

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**INDICADORES BIOQUÍMICOS, BIOLÓGICOS E
CARBONO DAS FRAÇÕES ORGÂNICAS EM LATOSSOLOS
TRATADOS COM LODO DE ESGOTO EM EXPERIMENTO
DE LONGA DURAÇÃO**

Elienai Ferreira da Silva

Engenheiro Agrônomo

2020

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**INDICADORES BIOQUÍMICOS, BIOLÓGICOS E
CARBONO DAS FRAÇÕES ORGÂNICAS EM LATOSSOLOS
TRATADOS COM LODO DE ESGOTO EM EXPERIMENTO
DE LONGA DURAÇÃO**

Elienai Ferreira da Silva

Orientador: Prof. Dr. Wanderley José de Melo

**Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias - UNESP, Câmpus
de Jaboticabal, como parte das exigências
para obtenção do título de Doutor em
Agronomia (Ciência do Solo).**

S586i

Silva, Elienai Ferreira da

Indicadores bioquímicos, biológicos e carbono das frações orgânicas em latossolos tratados com lodo de esgoto em experimento de longa duração / Elienai Ferreira da Silva. -- Jaboticabal, 2020

68 p. : il., tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Wanderley José de Melo

1. enzimas do solo. 2. Sustentabilidade do solo. 3. Resíduos urbanos. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

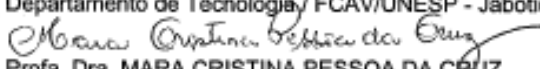
TÍTULO DA TESE: INDICADORES BIOQUÍMICOS, BIOLÓGICOS E CARBONO DAS FRAÇÕES ORGÂNICAS EM LATOSSOLOS TRATADOS COM LODO DE ESGOTO EM EXPERIMENTO DE LONGA DURAÇÃO

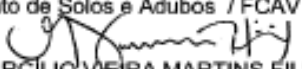
AUTOR: ELIENAI FERREIRA DA SILVA

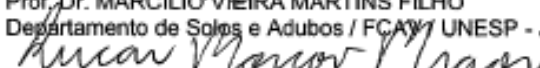
ORIENTADOR: WANDERLEY JOSÉ DE MELO

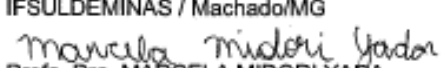
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AGRONOMIA (CIÊNCIA DO SOLO), pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. WANDERLEY JOSÉ DE MELO
Departamento de Tecnologia / FCAV/UNESP - Jaboticabal


Profa. Dra. MARA CRISTINA PESSOA DA CRUZ
Departamento de Solos e Adubos / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Prof. Dr. MARCÍLIO VIEIRA MARTINS FILHO
Departamento de Solos e Adubos / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Prof. Dr. LUCAS BOSCOV BRAOS
IFSULDEMINAS / Machado/MG


Profa. Dra. MARCELA MIDORI YABA
ITES / Taquaritinga/SP

Jaboticabal, 16 de março de 2020

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

ELIENAI FERREIRA DA SILVA – Filho de Manoel Ferreira da Silva e Maria José Ferreira da Silva, nasceu em Porto Calvo - AL no dia 19 de maio de 1987. Em agosto de 2009, ingressou no curso de Engenharia Agrônômica pela Universidade Federal de Alagoas – Centro de Ciências Agrárias – Câmpus de Rio Largo – AL. Foi bolsista de Iniciação Científica da Embrapa e do CNPq, pela Embrapa Tabuleiros Costeiros, Unidade de Execução e Pesquisa Rio Largo - AL, durante o período de Janeiro/2010 a julho/2014. Em agosto de 2014, ingressou no curso de Mestrado em Agronomia (Ciência do Solo), pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP Jaboticabal, SP. No dia 26 de fevereiro de 2016, submeteu-se a banca para defesa de Dissertação, sendo aprovado como Mestre em Agronomia. Em março de 2016, iniciou o curso de Doutorado em Agronomia (Ciência do Solo), também pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista – UNESP Jaboticabal, SP. Atualmente, colabora como Consultor de Desenvolvimento de Mercado na Compass Minerals na região do Triângulo mineiro e Alto Mogiana. Suas atribuições, dentre elas é Atuar em conjunto com a equipe comercial com ações estratégicas de desenvolvimento e acesso a novos mercados e clientes.

“Porque há esperança para a árvore, pois mesmo cortada ainda se renovará, e não cessarão seus rebentos. Se envelhecer na terra a sua raiz, e no chão morrer o seu tronco, ao cheiro das águas brotará e dará ramos como a planta nova”

Bíblia Sagrada – Jó 14: 7-9

DEDICATÓRIA

À Deus, dedico o meu maior agradecimento, porque tem sido tudo em minha vida.

À minha esposa, eterno e grande amor, Helida Moseane, por fazer parte desse sonho e tornar nossos dias mais alegres. Sem sua presença nestes anos, minhas forças não resistiriam.

Aos meus amados pais, Manoel Ferreira da Silva e Maria José Ferreira da Silva, que sem o apoio incondicional deles minha formação como profissional não poderia ter sido efetivada.

Aos meus irmãos Elielma, Emanuelle e Eliel.

Dedico meu carinho a minha sogra Cristina, ao meu sogro Ismael e à Vó Ana, assim como às minhas cunhadas: Lourdene, Mariane e Maria.

A todos, muito obrigado!

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, fonte de inspiração, milagres e livramentos de cada dia.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP - Jaboticabal) e ao Programa Pós-graduação Ciência do Solo, na pessoa do Prof. Dr. José Marques Júnior, pela aceitação e confiança.

Ao meu orientador Prof. Dr. Wanderley José de Melo, agradeço pela amizade, respeito e dedicação, essenciais para tornar possível a concretização deste trabalho.

Aos professores, membros da Banca de Defesa, pela disponibilidade em contribuir com o presente trabalho.

À doutoranda Denise Delarica e ao Mestre Danilo Olandino, companheiros do Departamento de Tecnologia (FCAV/UNESP), que muito contribuíram na concretização deste trabalho. À Thaís Moraes, agradeço pelo apoio prestado. As suas observações e críticas foram fundamentais para a elaboração deste trabalho.

À pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Walane Maria de Mello Ivo, orientadora de Iniciação Científica, pelos conselhos, incentivo, amizade e respeito ao longo desses anos.

Aos amigos do Laboratório de Bioquímica do Solo, Antônio Souza e Letícia Lavezzo, bem como ao Assistente Rodrigo Thomaz, pelo apoio.

Aos amigos do Departamento de Solos e Adubos, Roberta Souto, Henildo Souza e Laércio Santos. Aos amigos Risely Ferraz, Michele Rezende, Leonardo Correia e Joel Cabral por compartilhar de momentos bons na UNESP.

Aos amigos de trabalho do Grupo Silvio de Castro Cunha (Fazenda SC e AGROEXPORT), Sílvia Jr., Sílvia Neto, Antônio Apolinário, Douglas Dumont, Jarede Souza, Bernardo Piccolo, Eder Apolinário, Mariano, Ernane, Osvaldo, Dimas, Wilian, Renato, Paulo, Washington e José Zito, pela parceria.

À Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão (FEPE - FCAV) pela disponibilização da área e condução do experimento.

