**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

Avaliação ambiental e agronômica do uso de lodo de curtume no solo

Alexandre Martin Martines

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor
em Agronomia. Área de concentração: Solos e
Nutrição de Plantas

**Piracicaba
2009**

Alexandre Martin Martines
Engenheiro Agrônomo

Avaliação ambiental e agronômica do uso de lodo de curtume no solo

Orientadora:
Profa. Dra. **ELKE JURANDY BRAN NOGUEIRA CARDOSO**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em Agronomia.
Área de concentração: Solos e Nutrição de Plantas

**Piracicaba
2009**

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

Martines, Alexandre Martin

Avaliação ambiental e agronômica do uso de lodo de curtume no solo / Alexandre
Martin Martines. - - Piracicaba, 2009.
84 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2009.
Bibliografia.

1. Amônia 2. Aveia forrageira 3. Curtume 4. Lixiviação do solo 5. Lodo 6. Microbiologia
do solo 7. Milho 8. Nitratos 9. Nitrogênio I. Título

CDD 631.46
M385a

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

OFEREÇO

A Deus,
por iluminar meus caminhos

Aos meus pais Abrão e Diva e ao meu irmão
Samuel por me mostrarem, desde muito
cedo, o verdadeiro significado da palavra
família.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, em especial à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas pelo voto de confiança.

A CAPES, pela concessão das bolsas de estudos no Brasil e no exterior.

Ao curture Vanzella pelo apoio financeiro e fornecimento dos resíduos. Em especial ao Claudiomar Pereira de Souza e Edmilson pelo apoio de campo indispensável na obtenção dos resultados.

A FAPESP pelo financiamento do projeto.

A Monsanto, em especial ao Luiz Roberto Graça Favoretto e Luciana Verardino pelo fornecimento das sementes, plantio e auxílio na manutenção das culturas.

À Professora Dra. Elke Jurandy Bran Nogueira Cardoso, pela amizade, orientação, incentivo e convivência. Uma profissional que admiro muito principalmente pela ética e dedicação a ciência, sempre disposta a discutir novas idéias e enfrentar novos desafios.

Ao Professor Dr. Marco Antonio Nogueira pela amizade, incentivo e convivência. Sempre disposto a ajudar, discutir novas idéias e enfrentar novos desafios.

Ao Dr. José Paulo Filipe Afonso de Sousa pela atenção, amizade e orientação durante o período de estágio na Universidade de Coimbra, Portugal.

Ao Dr. Dilmar Barreta, Dr. Adriel Ferreira da Fonseca e Dr. Cristiano Alberto de Andrade pelas grandiosas discussões intelectuais e profissionais. Três grandes amigos.

Aos Técnicos do Laboratório de Microbiologia do Solo do Departamento de Ciência do Solo – ESALQ/USP Denise de Lourdes Colombo Mescolotti e Luis Fernando Baldesin, pela amizade e apoio na condução dos experimentos, indispensáveis para a realização desse trabalho.

Aos companheiros de laboratório e colegas de Pós-Graduação: José Pereira, Paulo Mendes, Fernanda de Carvalho, Carolina Baretta, Rafaela Neroni, Pilar Mariani, Maria Elda, Leandro Tizato, Maurício Dagui, Fabiana Brandão, Alessandra de Paula, Mylenne Pinheiro, Simone Bertini, Rafael Valadares, Rafael Vasconcellos, Carlos Ribeiro, Priscila Azevedo, Jamil Pereira, Henrique Robortella, Júlia Lima, Gabriela

Gerônimo, Sara Hirata, Sandra Nogueira, Rafael D'Armas, Márcio Moraes, André Nakatani, Gabriel Barth e Fernando Garbuio.

Aos colegas da Universidade Estadual de Londrina: Admilton Oliveira, Dáfila Lima, Kellen do Carmo, Cristiane Santos, Daniel Bini, Marcio Cruz e Luis Lescano, pela amizade e apoio na condução dos experimentos, indispensáveis para a realização desse trabalho.

Aos colegas da Universidade de Coimbra (Portugal), em especial ao Thiago, Sónia, Kátia, Carla, Cristina, Dalila, Julia, Sara, Fernando, Juci, Alice, Pavla, Renata, Patric, Vinicius, Dr. Xavier, Dr. Rui e Dra. Matilde pela hospitalidade e amizade.

Aos amigos de ontem e de hoje, Daniel Portolese, Luis Fabiano Verri, Cassiano e Denise Garcia, Ricardo Ulhoa, Paulo e Ana Lucia Dorta, Lucas Carvalho Basílio de Azevedo, Ricardo Augusto Gorne Viani, Cristiano Elemar Voll, Milton Ferreira de Moraes, Jeanidy Pazinato, Valesca Pandolfi, Priscylla Ferraz e Rodrigo Otávio Câmara Monteiro, com os quais vivi momentos marcantes que nunca serão esquecidos.

A minha linda Denise Dayane Mathias Rodrigues.

SUMÁRIO

RESUMO	9
ABSTRACT	11
1 INTRODUÇÃO	13
2 DESENVOLVIMENTO	15
2.1 Revisão Bibliográfica	15
2.1.1 Perda de nitrogênio por volatilização da amônia	15
2.1.2 Grupos funcionais de microrganismos	17
2.1.3 Nitrogênio orgânico no solo	18
2.1.4 Carbono orgânico no solo	20
2.1.5 Enzimas do solo	21
2.1.6 Lixiviação de nitrogênio no solo	23
2.2 Material e Métodos	25
2.2.1 Caracterização da área e delineamento experimental	25
2.2.2 Caracterização do lodo de curtume	28
2.2.3 Perda de nitrogênio por volatilização da amônia	32
2.2.4 Coleta e processamento das amostras de terra	33
2.2.5 Amônio, nitrato e pH	34
2.2.6.1 Atributos microbiológicos e enzimas do solo	34
2.2.6.1.1 Estimativa do NMP de microrganismos amonificadores	35
2.2.6.1.2 Estimativa do NMP de microrganismos desnitrificadores	35
2.2.6.1.3 Estimativa do NMP de bactérias cultiváveis	36
2.2.6.1.4 Estimativa do NMP de fungos cultiváveis	36
2.2.6.1.5 Respiração do solo	37
2.2.6.1.6 Carbono da biomassa microbiana	37
2.2.6.1.7 Desidrogenase	38
2.2.6.1.8 Asparaginase e glutaminase	38
2.2.6.1.9 Urease	38
2.2.6.1.10 Amilase	39
2.2.7 Produtividade e análise química de plantas	39

2.2.8 Análise dos dados.....	39
2.3 Resultados e Discussão	41
2.3.1 Perda de nitrogênio por volatilização da amônia	41
2.3.2 Densidade de grupos funcionais de microrganismos no solo	51
2.3.3 Biomassa microbiana (CBM) e respiração do solo	54
2.3.4 Atividade enzimática do solo	57
2.3.4.1 Curva de resposta principal (PRC)	61
2.3.5 Lixiviação de nitrogênio no solo	63
2.3.6 Produtividade do milho e efeito residual do lodo	67
3 CONCLUSÕES.....	71
Considerações finais	72
REFERÊNCIAS	73

RESUMO

Avaliação ambiental e agrônômica do uso de lodo de curtume no solo

Devido ao seu elevado teor de nutrientes e potencial de neutralização da acidez do solo, a utilização de lodos de curtume em áreas agrícolas tem sido uma alternativa para disposição e reciclagem desses resíduos. Por outro lado, o aumento do pH e do teor de nitrogênio amoniacal no solo, quando da aplicação superficial do lodo de curtume, podem favorecer a perda de nitrogênio (N) por volatilização da amônia (NH_3). Altos teores de nitrogênio inorgânico no solo podem gerar efeitos negativos, principalmente quando a amonificação e nitrificação não são sincronizadas com a absorção pelas plantas, possibilitando lixiviação e conseqüente contaminação das águas subsuperficiais. Um experimento de campo foi instalado em Rolândia (PR) com os objetivos de avaliar a perda de nitrogênio por volatilização da amônia, as alterações em alguns atributos microbiológicos do solo envolvidos no ciclo do nitrogênio e carbono, a lixiviação de nitrogênio mineral no solo, a produtividade da cultura de milho e o efeito residual, após a aplicação de doses crescentes de lodo de curtume no solo. O delineamento experimental foi de blocos completos casualizados, com quatro repetições. As doses de lodo foram calculadas em função do teor de N total contido no lodo de curtume. Os tratamentos foram: controle, 120, 480, 840 e 1200 kg ha⁻¹ de N total adicionados via lodo de curtume, correspondendo, respectivamente, a 0, 3,4, 13,5, 23,6 e 33,7 Mg ha⁻¹ de lodo de curtume (base seca). O lodo foi aplicado na superfície de um Nitossolo Vermelho distroférico, muito argiloso, onde permaneceu por 89 dias, período em que foi determinada a perda de amônia por volatilização. Em seqüência, o lodo foi incorporado, com posterior semeadura da cultura de milho. Nesse momento foi instalado um tratamento adicional (Tratamento agrônômico - 120 kg ha⁻¹ N via uréia). Após a colheita do milho, a aveia preta foi semeada em sistema direto, sendo conduzida até o estágio de florescimento. Durante todo o período experimental foram realizadas coletas de solo nas camadas de 0-10, 10-20, 20-40, 40-60 cm e solução do solo nos tratamentos controle, 120 e 1200 kg ha⁻¹ N total via lodo, a 1,2 m de profundidade. A volatilização da amônia foi mais intensa nos 30 primeiros dias após a aplicação, decaindo depois desse período. A fração volatilizada como NH_3 correspondeu, em média, a 17,5% do N total contido no lodo de curtume. A densidade dos grupos funcionais de microrganismos, respiração do solo e atividade enzimática apresentaram aumentos transientes após aplicação de lodo de curtume. Dentre os atributos avaliados, as enzimas glutaminase, urease e asparaginase mostraram maior atividade em resposta à aplicação de lodo de curtume. A dose 120 kg ha⁻¹ de N via lodo de curtume não apresentou risco de contaminação do lençol freático, enquanto que na maior dose (1200 kg ha⁻¹ N total) o teor de nitrato na solução do solo coletada a 1,2 m foi até 12 vezes maior que no controle. A dose de 521 kg ha⁻¹ de N total proporcionou ganhos de produtividade de grãos de 13% e 11% em relação ao controle e ao tratamento agrônômico, respectivamente. Foi observado efeito residual sobre a massa de matéria seca da parte aérea da aveia preta 390 dias após a aplicação do lodo. Ou seja: Doses elevadas de lodo de curtume (equivalentes a altas doses de N), aplicadas ao solo, podem resultar em poluição do ar e das águas subsuperficiais.

Palavras-chave: Lodo de curtume; Volatilização da amônia; Atividade microbiológica; Lixiviação de nitrogênio; *Zea mays*; *Avena strigosa*

ABSTRACT

Environmental and agricultural use of tannery sludge in soil

Due to its high nutrient content and its neutralizing potential for soil acidity, the utilization of tannery sludge in agricultural areas can be an alternative for its disposal and recycling. On the other hand, the pH and ammonia nitrogen content increase in soil as a result of surface tannery sludge application and may induce the loss of nitrogen (N) by ammonia (NH_3) volatilization. The high N content in soils can generate negative effects, mainly when the organic N ammonification and nitrification does not coincide with the plant N uptake, allowing the nitrate to leach through the soil profile to the groundwater. A field experiment was installed in Rolândia (Paraná State, Brazil). The aims of this experiment were to evaluate the N loss through ammonia volatilization, changes in soil microbial attributes that are linked to the carbon and N cycles, mineral N leaching through the soil profile, corn yield and the residual effect as affected by tannery sludge application on the soil surface. A randomized complete block design was used with four replicates. The tannery sludge treatments were: control, 120, 480, 840 and 1200 kg ha^{-1} total N applied as tannery sludge, equivalent to 0, 3.4, 13.5, 23.6 and 33.7 Mg ha^{-1} tannery sludge (dry weight). The tannery sludge was surface applied on a clayey Rhodic Kandiudult. The tannery sludge was left on the soil surface for 89 days, and during this period the N loss through NH_3 volatilization was determined. Afterwards, tannery sludge was incorporated and the corn was sown. At this moment, an additional treatment (agricultural treatment - 120 kg ha^{-1} N as urea) was applied. After the corn harvest, black oat was sown and carried on until flowering. Soil samples were taken at the following depths: 0-10, 10-20, 20-40 and 40-60 cm for all treatments. Soil solution was extracted at 1.2 m soil depth only in the control, 120 and 1200 kg ha^{-1} total N treatments. NH_3 volatilization was more intense during the beginning of the experiment (30 days). The volatilized fraction as NH_3 corresponded in average to 17.5% of the total N of the tannery sludge. The functional microorganism density, soil respiration and enzyme activity showed transient increases after tannery sludge application. The glutaminase, urease and asparaginase enzymes showed a more pronounced increase in activity in response to tannery sludge application. The lowest dose of 120 kg ha^{-1} total N did not show a contamination risk to the groundwater, while in the highest dose (1200 kg ha^{-1} total N), the amount of nitrate detected at 1.2 m was 12 times higher than in the control. The dose of 521 kg ha^{-1} total N corresponded to the maximum corn yield and caused increases of 13% and 11%, when compared to the control and to the agricultural treatment, respectively. Even after 390 days, a residual effect of tannery sludge application was observed as an increase in shoot dry matter of black oat. In short: it was demonstrated that high doses of tannery sludge (equivalent to high doses of total N), applied to soil, result in prohibitively high values of air and ground water pollution.

Keywords: Tannery sludge, Ammonia volatilization, Microbial activity; Nitrogen leaching; *Zea mays*; *Avena strigosa*

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior exportador mundial de couro, processando cerca de 42 milhões de peles por ano, das quais metade é exportada principalmente para Itália e China (ROPKE; MAUCH, 2006). Durante o processamento, a pele é tratada com produtos químicos tais como hidróxido de sódio, hidróxido de amônio, tenso-ativos não iônicos, bactericidas, enzimas proteolíticas, cal hidratada, sulfeto de sódio, cloreto de amônio, sulfato de amônio, ácido sulfúrico, ácido fórmico e sais de cromo, dando origem ao couro denominado de “wet blue”.

Até a década de 80, a maioria dos curtumes brasileiros gerava, durante o processamento das peles, no máximo dois lodos denominados de “lodo do caleiro” e “lodo do tratamento primário”. O primeiro não apresenta Cr, já o segundo normalmente apresentava teores de até 8.000 mg kg^{-1} (Ferreira et al., 2003), geralmente na forma trivalente. A partir da década de 90, os efluentes provenientes das diversas etapas do processamento de peles passaram a ser reciclados ou tratados em separado em estação de tratamento de efluentes (ETE), gerando, em média, 4,5 kg (base seca) de diferentes lodos, por pele processada (CLAAS; MAIA, 1994). Assim, atualmente, a separação dos efluentes que contêm Cr reduziu significativamente o teor de Cr contido no lodo primário, que normalmente fica abaixo de 1000 mg kg^{-1} , teor esse considerado como máximo para aplicação de lodo de esgoto em área agrícola, segundo a norma federal CONAMA 375 (BRASIL, 2006). A redução do teor de Cr no lodo primário possibilita sua utilização em conjunto com o lodo do caleiro em área agrícola, não sendo mais este o fator limitante na determinação da dose a ser aplicada, e sim o nitrogênio.

A utilização do lodo do caleiro como corretivo e fertilizante do solo, bem como a dinâmica de oxi-redução e o efeito sobre a microbiota do solo de altas doses de Cr, aplicado via lodo primário com alto teor de Cr, foram objetos de estudo de vários pesquisadores (KONRAD; CASTILHOS, 2002; FERREIRA et al. 2003; ALCÂNTARA et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2008; KRAY et al., 2008). Naqueles trabalhos o principal enfoque costumava ser o problema do cromo, sendo que raramente eram abordados outros fatores de risco da aplicação desse material. Entretanto, não foram encontrados

estudos envolvendo a aplicação do lodo do caleiro em conjunto com o lodo primário, tendo este o teor de cromo reduzido. E foi este material que constituiu o foco dos estudos que serão aqui apresentados.

Devido ao grande volume de lodo do caleiro e primário gerados diariamente, diversos curtumes acabam por delimitar uma área agrícola que passava a receber aplicação diária da mistura desses lodos (doravante denominada apenas de lodo), até acumular uma dose predeterminada, em função do critério mais restritivo entre os seguintes: (i) N disponível para a cultura; (ii) poder de neutralização; (iii) quantidade de sódio aplicado e (iv) teor de Cr acumulado no solo. No presente trabalho, o critério mais restritivo na determinação da dose de lodo de curtume a ser aplicada foi a quantidade de N disponível para a cultura. Em curtumes que aplicam lodo em áreas cultivadas com culturas anuais, o período de aplicação é de aproximadamente 90 dias, com posterior incorporação e plantio da cultura. Concomitantemente, uma nova área é demarcada para aplicação do lodo. Esse manejo possibilita a aplicação diária do lodo, pois, enquanto uma área está recebendo lodo, outra está sendo cultivada e vice-versa.

Partindo da hipótese de que o lodo de curtume aplicado na superfície do solo causa alterações na microbiota do solo, perda de nitrogênio por volatilização e lixiviação, principalmente se a amonificação e nitrificação não são sincronizadas com a absorção pelas plantas, o presente trabalho objetivou avaliar (i) a perda de nitrogênio via volatilização da amônia; (ii) as alterações em alguns atributos microbiológicos do solo envolvidos no ciclo do nitrogênio e carbono; (iii) a lixiviação de nitrogênio mineral no solo; (iv) a produtividade da cultura de milho e (v) o efeito residual, após a aplicação de doses crescentes de lodo de curtume em um Nitossolo Vermelho distroférrico.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Revisão Bibliográfica

2.1.1 Perda de nitrogênio por volatilização da amônia

Os adubos nitrogenados e os fertilizantes orgânicos são as principais fontes responsáveis pelas emissões globais de amônia (NH_3) na atmosfera (SUTTON et al., 2003). Dentre os fertilizantes orgânicos, o estrume de origem animal contribui com aproximadamente 74% da emissão de NH_3 na Europa (EUROPEAN CENTER FOR ECOTOXICOLOGY AND TOXICOLOGY OF CHEMICALS, 1994). A amônia, e o produto de sua reação, amônio (NH_4^+), são importantes componentes atmosféricos, sendo a NH_3 o mais abundante componente alcalino na atmosfera. Uma parte substancial dos ácidos produzidos na atmosfera, pela oxidação do dióxido de enxofre (SO_2) e os óxidos de nitrogênio (NO_x), são neutralizados pela NH_3 , dando origem a partículas contendo NH_4^+ (ASMAN; SUTTON; SCHJØRRING, 1998). A formação de partículas pode prolongar a sua existência na atmosfera, podendo sua deposição ocorrer a longas distâncias (SOMMER et al., 2009). A volatilização de NH_3 e posterior deposição estão associadas à eutrofização de sistemas aquáticos, acidificação dos solos e distúrbios em ecossistemas pobres em nutrientes (SOMMER; HUTCHINGS, 2001).

Na Europa, as atividades intensivas de pecuária, suinocultura e avicultura, são consideradas potencialmente poluidoras, visto que concentram grandes quantidades de resíduos orgânicos ricos em nitrogênio passível de sofrer volatilização na forma de amônia (N-NH_3). Nesses países, o limite máximo nacional para emissão de NH_3 foi regulamentado em 1999 (EUROPEAN ENVIRONMENT AGENCY, 2000), sendo 2010 o prazo para a adequação (SUTTON et al., 2003). Diante do exposto, a busca em quantificar, modelar e reduzir as perdas de nitrogênio por volatilização da NH_3 tem sido objeto de estudo de diversos pesquisadores (HARMEL et al., 1997; SØGAARD et al., 2002; SUTTON et al., 2003; MATSUNAKA et al., 2008; SOMMER et al., 2009).

Rochette et al. (2008), ao aplicarem 140 kg ha^{-1} de N via chorume de suíno na superfície do solo constataram que aproximadamente 25% do nitrogênio total aplicado foi perdido na forma de NH_3 após 29 dias, ou o equivalente a 50% do N-NH_4^+ aplicado. Segundo Sommer et al. (2003), a fração de N-NH_4^+ aplicada via chorume animal e volatilizada na forma de NH_3 pode variar de 5 a 30%. Mulvaney et al. (2008), ao simularem a aplicação de excrementos de gado sobre a pastagem no Alabama (EUA), observaram, após 14 dias, que a fração do N-NH_4^+ volatilizada na forma de N-NH_3 variou de 1,8% no inverno para 20,9% durante o verão. Marshall et al. (1998), ao aplicar cama de frango em pastagem, observaram uma fração média do nitrogênio total volatilizada de 4% em 14 dias. Adamsen e Sabey (1987), ao aplicarem 250 kg ha^{-1} de N via lodo de esgoto na superfície do solo, observaram, após 12 semanas, que a fração do N-NH_4^+ volatilizada na forma de NH_3 foi de 42,2%. Em solos que receberam a aplicação de lodo de esgoto por dispersão sem incorporação as perdas por volatilização de amônia chegaram a 60% (HAVLIN et al., 2005). Port, Aita e Giacomini (2003) verificaram em 160 horas após a aplicação de até $80 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ de estrume de suínos sobre resíduos culturais, que a fração do N-NH_4^+ perdida por volatilização da amônia foi de 16,1% no outono e 11,0% no verão. Sharpe et al. (2004) observaram perdas de até 24% do N total aplicado ao solo via esterco de aves depois de 8 dias.

