

**Utilização de Lodo de Esgoto
na Cultura da Soja**



República Federativa do Brasil

Luis Inácio Lula da Silva

Presidente

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Roberto Rodrigues

Ministro

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa

Conselho de Administração

José Amauri Dimázio

Presidente

Clayton Campanhola

Vice-Presidente

Alexandre Kalil Pires

Hélio Tollini

Ernesto Paterniani

Luis Fernando Rigato Vasconcellos

Membros

Diretoria Executiva da Embrapa

Clayton Campanhola

Diretor-Presidente

Gustavo Kauark Chianca

Herbert Cavalcante de Lima

Mariza Marilena T. Luz Barbosa

Diretores-Executivos

Embrapa Meio Ambiente

Paulo Choji Kitamura

Chefe Geral

Geraldo Stachetti Rodrigues

Chefe-Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento

Maria Cristina Martins Cruz

Chefe-Adjunto de Administração

Ariovaldo Luchiari Junior

Chefe-Adjunto de Comunicação e Negócios



ISSN 1516-4675

Julho, 2004

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro Nacional de Pesquisa de Monitoramento e Avaliação de Impacto Ambiental
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 21

Utilização do Lodo de Esgoto na Cultura de Soja

Rosana Faria Vieira
Roberto Tetsuo Tanaka
Célia Maria Maganhotto S. Silva

Jaguariúna, SP
2004

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Meio Ambiente

Rodovia SP 340 - Km 127,5 - Tanquinho Velho
Caixa Postal 69 - Cep.13820-000, Jaguariúna, SP
Fone: (19) 3867-8750
Fax: (19) 3867-8740
www.cnpma.embrapa.br
sac@cnpma.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Geraldo Stachetti Rodrigues
Secretário-Executivo: Maria Amélia de Toledo Leme
Secretário: Sandro Freitas Nunes
Membros: Marcelo A. Boechat Morandi, Maria Lúcia Saito, José
 Maria Guzman Ferraz, Manoel Dornelas de Souza, Heloisa
 Ferreira Filizola, Cláudio César de A. Buschinelli
Normalização bibliográfica: Maria Amélia de Toledo Leme
Foto(s) da capa: Clibas Vieira
Editoração eletrônica: Alexandre Rita da Conceição

1ª edição

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Vieira, Rosana Faria.

Utilização de lodo de esgoto na cultura de soja / Rosana Faria
Vieira, Roberto Tetsuo Tanaka, Célia Maria Manganhotto S.
Silva. - Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2004.

26 p. - (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa
Meio Ambiente, ISSN 1516-4675; 21)

1. Lodo de Esgoto - Uso agrícola. 2. Soja. I. Tanaka, Roberto
Tetsuo. II. Silva, Célia Maria Manganhotto S. III. Título. IV.
Série.

CDD 631.869

© Embrapa 2004

Sumário

Resumo	6
Abstracts	7
Introdução	8
Material e Métodos	9
Resultados e Discussão	14
Conclusões	23
Referências	24

Utilização do Lodo de Esgoto na Cultura de Soja

Rosana Faria Vieira¹

Roberto Tetsuo Tanaka²

Célia Maria Maganhotto S. Silva³

Resumo

Avaliou-se o efeito da utilização de lodo de esgoto, como fonte de fósforo, na fixação do N_2 e na produção da soja. Os experimentos foram conduzidos em duas etapas: uma sob condição de casa de vegetação e outra a campo. Em casa-de-vegetação, oito tratamentos foram impostos: sem fertilização ou aplicação de lodo, adubação química completa, inoculação com rizóbio mais fertilização fosfatada, inoculação com rizóbio sem adição de adubos fosfatados, inoculação mais dose 1 de lodo, inoculação mais dose 2 de lodo, sem inoculação mais dose 1 de lodo, sem inoculação mais dose 2 de lodo. As doses 1 e 2 corresponderam, respectivamente, a 11,2 e 22,4 t ha⁻¹ (base úmida). O experimento a campo foi constituído dos seguintes tratamentos: ausência de adubação química ou lodo, adubação química completa, inoculação mais dose 0 de lodo, inoculação mais dose 1 de lodo, inoculação mais dose 2 de lodo, inoculação mais dose 3 de lodo, inoculação mais adubação química, exceto a nitrogenada. As doses 1, 2 e 3 de lodo, corresponderam a 1,5, 3,0 e 6,0 t ha⁻¹ (base seca), respectivamente. Os experimentos demonstraram que a necessidade de P na cultura da soja pode ser suprida por meio da aplicação de pequenas doses de lodo de esgoto, sem prejuízo para o processo simbiótico ou mesmo para a produção.

¹ Engenheira Agrônoma, Doutora em Solos e Nutrição de Plantas, Embrapa Meio Ambiente. rosana@cnpma.embrapa.br

² Engenheiro Agrônomo, Doutor em Solos e Nutrição de Plantas, Instituto Agronômico de Campinas - Seção de Leguminosas - IAC. tanakart@cec.iac.br

³ Bióloga, Doutora em Microbiologia Aplicada, Embrapa Meio Ambiente. celia@cnpma.embrapa.br

Sewage Sludge Utilization on Soybean

Abstract

The effect of sewage sludge application, as a source of phosphorus, on dinitrogen symbiotic fixation and production in soybean was evaluated. The experiments were carried out in two stages; one in greenhouse condition and another in field. In greenhouse the experiment included eight treatments: no fertilization or sludge, complete fertilization, inoculation with rhizobia plus phosphate fertilization, inoculation with rhizobia without phosphate fertilization, inoculation plus dose 1 of sewage sludge, inoculation plus dose 2 of sewage sludge, without inoculation plus dose 1 of sewage sludge, without inoculation plus dose 2 of sewage sludge. Doses 1 and 2, corresponded to 11,2 and 22,4 t ha⁻¹ (humid basis), respectively. The experiment in field included the following treatments: no fertilization or sludge, complete fertilization, inoculation plus dose 0 of sewage sludge, inoculation plus dose 1 of sewage sludge, inoculation plus dose 2 of sewage sludge, inoculation plus dose 3 of sewage sludge, inoculation plus chemical fertilization unless the nitrogenated. Doses 1, 2 and 3 were 1,5, 3,0 and 6,0 t ha⁻¹ (dry basis), respectively. The results demonstrated that the requirement of the soybean in P may be supplied by sewage sludge at low application rates without damage to the symbiotic process or even to the production.