À Capes pelo apoio financeiro. Meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	iii
ABSTRACT	iv
LISTA DE ABREVIATURAS	v
LISTA DE TABELAS	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
1 INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Lodo de esgoto (LE).....	3
2.2 Uso do lodo de esgoto em solos agrícolas.....	4
2.3 Indicadores de qualidade do solo e lodo de esgoto.....	5
2.3.1 Enzimas do solo.....	8
2.3.2 Respiração basal do solo (RBS).....	10
2.4 Carbono do solo e lodo de esgoto.....	12
3 MATERIAL E MÉTODOS	15
3.1 Local, solo e clima.....	15
3.2 Histórico e delineamento experimental.....	16
3.3 Lodo de esgoto e condução do experimento.....	17
3.4 Amostragem do solo.....	18
3.5 Precipitação, temperatura e umidade do solo.....	19
3.6 Atividade enzimática do solo.....	20
3.6.1 Amilase.....	20
3.6.2 Celulase.....	20
3.6.3 Urease.....	20
3.7 Respiração basal do solo (RBS).....	21
3.8 Fracionamento do carbono.....	21
3.9 Análise Estatística.....	22
4 RESULTADOS	23
4.1 Atividade enzimática do solo.....	23
4.2 Respiração basal do solo (RBS).....	25
4.3 Teor de C nas substâncias húmicas.....	27
5 DISCUSSÃO	30
5.1 Atividade enzimática do solo.....	30

5.2 Respiração basal do solo (RBS)	33
5.3 Teor de C nas substâncias húmicas	35
6 CONCLUSÕES	38
REFERÊNCIAS	39

INDICADORES BIOQUÍMICOS, BIOLÓGICOS E CARBONO DAS FRAÇÕES ORGÂNICAS EM LATOSSOLOS TRATADOS COM LODO DE ESGOTO EM EXPERIMENTO DE LONGA DURAÇÃO

RESUMO - A avaliação da qualidade do solo por meio de variáveis bioquímicas e biológicas, além do estudo do carbono orgânico do solo por meio de suas frações humificadas, poderão fortalecer a segurança quanto ao uso de lodo de esgoto (LE) em áreas agrícolas e subsidiar a política de governança e uso do solo de clima tropical, bem como promover a sustentabilidade mediante a substituição parcial dos fertilizantes minerais. Objetivou-se avaliar o comportamento das enzimas do solo: amilase, celulase e urease, mensurar a respiração microbiana do solo, além de determinar o teor de carbono das substâncias húmicas em dois Latossolos, tratados com LE por 20 anos, bem como o impacto causado pela aplicação do LE por três períodos: 75, 236 e 306 dias após a sua aplicação. O experimento foi instalado em condições de campo em Jaboticabal, SP, com delineamento experimental em blocos casualizados com 4 tratamentos e 5 repetições. Os tratamentos no vigésimo ano de experimentação foram: T_{controle}= controle (fertilização mineral, sem aplicação de LE), T₁ = 5 Mg ha⁻¹ LE, T₂= 10 Mg ha⁻¹ LE e T₃= 20 Mg ha⁻¹ LE, (base seca). Verificou-se que, para condições de clima tropical, a aplicação de LE por 20 anos não afetou negativamente a microbiota, nem os processos bioquímicos de dois Latossolos. Todas as respostas dos valores da respiração do solo, amilase, celulase e urease em adições de dose de LE foram influenciadas pelas alterações climáticas e época de amostragem. Ademais, com o passar dos dias da aplicação de LE, o conteúdo de C nas frações húmicas da matéria orgânica do solo aumentou, não se encontrando em estágio avançado de decomposição, apresentando baixo grau de humificação.

Palavras-chave: decomposição, enzimas do solo, lodo de esgoto, sustentabilidade do solo

BIOCHEMICAL, BIOLOGICAL INDICATORS AND CARBON OF ORGANIC FRACTIONS IN LATOSOLS TREATED WITH SEWAGE SLUDGE IN LONG TERM EXPERIMENT

ABSTRACT - The evaluation of soil quality through biochemical and biological variables, in addition to the study of soil organic carbon through its humidified fractions, may strengthen security regarding the use of sewage sludge (LE) in agricultural areas and subsidize policy governance and land use in a tropical climate, as well as promoting sustainability through partial replacement of mineral fertilizers. The objective was to evaluate the behavior of soil enzymes: amylase, cellulase and urease, measure the microbial respiration of the soil, in addition to determining the carbon content of humic substances in two Oxisols, treated with LE for 20 years, as well as the impact caused by the application of the LE for three periods: 75, 236 and 306 days after its application. The experiment was installed under field conditions in Jaboticabal, SP with a randomized block design with 4 treatments and 5 repetitions. The treatments for the twentieth year of experimentation were: T_{control} = control (mineral fertilization, without SS application), $T_1 = 5 \text{ Mg ha}^{-1} \text{ SS}$, $T_2 = 10 \text{ Mg ha}^{-1} \text{ SS}$ and $T_3 = 20 \text{ Mg ha}^{-1} \text{ SS}$, all dry basis. It was found that, for tropical climate conditions, the application of SS for 20 years did not negatively affect the microbiota, as well as in the biochemical processes of two Oxisols. All responses to the values of soil respiration, amylase, cellulase and urease in SS dose additions were influenced by climate change and sampling time. In addition, with the passing of the days of application of SS, the C content in the humic fractions of soil organic matter increased, not being in an advanced stage of decomposition, presenting a low degree of humification.

Keywords: decomposition, soil enzymes, sewage sludge, soil sustainability

LISTA DE ABREVIATURAS

LE – Lodo de esgoto
N – Nitrogênio
P – Fósforo
K – Potássio
Ca – Cálcio
Mg – Magnésio
Zn – Zinco
Cu – Cobre
Fe – Ferro
Mn – Manganês
Mo – Molibdênio
C – Carbono
C_{org} – Carbono orgânico
pH – potencial Hidrogeniônico
CTC – Capacidade de Troca Catiônica
CO₂ – Gás carbônico
O₂ – Gás oxigênio
N₂ – Gás nitrogênio
NO_x – Óxido de nitrogênio
NH₃ – Amônia
MOS – Matéria orgânica do solo
AH – Ácidos húmicos
AF – Ácidos fúlvicos
HU – Huminas
LVef – Latossolo Vermelho eutroférico
LVd – Latossolo Vermelho distrófico
RBS – Respiração Basal do solo

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Principais indicadores físicos, químicos e biológicos e suas relações com a qualidade do solo.....	6
Tabela 2. Características químicas de Latossolos Vermelhos eutroférico e distroférico (0- 20 cm) avaliados antes da instalação do experimento no vigésimo ano da aplicação de lodo de esgoto.....	16
Tabela 3. Culturas plantadas nos Latossolos e origem do lodo de esgoto usado durante 20 anos de condução do experimento.....	17
Tabela 4. Caracterização química do lodo de esgoto usado no 20º ano de experimentação.....	17
Tabela 5. Média da atividade da enzima amilase ($\text{mg glicose kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) no solo $\pm$ erro padrão, avaliada com 75, 236 e 306 dias após aplicação de lodo de esgoto em dois Latossolos (LVef – LVd) tratado por 20 anos.....	23
Tabela 6. Média da atividade da enzima celulase ($\text{mg glicose kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) no solo $\pm$ erro padrão, avaliada com 75, 236 e 306 dias após aplicação de lodo de esgoto em dois Latossolos (LVef – LVd) tratado por 20 anos.....	24
Tabela 7. Média da atividade da enzima Urease ($\text{mg de N-NH}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ solo hora}^{-1}$) no solo $\pm$ erro padrão, avaliada com 75, 236 e 306 dias após aplicação de lodo de esgoto em dois Latossolos (LVef – LVd) tratado por 20 anos.....	25
Tabela 8. Média da respiração basal ($\text{mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$) do solo $\pm$ erro padrão, avaliada com 75, 236 e 306 dias após aplicação de lodo de esgoto em dois Latossolos (LVef – LVd) tratado por 20 anos.....	26
Tabela 9. Carbono nas frações SH, AH, AF e HU $\pm$ erro padrão, avaliado com 75, 236 e 306 dias após aplicação de lodo de esgoto em LVef tratado por 20 anos.....	27
Tabela 10. Carbono nas frações SH, AH, AF e HU $\pm$ erro padrão, avaliado com 75, 236 e 306 dias após aplicação de lodo de esgoto em LVd tratado por 20 anos.....	29