De acordo com esses trabalhos, as perdas de nitrogênio por volatilização da amônia, decorrentes da aplicação dos resíduos, devem-se principalmente ao aumento das concentrações de N-NH_4^+ e pH da solução do solo, que deslocaram o equilíbrio químico entre o N-NH_4^+ e N-NH_3 , favorecendo a formação de N-NH_3 . Sendo sua variação dependente dos fatores climáticos, como velocidade do vento, temperatura, umidade relativa do ar e precipitação, além de atributos do solo como capacidade de troca catiônica, umidade, temperatura, teor de matéria orgânica e potencial de nitrificação.

No Brasil, são poucos os estudos envolvendo perdas de nitrogênio por volatilização de NH_3 , sendo a uréia a fonte mais estudada (CANTARELLA et al., 2003; COSTA; VITTI; CANTARELLA, 2003; MARTHA et al., 2004; FENILLI et al., 2007). Não há relatos de estudos que avaliem a perda de nitrogênio por volatilização da amônia em solos tropicais tratados com lodo de curtume, sendo seu estudo de grande interesse,

pois a aplicação de lodo de curtume com elevado pH e alta concentração de N-NH_4^+ pode favorecer a perda de nitrogênio por volatilização da amônia, afetando diretamente a eficiência do uso do resíduo como fertilizante nitrogenado e contribuindo para o aumento da poluição ambiental.

2.1.2 Grupos funcionais de microrganismos

A comunidade microbiana do solo é considerada crítica em qualquer ecossistema, atuando na decomposição da matéria orgânica, ciclagem de nutrientes e alterando as propriedades físicas e químicas do solo, com resultados diretos na sua fertilidade. Por sua vez, é dinâmica, sofrendo grande influência do ambiente, inclusive aquela proveniente do uso, manejo do solo e vegetação, o que causa modificações quantitativas e qualitativas na sua estrutura, resultado de um novo equilíbrio (NOGUEIRA et al., 2006). A utilização agrícola de resíduos orgânicos está condicionada à capacidade dos microrganismos em degradar a matéria orgânica do resíduo após sua aplicação no solo, uma vez que muitas etapas da ciclagem de nutrientes são realizadas exclusivamente por grupos funcionais de microrganismos.

Os grupos funcionais são compostos por várias populações de microrganismos que participam de um mesmo processo de transformação de um dado elemento químico no solo, sendo que uma dessas populações pode participar de um ou mais ciclos biogeoquímicos (ANDRADE; NOGUEIRA, 2005). Os grupos funcionais de microrganismos também estão diretamente relacionados à cadeia alimentar do solo, que é mantida pelo equilíbrio das interações entre os diferentes níveis tróficos que são responsáveis em grande parte pela sustentabilidade dos ecossistemas. Assim, considerando sua importância na mineralização de resíduos e o fornecimento de nutrientes, a avaliação da densidade e da atividade dos grupos funcionais de microrganismos atuantes no ciclo do carbono e do nitrogênio pode ser utilizada como indicadores microbiológicos no monitoramento de alterações ambientais decorrentes da utilização de resíduos no solo (TURCO; KENNEDY; JAWSON 1994).

2.1.3 Nitrogênio orgânico no solo

O nitrogênio orgânico, adicionado ao solo via resíduos, pode sofrer diversas transformações (amonificação, nitrificação e desnitrificação), com envolvimento de várias populações de microrganismos (McNEILL; UNKOVICH, 2007). A amonificação é o processo de conversão do nitrogênio orgânico em amônio (NH_4^+). Esse processo não requer microrganismos específicos, podendo ser realizado por microrganismos quimiorganotróficos, tanto em condições aeróbicas como anaeróbicas (CARDOSO; TSAI; NEVES, 1992). A nitrificação ocorre em condições aeróbicas e consiste na transformação do NH_4^+ em nitrito (NO_2^-), que imediatamente é convertido a nitrato (NO_3^-). Os microrganismos mais atuantes nessa etapa são bactérias quimiolitotróficas dos gêneros *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrosospira*, *Nitrosolobus* e *Nitrosovibrio*, ou quimiorganotróficos dos gêneros *Arthrobacter*, *Aerobacter*, *Thiosphaera*, *Streptomyces* e *Pseudomonas*. Sendo as bactérias quimiolitotróficas as principais responsáveis pela nitrificação em solos ácidos. A desnitrificação é definida como um processo de redução do NO_3^- ou NO_2^- a NO , N_2O e N_2 por bactérias anaeróbicas facultativas dos gêneros *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Agrobacterium* e *Flavibacterium* (ROBERTSON; GROFFMAN, 2007). A desnitrificação, juntamente com a volatilização da amônia, constitui uma das mais importantes vias de perdas gasosas de nitrogênio do solo (CARDOSO; TSAI; NEVES, 1992).

A estimativa do número mais provável (NMP) de microrganismos é um dos métodos utilizados para avaliar o efeito da aplicação de resíduos orgânicos sobre a mineralização do nitrogênio (SARATHCHANDRA, 1978; TIEDJE, 1996). O método consiste na diluição sucessiva a partir de uma suspensão de solo, seguido de inoculação em meio de cultivo com substrato seletivo e posterior contagem do número de réplicas que apresentaram consumo do substrato ou geração de um determinado produto. O aumento no NMP de microrganismos amonificadores, por exemplo, após a aplicação de lodo de curtume, indica que o grupo funcional de microrganismos capazes de transformar o nitrogênio orgânico em mineral foi estimulado, contribuindo para o aumento do teor de NH_4^+ no solo.

Martines (2005), após aplicar 3, 6, 12, 24 e 36 Mg ha⁻¹ de lodo de curtume em três solos com classes texturais diferentes, observou correlação positiva entre o NMP de microrganismos amonificadores e o carbono da biomassa microbiana, não sendo observada correlação entre o NMP de microrganismos amonificadores e NMP de bactérias cultiváveis. Jahnel, Cardoso e Dias (1999) relataram que a aplicação de 50 mg kg⁻¹ de Cr⁶⁺, na forma de K₂Cr₂O₇ a uma amostra de solo argiloso reduziu o NMP de bactérias cultiváveis no solo em relação ao controle, enquanto que na presença de bagaço de cana (10 g kg⁻¹) e composto orgânico (30 g kg⁻¹), não houve redução, provavelmente devido à complexação do Cr⁶⁺ pelo material orgânico. Castilhos, Vidor e Castilhos (2000), após incubarem por 42 dias 60 Mg ha⁻¹ (base seca) de lodo de curtume isento de Cr, observaram aumentos de 9 e 16% no Log de unidades formadoras de colônia (UFC) por grama de solo, nas populações de actinobactérias e bactérias cultiváveis, respectivamente. Cavallet e Selbach (2008) verificaram que a adição de lodo de curtume com Cr até a dose proporcional a 60 Mg ha⁻¹, em vaso, estimulou, na maior dose, o aumento das populações de bactérias cultiváveis, não sendo observadas diferenças significativas nas populações de actinobactérias e fungos cultiváveis em relação ao controle. Já Ferreira et al. (2003) não observaram diferenças significativas nas populações de actinobactérias e bactérias cultiváveis em relação ao controle, aos 30, 120, 330 dias após aplicarem no campo 21,25 Mg ha⁻¹ (base seca) de lodo de curtume contendo 8100 mg kg⁻¹ de Cr.

A determinação do número de microrganismos pelo método do NMP ou por contagem de UFC em meio seletivo ou diferencial pode apresentar baixa sensibilidade uma vez que apenas uma pequena fração de um determinado grupo funcional do solo pode ser estimada (KANDELER, 2007). Para contornar esse problema, Domsch et al. (1983) recomendam o uso de mais de um indicador microbiológico a fim de aumentar a sensibilidade em detectar alteração decorrentes da aplicação de resíduos no solo. A avaliação dos aspectos ligados a qualidade do solo requer o uso de diferentes indicadores microbiológicos, químicos e físicos que apresentem relações entre si (STENBERG, 1999).

2.1.4 Carbono orgânico no solo

A dinâmica do carbono orgânico dos resíduos após aplicação ao solo pode ser medida principalmente por duas maneiras: estimativa do carbono da biomassa microbiana (CBM) e quantificação de carbono liberado na forma de gás carbônico ($C-CO_2$) (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). O carbono da biomassa microbiana é definido como a parte viva e mais ativa da matéria orgânica do solo constituída pelas bactérias, actinobactérias, fungos, protozoários, algas e microfauna (JENKINSON; LADD, 1981). A medida do carbono liberado pela oxidação de compostos orgânicos até CO_2 por organismos aeróbicos do solo, que utilizam O_2 comoceptor final de elétrons, é denominada de respiração basal (ALEF, 1995; BROOKES, 1995).

Alvarez-Bernal et al. (2006), ao estudarem dois solos que receberam diferentes quantidades de efluente de curtume por mais de 25 anos, observaram na área mais contaminada acréscimo 150% no CBM em relação ao controle sem adição de efluente. Passianoto et al. (2001) ao aplicarem o equivalente 20, 40 e 60 $Mg\ ha^{-1}$ de lodo de curtume, em três quilos de solo, constatarem 120 dias após a aplicação, acréscimo no CBM em relação ao controle de 13, 48 e 119% respectivamente. Ferreira et al., (2003) não observaram diferenças significativas no CBM, em relação ao controle, aos 30, 120, 330 dias após aplicarem 21,25 $Mg\ ha^{-1}$ (base seca) de lodo de curtume contendo 8100 $mg\ kg^{-1}$ de Cr. Segundo os autores, as grandes variações na fração de mineralização do carbono e no CBM estão relacionadas com a atividade microbiana e a classe textural de cada solo, teores de nitrogênio, carbono orgânico e cromo, poder de neutralização e à ação inoculante do lodo de curtume, que possui microrganismos adaptados ao meio e que podem ser atuantes na mineralização dos resíduos.

Konrad e Castilhos (2001), ao estudar a mineralização do carbono após incubarem por 240 dias 10 $Mg\ ha^{-1}$ (base seca) de lodo de curtume sem Cr, observaram valores da fração de mineralização de 16%. Fração de mineralização de 27% foi obtida por Castilhos, Vidor e Castilhos (2000) ao estudar a mineralização do carbono após incubar 60 $Mg\ ha^{-1}$ (base seca) de lodo do caleiro (isento de Cr) por 42 dias. O mesmo resultado foi observado por Aceves, Velásquez e Vázquez (2007) após incubarem por 180 dias 14 $Mg\ ha^{-1}$ (base seca) de lodo de curtume contendo 1663 $mg\ kg^{-1}$ de Cr, em

dois solos, sendo a média da meia-vida de mineralização de 53 dias. Barajas-Aceves e Dendooven (2001), ao estudarem a mineralização do carbono em diferentes solos que receberam 12 Mg ha^{-1} (base seca) de lodo de curtume com Cr (6.690 mg kg^{-1}), obtiveram valor médio da fração de mineralização igual a 31%, em 70 dias de incubação. Martines, Andrade e Cardoso (2006), ao aplicarem até 24 Mg ha^{-1} (base seca) de lodo de curtume com teor de Cr reduzido (798 mg kg^{-1}), em três solos com classes texturais diferentes, observaram que a fração de mineralização do carbono foi em média de 68% para o Nitossolo Vermelho eutroférico muito argiloso, 80% para o Latossolo Vermelho Amarelo distroférico argiloso, e 82% para o Neossolo Quartzarênico arenoso, sendo a média da meia-vida de mineralização de 6 dias. Em geral, as alterações são mais evidentes nos 60 primeiros dias após a aplicação do lodo de curtume.

Correlação entre diferentes atributos foram observados por Margesin, Zimmerbauer e Schinner (2000), ao estudarem a degradação de hidrocarbonetos em solo, com e sem fornecimento de N-P-K. Segundo os autores, a respiração do solo apresentou correlação positiva com o CBM, desidrogenase e urease; e que o pH se correlacionou negativamente com CBM, desidrogenase e urease, sendo que a velocidade de degradação dos hidrocarbonetos aumentou com o fornecimento de N-P-K.

2.1.5 Enzimas do solo

As enzimas que agem no solo, por apresentarem uma estreita relação com os processos bioquímicos envolvidos na ciclagem dos nutrientes, têm sido utilizadas como indicadores de qualidade no monitoramento das alterações ambientais decorrentes do uso agrícola de resíduos (MARGESIN; ZIMMERBAUER; SCHINNER, 2000; TAYLOR et al., 2002). Durante o processo de mineralização dos resíduos, enzimas extracelulares (produzidas por animais, plantas e microrganismos) e intracelulares (associadas às células microbianas) atuam na hidrólise de moléculas orgânicas e na oxirredução dos produtos hidrolisados. As principais enzimas que apresentam potencial de utilização na avaliação da qualidade do solo são a celulase e amilase (ciclo do C), urease,

asparaginase (ciclo do N), amidase e glutaminase (ciclo do C e N) e desidrogenase (sistema de transporte de elétrons) (DICK, 1994; NANNIPIERI, 1994; ALEF; NANNIPIERI, 1995; ARAÚJO; MONTEIRO, 2007). Em geral, os métodos para a determinação da atividade de enzimas extracelulares em amostras de terra envolvem a adição de um substrato adequado e a incubação, por determinado tempo, seguindo-se a quantificação do produto da transformação do substrato ou da quantidade do mesmo que ainda restou.

Conforme descrito anteriormente, a maioria dos estudos desenvolvidos com lodo de curtume visou avaliar o efeito de altos teores de Cr contido no lodo primário de curtumes que não separavam os efluentes do curtimento. Kamaludeen et al. (2003), ao estudarem uma área que recebeu resíduos de curtume e apresentava na camada de 0-10 cm três níveis de contaminação por Cr (1,5, 47,8 e 102 g kg⁻¹), observaram redução de 89% e 81% na atividade da desidrogenase nos maiores níveis de contaminação, sendo 3,4 e 4,0 mg Kg⁻¹ os teores de Cr⁶⁺ trocável (extração com K₂HPO₄), respectivamente. Segundo os autores, a redução na atividade da desidrogenase em solos que receberam lodo de curtume está correlacionada com a biodisponibilidade de Cr⁶⁺. Aceves, Velásquez e Vázquez (2007), ao adicionarem 250 mg kg⁻¹ de Cr⁶⁺ em três solo, na forma de K₂Cr₂O₇, observaram redução em até 100% na atividade da desidrogenase. Por outro lado, quando a mesma quantidade de Cr⁶⁺ foi adicionada juntamente com 12,5 g kg⁻¹ (base seca) de lodo de curtume, a atividade enzimática foi estimulada. Segundo os autores, o aumento na atividade da desidrogenase pode ser atribuído ao aporte de nitrogênio e carbono facilmente degradável que estimulam o crescimento dos microrganismos e pelo fato de o lodo de curtume ter complexado o Cr⁶⁺, tornando-o indisponível, atenuando seu efeito negativo na comunidade microbiana. Em geral, o Cr presente no lodo de curtume encontra-se na forma trivalente sendo sua oxidação para forma hexavalente maior em solos com elevado teor de Mn⁴⁺ e baixo teor de carbono orgânico (BARAJAS-ACEVES; CORONA-HERNANDEZ; RODRIGUEZ-VÁZQUEZ, 2007).

2.1.6 Lixiviação de nitrogênio no solo

As quantidades de lodo a serem aplicadas visando à nutrição nitrogenada das culturas devem atender a dois objetivos, fundamentalmente: satisfazer as necessidades de N das plantas, e evitar a geração de nitrato em quantidades excessivas que venham a lixiviar no perfil do solo, colocando em risco a qualidade das águas subsuperficiais (GANGBAZO et al., 1995).

Em geral, os solos tropicais apresentam baixa capacidade de troca aniônica (CTA), implicando a livre permanência do N-NO_3^- na solução do solo (DYNIA; SOUZA; BOEIRA, 2006). Em consequência disso, o N-NO_3^- presente na camada arável do solo que não for aproveitado pelas plantas fica sujeito à lixiviação, podendo, ao longo do tempo, atingir o lençol freático e os corpos de água por ele alimentados. Altas concentrações de nitrato na água utilizada para consumo humano ($>10 \text{ mg L}^{-1}$) podem causar metahemoglobinemia, doença que dificulta o transporte de oxigênio na corrente sanguínea (MEURER et al., 2000) e câncer, em decorrência da formação de nitrosaminas e nitrosamidas, além de problemas reprodutivos (TOWNSEND et al., 2003). Alguns dos fatores que influenciam a magnitude das perdas de nitrogênio mineral por lixiviação são: fração de mineralização do nitrogênio orgânico do resíduo, taxa e frequência de aplicação do resíduo, manejo do solo, taxa de absorção de N pela cultura, características do perfil do solo que afetam a percolação, quantidade e tempo de precipitação e/ou irrigação (HAVLIN et al., 2005).

Alcântara et al. (2007) observaram, em estudo de laboratório, que em média 36% do N contido no lodo do caleiro foram mineralizados, sendo que metade desse valor foi alcançado com 25 dias de incubação. Barajas-Aceves e Dendooven (2001), ao estudarem a mineralização do nitrogênio em diferentes solos que receberam 320 mg kg^{-1} de N via lodo de curtume, observaram uma variação na concentração de N-NH_4^+ no solo de 38 a 70 mg kg^{-1} até 28 dias de incubação, período após o qual as concentrações de NH_4^+ tenderam a zero. Efeito contrário foi verificado com o teor de N-NO_3^- no solo que se manteve próximo de zero até os 28 dias de incubação, quando passou a aumentar até alcançar teores em torno de 60 mg kg^{-1} aos 70 dias de incubação. Resultados semelhantes foram encontrados por Aceves, Velásquez e

Vázquez (2007), ao adicionarem $12,5 \text{ g kg}^{-1}$ (base seca) de lodo de curtume em três solos. Segundo os autores, os maiores teores de N-NH_4^+ foram observados aos 30 dias após a incubação, com posterior diminuição e aumento do teor de N-NO_3^- até os 120 dias. A mineralização do N e a grande proporção de N-NH_4^+ contidos no lodo de curtume resultam na formação de NO_3^- , contudo ainda são escassos estudos relacionados à lixiviação desse ânion em solo acrescido de lodo de curtume.

Em estudo com lodo de esgoto, Dynia et al. (2006) observaram intensa lixiviação do nitrato no perfil de um Latossolo cultivado com 5 ciclos de milho que recebeu em cada ciclo, via lodo de esgoto, até 8 vezes a dose de N recomendada para a cultura. Esses autores verificaram que 45% do N total aplicado na maior dose (total de 207 Mg ha^{-1} de lodo correspondendo a 8960 kg ha^{-1} de N após 5 anos) via lodo de esgoto, encontrava-se distribuído na camada de 0,6-3 m na forma de nitrato, alcançando teores de 150 mg kg^{-1} de N-NO_3^- a 3 metros de profundidade, indicando potencial de contaminação do lençol freático. Kelling et al. (1977) encontraram significativas perdas de nitrogênio por lixiviação em Molissolos cultivados com cereais que receberam 2720 e 5440 kg ha^{-1} de N total, via lodo de esgoto produzido anaerobicamente. Num período de 10 a 15 meses após a aplicação do resíduo, amostras de solução do solo coletadas na camada de 1,2 a 1,5 m, apresentaram picos de concentração de N-NO_3^- , que variaram de 78 a 93 e 136 a 225 mg L^{-1} , acima dos valores observados no controle, respectivamente para a menor e a maior dose aplicada. Para tratamentos com doses menores de lodo, equivalentes a 1360 kg ha^{-1} de N total, os teores de N-NO_3^- nas amostras de solução do solo, coletadas na mesma camada, não apresentaram alterações em relação ao controle.

Após a aplicação de 4080 kg ha^{-1} de N total por meio de um composto à base de lodo de esgoto, Inman et al. (1982) também encontraram concentrações elevadas de N-NO_3^- , variando de 70 a 80 mg L^{-1} em amostras de solução do solo coletadas a 1 m de profundidade num Ultissol. No entanto, podem ter ocorrido picos de concentração ainda mais elevados, pois o monitoramento da solução do solo foi iniciado apenas 267 dias após a aplicação dos resíduos. Avaliando as concentrações de N-NO_3^- a 0,8 m de profundidade num Ultissol sob floresta, Aschmann et al. (1992) observaram em área de reflorestamento que doses de até 200 kg ha^{-1} de N total, aplicadas via lodo de esgoto

de tratamento aeróbio, não ofereceram riscos de contaminação de águas subterrâneas. Em condições de clima e cobertura vegetal semelhantes aos de Aschmann et al. (1992), Medalie et al. (1994) verificaram ser possível a aplicação de até 740 kg ha^{-1} de N total via lodo de esgoto anaeróbio num Inceptissol. A comparação entre estes estudos evidencia que o potencial de perda de N-NO_3^- por lixiviação não depende apenas do clima, do tipo de solo e cobertura vegetal, mas também de características do lodo, principalmente aquelas determinadas pelo processo de geração do resíduo. Sobre este aspecto, Shepherd (1996) verificou maiores perdas por lixiviação em solos arenosos tratados com lodo de esgoto digerido e líquido, seguido por lodo digerido desidratado e lodo cru.