Introdução

A aplicação de lodo de esgoto na agricultura tem se tornado uma forma racional e promissora de sua utilização, uma vez que ele é um composto rico em nutrientes, principalmente fósforo (P) e nitrogênio (N). O P, apesar de seu elevado teor total nos solos brasileiros, é considerado um dos fatores limitantes à produção agrícola, em decorrência dos processos de adsorção e/ou fixação em colóides minerais e orgânicos a que está sujeito (Novais & Smyth, 1999). A retrogradação, reação que torna o P solúvel do fertilizante em P insolúvel, contribui também para a baixa disponibilidade de P, exigindo, portanto, maiores doses de adubos, em relação às necessidades da cultura. A cultura da soja, embora exporte nos grãos cerca de 150 kg N ha^{-1} , não requer a aplicação de fertilizantes nitrogenados, uma vez que este elemento pode ser fornecido por meio da associação simbiótica da planta com estirpes eficientes de rizóbio. Para uma melhor eficiência desse processo simbiótico é indispensável a adubação fosfatada adequada, em consequência da forte influência deste elemento no metabolismo energético (Israel, 1987)

Embora a aplicação de lodo de esgoto na agricultura possa ser uma forma alternativa e eficiente para sua disposição, alguns impactos negativos potenciais de sua utilização devem ser considerados. O lodo de esgoto, apesar de conter numerosos componentes necessários para o crescimento microbiano, também pode conter uma variedade de produtos tóxicos aos rizóbios do solo, tais como sais solúveis, metais pesados e compostos orgânicos sintéticos. Kinkle et al. (1987) e Heckman et al. (1987 a, b) demonstraram que a população de *Bradyrhizobium japonicum* aumentou durante um período de 10 anos após a aplicação de altas taxas de lodo de esgoto. Por outro lado, Reddy et al. (1983) mostraram que a população de *B. japonicum* USDA 110 foi reduzida quando exposta a solo com aplicação recente de altas doses de lodo de esgoto, em decorrência da presença de metais pesados. Angle et al. (1992) contestaram esta afirmação com base na atividade dos metais no solo. Segundo estes autores, a ligação, quelação e precipitação de metais em solos com lodo de esgoto são significativas, fazendo com que suas atividades no solo sejam pequenas. Madariaga & Angle (1992) reportaram que o rápido declínio na população de *Bradyrhizobium*, logo após a aplicação do lodo, pode ser devido à presença de concentrações tóxicas de sais solúveis no lodo. McGrath et al. (1988) e Giller et al. (1989) mostraram que somente populações ineficientes de *Rizobium leguminosarum* bv. *trifolii* sobreviveram em solo onde foi adicionado lodo 30 – 50 anos antes. Estes autores observaram redução significativa na fixação biológica do N_2 quando comparado ao tratamento controle, isto é, sem adição de

lodo de esgoto. Recentemente, Habd-Alla et al. (1999) demonstraram que a aplicação de lodo de esgoto à cultura da soja pode aumentar tanto a fixação do dinitrogênio quanto a sua nodulação.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da aplicação de lodo de esgoto ao solo, como fonte de fósforo, na fixação do dinitrogênio e na produção da soja.

Material e Métodos

Experimento em casa de vegetação: foram utilizados vasos com 5 kg de um Latossolo Vermelho distroférrico, coletado à profundidade de 0-20 cm, no campo experimental da Embrapa Meio Ambiente, com as seguintes características químicas: $\text{pH}_{(\text{CaCl}_2)}$ 5,0, MO 31 (g dm^{-3}), P 4,3 (método de Melich), K 112,7 mg kg^{-1} , Ca 460 mg kg^{-1} , Mg 84 mg kg^{-1} , Al 17,98 mg kg^{-1} , CTC 706,68 mg kg^{-1} , Fe 152 mg kg^{-1} , Mn 21 mg kg^{-1} , Cu 0,8 mg kg^{-1} , Zn 1,3 mg kg^{-1} . O lodo de esgoto foi proveniente da Estação de Tratamento de Barueri, SP, que além de esgotos domésticos recebe também esgoto industrial. Suas características químicas são descritas na Tabela 1.

Tabela 1. Características químicas do lodo de esgoto oriundo da Estação de Tratamento de Esgoto de Barueri, SP.

Parâmetros	Unidades	Valores (Campo)	Valores (Casa-de-vegetação)
Fósforo ¹	g kg^{-1}	11,5	4,3
Potássio	g kg^{-1}	8,3	0,9
Sódio	g kg^{-1}	4,0	- ²
Cádmio	mg kg^{-1}	9,2	8,3
Chumbo	mg kg^{-1}	151	186
Cobre	mg kg^{-1}	707	901
Cromo total	mg kg^{-1}	597	-
Níquel	mg kg^{-1}	268	399
Zinco	mg kg^{-1}	2314	2729
pH		7,0	-
Umidade	%	76,7	-
Nitrogênio Kjeldahl	g kg^{-1}	40,7	26,29
Boro	mg kg^{-1}	9,0	-
Enxofre	g kg^{-1}	11,7	-
Manganês	mg kg^{-1}	168	-
Ferro	g kg^{-1}	22,9	-
Magnésio	g kg^{-1}	2,5	-
Alumínio	g kg^{-1}	9,51	-
Cálcio	g kg^{-1}	17	-

¹ Método Melich

²Parâmetros não determinados

O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso com quatro repetições e os seguintes tratamentos: 1, ausência de adubação química ou lodo (testemunha); 2, adubação química completa (AQ); 3, inoculação com rizóbio mais fertilização fosfatada (I + P); 4, inoculação com rizóbio sem adição de adubo fosfatado (I - P); 5, inoculação mais dose 1 de lodo (I + L1); 6, inoculação mais dose 2 de lodo (I + L2); 7, sem inoculação mais dose 1 de lodo (SI + L1) e 8, sem inoculação mais dose 2 de lodo (SI + L2). As doses 1 e 2 de lodo corresponderam, respectivamente, a 11,2 t ha⁻¹ e 22,4 t ha⁻¹ (base úmida). Estas doses foram calculadas tomando-se como base o teor de P no lodo de esgoto e a dose recomendada para a cultura (van Raij et al. 1996) como a seguir:

Dose de lodo (kg ha⁻¹) = P recomendado (kg ha⁻¹) / P contido no lodo de esgoto (kg kg⁻¹)

A dose 1 de lodo correspondeu às necessidades da cultura no solo utilizado e a dose 2 o dobro da dose 1. O lodo foi misturado em todo o solo. O pH_(H2O) foi ajustado para 5,9 por meio de aplicações adequadas de carbonato de cálcio e cloreto de magnésio. Os outros nutrientes foram aplicados conforme recomendações da análise do solo. As sementes de soja (cv. IAC – 22) foram inoculadas com inoculante turfoso a uma taxa de 1 kg por 50 kg de semente. Após a emergência foram mantidas duas plantas por vaso. As plantas foram colhidas aos 49 e 63 dias após a emergência (DAE), e os seguintes parâmetros avaliados: atividade de redução do acetileno (Hardy et al., 1968), número e peso dos nódulos secos, e teor de N total da parte aérea. Aos 63 DAE foram também quantificados o peso e o teor de N total das vagens secas. Os conteúdos de amônio e nitrato no solo foram quantificados aos sete dias após a emergência das plantas (Tedesco et al., 1985). O solo foi mantido em torno de 90 % de sua capacidade de campo durante todo o período experimental.

