



Atividade enzimática em experimento de longa duração com lodo de esgoto *Enzymatic activity in a long-term experiment with sewage sludge*

REIS, Iolanda Maria Soares¹; ALMADA, Adão Pires²; NOGUEIRA, Suelen Cristina Alves³; MELO, Wanderley José⁴; SOUSA, Mateus Alves⁵; SILVA, Angel Camurça da⁶

¹ Universidade Federal do Oeste do Pará - UFOPA, iolandareis@outlook.com; ² UFOPA, adaoalmada1000@hotmail.com; ³Eng. Agrônoma autônoma, sucri88@yahoo.com.br; ⁴ Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, wjmelo@fcav.edu.br; ⁵ UFOPA, mateussica@hotmail.com; ⁶ UFOPA, angelcamurca@gmail.com.

Eixo temático: Manejo de Agroecossistemas de base ecológica

Resumo: O uso do lodo de esgoto na agricultura é a alternativa mais viável e sustentável de destinação final deste resíduo, mas estudos de dosagens adequadas para sua utilização assim como investigação quanto a sua qualidade é fundamental. Um importante indicador de qualidade do solo são as enzimas. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade enzimática da hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA) em solos submetidos a diferentes doses de lodo de esgoto por quinze anos. O experimento foi conduzido em Latossolo Vermelho eutrófico, com quatro tratamentos de diferentes doses de lodo de esgoto, com cinco repetições. As amostras de solo foram coletadas da camada superficial até 0,20 m, e procederam-se as determinações para a enzima FDA e análise de média pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade. Não houve interações entre os tratamentos de lodo de esgoto e as profundidades avaliadas, contudo, todos os tratamentos que tiveram aplicação de lodo de esgoto apresentaram maiores valores de FDA e entre as profundidades avaliadas a profundidade de 0 a 0,05 m demonstrou maior atividade de FDA.

Palavras-chave: Bioindicadores; Hidrólise de Diacetato de Fluoresceína; Qualidade do Solo.

Keywords: Bioindicators; Fluorescein Diacetate of Hydrolysis; Soil Quality.

Introdução

O lodo de esgoto é um resíduo obtido em estações de tratamento de esgotos nos grandes centros urbanos. Esses resíduos ficam acumulados em pátios nesses locais, sendo sua disposição final um problema para o meio ambiente (GOMES; NASCIMENTO; BIODIN, 2007). Tendo em vista essa problemática, a utilização desse resíduo na agricultura como fertilizante vem sendo considerada uma solução viável, tanto do ponto de vista ambiental quanto econômico (BARBOSA, et al., 2007).

Além de conter elevados teores de matéria orgânica, macro e micronutrientes que favorecem o crescimento de microrganismos no solo, o lodo é capaz de proporcionar outros efeitos benéficos ao solo, agindo melhorando a densidade, porosidade e capacidade de retenção de água, diminuindo teor de alumínio trocável, aumentando a capacidade de troca de cátions e a capacidade de fornecer nutrientes para as plantas (QUINTANA; CARMO; MELO, 2011).



Várias culturas têm apresentado boas respostas de produtividade com a utilização de lodo de esgoto, no entanto o uso de maneira incorreta desse resíduo pode contaminar o solo, a planta e as águas superficiais e subterrâneas com metais pesados e outros poluentes (RIBEIRINHO et al., 2012), sendo necessário uma avaliação criteriosa deste resíduo e seu efeito nos atributos químicos, físicos e biológicos do solo.

Neste contexto, os microrganismos têm sido usados como bioindicadores de qualidade do solo, em virtude de proporcionar respostas rápidas às mudanças no ambiente. Dentre estes bioindicadores a hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA), é considerada uma avaliação indireta, que inclui a atividade hidrolítica de várias enzimas (esterases, lipases e proteases), produzidas por micro-organismos decompositores como bactérias e fungos (CARNEIRO et al., 2008; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). As enzimas catalisam a hidrólise das macromoléculas para sua absorção.

Neste sentido, o objetivo deste trabalho é quantificar a atividade de FDA em Latossolo Vermelho eutrófico submetido a doses de lodo de esgoto por quinze anos consecutivos.