2.2 Material e Métodos

2.2.1 Caracterização da área e delineamento experimental

O experimento foi instalado em julho de 2006, em área agrícola localizada no município de Rolândia, região Norte do Estado do Paraná, Brasil (latitude: $23^\circ 17' \text{S}$, longitude: $51^\circ 29' \text{W}$, altitude: 650 m). Durante o período experimental foi monitorada a precipitação pluvial, a temperatura do ar e do solo a 5 cm de profundidade (Figura 1). O clima local é classificado, segundo Köppen, como Cfa, com precipitação média anual de 1600 mm, ocorrendo principalmente de setembro a março.

A área experimental é manejada há mais de 10 anos em sistema de semeadura direta com rotação das culturas soja ou milho no verão e trigo ou aveia no inverno. O solo da área experimental foi classificado como Nitossolo Vermelho distroférico (EMBRAPA, 2006), de textura muito argilosa. A caracterização química e granulométrica do solo foi realizada em amostras de terra coletadas nas camadas de 0-10, 10-20, 20-40 e 40-60 cm, secas em estufa a 40°C , por 48 horas, peneiradas (malha 2 mm) e homogeneizadas (Tabela 1). Os teores de C e N totais foram obtidos por combustão a seco em analisador elementar (NELSON; SOMMERS, 1996). O pH foi determinado por potenciometria, em solução de CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, em mistura de solo solução na proporção de 1:2,5; P, Ca, Mg e K foram extraídos com resina trocadora de

íons, sendo o P determinado espectrofotometricamente pelo complexo azul de molibdênio, o K por espectrometria de emissão de chama, Ca e Mg por espectrometria de absorção atômica em chama; H + Al foi determinado por potenciometria em solução SMP a pH 7,0; Al foi extraído com solução de KCl (1 mol L^{-1}) e determinado por titulometria com NaOH; Na foi extraído com solução de cloreto de amônio (1 mol L^{-1}) e determinado por espectrometria de emissão de chama; B extraído com água quente e determinado espectrofotometricamente; Cu, Fe, Mn, Zn e Cr extraídos com solução DTPA a pH 7,3 e determinados por espectrometria de absorção atômica em chama (RAIJ et al., 2001). As frações areia, silte e argila foram determinadas empregando-se o método da pipeta (CAMARGO et al., 1986).

Figura 1 - Precipitação e temperaturas médias mensais do ar e do solo durante o período experimental.

Tabela 1 - Caracterização química e granulométrica do solo

Variável	Profundidade (cm)			
	0-10	10-20	20-40	40-60
pH (CaCl ₂)	5,5	4,9	4,8	5,0
C total (g dm ⁻³)	24,3	20,7	15,7	13,1
N total (g kg ⁻¹)	5,7	5,8	5,5	5,0
P (mg dm ⁻³)	34,0	10,7	3,8	2,3
K (mmol _c dm ⁻³)	4,4	3,3	2,7	1,4
Ca (mmol _c dm ⁻³)	55,3	30,5	24,0	19,5
Mg (mmol _c dm ⁻³)	17,5	7,8	8,5	6,5
Na (mmol _c dm ⁻³)	0,1	0,4	0,3	0,2
H + Al (mmol _c dm ⁻³)	42,3	52,5	46,0	42,5
Al (mmol _c dm ⁻³)	1,0	2,5	2,3	1,5
CTC (mmol _c dm ⁻³) ⁽¹⁾	119,6	94,5	81,5	70,1
Saturação por bases (%) ⁽²⁾	64,5	44,0	43,5	39,3
B (mg dm ⁻³)	0,3	0,3	0,2	0,2
Cu (mg dm ⁻³)	11,5	10,4	8,1	5,2
Fe (mg dm ⁻³)	16,8	13,5	8,5	6,5
Mn (mg dm ⁻³)	89,5	90,7	63,7	31,9
Zn (mg dm ⁻³)	3,6	1,1	0,6	0,5
Cr (mg dm ⁻³)	ND ⁽³⁾	ND ⁽³⁾	ND ⁽³⁾	ND ⁽³⁾
Argila (%)	74	76	80	84
Silte (%)	6	6	6	6
Areia (%)	20	18	14	10

⁽¹⁾ Capacidade de troca catiônica a pH 7,0 → CTC = H + Al + Ca + Mg + K + Na;

⁽²⁾ Saturação por bases → SB = (Ca + Mg + K + Na) × 100/CTC;

⁽³⁾ Elemento não detectado → ND.

O delineamento experimental foi de blocos completos casualizados, com quatro repetições. Os tratamentos foram: controle, 120, 480, 840 e 1200 kg ha⁻¹ de N total adicionados via lodo de curtume, correspondendo respectivamente a 0, 3,4, 13,5, 23,6 e 33,7 Mg ha⁻¹ de lodo de curtume (base seca), com aplicação em julho de 2006 (Foto 1A). A dose de 120 kg ha⁻¹ correspondeu à exigência de N para a obtenção de altos níveis de produtividade de milho (IAPAR, 2003). As doses de lodo foram calculadas com base no teor total de N contido no lodo de curtume.

Antes da aplicação das doses de lodo de curtume, nas parcelas dos tratamentos controle, 120 kg ha⁻¹ e 1200 kg ha⁻¹ de N total, foram instalados tensiômetros a 1,1 m e 1,3 m e uma cápsula de porcelana (WAGNER, 1962) a 1,2 m, com a finalidade monitorar o potencial matricial de água no solo (ψ_m) e coletar solução do solo, respectivamente. As coletas de solução do solo foram realizadas sempre que o potencial matricial atingiu valores abaixo de 200 mm Hg após ocorrência de chuvas. As cápsulas de porcelana foram submetidas a ciclos de vácuo de 600 mm Hg, com utilização de bomba manual, por um período de até três dias a fim de obter pelo menos

300 mL de solução (Foto 1B). Ainda no campo, as amostras de solução do solo foram conservadas a 4 °C e mantidas a essa temperatura até o momento das análises.

O lodo foi aplicado com umidade natural na superfície do solo, em parcelas com 52 m² de área útil, onde permaneceu por 91 dias. Durante esse período foi determinada a perda de nitrogênio por volatilização da amônia pelo uso de câmaras coletoras (Figura 1C), realizadas duas amostragens de terra (aos 4 dias - Época 1, e aos 79 dias - Época 2, após a aplicação das doses de lodo). Coletas de solução do solo foram realizadas aos 58, 144, 175 e 212 dias após a aplicação do lodo de curtume.

Aos 91 dias após a aplicação, o lodo de curtume foi incorporado ao solo por meio de grade (Foto 1D), na profundidade de 0-20 cm, com posterior semeadura da cultura de milho (híbrido AG 8088, stand 35.000 plantas por ha), com distância entre linhas de 80 cm. Foi realizada uma adubação de base, em linha, com 41 kg ha⁻¹ de P e 38 kg ha⁻¹ de K em todos os tratamentos, pelo uso de fertilizante formulado 0-30-15. Durante o plantio do milho (106 dias após a aplicação do lodo) foi instalado um sexto tratamento, tratamento agrônômico (TA), que recebeu 40 kg ha⁻¹ de N no plantio e 80 kg ha⁻¹ de N em cobertura aos 28 dias após o plantio (6 a 8 folhas totalmente expandidas), na forma de uréia (Foto 1E). Aos 35 dias após o plantio foi realizada a terceira amostragem de terra (Época 3), correspondendo a 141 dias após aplicação do lodo. A quarta amostragem de terra foi realizada depois da colheita da cultura de milho, após 301 dias (Época 4) da aplicação do lodo. O resto cultural do milho foi roçado para facilitar a semeadura direta da aveia preta (sem fertilizante) com espaçamento entre linhas de 17,25 cm, aos 310 dias após a aplicação do lodo, sendo essa cultura conduzida até o estágio de florescimento, 390 dias após a aplicação do lodo (Foto 1F).

2.2.2 Caracterização do lodo de curtume

O lodo de curtume utilizado no experimento é resultante do processamento de peles bovinas no Curtume Vanzella Ltda., localizado no município de Rolândia - PR. Foi composto da mistura na proporção de 1:1 do lodo de caleiro, gerado na etapa de depilação e caleiro, e do lodo primário da ETE, resultante da precipitação dos efluentes gerados no processo, com exceção dos efluentes que contêm Cr. A mistura desses

lodos em partes iguais é justificada em função de os mesmos serem gerados em maiores quantidades e praticamente na mesma proporção. Após a mistura dos lodos, foram coletadas amostras, conservadas a 4 °C e enviadas ao laboratório, onde cada amostra foi dividida em duas subamostras: (A) mantida com umidade natural; (B) seca a 65 °C por 48 h.

Na subamostra (A) foram determinados os teores de N-NH_4^+ e $\text{N-NO}_3^- + \text{N-NO}_2^-$ pelo método da destilação com arraste a vapor (MULVANEY, 1996); pH e CE com leituras diretas nas amostras, sólidos totais e sólidos voláteis por secagem a 65 °C e 500 °C, respectivamente (APHA, 2005). A subamostra (B) foi submetida à determinação das concentrações de carbono orgânico pelo método da oxidação com dicromato sob aquecimento externo (NELSON; SOMMERS, 1996); N total, pelo método Kjeldahl, usando bloco digestor (BREMNER, 1996); poder de neutralização, por alcalimetria (BRASIL, 2007); Ca, Mg, K, P, S, Na, Mn, Fe, B, Zn, Cu, Mo, Al, As, Cd, Pb, Hg, Ni, Se, Cr total por digestão nítrica em microondas e leitura em ICP-AES (USEPA, 1986), sendo o K e Na determinados em fotômetro de chama (Tabela 2).

Foto 1 - Instalação e condução do experimento. (A) aplicação do lodo de curtume; (B) coleta de solução do solo; (C) coletor de amônia volatilizada; (D) incorporação do lodo; (E) aplicação de uréia em cobertura no tratamento agrônômico TA; (F) aveia no estágio de florescimento

Tabela 2 - Caracterização físico-química do lodo de curtume utilizado no experimento

Variável	Valores Aplicação
pH ⁽¹⁾	12,7
CE (dS m ⁻¹) ⁽¹⁾	29,5
Sólidos totais, a 65°C (g kg ⁻¹)	53,3
Sólidos Voláteis (g kg ⁻¹)	442
Poder de neutralização (g de CaCO ₃ kg ⁻¹)	262
C orgânico (g kg ⁻¹)	308
N total (g kg ⁻¹)	35,7
N-NH ₄ ⁺ (g kg ⁻¹)	20,4
N-NO ₃ ⁻ (g kg ⁻¹)	0,2
Relação C/N	8,7
Ca (g kg ⁻¹)	78,9
Mg (g kg ⁻¹)	0,7
K (g kg ⁻¹)	0,1
P (g kg ⁻¹)	3,9
S (g kg ⁻¹)	36,1
Na (g kg ⁻¹)	10,0
Mn (mg kg ⁻¹)	2858
Fe (mg kg ⁻¹)	408
B (mg kg ⁻¹)	4,5
Zn (mg kg ⁻¹)	43,3
Cu (mg kg ⁻¹)	4,5
Mo (mg kg ⁻¹)	3,3
Al (mg kg ⁻¹)	2257
As (mg kg ⁻¹)	<1,0 ⁽²⁾
Cd (mg kg ⁻¹)	<1,0 ⁽²⁾
Pb (mg kg ⁻¹)	<1,0 ⁽²⁾
Hg(mg kg ⁻¹)	<1,0 ⁽²⁾
Ni (mg kg ⁻¹)	3,0
Se (mg kg ⁻¹)	<1,0 ⁽²⁾
Cr total (mg kg ⁻¹) ⁽³⁾	1613

Resultados expressos em base seca a 65 °C por 48 h; ⁽¹⁾Resultados expressos na amostra *in natura*;

⁽²⁾Concentrações menores que o limite de detecção; ⁽³⁾Teor máximo de Cr permitido em lodo de esgoto destinado a agricultura 1000 mg kg⁻¹ (base seca) (BRASIL, 2006).

As quantidades de alguns elementos, aplicados no solo via lodo de curtume em cada uma das quatro doses estão apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3 - Quantidades de alguns elementos adicionados via doses de lodo de curtume

Elementos	Doses de lodo de curtume (Mg ha^{-1})			
	3,4	13,4	23,5	33,6
C orgânico (kg ha^{-1})	1035,3	4141,2	7247,1	10352,9
N total (kg ha^{-1})	120,0	480,0	840,0	1200,0
N- NH_4^+ (kg ha^{-1})	68,6	274,3	480,0	685,7
N- NO_3^- (kg ha^{-1})	6,7	26,9	47,1	67,2
Ca (kg ha^{-1})	265,2	1060,8	1856,5	2652,1
Mg (kg ha^{-1})	2,4	9,4	16,5	23,5
K (kg ha^{-1})	0,3	1,3	2,4	3,4
P (kg ha^{-1})	13,1	52,4	91,8	131,1
S (kg ha^{-1})	121,3	485,4	849,4	1213,4
Na (kg ha^{-1}) ⁽¹⁾	33,6	134,5	235,3	336,1
Mn (kg ha^{-1})	9,6	38,4	67,2	96,1
Fe (kg ha^{-1})	1,4	5,5	9,6	13,7
Zn (kg ha^{-1})	0,1	0,6	1,0	1,5
Al (kg ha^{-1})	7,6	30,3	53,1	75,9
Cr (kg ha^{-1}) ⁽²⁾	5,4	21,7	38,0	54,2

⁽¹⁾Segundo norma P 4.233, o limite máximo permitido de Na aplicado anualmente em solos arenosos e silto-arenosos é 400 kg ha^{-1} e para solos orgânicos, siltosos, silto-argilosos e argilosos é 1000 kg ha^{-1} (CETESB, 1999); ⁽²⁾Limite máximo permitido de Cr total no solo em área agrícola 150 mg kg^{-1} de Cr (CETESB, 2005).

2.2.3 Perda de nitrogênio por volatilização da amônia

A quantificação do nitrogênio volatilizado na forma de amônia foi realizada durante 89 dias, no período em que o lodo de curtume foi mantido na superfície do solo, por meio de câmara tipo semi-aberta estática, conforme o modelo desenvolvido por Nômmik (1973) e modificado por Cantarella et al. (2003), onde, ao invés de se usar uma base para cada câmara, foram utilizadas cinco bases sobre as quais as câmaras foram rotacionadas. As câmaras consistiram de tubos de PVC com área da base de coleta de $0,027 \text{ m}^2$ e 40 cm de altura, no interior das quais foram colocados dois discos de espuma de polietileno com 2 cm de espessura e densidade de $0,03 \text{ g cm}^{-3}$, embebidos

com aproximadamente 70 mL de uma solução armadilha com ácido fosfórico (50 mL L^{-1}) e glicerina (40 mL L^{-1}). O primeiro disco, colocado a 9 cm da superfície do solo, serve para absorver o N-NH_3 volatilizado do solo. O segundo disco, localizado a 9 cm acima do primeiro, serve para proteger o primeiro disco da amônia proveniente da atmosfera externa. A parte superior da câmara foi coberta com uma tampa de plástico, deixando-se um espaço de 1 cm para a passagem do ar.

Para viabilizar a estimativa da quantidade de amônia volatilizada, buscou-se maximizar a uniformidade da aplicação das doses de lodo de curtume nas áreas sobre as quais as câmaras foram instaladas. Dessa forma, as bases foram cobertas com saco plástico durante a aplicação do lodo na parcela, recebendo, imediatamente após esse procedimento, a quantidade precisa de lodo, proporcional à área da base da câmara.

As espumas foram substituídas periodicamente com intervalos de dois a quatro dias ou logo após a ocorrência de chuva. Sempre que as espumas foram substituídas, as câmaras foram mudadas para a base adjacente da mesma parcela. Quando a substituição era realizada devido a ocorrência de chuva, a base que estava com a câmara recebia água deionizada equivalente à precipitação do período em que a base ficou com a câmara. As espumas substituídas eram acondicionadas e levadas ao laboratório para determinação dos teores de amônia volatilizados no período.

A extração da amônia retida na solução embebida na espuma mais próxima do solo foi realizada por meio de oito a dez lavagens sucessivas com solução de KCl (1 mol L^{-1}). Após o ajuste do volume desta solução para 500 mL, procedeu-se a destilação de uma alíquota de 20 mL, em destilador com arraste a vapor (MULVANEY, 1996), adicionando-se 5 mL de NaOH (10 mol L^{-1}) em cada amostra. O destilado foi recolhido em Erlenmeyer com 10 mL de solução de ácido bórico mais indicador, sendo titulado com H_2SO_4 ($0,0025 \text{ mol L}^{-1}$ ou $0,02 \text{ mol L}^{-1}$).

2.2.4 Coleta e processamento das amostras de terra

As amostragens de terra foram realizadas nas camadas de 0-10, 10-20, 20-40 e 40-60 cm de profundidade, coletando-se nove sub-amostras por parcela para formar uma amostra composta. Ainda no campo, as amostras foram divididas em duas

subamostras: (A) enviadas ao laboratório onde foram secas a 40 °C, em estufa de circulação forçada de ar, peneiradas (malha 2 mm) e homogeneizadas para determinação do pH. (B) conservadas a 4 °C desde o momento da coleta até seu processamento no laboratório, onde foram fracionadas em duas partes, sendo uma parte mantida a 4 °C, para posteriores avaliações microbiológicas e enzimáticas (camada de 0-10 cm) e a outra parte congelada a -20 °C para posterior determinação do N-NH_4^+ e N-NO_3^- . Também foi determinada a umidade do solo a 105 °C nas amostras coletadas em todas as profundidades a fim de expressar os valores analíticos com base no solo seco.

2.2.5 Amônio, nitrato e pH

O amônio e nitrato foram determinados nas amostras de terra coletadas em todas as profundidades e também na solução do solo. O N-NH_4^+ das amostras de terra foi extraído com KCl (2 mol L^{-1}) na relação 1:10 (5 g de solo com umidade natural + 50 mL de KCl). O teor de N-NH_4^+ no extrato foi determinado mediante o emprego de um sistema de análise de injeção em fluxo contínuo (ASIA-Ismatec, Suíça) com alcalinização da amostra, microdifusão e leitura em espectrofotômetro a 605 nm na presença do indicador bromocresol púrpura (0,0074 mol L^{-1}).

O N-NO_3^- foi determinado por espectrofotometria em ultravioleta, com adição de HCl (1 mol L^{-1}) na relação 1:5 (v:v), para evitar interferências de hidróxidos e carbonatos. A leitura foi feita em 220 nm e 275 nm. Para o cálculo do N-NO_3^- foi utilizada a equação: $(A - (2 \cdot B))$, sendo A absorvância a 220 nm e B absorvância a 275 nm (APHA, 2005).

O pH do solo foi determinado por meio de potenciômetro em solução de CaCl_2 (0,01 mol L^{-1}) na proporção 1:2,5 (v/v) nas amostras coletadas na camada de 0-10 cm.

2.2.6.1 Atributos microbiológicos e enzimas do solo

Para as análises baseadas em NMP de microrganismos, 10 g de terra com umidade natural foram suspensos por 30 minutos a 200 rotações por minuto (rpm) em

90 mL de solução salina NaCl ($0,145 \text{ mol L}^{-1}$) e 200 μL de Tween 80. Partindo dessa suspensão (10^{-1}), foram realizadas diluições sucessivas, tomando-se 1 mL e misturando em 9 mL de solução salina NaCl $0,145 \text{ mol L}^{-1}$. A partir dos resultados obtidos em cada um dos meios de cultura, procedeu-se à estimativa do NMP por grama de solo com base em uma tabela de probabilidades (Cochran, 1950).

2.2.6.1.1 Estimativa do NMP de microrganismos amonificadores

A estimativa do número mais provável (NMP) de microrganismos amonificadores foi realizada de acordo com o método sugerido por Sarathchandra (1978). Foram inoculados 250 μL de cinco diluições sucessivas (10^{-5} a 10^{-9}) em cinco microtubos de ensaio (réplicas) contendo 1 mL do meio de cultura autoclavado. Os microtubos permaneceram em aerobiose por cinco dias em sala escura e climatizada com temperatura constante de 28°C . A ocorrência de microrganismos amonificadores foi detectada pela mudança da cor do meio de cultura de amarelo para lilás, pela presença do indicador vermelho de fenol, devido à produção de amônia que, em função de seu caráter básico, consome prótons, elevando o pH do meio durante sua conversão ao íon amônio. Após o período de incubação, foi verificado o número de microtubos de ensaio positivos, ou seja, aqueles em que o meio de cultura apresentou amônio.