ANOVA foi utilizada para análise estatística dos dados e o teste de *F* para determinar interações significantes. O teste de Duncan (*P* ≤ 0,05) foi utilizado para comparações entre médias.

Experimento em campo: o experimento a campo foi conduzido durante dois anos agrícolas seguidos (2000/2001, 2001/2002) com a aplicação do lodo de esgoto sendo realizada somente no primeiro ano. O primeiro plantio foi feito em novembro de 2000, no campo experimental da Embrapa Meio Ambiente, em Jaguariúna, SP, em um solo classificado como Latossolo Vermelho distroférrico,

textura areia/argilosa, com a seguinte composição química: pH (C_aCl_2) 4,4; P 8 mg dm^{-3} (método da resina); K 1,2 $mmol_c dm^{-3}$; Ca 11 $mmol_c dm^{-3}$; Mg 6 $mmol_c dm^{-3}$; H + Al 58 $mmol_c dm^{-3}$; CTC 76,2 $mmol_c dm^{-3}$; V 24 (%) e MO 28 g dm^{-3} .

O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso, com quatro repetições e os seguintes tratamentos: ausência de adubação química ou lodo de esgoto (testemunha); adubação química completa (AQ); inoculação mais dose 0 de lodo (I + L0); inoculação mais dose 1 de lodo (I + L1); inoculação mais dose 2 de lodo (I + L2); inoculação mais dose 3 de lodo (I + L3); inoculação mais adubação química, exceto a nitrogenada (I + AQ). O P (superfosfato simples) e o K (cloreto de potássio) foram aplicados, respectivamente, nas doses de 80 kg $P_2O_5 ha^{-1}$ e 60 kg $K_2O ha^{-1}$. A uréia foi aplicada, na dose de 40 kg N ha^{-1} aos 20, 40 e 60 dias após a semeadura da soja. A adubação foi feita de acordo com a análise de solo e as recomendações feitas pelo Instituto Agrônomo de Campinas, SP (van Raij et al. 1996). As doses de lodo de esgoto, também proveniente de Barueri, foram calculadas conforme já descrito para o experimento conduzido em casa-de-vegetação. A segunda dose, 3 t ha^{-1} (dose 2), forneceria a quantidade de P necessária para a produção da soja neste solo, ou seja, 80 kg $P_2O_5 ha^{-1}$. A primeira dose, 1,5 t ha^{-1} (dose 1) e a terceira dose, 6 t ha^{-1} (dose 3) foram, respectivamente, a metade e o dobro da dose 2. Em decorrência do baixo teor de potássio no lodo, as parcelas suplementadas com a menor e com a dose intermediária do lodo receberam cloreto de potássio para atingir a dose recomendada de 60 kg $K_2O ha^{-1}$. O lodo foi distribuído uniformemente na superfície do solo e incorporado à profundidade de 0 – 20 cm com enxada rotativa. As características químicas do lodo são descritas na Tabela 1.

A área experimental foi de aproximadamente 2610 m² com quatro blocos de 290 m². Cada parcela experimental (20 m²) foi constituída por oito linhas de 5 m separadas por 0,5 m e com aproximadamente 20 sementes por metro. As parcelas experimentais foram distanciadas 5 m entre si para evitar contaminação. As duas linhas externas foram utilizadas como bordaduras e as duas centrais para obtenção da produção. As outras linhas foram usadas nas colheitas periódicas de plantas para as várias avaliações. No primeiro plantio as sementes de soja cv. IAC 22 receberam inoculante oleoso conforme a recomendação do fabricante para a cultura da soja no primeiro ano.

As avaliações de N mineral no solo foram iniciadas aos 28 dias após a emergência das plantas (DAE) e repetidas a cada 15 dias até o 146º DAE. Os solos

foram coletados a 0 – 20, 20 – 40 e 40 – 60 cm na primeira, segunda e última coleta. Os solos foram colocados em caixas de isopor e levados ao laboratório onde as análises tiveram início imediato. Para a extração do NH_4^+ e do NO_3^- , 50 mL de KCl 1 mol L^{-1} foram misturados a 5g de solo úmido, agitados por 30 minutos a 120 rpm e filtrados. As determinações dos teores de NH_4^+ e NO_3^- nos extratos foram realizadas por destilação a vapor, utilizando óxido de magnésio e liga de devardas (Tedesco et al., 1985). Os solos coletados a 0 – 20 cm foram também utilizados para a determinação dos teores de fósforo (método da resina) nos vários tratamentos, aos 69 e 85 dias após a emergência.

Os teores de N total da parte aérea foram avaliados aos 32 e 64 DAE. Para todas as avaliações foram coletadas quatro plantas por parcela. No final do ciclo, após a determinação da produção, os grãos foram armazenados a 5°C para posteriores análises dos teores de Ca, Mg, K, B, Mo, Fe, Zn, Cu, Cd, Pb e Ni.

No segundo ano de plantio não foi aplicado lodo de esgoto ao solo, uma vez que procurou-se avaliar o rendimento da soja decorrente do efeito residual do lodo aplicado anteriormente como fonte de P. Antes deste segundo plantio os solos de todos os tratamentos foram amostrados e analisados quimicamente (Tabela 2).

Tabela 2. Análise química dos solos oriundos dos diferentes tratamentos, antes do segundo cultivo da soja.

Parâmetros químicos	Tratamentos ²						
	Não inoculados	 AQ	Inoculados		 L3
	Test.	AQ		L0	L1	L2	
pH	5,30	5,38	5,32	5,38	5,34	5,32	5,28
P (mg dm^{-3}) ¹	4,40	5,75	6,80	4,60	9,20	6,40	7,40
K (mmol _c dm^{-3})	0,70	0,98	0,94	0,86	0,92	1,00	0,88
Ca (mmol _c dm^{-3})	20,40	20,80	24,00	22,40	19,40	23,20	22,20
Mg (mmol _c dm^{-3})	16,20	15,20	19,00	14,75	15,20	19,00	16,60
H+Al (mmol _c dm^{-3})	32,60	30,40	29,75	32,00	31,00	31,20	32,40
SB	29,92	37,00	40,40	35,10	35,50	43,20	39,68
CTC (mmol _c dm^{-3})	69,92	67,54	70,44	73,10	66,66	74,30	72,18
V (%)	53,60	54,80	60,00	55,20	53,20	57,60	54,80
B (mg Kg^{-1})	0,148	0,154	0,160	0,162	0,156	0,166	0,168
Cu (mg Kg^{-1})	0,70	0,72	0,76	0,76	0,90	0,86	1,00
Fe (mg Kg^{-1})	34,60	36,60	38,60	39,40	39,60	39,40	42,80
Mn (mg Kg^{-1})	1,58	1,74	1,58	1,66	1,62	1,46	1,78
Zn (mg Kg^{-1})	0,66	0,70	1,00	0,82	1,18	1,48	1,60

