento solo + composto (SC) em relação aos tratamentos solo (S) e solo + lodo têxtil (SL) em todas as avaliações (Tabela 3.5). Em relação aos fungos, não houve efeitos positivos ou negativos sobre esses microrganismos com a aplicação do composto ao solo. Estes resultados indicam que o composto não apresentou efeitos tóxicos detectáveis sobre a comunidade bacteriana e a fúngica. Além disso, a aplicação do composto induziu o crescimento bacteriano no solo, provavelmente por causa da utilização da matéria orgânica, presente no composto, como fonte de carbono.

Ao final do período de incubação, aos 60 dias, houve uma diminuição significativa no número de fungos no tratamento solo + lodo (SL), em relação ao controle (S). Entretanto, o tratamento solo + lodo têxtil + palha (SLP) não apresentou diferença em relação aos outros tratamentos (solo + palha de trigo e solo + composto + palha de trigo).

Estas diferenças, no número de fungos, entre os tratamentos com o lodo (SL e SLP) mostram que, provavelmente, a mistura com a palha de trigo pode ter mudado a matriz do lodo, resultando em uma forte ligação (adsorção) das substâncias tóxicas presentes (Garcia et al., 1995), ou por causa do

aumento do número de fungos e do seu metabolismo causado pela adição da palha que provavelmente favoreceu a degradação de compostos tóxicos presentes no lodo.

Tabela 3.1 Características químicas da amostra do solo

Determinação	
pH (H <sub>2</sub> O)	5,8
pH (CaCl <sub>2</sub> )	4,6
Matéria orgânica (g.dm <sup>-3</sup> )	20
Fósforo (mg.dm <sup>-1</sup> )	15
Potássio (mmol <sub>c</sub> .kg <sup>-1</sup> )	4,1
Cálcio (mmol <sub>c</sub> .kg <sup>-1</sup> )	22
Magnésio (mmol <sub>c</sub> .kg <sup>-1</sup> )	7
H + Al (mmol <sub>c</sub> .kg <sup>-1</sup> )	31
CTC (mmol <sub>c</sub> .kg <sup>-1</sup> )	64,1

Tabela 3.2 Características químicas do lodo têxtil e do composto

Parâmetro	Lodo têxtil	Composto	Limites de metais pesados permitidos <sup>(1)</sup>
pH (CaCl <sub>2</sub> , 0,01M)	8,1	6,8	-
C-orgânico (%)	22,2	3,65	-
N-total (%)	5,2	0,95	-
N-NH <sub>3</sub> (g.kg <sup>-1</sup> )	nd	1,68	-
N-NO <sub>3</sub> (g.kg <sup>-1</sup> )	nd	51,51	-
K-total (%)	0,6	0,34	-
P-total (%)	1,6	0,87	-
Ca-total (%)	2,1	1,39	-
Mg-total (%)	1,7	0,43	-
Cu (mg.kg <sup>-1</sup> )	203,3	110,8	4300
Zn (mg.kg <sup>-1</sup> )	543,2	397,0	7500
Cd (mg.kg <sup>-1</sup> )	5,6	< 0,3	85
Cr (mg.kg <sup>-1</sup> )	111,67	73,9	3000
Ni (mg.kg <sup>-1</sup> )	104,59	30,44	420
Pb (mg.kg <sup>-1</sup> )	71,79	33,4	840
Mo (mg.kg <sup>-1</sup> )	36,69	< 4,0	75

nd – não detectado.

<sup>1</sup> (CETESB, 1999).

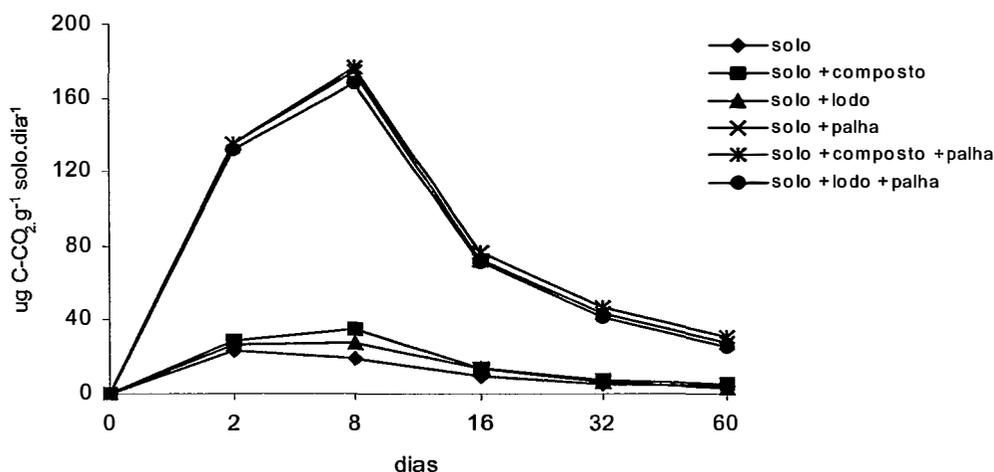


Figura 3.1 Evolução de CO<sub>2</sub> nos dias 0, 2, 8, 16, 32 e 60 de incubação, a 25 ±2 °C no escuro. As quantidades aplicadas foram: lodo (6,9 t ha<sup>-1</sup>), composto (19 t ha<sup>-1</sup>) e palha (12 t ha<sup>-1</sup>)

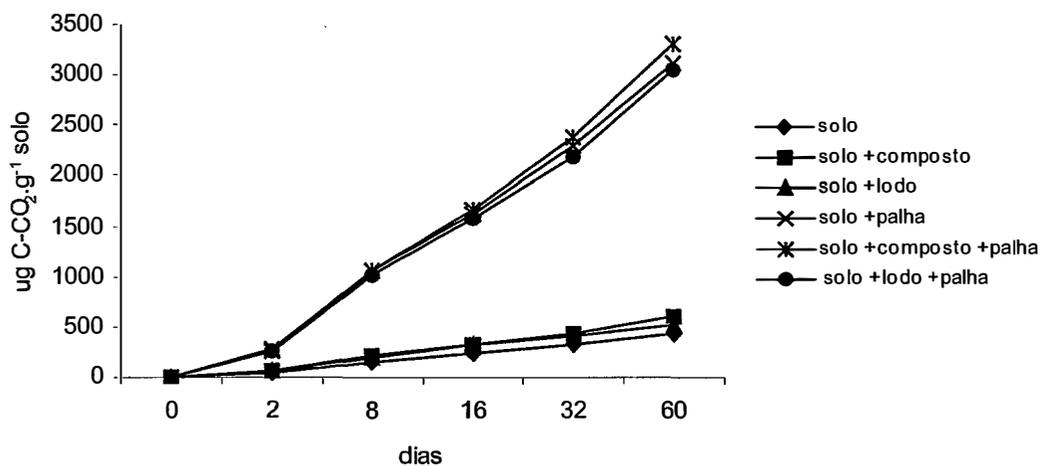


Figura 3.2 Quantidade de CO<sub>2</sub> acumulada do solo durante o período de incubação de 60 dias, a 25 ±2°C no escuro. As quantidades aplicadas foram: lodo (6,9 t ha<sup>-1</sup>), composto (19 t ha<sup>-1</sup>) e palha (12 t ha<sup>-1</sup>)

Tabela 3.3 Biomassa microbiana C ( $\mu\text{g C g}^{-1}$ ) nas amostras de solo após aplicação de lodo e composto têxtil

Tratamento	Biomassa microbiana C		
	15 dias	30 dias	60 dias
Solo	272,7 d	269,5 c	301,6 b
Solo + Composto	396,1 a	345,5 b	218,6 c
Solo + Lodo	302,0 c	262,2 c	190,1 d
Solo + Palha	375,1 b	323,9 b	230,7 c
Solo + Composto + Palha	411,1 a	415,8 a	336,8 a
Solo + Lodo + Palha	290,2 c	275,3 c	202,0 cd

Médias seguidas pelas mesmas letras, na coluna, não diferem entre si a 5 % de probabilidade pelo teste de Duncan.

As quantidades aplicadas foram: lodo ( $6,9 \text{ t ha}^{-1}$ ), composto ( $19 \text{ t ha}^{-1}$ ) e palha ( $12 \text{ t ha}^{-1}$ ).

Tabela 3.4 Quociente respiratório  $q\text{CO}_2$  ( $\mu\text{g C-CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ ) nas amostras de solo após aplicação de lodo e composto têxtil

Tratamento	$q\text{CO}_2$		
	15 dias	30 dias	60 dias
Solo	0,057 c	0,021 b	0,012 d
Solo + Composto	0,053 c	0,021 b	0,026 bc
Solo + Lodo	0,069 c	0,022 b	0,018 cd
Solo + Palha	0,28 b	0,13 a	0,11 a
Solo + Composto + Palha	0,27 b	0,12 a	0,09 a
Solo + Lodo + Palha	0,37 a	0,15 a	0,12 a

Médias seguidas pelas mesmas letras, na coluna, não diferem entre si a 5 % de probabilidade pelo teste de Duncan.

As quantidades aplicadas foram: lodo ( $6,9 \text{ t ha}^{-1}$ ), composto ( $19 \text{ t ha}^{-1}$ ) e palha ( $12 \text{ t ha}^{-1}$ ).

Tabela 3.5 Número de bactérias ( $10^6$ ) e fungos ( $10^4$ ) nas amostras de solo após aplicação de lodo e composto têxtil

Tratamento	U.F.C. g <sup>-1</sup> solo		
	15 dias	30 dias	60 dias
<i>Bactérias (10<sup>6</sup>)</i>			
Solo	2,3 d	2,0 c	3,0 b
Solo + Composto	8,1 c	5,5 b	9,0 a
Solo + Lodo	2,0 d	1,7 c	3,2 b
Solo + Palha	33 b	15 a	4,0 ab
Solo + Composto + Palha	52 a	17 a	7,0 ab
Solo + Lodo + Palha	31 b	12 a	4,0 ab
<i>Fungos (10<sup>4</sup>)</i>			
Solo	1,7 b	1,2 b	8,8 ab
Solo + Composto	2,1 b	3,2 b	3,6 bc
Solo + Lodo	1,1 b	1,2 b	1,6 c
Solo + Palha	33 a	17 a	17 a
Solo + Composto + Palha	39 a	27 a	16 a
Solo + Lodo + Palha	29 a	23 a	14 a

<sup>1</sup>: Valor transformado para  $\sqrt{x + 0,5}$

Médias seguidas pelas mesmas letras, na coluna, não diferem entre si a 5 % de probabilidade pelo teste de Duncan.

As quantidades aplicadas foram: lodo (6,9 t ha<sup>-1</sup>), composto (19 t ha<sup>-1</sup>) e palha (12 t ha<sup>-1</sup>).

#### 4 EFEITO DO COMPOSTO DE LODO TÊXTIL NO CRESCIMENTO E FIXAÇÃO BIOLÓGICA DO NITROGÊNIO EM SOJA E FEIJÃO-CAUPI

##### RESUMO

O efeito da aplicação de compostos, proveniente de lodo residual têxtil, no crescimento e fixação biológica do nitrogênio em soja e feijão-caupi foi avaliado em experimento conduzido em casa de vegetação. Os tratamentos consistiram de: (1) sem fertilização, (2) fertilização com nitrogênio, fósforo e potássio mineral, (3) 19 t ha<sup>-1</sup> composto + fósforo e potássio mineral, (4) inoculação com *Rhizobium*, (5) inoculação + 9,5 t ha<sup>-1</sup> do composto, (6) inoculação + 19 t ha<sup>-1</sup> do composto e (7) inoculação + 38 t ha<sup>-1</sup> do composto. Os resultados foram avaliados aos 36 e 63 dias após a emergência (DAE). A aplicação do composto não afetou o número e a massa dos nódulos da soja e do feijão-caupi. A atividade da glutamina sintetase (GS) e a concentração de leghemoglobina nos nódulos não foram prejudicadas com a aplicação do composto ao solo. O conteúdo de nitrogênio na parte aérea da soja foi maior para o tratamento com aplicação de 19 t ha<sup>-1</sup> composto + fósforo e potássio mineral, enquanto o caupi acumulou mais nitrogênio nos tratamentos inoculados com aplicação de 19 e 38 t ha<sup>-1</sup> do composto. Este estudo demonstrou que o composto de lodo têxtil, utilizado na dose de 19 t ha<sup>-1</sup> (equivalente a 100 kg de N ha<sup>-1</sup>), não prejudica o crescimento e a fixação de nitrogênio da soja e do feijão-caupi.

## TEXTILE SLUDGE COMPOST IN GROWTH AND BIOLOGICAL NITROGEN FIXATION IN SOYBEAN AND COWPEA

### SUMMARY

The effect of textile sludge compost in growth and biological nitrogen fixation in soybean and cowpea was evaluated under a greenhouse conditions. The treatments consisted of: (1) no fertilization, (2) fertilization with nitrogen, phosphorus and potassium, (3) 19 t ha<sup>-1</sup> of textile sludge compost plus phosphorus and potassium fertilization, (4) inoculation with *Rhizobium* , (5) inoculation plus 9.5 t ha<sup>-1</sup> of compost, (6) inoculation plus 19 t ha<sup>-1</sup> of compost, and (7) inoculation plus 38 t ha<sup>-1</sup> of compost. Results were evaluated after 36 and 63 days of plant emergency. The application of compost did not affected nodule number and weight of soybean and cowpea. Nodule glutamine synthetase (GS) activity and leg hemoglobin concentration was not prejudiced with the application of compost to the soil. Total nitrogen content in shoot of soybean was higher in treatment with application of 19 t ha<sup>-1</sup> of textile sludge compost plus phosphorus and potassium fertilization, while cowpea accumulated more nitrogen in treatments inoculated plus 19 and 38 t ha<sup>-1</sup> of compost. This study demonstrated that the textile sludge compost, used in rate of 19 t ha<sup>-1</sup> (equivalent to 100 kg N ha<sup>-1</sup>), not prejudiced the growth and nitrogen fixation of soybean and cowpea.

## 4.1 INTRODUÇÃO

Durante o processo industrial têxtil, grandes volumes de resíduos orgânicos são gerados e liberados no ambiente. Em virtude da quantidade cada vez maior destes resíduos, o uso agronômico deles como fonte de nutrientes às plantas e como condicionadores dos solos vem se constituindo uma alternativa viável na preservação da qualidade ambiental. Segundo Canellas et al. (2001), a utilização da matéria orgânica de origem industrial em terras agrícolas pode ser justificada pela necessidade de encontrar um destino apropriado para sua reciclagem.