2.2.6.1.2 Estimativa do NMP de microrganismos desnitrificadores

A estimativa do NMP de microrganismos desnitrificadores foi realizada segundo metodologia sugerida por Tiedje (1996). Foram inoculados 250 μL de cinco diluições sucessivas (10^{-4} a 10^{-8}) em cinco microtubos de ensaio (réplicas) contendo 1 mL do meio de cultura autoclavado. Os microtubos permaneceram em anaerobiose por 14 dias em sala escura e climatizada com temperatura constante de 28°C . A ausência de nitrato ou nitrito foi determinada pela não reação do meio de cultura na presença do reagente difenilamina. Após o período de incubação, foi verificado o número de microtubos de ensaio positivos, ou seja, aqueles em que o meio de cultura não

apresentou nitrato ou nitrito (o meio de cultura permanece incolor na presença de difenilamina).

2.2.6.1.3 Estimativa do NMP de bactérias cultiváveis

A estimativa do NMP de bactérias cultiváveis foi realizada segundo método de plaqueamento por gotas, sugerido por Jahnel, Cardoso e Dias (1999). O meio de cultura utilizado foi composto de: 1000 mL de água destilada, 10 g de ágar, 3 g de extrato de carne, 10 g NaCl e 5 g de peptona. Foram inoculados 100 μ L de cinco diluições sucessivas (10^{-4} a 10^{-8}) em 0,9 mL do meio de cultura, o qual foi depositado na forma de gotas de 40 μ L (cinco réplicas) em placa de Petri esterilizada. As placas de Petri foram vedadas e mantidas em sala escura e climatizada com temperatura constante de 28°C por 48 horas. Após o período de incubação, foi verificado, com auxílio de uma lupa, o número de gotas positivas, ou seja, aquelas em que ocorreu o crescimento de pelo menos uma colônia bacteriana.

2.2.6.1.4 Estimativa do NMP de fungos cultiváveis

A estimativa do NMP de fungos foi realizada segundo método de plaqueamento por gotas, sugerido por Jahnel; Cardoso e Dias (1999). O meio de cultura utilizado foi o meio de Martin, com exclusão do rosa-bengala, sendo esse composto de: 1000 mL de água destilada, 10 g de ágar, 1 g KH_2PO_4 , 1 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 5 g peptona, 10 g dextrose e 0,06 g estreptomicina. Foram inoculados 100 μ L de cinco diluições sucessivas (10^{-3} a 10^{-7}) em 0,9 mL do meio de cultura, o qual foi depositado na forma de gotas de 40 μ L (cinco réplicas) em placa de Petri esterilizada. As placas de Petri foram vedadas e mantidas em sala escura e climatizada com temperatura constante de 28°C por 48 horas. Após o período de incubação, foi verificado, com auxílio de uma lupa, o número de gotas positivas, ou seja, aquelas em que ocorreu o crescimento de pelo menos uma hifa fúngica.

2.2.6.1.5 Respiração do solo

A atividade microbiana foi determinada através da respiração do solo em amostras de 100 g de terra com umidade corrigida para 60% da capacidade máxima de retenção de água. As amostras foram incubadas em frascos respirométricos por 8 dias e mantidas em sala escura e climatizada com temperatura constante de 28 °C. O CO₂ liberado foi capturado em solução de NaOH (0,5 mol L⁻¹). A quantificação do carbono liberado na forma de C-CO₂ foi determinada por meio da titulação do NaOH, com solução padronizada de HCl (0,25 mol L⁻¹), usando como indicador a fenolftaleína e com precipitação prévia do carbonato mediante a adição de 1 mL de solução de BaCl₂ (4 mol L⁻¹) (ALEF; NANNIPIERI, 1995).

2.2.6.1.6 Carbono da biomassa microbiana

O carbono da biomassa microbiana foi determinado utilizando-se o método de fumigação e extração (VANCE; BROOKES; JENKINSON, 1987). Foram pesadas e colocadas em frascos de vidro duas subamostras de 10 g de terra com umidade corrigida para 60% da capacidade máxima de retenção de água. Uma das subamostras sofreu fumigação com clorofórmio (CHCl₃) livre de etanol por um período de 24 horas e a outra subamostra não sofreu fumigação (controle). Ambas subamostras sofreram extração do carbono com 40 mL de K₂SO₄ (0,5 mol L⁻¹) sob agitação a 180 rpm por 30 minutos. As suspensões foram filtradas com papel de filtro qualitativo nº 42. O carbono orgânico contido no filtrado foi determinado por oxidação com dicromato de potássio 66,7 mmol L⁻¹ (K₂Cr₂O₇) em meio fortemente ácido e titulação com Fe(NH₄)₂(SO₄)₂·6H₂O (33,3 mmol L⁻¹), na presença do indicador difenilamina sulfonato de bário (1%). O cálculo do carbono da biomassa microbiana foi efetuado por meio da fórmula: C-biomassa = (C_f-C_{nf})/k_c, sendo C_f (C da subamostra fumigada, em mg kg⁻¹), C_{nf} (C da subamostra não fumigada, em mg kg⁻¹) e k_c (fator de correção, 0,4) (ROSCOE et al., 2006).

2.2.6.1.7 Desidrogenase

Para determinar a atividade da desidrogenase as amostras de terra com umidade natural foram misturadas com CaCO_3 na relação 1:100 (m:m), sendo adicionado 1 mL de uma solução de cloreto de trifetil tetrazólio 1,5% (TTC) a 5 g da mistura e incubados a 37 °C por 24 horas (TABATABAI, 1996). O cloreto de trifetil tetrazólio reduzido a trifetil formazan (TPF) foi extraído com 10 mL de metanol. A atividade da desidrogenase foi determinada em espectrofotômetro a 485 nm e expressa em $\mu\text{g TPF g}^{-1} 24 \text{ h}^{-1}$ a 37 °C.

2.2.6.1.8 Asparaginase e glutaminase

As atividades da asparaginase e glutaminase foram determinadas em tampão Tris(hidroximetil)aminometano (THAM) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ a pH 10, na presença de L-asparagina ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$) ou L-glutamina ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$), respectivamente (TABATABAI, 1996). Foram misturados 1 g de terra com umidade natural, 0,2 mL de tolueno, 9 mL da solução de THAM e 1 mL da solução de L-asparagina ou L-glutamina, e incubado a 37 °C por 2 horas. O N-NH_4^+ foi extraído com uma solução contendo KCl ($2,5 \text{ mol L}^{-1}$) e Ag_2SO_4 ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$) e determinado pelo método da destilação com arraste a vapor (MULVANEY, 1996). As atividades foram expressas em $\mu\text{g N g solo}^{-1} 2 \text{ h}^{-1}$.

2.2.6.1.9 Urease

A atividade da urease foi determinada em tampão Tris(hidroximetil)aminometano (THAM) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ a pH 9, na presença de uréia ($0,2 \text{ mol L}^{-1}$) (TABATABAI, 1996). Foi misturado 1 g de terra com umidade natural, 0,2 mL de tolueno, 9 mL da solução de THAM e 1 mL da solução de uréia, e incubado a 37 °C por 2 horas. O N-NH_4^+ foi extraído com uma solução contendo KCl ($2,5 \text{ mol L}^{-1}$) e Ag_2SO_4 ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$) e determinado pelo método da destilação com arraste a vapor (MULVANEY, 1996). A atividade da urease foi expressa em $\mu\text{g N g solo}^{-1} 2 \text{ h}^{-1}$.

2.2.6.1.10 Amilase

A atividade da amilase foi determinada em tampão de acetato de sódio (2 mol L^{-1}) a pH 5,5 na presença de amido (2% m:v) (SCHINNER; Von MERSE, 1990). Foram misturados 10 g de terra com umidade natural, 15 mL da solução de acetato, 15 mL da solução de amido e incubados a 37°C por 24 horas. Os açúcares redutores produzidos foram quantificados em espectrofotômetro a 690 nm, pelo método do Azul da Prússia. Atividade da amilase foi expressa em μg de glicose $\text{g}^{-1} 24 \text{ h}^{-1}$ a 37°C .

2.2.7 Produtividade e análise química de plantas

No estágio de maturação fisiológica todas as plantas de milho de duas linhas de 10 m cada tiveram as espigas separadas, sendo os grãos secos ao ar e a umidade corrigida a 13% para determinação da produtividade.

No estágio de florescimento da aveia foi coletada a parte aérea de todas as plantas existentes em dois metros lineares de cada parcela para determinação da massa de matéria seca da parte aérea (MSPA) a 60°C .

Os grãos de milho e parte aérea da aveia foram secos em estufa com circulação forçada de ar à temperatura de 60°C até atingir massa constante. Em seguida os materiais vegetais foram moídos em moinho tipo “Wiley”, equipado com peneira de malha 0,85 mm para determinação do teor de N por destilação com araste a vapor após digestão sulfúrica (BATAGLIA et al., 1983).

2.2.8 Análise dos dados

Para estimar o N-NH_3 volatilizado ao longo do tempo, empregou-se um modelo baseado na equação de Michaelis-Menten proposto por Sommer e Ersbøll (1994): $N(t) = N_{\text{max}} \cdot (t/(t+K_m))$, sendo $N(t) = \text{N-NH}_3$ acumulado no tempo t , em kg ha^{-1} ; $N_{\text{max}} = \text{N-NH}_3$ máximo volatilizado, quando o tempo tende ao infinito, em kg ha^{-1} ; $K_m =$ tempo necessário para que ocorra a volatilização de metade do N_{max} , em dias; e $t =$ tempo após a aplicação, em dias. Os valores foram submetidos à regressão não-linear por

meio do programa estatístico SAS Versão 8.02 (SAS, 1999). A fração do $N_{\max}$ volatilizado (V_f) foi expressa como porcentagem do nitrogênio total ou do $N-NH_4^+$, aplicados via lodo de curtume.

Os valores de $N-NH_4^+$, pH, $N-NO_3^-$, densidade populacional de grupos funcionais de microrganismos, respiração do solo, CBM, atividade enzimática, produtividade de grão, produtividade de matéria seca da parte aérea e teor de N na parte aérea da foram submetidos à análise de variância e regressão linear por meio do programa estatístico SAS Versão 8.02 (SAS, 1999). Os gráficos foram elaborados com as médias, sendo apresentadas apenas as regressões significativas ($P < 0,05$).

Os atributos microbiológicos e enzimáticos foram submetidos à análise de curva de resposta principal (principal response curve, PRC) com o intuito de ordenar a contribuição de cada atributo para a separação dos tratamentos ao longo do tempo, em relação ao controle. O software utilizado foi o CANOCO 4.5 (Ter BRAAK; ŠMILAUER, 1988).

Para estimar o teor de N mineral ($N-NH_4^+ + N-NO_2^-$) nas camadas de solo estudadas em função da dose de N total aplicada, chuva e do tempo, foi utilizado um modelo linear generalizado com distribuição de Poisson e função de ligação log link por meio do programa estatístico BRODGAR 2.5.1 (HIGHLAND STATISTICS, 2006). As regressões foram obtidas para cada camada, sendo as épocas de amostragem tratadas como repetições independentes em função da subtração em cada camada, do valor de N mineral do controle. Também foi considerada a quantidade de água aplicada via dose de lodo de curtume. A variável dependente foi o N mineral e as variáveis independentes foram a camada de solo, tempo de amostragem (dias após a aplicação do lodo) e chuva acumulada entre as épocas de amostragem.

2.3 Resultados e Discussão

2.3.1 Perda de nitrogênio por volatilização da amônia

A quantidade de NH_3 volatilizada aumentou em função da dose de lodo, sendo as emissões mais intensas nos 30 primeiros dias, com decréscimo acentuado das perdas após esse período (Figura 2). A maior volatilização logo nos primeiros dias após a aplicação do lodo de curtume é atribuída ao aumento da concentração de N-NH_4^+ no solo em função das doses, alcançando aos quatro dias após a aplicação, na maior dose ($1200 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N total}$), um teor de 186 mg kg^{-1} (Figura 3). Esse aumento inicial no teor de N-NH_4^+ no solo deve-se à quantidade dessa espécie química contida no lodo de curtume, o qual representou 57% do total de nitrogênio adicionado na aplicação do resíduo. A dissociação do NH_4^+ na solução do solo produz $\text{NH}_3 + \text{H}^+$, sendo o equilíbrio dependente do pH do meio, da concentração de NH_4^+ e da temperatura (SOMMER et al. 2003). O aumento da concentração de N-NH_4^+ na solução do solo e da temperatura tende a deslocar o equilíbrio químico entre o N-NH_4^+ e N-NH_3 , favorecendo a formação de N-NH_3 (GÉNERMONT; CELLIER 1997). Søggaard et al. (2002), em estudo de modelagem de N-NH_3 volatilizado devido a aplicação de resíduos animais, observaram aumento de 2% na volatilização para o acréscimo de um grau centígrado na temperatura do ar.

Um dos principais fatores que contribuíram para o aumento da volatilização de N-NH_3 com o aumento das doses foi provavelmente a elevação do pH do solo (GÉNERMONT; CELLIER 1997; SØGAARD et al., 2002; SOMMER et al., 2003; MATSUNAKA et al. 2008), que apresentou uma resposta linear ao aumento das doses, na época 1 e quadrática nas demais épocas de amostragem (Figura 4). Em uma solução pura de NH_4^+ a 25°C e pH 7,2, cerca de 1% do N amoniacal total está na forma de NH_3 , sendo a proporção aumentada em 10 vezes a cada elevação de uma unidade de pH. Em solos, a presença de outros componentes e o poder tampão do meio alteram as constantes de equilíbrio (SOMMER et al., 2003; SØGAARD et al., 2002) e perdas substanciais podem ocorrer a pH pouco acima de 7.

O aumento do pH do solo deve-se à alcalinidade do lodo de curtume utilizado, que apresentava poder de neutralização da acidez do solo equivalente a 262 gramas de CaCO_3 por quilograma de lodo (Tabela 1). A alcalinidade do lodo decorre do uso quantidades expressivas de Ca(OH)_2 , correspondente a 50 kg do produto por m^3 de lodo produzido. Dessa forma, a própria característica do resíduo já é propícia à volatilização de NH_3 . Contudo, o efeito corretivo do solo pode ser temporário diferentemente do efeito mais duradouro quando se utiliza calcários compostos por CaCO_3 e MgCO_3 (FERREIRA et al., 2003; KRAY et al., 2008).

Figura - 2 Amônia volatilizada e acumulada durante 89 dias após a aplicação de lodo de curtume. Temperatura máxima do ar (T_{max}), temperatura mínima do ar (T_{min}) e chuva acumulada em intervalos 10 dias. Barras verticais indicam o desvio padrão da média

Figura 3 - Teor de N-NH_4^+ no solo em função das doses de N total aplicadas via lodo de curtume. Amostragens de solo realizadas a 0-10 cm de profundidade. $y_{\text{Época 1}} = -7.10^{-5}x^2 + 0,22x + 18,30$ $R^2 = 0,97^{**}$; $y_{\text{Época 2}} = 8,1.10^{-3}x + 0,53$ $R^2 = 0,68^{**}$; $y_{\text{Época 3}} = 2,7.10^{-3}x + 5,60$ $R^2 = 0,46^{**}$; sendo as épocas correspondentes a 4, 79, 141, 301 dias após a aplicação do lodo. $P < 0,01$

Figura 4 - pH do solo em função das doses de N total aplicadas via lodo de curtume. Amostragens de solo realizadas a 0-10 cm de profundidade. $y_{\text{Época 1}} = 6.10^{-4}x + 5,68$ $R^2 = 0,76^{**}$; $y_{\text{Época 2}} = 4,7.10^{-7}x^2 - 3.10^{-4}x + 5,19$ $R^2 = 0,45^*$; $y_{\text{Época 3}} = 5,95.10^{-7}x^2 + 4,46.10^{-5}x + 5,14$; $y_{\text{Época 4}} = 7,6.10^{-7}x^2 - 2.10^{-4}x + 5,27$; sendo as épocas correspondentes a 4, 79, 141, 301 dias após a aplicação do lodo. $^{**} P < 0,01$; $^* P < 0,05$

Em solos que receberam grandes quantidades de nitrogênio amoniacal ou orgânico, a nitrificação acompanhada pela remoção de bases por lixiviação deve ser considerada como um dos principais fatores responsáveis pela acidificação do solo. A nitrificação além de liberar H^+ contribui para diminuir a volatilização de NH_3 , reduzindo a quantidade de $N-NH_4^+$ no sistema (SOMMER et al., 2003). Esse efeito pode ser constatado pelo aumento linear no teor de $N-NO_3^-$ na época 2 (Figura 5) na camada de 0-10 cm, 79 dias após a aplicação do lodo. Além disso, a perda de NH_3 por volatilização reduz a alcalinidade do meio e desloca o equilíbrio $NH_4^+ \leftrightarrow NH_3 + H^+$ favorecendo o aumento da concentração de $N-NH_4^+$. Esses processos poderiam explicar a diminuição da volatilização de NH_3 30 dias após as aplicações. Barajas-Aceves e Dendooven (2001), ao estudarem a mineralização do nitrogênio em diferentes solos que receberam 320 mg kg^{-1} de N total via lodo de curtume, observaram aumento na concentração de $N-NH_4^+$ no solo que variaram de 38 a 70 mg kg^{-1} até 28 dias de incubação, período após o qual as concentrações de NH_4^+ tenderam a zero. Efeito contrário foi verificado para o $N-NO_3^-$ no solo que se manteve próximo de zero até os 28 dias de incubação, quanto passou a aumentar até alcançar teores em torno de 60 mg kg^{-1} aos 70 dias de incubação. Rochette et al. (2000), após aplicarem 60 e 120 kg ha^{-1} de N total via chorume de suíno em um solo argiloso, constataram que todo o $N-NH_4^+$ foi nitrificado 90 dias após a aplicação. Dessa forma, o pH resultante do poder neutralizante do lodo, em oposição à acidificação causada pela nitrificação, depende do poder tamponante do solo e do teor de nitrogênio orgânico e/ou amoniacal contido no lodo de curtume como observado nas épocas 2, 3 e 4 (Figura 4).

A umidade do solo também é um fator que contribui para a volatilização de NH_3 . Diversos trabalhos concluíram que a volatilização de $N-NH_3$ foi reduzida quando a aplicação de chorume de origem animal foi realizada em solos secos, mesmo com a temperatura do ar e do solo acima de 20°C (SØGAARD et al., 2002; SOMMER et al., 2003; MATSUNAKA et al., 2008). A interação entre umidade do solo e perda de NH_3 é complexa. A água pode contribuir para lixiviar o N amoniacal de lodos e fertilizantes ao longo do perfil do solo onde este pode reagir com a fração coloidal, reduzindo as perdas de NH_3 ; por outro lado, a evaporação de água é um componente importante para a manutenção da volatilização (MARTIN; CHAPMAN, 1951). Desse modo, a magnitude

das perdas depende da combinação da umidade inicial do solo, tempo e quantidade de chuva, e dos fatores que afetam a evaporação da água, tais como temperatura do ar e velocidade do vento. Sommer e Jacobsen (1999), ao aplicarem chorume de suíno observaram um aumento de 30% na emissão de NH_3 com o aumento da umidade do solo de 1% para mais de 80%. No presente trabalho, o lodo aplicado apresentou cerca de 94% de água, correspondendo a aplicação de lâminas de água de 6, 24, 42 e 60 mm, nas respectivas doses testadas.

Figura 5 - Teor de N-NO_3^- no solo em função das doses de N total aplicadas via lodo de curume. Amostras de solo realizadas a 0-10 cm de profundidade. $y_{\text{Época 1}} = -2,65 \cdot 10^{-5}x^2 + 0,041x + 11,27$ $R^2 = 0,76^{**}$; $y_{\text{Época 2}} = 0,088x + 18,35$ $R^2 = 0,87^{**}$; $y_{\text{Época 3}} = 3 \cdot 10^{-5}x^2 + 0,019x + 19,76$ $R^2 = 0,95^{**}$; $y_{\text{Época 4}} = 7,1 \cdot 10^{-3}x + 7,80$ $R^2 = 0,45^{**}$; sendo as épocas correspondentes a 4, 79, 141, 301 dias após a aplicação do lodo. $P < 0,01$

O aumento da umidade do solo de 16% no controle, para 26% na maior dose (Figura 6), também contribuiu para aumentar a volatilização de N-NH_3 . Esse efeito da umidade provavelmente perdurou apenas nos 30 primeiros dias após a aplicação, período em que houve as maiores volatilizações (Figura 2). Nesse período ocorreu precipitação pluvial de apenas 11 mm, fator que contribuiu para a volatilização de N-NH_3 mais intensa nos 30 primeiros dias, uma vez que períodos chuvosos logo após a

aplicação de lodo de curtume poderiam lixiviar o N-NH_4^+ da superfície do solo (SIERRA et al., 2001).