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Precipitação e temperatura média do ar durante o período de avaliação do experimento.....	15
Figura 2. Representação das épocas de amostragem. DAA: dias após aplicação de lodo de esgoto.....	19

1 INTRODUÇÃO

A produção global de lodo de esgoto (LE) chega a aproximadamente 330 km³ por ano, e cerca de 167 km³ são produzidos pela China, Índia, Estados Unidos, Brasil e Rússia (Mateo-Sagasta et al., 2015). Estes índices podem aumentar exponencialmente com o crescimento da população mundial, com projeção de aumento de 43% em 2100 (United Nations, 2018). Os dados são preocupantes quanto a produção de LE e ao seu destino final. Existem alternativas sustentáveis para uso do LE.

O LE é um resíduo predominantemente orgânico, sendo viável, sob os aspectos ambiental, econômico, técnico e operacional, seu uso em solos agrícolas (Sampaio, 2013), dado que, o LE concentra consideráveis teores de nutrientes e matéria orgânica, atuando benéficamente nos atributos físicos, químicos e biológicos do solo. No entanto, a presença e o acúmulo de metais pesados no solo podem limitar a sua aplicação (Nannipieri et al., 2011; Hamdi et al., 2019). Dentre os processos biológicos e bioquímicos afetados estão a respiração basal e a atividade das enzimas do solo (Yada et al., 2015; Bohm et al., 2016; Vieira e Pazianotto, 2016; Melo et al., 2018).

Em razão do LE ser fonte energética para atividade microbiana e estes serem agentes transformadores da matéria orgânica do solo (MOS), também encarregados de ser a principal fonte de enzimas, a respiração basal do solo (RBS) e a atividade enzimática são indicadores essenciais de qualidade do solo, sendo capazes de indicar o efeito dos metais pesados presentes do LE e a interferência do seu uso nas reações microbianas envolvidas nos ciclos dos nutrientes (Kallenbach et al., 2016; Heděnek et al., 2019). Estas observações possibilitam analisar ou orientar tendências de mudanças na qualidade do solo, em curtos, médios e longos períodos.

A MOS também é um importante indicador da qualidade do solo, estando diretamente relacionada a estruturação do solo, o fornecimento de nutrientes e a atividade microbiana (Santos et al., 2008). De acordo com Costa et al. (2013), o incremento e a qualidade da MOS dependem da entrada de material orgânico e sua origem, da taxa de mineralização, de fatores edáficos, entre outras variáveis, também sendo afetada pelos diferentes sistemas de manejo, que podem alterar a quantidade e a natureza química do carbono orgânico do solo (Santos et al., 2008).

As substâncias húmicas (SH) são originadas pela degradação química e

biológica de resíduos orgânicos e ação microbiana, são o principal constituinte da MOS e representam 85 a 90% da reserva total de carbono orgânico no solo (Stevenson, 1994). As SH, com base na sua solubilidade, podem ser classificadas em: ácidos húmicos (AH), ácidos fúlvicos (AF) e huminas (HU). Estes constituintes podem fornecer informações importantes sobre a sustentabilidade ambiental e sobre a qualidade do solo em agroecossistemas, permitindo correções nas estratégias de uso e de manejo adotadas (Santos et al., 2013; Rose et al., 2014).

Contrariamente às regiões de clima temperado, as taxas de degradação dos compostos orgânicos são altas em condições tropicais, e o uso do LE se torna uma alternativa para melhorar a biodisponibilidade dos nutrientes no solo (Melo et al., 2002). Entretanto, pouco se conhece sobre os efeitos do LE na qualidade de Latossolos repetidamente adubados, já que geralmente as coletas de solo são realizadas muito próximas da aplicação do LE.

Para a realização da presente pesquisa, foi elaborada a seguinte hipótese: sucessivas aplicações de LE aumentam a RBS e atividade enzimática devido ao incremento no teor de compostos orgânicos do solo pelo LE.

Assim, para garantir o uso sustentável e agronomicamente eficiente do LE, o objetivo com este estudo foi avaliar o comportamento das enzimas do solo: amilase, celulase e urease, mensurar a respiração microbiana do solo, e determinar o teor de carbono das frações húmicas em dois Latossolos tratados com LE por 20 anos no decorrer de um ano e o impacto causado pela aplicação do LE por três períodos: aos 75, 236 e 306 dias após a sua aplicação. Estas avaliações poderão fortalecer a segurança quanto ao uso de LE em áreas agrícolas e subsidiar a política de governança e uso do solo, bem como promover a sustentabilidade com a substituição parcial dos fertilizantes minerais.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Lodo de esgoto (LE)

As estações de tratamento de esgotos (ETEs) coletam e tratam diariamente milhões de litros de esgoto e assim, evitam que essa carga orgânica chegue aos corpos hídricos e ao ambiente. O tratamento de esgotos, além de ser uma questão de saúde pública, é tido como uma medida de preservação ambiental e consiste, de modo geral, em um conjunto de processos físicos, químicos e biológicos para remoção da matéria orgânica e dos sólidos sedimentáveis (Pereira et al., 2013).

O esgoto, ao chegar à ETE, passa por pré-tratamento para retirada do material grosseiro. A partir daí, é biodegradado por microrganismos, principalmente por bactérias, que promovem sua decomposição ao se alimentarem da matéria orgânica rica em nutrientes, contida no resíduo (Costa et al., 2008). Este processo de biodegradação ocorre naturalmente no meio ambiente. No entanto, na ETE, ele ocorre de maneira mais concentrada, eficiente e rápida (Costa et al., 2008). Após o devido tratamento do esgoto, a água removida é devolvida aos mananciais, restando nas estações a parte sólida, composta por resíduos grosseiros contidos pelo gradeamento, a areia e o lodo de esgoto (LE). O LE é o resíduo gerado em maior volume e é tipicamente formado pela matéria particulada orgânica e inorgânica, decantada durante o tratamento primário do esgoto (lodo primário), e pelos microrganismos excedentes, produzidos durante o processo de ativação biológica do esgoto no tratamento secundário (lodo secundário) (Christodoulou e Stamatelatou, 2016).

As características do LE dependem diretamente da origem do esgoto, do local e época do ano de sua coleta e da tecnologia empregada para o seu tratamento (Melo e Marques, 2000; Bueno et al., 2011; Kominko et al., 2017). De forma geral, os LEs possuem teores de nitrogênio (N) variando de 1,0 a 8%; fósforo (P) de 0,5 a 4%; potássio (K) de 0,1 a 0,6% e teores de matéria orgânica de 30 a 60% (Coscione et al., 2014; Carvalho et al., 2015; Kominko et al., 2017).

As taxas de coleta e tratamento de esgotos no Brasil, são de 48,6 e 42,7%, respectivamente (Brasil, 2017), sendo consideradas baixas pelas metas estabelecidas no Plano Nacional de Saneamento Básico, que objetiva atender 93% da população

brasileira com coleta e tratamento de esgoto sanitário até 2033 (Brasil, 2014). Assim, o aumento da produção de LE é inevitável, logo, devem ser identificadas alternativas de utilização desse resíduo, com agregação de valor, maior benefício à sociedade e menor impacto ambiental.