Entretanto, alguns resíduos industriais, tais como lodos têxteis, podem conter em sua composição corantes com metais pesados que apresentam toxidez para vários organismos (Balan & Monteiro, 2001a; Kamida, 2004). Uma das alternativas para diminuir ou eliminar possíveis efeitos tóxicos advindos da aplicação destes lodos é o uso da compostagem (Araújo et al., 2001). A compostagem é um processo de redução biológica de resíduos orgânicos, formando húmus ou substâncias húmicas. De acordo com Stratton et al. (1995), a compostagem é usada também como um meio de converter resíduos indesejáveis, tais como lodos, em um material adequado para aplicação no solo. Kaushik & Garg (2003) avaliaram a compostagem de lodo têxtil, utilizando minhocas, e observaram que o resíduo poderia ser convertido em um produto estabilizado para uso agrícola.

Por outro lado, existem poucas informações sobre os possíveis efeitos tóxicos destes compostos sobre a microbiota do solo e seus processos bioquímicos. Dentre estes processos, a fixação biológica do nitrogênio (FBN) tem sido proposta como um importante parâmetro para avaliação de distúrbios que ocorrem no solo (Viser & Parkinson, 1992). Brookes (1995) recomenda a avaliação da FBN como um indicador de estresse no solo resultante da aplicação de compostos poluentes e, de acordo com Wetzel & Werner (1995), as reações apresentadas pelas leguminosas e o *Rhizobium*, bem como o

processo de nodulação, são os principais parâmetros relacionados com efeitos tóxicos da aplicação destes compostos.

Além disso, as atividades enzimáticas responsáveis pela redução e assimilação do nitrogênio atmosférico podem ser afetadas pela aplicação de poluentes ao solo. Segundo Gonnet & Diaz (2000), dentre as enzimas que estão envolvidas na FBN, a glutamina sintetase (E.C.6.3.1.2) é importante no processo assimilatório e catalisa o primeiro passo na conversão do nitrogênio inorgânico (amônia) para a forma orgânica (glutamina). Portanto, a redução da atividade da glutamina sintetase (GS) ocasiona uma diminuição da FBN para as leguminosas, uma vez que já foi demonstrada em vários trabalhos uma correlação entre a GS e a FBN em soja (Rodrigues et al., 1998), feijão-caupi (Silveira et al., 1998) e feijão comum (Silveira et al., 1999). Semelhantemente, a diminuição do conteúdo de leg-hemoglobina (LHb) nos nódulos influencia nas taxas de FBN. A principal função da leghemoglobina é regular a concentração de oxigênio nos nódulos, impedindo, assim, a inativação da nitrogenase e, conseqüentemente, a fixação de nitrogênio pelas bactérias (Appleby, 1984).

O objetivo deste trabalho é avaliar o efeito da aplicação de composto orgânico, proveniente de lodo têxtil, sobre o crescimento vegetal e a fixação biológica do nitrogênio em soja e feijão-caupi.

## **4.2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.2.1 Composto de lodo têxtil**

O composto utilizado foi obtido a partir da mistura do lodo, coletado de uma indústria têxtil localizada em Americana/SP, com um material estruturante (cavaco de madeira) necessário para composição da pilha de compostagem. O processo foi conduzido durante 90 dias. As características químicas do composto, amostrado em dez pontos na pilha, estão apresentadas na Tabela 4.1.

#### 4.2.2 Condições do experimento

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, no Departamento de Fitotecnia, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí. Foram utilizados sacos plásticos contendo 5 kg de um solo podzólico amarelo coletado na profundidade de 0–20 cm. As características químicas do solo utilizado estão apresentadas na Tabela 4.2.

Os tratamentos consistiram de: (1) sem fertilização, (2) fertilização com nitrogênio, fósforo e potássio mineral, (3) 19 t ha<sup>-1</sup> do composto + fósforo e potássio mineral, (4) inoculação com *Rhizobium*, (5) inoculação + 9,5 t ha<sup>-1</sup> do composto, (6) inoculação + 19 t ha<sup>-1</sup> do composto e (7) inoculação + 38 t ha<sup>-1</sup> do composto.

As doses utilizadas no experimento a 1/2x, 1x e 2x a quantidade de N do composto em relação à fertilização com 100 kg N ha<sup>-1</sup> (CETESB, 1999). As fontes de nitrogênio, fósforo e potássio foram a uréia, o superfosfato simples e o cloreto de potássio, respectivamente.

As sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill), linhagem MABR98-20142, e feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp), linhagem TE97-309624, foram procedentes da Embrapa Meio-Norte. Os inoculantes contendo as estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* (BR-96 para soja e BR-2001 para caupi) foram fornecidos pelo Laboratório de Biologia do Solo, da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA/PE). As sementes foram inoculadas na taxa de 1 kg de inoculante por 50 kg de sementes.

O plantio foi realizado utilizando-se seis sementes por saco. Aos dez dias após a emergência (DAE) foi realizado o desbaste, deixando-se 2 plantas por saco.

As coletas foram realizadas aos 36 e 63 DAE. A parte aérea foi separada das raízes em corte próximo a base do caule. Os comprimentos da parte aérea e das raízes foram medidos com auxílio de fita métrica. Em seguida todas as folhas foram retiradas para determinação da área foliar, utilizando

equipamento LI-COR, modelo 3100. Os nódulos foram destacados das raízes, contados, secos em papel absorvente e pesados, sendo, em seguida, congelados imediatamente em N<sub>2</sub> líquido e armazenados em freezer à temperatura de -20°C para uso posterior no Laboratório de Fixação de Nitrogênio da Universidade Federal do Ceará.

A parte aérea e as raízes foram colocadas em sacos de papel para secagem em estufa por 72 horas à 70°C, até atingir peso constante.

Os parâmetros avaliados em cada coleta foram: massa seca da parte aérea (MSPA) e das raízes (MSR), área foliar (AF), nitrogênio total da parte aérea (NTOTAL), massa fresca (MFNOD) e número (NNOD) de nódulos. A atividade da glutamina sintetase (GS), o conteúdo de proteínas totais (PROT) e de leghemoglobina (LHb) nos nódulos foram avaliados aos 63 DAE.

#### **4.2.3 Preparação dos extratos dos nódulos**

Os extratos foram preparados tomando-se 0,3 g dos nódulos (peso fresco) em almofariz previamente resfriado com nitrogênio líquido e em banho de gelo. Os nódulos foram macerados com 2 mL de tampão TRIS-HCl 25 mM, pH 7,6, contendo EDTA 5 mM + 2-Mercaptoetanol 10 mM + Polivinilpirrolidona (PVP) 5% + MgCl<sub>2</sub>. 6H<sub>2</sub>O, por 5 minutos.

O macerado foi centrifugado, em centrifuga refrigerada, modelo Centrifuge 5415R, a 15000g por 15 minutos à temperatura de 4°C. O sobrenadante foi armazenado em freezer à temperatura de -20°C.

#### **4.2.4 Determinação da atividade da glutamina sintetase (GS)**

O procedimento utilizado foi o da atividade biossintética do hidroxamato descrito por Farden & Robertson (1980).

A reação foi preparada com adição de 0,6 mL de tampão TRIS-HCl 0,25 M; + 0,2 mL de Glutamato 30 mM; + 0,2 mL de ATP 30 mM; + 0,2 mL

MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 0,5 M; + 0,5 mL do extrato enzimático + 0,2 mL de hidroxilamina, composta de NH<sub>2</sub>OH 1M e NaOH 1M (1:1). O branco foi feito sem adição de extrato enzimático e hidroxilamina no meio de reação.

Os tubos foram levados ao banho-maria à 30°C por 30 minutos. Em seguida, adicionou-se 0,5 mL de solução férrica obtida a partir de FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O + HCl 0,2M 10% (p/v); ácido tricloroacético (TCA) 24% (p/v) e HCl 50% (v/v), na proporção 1:1:1. Centrifugou-se a 10000g por 10 minutos.

A leitura foi realizada em espectrofotômetro, modelo Espectronic 20 Genesys, a 540 nm. Os resultados foram expressos em μMoles de γ-glutamil-hidroxamato h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> nódulos.

#### **4.2.5 Determinação do conteúdo de proteínas totais**

O conteúdo de proteínas totais foi determinado utilizando o procedimento descrito por Bradford (1976).

#### **4.2.6 Determinação do teor de Leghemoglobina**

A determinação foi realizada tomando-se 0,3 g de nódulos e macerando-se com 2,0 mL da solução de Drabkin composta de KCN 0,8 mM; K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> 0,6 mM e NaHCO<sub>3</sub> 12 mM (Wilson & Reisenauer, 1963). Em seguida foi feita centrifugação a 500g por 15 min a temperatura ambiente.

O sobrenadante foi transferido para outro tubo, sendo completado o volume até 2 mL com a solução de Drabkin, com posterior centrifugação a 30000g por 30 minutos. O sobrenadante foi coletado, sendo realizada a leitura em espectrofotômetro à 540 nm. Os resultados foram expressos em mg de leghemoglobina por grama de nódulos.

#### 4.2.7 Delineamento experimental

O delineamento experimental foi blocos casualizados com seis repetições. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) utilizando o aplicativo estatístico “SAS System Software” (SAS Institute, 1997), sendo as médias comparadas pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

#### 4.3 RESULTADO E DISCUSSÃO

A aplicação do composto de lodo têxtil na taxa de 38 t ha<sup>-1</sup> provocou um decréscimo significativo nas massas secas da parte aérea e das raízes da soja aos 36 DAE (Tabela 4.3). No caso do feijão-caupi, os tratamentos com fertilização completa e com aplicação do composto na taxa de 19 t ha<sup>-1</sup> suplementado de fósforo e potássio mineral promoveram aumentos significativos nas massas secas da parte aérea em relação aos outros tratamentos (Tabela 4.4).

Na segunda avaliação, aos 63 DAE, a soja apresentou maiores massas secas da parte aérea e das raízes com a fertilização completa, em relação aos outros tratamentos (Tabela 4.3). Entretanto, a aplicação do composto proporcionou resultados superiores, para estes parâmetros, em relação ao tratamento sem fertilização. O feijão-caupi apresentou respostas diferenciadas, em relação à soja, para as massas secas da parte aérea e das raízes (Tabela 4.4). Neste caso, com a aplicação do composto, observa-se uma tendência de aumento nas massas secas, apesar de não haver diferenças significativas em relação aos demais tratamentos. A aplicação de 19 t ha<sup>-1</sup> com suplementação de fósforo e potássio mineral proporcionou melhor resultado, com diferenças significativas em relação aos tratamentos sem fertilização e inoculado + 38 t ha<sup>-1</sup> do composto.

A diminuição na massa seca das raízes da soja e do feijão-caupi com a aplicação de 38 t ha<sup>-1</sup> do composto, em relação ao tratamento sem

fertilização, indica que pode ter havido efeitos tóxicos do composto aplicado em altas dosagens no solo.

De uma maneira geral, as áreas foliares da soja e do feijão-caupi, aos 36 DAE, não apresentaram diferenças entre os tratamentos avaliados. Apenas para a soja, a aplicação de 19 t ha<sup>-1</sup> do composto com suplementação de fósforo e potássio mineral proporcionou uma área foliar maior, em relação ao tratamento inoculado + 38 t ha<sup>-1</sup>. (Figura 4.1 e 4.2).

Já aos 63 DAE, a soja apresentou maiores áreas foliares para o tratamento com fertilização completa e o inoculado + 9,5 t ha<sup>-1</sup> do composto. As menores áreas foliares, na soja, foram encontradas para os outros tratamentos com a aplicação do composto e sem fertilização (Figura 4.1). Neste caso, a aplicação do composto em baixa dosagem proporcionou uma maior área foliar para a soja. O feijão-caupi, entretanto, apresentou maior área foliar com a aplicação de 19 t ha<sup>-1</sup> do composto suplementado com fósforo e potássio mineral (Figura 4.2).

A área foliar é um parâmetro importante para o crescimento vegetal, uma vez que a função das folhas é, através da fotossíntese, produzir compostos orgânicos para a planta (Ramana et al., 2002), sendo um fator determinante para o aumento da matéria seca (Bellore & Mall, 1975).

O número e massa dos nódulos das raízes da soja e do feijão-caupi, nas duas avaliações, foram semelhantes estatisticamente em todos os tratamentos. Apenas as raízes da soja, aos 36 DAE, apresentaram uma menor massa de nódulos com a aplicação de 38 t ha<sup>-1</sup> do composto, em relação ao tratamento inoculado (Tabela 4.5).

A aplicação do composto em baixa dosagem não provocou efeitos negativos sobre a formação dos nódulos. Além disso, aos 63 DAE, houve incrementos na massa de nódulos das raízes da soja e do feijão-caupi para os tratamentos com a aplicação do composto nas taxas de 9,5 e 19 t ha<sup>-1</sup>, indicando que a presença de alguns metais, principalmente cobre, cobalto e molibdênio, proporcionou efeitos positivos sobre a nodulação. Resultados

semelhantes foram encontrados por Vieira (2001), que observou um aumento do número e da massa de nódulos das raízes da soja com a aplicação de lodo de esgoto contendo metais pesados.

A atividade da glutamina sintetase (GS) nos nódulos das raízes da soja e do feijão-caupi não foi afetada pela aplicação do composto. Os resultados mostram, ainda, um incremento na atividade da enzima nos nódulos da raiz da soja com a aplicação do composto nas taxas de 9,5 e 19 t ha<sup>-1</sup>, em relação ao tratamento inoculado, mas sem apresentar diferenças significativas (Figura 4.3). Já os nódulos da raiz do feijão-caupi apresentaram a atividade da GS incrementada com inoculação e a aplicação do composto na taxa de 38 t ha<sup>-1</sup> (Figura 4.4).

Desta forma, não houve efeitos tóxicos do composto para o processo de fixação de nitrogênio na soja e no feijão-caupi, uma vez que a glutamina sintetase, detectada já na fase inicial de estabelecimento dos nódulos (Hungria et al., 1991), é responsável pela assimilação de amônia (Rodrigues et al., 1998), e baixos níveis de atividade da GS podem ser um dos fatores limitantes à fixação do nitrogênio (Gonnet & Diaz, 2000).

Resultados semelhantes à atividade da GS foram encontrados para os teores de proteínas totais nos nódulos das raízes da soja, onde não houve efeitos positivos ou negativos da aplicação do composto (Figura 4.5). Por outro lado, os nódulos das raízes do feijão-caupi apresentaram maiores teores de proteínas nos tratamentos com aplicação do composto nas taxas de 19 e 38 t ha<sup>-1</sup>, em relação ao tratamento inoculado (Figura 4.6).

A aplicação do composto nas taxas de 9,5 t ha<sup>-1</sup>, para a soja, e 38 t ha<sup>-1</sup>, para o feijão-caupi, proporcionaram conteúdos de leghemoglobina (LHb) nos nódulos superiores aos tratamentos com inoculação (Figura 4.7 e 4.8).

Estes resultados indicam que o estabelecimento da simbiose *Rhizobium*-leguminosas não foi afetado pela aplicação do composto ao solo. A leghemoglobina é um produto simbiótico resultante da resposta da planta à

infecção bacteriana (Verma & Long, 1983), e a sua formação ocorre antes do início do processo de fixação de nitrogênio (Freire, 1992). Por outro lado, houve um aumento da concentração da leghemoglobina nos nódulos com a aplicação do composto ao solo, provavelmente devido a presença de ferro e cobalto na composição química do resíduo. A leghemoglobina é uma proteína que contém  $\text{Fe}^{+3}$  (Appleby, 1984), e depende da presença do cobalto para a síntese da cobamida que participa dos passos metabólicos para a sua formação (Kliwer & Evans, 1963).