Figura 6 - Umidade do solo em função das doses de N total aplicadas via lodo de curtume. Amostragens de solo realizadas a 0-10 cm de profundidade, 4 dias após a aplicação do lodo.
 $y_{\text{Época 1}} = 8,5 \cdot 10^{-3}x + 15,774$ $R^2 = 0,92^{**}$. $P < 0,01$

O modelo empregado para estimar o N-NH_3 volatilizado em função do tempo foi utilizado por Sommer e Ersbøll (1994) no estudo de volatilização de NH_3 em solos que receberam chorume bovino e suíno. O ajuste dos dados coletados foi altamente significativo e com coeficientes de determinação (R^2) maiores que 0,67 (Tabela 4). Além disso, o ajuste da equação de primeira ordem entre os valores estimados para perdas máximas de NH_3 (N_{max}) e as perdas de NH_3 acumuladas nos períodos avaliados, foi altamente significativo, com coeficiente de determinação de 0,99 (Figura 7).

Tabela 4 - Doses de lodo de curtume, nitrogênio total e N-NH₄ adicionados via lodo, N-NH₃ volatilizado e acumulado durante 89 dias, N-NH₃ máximo volatilizado quando o tempo tende ao infinito (N_{max}), tempo necessário para que ocorra a volatilização de metade do N_{max} (K_m) e fração do nitrogênio volatilizada (V_f)

Doses de lodo (Mg ha ⁻¹)	N total aplicado (kg ha ⁻¹)	N-NH ₄ aplicado (kg ha ⁻¹)	NH ₃ volatilizado (kg ha ⁻¹)	N _{max} ⁽¹⁾ (kg ha ⁻¹)	K _m ⁽¹⁾ (dia)	R ²	V _f (N total) ⁽²⁾ (%)	V _f (N-NH ₄) ⁽³⁾ (%)
Controle	0	0	3,3±0,2	12,0	232	0,94**	-	-
3,4	120	69	13,7±1,4	15,5	13	0,87**	12,9	22,5
13,5	480	275	105,5±21,8	118,8	9	0,67**	24,7	43,2
23,6	840	481	156,5±24,8	170,5	12	0,79**	20,3	35,5
33,7	1200	688	209,5±23,3	243,2	16	0,90**	20,3	35,5

⁽¹⁾N(t)= N_{max} × (t/(t+K_m)); ⁽²⁾V_f= (N_{max}/N total aplicado) × 100; ⁽³⁾V_f= (N_{max}/N-NH₄⁺ aplicado) × 100. P<0,01.

Figura 7 - Relação entre a volatilização líquida e o N-NH₃ potencialmente volatilizado (N_{max}), calculado pela equação de cinética química, para as duas aplicações. $y=1,13x$ $R^2= 0,99^{**}$. $P<0,01$

O N_{max} aumentou proporcionalmente às doses aplicadas variando de 15 a 243 kg ha⁻¹ de N-NH₃, sendo o K_m em média de 13 dias (Tabela 4). Resultados semelhantes foram encontrados por Matsunaka et al. (2008) ao estudarem a volatilização de N-NH₃ em diferentes condições de temperatura do ar, umidade do solo e pH. Segundo os autores, o aumento do N_{max} em função da dose é devido principalmente ao teor de N-NH₄⁺ contido no chorume utilizado. Estudos conduzidos

com lodo de esgoto indicaram que o nitrogênio na forma de N-NH_4^+ (30 a 35% do nitrogênio total) foi a principal fonte de volatilização (ADAMSEN; SABEY, 1987; HARMEL et al., 1997). Valores de K_m de 13 e 9 dias são considerados baixos e indicam que uma elevada fração do nitrogênio total foi perdida na forma de NH_3 logo após a aplicação (SØGAARD et al., 2002).

A fração do nitrogênio total volatilizada na forma de N-NH_3 foi em média de 20%. Considerando a fração do N-NH_4^+ volatilizada na forma de NH_3 , esse valor corresponde em média a 34% (Tabela 4). Kirchmann et al. (1988) estimaram que em média, 30% do N contido em resíduos orgânicos animais são perdidos para atmosfera na Europa Ocidental, mas, esses valores podem variar de 5 a 30% (SOMMER et al., 2003). Rochette et al. (2008), ao aplicarem 140 kg ha^{-1} de N via chorume de suíno na superfície do solo, constataram que ~25% do nitrogênio total aplicado foi perdido na forma de N-NH_3 ou o equivalente a 50% do N-NH_4 aplicado. O efeito da temperatura também pode ser importante. Mulvaney et al. (2008), ao simularem a aplicação de excrementos de gado sobre a pastagem no Alabama (EUA), observaram que a fração do N-NH_4^+ volatilizada na forma de N-NH_3 variou de 1,8% no inverno para 20,9% durante o verão. As baixas perdas (4%) do N contido em cama de frango aplicada por Marshall et al. (1998) em pastagem estavam relacionadas com o baixo teor de N-NH_4^+ contido no resíduo (~13% do N total), absorção do NH_4^+ e mesmo NH_3 gasoso pelas plantas, baixa umidade do solo (~19%) e baixa temperatura do ar (~19 °C). Adamsen e Sabey (1987), ao aplicarem 250 kg ha^{-1} de N via lodo de esgoto na superfície do solo, observaram, após 12 semanas, que a fração do N-NH_4^+ volatilizada na forma de NH_3 foi de 42,2%, mais intensas nas duas primeiras semanas.

As perdas de NH_3 são geralmente provenientes do N-NH_4^+ adicionado pelo resíduo estudado, podendo ser desconsiderada a contribuição N-NH_4^+ oriundo da mineralização do nitrogênio orgânico (SOMMER et al., 2003). A mineralização do nitrogênio orgânico dos resíduos é lenta em regiões de clima temperado e o aporte de N-NH_4^+ ocorre pela mineralização em um período posterior à máxima volatilização de NH_3 fornecida pelo resíduo. Contudo, para as condições do presente experimento, em que a estimativa da volatilização foi realizada em longo período (89 dias), sob clima subtropical, deve-se ponderar que o aporte de N-NH_4^+ via mineralização do nitrogênio

orgânico contido no lodo do caleiro tenha sido expressivo. Alcântara et al. (2007) observaram, em estudo de laboratório, que em média 36% do N contido no lodo do caleiro foi mineralizado, com K_m de 25 dias.

Não há trabalhos relacionando perdas de N por volatilização em função da aplicação de lodo de curtume em solos. Em muitas situações, esse resíduo tem sido aplicado ao solo sem a preocupação com a contaminação atmosférica pela volatilização de $N-NH_3$. Além disso, quando o resíduo é adicionado ao solo visando o suprimento de N para uma determinada cultura, há que se considerar que parte desse N pode ser perdido por volatilização. Nesse contexto, a correlação entre o N_{max} e o N total aplicado na forma de lodo de curtume pode auxiliar a estimar a quantidade de $N-NH_3$ que pode ser perdida, visto que há uma relação positiva e significativa entre essas duas variáveis (Figura 8). Essa estimativa foi realizada para as condições experimentais já citadas anteriormente, sendo que essas podem variar em função de diversos fatores. A aplicação ao solo, seguida de incorporação, ou aplicação em pastagens, possivelmente poderia reduzir a quantidade de NH_3 volatilizada a valores próximos de zero, conforme demonstrado em outros trabalhos (ADAMSEN; SABEY, 1987; MALGERYD, 1998; WEBB et al., 2004; ROCHETTE et al., 2008).

Figura - 8 Relação entre o nitrogênio total aplicado via lodo de curtume e o $N-NH_3$ potencialmente volatilizado (N_{max}), calculado pela equação de cinética química. $y = 0,20x$ $R^2 = 0,98^{**}$. $P < 0,01$

2.3.2 Densidade de grupos funcionais de microrganismos no solo

A aplicação de doses crescentes de lodo de curtume favoreceu o aumento dos microrganismos amonificadores (Figura 9A), desnitrificadores (Figura 9B) e bactérias cultiváveis (Figura 9C) sendo os aumentos, na maior dose, de 45, 38 e 18% no log do NMP, respectivamente, em relação ao controle. Esse efeito ocorreu apenas na primeira época de amostragem, não sendo observada diminuição da densidade populacional dos grupos funcionais em nenhuma das épocas estudadas. Não foi observado efeito significativo das doses de lodo aplicadas sobre a densidade de fungos cultiváveis em nenhuma das épocas de amostragem (Figura 9D).

Os microrganismos amonificadores desempenham papel fundamental no processo de mineralização do nitrogênio, convertendo formas orgânicas a minerais, cujo primeiro produto é a NH_3 , que pode ser volatilizada e/ou entrar em equilíbrio no solo formando NH_4^+ . Estudos conduzidos com o mesmo solo da área experimental demonstraram que o maior número de microrganismos amonificadores ocorreu logo nos primeiros dias após a adição do lodo, e o menor número ocorreu, em média, aos 74 dias (MARTINES, 2005). Segundo o autor, os microrganismos amonificadores apresentaram correlação positiva com o teor de N-NH_4^+ no solo, podendo ser utilizados como indicadores da mineralização do N orgânico contido no lodo de curtume. Como a relação C:N do resíduo é baixa (9:1), é de se esperar que o processo de mineralização supere o de imobilização do N pela comunidade microbiana, conforme constatado por Alcântara et al. (2007).

Figura 9 - Densidade populacional de grupos funcionais de microrganismos no solo em função das doses de N total aplicadas via lodo de curume. Amostragens de solo realizadas a 0-10 cm de profundidade. (A) NMP de microrganismos amonificadores [$y_{\text{Época 1}} = 2,1 \cdot 10^{-3}x + 5,56$ $R^2 = 0,81^{**}$], (B) NMP de microrganismos desnitrificadores [$y_{\text{Época 1}} = 1,7 \cdot 10^{-3}x + 5,36$ $R^2 = 0,68^{**}$], (C) Bactérias cultiváveis [$y_{\text{Época 1}} = 1 \cdot 10^{-3}x + 6,70$ $R^2 = 0,41^{**}$], (D) Fungos cultiváveis, sendo as épocas correspondentes a 4, 79, 141, 301 dias após a aplicação do lodo. $P < 0,01$

A desnitrificação é o único processo biológico de perda gasosa de N para a atmosfera, contribuindo para o efeito estufa e, conseqüentemente, para o aquecimento global (HALL; MATSON, 1999). O aumento do NMP de microrganismos desnitrificadores observado aos 4 dias após a aplicação do lodo (Época 1, Figura 9B), deve-se principalmente aos aumentos do carbono orgânico decorrentes da aplicação do lodo (31% da massa de matéria seca do lodo) (Tabela 3) e diminuição da concentração

de O_2 no ambiente edáfico (POLGLASE et al., 1995; BARTON et al., 1999; LUO; TILLMAN; BALL, 1999). A diminuição na concentração de O_2 nos microssítios do solo pode ser atribuída principalmente à quantidade de água, partículas finas, ácidos graxos e sais adicionados via lodo (ARAH et al., 1991), além do estímulo da atividade microbiana. Altas concentrações de íons (principalmente Na^+ e HCO_3^-) podem diminuir a porosidade e condutividade hidráulica do solo, por meio da expansão e dispersão das argilas (HALLIWELL, 2001; LEAL et al., 2009). Além disso, as partículas finas e os ácidos graxos podem causar o selamento dos macroporos dificultando a infiltração de água e trocas gasosas (BARROS et al., 2005). Entretanto, o efeito da adição do lodo nas populações de desnitrificadoras é temporário, visto que o NMP diminuiu nas demais épocas avaliadas, provavelmente em função da mineralização da fração lábil do lodo.

Paula (2008), ao estudar a aplicação em pastagem, de lâminas de efluente em excesso (25, 50 e 100% acima da demanda hídrica), observou aumento linear na densidade populacional de microrganismos desnitrificadores, decorrente do aporte de nutrientes e restrição de O_2 no sistema pelas lâminas excedentes de irrigação. Acea e Carballas (1988), estudando a adição de chorume de gado (5% de N) ao solo, em laboratório, observaram aumento transiente nas populações de microrganismos amonificadores e desnitrificadores nos solos que receberam o resíduo. Segundo esses autores, a queda no NMP dos microrganismos pode estar relacionada ao rápido consumo dos nutrientes fornecidos pelo resíduo, fenômenos de antibiose, formação de substâncias tóxicas ou ação de predadores e parasitas, que agem no controle de populações microbianas em ecossistemas naturais.

O fornecimento de nutrientes e a elevação do pH decorrente da aplicação do lodo podem ter contribuído para o aumento das populações de bactérias cultiváveis observado na época 1. Jahnel, Cardoso e Dias (1999) relataram que a aplicação de 50 mg kg^{-1} de Cr^{6+} , na forma de $K_2Cr_2O_7$ a uma amostra de solo argiloso reduziu o NMP de bactérias cultiváveis no solo em relação ao controle, enquanto que na presença de bagaço de cana (10 g kg^{-1}) e composto orgânico (30 g kg^{-1}), não houve redução, provavelmente devido à complexação do Cr^{6+} pelo material orgânico. Castilhos, Vidor e Castilhos (2000), após incubarem por 42 dias 60 Mg ha^{-1} (base seca) de lodo de curtume isento de Cr, observaram aumentos de 9 e 16% no Log de unidades formadoras de colônia

(UFC) por grama de solo, nas populações de actinobactérias e bactérias cultiváveis, respectivamente. Cavallet e Selbach (2008) verificaram que a adição de lodo de curtume com Cr até a dose proporcional a 60 Mg ha^{-1} , em vaso, estimulou, na maior dose, o aumento das populações de bactérias cultiváveis, não sendo observadas diferenças significativas nas populações de fungos cultiváveis em relação ao controle. Já Ferreira et al. (2003) não observaram diferenças significativas nas populações de bactérias cultiváveis em relação ao controle, aos 30, 120, 330 dias após aplicarem no campo $21,25 \text{ Mg ha}^{-1}$ (base seca) de lodo de curtume contendo 8100 mg kg^{-1} de Cr. Martines (2005), após aplicar 3, 6, 12, 24 e 36 Mg ha^{-1} de lodo de curtume em três solos com classes texturais diferentes, observou correlação positiva entre o NMP de microrganismos amonificadores e o carbono da biomassa microbiana, não sendo observada correlação entre o NMP de microrganismos amonificadores e NMP de bactérias cultiváveis.

A grande variação no NMP de bactérias cultiváveis encontrado pelos diversos autores pode estar relacionada com dificuldade em se cultivar esses microrganismos em meio de cultura artificial, uma vez que apenas uma pequena fração das bactérias do solo pode ser estimada por esse método (KANDELER, 2007). Essa mesma explicação pode ser atribuída à variação não significativa do NMP de fungos cultiváveis em todas as épocas de avaliação. Além disso, o aumento do pH decorrente da aplicação das doses de lodo interferem no desenvolvimento dos fungos, que são mais adaptados a valores de pH menores que 5 (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

2.3.3 Biomassa microbiana (CBM) e respiração do solo

A biomassa microbiana é um dos componentes que controlam a decomposição e o acúmulo de matéria orgânica no solo. A manutenção da matéria orgânica do solo é desejável para a sustentabilidade do uso da terra, em razão dos múltiplos benefícios que representa principalmente sobre a ciclagem de nutrientes e sobre as propriedades físicas do solo (TÓTOLA; CHAER, 2000). Entretanto, mudanças graduais e pequenas nos teores de matéria orgânica do solo podem ser difíceis de monitorar e detectar em curto prazo (SPARLING, 1992). Nesse contexto, o CBM, que possui comparativamente

uma taxa mais rápida (1 a 2 anos) de formação e decomposição (JENKINSON; LADD, 1981), tem sido sugerido como um indicador mais sensível na determinação de variações na fração orgânica do solo. A utilização do CBM como indicador de qualidade do solo tem se destacado nos estudos que envolvem comparações de sucessões ecológicas e sistema de manejo e cultivo (POWLSON et al., 1987; BALOTA; COLOZZI-FILHO; ANDRADE; HUNGRIA, 1998; MATSUOKA; MENDES; LOUREIRO, 2003; NOGUEIRA et al., 2006; MALUCHE-BARETTA et al., 2007; BARETTA; MALUCHE-BARETTA; CARDOSO, 2008). Estudos conduzidos no campo por períodos inferiores a um ano, com resíduos de fácil degradação, em que o efeito sobre a microbiota é transiente, tendem a não apresentar variações estáveis no CBM, como observado na época 1, 2 e 3 desse trabalho (Figura 10A). O Efeito quadrático do CBM, observado na época 4, pode ser decorrente do efeito residual (aporte de C e nutrientes) resultante da aplicação de $33,6 \text{ Mg ha}^{-1}$ de lodo (1200 kg ha^{-1} de N total). Ferreira et al. (2003), estudando aplicação de diferentes tipos e combinações de resíduos de curtume no campo, durante 330 dias, também não observaram efeito significativo do CBM. Trannin, Siqueira e Moreira (2007), ao estudarem em campo o efeito da aplicação de até 270 kg ha^{-1} de N via lodo da indústria de fibras e resinas de polietileno tereftalato, constataram, após dois ciclos de aplicação e cultivo de milho, aumentos, na maior dose, de 205% no CBM e 77% na respiração do solo, em relação ao controle.

A mineralização do carbono, medida por meio da respiração do solo, foi significativa em todas as épocas de avaliação (Figura 10B). A maior atividade foi observada na época 1 e diminuiu à medida que as fontes de carbono lábil foram mineralizadas. Assim como no presente estudo, Ferreira et al. (2003) observaram queda na respiração do solo ao longo do tempo. A existência de efeito significativo das doses em todas as épocas, mesmo aos 301 dias após a aplicação, indica que ainda restam formas de carbono, mesmo as mais recalcitrantes, passíveis de serem utilizadas como fonte de carbono e energia para a atividade microbiana do solo. Segundo Jahnel (1997), Castilhos et al. (2000) e Barajas-Aceves e Dendooven (2001), a maior liberação de C-CO_2 em solos recentemente tratados com lodo de curtume não se deve apenas à incorporação de matéria orgânica e nutrientes, mas também ao efeito corretivo e à ação inoculante do próprio lodo de curtume, que possui microrganismos adaptados ao meio,

capazes de atuar na degradação dos resíduos. Martines, Andrade e Cardoso (2006), ao aplicarem até 24 Mg ha⁻¹ (base seca) de lodo de curtume com Cr (798 mg kg⁻¹), em solos de três classes texturais, observaram que a fração de mineralização do carbono foi em média de 68% para o Nitossolo Vermelho eutroférico (muito argiloso), 80% para o Latossolo Vermelho Amarelo distroférico (argiloso), e 82% para o Neossolo Quartzarênico (arenoso), sendo a média da meia-vida de mineralização de 6 dias. Segundo os autores, o cromo na forma trivalente (Cr³⁺) presente no lodo de curtume parece não ter influenciado a degradação do carbono aplicado via resíduo, provavelmente pelo fato de encontrar-se em baixa concentração, quando comparado com outros lodos de curtume que não separam os efluentes que contêm cromo, nos quais podem ser encontrados até 36.000 mg kg⁻¹ (KONRAD; CASTILHOS, 2002). Além disso, o Cr³⁺ encontra-se complexado com a matéria orgânica do resíduo, mesmo quando presente em altas concentrações, o que inibe a sua disponibilidade e, portanto, seus efeitos sobre a comunidade microbiana do solo (AQUINO NETO; CAMARGO, 2000).

Figura 10 - Carbono da biomassa microbiana e respiração do solo em função das doses de N total aplicadas via lodo de curtume. Amostragens de solo realizadas a 0-10 cm de profundidade. (A) Carbono da biomassa microbiana [$y_{\text{Época 4}} = 9,22 \cdot 10^{-5}x^2 - 0,092x + 82,57$ $R^2=0,62^{**}$], (B) Respiração do solo [$y_{\text{Época 1}} = -1,83 \cdot 10^{-5}x^2 + 0,045x + 23,50$ $R^2= 0,80^{**}$; $y_{\text{Época 2}} = 2,41 \cdot 10^{-5}x - 0,016 + 12,09$ $R^2= 0,75^{**}$; $y_{\text{Época 3}} = 4,31 \cdot 10^{-6}x^2 + 0,0019x + 9,20$ $R^2= 0,71^{**}$; $y_{\text{Época 4}} = 3 \cdot 10^{-3}x + 4,92$ $R^2= 0,72^{**}$], sendo as épocas correspondentes a 4, 79, 141, 301 dias após a aplicação do lodo. $P<0,01$

2.3.4 Atividade enzimática do solo

As atividades das enzimas glutaminase (Figura 11A), urease (Figura 11B) e asparaginase (Figura 11C) aumentaram com a aplicação de doses crescentes de lodo de curtume na época 1, sendo os aumentos nas atividades, na maior dose, de 132, 332 e 1385%, respectivamente, em relação ao controle. A única enzima que ainda sofreu efeito significativo das doses na segunda época de avaliação foi a urease. Nas demais épocas, não foram observadas alterações significativas na atividade de nenhuma das enzimas avaliadas.