¹ Método da resina

² Test. = testemunha; AQ = adubação química; L0 = dose 0 de lodo; L1 = dose 1 de lodo; L2 = dose 2 de lodo; L3 = dose 3 de lodo

Nos tratamentos com adubação mineral foram aplicados nitrogênio (exceto nos tratamentos inoculados), fósforo e potássio nas mesmas quantidades aplicadas no primeiro plantio, ou seja, 80 kg P_2O_5 ha⁻¹, 60 kg K_2O ha⁻¹ e 120 kg de N ha⁻¹, respectivamente, nas formas de superfosfato simples, cloreto de potássio e uréia. O nitrogênio foi aplicado, de forma parcelada, no plantio, aos 20 e 40 DAE. As plantas foram inoculadas com inoculante turfoso produzido no Centro de Energia Nuclear na Agricultura, USP, São Paulo, conforme recomendação (Tsai et al., 1993).

As coletas para as análises de N mineral no solo iniciaram-se aos 18 DAE e foram repetidas a cada 15 dias até o 95º DAE. A técnica dos tubos de PVC foi utilizada neste segundo plantio (Vieira & Cardoso, 2003). Para tal as coletas de amostras de solo foram feitas conforme descrito por Raison et al. (1987) and Dou et al. (1997), com algumas modificações, que possibilitassem verificar a lixiviação do nitrato. Em cada parcela foram colocados 4 pares de colunas de PVC (5 cm de diâmetro; 22 cm de altura) distribuídos aleatoriamente nas entrelinhas da soja, à profundidade de 0-20 cm. Dois buracos de 1 cm foram feitos a 10 cm do topo da coluna para facilitar a troca de ar e umidade entre o solo externo e interno. Segundo Dou et al. (1997), medições da umidade do solo não mostraram diferenças no conteúdo de água dentro e fora da coluna, confirmando o livre movimento de água neste sistema. Nas parcelas do tratamento com adubação química, as colunas foram colocadas o mais próximo possível da linha de aplicação da uréia. Um tubo de cada par foi coberto com tampa de PVC de 10 cm de diâmetro. A manutenção da metade do número de colunas no campo, sem tampa, foi uma forma de se procurar entender melhor o processo de mineralização do N orgânico, uma vez que neste caso permitiu-se que ocorresse a lixiviação do NO_3^- em períodos de chuva. A quantidade de nitrato lixiviado foi quantificada pela diferença entre os teores desse ânion nos dois sistemas (aberto e fechado). Para a determinação dos teores de N mineral somente foram utilizados os solos provenientes dos tubos abertos. Para a determinação do conteúdo inicial do N mineral foram retiradas amostras de solo, no dia em que as colunas foram colocadas no campo pela primeira vez. Os solos contidos nas colunas foram coletados aos 28, 49, 70, 91 e 146 DAE e novas colunas foram imediatamente recolocadas em locais escolhidos aleatoriamente, mas nunca a menos de 1 metro das bordaduras. Em cada parcela, as porções do mesmo sistema (tampado e não-tampado) foram misturadas e homogeneizadas, de modo a se obter três amostras compostas, por tratamento. Os solos foram levados para o laboratório e processados conforme descrito para o primeiro cultivo.

Os teores de N total na parte aérea e os teores de P no solo foram quantificados aos 32 e 71 DAE. Após a colheita e avaliação da produção, os grãos foram submetidos às mesmas análises já descritas anteriormente.

Resultados e Discussão

Experimento em casa de vegetação: a aplicação de lodo de esgoto na maior dose aumentou significativamente o peso das partes aéreas secas das plantas em relação aos outros tratamentos, independentemente da inoculação (Tabela 3). Estes efeitos benéficos podem ser atribuídos aos nutrientes que foram adicionados com o lodo. No entanto, os pesos máximos das vagens secas foram obtidos nos tratamentos inoculados que receberam o lodo ou o P como fertilizante. Em média, o peso das vagens nos tratamentos inoculados foi 30 % superior aos dos tratamentos com lodo que não receberam inoculação.

Tabela 3. Peso da parte aérea e vagem seca da soja colhida aos 63 dias após a emergência, em experimento de casa-de-vegetação.

Tratamentos ¹	Peso da parte aérea seca (g vaso ⁻¹)	Peso da vagem seca (g vaso ⁻¹)
Testemunha	7,86 c ²	0,59 e
AQ	17,17 b	1,47 d
I - P	8,89 c	1,51 d
I + P	17,36 b	3,35 a
I + L1	17,33 b	3,16 ab
I + L2	20,03 a	3,68 a
SI + L1	17,41 b	2,62 bc
SI + L2	18,59 ab	2,12 cd

¹ Testemunha, sem adubo ou lodo; AQ, adubação química completa; I-P, inoculação sem aplicação de adubo fosfatado; I+P, inoculação mais adubo fosfatado; I+L1, inoculação mais dose 1 de lodo; I+L2, inoculação mais dose 2 de lodo; SI+L1, sem inoculação mais dose 1 de lodo; SI+L2, sem inoculação mais dose 2 de lodo.

² Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si (Duncan, P ≤ 0,05).

Houve uma tendência à obtenção de maior número e peso dos nódulos secos, na primeira colheita, no tratamento I + P (Tabela 4). Na segunda colheita, os números dos nódulos foram similares e maiores nos tratamentos I + P, I + L1 e I + L2, quando comparado ao tratamento que não recebeu P. O peso dos

nódulos secos na segunda colheita superou em 24% e 55% o tratamentos I + P, em relação aos tratamentos que receberam lodo ou que não receberam adubo fosfatado, respectivamente, demonstrando o efeito benéfico do lodo na nodulação.

Tabela 4. Número e peso dos nódulos secos (g vaso⁻¹) de plantas de soja cultivadas em casa-de-vegetação.

Tratamentos ¹	Número de nódulos		Peso dos nódulos secos	
	49 DAE	63 DAE	49 DAE	63 DAE
I + P	82,50 aB ²	177,00 aA	0,57 aB	1,13 aA
I + L1	51,75 aB	142,75 abA	0,39 abB	0,85 bA
I + L2	60,50 aB	175,75 aA	0,38 abB	0,87 bA
I - P	48,00 aB	122,67 bA	0,23 bB	0,51cA

¹ Para informação sobre abreviação ver Tabela 3

² Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, e maiúscula, na linha, não diferem significativamente entre si (Duncan, P ≤ 0,05).