Metodologia

O experimento foi conduzido em condições de campo por quinze anos, em Latossolo Vermelho eutrófico, na Fazenda Experimental da Universidade Estadual Paulista (UNESP), em Jaboticabal, Estado de São Paulo, nas coordenadas geográficas 21° 15' 22" S e 48° 15' 18" W e altitude 618 m.

Os tratamentos foram: T1 = 0, tratamento controle com fertilização mineral com base nas recomendações do Boletim 100 (RAIJ et al., 1997); T2 = 5,0; T3 = 10,0 e T4 = 20,0 Mg ha⁻¹ de lodo de esgoto à base seca. O milho (*Zea mays*) foi a cultura usada no 15º ano agrícola do experimento. Procedeu-se primeiramente a coleta de amostras de solo na camada superficial de 0,0-0,20 m, em todos os tratamentos, para análises químicas de fertilidade, as quais foram feitas de acordo com métodos descritos por Castoldi et al. (2011) (Tabela 1).

Para a coleta de solo foi adotado um delineamento em parcelas subdivididas, com quatro tratamentos (doses de lodo de esgoto), três profundidades e cinco repetições. As amostragens de solo ocorreram aos 60 dias após a emergência das plantas de milho, nas profundidades de 0,00-0,05; 0,05-0,10 e 0,10-0,20 m e em cada profundidade foram retiradas dez amostras simples, para formar uma amostra composta. As características químicas do solo tratado com lodo de esgoto se encontram na tabela 1.

Tabela 1. Caracterização química do solo tratado com lodo de esgoto, antes da 15ª aplicação de lodo de esgoto.



Tratamento	P Resina	MO	pH CaCl ₂	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	H+Al	SB	CTC	V
	mg dm ⁻³	g dm ³		-----mmol _c dm ⁻³ -----						%
T1	100,0	26,0	5,4	4,0	40,0	17,0	34,0	61,0	95,0	64,0
T2	34,0	22,0	5,1	2,6	23,0	15,0	38,0	40,6	78,6	52,0
T3	86,0	26,0	5,2	3,1	28,0	16,0	38,0	47,1	85,1	55,0
T4	88,0	26,0	4,7	2,3	21,0	13,0	52,0	36,3	88,3	41,0

T1=0, T2=5, T3=10 e T4=20 Mg ha⁻¹ de lodo de esgoto em base seca.

Para a determinação de FDA, amostras de solo foram incubadas com e sem o substrato FDA em meio tamponado com solução-tampão fosfato de sódio 60 mmol L⁻¹, pH 7,6, por 3 h a 24 °C, sob agitação. Em seguida, a fluoresceína formada foi extraída e sua quantificação foi realizada com base em curva padrão, com leitura em espectrofotômetro a 490 nm, sendo os resultados expressos em mg fluoresceína g⁻¹ solo ha⁻¹ (SCHUNER;ROSSWALL, 1982). Após a obtenção dos dados, estes foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Duncan, ao nível de 5% de probabilidade, usando o software Agroestat 1.0.

Resultados e Discussão

Como resposta a aplicação do lodo de esgoto ao solo foram comparadas as médias dos tratamentos (tabela 2), sendo observadas algumas diferenças pontuais no atributo biológico avaliado. Em termos absolutos dos dados apresentados, o tratamento com 20 Mg ha⁻¹ de lodo de esgoto apresentou maior média de hidrólise do diacetato de fluoresceína em 15 anos de aplicação de lodo. É importante ressaltar que o lodo de esgoto fornece uma grande quantidade de matéria orgânica rica em microrganismos.

Segundo Trannin et al. (2007), o uso de biossólido industrial no cultivo de milho, aplicando em dois anos consecutivos doses de até 24 Mg ha⁻¹, possibilitou incrementos na maioria das características biológicas relacionadas à fertilidade do solo, inclusive a FDA.

Considerando os dados apresentados na tabela 2, não houve interação entre os tratamentos de lodo de esgoto e a profundidade coletada. Mas, o tratamento com lodo de esgoto nas dosagens 5, 10 e 20 Mg ha⁻¹ diferiu do tratamento controle sem lodo de esgoto, mas com NPK, sendo que atividade da FDA foi maior que no tratamento com NPK.