A urease atua como catalisadora na hidrólise da uréia, hidroxauréia, dihidroxauréia e semicarbazide (BREMNER; MULVANEY, 1978). Já a glutaminase e asparaginase atuam na hidrólise dos aminoácidos glutamina e asparagina, respectivamente, os quais representam de 7,3 a 12,6% do nitrogênio presente na matéria orgânica do solo (BREMNER, 1955). Embora essa fração seja relativamente pequena frente ao N total do solo, a atividade das enzimas relacionadas à hidrólise dessas frações pode dar uma idéia do estado da atividade biológica total do solo. O aumento na atividade enzimática 4 dias após a aplicação das doses de lodo de curtume (Época 1) deve-se provavelmente ao fornecimento de C orgânico lábil via lodo, aumento do teor de N orgânico, do pH e da atividade microbiana do solo (FRANKENBERGER; TABATABAI, 1991a,b; LONGO; MELO, 2005). A diminuição da atividade enzimática nas demais avaliações pode estar relacionada com a diminuição da atividade microbiana (Figura 10B) à medida que as formas de carbono de fácil degradação foram utilizadas, bem como do substrato utilizado pelas enzimas. Segundo Tabatabai e Frankenberger (1991a,b), a atividade dessas enzimas tende a diminuir com o aumento do teor de Cr^{3+} no solo. Entretanto, o teor de cromo aplicado ao solo via doses de lodo de curtume não afetou a atividade da glutaminase e urease, nem positiva, nem negativamente, visto que os ajustes da regressão não foram significativos nas demais épocas de coleta.

García-Gil et al. (2000) observaram que a aplicação de 80 Mg ha^{-1} de lodo de esgoto compostado em solo arenoso, durante nove anos, aumentou em 46% o C da biomassa microbiana e em mais de 100% a atividade da β - glicosidase, porém reduziu em 62% a atividade da fosfatase ácida, devido ao aumento de P solúvel, e em 28% a

atividade da urease, em razão dos altos teores de metais pesados presentes no composto. Trannin, Siqueira e Moreira (2007), ao estudarem em campo o efeito da aplicação de até 270 kg ha^{-1} de N para o cultivo de milho, via lodo da indústria de fibras e resinas de polietileno tereftalato, constataram, na maior dose, aumento de 267% na atividade da urease em relação ao controle, após dois ciclos de aplicação.

Figura 11 - Atividade enzimática no solo em função das doses de N total aplicadas via lodo de curtume. Amostragens de solo realizadas a 0-10 cm de profundidade. (A) Glutaminase [$y_{\text{Época 1}} = 0,372x + 336,94$ $R^2 = 0,83^{**}$], (B) Urease [$y_{\text{Época 1}} = 0,362x + 130,58$ $R^2 = 0,94^{**}$, $y_{\text{Época 2}} = 0,027x + 130,53$ $R^2 = 0,43^{**}$]; (C) Asparaginase [$y_{\text{Época 1}} = 0,366x + 31,71$ $R^2 = 0,94^{**}$], sendo as épocas correspondentes a 4, 79, 141, 301 dias após a aplicação do lodo. $P < 0,01$

Kizilkaya et al. (2005), estudando a aplicação de lodos de esgoto com diferentes relações C:N (3:1, 6:1 e 9:1) em doses de até 300 Mg ha^{-1} , observaram aumento na

atividade da urease em função das doses, atingindo valor máximo 15 dias após a aplicação, com diminuição gradual da atividade até os 90 dias. Segundo os autores, a atividade da urease também diminuiu com o aumento da relação C:N. Hojjati e Nourbakhsh (2007), após aplicarem $100 \text{ Mg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ de lodo de esgoto em área cultivada com trigo e milho sob irrigação, observaram, após 4 anos, aumento de 127% na atividade da glutaminase, em relação ao controle. Resultados semelhantes foram obtidos por Gigliotti, Giusquiani e Businelli (2001), após sete anos de aplicação de lodo de esgoto em área agrícola. Segundo os autores, o aumento do teor disponível de Cu, Ni e Zn não afetaram a atividade da asparaginase.

Amilase (Figura 12A) e a desidrogenase (Figura 12B) apresentaram aumento quadrático em decorrência da aplicação de lodo de curtume, com máxima atividade em torno de 600 kg ha^{-1} de N. A amilase catalisa a hidrólise das ligações glicosídicas α -1,4 de polissacarídeos a oligossacarídeos e glicose para que possa ser utilizada pelos microrganismos (RAUT et al., 2008). Já a desidrogenase representa a atividade metabólica da comunidade microbiana do solo pelo fluxo de elétrons provenientes da respiração (ALEF; NANNIPIERI, 1995). O resultado quadrático observado na atividade da amilase e desidrogenase podem estar relacionados com algum efeito limitante sobre a atividade microbiana, como a possível limitação do O_2 , altos teores de NO_3^- e Fe no solo, nas maiores doses de lodo ou ainda, a presença de algum componente tóxico no lodo (BREMNER; TABATABAI, 1973). O Cr presente no lodo provavelmente não foi o fator limitante, visto que efeito inibitório não foi verificado para as demais variáveis avaliadas, além de ter desaparecido nas avaliações subseqüentes

Figura 12 - Atividade enzimática no solo em função das doses de N total aplicadas via lodo de curtume. Amostras de solo realizadas a 0-10 cm de profundidade. (A) Amilase [$y_{\text{Época 1}} = -0,0003x^2 + 0,316x + 229,38$ $R^2 = 0,78^{**}$], (B) Desidrogenase [$y_{\text{Época 1}} = -3,39 \cdot 10^{-5}x^2 + 0,044x + 11,47$ $R^2 = 0,59^{**}$], sendo as épocas correspondentes a 4, 79, 141, 301 dias após a aplicação do lodo. $^{**} P < 0,01$

Kamaludeen et al. (2003), ao estudarem uma área que recebeu resíduos de curtume e apresentava três níveis de contaminação por Cr (1,5, 47,8 e 102 g kg⁻¹), na camada de 0-10 cm, observaram redução de 89% e 81% na atividade da desidrogenase nos maiores níveis de contaminação, sendo 3,4 e 4,0 mg kg⁻¹ os teores de Cr⁶⁺ trocável (extração com K₂HPO₄), respectivamente. Segundo os autores, a redução na atividade da desidrogenase em solos que receberam lodo de curtume está correlacionada com a biodisponibilidade de Cr⁶⁺. Aceves; Velásquez e Vázquez (2007), ao adicionarem 250 mg kg⁻¹ de Cr⁶⁺ em três solos, na forma de K₂Cr₂O₇, observaram redução em até 100% na atividade da desidrogenase. Por outro lado, quando a mesma quantidade de Cr⁶⁺ foi adicionada juntamente com 12,5 g kg⁻¹ (base seca) de lodo de curtume, a atividade enzimática foi estimulada. Segundo os autores, o aumento na atividade da desidrogenase pode ser atribuído ao aporte de nitrogênio e carbono facilmente degradável que estimulam o crescimento dos microrganismos e pelo fato de o lodo de curtume ter complexado o Cr⁶⁺, tornando-o indisponível e atenuando seu efeito negativo na comunidade microbiana. Em geral, o Cr presente no lodo de curtume encontra-se na forma trivalente, sendo sua oxidação para a forma hexavalente maior

em solos com elevado teor de Mn^{4+} e baixo teor de carbono orgânico (BARAJAS-ACEVES; VELÁSQUEZ; VÁZQUEZ, 2007). Essa oxidação do Cr não seria esperada, pelo menos logo após a aplicação do lodo, devido aos altos teores de carbono orgânico presentes no material.

Madejón et al. (2003), ao aplicarem $40 \text{ Mg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ de lodo de esgoto compostado em área cultivada com laranja Valência, observaram, após três anos, aumentos de 146 e 120% na atividade da desidrogenase e urease, respectivamente. Fernandes et al. (2005), ao estudarem em campo o efeito da aplicação de até $1792 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ de N para o cultivo de milho, via lodo de esgoto, constataram aumentos de 56 e 85% na atividade da amilase e urease, respectivamente, na maior dose em relação ao controle, após dois ciclos de aplicação. Raut et al. (2008) ao estudarem a atividade enzimática durante a compostagem de resíduos sólidos urbanos, observaram a máxima atividade da amilase 9 dias após a montagem da pilha de compostagem. Segundo os autores, a degradação do amido pode ser atribuída ao aumento da atividade microbiana e ao alto teor de compostos orgânicos biodegradáveis na fase inicial da mistura, que estimularam o crescimento microbiano e síntese enzimática.

2.3.4.1 Curva de resposta principal (PRC)

No geral, os efeitos da adição do lodo de curtume sobre a densidade de grupos funcionais de microrganismos, biomassa microbiana e atividade enzimática do solo foram significativos para a primeira época de avaliação, retornando a níveis semelhantes ao controle após esse período. O CBM e a respiração do solo foram os únicos atributos que apresentaram efeito significativo ainda aos 301 dias após a aplicação do lodo (Figura 12). A gama de respostas encontradas dificulta a seleção de indicadores biológicos de qualidade que possam ser utilizados no monitoramento de áreas agrícolas que recebem aplicação de resíduos, quando interpretados isoladamente. Dentro desse contexto, os métodos de estatística multivariada como PRC consideram as amostras e as variáveis em seu conjunto, permitindo extrair informações complementares, que a análise univariada não consegue evidenciar, auxiliando na

determinação dos indicadores de qualidade do solo (MOURA et al., 2006). O método da PRC é um método de ordenação que tem como base a análise de redundância parcial (p RDA), ajustada para todas as mudanças nos atributos avaliados ao longo do tempo, em comparação com um tratamento padrão (controle). A PRC extrai informação de apenas parte da variância que é explicada pelo fator empregado como tratamento (doses de lodo) e o tempo (épocas de amostragem do solo), que é utilizado como co-variável (LEPŠ; ŠMILAUER, 2003).

Com base no teste de permutações de Monte Carlo (499 permutações), foi verificado que o primeiro eixo canônico (y) foi significativo ($P < 0,01$) e explica 31% da variabilidade total (Figura 13).

Figura 13 - Curvas de resposta principal dos atributos do solo avaliados nas quatro épocas (4, 79, 141 e 301 dias após a aplicação do lodo) em função das doses de N total aplicadas via lodo de curture. Peso dos atributos avaliados (Bk); Atividade da glutaminase (GLU); Atividade da urease (URE); Atividade asparaginase (ASP); Atividade da amilase (AMI); Respiração do solo (RES); carbono da biomassa microbiana (CBM); NMP microrganismos amonificadores (AMO); Atividade da desidrogenase (DESI); NMP de microrganismos desnitrificadores (DESN); NMP de bactérias cultiváveis (BACT); NMP de fungos cultiváveis (FUNG)

A época um foi a que apresentou maior variabilidade, sendo o tratamento 120 kg ha⁻¹ de N via lodo a única que não se diferenciou do controle (Teste de Dunnet, $P < 0,05$).

0,01). Para as demais épocas, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos e o controle. O eixo Bk representa o peso de cada atributo isoladamente na PRC, estando diretamente correlacionado com a variabilidade total. Assim, as enzimas glutaminase, urease e asparaginase, que apresentam maiores valores de Bk, em módulo, são as mais indicadas para avaliar o efeito da aplicação de lodo de curtume.

2.3.5 Lixiviação de nitrogênio no solo

A variação do teor de N mineral no perfil do solo, nos diversos tratamentos, durante o período experimental, é apresentada na figura 14. Os teores de N mineral na época 1 foram 18, 73, 138, 171 e 212 mg kg⁻¹, no controle, e nas doses 120, 480, 840 e 1200 kg ha⁻¹ de N, respectivamente (Figura 14A). Nesse período não ocorreu precipitação pluviométrica, o que contribuiu para a manutenção do N mineral (NH₄⁺ predominante, Figura 3) na camada de 0-10 cm. Na segunda época, o N mineral, predominantemente na forma de NO₃⁻, se distribuiu ao longo do perfil em função da chuva (314 mm de chuva acumulada, Figura 14B), alcançando, na camada de 40-60 cm, as doses 120, 480, 840 e 1200 kg ha⁻¹ de N, teores 1,4, 2,7, 4,6 e 5,4 vezes maiores que o controle, respectivamente. Os teores encontrados na camada de 40-60 cm na época 3 (Figura 14C) foram semelhantes aos da época anterior, podendo ser observado que houve lixiviação na camada de 0-10 cm e acúmulo na cama de 20-40 cm. Nesse período, a cultura de milho já estava implantada com aproximadamente 9 folhas totalmente expandidas. A partir dessa época ocorreram chuvas intensas que lixiviaram o N mineral não absorvido pela cultura de milho (Figura 14D). O tratamento agrônômico (TA), que recebeu 120 kg ha⁻¹ de N via uréia, apresentou comportamento semelhante ao do controle na época 3 e 4. A maior lixiviação nas maiores doses deve-se principalmente à combinação de fatores como a rápida mineralização do N orgânico, aporte de NH₄⁺ via lodo (57% do N total), nitrificação e precipitação pluviométrica, que ocorreram durante as épocas 2 e 3, período em que não havia cobertura vegetal na área.

Intensa lixiviação de nitrato também foi observada por Dynia et al. (2006) no perfil de um Latossolo cultivado com 5 ciclos de milho que recebeu, em cada ciclo, via

lodo de esgoto, até 8 vezes a dose de N recomendada para a cultura. Esses autores verificaram que 45% do N total aplicado na maior dose (total de 207 Mg ha⁻¹ de lodo, correspondendo a 8960 kg ha⁻¹ de N após 5 anos), encontravam-se distribuídos na camada de 0,6-3 m na forma de nitrato, alcançando teores de 150 mg kg⁻¹ de N-NO₃⁻ a 3 metros de profundidade, o que indica potencial de contaminação do lençol freático.

Figura 14 - Efeito das doses de lodo no teor de N mineral (NH₄⁺ + NO₃⁻) no perfil do solo em 4 épocas de amostragem: (A) Época 1 (4 dias); (B) Época 2 (79 dias); (C) Época 3 (141 dias); (D) Época 4 (301 dias), após a aplicação de lodo. As épocas 3 e 4 correspondem ao período em que a cultura de milho esta em desenvolvimento. Chuva acumulada até a época de amostragem. Os teores médios estão apresentados no ponto médio de cada camada amostrada

A classe textural também pode influenciar a magnitude da lixiviação. Solos argilosos possuem maior capacidade de retenção de nitrogênio, principalmente na forma de NH_4^+ , do que solos arenosos. A maior capacidade de armazenamento de água dos solos argilosos reduz a percolação da água pelo perfil e, conseqüentemente, o arraste de nitrato para camadas inferiores do solo (SANGOI et al., 2003). Altos teores de nitrato na camada de 40-60 cm podem ser lixiviados, ao longo do tempo, para camadas mais profundas do solo até atingir o lençol freático e os corpos de água por ele alimentados.

A análise das amostras de solução do solo coletada a 1,2 m de profundidade aos 58 dias da aplicação, demonstrou que 208 mm de chuva acumulada já foram suficientes para causar aumentos significativos no teor de N-NO_3^- na maior dose (1200 kg ha^{-1}), em relação ao controle. Foram observados aos 202 dias após a aplicação do lodo, teores de 12,3, 16,6 e $150,4 \text{ mg L}^{-1} \text{ N-NO}_3^-$ no controle e nas doses 120, e 1200 kg ha^{-1} de N via lodo, respectivamente (Figura 15). Tais resultados corroboram os das análises de N mineral no solo e sua magnitude evidencia que doses elevadas de lodo de curtume podem implicar em risco de contaminação das águas subterrâneas, com apenas uma aplicação. É importante destacar que o teor de N-NO_3^- na solução do solo, decorrente da aplicação da menor dose de lodo de curtume (120 kg ha^{-1} de N), não apresentou diferença significativa em relação ao controle, em todas as amostragens de solução do solo.

Kelling et al. (1977) encontraram perdas significativas de nitrogênio por lixiviação em Molissolos cultivados com cereais que receberam 2720 e 5440 kg ha^{-1} de N total, via lodo de esgoto de tratamento anaeróbio. Num período de 10 a 15 meses após a aplicação do resíduo, amostras de solução do solo coletadas na camada de 1,2 a 1,5 m, apresentaram picos de concentração de N-NO_3^- , que variaram de 78 a 93 e 136 a 225 mg L^{-1} acima dos valores observados no controle, respectivamente para a menor e a maior dose aplicada. Para tratamentos com doses menores de lodo, equivalentes a 1360 kg ha^{-1} de N total, os teores de N-NO_3^- nas amostras de solução do solo, coletadas na mesma camada, não apresentaram alterações em relação ao controle.

Figura 15 - Teor de N-NO_3^- na solução do solo coletada a 1,2 m de profundidade, em função das doses de N total aplicadas via lodo de curture. Quantidade de chuva acumulada até o momento da coleta. Letras iguais dentro de cada coleta não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($P < 0,05$)

Após a aplicação de 4080 kg ha^{-1} de N total através de um composto à base de lodo de esgoto, Inman et al. (1982) também encontraram concentrações elevadas de N-NO_3^- , variando de 70 a 80 mg L^{-1} em amostras de solução do solo coletadas a 1 m de profundidade em um Ultissol. No entanto, podem ter ocorrido picos de concentração ainda mais elevados, pois, naquele caso, o monitoramento da solução do solo foi iniciado apenas 267 dias após a aplicação dos resíduos. Avaliando as concentrações de N-NO_3^- a 0,8 m de profundidade num Ultissol sob floresta, Aschmann et al. (1992) observaram que doses de até 200 kg ha^{-1} de N total, aplicadas em área de reflorestamento via lodo de esgoto aeróbio, não ofereceram riscos de contaminação de águas subterrâneas. Em condições de clima e cobertura vegetal semelhantes aos de Aschmann et al. (1992), Medalie et al. (1994) verificaram ser possível a aplicação de até 740 kg ha^{-1} de N total via lodo de esgoto anaeróbio num Inceptissol.

A lixiviação do N mineral em função da profundidade, tempo de amostragem (dias após a aplicação do lodo) e chuva acumulada pode ser mais bem interpretada por

meio do modelo linear generalizado com distribuição de Poisson (88,9% de confiança) determinado com os dados coletados (Tabela 5). Essa estimativa foi realizada para as condições experimentais já citadas anteriormente e pode auxiliar na determinação de doses com menor potencial de poluição do ambiental.

Tabela 5 - Modelo linear ajustado para estimar o teor de N mineral em cada camada estudada, em função da dose de N total aplicada, chuva e tempo

Camada (cm)	Equações
0-10	$\text{N mineral} = e^{(2,968 + (9,58 \cdot 10^{-5} \times \text{Dose}) + (3,93 \cdot 10^{-3} \times \text{Chuva}) + (-0,0101 \times \text{Tempo}) + (1,39 \cdot 10^{-5} \times \text{Dose} \times \text{Tempo}) + (1,86 \cdot 10^{-6} \times \text{Dose} \times \text{Chuva}) + (-1,04 \cdot 10^{-5} \times \text{Chuva} \times \text{Tempo}) + (-1,59 \cdot 10^{-8} \times \text{Dose} \times \text{Chuva} \times \text{Tempo}))}$
10-20	$\text{N mineral} = e^{(1,841 + (5 \cdot 10^{-4} \times \text{Dose}) + (6,97 \cdot 10^{-3} \times \text{Chuva}) + (2,95 \cdot 10^{-3} \times \text{Tempo}) + (8,57 \cdot 10^{-6} \times \text{Dose} \times \text{Tempo}) + (-3,99 \cdot 10^{-5} \times \text{Chuva} \times \text{Tempo}))}$
20-40	$\text{N mineral} = e^{(2,24 - (3,26 \cdot 10^{-4} \times \text{Dose}) + (4,12 \cdot 10^{-3} \times \text{Chuva}) + (4,44 \cdot 10^{-3} \times \text{Tempo}) + (1,27 \cdot 10^{-5} \times \text{Dose} \times \text{Tempo}) + (2,95 \cdot 10^{-6} \times \text{Dose} \times \text{Chuva}) + (-2,54 \cdot 10^{-5} \times \text{Chuva} \times \text{Tempo}) + (-1,91 \cdot 10^{-8} \times \text{Dose} \times \text{Chuva} \times \text{Tempo}))}$
40-60	$\text{N mineral} = e^{(2,284 + (2,96 \cdot 10^{-5} \times \text{Dose}) + (-8,97 \cdot 10^{-4} \times \text{Chuva}) + (9,75 \cdot 10^{-3} \times \text{Tempo}) + (5,90 \cdot 10^{-6} \times \text{Dose} \times \text{Tempo}) + (5,68 \cdot 10^{-6} \times \text{Dose} \times \text{Chuva}) + (-1,05 \cdot 10^{-5} \times \text{Chuva} \times \text{Tempo}) + (-2,44 \cdot 10^{-8} \times \text{Dose} \times \text{Chuva} \times \text{Tempo}))}$

N mineral= Nitrogênio mineral (NH_4^+ + NO_3^-) estimado pelo modelo em mg kg^{-1} ; Dose= quantidade de nitrogênio aplicada via lodo em kg ha^{-1} ; Chuva= chuva em mm; Tempo= dias após a aplicação. Confiança do modelo 88,9%; Akaike information criterion (AIC) = 551,76

2.3.6 Produtividade do milho e efeito residual do lodo

O efeito da aplicação de doses crescentes de lodo de curtume na produtividade de grãos foi quadrático e significativo (Figura 16). A produtividade máxima de grãos foi alcançada com a dose de 521 kg ha^{-1} de N via lodo de curtume, que representou um ganho de produtividade de 13% e 11% em relação ao controle e ao tratamento agrônômico, respectivamente. A maior exigência nutricional da cultura de milho estende-se do estágio 3 até o 5 (pleno florescimento) (FANCELLI; DOURADO NETO, 2000). De acordo com o modelo de lixiviação de N mineral (Tabela 5) pode-se constatar que, para a dose de 521 kg ha^{-1} de lodo, os teores de N mineral foram 2,2, 2,9, 2,1 e 3,4 vezes maiores que o controle nas camadas de 0-10, 10-20, 20-40 e 40-60 cm, respectivamente, 186 dias após a aplicação (florescimento). Isso indica que no período de maior exigência nutricional da cultura não ocorreu déficit de N, o que pode ser confirmado pelo teor de N acumulado nos grãos, o qual apresentou o mesmo comportamento de produtividade (Figura 16). A maior produtividade constatada para a

dose de 521 kg ha^{-1} de lodo, deve-se não apenas ao N, mas também à adição de outros nutrientes via lodo de curtume (Tabela 3).