A atividade de redução do acetileno no tratamento I + P, na primeira colheita, foi 51% e 77% maior, respectivamente, do que nos tratamentos com lodo e no tratamento I – P (Fig. 1). As menores atividades de redução do acetileno nos tratamentos I + L1 e I + L2 quando comparados ao tratamento I + P, na primeira colheita, podem estar relacionadas aos maiores conteúdos de N mineral encontrados nos solos que receberam lodo (Tabela 5).

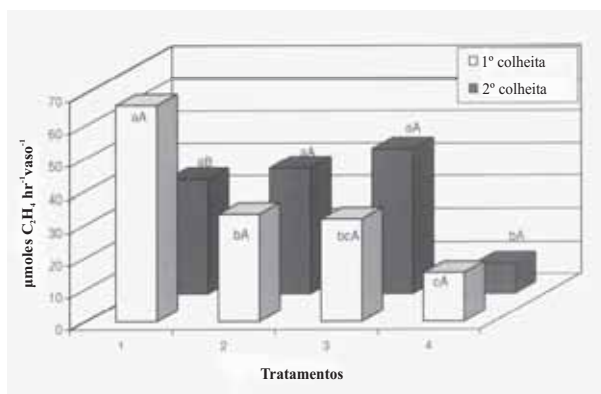


Fig. 1. Atividade da nitrogenase nas plantas de soja cultivadas sob condições de casa-de-vegetação. Médias seguidas pela mesma letra minúscula dentro de cada época de colheita e, pela mesma letra maiúscula, dentro de cada tratamento, nas duas épocas de colheita, não diferem significativamente entre si (Duncan, P ≤ 0,05). 1, I + P; 2, I + L1; 3, I + L2; 4, I - P. Para informação sobre abreviação ver Tabela 3.

Tabela 5. Concentração de nitrogênio mineral ($\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$) em solo cultivado com soja, em casa-de-vegetação.

Tratamentos ¹	N mineral (mg kg ⁻¹)
Testemunha	22,75 b ²
AQ	27,50 b
I + P	26,75 b
I + L1	52,25 a
I + L2	65,00 a
I - P	28,50 b
SI + L1	53,50 a
SI + L2	62,75 a

¹ Para informação sobre abreviação ver Tabela 3² Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si (Duncan, $P \leq 0,05$).

As quantidades totais de N na parte aérea foram maiores nos tratamentos onde a soja foi inoculada, e recebeu P como adubo químico ou como lodo de esgoto. Na segunda colheita os teores de N total na parte aérea dos tratamentos I + P, I + L1, I + L2 e I - P apresentaram um aumento, respectivamente, de 34%, 14%, 34% e 31%, em relação aos obtidos na primeira colheita (Fig. 2). As quantidades totais de N nas vagens foram maiores nos tratamentos I + P e I + L2, e, em menor extensão, no tratamento I + L1 (Fig. 3).

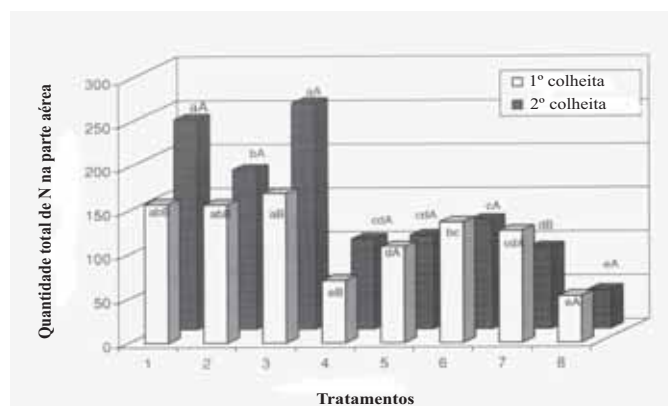


Fig. 2. Quantidades totais de N na parte aérea da soja (mg vaso⁻¹) cultivada sob condição de casa-de-vegetação. Médias seguidas pela mesma letra minúscula dentro de cada época de colheita e, pela mesma letra maiúscula, dentro de cada tratamento, nas duas épocas de colheita, não diferem significativamente entre si (Duncan, $P \leq 0,05$). 1, I + P; 2, I + L1; 3, I + L2; 4, I - P; 5, SI + L1 6, SI + L2; 7, AQ, 8, testemunha. Para informação sobre abreviação ver Tabela 3

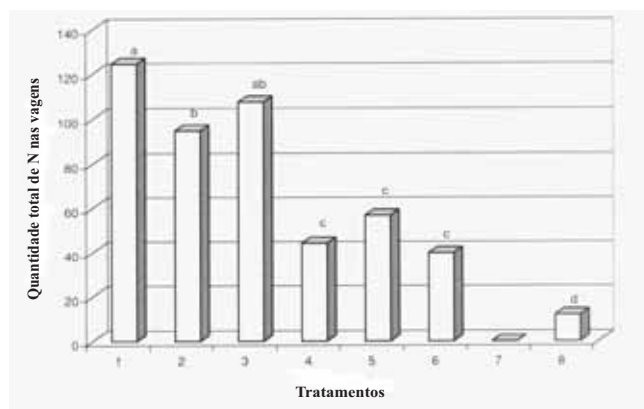


Fig. 3. Quantidades totais de N nas vagens (mg vase^{-1}) colhidas de plantas de soja cultivadas sob condições de casa-de-vegetação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si (Duncan, $P \leq 0,05$). 1, I + P; 2, I + L1; 3, I + L2; 4, I-P; 5, SI + L1; 6, SI + L2; 7, AQ, 8, testemunha. Para informações sobre abreviação ver Tabela 3.

A similaridade das quantidades totais de N na parte aérea das plantas dos tratamentos I + P, I + L1 e I + L2, na primeira colheita, pode estar relacionada à absorção pelas plantas, do N derivado da mineralização do N orgânico do lodo. Como mostrado na Tabela 5, as concentrações de N mineral nos vasos que receberam lodo foram 3 vezes maiores do que em outros tratamentos. Na segunda colheita, porém, embora sem diferença significativa, houve uma tendência à obtenção de uma maior atividade de redução do acetileno pelos nódulos das plantas dos tratamento I + L2. Este aumento poderia ser o fator responsável pela ausência de diferença significativa nas quantidades totais de N na parte aérea e nas vagens entre os tratamentos I + P e I + L2, na segunda colheita.

Experimento em campo: não ocorreu formação de nódulos nas raízes das plantas de soja no primeiro ano de cultivo, apesar das sementes terem sido devidamente inoculadas antes do plantio. Após o semeio da soja, que não foi irrigada, ocorreu um forte período de estiagem com temperaturas elevadas, que podem ter prejudicado o processo da nodulação. No segundo ano, as plantas apresentaram nódulos, mas não foram quantificados devido à dificuldade de retirada das raízes do solo.