Algumas alternativas de tratamento e disposição final para o LE, adotadas no cenário mundial, são: biomassa para geração de energia (Bilotta e Ross, 2016; Smolinski et al., 2019), incineração (Andreolli, 2006; Xu et al., 2015), e mistura para fabricação de materiais de construção, este sem perda de energia liberada durante o processo de combustão (Jordán et al., 2005; Malliou et al., 2007; Ischia et al., 2007; Matsumiya, 2012), e uso agrícola (Bittencourt et al., 2017; Abreu et al., 2017), devido a sua composição rica em nutrientes e matéria orgânica.

2.2 Uso do lodo de esgoto em solos agrícolas

A composição do LE favorece seu uso agrícola, devido a presença de matéria orgânica, de macronutrientes (N, P) e de micronutrientes (zinco (Zn), cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn) e molibdênio (Mo)), que exercem papel fundamental na produção agrícola e na manutenção da fertilidade do solo (Tsutiya, 2001; Bettiol e Camargo, 2006; Junior et al., 2013; Bai et al., 2017), podendo também ser utilizado na recuperação de solos erodidos e de áreas degradadas (Tamanini et al., 2008; Dalchiavon et al., 2013; Bonini et al., 2015; Moreira et al., 2019). No entanto, o resíduo também pode conter substâncias inorgânicas e orgânicas poluentes, potencialmente capazes de causar impactos negativos ao ambiente e à saúde de populações humanas e de animais eventualmente expostas (Bittencourt et al., 2017).

O LE, se manejado e monitorado de forma adequada, proporciona ganho de qualidade do solo, melhorando suas propriedades físicas, químicas e biológicas, e consequentemente favorecendo a produção agrícola (Scotti et al., 2015; Melo et al., 2018). Ainda reduzi a extração de minérios e o uso de energia elétrica para a fabricação de adubos comerciais (Dynia et al., 2006), tornando-se importante para a sustentabilidade ambiental, sendo sua aplicação, uma alternativa possível e econômica.

Quando incorporado ao solo, o LE proporciona alterações em propriedades físicas, como densidade, tamanho dos agregados e capacidade de retenção de água (Souza et al., 2005; Dalchiavon et al., 2013; Scotti et al., 2015), além de alterações químicas como pH, condutividade elétrica, capacidade de troca de cátions (CTC) e aumento dos teores de N, P e de outros nutrientes (Macedo et al., 2012; Lobo et al., 2013; Pires et al., 2015; Delarica, 2016; Protano et al., 2019). Também altera as propriedades biológicas, geralmente incrementando a atividade microbiana do solo (Lakhdar et al., 2011; Mattana et al., 2014; Melo et al., 2018), quando não apresenta limitações devido a presença de elementos tóxicos em sua composição (Melo et al., 2001; Tsutiya, 2001). Ademais, com o passar do tempo, o LE libera, de forma gradual os nutrientes para o solo e as plantas, ao contrário dos fertilizantes minerais, o que o torna ainda mais vantajoso (Poggiani et al., 2000).

Vale ressaltar que, o uso agrícola do LE deve ser acompanhado do desenvolvimento de tecnologias que permitam, entre outros, o processamento e controle da qualidade do LE produzido, o controle das formas de comercialização e distribuição, a inserção do produto nos sistemas agrícolas, o entendimento das interações e efeitos residuais de aplicações sucessivas, de forma a maximizar os impactos positivos e minimizar os impactos negativos. Dessa forma, tornam-se imprescindíveis estudos que fundamentem e fortaleçam a legislação que trata do uso do LE em sistemas agrícolas (resolução nº 375/2006 do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA, Brasil, 2006).

2.3 Indicadores de qualidade do solo e lodo de esgoto

O solo é um recurso natural essencial para o funcionamento do ecossistema terrestre e representa um balanço entre os fatores físicos, químicos e biológicos. Os principais componentes do solo incluem: minerais inorgânicos e partículas de areia, silte e argila, formas estáveis da matéria orgânica derivadas da decomposição pela biota do solo, a própria biota (minhocas, insetos, bactérias, fungos, algas e nematoides) e gases, como O₂, CO₂, N₂, NO_x (Doran et al., 1996). Assim, alterações nesses fatores, provocadas pelas diferentes práticas de manejo adotadas na agricultura, podem resultar na redução da capacidade de sustentação da produção

vegetal e gerar riscos ambientais, causando impactos negativos relevantes para as populações rurais e urbanas (Primavesi, 2002).

A qualidade do solo é entendida como a capacidade de sustentar a produtividade biológica do ecossistema, mantendo o equilíbrio ambiental e promovendo a saúde de plantas, de animais e do próprio ser humano (Doran et al. 1996; Sposito e Zabel, 2003). No entanto, a qualidade do solo não pode ser determinada diretamente, podendo ser estimada a partir de indicadores (Karlen e Stott, 1994; Andrews et al., 2004). Estes indicadores são propriedades mensuráveis (quantitativas ou qualitativas) do solo acerca de um processo ou atividade e que permitem caracterizar, avaliar e acompanhar as alterações ocorridas num dado ecossistema (Karlen et al., 1997).

As propriedades físicas, químicas e biológicas do solo têm sido historicamente usadas como indicadores de qualidade do solo (Karlen et al., 2001; Andrews et al., 2004). Na tabela 1 estão apresentados alguns dos principais indicadores e suas relações com a qualidade do solo, de acordo com Araújo e Monteiro (2007).

Tabela 1. Principais indicadores físicos, químicos e biológicos e suas relações com a qualidade do solo.

Indicadores	Relação com a qualidade do solo
Matéria orgânica do solo	Fertilidade, estrutura e estabilidade do solo.
Físicos	
Estrutura do Solo	Retenção e transporte de água e nutrientes.
Infiltração e densidade do solo	Movimento de água e porosidade do solo.
Capacidade de retenção de água	Armazenamento e disponibilidade de água
Químicos	
pH	Atividade biológica e disponibilidade de nutrientes
Condutividade elétrica	Crescimento vegetal e atividade microbiana.
Conteúdo de macro e micronutrientes	Disponibilidade de nutrientes para as plantas.
Biológicos	
Biomassa microbiana	Atividade microbiana e reposição de nutrientes.
Mineralização de nutrientes (N, P e S)	Produtividade do solo e potencial de suprimento de nutrientes.
Respiração do solo	Atividade microbiana
Fixação biológica do nitrogênio	Potencial de suprimento de N para as plantas
Atividade enzimática do solo	Atividade microbiana e catalítica no solo.

Fonte: Araújo e Monteiro (2007) (Adaptado de Doran e Parkin, 1994)

Alguns atributos físicos são frequentemente utilizados como indicadores da qualidade do solo em sistemas de manejo, como a resistência mecânica à penetração do solo, a estabilidade dos agregados, a capacidade de retenção de água e a porosidade do solo, alguns deles, diretamente relacionados ao crescimento das plantas e de fácil e rápida determinação.

Estudos realizados por Dalchiavon et al. (2013), Alves et al. (2007) e Barbosa et al. (2007) relatam que a aplicação de LE promove a melhoria das propriedades físicas do solo. Os autores destacam que a densidade do solo é um importante indicador de qualidade por está fortemente correlacionada com o carbono orgânico (C_{org}) do solo, uma vez que a adição de resíduos orgânicos, como o LE, normalmente aumenta o C_{org} e diminui inversamente a densidade do solo (Scotti et al., 2015). Já Souza et al. (2005), que trabalharam com doses de LE de até 50 t ha⁻¹, incorporado na camada de 0-0,10 m em Latossolo Vermelho, verificaram que o resíduo não influenciou as propriedades físicas do solo, durante o período de cinco anos após sua aplicação. Resultados semelhantes também foram relatados por Camilotti et al. (2006), que concluíram que os atributos físicos do solo não foram alterados pela aplicação anual de LE (até 24 t ha⁻¹) durante quatro anos consecutivos, e ressaltaram que o efeito do LE na melhoria das propriedades físicas do solo deve ser estudado durante períodos maiores de aplicação do resíduo.