Martines (2005) ao estudar, em casa de vegetação, a aplicação de doses crescentes de lodo de curtume em três solos de classes texturais diferentes, observou para o N_{Vef} (muito argiloso), LVAd (argiloso) e RQo (arenoso) que a produtividade máxima de grãos foi alcançada respectivamente com doses equivalentes a 480, 649 e 120 kg ha^{-1} de N via lodo de curtume, as quais representaram um ganho de produtividade de 370, 240 e 72% em relação aos controles. Segundo o autor, os únicos nutrientes aplicados ao controle foram K e P, cuja falta poderia ter limitado o desenvolvimento das plantas; este procedimento se refletiu em altos ganhos de produtividade. Ferreira et al. (2003), ao aplicar no campo 208 kg ha^{-1} de N via lodo de curtume, mais K e P (adubação mineral), observaram ganho de produtividade de 34% para a cultura de milho em relação a tratamento que recebeu 150 kg ha^{-1} de N via uréia, não sendo observado ganho de produtividade para a cultura de soja. Konrad e Castilhos (2002), ao aplicarem o equivalente a 530 kg ha^{-1} de N via lodo de curtume também não observaram ganho de produtividade para a cultura de milho quando comparado com o tratamento que recebeu N via uréia. Resultados semelhantes foram observados por Kray et al. (2008), com milho e soja, ao aplicarem 728 kg ha^{-1} de N via lodo de curtume.

A partir da dose de máxima produtividade foi observado decréscimo na produtividade de grãos. A limitação da produtividade nas maiores doses pode estar associada à adição de altas concentrações de sais (principalmente sódio) que limitaram o desenvolvimento da cultura no início do desenvolvimento (observação de campo), período de baixo índice pluviométrico. À medida que o índice pluviométrico foi aumentando, a partir do florescimento, provavelmente, os sais foram sendo lixiviados e a cultura conseguiu se desenvolver, porém a produtividade já havia sido comprometida antes do florescimento.

Aquino Neto e Camargo (2000), ao estudarem os crescimento de plantas de alface cultivadas em solo arenoso que recebeu 30 Mg ha^{-1} de lodo de caleiro, verificaram um decréscimo acentuado na produção de matéria seca da alface nos tratamentos que apresentavam condutividade elétrica no solo igual ou superior a

1,7 dS m⁻¹. Segundo os autores, o aumento da condutividade elétrica do solo deve-se, principalmente, ao aporte de sódio via lodo de curtume. Essa (2002), ao estudar o efeito do estresse salino em cultivares de soja, constatou que valores de CE superiores a 2,5 dS m⁻¹ nos solos reduziram a germinação das sementes de soja e o peso da matéria seca da parte aérea.

Figura 16 - Produtividade de grão de milho a 13% de umidade e N acumulado nos grãos em função das doses de N total aplicadas via lodo de curtume. $y_{\text{Prod. Milho}} = -4.10^{-3}x^2 + 4,17x + 8655,75$ $R^2 = 0,52^{**}$, $y_{\text{N Grãos}} = -7,34.10^{-5}x^2 + 0,074x + 145,29$, sendo a colheita realizada 245 dias após a aplicação do lodo. $^{**} P < 0,01$

O efeito residual da aplicação de doses crescentes de lodo de curtume, na aveia, pode ser observado na figura 17. A produtividade máxima de massa de matéria seca da parte aérea (MSPA) foi alcançada com a dose de 1133 kg ha⁻¹ de N via lodo de curtume, que representou um ganho de produtividade de 123% e 75% em relação ao controle e ao tratamento agrônômico, respectivamente. É possível, também que parte desse efeito seja devido à manutenção do pH em valores mais elevados do que o do controle, pelo menos nas doses mais elevadas de lodo.

Figura 17 - Produtividade de massa de matéria seca da parte aérea (MSPA) e N acumulado na MSPA da aveia, em função das doses de N total aplicadas via lodo de curtume. $y_{MSPA} = -0,0024x^2 + 5,44x + 2505,79$ $R^2 = 0,79^{**}$; $y_{N-MSPA} = -7,3 \cdot 10^{-5}x^2 + 0,16x + 62,54$ $R^2 = 0,71^{**}$, sendo o corte da parte aérea realizada 390 dias após a aplicação do lodo. $^{**} P < 0,01$

Tais resultados podem ainda ser decorrentes da matéria orgânica do lodo que não foi totalmente mineralizada durante o período que antecedeu o plantio da aveia. Segundo Alcântara et al. (2007), a fração média de mineralização do N orgânico contido no lodo do caleiro é 36% com K_m de 25 dias. Portanto, mais de 64% do N orgânico adicionado via lodo de curtume permanece no solo por um período superior a 25 dias. Além do N, a matéria orgânica do lodo pode conter e reter diversos outros nutrientes que foram sendo disponibilizados com o tempo, e conseqüentemente menos lixiviados pelas chuvas.

3 CONCLUSÕES

A aplicação e manutenção do lodo de curtume na superfície do solo proporcionam perda de N por volatilização da NH_3 . Modificações na forma de aplicação do lodo, evitando sua manutenção na superfície do solo, podem reduzir a perda, contribuindo, também, para a diminuição da poluição ambiental. Caso não seja possível, a perda de nitrogênio por volatilização deve ser contabilizada no cálculo do N fornecido a cultura.

A densidade dos grupos funcionais de microrganismos, respiração do solo e atividade enzimática apresentaram rápida e intensa resposta à aplicação de lodo de curtume. Dentre os atributos avaliados, as enzimas glutaminase, urease e asparaginase mostraram ser mais sensíveis à aplicação de lodo de curtume. Porém, em prazos muito curtos, observa-se um retorno ao mesmo estado do tratamento controle, provavelmente pela resiliência. Tais resultados sugerem que esses atributos não seriam os mais indicados para o monitoramento de áreas que recebem lodo de curtume.

O alto teor de NH_4^+ (57%), a mineralização do N orgânico e a rápida nitrificação contribuíram para o aumento do N-NO_3^- , o qual foi lixiviado. A dose de 120 kg ha^{-1} de N não apresentou risco de contaminação do lençol freático, enquanto que na maior dose (1200 kg ha^{-1} N total) o teor de nitrato foi até 12 vezes maior que no controle. Esses resultados são importantes para alertar sobre o perigo ambiental da aplicação de grandes doses de lodo de curtume.

A dose de 521 kg ha^{-1} de N proporcionou ganhos de produtividade de grãos de 13% e 11% em relação ao controle e ao tratamento agronômico, respectivamente. Entretanto, não foi observada deficiência de N em nenhuma das doses, indicando que doses entre 120 kg ha^{-1} e 521 kg ha^{-1} de N podem ser utilizadas sem que ocorram prejuízos à nutrição de N para a planta.

O lodo de curtume ainda apresentou efeito residual após 390 dias, com ganho de 123% e 75% de massa de matéria seca da parte aérea em relação ao controle e ao tratamento agronômico, respectivamente.

Considerações finais

A confiabilidade da análise do lodo depende da amostragem. O lodo de curtume possui duas fases bem distintas, uma líquida e uma sólida. A fase sólida é constituída pelos resíduos do couro que possuem tamanhos variados, os quais, além de decantar rapidamente, podem também obstruir a abertura dos amostradores de resíduos, sugeridos pela norma NBR 10007, para coleta de lodo.

O número de amostras e o método de preservação são pontos importantes que devem ser bem definidos nas normas. Quatro amostras compostas, coletadas ao longo de um mês (uma por semana) parecem ser um número adequado. A determinação do N-NH_4^+ pode ser prejudicada caso o lodo não seja conservado a temperaturas em torno de 4°C . Outro fator importante é o fracionamento da amostra, sendo adicionada a uma das partes H_2SO_4 , até reduzir o pH a valores abaixo de 6, diminuindo a perda de N-NH_3 , sendo a subamostra com pH reduzido destinada apenas à análise de nitrogênio (N total, N-NH_4^+ , N-NO_3^-).

Dependendo do tempo de retenção do lodo nos tanques de armazenamento, o teor de N-NH_4^+ pode ficar próximo de zero, em decorrência da perda de N-NH_3 , conferindo a esse lodo possivelmente uma dinâmica mais lenta quando comparado com os resultados aqui apresentados.

Aumento da produtividade poderia ser alcançado com doses menores caso o tempo entre a aplicação e o plantio fosse reduzido, evitando a exposição do resíduo a longos períodos de chuva, o que reduziria a lixiviação do N no perfil do solo.

A aplicação do lodo em culturas perenes e sua compostagem com materiais de relação C:N mais elevados, são alternativas para reduzir a volatilização e lixiviação do N.

O deságüe do lodo de curtume, por meio de prensagem, centrifugação ou drenagem, pode viabilizar sua aplicação e incorporação no momento do plantio da cultura, aumentando a eficiência agrônômica e reduzindo os problemas de poluição ambiental e possibilitando que a indústria armazene o lodo, evitando sua aplicação diária.

Essas considerações serão apresentadas à CETESB como uma contribuição para a revisão da norma P4. 233, referente à aplicação de lodo de curtume em solo.

REFERÊNCIAS

- ACEA, M.J.; CARBALLAS, T. The influence of cattle slurry on soil microbial population and nitrogen cycle microorganisms. **Biological Wastes**, Oxon, v. 23, n. 3, p. 229-241, 1988.
- ACEVES, M.B.; VELASQUEZ, R.O.; VAZQUEZ, R.R. Effects of Cr^{3+} , Cr^{6+} and tannery sludge on C and N mineralization and microbial activity in semi-arid soils. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 143, n. 1/2, p. 522-531, 2007.
- ADAMSEN, F.J.; SABEY, B.R. Ammonia volatilization from liquid digested sewage-sludge as affected by placement in soil. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 51, n. 4, p. 1080-1082, 1987.
- ALCÂNTARA, M.A.K.; AQUINO NETO, V.; CAMARGO, O.A.; CANTARELLA, H. Mineralização do nitrogênio em solos tratados com lodos de curtume. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 4, p. 547-555, 2007.
- ALEF, K; NANNIPIERI, P. **Methods in applied soil microbiology and biochemistry**. London: Academic Press, 1995. 576 p.
- ALVAREZ-BERNAL, D.; CONTRERAS-RAMOS, S.M.; TRUJILLO-TAPIA, N.; OLALDE-PORTUGAL, V.; FRIAS-HERNANDEZ, J.T.; DENDOOVEN, L. Effects of tanneries wastewater on chemical and biological soil characteristics. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 33, n. 3, p. 269-277, 2006.
- APHA. **Standard methods for the examination for water and wastewater**. 21th ed. Washington: APPA; American Water Works Association; Water Environment Federation, 2005. 1600 p.
- ANDRADE, G.; NOGUEIRA, M.A. Bioindicadores para uma análise de risco ambiental. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v. 34, p. 11-19, 2005.
- AQUINO NETO, V.; CAMARGO, O.A. Crescimento e acúmulo de crômio em alface cultivada em dois latossolos tratados com CrCl_3 e resíduos de curtume. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 24, p. 225-235, 2000.
- ARAH, J.R.M.; SMITH, K.A.; CRICHTON, I.J.; LI, H.S. Nitrous oxide production and denitrification in Scottish arable soils. **Journal of Soil Science**, Oxon, v. 42, n. 3, p. 351-367, 1991.
- ARAÚJO, A.S.F.; MONTEIRO, R.T.R. Indicadores biológicos de qualidade do solo. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 23, n. 3, p. 66-75, 2007.
- ASCHMANN, S.G.; MCINTOSH, M.S.; ANGLE, J.S.; HILL, R.L. Nitrogen movement under a hardwood forest amended with liquid waste-water sludge. **Agriculture Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 38, n. 4, p. 249-263, 1992.

ASMAN, W.A.H.; SUTTON, M.A.; SCHJØRRING, J.K. Ammonia: emission, atmospheric transport and deposition. **New Phytologist**, Oxford, v. 139, n. 1, p. 27-48, 1998.

BALOTA, E.L.; COLOZZI FILHO, A.; ANDRADE, D.S.; HUNGRIA, M. Biomassa microbiana e sua atividade em solos sob diferentes sistemas de preparo e sucessão de culturas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 22, p. 641-649, 1998.

BARAJAS-ACEVES, M.; CORONA-HERNANDEZ, J.; RODRIGUEZ-VAZQUEZ, R. Chromium fractionation in semi-arid soils amended with chromium and tannery sludge. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 146, n. 1/2, p. 91-97, 2007.

BARAJAS-ACEVES, M.; DENDOOVEN, L. Nitrogen, carbon and phosphorus mineralization in soils from semi-arid highlands of central Mexico amended with tannery sludge. **Bioresource Technology**, Oxford, v. 77, n. 2, p. 121-130, 2001.

BARETTA, D.; BARETTA, C.R.D.M.; CARDOSO, E.J.B.N. Análise multivariada de atributos microbiológicos e químicos do solo em florestas com Araucaria angustifolia. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, p. 2683-2691, 2008.

BARROS, F.; MARTINEZ, M.; NEVES, J.; MATOS, A.; SILVA, D. Características químicas do solo influenciadas pela adição de água residuária da suinocultura. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 9, p. 47-51, 2005.

BARTON, L.; MCLAY, C.D.A.; SCHIPPER, L.A.; SMITH, C.T. Annual denitrification rates in agricultural and forest soils: a review. **Australian Journal of Soil Research**, Collingwood, v. 37, n. 6, p. 1073-1093, 1999.

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

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n.28, de 27 de julho de 2007. Dispõe sobre manual de métodos analíticos oficiais para fertilizantes minerais, orgânicos, organominerais e corretivos. **Diário Oficial da União**. Brasília, 27 jul. 2007. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/servlet/VisualizarAnexo?id=13105>>. Acesso em: 03 fev. 2009.

BRASIL. Ministério do meio ambiente. Resolução CONAMA n. 375, de 29 de agosto de 2006. Define critérios e procedimentos, para o uso agrícola de lodos de esgoto gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**. Brasília, 29 ago. 2006.

BREMNER, J.M. Studies on soil humic acids: I. The chemical nature of humic nitrogen. **The Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 46, p. 247-256, 1955.

BREMNER, J.M. Nitrogen-total. In: BIGHAM, J.M. (Ed.). **Methods of soil analysis**. Madison: Soil Science Society of America; American Society of Agronomy, 1996. pt. 3, chap. 37, p. 1085-1121.

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

BREMNER, J.M.; TABATABAI, M.A. Effects of some inorganic substances on TTC assay of dehydrogenase activity in soils. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 5, n. 3, p. 385-386, 1973.

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

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

CANTARELLA, H.; MATTOS, D.; QUAGGIO, J.A.; RIGOLIN, A.T. Fruit yield of Valencia sweet orange fertilized with different N sources and the loss of applied N. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Dordrecht, v. 67, n. 3, p. 215-223, 2003.

CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P. **Microbiologia do solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. 360 p.

CASTILHOS, D.D.; VIDOR, C.; CASTILHOS, R.M.V. Atividade microbiana em solo suprido com lodo de curtume e cromo hexavalente. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 6, n. 1, p. 71-76, 2000.

CAVALLET, L.E.; SELBACH, P.A. Microbial populations affected by the soil disposal of tannery sludge. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, p. 2863-2869, 2008.

CETESB. **Decisão de diretoria n.195-2005- E, de 23 de novembro de 2005. Dispõe sobre a aprovação dos valores orientadores para solos e águas subterrâneas no Estado de São Paulo**. Disponível em:

<http://www.cetesb.sp.gov.br/Solo/relatorios/tabela_valores_2005.pdf>. Acesso em : 03 jan. 2009.

CETESB. **Lodo de curtume**: critérios para o uso em áreas agrícolas e procedimentos para apresentação de projetos - norma P4.233 set/99. São Paulo, 1999. 35 p. (CETESB. Manual Técnico)

CLAAS, I.C.; MAIA, R.A.M. **Manual básico de resíduos industriais de curtume**. Porto Alegre: SENAI Rio Grande do Sul, 1994. 664 p.

COCHRAN, W.G. Estimation of bacterial densities by means of the most probable number. **Biometrics**, Washington, v. 6, n. 2, p. 105-116, 1950.

COSTA, M.C.G.; VITTI, G.C.; CANTARELLA, H. N-NH₃ losses from nitrogen sources applied over unburned sugarcane straw. **Revista Brasileira de Ciencia do Solo**, Viçosa, v. 27, n. 4, p. 631-637, 2003.

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

DOMSCH, K.H.; JAGNOW, G.; ANDERSON, T.H. An ecological concept for the assessment of side-effects of agrochemicals on soil-microorganisms. **Residue Reviews**, New York, v. 86, p. 65-105, 1983.

DYNIA, J.F.; DE SOUZA, M.D.; BOEIRA, R.C. Nitrate leaching in a Typic Haplustox planted with mayze after successive applications of sewage sludge. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 5, p. 855-862, 2006.

EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2. ed. Rio de Janeiro: EMBRAPA Centro Nacional de Pesquisa de Solo, 2006. 306 p.

ESSA, T.A. Effect of salinity stress on growth and nutrient composition of three soybean (*Glycine max* L. Merrill) cultivars. **Journal Agronomy & Crop Science**, Berlin, v. 188, p. 86-93, 2002.

EUROPEAN CENTER FOR ECOTOXICOLOGY AND TOXICOLOGY OF CHEMICALS. **Ammonia emissions to air in Western Europe**. Brussels, 1994. (Technical Report, 62).

EUROPEAN ENVIRONMENT AGENCY. **Environmental Signals 2000**. Copenhagen, 2000. (Report, 6).

FANCELLI, A.L.; DIURADO NETO, D. **Produção de milho**. Guaíba: Agropecuária, 2000. 360 p.

FENILLI, T.A.B.; REICHARDT, K.; TRIVELIN, P.C.O.; FAVARIN, J.L. Volatilization of ammonia derived from fertilizer and its reabsorption by coffee plants. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, Philadelphia, v. 38, n. 13/14, p. 1741-1751, 2007.

FERNANDES, S.A.P.; BETTIOL, W.; CERRI, C.C. Effect of sewage sludge on microbial biomass, basal respiration, metabolic quotient and soil enzymatic activity. **Applied Soil Ecology**, v. 30, n. 1, p. 65-77, 2005.

FERREIRA, A.S.; CAMARGO, F.A.O.; TEDESCO, M.J.; BISSANI, C.A. Alterações de atributos químicos e biológicos de solo e rendimento de milho e soja pela utilização de resíduos de curtume e carbonífero. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 27, p. 755-763, 2003.

FRANKENBERGER, W.T.; TABATABAI, M.A. Factors affecting L-Glutaminase activity in soils. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 23, n. 9, p. 875-879, 1991a.

FRANKENBERGER, W.T.; TABATABAI, M.A. L-asparaginase activity of soils. **Biology and Fertility of Soils**, New York, v. 11, n. 1, p. 6-12, 1991b.

GANGBAZO, G.; PESANT, A.R.; BARNETT, G.M.; CHARUEST, J.P.; CLUIS, D. Water contamination by ammonium nitrogen following the spreading of hog manure and mineral fertilizers. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 24, n. 3, p. 420-425, 1995.

GARCIA-GIL, J.C.; PLAZA, C.; SOLER-ROVIRA, P.; POLO, A. Long-term effects of municipal solid waste compost application on soil enzyme activities and microbial biomass. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 32, n. 13, p. 1907-1913, 2000.

GÉNERMONT, S.; CELLIER, P. A mechanistic model for estimating ammonia volatilization from slurry applied to bare soil. **Agricultural and Forest Meteorology**, Amsterdam, v. 88, n. 1-4, p. 145-167, 1997.

GIGLIOTTI, G.; GIUSQUIANI, P.L.; BUSINELLI, D. A long-term chemical and infrared spectroscopy study on a soil amended with municipal sewage sludge. **Agronomie**, Paris, v. 21, n. 2, p. 169-178, 2001.

HALL, S.J.; MATSON, P.A. Nitrogen oxide emissions after nitrogen additions in tropical forests. **Nature**, London, v. 400, n. 6740, p. 152-155, 1999.

HALLIWELL, D.J.; BARLOW, K.M.; NASH, D.M. A review of the effects of wastewater sodium on soil physical properties and their implications for irrigation systems. **Australian Journal of Soil Research**, Collingwood, v. 39, n. 6, p. 1259-1267, 2001.

HARMEL, R.D.; ZARTMAN, R.E.; MOURON, C.; WESTER, D.B.; SOSEBEE, R.E. Modeling ammonia volatilization from biosolids applied to semiarid rangeland. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 61, n. 6, p. 1794-1798, 1997.

HAVLIN, J.L.; BEATON, J.D.; TISDALE, S.L.; NELSON, W.L. **Soil fertility and fertilizers: an introduction to nutrient management**. 7th ed. New Jersey: Pearson Prentice Hall, 2005. 515 p.

HIGHLAND STATISTICS. **Brodgar: software for univariate and multivariate analysis, and multivariate time series analysis. Version 2.5.1**. Aberdeenshire, 2006.

HOJJATI, S.; NOURBAKHSH, F. Effects of cow manure and sewage sludge on the activity and kinetics of L-glutaminase in soil. **Biology and Fertility of Soils**, New York, v. 43, n. 4, p. 491-494, 2007.

INMAN, J.C.; MCINTOSH, M.S.; FOSS, J.E.; WOLF, D.C. Nitrogen and phosphorus movement in compost-amended soils. **Journal of Environmental Quality**, Amsterdam, v. 11, n. 3, p. 529-532, 1982.

INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ. **Sugestão de adubação e calagem para culturas de interesse econômico no Estado do Paraná**. Londrina, 2003. 31 p. (IAPAR. Circular, 128)

JAHNEL, M.C. Método de plaqueamento por gotas e outros parâmetros microbiológicos na avaliação da decomposição de lodo ativado de curtume em solos. Piracicaba, 1997. 79p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, 1997

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**, Viçosa, v. 23, p. 553-559, 1999.

JENKINSON, 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. 425-471.

KAMALUDEEN, S.P.B.; MEGHARAJ, M.; NAIDU, R.; SINGLETON, I.; JUHASZ, A.L.; HAWKE, B.G.; SETHUNATHAN, N. Microbial activity and phospholipid fatty acid pattern in long-term tannery waste-contaminated soil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, San Diego, v. 56, n. 2, p. 302-310, 2003.

KANDELER, E. Physiological and biochemical methods for studying soil biota and their function. In: PAUL, E.A. (Ed.). **Soil microbiology, ecology, and biochemistry**. 3rd ed. Oxford: Academic Press, 2007. chap. 3, p. 53-84.

KELLING, K.A.; WALSH, L.M.; KEENEY, D.R.; RYAN, J.A.; PETERSON, A.E. A field study of the agricultural use of sewage sludge: II. effect on soil N and P. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 6, n. 4, p. 345-352, 1977.

KIRCHMANN, H.; ESALA, M.; MORKEN, J.; FERM, M.; BUSSINK, W.; GUSTAVSSON, J.; JAKOBSSON, C. Ammonia emissions from agriculture - Summary of the nordic seminar on ammonia emission, science and policy. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Dordrecht, v. 51, n. 1, p. 1-3, 1998.

KIZILKAYA, R.; BAYRAKLI, B. Effects of N-enriched sewage sludge on soil enzyme activities. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 30, n. 3, p. 192-202, 2005.

KONRAD, E.E.; CASTILHOS, D.D. Atividade microbiana em um planossolo após a adição de resíduos de curtume. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 7, n. 2, p. 131-135, 2001.

KONRAD, E.E.; CASTILHOS, D.D. Alterações químicas do solo e crescimento do milho decorrente da adição do lodo de curtume. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 26, p. 257-265, 2002.

KRAY, C.H.; TEDESCO, M.J.; BISSANI, C.A.; GIANELLO, C.; DA SILVA, K.J. Tannery and coal mining waste disposal on soil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, p. 2877-2882, 2008.

LEAL, R.M.P.; HERPIN, U.; DA FONSECA, A.F.; FIRME, L.P.; MONTES, C.R.; MELFI, A.J. Sodicity and salinity in a Brazilian Oxisol cultivated with sugarcane irrigated with wastewater. **Agricultural Water Management**, Amsterdam, v. 96, n. 2, p. 307-316, 2009.

LONGO, R.M.; DE MELO, W.J. Urease activity in oxisols as influenced by vegetation cover and sampling time. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 29, n. 4, p. 645-650, 2005.

LEPŠ, J.; ŠMILAUER, P. **Multivariate analysis of ecological data using CANOCO**. Cambrigde: Cambrigde University Press, 2003. 269p.

LUO, J.; TILLMAN, R.W.; BALL, P.R. Factors regulating denitrification in a soil under pasture. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 31, n. 6, p. 913-927, 1999.

MADEJON, E.; BURGOS, P.; LOPEZ, R.; CABRERA, F. Agricultural use of three organic residues: effect on orange production and on properties of a soil of the 'Comarca Costa de Huelva' (SW Spain). **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Dordrecht, v. 65, n. 3, p. 281-288, 2003.

MALUCHE-BARETTA, C.R.D.; KLAUBERG, O.; DO AMARANTE, C.V.T.; RIBEIRO, G.M.; ALMEIDA, D. Microbiological and chemical soil attributes in apple orchards under conventional and organic production systems in TH state of Santa Catarina, Brazil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, p. 655-665, 2007.

MALGERYD, J. Technical measures to reduce ammonia losses after spreading of animal manure. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Dordrecht, v. 51, n. 1, p. 51-57, 1998.

MARGESIN, R.; ZIMMERBAUER, A.; SCHINNER, F. Monitoring of bioremediation by soil biological activities. **Chemosphere**, Oxford, v. 40, n. 4, p. 339-346, 2000.

MARSHALL, S.B.; WOOD, C.W.; BRAUN, L.C.; CABRERA, M.L.; MULLEN, M.D.; GUERTAL, E.A. Ammonia volatilization from tall fescue pastures fertilized with broiler litter. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 27, n. 5, p. 1125-1129, 1998.

MARTHA, G.B.; CORSI, M.; TRIVELIN, P.C.O.; ALVES, M.C. Nitrogen recovery and loss in a fertilized elephant grass pasture. **Grass and Forage Science**, Oxon, v. 59, n. 1, p. 80-90, 2004.

MARTIN, J.P.; CHAPMAN, H.D. Volatilization of ammonia from surface-fertilized soils. **Soil Science**, Philadelphia, v. 71, n. 1, p. 25-34, 1951.

MARTINES, A.M. **Impacto do lodo de curtume nos atributos biológicos e químicos do solo**. 2005. 62 p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2005.

MARTINES, A.M.; ANDRADE, C.A.; CARDOSO, E.J.B.N. Mineralização do carbono orgânico em solos tratados com lodo de curtume. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 7, p. 1149-1155, 2006.

MATSUNAKA, T.; SENTOKU, A.; MORI, K.; SATOH, S. Ammonia volatilization factors following the surface application of dairy cattle slurry to grassland in Japan: Results from pot and field experiments. **Soil Science and Plant Nutrition**, Oxon, v. 54, n. 4, p. 627-637, 2008.

MATSUOKA, M.; MENDES, I.C.; LOUREIRO, M.F. Microbial biomass and enzyme activities in soils under native vegetation and under annual and perennial cropping systems at the Primavera do Leste region - Mato Grosso state. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 27, n. 3, p. 425-433, 2003.

McNEILL, A.; UNKOVICH, M. The nitrogen cycle in terrestrial ecosystems. In: MARSCHNER, P.; RENGEL, Z. (Ed.). **Nutrient cycling in terrestrial ecosystems**. New York: Springer, 2007. v. 10, chap. 2 p. 37-64. (Series Soil Biology)

MEDALIE, L.; BOWDEN, W.B.; SMITH, C.T. Nutrient leaching following land application of aerobically digested municipal sewage-sludge in a northern hardwood forest. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 23, n. 1, p. 130-138, 1994.

MEURER, E.J.; BISSANI, C.A.; SELBACH, P.A. Poluentes do solo e do ambiente. In: MEURER, E.J. (Ed.). **Fundamentos de química do solo**. Porto Alegre: Genesis, 2000. cap. 8, p. 151-167.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2006. 729 p.

MOURA, M.C.S.; LOPES, A.N.C.; MOITA, G.C.; MOITA NETO, J.M. Multivariate study of urban soils of Teresina City. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 3, p. 429-435, 2006.

MULVANEY, M.J.; CUMMINS, K.A.; WOOD, C.W.; WOOD, B.H.; TYLER, P.J. Ammonia emissions from field-simulated cattle defecation and urination. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 37, n. 6, p. 2022-2027, 2008.

MULVANEY, R.L. Nitrogen-Inorganic forms. In: BIGHAM, J.M. (Ed.). **Methods of soil analysis**. Madison: Soil Science Society of America; American Society of Agronomy, 1996. pt. 3, chap. 38, p. 1123-1184.

NANNIPIERI, P. The potential use of soil enzymes as indicators of productivity, sustainability and pollution. In: PANKHURST, C.E.; DOUBE, D.M.; GUPTA, V.V.S.R.; GRACE, P.R. **Soil biota: management in sustainable farming systems**. Sydney: CSIRO, 1994. p. 238-244.

NELSON, D.W.; SOMMERS, L.E. Total carbon, organic carbon, and organic matter. In: SPARKS, D.L. (Ed.). **Methods of soil analysis: chemical methods**. Madison: Soil Science Society of America; American Society of Agronomy, 1996. pt. 3, chap. 9, p. 961-1010.

NOGUEIRA, M.A.; ALBINO, U.B.; BRANDAO-JUNIOR, O.; BRAUN, G.; CRUZ, M.F.; DIAS, B.A.; DUARTE, R.T.D.; GIOPPO, N.M.R.; MENNA, P.; ORLANDI, J.M.; RAIMAM, M.P.; RAMPAZO, L.G.L.; SANTOS, M.A.; SILVA, M.E.Z.; VIEIRA, F.P.; TOREZAN, J.M.D.; HUNGRIA, M.; ANDRADE, G. Promising indicators for assessment of agroecosystems alteration among natural, reforested and agricultural land use in southern Brazil. **Agriculture Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 115, n. 1/4, p. 237-247, 2006.

NÔMMIK, H. Assessment of volatilization loss of ammonia from surface-applied urea on forest soil by N^{15} recovery. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 38, n. 3, p. 589-603, 1973.

OLIVEIRA, D.Q.L.; CARVALHO, K.T.G.; BASTOS, A.R.R.; OLIVEIRA, L.C.A.; MARQUES, J.J.G.S.M.; NASCIMENTO, R.S.M.P. Utilização de resíduos da indústria de couro como fonte nitrogenada para o capim-elefante. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, n. 1, p. 417-424, 2008.

PASSIANOTO, C.C.; CASTILHOS, D.D.; CASTILHOS, R.M.V.; LIMA, A.C.R.; LIMA, C.L.R. Atividade e biomassa microbiana no solo com a aplicação de dois diferentes lodos de curtume. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 7, n. 2, p. 125-130, 2001.

PAULA, A.M. **Atributos microbiológicos do solo em área de pastagem irrigada com lâminas excedentes de efluente de esgoto tratado**. 2008. 120 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2008.

POLGLASE, P.J.; TOMPKINS, D.; STEWART, L.G.; FALKINER, R.A. Mineralization and leaching of nitrogen in an effluent-irrigated pine plantation. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 24, n. 5, p. 911-920, 1995.

PORT, O.; AITA, C.; GIACOMINI, J. Nitrogen loss by ammonia volatilization with the use of pig slurry in no-till system. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 7, p. 857-865, 2003.

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

RAIJ B. van; ANDRADE J.C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2001. 284 p.

RAUT, M.P.; PRINCE WILLIAM, S.P.M.; BHATTACHARYYA, J.K.; CHAKRABARTI, T.; DEVOTTA, S. Microbial dynamics and enzyme activities during rapid composting of municipal solid waste - A compost maturity analysis perspective. **Bioresource Technology**, Amsterdam, v. 99, n. 14, p. 6512-6519, 2008.

ROBERTSON, G.P.; GROFFMAN, P.M. Nitrogen transformations. In: PAUL, E.A. (Ed.). **Soil microbiology, ecology, and biochemistry**. 3rd ed. Oxford: Academic Press, 2007. chap. 13, p. 341-364.

ROPKE, C.R.V.; MAUCH, P.E. Competitividade das exportações brasileiras de couro. **Observatorio de la Economía Latinoamericana**, v. 71, 2006. Disponível em: < <http://www.eumed.net/cursecon/ecolat/br/06/crvr.htm> >. Acesso em: 06 maio 2009.

ROCHETTE, P.; ANGERS, D.A.; CHANTIGNY, M.H.; MACDONALD, J.D.; GASSER, M.O.; BERTRAND, N. Reducing ammonia volatilization in a no-till soil by incorporating

urea and pig slurry in shallow bands. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, 2008. (in Press)

ROCHETTE, P.; VAN BOCHOVE, E.; PREVOST, D.; ANGERS, D.A.; COTE, D.; BERTRAND, N. Soil carbon and nitrogen dynamics following application of pig slurry for the 19th consecutive year: II. Nitrous oxide fluxes and mineral nitrogen. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 64, n. 4, p. 1396-1403, 2000.

ROSCOE, R.; MERCANTE, F.M.; MENDES, I.C.; REIS JUNIOR, F.B.; SANTOS, J.C.F.; HUNGRIA, M. Biomassa microbiana do solo: fração mais ativa da matéria orgânica. In: ROSCOE, R.; MERCANTE, F.M.; SALTON, J.C. **Dinâmica da matéria orgânica do solo em sistemas conservacionista**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2006. cap. 7, p. 163-198

SANGOI, L.; ERNANI, P.R.; LECH, V.A.; RAMPAZZO, C. Lixiviação de nitrogênio afetada pela forma de aplicação da uréia e manejo dos restos culturais de aveia em dois solos com texturas contrastantes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 1, p. 65-70, 2003.

SARATHCHANDRA, S.U. Nitrification activities and changes in populations of nitrifying bacteria in soil perfused at two different H-ion concentrations. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 50, n. 1, p. 99-111, 1978.

SAS INSTITUTE. **SAS**: release 8.02. Cary, 1999.

SCHINNER, F.; VONMERSI, W. Xylanase-Activity, Cm-Cellulase-Activity and Invertase Activity in Soil - An Improved Method. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 22, n. 4, p. 511-515, 1990.

SHARPE, R.R.; SCHOMBERG, H.H.; HARPER, L.A.; ENDALE, D.M.; JENKINS, M.B.; FRANZLUEBBERS, A.J. Ammonia volatilization from surface-applied poultry litter under conservation tillage management practices. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 33, n. 4, p. 1183-1188, 2004.

SHEPHERD, M.A. Factors affecting nitrate leaching from sewage sludges applied to a sandy soil in arable agriculture. **Agriculture Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 58, n. 2/3, p. 171-185, 1996.

SIERRA, J.; FONTAINE, S.; DESFONTAINES, L. Factors controlling N mineralization, nitrification, and nitrogen losses in an Oxisol amended with sewage sludge. **Australian Journal of Soil Research**, Melbourne, v. 39, n. 3, p. 519-534, 2001.

SØGAARD, H.T.; SOMMER, S.G.; HUTCHINGS, N.J.; HUIJSMANS, J.F.M.; BUSSINK, D.W.; NICHOLSON, F. Ammonia volatilization from field-applied animal slurry - the ALFAM model. **Atmospheric Environment**, Oxford, v. 36, n. 20, p. 3309-3319, 2002.

SOMMER, S.G.; ERSBØLL, A.K. Soil tillage effects on ammonia volatilization from surface-applied or injected animal slurry. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 23, n. 3, p. 493-498, 1994.

SOMMER, S.G.; GÉNERMONT, S.; CELLIER, P.; HUTCHINGS, N.J.; OLESEN, J.E.; MORVAN, T. Processes controlling ammonia emission from livestock slurry in the field. **European Journal of Agronomy**, Amsterdam, v. 19, n. 4, p. 465-486, 2003.

SOMMER, S.G.; HUTCHINGS, N.J. Ammonia emission from field applied manure and its reduction - invited paper. **European Journal of Agronomy**, Amsterdam, v. 15, n. 1, p. 1-15, 2001.

SOMMER, S.G.; JACOBSEN, O.H. Infiltration of slurry liquid and volatilization of ammonia from surface applied pig slurry as affected by soil water content. **Journal of Agricultural Science**, New York, v. 132, p. 297-303, 1999.

SOMMER, S.G.; OSTERGARD, H.S.; LOFSTROM, P.; ANDERSEN, H.V.; JENSEN, L.S. Validation of model calculation of ammonia deposition in the neighbourhood of a poultry farm using measured NH₃ concentrations and N deposition. **Atmospheric Environment**, Oxford, v. 43, n. 4, p. 915-920, 2009.

SPARLING, G.P. Ratio of microbial biomass carbon to soil organic carbon as a sensitive indicator of changes in soil organic matter. **Australian Journal of Soil Research**, Collingwood, v. 30, n. 2, p. 195-207, 1992.

STENBERG, B. Monitoring soil quality of arable land: microbiological indicators. **Acta Agriculturae Scandinavica Section B-Soil and Plant Science**, Oslo, v. 49, n. 1, p. 1-24, 1999.

SUTTON, M.A.; ASMAN, W.A.H.; ELLERMANN, T.; VAN JAARSVELD, J.A.; ACKER, K.; ANEJA, V.; DUYZER, J.; HORVATH, L.; PARAMONOV, S.; MITOSINKOVA, M.; TANG, Y.S.; ACHERMANN, B.; GAUGER, T.; BARTNIKI, J.; NEFTEL, A.; ERISMAN, J.W. Establishing the link between ammonia emission control and measurements of reduced nitrogen concentrations and deposition. **Environmental Monitoring and Assessment**, Dordrecht, v. 82, n. 2, p. 149-185, 2003.

TABATABAI, M.A. Soil enzymes. In: BIGHAM, J.M. (Ed.). **Methods of soil analysis**. Madison: Soil Science Society of America; American Society of Agronomy, 1996. pt. 3, chap. 37, p. 775-833.

TAYLOR, J.P.; WILSON, B.; MILLS, M.S.; BURNS, R.G. Comparison of microbial numbers and enzymatic activities in surface soils and subsoils using various techniques. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 34, n. 3, p. 387-401, 2002.

Ter BRAAK, C.J.F.; ŠMILAUER, P. **CANOCO reference manual and user's guide to canoco for windows**: software for canonical community ordination (version 4). Ithaca: Microcomputer Power, 1998. 352 p.

TIEDJE, J. M. Denitrification. In: BIGHAM, J.M. (Ed.). **Methods of soil analysis**. Madison: Soil Science Society of America; American Society of Agronomy, 1996. pt. 3, chap. 14, p. 245-267.

TÓTOLA, M.R.; CHAER, G.M. Microrganismos e processos microbiológicos como indicadores da qualidade do solo. In: ALVAREZ V., V.H.; SCHAEFER, C.E.G.R.;

BARROS, N.F.; MELLO, J.W.V.; COSTA, L.M. (Ed.). **Tópicos em ciência do solo** Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2002. v. 2, p. 195-276.

TOWNSEND, A.R.; HOWARTH, R.W.; BAZZAZ, F.A.; BOOTH, M.S.; CLEVELAND, C.C.; COLLINGE, S.K.; DOBSON, A.P.; EPSTEIN, P.R.; KEENEY, D.R.; MALLIN, M.A.; ROGERS, C.A.; WAYNE, P.; WOLFE, A.H. Human health effects of a changing global nitrogen cycle. **Frontiers in Ecology and the Environment**, Washington, v. 1, n. 5, p. 240-246, 2003.

TRANNIN, I.C.D.; SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.D. Biological characteristics indicators of soil quality after two years of application of an industrial biosolid and corn cultivation. **Revista Brasileira de Ciencia do Solo**, Viçosa, v. 31, p. 1173-1184, 2007.

TURCO, R.F.; KENNEDY, A.C.; JAWSON, M.D. Microbial indicators of soil quality. In: DORAN, J.W.; COLEMAN, D.C.; BEZDICEK, D.F.; STEWART, B.A. (Ed.). **Defining soil quality for a sustainable environment**. Madison: Soil Science Society of America, 1994. p. 73-90. (SSSA. Special Publication, 35)

UEPA. **Test method for evaluating solid waste, physical/chemical methods**. 3rd ed. Washington: EPA, 1986. (SW-846).

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

WAGNER, G.H. Use of porous ceramic cups to sample soil water within the profile. **Soil Science**, Baltimore, v. 94, n. 6, p. 379-386, 1962.

WEBB, J.; CHADWICK, D.; ELLIS, S. Emissions of ammonia and nitrous oxide following incorporation into the soil of farmyard manures stored at different densities. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Dordrecht, v. 70, n. 1, p. 67-76, 2004.