Os teores de P no solo, no primeiro ano de cultivo, na primeira avaliação, foram maiores nos tratamentos com lodo, não diferindo, porém, entre as doses do composto (Tabela 6). Aos 85 DAE, os teores de P ainda foram maiores nos tratamentos com lodo, embora houvesse um decréscimo deste nutriente no solo de todos os tratamentos, em relação à avaliação dos 69 DAE. Na avaliação dos 85 DAE verificou-se uma tendência à maior concentração de P no solo com o aumento da dose de lodo. A análise de solo realizada antes da semeadura da soja, em 2001 (segundo ano agrícola), indicou que os teores de P nos solos suplementados com lodo foram em média 23% e 45% maiores, respectivamente, que a média dos tratamentos AQ e (I + P) e à média dos tratamentos testemunha e (I + LO). Houve também um aumento dos teores de Cu e Zn nos solos suplementados com lodo. Para o Zn este aumento foi relacionado ao aumento da dose de lodo (Tabela 2). No segundo ano de cultivo não foi detectada uma grande diferença nas doses de P entre os tratamentos com lodo e entre estes e o tratamento testemunha.

Tabela 6. Teores de fósforo (mg dm^{-3}) no solo cultivado com soja, a campo.

Tratamentos ¹	Ano 2000/2001		Ano 2001/2002	
	Dias após a emergência 69	85	Dias após a emergência 32	71
Testemunha	8,25	5,50	9,00	8,50
AQ	11,00	5,50	13,00	12,00
I + LO	8,50	5,50	10,00	8,50
I + L1	13,50	7,33	10,00	9,50
I + L2	13,00	8,00	11,00	9,50
I + L3	14,50	12,00	10,00	10,00
I + AQ	9,00	5,75	13,00	12,00

¹ Testemunha, sem adubação química ou lodo; AQ, adubação química completa; I + LO, inoculação sem aplicação de lodo; I + L1, inoculação mais dose 1 de lodo; I + L2, inoculação mais dose 2 de lodo; I + L3, inoculação mais dose 3 de lodo; I + AQ, inoculação mais adubação química, exceto a nitrogenada.

Os teores de N mineral ($\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$) no primeiro cultivo, aos 28 DAE, foram maiores nos tratamentos I + L2 e I + L3, na camada de 0 – 20 cm de solo (Tabela 7). Nestes tratamentos, a média dos teores de N mineral, $28,75 \text{ kg ha}^{-1}$, foi 41% e 54% maior, respectivamente, que o observado no tratamento com a menor dose de lodo e em relação à média dos tratamentos que não receberam fertilização nitrogenada (testemunha, I + LO, I + P). O alto teor de N encontrado no tratamento AQ pode estar associado à presença de grânulos de adubo no solo coletado.

Ocorreram também aumentos dos teores de N mineral na maior dose de lodo com o aumento da profundidade do solo. A 20 – 40 cm e 40 – 60 cm o tratamento I + L3 apresentou, respectivamente, 51 % e 39% mais N mineral que a média dos outros tratamentos. Aos 49, 70 e 91 DAE os teores de N mineral diminuíram em alguns tratamentos ou mantiveram-se iguais àqueles observados aos 28 DAE na camada de 0 – 20 cm de solo. Aos 146 DAE, no tratamento I + L3, na maior profundidade de solo, o teor de N mineral foi 43% maior que a média dos tratamentos que não receberam fertilização nitrogenada. Os resultados individuais do NH_4^+ e do NO_3^- demonstraram uma intensa nitrificação do solo.

Tabela 7. Nitrogênio mineral (mg g^{-1} de solo) em solo cultivado com soja e submetido a diferentes tratamentos (primeiro ano agrícola).

Tratamentos ¹	Dias após a emergência								
	28			49	70	91	146		
	NH ₄ ⁺ + NO ₃ ⁻								
	(0-20)	(20-40)	(40-60)	(0-20)	(0-20)	(0-20)	(0-20)	(20-40)	(40-60)
Testemunha	7.25	7.00	12.20	7.40	4.50	8.00	7.50	9.50	5.75
AQ	26.75	9.25	10.05	11.75	7.00	9.00	8.30	10.80	7.00
I + L0	5.75	9.05	12.05	7.00	4.00	6.50	10.05	11.80	6.75
I + L1	8.50	9.00	14.05	4.50	4.75	5.75	7.55	8.80	8.25
I + L2	14.00	8.75	14.75	5.00	4.50	4.25	8.25	11.25	8.75
I + L3	14.75	17.40	19.05	5.55	5.00	4.75	10.80	9.25	10.75
I + AQ	6.75	8.00	6.00	6.00	8.00	9.00	7.00	13.25	5.75
NH ₄ ⁺									
Testemunha	1.25	1.75	1.20	4.40	2.25	3.50	2.50	5.50	2.50
AQ	20.00	5.00	0.50	6.00	3.50	4.00	2.30	5.80	4.50
I + L0	1.50	3.30	1.80	3.00	3.00	4.25	2.80	6.30	3.00
I + L1	1.50	3.00	2.30	3.00	3.50	3.75	2.80	4.30	5.25
I + L2	1.75	2.00	0.00	2.00	2.75	3.50	4.00	5.50	4.00
I + L3	1.75	3.50	1.30	3.30	3.00	2.00	3.30	4.00	6.00
I + AQ	2.00	3.00	1.00	3.00	5.00	5.00	2.00	7.00	3.50
NO ₃ ⁻									
Testemunha	6.00	5.25	11.00	3.00	2.25	4.50	5.00	4.00	3.25
AQ	6.75	4.25	10.00	5.75	3.50	5.00	6.00	5.00	2.50
I + L0	4.25	5.75	10.25	4.00	1.00	2.25	7.25	5.50	3.75
I + L1	7.00	6.00	11.75	1.50	1.25	2.00	5.75	4.50	3.00
I + L2	12.25	6.75	17.75	3.00	1.75	0.75	4.25	5.75	4.75
I + L3	13.00	13.80	16.75	2.25	2.00	2.75	7.50	5.25	4.75
I + AQ	4.75	5.00	15.00	3.00	3.00	4.00	5.00	6.25	2.25

¹ Para informação sobre abreviação ver Tabela 6

No segundo cultivo os teores de N mineral no solo foram bem maiores que os obtidos no primeiro ano de cultivo da soja, independentemente do tratamento, nas avaliações realizadas após os 50 DAE (Tabela 8). O excesso de chuvas neste ano agrícola, relativo ao observado no ano agrícola de 2000/2001 pode ter sido responsável pela maior mineralização do N orgânico do solo. No mês de janeiro de 2002 a precipitação pluvial foi de 340,73 mm, enquanto neste mesmo período, no ano de 2001, ela foi de 119,33 mm. Nas duas primeiras avaliações, realizadas aos 18 DAE e aos 33 DAE, respectivamente, nos dias 3 e 18 de janeiro, os menores teores de N mineral encontrados no solo podem ser atribuídos à escassez de chuvas, pois naquele mês 67% delas ocorreram após o dia 19 de janeiro. Como não houve diferença significativa entre os teores de N da testemunha e dos tratamentos com lodo, pode-se assumir que o N mineral encontrado foi principalmente oriundo da mineralização do N orgânico do solo e não do N orgânico adicionado com o lodo. Perdas de N por lixiviação não foram detectadas pela técnica do tubo de PVC (dados não apresentados). Tal fato confirma resultados já anteriormente obtidos, de que esta técnica não é adequada para períodos de intensas precipitações pluviais (Vieira & Cardoso, 2003).