O acúmulo de nitrogênio na parte aérea da soja, aos 36 DAE, foi superior com a aplicação de  $19 \text{ t ha}^{-1}$  do composto com suplementação de fósforo e potássio mineral (Figura 4.9). Já o feijão-caupi acumulou mais nitrogênio na parte aérea com a inoculação e aplicação de  $19 \text{ t ha}^{-1}$  do composto, sendo, inclusive, diferente do tratamento com fertilização completa (Figura 4.10).

Resultados semelhantes no acúmulo de nitrogênio foram encontrados, para a soja aos 63 DAE, e mostram que a inoculação com a aplicação de  $9,5 \text{ t ha}^{-1}$  do composto apresentou um aumento significativo em relação a primeira avaliação. A exceção deveu-se aos tratamentos inoculado com aplicação de  $38 \text{ t ha}^{-1}$  do composto e sem fertilização, que apresentaram menores quantidades de nitrogênio acumulado (Figura 4.9). Para o feijão-caupi, o acúmulo de nitrogênio foi maior nos tratamentos com aplicação de  $19 \text{ t ha}^{-1}$  do composto.

Este maior acúmulo de nitrogênio pela parte aérea da soja, aos 36 DAE, pode estar relacionado com absorção do nitrogênio derivado do composto, auxiliado pela disponibilidade de fósforo e potássio mineral. Já o feijão-caupi absorveu o nitrogênio derivado do composto em associação com o *Rhizobium*, mostrando que, para a cultura, a aplicação do resíduo não ocasionou prejuízo para a fixação biológica do nitrogênio.

Na segunda avaliação, o aumento do conteúdo de nitrogênio na parte aérea da soja, principalmente com a inoculação e aplicação de  $9,5 \text{ t ha}^{-1}$  do composto, indica que houve uma contribuição significativa da fixação biológica

do nitrogênio, uma vez que houve uma maior atividade da GS e concentração de leghemoglobina nos nódulos. De acordo com Dakora (1995), existe uma correlação entre o conteúdo de leghemoglobina e a quantidade de nitrogênio fixado na simbiose *Rhizobium*-leguminosas. Por outro lado, o baixo conteúdo de nitrogênio para o tratamento inoculado e com aplicação de 38 t ha<sup>-1</sup> do composto, mostra que houve um efeito adverso do composto para a absorção de nitrogênio pela soja.

O feijão-caupi mostrou um comportamento diferente da soja, em relação ao acúmulo de nitrogênio aos 63 DAE, onde houve um aumento deste nutriente nos tratamentos inoculados e com aplicação de 19 e 38 t ha<sup>-1</sup> do composto. Desta forma, houve efeitos positivos do composto na fixação biológica do nitrogênio, já que, no caso do feijão-caupi, a atividade da GS e o conteúdo de leghemoglobina nos nódulos foram incrementados nestes tratamentos.

Os resultados demonstraram que as respostas das culturas às taxas de aplicação do composto de lodo têxtil são diferenciadas. A soja e o feijão-caupi apresentaram melhores rendimentos às taxas de aplicação de 9,5 e 19 t ha<sup>-1</sup> do composto, respectivamente. A aplicação do composto em dosagem adequada não apresenta prejuízo para a nodulação, indicando que não há toxicidade do resíduo para a simbiose *Rhizobium*-leguminosas.

Tabela 4.1 Características químicas do composto de lodo têxtil utilizado no experimento

Parâmetro	Composto	Limites de metais pesados permitidos <sup>(1)</sup>
pH (CaCl <sub>2</sub> 0,01M)	6,8	
Matéria orgânica (%)	29,27	
N <sub>-total</sub> (%)	0,95	
P <sub>-total</sub> (%)	0,87	
K <sub>-total</sub> (%)	0,34	
Ca <sub>-total</sub> (%)	1,39	
Mg <sub>-total</sub> (%)	0,43	
Na (mg.kg <sup>-1</sup> )	0,29	
Ferro (%)	5,61	
Cu (mg.kg <sup>-1</sup> )	110,8	4300
Zn (mg.kg <sup>-1</sup> )	397,0	7500
Cd (mg.kg <sup>-1</sup> )	< 0,3	85
Cr (mg.kg <sup>-1</sup> )	73,9	3000
Ni (mg.kg <sup>-1</sup> )	30,1	420
Co (mg.kg <sup>-1</sup> )	14,6	840
Pb (mg.kg <sup>-1</sup> )	33,4	75
Mo (mg.kg <sup>-1</sup> )	< 4,0	

<sup>1</sup> (CETESB, 1999)

Tabela 4.2. Características químicas do solo Podzólico Amarelo

Determinação	
pH (H <sub>2</sub> O)	5,7
pH (CaCl <sub>2</sub> )	4,6
Fósforo (mg.kg <sup>-1</sup> )	12
Potássio (cmol <sub>c</sub> .kg <sup>-1</sup> )	0,09
Cálcio (cmol <sub>c</sub> .kg <sup>-1</sup> )	0,7
Magnésio (cmol <sub>c</sub> .kg <sup>-1</sup> )	0,5
Sódio (cmol <sub>c</sub> .kg <sup>-1</sup> )	0,29
CTC (cmol <sub>c</sub> .kg <sup>-1</sup> )	4,7

Tabela 4.3 Massa seca da parte aérea (MSPA) e raiz (MSR) de soja aos 36 e 63 dias após a emergência (DAE)

Tratamentos	MSPA		MSR	
	(g planta <sup>-1</sup> )		(g planta <sup>-1</sup> )	
	36 DAE	63 DAE	36 DAE	63 DAE
Sem fertilização	3,41 ab	8,28 d	1,82 ab	3,31 d
Fertilização completa	3,33 ab	13,90 a	1,60 ab	5,48 a
19 t ha <sup>-1</sup> + fósforo e potássio	4,12 a	10,20 c	2,13 a	4,08 c
Inoculação com <i>Rhizobium</i>	3,10 ab	9,61 c	1,93 ab	3,98 c
Inoculação + 9,5 t ha <sup>-1</sup>	2,50 bc	11,81 b	0,66 c	4,72 b
Inoculação + 19 t ha <sup>-1</sup>	3,22 ab	10,78 bc	1,21 bc	4,31 bc
Inoculação + 38 t ha <sup>-1</sup>	2,05 c	10,03 c	0,47 c	4,01 c

Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si significativamente pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 4.4 Massa seca da parte aérea (MSPA) e raiz (MSR) do feijão-caupi aos 36 e 63 dias após a emergência (DAE)

Tratamentos	MSPA		MSR	
	(g planta <sup>-1</sup> )		(g planta <sup>-1</sup> )	
	36 DAE	63 DAE	36 DAE	63 DAE
Sem fertilização	3,28 c	7,60 c	0,69 abc	3,25 bc
Fertilização completa	4,98 a	12,96 ab	0,91 ab	5,13 ab
19 t ha <sup>-1</sup> + fósforo e potássio	4,63 ab	15,06 a	1,04 a	6,15 a
Inoculação com <i>Rhizobium</i>	2,86 c	11,75 abc	0,57 bc	3,75 abc
Inoculação + 9,5 t ha <sup>-1</sup>	2,78 c	12,55 abc	0,43 c	5,13 ab
Inoculação + 19 t ha <sup>-1</sup>	2,98 c	10,38 abc	0,64 bc	4,70 ab
Inoculação + 38 t ha <sup>-1</sup>	3,76 bc	9,33 bc	0,53 c	2,06 c

Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si significativamente pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 4.5 Número (NNOD) e massa (MFNOD) de nódulos da raiz da soja aos 36 e 63 dias após a emergência (DAE)

Tratamentos	NNOD		MFNOD	
	(nº planta <sup>-1</sup> )		(mg planta <sup>-1</sup> )	
	36 DAE	63 DAE	36 DAE	63 DAE
Inoculação com <i>Rhizobium</i>	23,33 a	92,33 a	210 a	1355 a
Inoculação + 9,5 t ha <sup>-1</sup>	21,50 a	91,16 a	120 abc	1690 a
Inoculação + 19 t ha <sup>-1</sup>	25,66 a	87,50 a	200 ab	1440 a
Inoculação + 38 t ha <sup>-1</sup>	15,16 a	71,83 a	70 bc	1425 a

Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si significativamente pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 4.6 Número (NNOD) e massa (MFNOD) de nódulos da raiz do feijão-caupi aos 36 e 63 dias após a emergência (DAE)

Tratamentos	NNOD		MFNOD	
	(nº planta <sup>-1</sup> )		(mg planta <sup>-1</sup> )	
	36 DAE	63 DAE	36 DAE	63 DAE
Inoculação com <i>Rhizobium</i>	35,33 a	21,16 a	330 a	715 a
Inoculação + 9,5 t ha <sup>-1</sup>	17,66 a	34,66 a	410 a	1215 a
Inoculação + 19 t ha <sup>-1</sup>	24,33 a	30,16 a	560 a	800 a
Inoculação + 38 t ha <sup>-1</sup>	10,66 a	22,50 a	365 a	715 a

Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si significativamente pelo teste de Duncan ao nível de 5%.

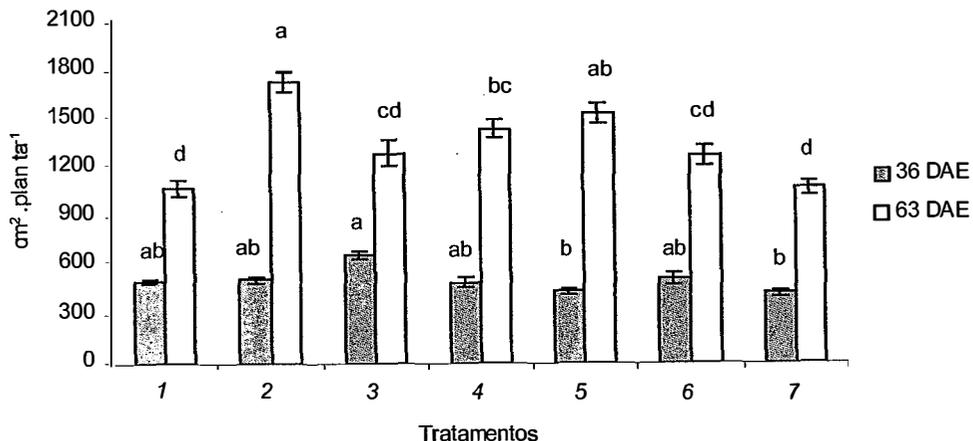


Figura 4.1 Área foliar da soja nos tratamentos: 1- sem fertilização, 2- fertilização completa, 3- 19 t ha<sup>-1</sup> do composto + fósforo e potássio, 4- inoculação com *Rhizobium*, 5- inoculação + 9,5 t ha<sup>-1</sup> do composto, 6- inoculação + 19 t ha<sup>-1</sup> do composto e 7- inoculação + 38 t ha<sup>-1</sup> do composto

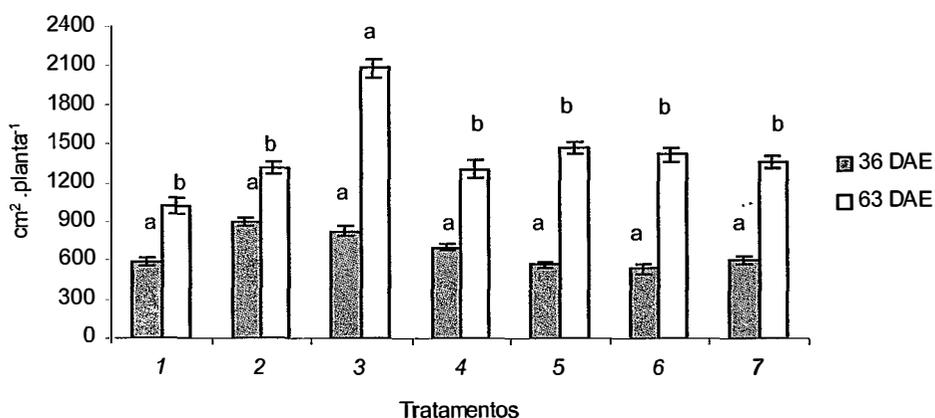


Figura 4.2 Área foliar do feijão-caupi nos tratamentos: 1- sem fertilização, 2- fertilização completa, 3- 19 t ha<sup>-1</sup> do composto + fósforo e potássio, 4- inoculação com *Rhizobium*, 5- inoculação + 9,5 t ha<sup>-1</sup> do composto, 6- inoculação + 19 t ha<sup>-1</sup> do composto e 7- inoculação + 38 t ha<sup>-1</sup> do composto

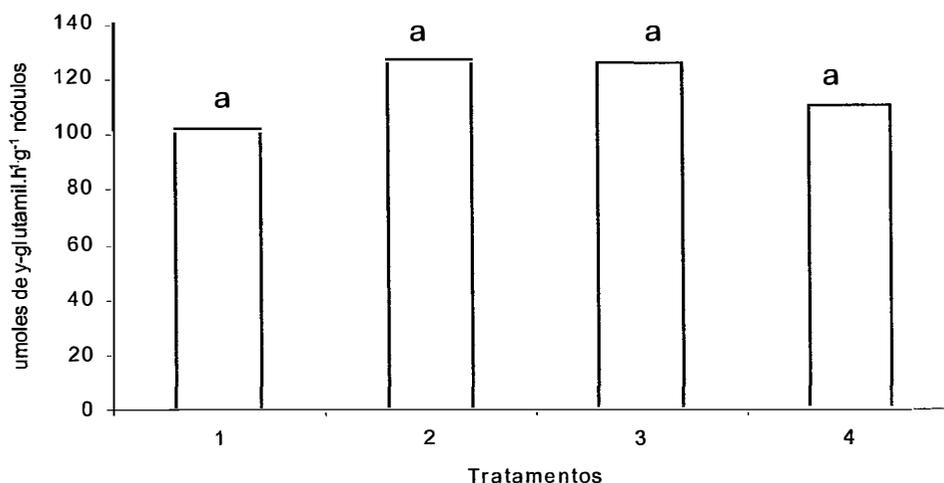


Figura 4.3 Atividade da glutamina sintetase nos nódulos das raízes da soja, aos 63 DAE, nos tratamentos: 1- inoculação com *Rhizobium*, 2- inoculação + 9,5 t ha<sup>-1</sup> do composto, 3- inoculação + 19 t ha<sup>-1</sup> do composto e 4- inoculação + 38 t ha<sup>-1</sup> do composto