Os indicadores químicos são, normalmente, agrupados em variáveis relacionadas com a acidez do solo, a CTC, a disponibilidade de macro e micronutrientes, a solubilidade de elementos fitotóxicos (Al^{3+} , por exemplo), e as saturações por bases e por alumínio (Araújo et al., 2012), pois estes são sensíveis as mudanças dos sistemas de manejo do solo.

Quanto aos aspectos químicos, a aplicação de LE ao solo tem propiciado aumento dos teores de N (Macedo et al., 2012; Pires et al., 2015; Delarica, 2016; Bai et al., 2017), P (Lobo et al., 2013; Bonini et al., 2015; Delarica, 2016; Bai et al., 2017), K, cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S) (Lobo et al., 2013; Bonini et al., 2015), Zn (Protano et al., 2019); de C_{org} (Lobo et al., 2013; Delarica, 2016; Bai et al., 2017), do pH, da condutividade elétrica e da CTC (Oliveira et al., 2002; Lobo et al., 2013; Bonini et al., 2015).

A biomassa microbiana do solo é responsável pela decomposição da matéria orgânica e ciclagem de nutrientes, e sua atividade reflete qualquer alteração feita no solo, seja ela benéfica ou maléfica (Bastida et al., 2008; Gonçalves et al., 2009). Portanto, os microrganismos possuem a capacidade de responder mais rapidamente a mudanças na qualidade do solo do que os indicadores químicos ou físicos (Powlson et al., 1987; Kaschuk et al., 2010).

Alterações na atividade microbiana do solo podem ser determinadas por meio de análises do C_{org} do solo, da atividade microbiana do solo por meio da biomassa; respiração basal; quociente metabólico; quociente microbiano e atividade enzimática (Santos e Maia, 2013). A respiração basal e a atividade enzimática estão entre os principais indicadores biológicos de qualidade do solo (Araújo e Monteiro, 2007).

A avaliação da atividade microbiana do solo tem sido utilizada para assegurar a qualidade do solo frente as possíveis alterações na estrutura e no funcionamento do agroecossistema, resultantes da aplicação de LE ao solo, que pode tanto estimular a atividade microbiana do solo, devido ao aumento de C_{org} e nutrientes disponíveis, como inibir, em razão da presença de metais pesados e outros poluentes (Fernandes et al., 2005; Lakhdar et al., 2011; Armenta et al., 2012; Bohm et al., 2014; Mattana et al., 2014; Pereira et al., 2015; Melo et al., 2018). Deste modo, o comportamento da população microbiana depende da qualidade e da quantidade do resíduo aplicado ao solo, e também do tempo de aplicação.

2.3.1 Enzimas do solo

As enzimas participam das reações metabólicas intercelulares, responsáveis pelo funcionamento e pela manutenção dos seres vivos, atuando no catabolismo biológico dos componentes orgânico e mineral do solo em várias reações que resultam na decomposição de resíduos orgânicos (ligninases, celulasas, proteases, glucosidases, galactosidases, amilases), ciclagem de nutrientes (fosfatases, amidases, urease, sulfatase), formação da matéria orgânica e da estrutura do solo (Mendes e Vivaldi, 2001; Araújo e Monteiro, 2007; Balota et al., 2013).

A atividade enzimática pode ser utilizada como medida de atividade microbiana, produtividade e efeito de poluentes no solo, pois está diretamente ligada com

decomposição da matéria orgânica, condições físico-químicas e população microbiana do solo. Além disto, apresenta alta sensibilidade de detecção e expressa a influência de alterações antrópicas no solo (Bowles, 2014).

Materiais com grande carga orgânica, como o LE, melhoram a atividade microbiana e a biomassa do solo, devido a maior matéria orgânica e disponibilidade de nutrientes. Assim, vários estudos avaliaram as alterações nas atividades enzimáticas do solo causadas pela aplicação de LE (Fernandes et al., 2005; Lakhdar et al., 2011; Armenta et al., 2012; Mattana et al., 2014; Melo et al., 2018).

A amilase é uma enzima envolvida na liberação de açúcares de baixo peso molecular a partir da hidrólise de amido a unidades de glicose, que servem de fonte de energia para os microrganismos do solo (Melo et al., 1983; Balota et al., 2013). Fernandes et al. (2005) e Melo et al. (2018) observaram aumento da atividade da amilase com o fornecimento de LE, até as doses de 64,7 e 100 Mg ha⁻¹ de LE, respectivamente.

A celulase catalisa a hidrólise da celulose em unidades de celobiose, dissacarídeo formado por unidades de glicose em ligação glicosídica β 1,4, que posteriormente é hidrolisada pela β -glicosidase. Assim, a hidrólise total da celulose resulta em moléculas de glicose (Pancholy e Rice, 1973; Balota et al., 2013).

A aplicação de LE é um input de energia para o desenvolvimento dos microrganismos. Através deste estímulo, a atividade da celulase é aumentada e a degradação dos carboidratos fornece o substrato prontamente disponível. As celulases estão envolvidas na ciclagem do carbono (C) pela decomposição e liberação de fonte de energia como a glicose (Deng e Tabatabai, 1996). Melo et al. (2018) verificaram que a menor dose de LE (50 Mg ha⁻¹) apresentou atividade celulósica 2,7 vezes maior que o tratamento que recebeu a maior dose de LE (147,5 Mg ha⁻¹), justificando o fato como uma possível resposta à suplementação de N com fertilizante mineral, pois o tratamento intermediário recebeu uma quantidade maior de N prontamente solúvel do fertilizante mineral, comparado ao tratamento com maior dose de LE. Já Moreira et al. (2017), observaram maior atividade enzimática da celulase na dose de 20 Mg ha⁻¹ de LE. Diferentemente, Lopes (2019) não observou diferença na atividade da celulase com as doses de LE aplicadas (0 a 20 Mg ha⁻¹), após 21 anos de aplicação de LE em dois diferentes latossolos, atribuindo isto ao possível baixo teor

de celulose no resíduo, que pode ter sido digerido ainda durante o tratamento do esgoto na ETE.

A urease participa ativamente de processos envolvidos no ciclo do nitrogênio, contribuindo para liberação de nitrogênio inorgânico, pois catalisa a hidrólise da ureia liberando amônia (NH_3) e CO_2 , os quais são assimilados por microrganismos e plantas (Upadhyay, 2012).

A atividade da urease é diretamente proporcional ao teor de matéria orgânica presente no solo (Roldán et al., 2003). Sendo assim, a aplicação de LE pode aumentar sua atividade, conforme verificado por Armenta et al. (2012) com o aumento das doses de LE (0 a 36 Mg ha^{-1}), por Wang et al. (2012) na dose de 20 Mg ha^{-1} em solo arenoso, por Mattana et al. (2014) com a adição de diferentes tipos de LE (lodo fresco, lodo compostado e lodo seco termicamente), por Cele e Maboeta (2016) nos tratamentos que receberam de 25 a 100 Mg ha^{-1} de LE e por Liu et al. (2017) em que a adição de 30 e 45 Mg ha^{-1} de LE levou a um aumento significativo da atividade de urease (em 57,32% - 132,48%) comparado ao tratamento controle. Ao contrário de Lakhdar et al. (2011), em que a adição de LE (40 e 80 Mg ha^{-1}) diminuiu significativamente a atividade da urease (17% e 38%, respectivamente) e de Lavezzo (2016), que ao aplicar doses crescentes de LE (0 a 20 Mg ha^{-1}) em Latossolo Vermelho eutroférrico e Latossolo Vermelho distrófico, durante 18 anos de aplicação anual, não observou efeito, o que foi atribuído a possíveis alterações de pH e umidade do solo.

Dessa forma, o entendimento do comportamento da atividade enzimática de solos tratados com LE é fundamental na identificação de possíveis alterações em processos metabólicos que interferem diretamente na atividade biológica do solo, já que esse tipo de resíduo pode atuar como agente estressante sobre a microbiota do solo, afetando os processos bioquímicos dos nutrientes, sua disponibilidade para as plantas e liberação para o meio.

2.3.2 Respiração basal do solo (RBS)

A RBS é definida como a soma de todas as funções metabólicas nas quais é produzido o CO_2 (Pragana et al., 2012). A liberação de CO_2 é proveniente da atividade

de bactérias, fungos, algas e protozoários do solo e também das raízes de plantas (Epron et al., 2006; Gama-Rodrigues e Gama-Rodrigues, 2008).

A avaliação da respiração do solo é a técnica mais frequentemente utilizada para quantificar a atividade microbiana, sendo positivamente relacionada com o conteúdo de matéria orgânica e com a biomassa microbiana (Alef e Nannipieri, 1995). Dessa forma, a quantidade de CO₂ emitida está relacionada à capacidade de degradação da matéria orgânica pela microbiota, sendo esta, uma fase fundamental no ciclo do C (Hernández e García, 2003; Epron et al., 2006). Assim, a elevada emissão de CO₂ pode indicar tanto alta produtividade do ecossistema como um distúrbio ecológico (Islam e Weil, 2000).

A respiração microbiana, bem como outras atividades metabólicas, dependem do estado fisiológico das células, sendo influenciadas por diversos fatores ambientais como umidade do solo, pluviosidade, temperatura, disponibilidade de nutrientes, quantidade de C_{org} e qualidade da matéria orgânica (Adachi et al., 2006; Snajdr et al., 2008; Helingerová et al., 2010; Silva et al., 2010).

A alta atividade respiratória pode ser uma característica desejável, pois pode indicar alta atividade da biomassa microbiana, que resulta em rápida transformação da matéria orgânica em nutrientes para as plantas. Assim, a atividade respiratória do solo é muito utilizada como indicador biológico de qualidade de solos que receberam LE (Armenta et al., 2012; Bohm et al., 2016; Yada et al., 2015; Vieira e Pazianotto, 2016; Melo et al., 2018; Lopes, 2019).

A medida da respiração do solo foi considerada um bom indicador dos processos de mineralização da matéria orgânica por Armenta et al. (2012), apesar de só ter sido observado aumento da respiração no primeiro dia após a aplicação de LE; na segunda avaliação (após 230 dias), os valores de respiração microbiana dos solos que receberam LE (18 e 36 Mg ha⁻¹) foram semelhantes ao controle, ressaltando uma tendência de aumento na atividade da biomassa microbiana logo após a aplicação do LE, como resultado da degradação das frações de C mais instáveis.

De maneira geral, a adição de materiais orgânicos aumenta a atividade respiratória, porque os resíduos orgânicos são substratos energéticos consumidos durante o metabolismo oxidativo da microbiota heterotrófica do solo. Uma maior atividade da microbiota do solo evidenciada pelo aumento da respiração basal com a

aplicação de LE, comparado a sua não adição, foi observada por Vieira e Pazianotto (2016) e por Melo et al. (2018).

O aumento da respiração basal de um Latossolo Vermelho distrófico tratado por 16 anos com LE (20 Mg ha⁻¹) foi observado Yada et al. (2015) No entanto, os autores não observaram aumento na microbiota do solo, destacando que o aumento na respiração sem o respectivo aumento na biomassa microbiana sugere a ocorrência de efeito tóxico do LE, devido a elevadas concentrações de elementos-traço nas doses mais elevadas. Bohm et al. (2016), por outro lado, não observaram aumento na produção de CO₂ com o aumento das concentrações de LE (até 30 Mg ha⁻¹).

Lopes (2019) obteve maior taxa de respiração basal em latossolos que receberam 20 Mg ha⁻¹ de LE, apesar de também ter observado maior acúmulo de C na biomassa microbiana O autor relacionou este resultado a menor eficiência da biomassa microbiana do solo na utilização da matéria orgânica, já que mais C estaria sendo perdido na forma de CO₂ quando comparado aos tratamentos que receberam menores doses de LE e ao controle. Portanto, é necessário equilíbrio entre as perdas de CO₂ pela respiração e a incorporação de C a biomassa microbiana do solo (Cunha et al., 2011).

2.4 Carbono do solo e lodo de esgoto

A matéria orgânica do solo (MOS) pode ser alterada com maior ou menor intensidade, dependendo do manejo adotado, sendo um dos atributos mais sensíveis a alterações provenientes dos diferentes sistemas de uso do solo. É oriunda de resíduos da biota, principalmente dos vegetais, parcialmente decompostos e sintetizados, em vários estádios de complexidade e diversidade estrutural (Silva e Resck, 1997), com tempos de residência variando desde semanas até milhares de anos (Brady e Weil, 2013). Assim, as substâncias orgânicas presentes no solo vão desde materiais com elevada biodisponibilidade, até componentes quimicamente mais estáveis, em íntima associação com a fase mineral do solo (Christensen, 1992).

A MOS consiste, grande parte, em uma série de compostos ácidos não-humificados e macromoléculas humificadas (Guerra et al., 2008). O primeiro grupo é representado por compostos orgânicos, incluindo carboidratos, gorduras, ceras e

proteínas, constituindo de 10 a 15 % da MOS. O segundo grupo, e principal, é representado pelas substâncias húmicas (SH), que constituem de 85 a 90 % da MOS. O predomínio das SH justifica o fato da pesquisa com MOS estar voltada principalmente para o estudo das frações húmicas, que devido à sua grande reatividade, apresentam envolvimento direto na maioria dos processos físicos, químicos e biológicos do solo (Stevenson, 1994; Pinheiro et al., 2004; Barreto et al., 2008; Canellas et al., 2008).

As SH compreendem os ácidos húmicos (AH), os ácidos fúlvicos (AF) e as huminas (HU). O procedimento clássico de extração destas três frações do solo, se baseia na diferença de solubilidade no meio aquoso em função do pH da solução extratora: os AH são solúveis em meio alcalino e insolúveis em meio fortemente ácido; os AF apresentam grande quantidade de grupamentos funcionais oxigenados e são solúveis tanto em meio ácido como básico; e as HU representam a matéria orgânica fortemente ligada à fração mineral do solo, e por isso insolúvel (Canellas et al., 2001; Dick e Martinazzo, 2006).

O monitoramento de alterações nas SH pode auxiliar na escolha dos melhores sistemas de manejo a serem adotados. Os AH são os compostos mais estudados e apresentam pouca solubilidade na acidez normalmente encontrada em solos tropicais, sendo responsáveis pela maior parte da CTC de origem orgânica em camadas superficiais. Os AF possuem maior solubilidade por apresentar maior polaridade e menor tamanho molecular; são os principais responsáveis por mecanismos de transporte de cátions no solo. As HU, apesar de apresentam baixa reatividade, são responsáveis pela agregação das partículas e, na maioria dos solos tropicais, representam boa parte do C humificado do solo (Benites et al., 2003).

Dessa forma, tanto o Corg total como suas frações são indicadores sensíveis e podem ser utilizadas para avaliar a sustentabilidade de solos após intervenções antrópicas, como a aplicação de LE (Lakhdar et al., 2011; Lobo et al., 2013; Bohm et al., 2014; Bohm et al., 2016; Delarica, 2016; Hu et al., 2019; Protano et al., 2019).

O aumento do Corg com a aplicação de 40 e 80 Mg ha⁻¹ de LE melhorou as propriedades químicas e biológicas do solo, conforme verificado Lakhdar et al. (2011), possivelmente, como justificado pelos autores, devido a ativação de microrganismos para produção de enzimas relacionadas aos ciclos dos nutrientes mais importantes.

Além disso, o maior teor de matéria orgânica fornecida pelo LE pode ter contribuído para a proteção das enzimas produzidas, envolvendo-as nos complexos húmicos-argilosos do solo. Da mesma forma, Souza et al. (2005) e Lobo et al. (2013) observaram, em diferentes latossolos, o aumento na MOS, após anos de aplicações sucessivas de LE, resultando em maior estabilidade de agregados do solo, diminuição do pH e incrementos nos teores de P, K, Ca, na SB, na H+Al e na CTC.

Dessa forma, o incremento de MOS atua positivamente no processo de manutenção e aumento da fertilidade do solo, quer seja por fornecer nutrientes a partir da mineralização e também na melhor estruturação do solo (qualidade física) que vai interferir na porosidade e na aeração do solo. Bohm et al. (2014) observaram os maiores teores de C_{org} total no tratamento com maior dose de LE (200 g vaso^{-1}), com valor 16,9% maior que a testemunha. Bohm et al. (2016), também verificaram os maiores conteúdos de C_{org} na maior dose de LE aplicada (30 Mg ha^{-1}), ambos estudos em Argissolo vermelho amarelo distrófico.

Quanto ao teor de C nas substâncias húmicas, Delarica (2016) observou, em experimento conduzido com aplicações sucessivas de LE em LVd, durante 18 anos, que os tratamentos que receberam o LE apresentaram maiores concentrações de C nas frações AH e AF, sendo que o maior teor de C nos AF, de acordo com o autor, indica menor grau de humificação da MOS, em função da incompleta estabilização das SH no solo.

Os efeitos da aplicação de LE nos solos geralmente são resultantes de uma variedade de fatores, como características climáticas, vegetação, tipo e textura do solo e diferenças nas propriedades dos lodos, além das doses, frequência e período de tempo de sua aplicação. Assim, Hu et al. (2019), após sete anos de aplicações consecutivas de LE ($4,5 \text{ Mg ha}^{-1}$ por ano), observaram que, as concentrações de C_{org} não aumentaram com a aplicação de LE. De maneira semelhante, Protano et al. (2019) não observaram tendência de enriquecimento de C_{org} em solo tratado com LE ($12,45 \text{ Mg ha}^{-1}$ (2011-2013) e $14,51 \text{ Mg ha}^{-1}$ (2014–2016)), por seis anos consecutivos, relacionando este resultado a provável prevalência de compostos orgânicos mais facilmente biodegradáveis no LE.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local, solo e clima

Os experimentos foram instalados em dois Latossolos, em condições de campo, na cidade de Jaboticabal, SP Sudeste do Brasil. O clima é classificado como tropical (Aw) - Koppen, com temperatura média de 22,3 °C, máxima de 29,1 °C e 16,9 °C de temperatura mínima. A precipitação média anual é de 1365 mm, sendo janeiro o mês mais chuvoso, e julho o mais seco (Figura 1) (Rolim, 2019).

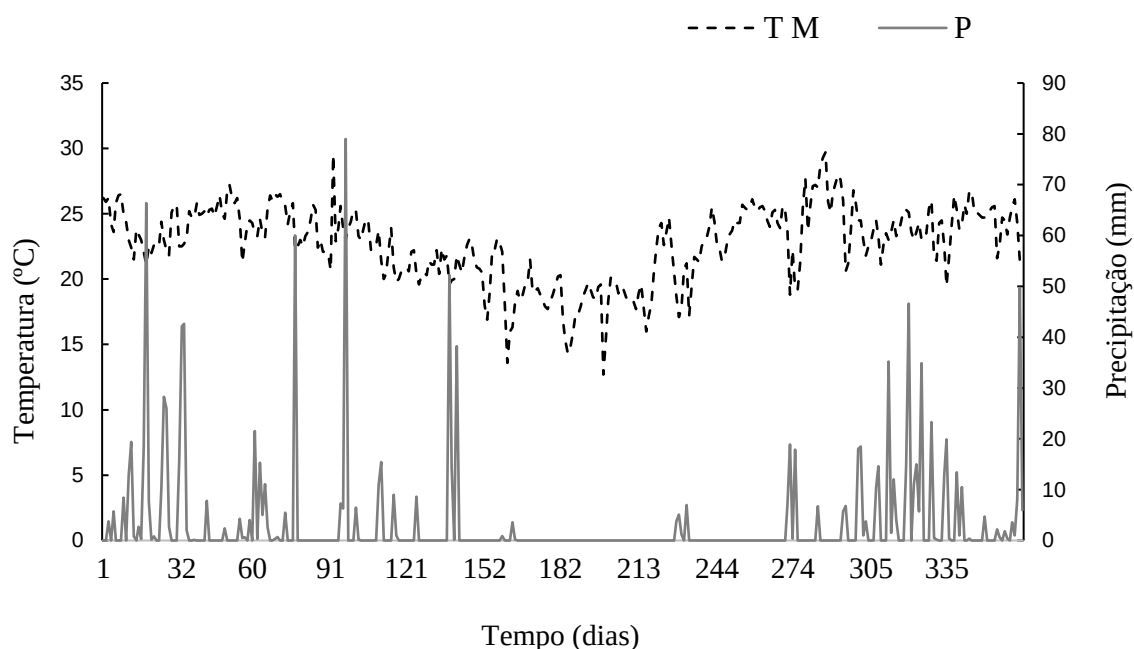


Figura 1. Precipitação pluvial e temperatura média do ar durante o período de avaliação do experimento, (2016/2017).

As áreas se encontram em região de transição da mata Atlântica para Cerrado (MMA, 2019). Um dos experimentos está localizado nas coordenadas geográficas 21°15'37"S e 48°19'07"W, a uma altitude de 550 m, em Latossolo Vermelho eutroférico (LVef) típico, textura argilosa, A moderado, caulínítico-oxídico, 566, 364 e 70 g kg⁻¹ de argila, areia e silte, respectivamente (Jorge et al., 2010). O outro experimento está, localizado nas coordenadas geográficas 21°13'57,96"S e 48°17'06,18"W, a 620 m, em Latossolo Vermelho distrófico (LVd) típico, textura

média, A moderado, caulínítico, com 652 g kg⁻¹ de areia, 329 g kg⁻¹ de argila e 19 g kg⁻¹ de silte (Embrapa, 2013).

As características químicas do LVef e do LVd (0-0,20 m de profundidade), antes da instalação do 20º ano de experimentação, encontram-se na Tabela 2. As determinações foram feitas seguindo os métodos descritos em Raij et al., (2001)

Tabela 2. Características químicas de Latossolos Vermelhos eutroférico e distroférico (0- 20 cm) avaliadas antes da instalação do experimento no vigésimo ano da aplicação de lodo de esgoto.

Tratamentos	pH	M.O.	P	S	Ca	Mg	K	Al	H+Al	Soma Bases	CTC	Sat. bases
									SMP	S.B.		V %
	CaCl ₂	g dm ⁻³	-mg dm ⁻³ -						mmol _c dm ⁻³			
LVef												
T _{Controle}	5,0	25,5	31,3	53,7	27,5	11,9	1,8	1,4	32,0	41,2	73,2	55,0
T ₁	5,2	20,7	29,0	12,0	36,5	15,1	1,5	0,2	24,4	53,2	77,6	68,0
T ₂	5,1	24,5	41,2	15,5	37,7	16,0	2,3	0,6	30,6	55,9	86,5	64,0
T ₃	4,9	27,6	83,5	24,4	24,6	10,5	2,5	0,8	35,6	37,7	73,3	51,0
LVd												
T _{Controle}	4,9	20,4	37,2	13,7	24,8	9,2	1,6	0,6	25,5	35,6	61,1	58,0
T ₁	5,1	21,8	36,0	5,0	30,0	11,0	1,7	0,0	23,0	42,4	65,6	65,0
T ₂	5,0	26,8	74,4	6,0	27,0	11,9	1,5	0,7	27,8	40,5	68,3	59,0
T ₃	4,8	22,9	93,9	11,0	23,5	10,4	1,4	1,0	34,9	35,3	70,1	49,0

3.2 Histórico e delineamento experimental

Os experimentos foram inicialmente instalados em novembro de 1997, sendo adotado o delineamento experimental em blocos casualizados (DBC) com 4 tratamentos e 5 repetições, totalizando 20 unidades experimentais. Cada parcela, com área total de 60 m² (6 x 10 m). Os tratamentos foram constituídos por um controle e três doses de LE.

O LE, aplicado como tratamento nas parcelas durante os 20 anos de experimentação, foi obtido em diferentes Estações de Tratamento de Esgoto, conduzidas pela Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo

(Sabesp) (Tabela 3).

Tabela 3. Culturas plantadas nos Latossolos e origem do lodo de esgoto usado durante 20 anos de condução do experimento.

Ano agrícola	Cultura	Local
1997/1998 a 2001/2002	Milho	Barueri
2002/2003	Girassol	Barueri
2003/2004	Crotalária	Barueri
2004/2005	Milho	Barueri
2005/2006 a 2006/2007	Milho	Franca
2007/2008	Milho	Barueri
2008/2009	Girassol	Barueri
2009/2010 a 2016/2017	Milho	Monte Alto

Os tratamentos adotados no início do experimento foram os seguintes: controle (sem aplicação de LE e sem fertilização mineral); T₁: 5 Mg ha⁻¹; T₂: 10 Mg ha⁻¹ e T₃: 2,5 Mg ha⁻¹ de LE em base seca. A partir do 2º ano do experimento, optou-se por adubar o tratamento controle com fertilizante mineral, de acordo com a análise de fertilidade do solo e as indicações contidas em Rajj e Cantarella (1997). A partir do 4º ano agrícola (2000/2001), com base nos resultados obtidos, optou-se por transformar a dose de 2,5 do tratamento T₃ para 20 Mg ha⁻¹ na tentativa de provocar fitotoxicidade.

Desta forma, os tratamentos correspondentes às doses acumuladas de LE, base seca ao longo de 20 anos foram: 0 – Controle, 100 – T₁, 200 – T₂ e 347,5 – T₃ Mg ha⁻¹, obtidos da seguinte forma:

- Dose 100 Mg ha⁻¹ de LE = 20 anos x 5 Mg ha⁻¹ de LE, base seca;
- Dose 200 Mg ha⁻¹ de LE = 20 anos x 10 Mg ha⁻¹ de LE, base seca;
- Dose 347,5 Mg ha⁻¹ de LE = 3 anos x 2,5 Mg ha⁻¹ de LE + 17 anos x 20 Mg ha⁻¹ de LE, base seca.

3.3 Lodo de esgoto e condução do experimento

O LE utilizado no 20º ano de aplicação foi analisado a partir de três amostras simples coletadas em diferentes pontos da massa do resíduo, seco e triturado para determinação dos atributos químicos (ABNT, 2004). O C e o N foram determinados por combustão seca em equipamento LECO® C/N628 (Leco Corporation, St Joseph,

USA); e a hemicelulose, a celulose e a lignina pelo método descrito por Van Soest et al. (1991) (Tabela 4).

Tabela 4. Caracterização química do lodo de esgoto usado no 20º ano de experimentação.

Atributos	g kg⁻¹	%
Celulose	284,8	28,5
Hemicelulose	135,0	13,5
Lignina	100,5	10,5
Carbono	270,9	27,1
Nitrogênio	46,9	4,7
C/N	6,0	6,0

O LE utilizado no vigésimo ano (2016/2017) de experimentação foi obtido na Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) da Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo (Sabesp) em Matão, Região Central do Estado.

A aplicação do LE ao solo foi feita no mês de novembro, sendo aplicado a lanço e distribuído uniformemente na área total das parcelas, de acordo com a dose de cada tratamento e incorporado a 0,1 m de profundidade por meio de grade leve. Posteriormente, as parcelas foram sulcadas em espaçamento de 0,90 m e o fertilizante mineral (sulfato de amônio, superfosfato simples e cloreto de potássio) foi aplicado no sulco de semeadura de todos os experimentos.

O milho híbrido 2B710PW DOW foi semeado logo após a fertilização mineral. A semeadura do milho foi realizada com espaçamento de 0,90 m na entrelinha, com 7 a 8 sementes por metro linear. A adubação de cobertura foi realizada de acordo com extração da cultura com fertilizante mineral simples, nos tratamentos controle (sulfato de amônio e cloreto de potássio).

3.4 Amostragem do solo

As amostras deformadas de solo foram coletadas na área útil de cada parcela, na camada de 0,2 m de profundidade, com auxílio de trado do tipo holandês. As

amostragens de solo foram feitas aos, 75, 236 e 306 dias após a vigésima aplicação de LE (Figura 2).

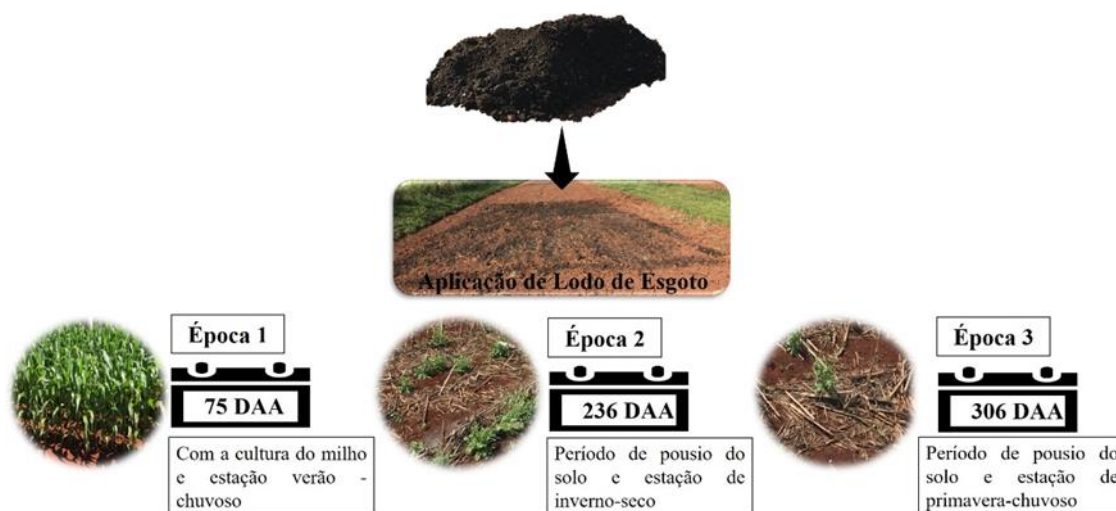


Figura 2. