



## ATIVIDADE DA PROTEASE EM SOLOS COM 18 ANOS DE APLICAÇÕES ANUAIS DE LODO DE ESGOTO

### *PROTEASE ACTIVITY IN SOIL WITH 18 YEARS OF ANNUAL SEWAGE SLUDGE APPLICATION*

**Letícia Fernanda Lavezzo**<sup>1</sup>  
**Priscila Arrigucci Bernardes**<sup>2</sup>  
**Denise de Lima Dias Delarica**<sup>2</sup>  
**Riviane Maria Albuquerque Donha**<sup>2</sup>  
**Danilo Olandino de Souza**<sup>2</sup>  
**Wanderley José de Melo**<sup>2</sup>  
**Gabriel Maurício Peruca de Melo**<sup>3</sup>

**RESUMO:** O lodo de esgoto (LE), produto final gerado no processo de tratamento de esgoto, se manejado de forma adequada, pode ser utilizado como adubo orgânico pois é rico em nutrientes e matéria orgânica. No entanto, se manejado de forma inadequada, pode contaminar o solo, a água e o ar, ocasionando problemas socioambientais. Por isso, objetivou-se avaliar a atividade da enzima protease em solos que receberam 18 anos de aplicações anuais de lodo de esgoto. O experimento foi instalado em delineamento de blocos casualizados, com 4 tratamentos e 5 repetições. Os tratamentos utilizados foram T1: controle, T2: 5 Mg ha<sup>-1</sup> de lodo de esgoto, T3: 10 Mg ha<sup>-1</sup> e T4: 20 Mg ha<sup>-1</sup>. As amostras foram coletadas em Latossolo Vermelho eutroférico e em Latossolo Vermelho distrófico (LVd) na profundidade de 0-20 cm nos dias 0, dia de aplicação e incorporação do lodo no solo, aos 40 dias, 78 e 146 dias de experimento. Para avaliação da atividade da protease no solo, adicionou-se solução tampão e caseínas como substrato nas amostras de solo e utilizou-se o método de Proc Reg para a análise estatística. A atividade da protease diferiu estatisticamente apenas para o tratamento de 5Mg ha<sup>-1</sup> no Latossolo Vermelho eutroférico, os demais tratamentos não apresentaram efeito significativo. Concluiu-se que as diferentes doses de lodo de esgoto não influenciaram no efeito da atividade da enzima protease no solo.

<sup>1</sup> Zootecnista, aluna de doutorado pelo programa de Ciência do Solo pela Universidade Estadual Paulista – UNESP, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane s/n - Jaboticabal/SP - CEP 14884-900, Brasil. Celular: 55 - (016) 981660030, E-mail: [leticialavezzo.unesp@hotmail.com](mailto:leticialavezzo.unesp@hotmail.com)

<sup>2</sup> Universidade Estadual Paulista – UNESP, Jaboticabal/SP. E-mail: Aluna de doutorado: [p.arrigucci@yahoo.com.br](mailto:p.arrigucci@yahoo.com.br), aluna de mestrado: [denise.delarica@gmail.com](mailto:denise.delarica@gmail.com), aluna de doutorado: [rividonha@gmail.com](mailto:rividonha@gmail.com), aluno de mestrado: [daniololandinodesouza@hotmail.com](mailto:daniololandinodesouza@hotmail.com), professor titular: [wymelo@gmail.com](mailto:wymelo@gmail.com)

<sup>3</sup> UNICASTELO - University Camilo Castelo Branco, Campus de Descalvado, SP, Av. Hilário da Silva Passos, 950 Parque Universitário - Descalvado, SP CEP: 13690-970 – Brasil. E-mail: [gmpmelo@terra.com.br](mailto:gmpmelo@terra.com.br)



**ABSTRACT:** *The sewage sludge (E), the end product generated in the sewage treatment process, if handled properly, can be used as organic fertilizer because it is rich in nutrients and organic matter. However, if handled improperly, it can contaminate the ground water and the air, causing environmental problems. Therefore, this work aimed to evaluate the protease enzyme activity in soils that received 18 years of annual applications of sewage sludge. The experiment was conducted in a randomized block design with 4 treatments and 5 repetitions. The treatments were T1: control, T2: 5 Mg ha<sup>-1</sup> of sewage sludge, T3: 10 Mg ha<sup>-1</sup> and T4: 20 Mg ha<sup>-1</sup>. The samples were collected in eutrophic Oxisol and Oxisol (LVd) in depth 0-20 cm on day 0, day of application and incorporation of sludge in the soil at 40 days, 78 and 146 days of experiment. To evaluate the protease activity in the soil, uffer solution and casein added as substrate in soil samples and used if ProcReg method for statistical analysis. The protease activity was statistically different only for the treatment of 5 mg ha<sup>-1</sup> in the Oxisol, the other treatments had no significant effect. It follows that the different doses of sewage sludge did not influence the effect of protease enzyme activity in the soil.*

**Palavras-chave:** atividade enzimática, biossólido, sustentabilidade

## 1. Introdução

O aumento populacional urbano gera maior produção de resíduos, que se não forem manejados de forma adequada, apresentam potencial carga poluidora, podendo resultar em contaminação de corpos de água, do solo e do ar, gerando problemas socioambientais.

As Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs) são responsáveis pela gestão dos resíduos sólidos urbanos a fim de minimizar os impactos ambientais, sendo o lodo de esgoto (LE) o resíduo final gerado no processo de tratamento que pode ter como destino final o aterro sanitário e incineração, porém seu na agricultura é uma alternativa atraente. No entanto, sua aplicação na agricultura deve ser avaliada para que o seu uso não se transforme em um problema ambiental.

O manejo e propriedades do solo, variações sazonais, vegetação de cobertura e ações antrópicas interferem diretamente na atividade biológica do solo afetando no processo bioquímico dos nutrientes, logo, sua disponibilidade para as plantas e liberação para o meio. Em vista disso, a quantificação da atividade enzimática no solo, pode identificar alterações nos processos metabólicos, fundamentais para avaliar os efeitos das práticas de manejo adotadas (CARNEIRO et al., 2008).



Tendo em vista a preocupação e busca por sistemas de produção sustentáveis, com uso de tecnologias e medidas práticas que minimizem os impactos ambientais, objetivou-se analisar a qualidade do solo que recebeu 18 anos consecutivos de aplicações de lodo de esgoto, avaliando o solo por meio da atividade enzimática da protease.

## 2. Material e Métodos

O experimento foi instalado em novembro de 1997, em uma área de Latossolo Vermelho eutroférico (LVef) e em área de Latossolo Vermelho distrófico (LVd), com objetivo de avaliar diferentes doses de lodo de esgoto na agricultura e que há 18 anos recebe doses anuais de LE na área experimental da Fazenda de Ensino e Pesquisa da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, da UNESP, Câmpus de Jaboticabal – SP, (21°15'22" S e 48°15'18" W, altitude 618m), cujo clima é Aw segundo classificação de Köppen (VOLPE, 2008).

O experimento foi implantado em delineamento de blocos casualizados com 4 tratamentos e 5 repetições, sendo os tratamentos utilizados: T1=controle, sem aplicação de LE e com fertilização mineral; T2= 5 Mg ha<sup>-1</sup>; T3= 10 Mg ha<sup>-1</sup>; T4= 20 Mg ha<sup>-1</sup>, base seca. A dose 5 Mg ha<sup>-1</sup> foi estabelecida para fornecer o nitrogênio exigido pela cultura do milho (RAIJ et al., 1997). Os tratamentos com LE receberam aplicação de fertilizantes minerais, N-P-K, afim de receberem as mesmas quantidades de nutrientes que a parcela testemunha.

O lodo de esgoto utilizado no 18° ano de experimento foi proveniente da Estação de Tratamento de Esgoto de Franca, São Paulo, operada pela SABESP (Saneamento Básico do Estado de São Paulo).

O experimento foi instalado em dezembro de 2014 e a cultura utilizada foi o milho, semeado em espaçamento de 0,9 m entre linhas, com 7-9 plantas por metro linear, em parcelas de 60 m<sup>2</sup> de área (6 x 10 m). A aplicação do lodo foi a lanço, com a umidade com que chegou da ETE, seguida de incorporação com grade leve a cerca de 10 cm de profundidade, em seguida o milho foi semeado logo após a fertilização mineral. A primeira dose da adubação de cobertura foi realizada 40 dias após o plantio.

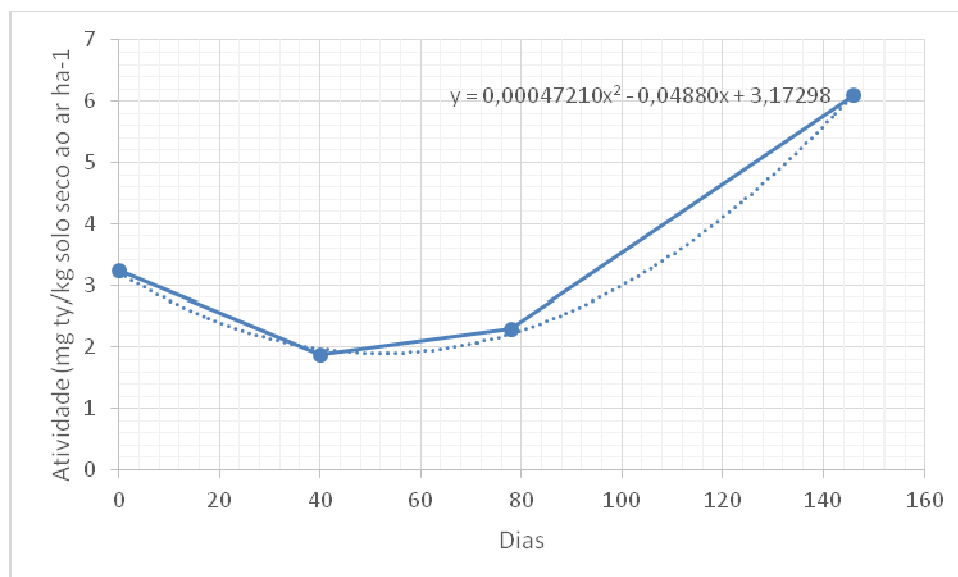
Para avaliação da atividade enzimática da enzima protease foram utilizadas amostras compostas coletadas no dia zero, dia de aplicação e incorporação do lodo, com 40 dias, 78 e 146 dias após o início do experimento e armazenadas em freezer a -20 °C, totalizando 64 amostras, seguindo a metodologia de Lado e Butler (1972) para avaliação da protease no solo. A análise estatística da atividade enzimática foi realizada por meio do Proc Reg do software SAS para a análise de regressão polinomial (SAS, 2008).

A análise, de modo geral, foi realizada em períodos diferentes ao longo do experimento para que fosse possível avaliar a sobrevivência dos micro-organismos no solo, uma vez que se trata de uma área que há 18 anos recebe aplicações anuais de lodo de esgoto.

### 3. Resultados e Discussão

A atividade da enzima protease no solo no qual foi aplicado 18 anos consecutivos de diferentes doses de LE apresentou diferença significativa apenas no tratamento de 5 Mg ha<sup>-1</sup> de LE no LVef (Figura 1), os demais tratamentos aos 0, 40, 78 e 146 dias não apresentaram diferença, de acordo com o teste t, em função das doses de LE aplicadas (Figura 2).

**FIGURA 1.** Atividade da protease em solo que recebeu a aplicação de 5 Mg ha<sup>-1</sup> de lodo de esgoto no Latossolo Vermelho eutroférico.