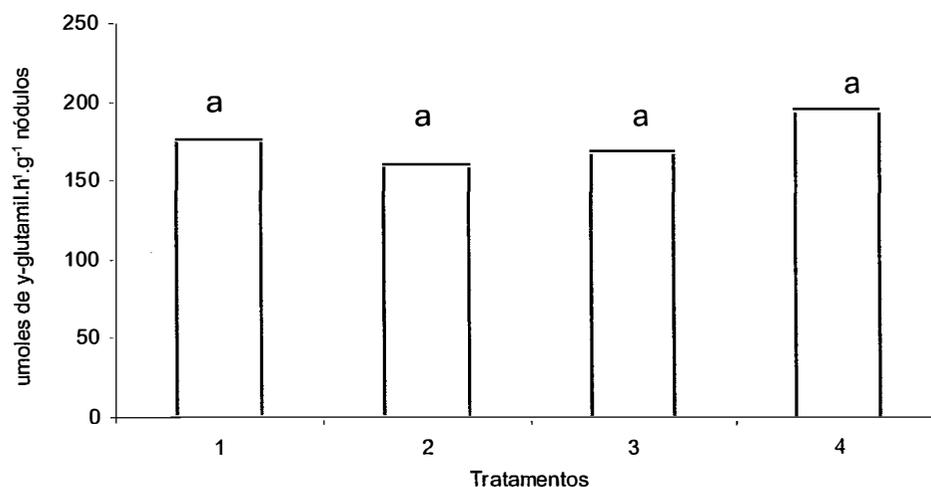


Figura 4.4 Atividade da glutamina sintetase nos nódulos das raízes do feijão-caupi, aos 63 DAE, nos tratamentos: 1- inoculação com *Rhizobium*, 2- inoculação + 9,5 t ha<sup>-1</sup> do composto, 3- inoculação + 19 t ha<sup>-1</sup> do composto e 4- inoculação + 38 t ha<sup>-1</sup> do composto

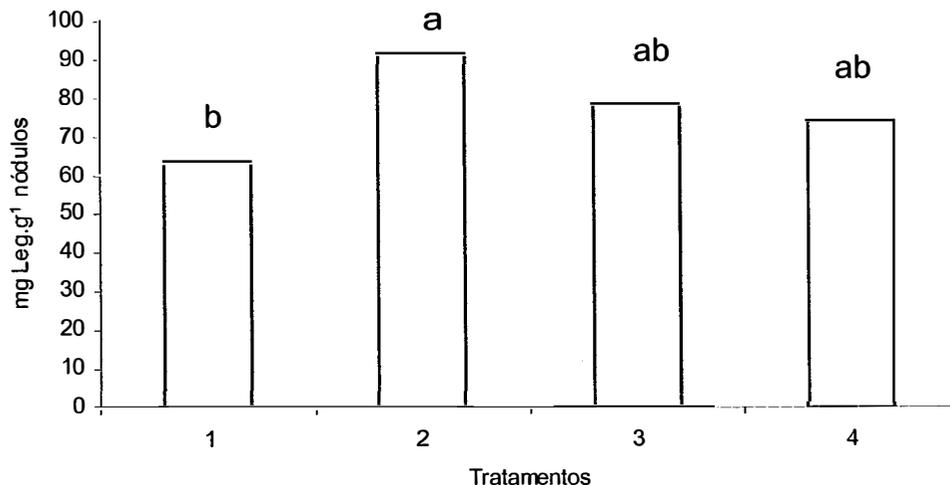


Figura 4.5 Concentração de leghemoglobina nos nódulos das raízes da soja, aos 63 DAE, dos tratamentos: 1- inoculação com *Rhizobium*, 2- inoculação + 9,5 t ha<sup>-1</sup> do composto, 3- inoculação + 19 t ha<sup>-1</sup> do composto e 4- inoculação + 38 t ha<sup>-1</sup> do composto

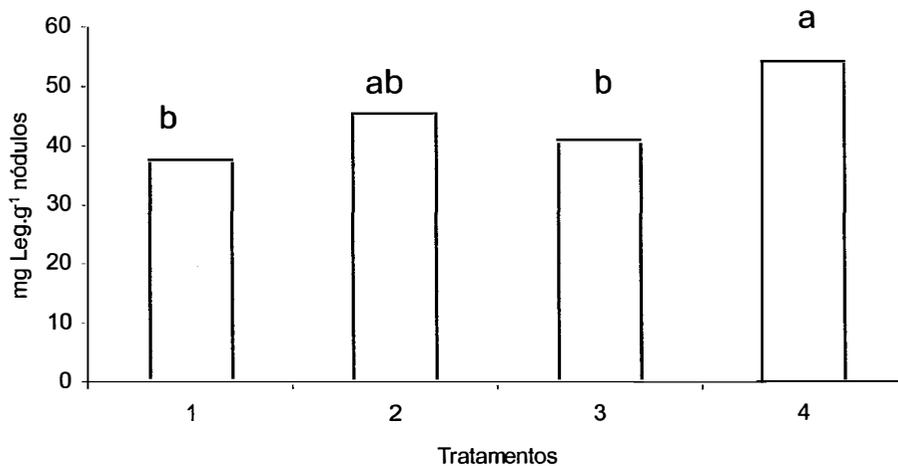


Figura 4.6 Concentração de leghemoglobina nos nódulos das raízes do feijão-caupi, aos 63 DAE, dos tratamentos: 1- inoculação com *Rhizobium*, 2- inoculação + 9,5 t ha<sup>-1</sup> do composto, 3- inoculação + 19 t ha<sup>-1</sup> do composto e 4- inoculação + 38 t ha<sup>-1</sup> do composto

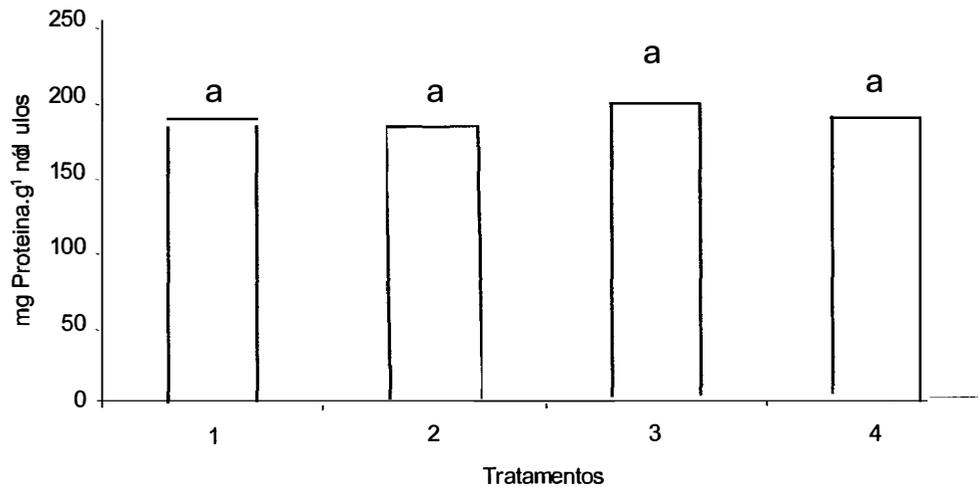


Figura 4.7 Concentração de proteínas nos nódulos das raízes da soja, aos 63 DAE, dos tratamentos: 1- inoculação com *Rhizobium*, 2- inoculação + 9,5 t ha<sup>-1</sup> do composto, 3- inoculação + 19 t ha<sup>-1</sup> do composto e 4- inoculação + 38 t ha<sup>-1</sup> do composto

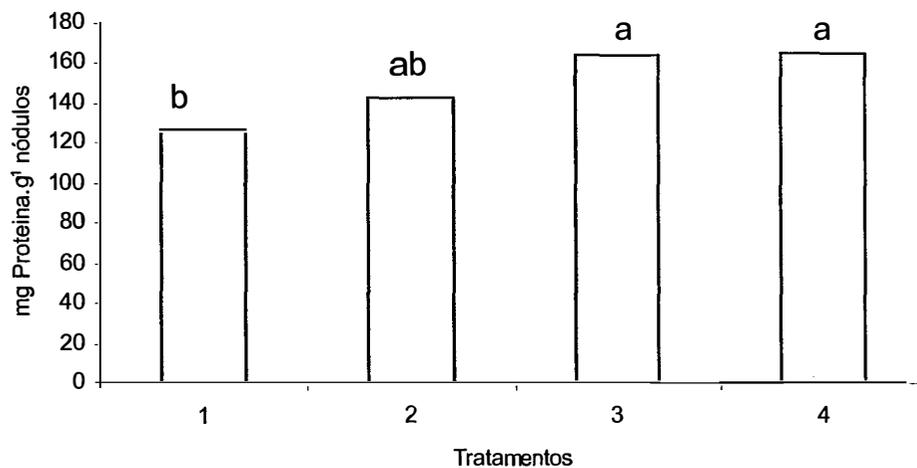


Figura 4.8 Concentração de proteínas nos nódulos das raízes do feijão-caupi, aos 63 DAE, dos tratamentos: 1- inoculação com *Rhizobium*, 2- inoculação + 9,5 t ha<sup>-1</sup> do composto, 3- inoculação + 19 t ha<sup>-1</sup> do composto e 4- inoculação + 38 t ha<sup>-1</sup> do composto

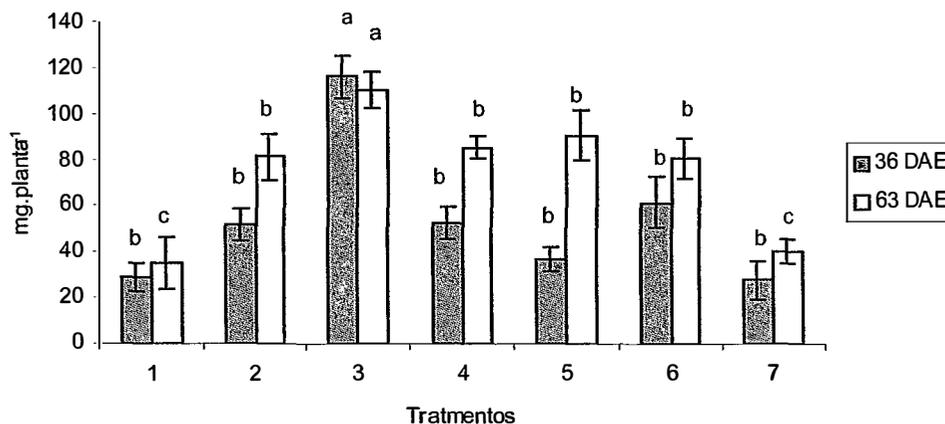


Figura 4.9 Nitrogênio da parte aérea da soja nos tratamentos: 1- sem fertilização, 2- fertilização completa, 3- 19 t ha<sup>-1</sup> do composto + fósforo e potássio, 4- inoculação com *Rhizobium*, 5- inoculação + 9,5 t ha<sup>-1</sup> do composto, 6- inoculação + 19 t ha<sup>-1</sup> do composto e 7- inoculação + 38 t ha<sup>-1</sup> do composto

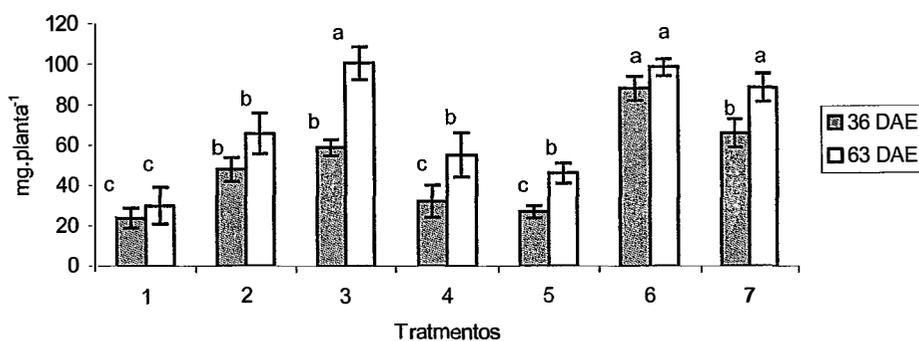


Figura 4.10 Nitrogênio da parte aérea do feijão-caupi nos tratamentos: 1- sem fertilização, 2- fertilização completa, 3- 19 t ha<sup>-1</sup> do composto + fósforo e potássio, 4- inoculação com *Rhizobium*, 5- inoculação + 9,5 t ha<sup>-1</sup> do composto, 6- inoculação + 19 t ha<sup>-1</sup> do composto e 7- inoculação + 38 t ha<sup>-1</sup> do composto

## **5 EFEITO DO COMPOSTO DE LODO TÊXTIL NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES E CRESCIMENTO DE PLÂNTULAS DE SOJA E TRIGO**

### **RESUMO**

O efeito de concentrações do composto de lodo têxtil foi avaliado na germinação de sementes e crescimento de plântulas de soja e trigo. O bioensaios de germinação de sementes e crescimento de plântulas foram realizados em laboratório e casa de vegetação, respectivamente, utilizando cultivares de soja (IAC – Foscarin) e trigo (IAC 305). As concentrações do composto de lodo têxtil avaliadas foram: 0, 19, 38, 76 e 152 g l<sup>-1</sup>. No bioensaio de germinação de sementes, o composto foi misturado com água destilada. Enquanto que no bioensaio de crescimento de plântulas, a mistura foi com água e solução nutritiva. Os resultados mostraram que o composto não apresentou toxicidade sobre a germinação de sementes e a alongação radicular da soja e do trigo. Já em relação ao crescimento vegetal, aos quinze dias, houve uma diminuição da massa seca total, altura da parte aérea comprimento radicular da soja e do trigo em concentrações do composto a partir de 38 g l<sup>-1</sup>. A atividade da peroxidase, tanto em raízes como em folhas, cresceu com o aumento da concentração do composto a partir de 38 g l<sup>-1</sup>. Estes resultados demonstram a necessidade de estudos complementares para uma melhor avaliação do impacto destes compostos no ambiente.

## **EFFECT OF TEXTILE SLUDGE COMPOST IN SEED GERMINATION AND GROWTH OF SOYBEAN AND WHEAT SEEDLINGS**

### **SUMMARY**

The effect of concentrations of textile sludge compost was evaluated in seed germination and growth of soybean and wheat seedlings. The bioassays of seed germination and seedlings growth were conducted in laboratory and greenhouse, respectively, using soybean (IAC - Foscarin) and wheat (IAC 305) cultivars. The concentrations of textile sludge compost were: 0, 19, 38, 76 and 152 g l<sup>-1</sup>. In the seed germination bioassay, the compost was mixed with distilled water. While, in the seedlings growth bioassay, the mixture was with water and nutritive solution. The results showed no toxicity of compost on seed germination and root elongation of soybean and wheat. The seedlings showed a decrease in the total mass, height of aerial part and root length with application of compost in concentrations equal or above 38 g l<sup>-1</sup>. The peroxidase activity in roots and leaves increased with the concentration of compost equal or above 38 g l<sup>-1</sup>. These results demonstrate the need of complementary studies aiming a best evaluation of the environmental impact these compost.