Tabela 8. Nitrogênio mineral (mg g^{-1} de solo) em solo cultivado com soja e submetido a diferentes tratamentos (segundo ano agrícola).

Tratamentos ¹	18	33	Dias após a emergência			
			50	65	80	95
			$\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$			
Testemunha	9,20	7,80	-	38,92	28,80	18,80
AQ	11,2	56,50	-	40,80	28,40	21,20
I + L0	7,80	8,800	-	42,60	26,40	13,00
I + L1	8,60	7,40	-	40,80	29,60	16,40
I + L2	9,40	8,80	-	42,40	24,00	17,00
I + L3	10,00	11,60	-	40,60	34,20	21,20
I + AQ	8,20	6,20	-	43,20	30,50	15,60
			NH_4^+			
Testemunha	5,20	4,60	-	31,32	15,80	9,4
AQ	6,00	34,25	-	33,20	14,40	11,60
I + L0	4,40	4,80	-	33,80	14,40	6,40
I + L1	5,00	4,20	-	32,80	14,00	7,60
I + L2	4,60	4,40	-	34,00	11,80	8,00
I + L3	5,80	4,80	-	33,40	14,60	10,00
I + AQ	4,6	3,80	-	33,80	13,00	7,80
			NO_3^-			
Testemunha	4,00	3,20	-	7,60	13,00	9,40
AQ	5,20	22,25	-	7,60	14,00	9,60
I + L0	3,40	4,00	-	8,80	12,00	6,60
I + L1	3,60	3,20	-	8,00	14,60	8,80
I + L2	4,60	4,40	-	8,40	12,20	9,00
I + L3	4,20	6,80	-	7,20	19,60	11,20
I + AQ	3,60	2,40	-	9,40	17,50	7,80

¹ Para informação sobre abreviação ver Tabela 6

Os teores de N no solo no primeiro cultivo da soja indicam que no tratamento I + L3 a quantidade aplicada de lodo pode ocasionar perdas de N por lixiviação. Aos 28 DAE foram encontrados $33,5 \text{ kg NO}_3^- \text{ ha}^{-1}$ à profundidade de 40 – 60 cm. Vieira e Cardoso (2003) demonstraram que logo após a adição do lodo ao solo ocorre um intenso processo de mineralização do N orgânico do lodo. Como as medições no solo cultivado com a soja somente tiveram início aos 28 DAE, as perdas potenciais de N neste solo podem ter sido subestimadas. Verificou-se também no tratamento I + L2 uma tendência à ocorrência de maior quantidade de nitrato em profundidade. De qualquer forma se for constatado em experimentos futuros grandes perdas de N no início do cultivo da soja, métodos alternativos de aplicação do biossólido poderiam ser testados. Por exemplo, parte do P poderia ser aplicado como fertilizante e parte dele como biossólido.

As produções de soja no primeiro cultivo foram bem menores que as obtidas no segundo cultivo, possivelmente em decorrência das menores incidências de chuvas (Tabela 9). As maiores produções no ano agrícola 2000/2001 foram obtidas com as duas maiores doses de lodo. Em média, estes tratamentos produziram cerca de $163 \text{ kg grãos ha}^{-1}$ a mais que no tratamento com adubação química completa. O teor de N no solo parece não ter sido um fator limitante da produção, uma vez que no tratamento inoculado que não recebeu adubo nitrogenado, a produção foi igual à do tratamento AQ. Neste ano, conforme dito anteriormente, as plantas não formaram nódulos. Nos tratamentos que não receberam adubos fosfatados (testemunha e I + L0) ou que a receberam em quantidades não suficientes (I + L1) as produções foram menores. No segundo ano de cultivo da soja as produções em todos os tratamentos foram bem maiores, provavelmente devido às intensas precipitações pluviais. Rendimentos maiores de 3000 kg ha^{-1} foram obtidas nos tratamentos I + AQ, I + L2, e I + L3, que produziram, em média, 403 kg ha^{-1} de grãos a mais que no tratamento testemunha.

Tabela 9. Produção de grãos de soja (kg ha^{-1}) em solo submetido a diferentes tratamentos.

Tratamentos ¹	Ano 2000/2001	Ano 2001/2002
Testemunha	1498 d	2685 b
AQ	1877 ab	2967 ab
I + L0	1554 cd	2629 b
I + L1	1623 bcd	2773 ab
I + L2	2079 a	3099 a
I + L3	2002 a	3118 a
I + AQ	1814 abc	3048 a

¹ Para informação sobre abreviação ver Tabela 6

² Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si (Duncan, $P \leq 0,05$).

Os dados de produção dos dois anos agrícolas demonstraram que tanto a dose 2 como a dose 3 foram suficientes para suprir as demandas da cultura em P. Este efeito se prolongou até o segundo cultivo apesar do lodo ter sido aplicado somente no primeiro ano agrícola. No tratamento I + L1, apesar dos teores de P no solo não terem sido menores que o do tratamento AQ, a produção da soja foi menor. Isto pode estar relacionado à deficiência de algum outro nutriente ocasionada pela menor aplicação do lodo de esgoto. No primeiro ano de cultivo verifica-se que mesmo sem produzir nódulos as produções dos tratamentos I + L2 e I + L3 deram, em média, 195 kg de grãos a mais que a média dos tratamentos AQ e I + P. Isto demonstra que nos tratamentos I + L2 e I + L3, apesar das doses de lodo terem sido calculadas tomando-se como base as necessidades de P da cultura, os teores de N também foram suficientes para máxima produção. Tais resultados se somam às evidências já encontradas em outros trabalhos (Vieira & Cardoso, 2003), de que a recomendação das doses de lodo, calculadas com base nas necessidades de N da cultura e no teor deste elemento no lodo de esgoto, (CETESB, 1999), pode causar perdas de N para o ambiente. No caso particular da soja, no primeiro cultivo, se o lodo fosse aplicado em quantidade para suprir todo o N recomendado, deveriam ser aplicadas 9,8 t de lodo, na base seca, considerando uma fração de mineralização do N orgânico do lodo de 30 % (Boeira et al., 2002).