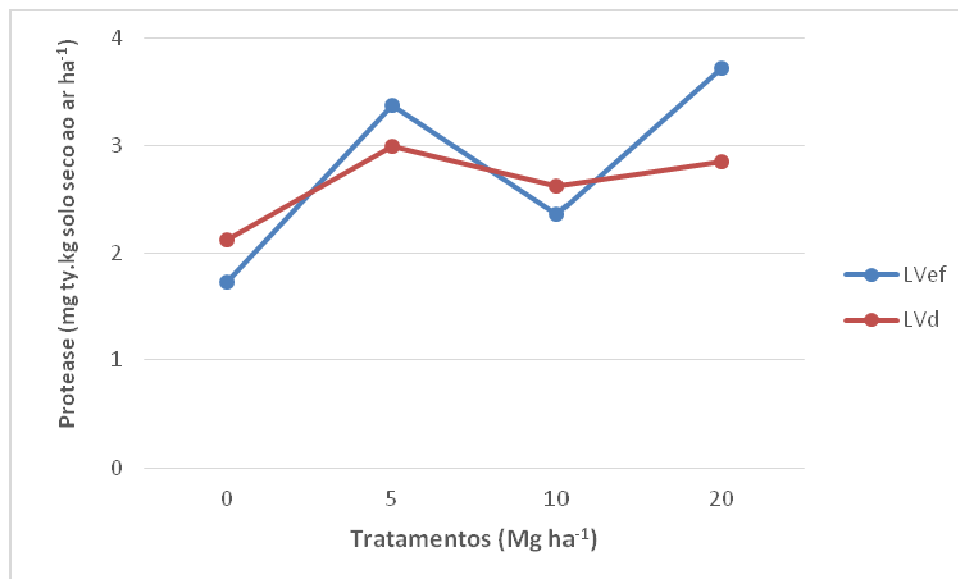


Em estudo realizado por Crecchio et al. (2004) a atividade da enzima protease no solo variou de acordo com a dose de resíduos aplicados, mostrando leve aumento com aplicação de 12 Mg ha<sup>-1</sup> de LE, reduzindo significativamente com a aplicação de doses mais elevadas de 24 Mg ha<sup>-1</sup>. A temperatura e o pH também são fatores que interferem na atividade das enzimas.

Segundo Merheb (2007), a atividade proteolítica apresentou-se máxima em pH de 5,5 a 60°C, mantendo-se estável em pH de 3,0 a 9,5 a 60°C por até uma hora, estando o pH do solo das duas áreas dentro do intervalo de variação, pH de 4,83 no LVd e 4,59 no LVef. O mesmo autor ainda afirma que a presença de níquel, bário e magnésio, foram os elementos que menos

afetaram a atividade da protease, sugerindo que a atividade proteolítica não foi inibida nos tratamentos que receberam doses de lodo de esgoto.

**FIGURA 2.** Média da atividade da enzima protease no solo na área de Latossolo Vermelho eutroférico e Latossolo Vermelho distrófico.



A termoestabilidade da protease varia de acordo com a sua origem, se bacteriana ou fúngica, uma vez que se trata de uma enzima extracelular, por isso sua atividade não foi inibida, sugerindo constante mineralização do nitrogênio no solo que poderá ser aproveitado pelas plantas evitando perdas para o ambiente.

#### 4. Conclusões

Concluiu-se que a aplicação do lodo de esgoto por 18 anos consecutivos influenciou a atividade enzimática da protease apenas no tratamento que recebeu 5 Mg ha<sup>-1</sup> de lodo de esgoto no Latossolo Vermelho eutroférico. Os demais tratamentos não influenciaram na atividade da enzima protease no Latossolo Vermelho eutroférico e no Latossolo Vermelho distrófico.

#### 5. Agradecimentos

À CAPES, ao CNPQ e a FUNEP pela concessão da bolsa de estudos e pelos recursos disponibilizados para a realização desse trabalho.



## 6. Referências

CARNEIRO, M. C.; ASSIS, P. C. R.; MELO, L. B. C.; PEREIRA, H. S.; PAULINO, H. B.; SILVEIRA NETO, A. N. Atributos bioquímicos em dois solos de cerrado sob diferentes sistemas de manejo e uso. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 38, p. 276- 283, 2008.

CRECCHIO, C.; CURCI, M.; PIZZIGALLO, M. D. R.; RICCIUTI, P.; RUGGIERO, P. Effects of municipal solid waste compost amendments on soil enzyme activities and bacterial genetic diversity. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 36, n. 10, p.1595-1605, 2004.

LADO, J. N.; BUTLER, J. H. A. Short term assays of soil proteolytic enzyme activities using protein and dipeptides derivatives as substrates. **Soil Biology Biochemistry**, v. 4, n. 1, p. 19-30, 1972.

MERHEB, C. W. **Produção, purificação, caracterização bioquímica e determinação do padrão de ação de protease do fungo Termofílico *Thermoascus aurantiacus***. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. São Paulo, São José do Rio Preto. 2007.

RAIJ, B. V.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2 ed. Campinas: Instituto Agrônomo, 1997. 285 p. (Boletim Técnico 100).

SAS System version 9.2 for Microsoft Windows [computer software]. North Carolina State University, USA, SAS Institute Inc.; 2008.

VOLPE, C. A.; CUNHA, A. R. Dados meteorológicos de Jaboticabal no período de 1971-2000. In: **Fórum de Estudos dos Problemas Referente às Mudanças Mesoclimáticas no Município de Jaboticabal**. Jaboticabal, 2008. Comissão de Assuntos Relevantes da Câmara Municipal de Jaboticabal, 200