## 5.1 INTRODUÇÃO

O interesse pela produção de compostos orgânicos oriundos de resíduos industriais tem aumentado recentemente como uma forma alternativa de redução do volume deste passivo ambiental e a obtenção de um produto a ser utilizado em solos agrícolas. O lodo biológico, resultante do processamento têxtil, é de composição variável (Balan & Monteiro, 2001a). Normalmente estão presentes altos conteúdos de matéria orgânica, nitrogênio, fósforo e micronutrientes (Martinelli et al., 2002). Além disso, existe relativa quantidade de corantes com metais pesados e agentes patogênicos. Devido a essa composição e ao risco associado do uso agrícola direto deste lodo, a compostagem vem sendo proposta como uma forma alternativa de tratamento. A compostagem é um processo biológico, onde vários grupos de microrganismos decompõem o substrato orgânico produzindo água, dióxido de carbono e matéria orgânica maturada (Carvalho, 2002). Este processo pode ser realizado em condições aeróbias e/ou anaeróbias, e segundo Frassinetti et al. (1990), em condições aeróbias, os microrganismos se desenvolvem e transformam a matéria orgânica presente eliminando a toxicidade biológica dos resíduos. Além disso, em aerobiose não ocorre a geração de aminas aromáticas, que só ocorre em condições anaeróbias (Banat et al., 1996).

Atualmente, a avaliação de compostos orgânicos industriais para uso agrícola tem levado em consideração os teores das diversas substâncias químicas presentes, principalmente metais pesados, que podem estar presentes em concentrações elevadas (Kapanen & Itavaara, 2001). Estes mesmos autores reportam que são necessários trabalhos para testar a toxicidade do composto antes de determinar valores limites de aplicação ao solo. De acordo com Tiquia et al. (1996) a avaliação da toxicidade do composto é um dos mais importantes critérios usados pelas agências ambientais no mundo inteiro. A OECD (1984) recomenda testes de germinação e crescimento vegetal como técnicas mais comuns para determinar a fitotoxicidade de

compostos, e dentre as espécies de plantas utilizadas, incluem-se as mono e as dicotiledôneas. O termo fitotoxicidade está normalmente associado com o fenômeno pelo qual substâncias potencialmente tóxicas, tais como metais pesados, se acumulam nos tecidos vegetais afetando o crescimento e o desenvolvimento da planta (Chang et al., 1992).

Os testes de germinação de semente e de alongação radicular são técnicas simples e seguras para avaliar danos causados por substâncias tóxicas presentes em vários resíduos (Wang & Keturi, 1990) e compostos orgânicos (Wong, 1985). Segundo Vermeulen et al. (1993) e Keeling et al. (1996) a inibição da germinação de semente e os efeitos sobre a alongação radicular são as principais áreas de interesse em estudos de fitotoxicidade. As plantas são organismos adequados para uso como bioindicadores, pois revelam as características do ambiente em que vivem e são sensíveis às presenças de substâncias tóxicas (Pandolfini et al., 1997). Mudanças nas condições ambientais, por causa da poluição química, podem ser detectadas nas plantas, através da produção, acumulação e ativação de compostos na forma de enzimas ou metabólitos em resposta ao estresse ocasionado (Marques et al., 2002). Além disso, as plantas podem apresentar redução na produção, crescimento radicular, matéria seca e conteúdo de nitrogênio. Fletcher (1990) relata que mudanças fisiológicas e bioquímicas como atividade da peroxidase, respiração, teor de clorofila nas folhas pode ocorrer em plantas expostas a substâncias tóxicas.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de concentrações do composto de lodo têxtil sobre a germinação de sementes e crescimento vegetal de plântulas de soja e trigo.

## **5.2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **5.2.1 Composto de lodo têxtil**

O composto utilizado foi obtido a partir da mistura do lodo, coletado de uma indústria têxtil localizada em Americana/SP, com um material estruturante (cavaco de madeira) necessário para composição da pilha de compostagem. O processo foi conduzido durante 90 dias. As características químicas do composto, amostrado em dez pontos na pilha, estão apresentadas na Tabela 5.1.

### **5.2.2 Bioensaio de germinação de sementes**

O bioensaio foi conduzido no Laboratório de Ecotoxicologia do Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo.

O composto de lodo têxtil foi misturado com água nas seguintes concentrações: 19 g l<sup>-1</sup> (0,57 g de composto em 30 mL de água); 38 g l<sup>-1</sup> (1,14 g de composto em 30 mL de água); 76 g l<sup>-1</sup> (2,28 g de composto em 30 mL de água); 152 g l<sup>-1</sup> (4,56 g de composto em 30 mL de água). Um controle (concentração de 0 g l<sup>-1</sup>), constituído de água, foi incluído no bioensaio.

A fitotoxicidade das concentrações do composto foi avaliada através da germinação de semente e alongamento radicular de acordo com as condições descritas na Tabela 5.2. Sementes de soja (IAC-Foscarin) e trigo (IAC 305) foram utilizadas no teste. Após cinco dias de incubação no escuro, a germinação das sementes, a alongação radicular e o índice de germinação (IG, um fator relativo a germinação de sementes e alongamento radicular) foram determinados. As porcentagens relativas de germinação de semente, alongação radicular e IG foram calculados de acordo com Tam & Tiquia (1994).

Germinação de semente (%)

$$= \frac{\text{Número de sementes germinadas no extrato} \times 100}{\text{Número de sementes germinadas no controle}}$$

Elongação radicular (%)

$$= \frac{\text{Média do comprimento radicular no extrato} \times 100}{\text{Média do comprimento radicular no controle}}$$

$$\text{IG} = \frac{(\% \text{ germinação de Semente}) \times (\% \text{ crescimento radicular})}{100\%}$$

### 5.2.3 Bioensaio de crescimento vegetal

O bioensaio foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Genética, da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - ESALQ/USP, Piracicaba, SP.

O composto de lodo têxtil foi misturado com água e solução nutritiva de Hoagland (Hoagland & Arnon, 1950) nas seguintes concentrações: 19 g l<sup>-1</sup> (19 g de composto em 1000 mL de água e solução nutritiva); 38 g l<sup>-1</sup> (38 g de composto em 1000 mL de água e solução nutritiva); 76 g l<sup>-1</sup> (76 g de composto em 1000 mL de água e solução nutritiva); 152 g l<sup>-1</sup> (152 g de composto em 1000 mL de água e solução nutritiva). Um controle (concentração de 0 g l<sup>-1</sup>), constituído de água e solução nutritiva, foi incluído no bioensaio.

As concentrações utilizadas nos dois bioensaios equivalem a aplicação de 19, 38, 76 e 152 t ha<sup>-1</sup>, sendo 1x, 2x, 4x e 8x a quantidade de N do composto, respectivamente, em relação à fertilização com 100 kg N ha<sup>-1</sup> (CETESB, 1999).

Sementes de soja (IAC Foscarin) e trigo (IAC 305) foram pré-germinadas em papel de germinação umedecido em água destilada durante um período de cinco dias em uma sala de germinação sob condições

controladas (temperatura de 25° C e fotoperíodo de 14/10 h). Foram utilizados vasos plásticos com capacidade para 2 litros. Cada vaso recebeu em torno de 10 plântulas distribuídas em uma placa de isopor (1,5 cm de espessura) com diâmetro compatível à parte superior do vaso. As plântulas cresceram nestes vasos, em sistema de hidroponia em casa de vegetação (temperatura de 20°C a 28°C e fotoperíodo ambiente), acrescidas das concentrações do composto e com as raízes mantidas sempre aeradas através de um compressor de ar. As plântulas foram mantidas nesta condição por quinze dias. Ao término deste período foi realizada a coleta do material para avaliação. Os parâmetros avaliados foram: sintomas de toxidez nas folhas, massa seca total, altura da parte aérea, comprimento radicular, conteúdo de clorofila e atividade da peroxidase das folhas e raiz.

Os sintomas de toxidez foram avaliados através de uma escala de notas, variando de 0 a 4, sendo: 0- nenhum sintoma; 1- pequenos pontos cloróticos nas bordas das folhas; 2- clorose nas bordas das folhas; 3- pequenos pontos necróticos nas bordas das folhas, e 4-necrose nas bordas das folhas. As plântulas foram secadas em estufa a 65°C, até atingir massa constante. A altura da parte aérea e o comprimento radicular foram determinados com régua milimetrada. O conteúdo de clorofila foi determinado com clorofilômetro portátil, modelo Minolta SPAD-502. As leituras foram feitas em pontos situados na metade a dois terços do comprimento da folha, a partir da base, e a 2 cm de uma das margens da folha.

#### **5.2.3.1 Atividade da peroxidase**

Amostras de 100 mg da parte aérea e raízes foram maceradas com nitrogênio líquido e homogeneizadas em 3 mL de tampão fosfato de sódio ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ) 0,01 mol L<sup>-1</sup>, pH 6,0 e centrifugadas a 20000g, por 25 min a 4°C. A atividade da peroxidase foi medida pela adição de 100 µL do sobrenadante em 2,9 mL de tampão fosfato contendo guaiacol e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. A leitura

de absorvância foi feita em espectrofotômetro a 470 nm e a atividade enzimática foi expressa em  $A_{470} \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  da amostra fresca.

#### **5.2.4 Delineamento experimental**

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com quatro repetições. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) utilizando o SAS System Software (SAS Institute, 1997), sendo as médias comparadas pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

### **5.3 RESULTADO E DISCUSSÃO**

A germinação das sementes da soja (Figura 5.1a) e do trigo (Figura 5.2a) foi superior a 90% em todas as concentrações do composto. Comportamento semelhante foi observado para a alongação radicular da soja (Figura 5.1b) e do trigo (Figura 5.2b). A exceção deveu-se a soja na concentração de 100% que mostrou uma alongação radicular de 161% em relação ao controle (Figura 5.1b).

A germinação de sementes e a alongação radicular são considerados métodos importantes na avaliação da fitotoxicidade de compostos orgânicos (Wong, 1985) e estes resultados indicam nenhum efeito inibitório do composto sobre as sementes da soja e do trigo avaliadas neste bioensaio.

Os índices de germinação (IG) das sementes de soja e trigo foram próximos de 100% com a aplicação do composto nas concentrações de 0, 19, 38 e 76  $\text{g l}^{-1}$  (Figura 5.1c e 5.2c). Na concentração de 152  $\text{g l}^{-1}$ , o IG das sementes de soja e trigo foram significativamente superiores a 100%. Estes valores de IG indicam que não houve efeito tóxico do composto para as sementes, mesmo em altas concentrações, pois segundo Tiquia et al. (1996), o IG é um parâmetro muito sensível e valores superiores a 80 % indicam a eliminação da fitotoxicidade do composto.

Por outro lado, os resultados do bioensaio de crescimento vegetal foram diferentes da germinação de sementes. A aplicação do composto de lodo têxtil em concentrações iguais ou superiores a  $38 \text{ g l}^{-1}$  provocou uma diminuição na massa seca total, altura da parte aérea e comprimento radicular das plântulas da soja e do trigo. Houve uma diminuição significativa, em relação a concentração de  $0 \text{ g l}^{-1}$ , de 76 a 68 % na massa seca total, de 81 a 64 % na altura da parte aérea e de 68 a 33 % no comprimento radicular das plântulas de soja com a aplicação de 38, 76 e  $152 \text{ g l}^{-1}$ , respectivamente (Tabela 5.4). Em relação às plântulas de trigo, houve uma diminuição significativa, em relação a concentração de  $0 \text{ g l}^{-1}$ , de 72 a 65 % na massa seca total, de 92 a 84 % na altura da parte aérea e de 50 a 46 % no comprimento radicular com a aplicação de 38, 76 e  $152 \text{ g l}^{-1}$ , respectivamente (Tabela 5.5). A aplicação de  $19 \text{ g l}^{-1}$  do composto não apresentou efeitos negativos sobre estes parâmetros avaliados, quando comparada à concentração de  $0 \text{ g l}^{-1}$ .

A diminuição na massa seca total é um indicativo do efeito adverso de substâncias potencialmente tóxicas sobre as plantas (Kapustka, 1997) e indica que, provavelmente, a aplicação do composto em concentrações iguais ou superiores a  $38 \text{ g l}^{-1}$  provocou toxidez por metais pesados, principalmente Cu e Zn que se encontram em concentrações mais elevadas. Apesar de que, de acordo com a Tabela 5.1, o composto de lodo têxtil apresentou níveis de metais pesados inferiores aos limites máximos permitidos no Brasil (CETESB, 1999). A redução no crescimento é o principal sintoma de toxidez apresentada pelas plantas (Marques et al., 2002). É possível observar, neste experimento, que os níveis tóxicos de Cu e Zn para as plântulas de soja e trigo, com a aplicação de  $38 \text{ g}$  do composto por litro de solução (taxa equivalente a  $38 \text{ t ha}^{-1}$ ), foram de 4,2 e  $15 \text{ mg l}^{-1}$ , respectivamente. Estes níveis estão muito abaixo dos descritos por Wallace & Wallace (1994), que observaram sintomas de toxidez por Cu e Zn nas plantas sempre que teores destes elementos no solo excederam os níveis de 20 e  $80 \text{ mg kg}^{-1}$ , respectivamente. Há que se considerar que, para as plantas, a biodisponibilidade de metais pesados é significativamente diminuída

no solo, por causa da interação desses elementos com os componentes edáficos (McBride et al., 1998). Neste experimento, houve uma biodisponibilidade máxima dos metais para as plantas, uma vez que estes elementos químicos estavam em solução e, desta forma, os níveis tóxicos são significativamente mais baixos. Ali et al. (2004), comparando um solo artificial e outro natural, observaram que os níveis de toxidez por metais, para as plantas, no solo artificial foram mais baixos e concluíram que nestas condições existe a máxima biodisponibilidade dos metais.

Os resultados indicam que o crescimento radicular foi o parâmetro mais sensível comparado à parte aérea à altas concentrações do composto. Houve um declínio significativo na relação raiz/parte aérea das plântulas de soja e trigo em concentrações iguais ou superiores a  $38 \text{ g l}^{-1}$ . Estes resultados concordam com os de Ali et al. (2004) que observaram que as raízes são mais sensíveis que a parte aérea a presença de metais pesados. Normalmente a toxicidade dos metais inicia-se na raiz, que é o principal órgão da planta tanto na absorção quanto no acúmulo desses elementos químicos (Marques et al., 2002). Desta forma, a toxicidade afeta mais o sistema radicular do que a parte aérea, e conseqüentemente a relação raiz/parte aérea é fortemente diminuída (Oncel et al., 2000). Campbell et al. (1995), reporta que a inibição do crescimento radicular é um dos principais bioindicadores para estudos de fitotoxicidade de compostos orgânicos.

As plântulas de soja e trigo mostraram uma significativa diminuição no conteúdo de clorofila em concentrações do composto a partir de  $76 \text{ g l}^{-1}$  (Tabela 5.6). Por outro lado, em concentrações do composto a partir de  $38 \text{ g l}^{-1}$  houve a observação de sintomas de toxidez nas folhas, iniciando com pequenos pontos cloróticos nas bordas até o início da necrose foliar em concentrações mais elevadas. Powell et al. (1996), observaram uma redução no conteúdo de clorofila em plantas onde as raízes foram expostas a substâncias potencialmente tóxicas e demonstraram uma relação direta com a dose aplicada. Além disso, Weinstein et al. (1990), reporta que as plantas expostas a

essas condições apresentam numerosos sintomas visuais como lesões e mudanças de pigmentação, sendo a deficiência de clorofila reconhecida pela coloração pálida da folha (clorose). A diminuição do conteúdo de clorofila ocasiona simultaneamente um decréscimo na fotossíntese líquida (Oncel et al., 2000) e desta forma contribui para um menor crescimento das plantas

A atividade da peroxidase, tanto nas raízes como nas folhas da soja e do trigo, apresentou um aumento significativo em concentrações do composto a partir de  $38 \text{ g l}^{-1}$ . (Figura 5.3). Este aumento da atividade da peroxidase em altas concentrações do composto é um indicativo de condições adversas para o crescimento das plantas, uma vez que a enzima está relacionada ao metabolismo do estresse (Marques et al., 2002) e funciona como uma barreira protetora contra o efeito prejudicial através da quebra de substâncias tóxicas presentes no meio (Dhindsa & Matawe, 1981).

A atividade da peroxidase nas raízes foi mais influenciada diretamente pelas concentrações do composto do que a parte aérea, como pode ser verificado pelo maior aumento da atividade enzimática nas doses mais elevadas do composto. Este aumento na atividade da peroxidase, correlacionado com a diminuição mais acentuada das raízes, sugerem a participação desta enzima na redução do crescimento radicular observado nas concentrações mais elevadas do composto. Uma correlação significativa entre a atividade da peroxidase e o crescimento radicular também foi encontrada por Pires et al. (2001). A peroxidase está envolvida no crescimento celular da planta e o aumento da sua atividade ocasiona uma redução no crescimento vegetativo (Byl et al., 1994).

Os resultados observados nos dois bioensaios foram diferenciados. As concentrações do composto não apresentaram efeitos negativos sobre a germinação de sementes e alongação radicular, sugerindo que estes parâmetros não foram sensíveis para avaliar a fitotoxicidade do composto com metais pesados. De acordo com Ali et al. (2004) e Fuentes et al. (2004) a germinação de sementes não é um método muito sensível para avaliar a toxicidade de metais pesados. Segundo Kapustka (1997) esta insensibilidade é

resultado de dois fatores: a) algumas substâncias químicas podem não penetrar na semente e b) o embrião utiliza os nutrientes da reserva da semente e fica isolado do ambiente externo.

Por outro lado, o bioensaio de crescimento de plântulas supera as deficiências da germinação de sementes, pois a duração do teste proporciona uma exposição maior das plântulas às substâncias químicas e fornece uma melhor aproximação às condições de campo (Kapustka, 1997).

A hidroponia é um sistema mais adequado para avaliar a toxicidade de compostos orgânicos, uma vez que os elementos químicos estão mais biodisponíveis que no solo, e permite a obtenção de resultados em espaço curto de tempo.

Tabela 5.1 Características químicas do composto de lodo têxtil utilizado

Parâmetro	Composto	Limites de metais pesados permitidos <sup>(1)</sup>
pH (CaCl <sub>2</sub> , 0,01 mol L <sup>-1</sup> )	6,8	-
N <sub>-total</sub> (%)	0,95	-
K <sub>-total</sub> (%)	0,34	-
P <sub>-total</sub> (%)	0,87	-
Ca <sub>-total</sub> (%)	1,39	-
Mg <sub>-total</sub> (%)	0,43	-
Cu (mg.kg <sup>-1</sup> )	110,8	4300
Zn (mg.kg <sup>-1</sup> )	397,0	7500
Cd (mg.kg <sup>-1</sup> )	< 0,3	85
Cr (mg.kg <sup>-1</sup> )	73,9	3000
Ni (mg.kg <sup>-1</sup> )	30,44	420
Pb (mg.kg <sup>-1</sup> )	33,4	840
Mo (mg.kg <sup>-1</sup> )	< 4,0	75

<sup>(1)</sup> (CETESB, 1999)

Tabela 5.2. Condições do bioensaio de germinação de sementes

Tipo de teste	Grupo de sementes
Pré-tratamento	Embebição em água destilada durante a noite
Temperatura	27 $\pm$ 3 °C
Luminosidade	nenhuma
Recipiente do teste	Placas de Petri (1 x 10 cm) + papel Whatman n. 1
Volume do teste	5 mL por placa
Numero de sementes	10 por placa
Repetições	quatro
Controle	Água destilada
Duração do teste	Cinco dias
Avaliação final	Germinação e raízes primárias $\geq$ 5 mm

Tabela 5.3 Composição da solução nutritiva utilizada para cultivo da soja e do trigo e das soluções estoques utilizadas no seu preparo

Reagentes	Solução Estoque (g/L)	(ml a pipetar por L)
<i>Macronutrientes</i>		
Nitrato de cálcio - $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	236,2	5
Nitrato de potássio - $\text{KNO}_3$	101,1	5
Dihidrogenofosfato de potássico - $\text{KH}_2\text{PO}_4$	136,1	1
Sulfato de magnésio – $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	246,5	2
<i>Micronutrientes</i>		
Ácido bórico - $\text{H}_3\text{BO}_3$	2,86	
Cloreto de manganês - $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1,81	
Sulfato de zinco - $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,22	
Sulfato de cobre - $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,08	1
Molibdato de amônio - $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{27} \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,02	

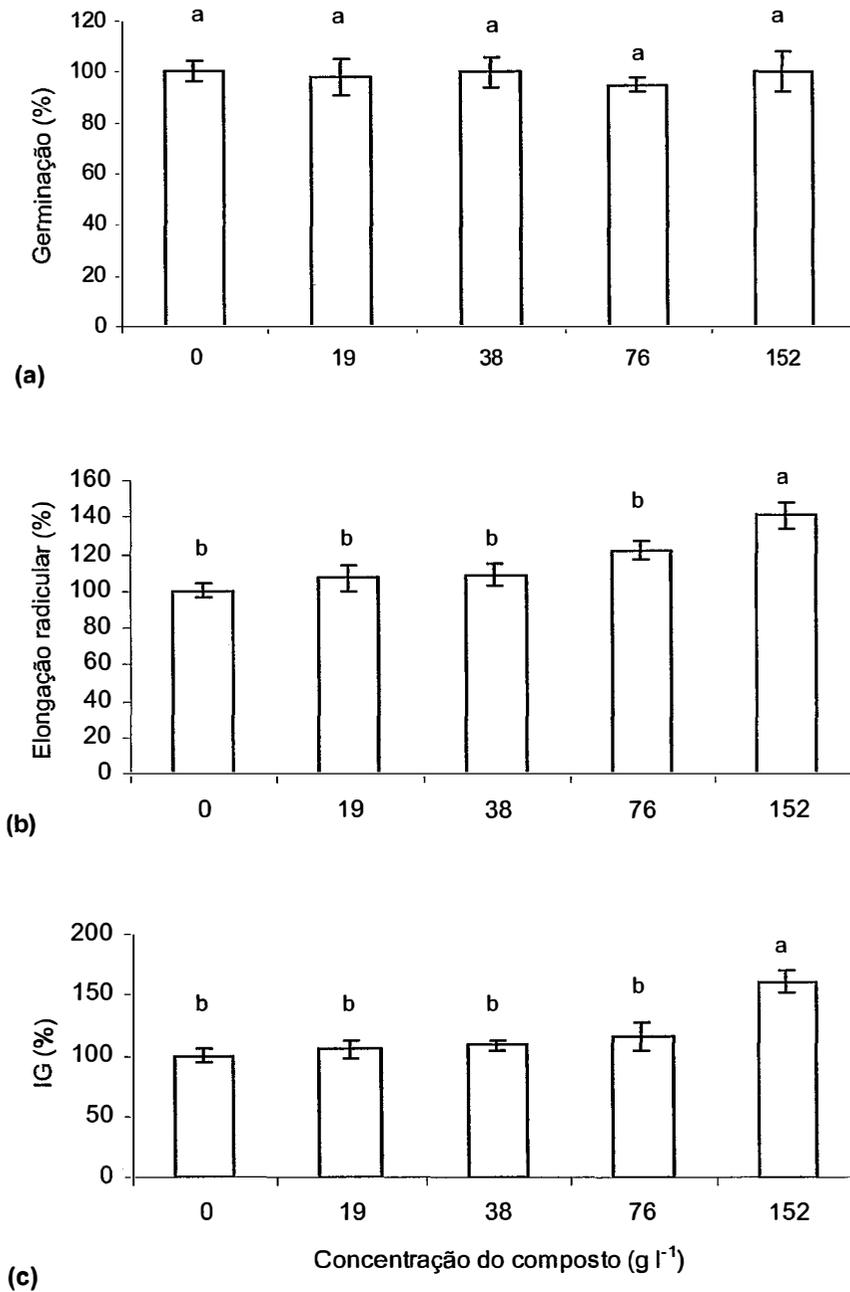


Figura 5.1 Germinação de sementes (a), alongação radicular (b) índice de germinação (IG) (c) de plântulas de soja submetidas à concentrações crescentes do composto de lodo têxtil

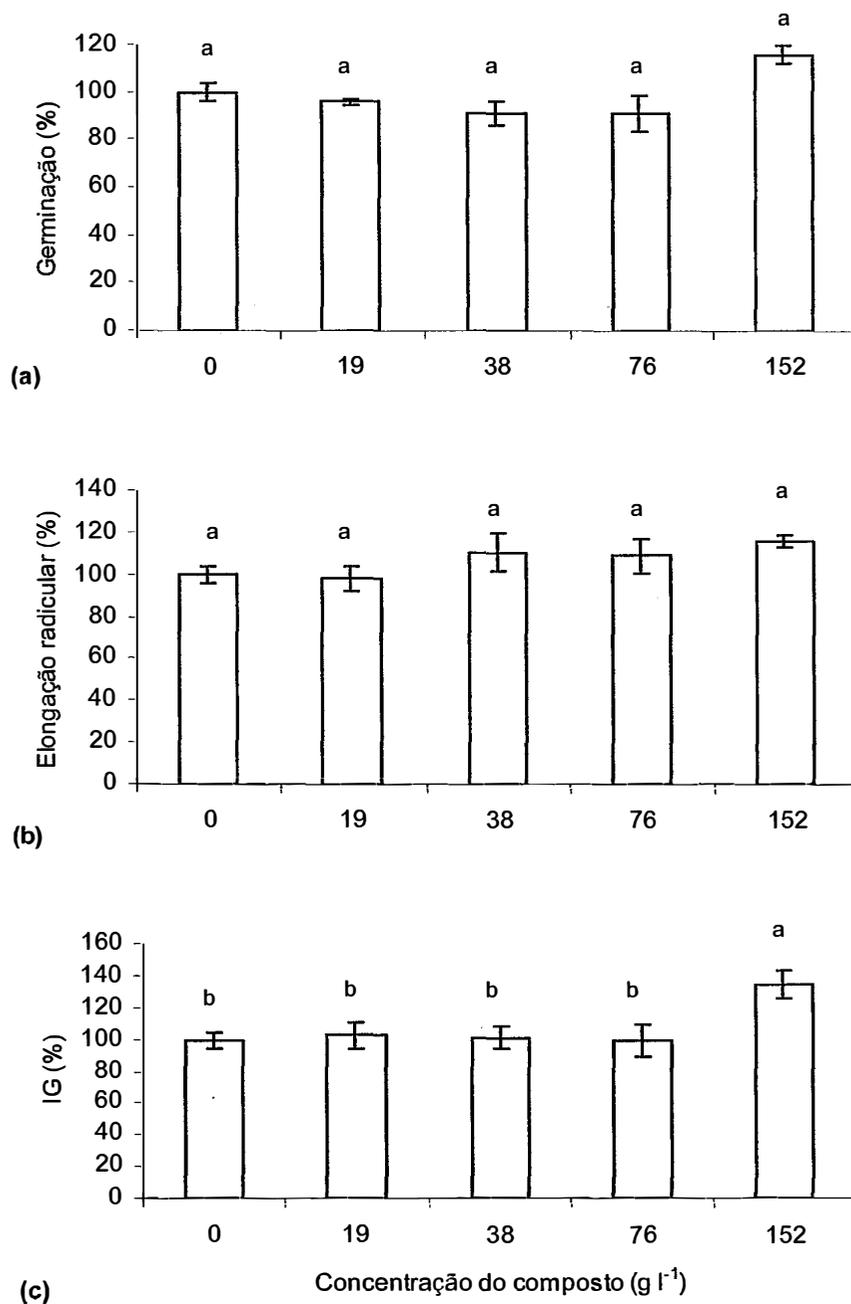


Figura 5.2 Germinação de sementes (a), elongação radicular (b) índice de germinação (IG) (c) de plântulas de trigo submetidas à concentrações crescentes do composto de lodo têxtil

Tabela 5.4 Massa seca total (MST), altura da parte aérea (APA), comprimento radicular (CR) e relação raiz/parte aérea (R/PA) de plântulas de soja submetidas à concentrações crescentes do composto de lodo têxtil<sup>(1)</sup>

Concentração do composto	MST (mg vaso <sup>-1</sup> )	APA (cm vaso <sup>-1</sup> )	CR (cm vaso <sup>-1</sup> )	R/PA
0 g l <sup>-1</sup>	450 a	27,0 a	27,7 a	1,02 a
19 g l <sup>-1</sup>	390 a	28,7 a	29,7 a	1,03 a
38 g l <sup>-1</sup>	320 bc	23,1 b	20,1 b	0,87 b
76 g l <sup>-1</sup>	320 bc	21,0 b	17,3 b	0,82 b
152 g l <sup>-1</sup>	300 c	17,3 c	9,3 c	0,53 c
CV (%)	12,0	8,7	8,3	9,1

<sup>(1)</sup> Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Duncan.

Tabela 5.5 Massa seca total (MST), altura da parte aérea (APA), comprimento radicular (CR) e relação raiz/parte aérea (R/PA) de plântulas de trigo submetidas à concentrações crescentes do composto de lodo têxtil<sup>(1)</sup>

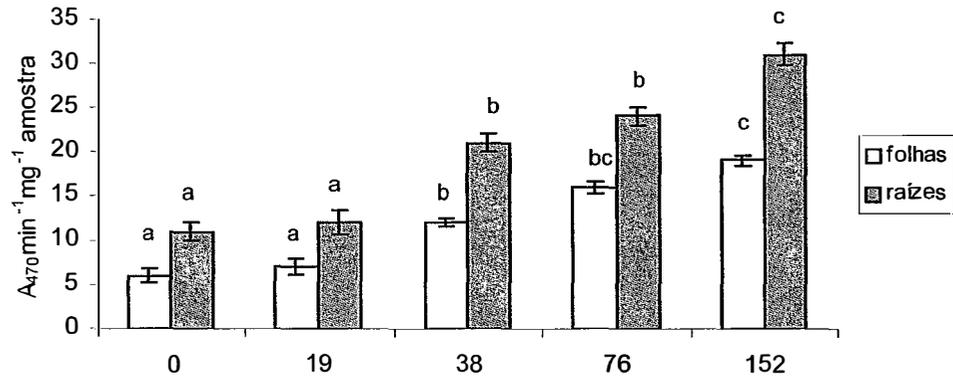
Concentração do composto	MST (mg vaso <sup>-1</sup> )	APA (cm vaso <sup>-1</sup> )	CR (cm vaso <sup>-1</sup> )	R/PA
0 g l <sup>-1</sup>	200 a	39,7 a	35,3 a	0,89 a
19 g l <sup>-1</sup>	210 a	39,3 a	30,3 a	0,77 a
38 g l <sup>-1</sup>	180 b	37,8 b	21,4 b	0,56 b
76 g l <sup>-1</sup>	130 c	36,0 bc	18,6 b	0,51 b
152 g l <sup>-1</sup>	120 c	33,3 c	16,3 c	0,48 b
CV (%)	21,1	4,4	11,9	5,8

<sup>(1)</sup> Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Duncan.

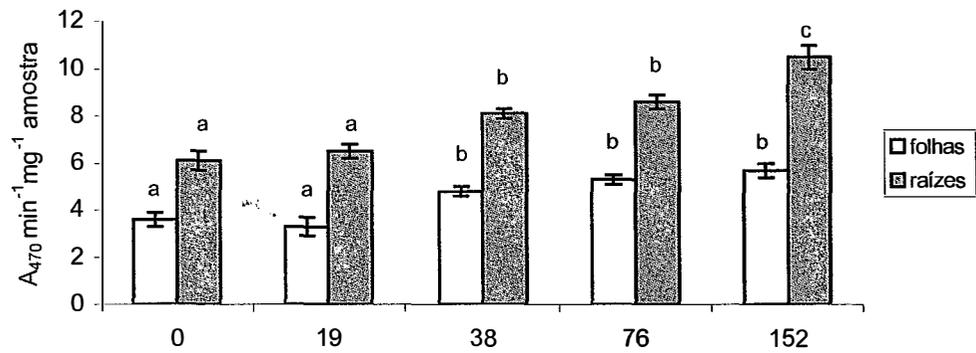
Tabela 5.6 Conteúdo de clorofila e surgimento de sintomas de toxidez em folhas de plântulas de soja e trigo submetidas à concentrações crescentes do composto de lodo têxtil

Concentração do composto	Leitura do clorofilômetro <sup>(1)</sup>		Sintomas de toxidez <sup>(2)</sup>	
	Soja	Trigo	Soja	Trigo
0 g l <sup>-1</sup>	36,7 a	32,7 a	0	0
19 g l <sup>-1</sup>	35,1 a	32,3 a	0	0
38 g l <sup>-1</sup>	32,1 ab	30,8 ab	1	1
76 g l <sup>-1</sup>	27,8 b	30,6 b	2	1
152 g l <sup>-1</sup>	25,2 c	27,1 c	3	3
CV (%)	2,09	4,07	-	-

<sup>(1)</sup> Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Duncan. <sup>(2)</sup> Escala de notas dos sintomas de toxidez: 0- nenhum sintoma de injúria; 1- pequenos pontos cloróticos nas bordas das folhas; 2- clorose nas bordas das folhas; 3- pequenos pontos necróticos nas bordas das folhas; 4- necrose nas bordas das folhas.



(a)



(b)

Concentração do composto ( $\text{g l}^{-1}$ )

Figura 5.3 Atividade da peroxidase de plântulas de soja (a) e trigo (b) submetidas à concentrações crescentes do composto de lodo têxtil

## 6 CONCLUSÕES

Considerando os resultados obtidos nos experimentos foi permitido concluir que:

- O composto de lodo têxtil pode ser aplicado no solo em dosagens iguais ou inferiores a  $19 \text{ t ha}^{-1}$  sem apresentar efeitos negativos sobre os indicadores biológicos avaliados.

- Os indicadores biológicos são ferramentas adequadas para a avaliação do efeito do composto de lodo têxtil sobre o solo e as plantas.

- Os bioindicadores vegetais permitem avaliar a toxicidade do composto de lodo têxtil e possibilitam a obtenção de respostas em curto período de tempo.

- O bioensaio de crescimento vegetal é mais adequado do que a germinação de sementes na avaliação da toxicidade do composto de lodo têxtil.

- O composto de lodo têxtil aplicado nas dosagens recomendadas acima apresenta efeitos positivos nas propriedades microbiológicas do solo.

- A compostagem é uma alternativa importante na reutilização e transformação do lodo têxtil.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALI, N.A.; ATER, M.; SUNAHARA, G.I.; ROBIDOUX, P.Y. Phytotoxicity and bioaccumulation of copper and chromium using barley (*Hordeum vulgare* L.) in spiked artificial and natural forest soils. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.57, p.363-374, 2004.
- ANDERSON, J.M.; DOMSCH, K.H. Application of eco-physiological quotients (qCO and qD) on microbial biomass from soils of different cropping histories. **Soil Biology & Biochemistry**, v.22, p.251-255, 1990.
- ANDERSON, J.P.E. Soil respiration. In: KLUTE, A. (Ed.) **Methods of soil analysis**. Part 2 - Chemical and microbiological properties. Madison: American Society of Agronomy, 1982. p.831-871.
- APPLEBY, C.A. Leghemoglobin and Rhizobium respiration. **Annual Review of Plant Physiology**, v.35, p.443-478, 1984.
- ARAÚJO, A.S.F.; SAHYOUN, F.K.; MONTEIRO, R.T.R. Evaluation of toxicity of textile sludge compost on seed germination and root elongation of soybean and wheat. **Ecosystema**, v.26, p.117-120, 2001.
- ATKINSON, C.F.; JONES, D.D.; GAUTHIER, J.J. Biodegradabilities and microbial activities during composting of oxidation ditch sludge. **Compost Science and Utilization**, v.14, p.84-96, 1996.
- BALAN, D.S.L. Biodegradação e toxicidade de efluentes têxteis. **Química Têxtil**, v.54, p.26-31, 1999.

- BALAN, D.S.L.; MONTEIRO, R.T.R. Biodegradabilidade do corante têxtil indigo por fungos ligninolíticos. **Revista Latinoamericana de Tecnologia Têxtil**, v.13, p.47-54, 2001a.
- BALAN, D.S.L.; MONTEIRO, R.T.R. Decolorization of textile indigo dye by lignolytic fungi. **Journal of Biotechnology**, v.89, p.141-145, 2001b.
- BANAT, I.M.; NIGAM, P.; SINGH, D.; MARCHANT, R. Microbial decolorization of textile-dye-containing effluents: a review. **Bioresource Technology**, v.58, p.27-227, 1996.
- BARDGETT, R.D.; JAMES, L.; LEEMANS, D.K. Microbial biomass and activity in a grassland soil amended with different application rates of silage effluent – a laboratory study. **Bioresource Technology**, v.52, p.175-180, 1995.
- BARTHA, R.; PRAMER, D. Features of a flask and method for measuring the persistence and biological effects of pesticides in soil. **Soil Science**, v.100, p.68-70, 1965.
- BELLORE, S.K.; MALL, L.R. Chlorophyll content as an ecological index of dry matter production. **Indian Journal of Botanic Society**, v.54, p.73-77, 1975.
- BOTHA, G.R. Research related to water pollution control in South Africa. **Water Pollution Control**, v.83, p.184-190, 1984.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive methods for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248-254, 1976.
- BROOKES, P.C. The use of microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy metals. **Biology and Fertility of Soils**, v.19, p.261-279, 1995.
- BUMPUS, J.A. Microbial degradation of azo dyes. In: SINGH, V.P. (Ed.) **Biotransformation and microbial degradation of health risk compounds**. Amsterdam: Elsevier Science, 1995. p.157-175.

- BYL, T.D.; SUTTON, H.D.; KLAINE, S.J. Evaluation of peroxidase as a biochemical indicator of toxic chemical exposure in the aquatic plant *Hydrilla verticillata*, Royle. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.13, p.509-515, 1994.
- CAMPBELL, A.G.; ZHANG, X.; TRIPEPI, R.R. Composting and evaluating a pulp and paper sludge for use as a soil amendment/mulch. **Compost Science and Utilization**, v.84, p.84-95, 1995.
- CANELLAS, L.P.; SANTOS, G.A.; RUMJANEK, V.M.; MORAES, A.A.; GURIDI, F. Distribuição da matéria orgânica e características de ácidos húmicos em solos com a adição de resíduos de origem urbana. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.36, n.12, p.1529-1538, 2001.
- CARDOSO, E.J.B.N.; FORTES NETO, P. Aplicabilidade do biossólido em plantações florestais: alterações microbianas no solo. In: BETTIOL, W.; CAMARGO, O.A. (Ed.) **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. p.197-202.
- CARVALHO, P.C.T. Compostagem. In: TSUTIYA, M.T. (Ed.) **Biossólidos na agricultura**. São Paulo: SABESP, 2002. p.181-208.
- CASTILHO, F.J. Extracellular peroxidases as markers of stress? In: GREPPIN, H.; PENEL, C.; GASPAR, T. (Ed.) **Molecular and physiological aspects of Peroxidases**. Geneva: University of Geneva, 1986. p.419-426.
- CEBULA, J. Composting of sewage sludge and solid waste matter. In: SYMPOSIUM ON WASTE TREATMENT AND SLUDGE DISPOSAL, Cincinnati, 1976. **Proceedings**. Ohio: EPA, 1976. v.2, p.18-32.
- COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. **Aplicação de biossólidos em áreas agrícolas: critérios para projeto e operação**. Norma P4230. São Paulo: CETESB, 1999.

- CHANDER, K.; BROOKES, P.C. Effects of Zn, Cu and Ni in sewage sludge on microbial biomass in a sandy loam soil. **Soil Biology & Biochemistry**, v.25, p.1231-1239, 1993.
- CHANG, A.C.; GRANTO, T.C.; PAGE, A.L. A methodology for establishing phytotoxicity criteria for chromium, copper, nickel and zinc in agricultural land application of municipal sewage sludge. **Environmental Quality**, v.21, p.521-536, 1992.
- CONCHOM, J.A.; MATUSAKI, L.F.; CONCHOM, E.A.; CONCHOM, E. Lodo biológico têxtil: um método de disposição econômico e racional. **Química Têxtil**, v.48, p.74-77, 1997.
- COSTA, M.P. Efeito da matéria orgânica em alguns atributos do solo. Piracicaba, 1983. 137p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- CUSHMAN, R.; MEYER, R.D. Improving the utilization of non-traditional agricultural products through coordination during the registration process. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.21, p.1531-1540, 1990.
- DAKORA, F. A functional relationship between leghaemoglobin and nitrogenase based on novel measurements of the two proteins in legume root nodules. **Annals of Botany**, v.75, p.49-54, 1995.
- DHINDSA, R.S.; MATAWE, W. Drought tolerance in two mosses correlated with defense against lipid peroxidation. **Journal of Experimental Botany**, v.32, p.79-91, 1981.
- DORAN, J.W.; Soil health and global sustainability: translating science into practice. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.88, n.2, p.119-127, 2002

- DORAN, J.W.; ZEISS, M.R. Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality. **Applied Soil Ecology**, v.15, n.1, p.3-11, 2000.
- DUENSER, H. Textile wastewater treatment. **India Textile Journal**, v.102, p.80-96, 1992.
- ELVIRA, C.; SAMPEDRO, L.; BENITEZ, E.; NOGALES, R. Vermicomposting of sludges from paper mill and dairy industries with *Eisenia andrei*: a pilot-scale study. **Bioresource Technology**, v.63, p.205-211, 1998.
- ETAD. Corantes e o meio ambiente: guia para usuários. **Química Têxtil**, n.18, p.22-31, 1995
- FARDEN, K.J.F.; ROBERTSON, J.G. Methods for studying enzymes involved in metabolism related to nitrogenase. In: BERGENSEN, F.J. (ed.) **Methods for evaluating biological nitrogen fixation**. New York: John Wiley & Sons, 1980. p.265-314.
- FLETCHER, J. Use of algae versus vascular plants to test for chemical toxicity. In: WANG, W.; GORSUCH, J.W.; LOWER W.R. (Ed.) **Plants for Toxicity Assessment**. Philadelphia: ASTM, p.33-39, 1990.
- FLIEBBACH, A.; MARTENS, R.; REBER, H.H. Soil microbial biomass and microbial activity in soils treated with heavy metal contaminated sewage sludge. **Soil Biology & Biochemistry**, v.26, p.1201-1205, 1994.
- FRASSINETTI, S.; CITTERIO, S.; NAPPI, P. Chemical changes in sludge stabilization. **BioCycle**, v.31, p.50-52, 1990.
- FREIRE, J.R.J. Fixação do nitrogênio pela simbiose rizóbio/leguminosas. In: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P. (Ed.) **Microbiologia do Solo**. Campinas: SBCS, 1992. p.121-140.
- FRIGHETTO, R.T.S.; VALARINI, P.J. Estratégias para análise integrada do solo. In: FRIGHETTO, R.T.S.; VALARINI, P.J. (Ed.) **Indicadores biológicos e bioquímicos da qualidade do solo: manual técnico**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. p.13-17.

- FUENTES, A.; LLORENS, M.; SAEZ, J.; AGUILAR, M.A.; ORTUÑO, J.F.; MESEGUER, V.F. Phytotoxicity and heavy metals speciation of stabilised sewage sludges. **Journal of Hazardous Materials**, v.108, p.161-169, 2004.
- GARCIA, C.; MORENO, J.L.; HERNANDES, T.; COSTA, F.; POLO, A. Effect of composting on sewage sludges contaminated with heavy metals. **Bioresource Technology**, v.53, p.13-19, 1995.
- GIJZEN, H.J.; SCHOENMARKERS, T.J.M.; CAERTELING, C.G.M.; VOGELS, G.D. Anaerobic degradation of papermill sludge in a two-phase digester containing rumen microorganisms and colonized polyurethane foam. **Biotechnology Letters**, v.10, n.1, p.61-67, 1988.
- GOLUEKE, C.G. Principle of composting. **Biocycle**, v.32, p.14-27, 1991.
- GOLUEKE, C.G. Bacteriology of composting. **Biocycle**, v.33, p.55-57, 1992.
- GOMEZ, A. The evaluation of compost quality. **Trends in Analytical Chemistry**, v.17, n.6, p.310-314, 1998.
- GONNET, S.; DIAZ, P. Glutamine synthetase and glutamate synthase activities in relation to nitrogen fixation in *Lotus* spp. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.12, p.195-202, 2000.
- HICKS, R.J.; STOTZKY, G.; VAN VORIS, P. Review and evaluation of the effects of xenobiotic chemicals on microorganisms in soil. **Advances in Applied Microbiology**, v.35, p.195-253, 1990.
- HOAGLAND, D.; ARNON, D.I. **The water culture method for growing plants without soil**. Berkeley: California Agriculture Experiment Station, 1950.
- HUNGRIA, M.; BARRADAS, C.A.A.; WALLSGROVE, R.M. Nitrogen fixation, assimilation and transport during the initial growth stage of *Phaseolus vulgaris* L. **Journal of Experimental Botany**, v.42, p.839-844, 1991.
- INGESTAD, T. Relative addition rate and external concentration, driving variables used in plant nutrition research. **Plant Cell Environment**, v.5, p.443-453, 1982.

INSTITUTO BRASILEIRO DE MEIO AMBIENTE E RECURSOS RENOVÁVEIS.

**Manual de testes para avaliação da ecotoxicidade de agentes químicos.** 2.ed. Brasília: IBAMA, 1990. 351p.

JAHNEL, M.C.; CARDOSO, E.J.B.N.; DIAS, C.T.S. Determinação do número mais provável de microrganismos do solo pelo método de plaqueamento por gotas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.23, p.553-559, 1999.

JEKINSON, D.S.; LADD, J.N. Microbial biomass in soil: measurement and turnover. In: PAUL, E.A.; LADD, J.N. (Ed.) **Soil Biochemistry**. New York: Marcel Dekker, 1981. v.5, p.415-471.

KAMIDA, H.M. Avaliação da biodegradação e toxicidade de efluente Textil tratado com *Pleurotus sajor-caju*. Campinas, 2004. 116p. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas.

KAPANEN, A.; ITAVAARA, M. Ecotoxicity tests for compost applications. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.49, p.1-16, 2001.

KAPUSTKA, L.A. Selection of phytotoxicity tests for use in ecological risk assessments. In: WANG, W.; GORSUCH, J.W.; HUGHES, D. (Ed.) **Plants for environmental studies**. New York: CRC Press, 1997. p.516-548.

KAUSHIK, P.; GARG, V.K. Vermicomposting of mixed solid textile mill sludge and cow dung with the epigeic earthworm *Eisenia foetida*. **Bioresource Technology**, v.90, p.311-316, 2003.

KEELING, A.A.; GRIFFITHS, B.S.; RITZ, K.; MYERS, M. Effect of compost stability on plant growth, microbiological parameters and nitrogen availability in media containing mixed garden-waste compost. **Bioresource Technology**, v.54, p.279-284, 1996.

KEENER, H.M.; DICK, W.A.; MARUGG, C.; HANSEN, R.C. Composting spent press-molded wood fiber palets bonded with urea formaldehyde: a pilot scale evaluation. **Compost Science and Utilization**, v.2, n.3, p.73-75, 1994.

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

- KLIEWER, P.; EVANS, D. Cobamide coenzyme contents of soybean nodules and nitrogen fixing bacteria in relation to physiological conditions. **Plant Physiology**, v.38, p.99-104, 1963.
- LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RIMA, 2000. 531p.
- MAGALHÃES, A.C.N. Fotossíntese. In: FERRI, M.G. (Ed.) **Fisiologia vegetal**. São Paulo: EPU, 1985. p.117-168.
- MARQUES, M.O.; MELO, W.J.; MARQUES, T.A. Metais pesados e o uso de biossólidos na agricultura. In: TSUTIYA, M.T. (Ed.) **Biossólidos na agricultura**. São Paulo: SABESP, 2002. p.365-403.
- MARTINELLI, U.A.; PERON, A.P.; MARTINS, E.P.; SCHARF, M.; BUDAG, N.; BARCELLOS, L.O. Lodo Têxtil: um problema ou uma solução?. **Química Têxtil**, v.69, p.16-23, 2002.
- MAYER, A.M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. **The germination of seeds**. New York: Pergamon Press, 1989.
- MCBRIDE, M, MARTINEZ, C.E, SAUVE, S. Copper (II) activity in aged suspensions of goethite and organic matter. **Soil Science Society of American Journal**, v.62, p.1542-1548, 1998.
- MOREIRA, A.H.; OLIVEIRA, R.M.; LIMA, P.D.S. Efeito da adição do lodo de águas residuais da indústria têxtil nas propriedades de materiais de construção. **Cerâmica**, v.47, p.158-163, 2001.
- NDEGWA, P.M.; THOMPSON, S.A. Integrating composting and vermicomposting in treatment and bioconversion of biossolids. **Bioresource Technology**, v.76, p.107-112, 2001.
- NIGAM, P.; ARMOUR, G.; BANAT, I.M.; SINGH, D.; MARCHANT, R. Physical removal of textile dyes from effluents and solid-state fermentation of dye-adsorbed agricultural residues. **Bioresource Technology**, v.72, p.219-226, 2000.
- ODUM, E.P. Trends expected in stressed ecosystems. **BioScience**, v.35, p.419-422, 1985.

- ORGANIZATION FOR ECONOMIC COOPERATION AND DEVELOPMENT.  
**OECD Guidelines for testing of chemicals.** guideline 208: terrestrial plants, growth test. Paris: OECD, 1984.
- ONCEL, I.; KELES, Y.; USTUN, A.S. Interactive effects of temperature and heavy metal stress on the growth and some biochemical compounds in wheat seedlings. **Environmental Pollution**, v.107, p.315-320, 2000.
- PANDOLFINI, T.; GABRIELLI, R.; COMPARINI, C. Nickel toxicity and peroxidase activity in seedlings of *Triticum aestivum* L. **Plant Cell Environment**, v.15, p.719-725, 1992.
- PANDOLFINI, T.; GREMIGNI, P.; GABBRIELLI, R. Biomonitoring of soil health by plants. In: PANKHURST, C.; DOUBE, B.M.; GUPTA, V.V.S.R. (Ed.) **Biological indicators of soil health.** New York : CAB, 1997. p.325-348.
- PANKHURST, C.E. Biological indicators of soil health and sustainable productivity. In: GREELAND, D.J.; SZABOLCS, I. (Ed.) **Soil resilience and sustainable land use.** Oxford: CAB, 1994. p.331-351.
- PANKHURST, C.E.; ROGERS, S.L.; GUPTA, V.V.S.R. Microbial parameters for monitoring soil pollution. In: LYNCH, J.M.; WISEMAN, A. (Ed.) **Environmental biomonitoring.** Cambridge: Cambridge University Press, 1998. p.46-69.
- PASCUAL, J.A.; HERNANDEZ, T.; AYUSO, M.; GARCIA, C. Changes in the microbial activity of arid soils amended with urban organic wastes. **Biology & Fertility of Soils**, v.24, p.429-434, 1997.
- PERUCCI, P.; DUMONTET, S.; BUFO, S.A.; MAZZATURA, A.; CASUCCI, C. Effects of organic amendment and herbicide treatment on soil microbial biomass. **Biology & Fertility of Soils**, v.32, p.17-23, 2000.
- PIRES, N.M.; SOUZA, I.R.P.; PRATES, H.T.; FARIA, T.C.L.; PEREIRA FILHO, I.A.; MAGALHÃES, P.C. Efeito do extrato aquoso de leucena sobre o desenvolvimento, índice mitótico e atividade da peroxidase em plântulas de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal.**, v.13, n.01, p.55-65, 2001.

- POWELL, R.L.; KIMERLE, R.A.; MOSER, E.M. Development of plant bioassay to assess toxicity of chemical stressors to emergent macrophytes. **Environmental Toxicology Chemistry**, v.15, p.1570-1576, 1996.
- RAJARATHANAM, S.; SHASHIREKA, M.N.; BANO, Z. Biopotentialities of the basidiomimacromycetes. **Advances in Applied Microbiology**, v.37, p.233-361, 1992.
- RAMANA, S.; BISWAS, A.K.; SINGH, A.B.; YADAVA, R.B.R. Relative efficacy of different distillery effluents on growth, nitrogen fixation and yield of groundnut. **Bioresource Technology**, v.81, p.117-121, 2002.
- RODRIGUES, J.L.M.; MELLOTO, M.; OLIVEIRA, J.T.A.; SILVEIRA, J.A.G. Efficiency of soybean nodules in relation to nodulin activities and hydrogenase expression. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.10, p.173-178, 1998.
- ROPER, M.M.; OPHEL-KELLER, K.M. Soil microflora as bioindicator of soil health. In: PANKHURST, C.E.; DOUBE, B.M.; GUPTA, V.V.S.R. (Ed.) **Biological indicators of soil health**. New York: CABI, 1997. p.157-177.
- SAS INSTITUTE. **SAS/STAT software: changes and enhancements through release 6.12**. Cary: Statistical Analysis System Institute, 1997. 1116p.
- SASTRE, I.; VICENTE, M.A.; LOBO, M.C. Influence of the application of sewage sludges on soil microbial activity. **Bioresource Technology**, v.57, p.19-23, 1996.
- SAVIOZZI, A.; BUFALINO, P.; LEVI-MINZI, R.; RIFFALD, R. Biochemical activities in a degraded soil restored by two amendments: a laboratory study. **Biology & Fertility of Soils**, v.35, p.96-101, 2002.
- SELIVANOVSKAYA, S.Y.; LATYPOVA, V.Z.; KIYAMOVA, S.N.; ALIMOVA, F.K. Use of microbial parameters to assess treatments methods of municipal sewage sludge applied to grey forest soils of Tatarstan. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v.86, p.145-153, 2001.

- SILVA, E.P.; MOTA, S.; AQUINO, B.F. Potencial de utilização do lodo de esgoto de industria têxtil como fertilizante agrícola. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.8, n.1, p.69-76, 2003.
- SILVEIRA, J.A.G.; CONTADO, J.L.; RODRIGUES, J.L.M.; OLIVEIRA, J.T.A. Phosphoenolpiruvete carboxilase and glutamine synthetase activities in relation to nitrogen fixation in cowpea nodules. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.10, p.19-23, 1998.
- SILVEIRA, J.A.G.; CONTADO, J.L.; RODRIGUES, J.L.M.; OLIVEIRA, J.T.A. Nodulin activities in relation to nodule development and nitrogen fixation in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Physiology Molecular Biology of Plants**, v.5, p.45-52, 1999.
- SILVESTRI, S.; ZORZI, G.; GASPERI, F. et al. Influence of the raw materials on the quality after selective collection. **Technical Science Methods**, n.2, p.116-121, 1995.
- SPARLING, G.P. Soil microbial biomass, activity and nutrient cycling. In: PANKHUST, C.; DOUBE, B.M.; GUPTA, V.V.S.R. (Ed.) **Biological indicators of soil health**. New York: CAB, 1997. p.97-119.
- STANIGHER, C.A. Tratamento de efluentes de tinturaria com sistema de lodo ativado. **Química Têxtil**, v.17, p.10-14, 1987.
- STRATTON, M.L.; BARKER, A.V.; RECHCIGL, J.E. Compost. In: RECHCIGL, J.E. (ed.) **Soil amendments and environmental quality**. New York: CRC Press, 1995. p.249-310.
- SWEENEY, D.W.; GRAETZ, D.A. Application of distillery waste anaerobic digester effluent to St. Augustine grass. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.35, p.341-150, 1991.
- TAM, N.F.Y.; TIQUIA, S.M. Assessing toxicity of 'spent sawdust pig-litter' using seed germination technique. **Resource Conservation Recycling**, v.11, p.261-274, 1994.

- TIQUIA, S.M.; TAM, N.F.Y.; HODGKISS, I.J. Effects of composting on phytotoxicity of spent pig-manure sawdust litter. **Environmental Pollution**, v.93, p.249-256, 1996.
- TREJO-HERNANDEZ, M.R.; LOPEZ-MUNGUIA, A.; RAMIREZ, R.Q. Residual compost of *Agaricus bisporus* as a source of crude laccase for enzymic oxidation of phenolic compounds. **Process Biochemistry**, v.36, p.635-639, 2001.
- VANCE, E.D.; BROOKES, P.C.; JENKINSON, D.S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biology & Biochemistry**, v.19, p.703-707, 1987.
- VERMA, D.P.; LONG, S. The molecular biology of *Rhizobium*-legume symbiosis. **International Review of Cytology**, v.14, p.212-245, 1983.
- VERMEULEN, J.; HUYSMANS, A.; CRESPO, M.; VAN LIERDE, A.; DE RYCKE, A.; VERSTRAETE, W. Processing biowaste by anaerobic composting to plant growth substrate. **Water Science Technology**, v.27, p.109-119, 1993.
- VIEIRA, R.F. Sewage sludge effects on soybean growth and nitrogen fixation. **Biology and Fertility Soils**, v.34, p.196-200, 2001.
- VISER, S.; PARKINSON, D. Soil biological criteria as indicator of soil quality: soil microorganisms. **American Journal of Alternative Agriculture**, v. 7, p.33-37, 1992.
- WALLACE, A.; WALLACE, G.A. A possible flaw in EPA'S 1993 new sludge rule due to heavy metal interactions. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.25, p.129-135, 1994.
- WANG, W.; KETURI, P.H. Comparative seed germination tests using ten plants species for toxicity assessment of a metal engraving effluent samples. **Water, Air and Soil Pollution**, v.52, p.369-376, 1990.

- WANUCHA, D.J. Residuals management produces, greener pasture, textile manufactures could reduce liquid residual storage needs through year-round land application on nearby pastureland. **Industrial Wastewater**, v.14, p.37-40, 1997.
- WARDLE, D.A. Metodologia para quantificação da biomassa microbiana do solo. In: HUNGRIA, M.; ARAUJO, R.S. (Ed.) **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Brasília: EMBRAPA, 1995. p.419-436.
- WARDLE, D.A.; GHANI, A. A critique of the microbial metabolic quotient ( $qCO_2$ ) as a bioindicator of disturbance and ecosystem development. **Soil Biology & Biochemistry**, v.27, p.1601-1610, 1995.
- WARDLE, D.A.; PARKINSON, D. Effect of three herbicides on soil microbial biomass and activity. **Plant and Soil**, v.122, p.21-28, 1990.
- WEINSTEIN, L.H.; LAURENCE, J.A.; MANSL, R.H.; WALTI, K. The use of native and cultivated plants as bioindicators and biomonitors of pollution damage. In: WANG, W.; GORSUCH, J.W.; LOWER W.R. (Ed.) **Plants for toxicity assessment**. West Conshoscken: ASTM, 1990. p.117-126.
- WETZEL, A.; WERNER, D. Ecotoxicological evaluation of contaminated soil using the legume root nodule symbiosis as effect parameters. **Environmental Toxicology and Water Quality**, v.10, p.127-133, 1995.
- WILSON, D.O.; REISENAUER, H.M. Determination of leghemoglobin in legume nodules. **Analytical Biochemistry**, v.6, p.27-30, 1963.
- WONG, M.H. Effects of animal manure compost on tree (*Acacia confusa*) seedling growth. **Agricultural Wastes**, v.13, p.261-272, 1985.