Uma das preocupações com relação à utilização de lodo de esgoto na agricultura está relacionada à qualidade dos grãos, uma vez que os lodos, em geral, possuem elevados teores de metais pesados. Análises de vários elementos nos grãos da soja, colhidos nos dois anos agrícolas, não demonstraram diferenças quanto aos teores de Ca, Mg, K, B, Mn, Fe, Zn e Cu, nos diferentes tratamentos (Tabela 10). O Cd, o Pb e o Ni estavam abaixo do limite de detecção da técnica em todos os tratamentos. Houve, porém, um aumento dos teores de Mo nos grãos, onde a soja foi cultivada nas parcelas com lodo de esgoto. A concentração deste elemento nos grãos aumentou com as doses de lodo aplicadas. No segundo ano, observa-se esta mesma tendência. Isto é um fator importante quando se considera a função deste micronutriente na fixação biológica do N₂ (Giller & Wilson, 1991).

Tabela 10. Teores de alguns elementos nos grãos de soja colhidos de plantas cultivadas em solo submetido a diferentes tratamentos.

Tratamentos ¹	Ca	Mg	K	B	Mo	Mn	Fe	Zn	Cu
Ano agrícola 2000/2001									
	(mg kg ⁻¹)								
Testemunha	2410 a	2423 a	12867 b	18,20 a	0,42 c	*	150 a	41,07 a	11,08 a
AQ	2273 a	2327 a	13233 ab	12,53 c	- ²	*	160 a	37,23 a	-
I + L1	2417 a	2462 a	14300 ab	16,02 ab	0,58 bc	*	158 a	39,55 a	11,52 a
I + L2	2275 a	2460 a	14667 a	15,20 bc	0,75 ab	*	141 a	39,85 a	10,62 a
I + L3	2370 a	2455 a	13925 ab	14,35 bc	0,83 a	*	147 a	39,95 a	10,97 a
Ano agrícola 2001/2002									
Testemunha	2147 a	2225 a	13950 a	10,08 ab	-	18,47 a	87,37 a	32,47 ab	9,37 a
AQ	2167 a	2237 a	14425 a	10,52 a	1,60 a	19,55 a	134,20 a	32,30 ab	10,21 a
I + L1	2030 a	2170 a	12350b	9,71 ab	-	18,15 a	167,00 a	30,90 b	8,99 a
I + L2	2153 a	2217 a	14550 a	9,32 b	1,26 b	18,75 a	128,12 a	34,12 a	9,55 a
I + L3	2117 a	2203 a	14267 a	9,26 b	1,66 a	18,20 a	-	34,60 a	9,05 a

¹Para informação sobre abreviação ver Tabela 6.

Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, dentro de cada ano agrícola não diferem significativamente entre si (Duncan, P ≤ 0,05).

²- Resultados variáveis

*Análise não realizada

CONCLUSÕES

1. As quantidades de N presentes nas doses de lodo calculadas em função das necessidades da soja em P, e no conteúdo deste elemento no lodo de esgoto, aparentemente não afetam o processo de fixação de N₂ na cultura da soja.

2. As necessidades de P da cultura da soja (por pelo menos dois anos agrícolas) podem ser supridas pela adição de pequenas quantidades de lodo de esgoto ao solo, no primeiro cultivo, sem prejuízo para a produção ou qualidade dos grãos, considerando os nutrientes analisados.

REFERÊNCIAS

ANGLE, J. S.; MADARIAGA, G. M.; HEGER, E. A. **Sewage sludge effects on growth and nitrogen fixation of soybean.** Agriculture, Ecosystems and Environment, Amsterdam, v. 41, p. 231-239, 1992.

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

CETESB. **Aplicação de lodos de sistemas de tratamento biológico em áreas agrícolas – Critérios para projeto e operação.** São Paulo, 1999. 32 p. (Manual Técnico - Norma P 4230).

DOU, H.; ALVA, A. K.; KHAKURAL, B. R. **Nitrogen mineralization from citrus tree residues under different production conditions.** Soil Science Society of America Journal, Madison, v. 61, p. 1226-1232, 1997.

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

GILLER, K. E.; WILSON, K. E. **Environmental constraints to nitrogen fixation.** In: GILLER, K. E.; WILSON, K. E. (Ed.). Nitrogen fixation in tropical cropping systems. Wallingford: CAB International, 1991. p. 199-214.

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

HARDY, R. W. F.; HOLSTEN, E. K.; JACKSON, E. K.; BURNS, R. C. **The acetylene-ethylene assay for N₂ fixation: Laboratory and field evaluation.** Plant Physiology, Dordrecht, v. 43, p. 1185-1207, 1968.

HECKMAN, J. R.; ANGLE, J. S.; CHANEY, R. L. **Residual effects of sewage sludge on soybean. L. Accumulation of heavy metals.** Journal of Environmental

Quality, **Madison**, v. 16, p. 113-117, 1987a.

HECKMAN, J. R.; ANGLE, J. S. ; CHANEY, R. L. Residual effects of sewage sludge on soybean. II. Accumulation of soil and symbiotically fixed nitrogen. *Journal of Environmental Quality*, **Madison**, v. 16, p. 118-124, 1987b.

ISRAEL, D. M. Investigation of the role of phosphorus in symbiotic dinitrogen fixation. *Plant Physiology*, **Dordrecht**, v. 84, p. 835-840, 1987.

KINKLE, B. K.; ANGLE, J. S.; KEYSER, H. H. Long-term effects of metal-rich sewage sludge application on soil populations of *Bradyrhizobium japonicum*. *Applied and Environmental Microbiology*, **New York**, v. 53, p. 315-318, 1987.

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

MADARIAGA, G. M.; ANGLE, J. S. Sludge-born salt effects on survival of *Bradyrhizobium japonicum*. *Journal of Environmental Quality*, **Madison**, v. 21, p. 276-280, 1992.

NOVAIS, R. F.; SMYTH, T. J. Transformação de fósforo lábil em não-lábil. In: **NOVAIS, R. F.; SMYTH, T. J. (Ed.).** Fósforo em solo e planta em condições tropicais. **Viçosa: Universidade Federal de Viçosa**, 1999. 399 p.

RAIJ, B. van; Cantarella, H.; Quaggio, J. A.; Furlani, A. M. C. F. Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo. **Campinas: IAC**, 1996. 285 p. (IAC. Boletim Técnico, 100).

RAISON, R. J.; CONNELE, M. J.; KHANNA, P. K. Methodology for studying fluxes of soil mineral N *in situ*. *Soil Biology and Biochemistry*, **Oxford**, v. 19, p. 521-530, 1987.

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

TEDESCO, M. J.; VOLKWEISS, S. J.; BOHNEN, H. Análise de solo, plantas e outros materiais. **Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1985. (Boletim Técnico, 5)**

TSAI, S. M.; BONETTI, R.; AGBALA, S. M.; ROSSETTO, R. Minimizing the effect of mineral nitrogen on biological nitrogen fixation in common bean by increasing nutrient levels. *Plant and Soil, Dordrecht*, v. 152, p. 131-138, 1993.

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