O acetato de fluoresceína expressa a atividade de um grupo de enzimas, como lipases, esterases, proteases de microrganismos ativos, pois o FDA pode ser



hidrolisado por algas, protozoários e tecidos animais, mas não por esporos e células microbianas na fase estacionária de crescimento, sendo que essa reação pode ser usada como uma estimativa da atividade da microbiota do solo (MELO et al., 2010).

Tabela 2. Comparação entre as médias de lodo de esgoto em doses e em profundidade.

Comparação entre as Médias de Tratamentos Principais			Comparação entre as Médias de Tratamentos Secundários		
Doses de Lodo de Esgoto	FDA		Profundidade	FDA	
Dose de 20 Mgha ⁻¹	0.1666000	a	0-0,5 m	0.1706000	a
Dose de 10 Mgha ⁻¹	0.1622667	ab	0-0,10 m	0.1502500	b
Dose de 05 Mgha ⁻¹	0.1543333	ab	0-0,20 m	0.1706000	a
Dose de 0 Mgha ⁻¹	0.1347333	b			

Medias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

Quando avaliado a atividade de FDA em profundidade, destacou-se a profundidade 0-0,05 m. Esta profundidade recebe maior aporte de matéria orgânica, justificando os resultados apresentados.

Conclusões

O lodo de esgoto e a profundidade de 0 a 0,05 m apresentaram maior atividade da enzima hidrólise do diacetato de fluoresceína em experimento de 15 anos de duração com aplicação deste resíduo.

Referências bibliográficas

BARBOSA, G. M. C. et al. Efeito residual de lodo de esgoto na produtividade de milho safrinha. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, p. 601-605, 2007.

CASTOLDI, G. et al. Sistemas de cultivo e uso de diferentes adubos na produção de silagem e grãos de milho. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 33, p. 139-146, 2011.

CARNEIRO, M.A.C. et al. Carbono orgânico, nitrogênio total, biomassa e atividade microbiana do solo em duas cronosseqüências de reabilitação após a mineração de bauxita. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 621-632, 2008.

GOMES, S. B. V., NASCIMENTO, C. W. A., BIODIN, C. M. Produtividade e composição mineral de plantas de milho em solo adubado com lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 11, n. 5, p. 459-465, 2007.



MELO, W. J. et al. Avaliação da atividade enzimática em amostras de solo. In: FIGUEIREDO, M. V. B. et al. (eds.). *Biotecnologia Aplicada à Agricultura*, Brasília/DF, **Embrapa Informação Tecnológica**, Recife, PE, Instituto Agrônomo de Pernambuco, 2010. p.153-1.

QUINTANA, N. R. G., CARMO, M. S., MELO, W. J. Lodo de esgoto como fertilizante: Produtividade agrícola e rentabilidade econômica. **Nucleus**, v. 8, n. 1, 2011.

RAIJ, B. van, et al. **Recomendações de Adubação e Calagem para o Estado de São Paulo**, 2 ed. rev. ampl. Campinas, Instituto Agrônomo & Fundação IAC, 1997. 285p. (Boletim Técnico, 100).

RIBEIRINHO, V. S., et al. Fertilidade do solo, estado nutricional e produtividade de girassol, em função da aplicação de lodo de esgoto. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, , v. 42, n. 2, p. 166-173, 2012.

MOREIRA, F. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. Editora UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2006. 729 p.

SIQUEIRA, J. O.; SOARES, C. R. F. S.; SILVA, C. A. Matéria orgânica em solos de áreas degradadas. In Gabriel de Araújo Santos (Ed.) ... [et al.] – **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais & subtropicais**. 2 ed. rev. e atual. Porto Alegre: Metropole, Pg. 495 – 524. 2008.

SCHUNER J.; ROSSWALL T. Fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of total microbial activity in soil and litter. **Applied Environmental Microbiology**, v. 43, p. 1256-1261, 1982.

TRANNIN, I. C. B.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S. Características biológicas do solo indicadoras de qualidade após dois anos de aplicação de biossólido industrial e cultivo de milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, p. 1173-1184, 2007.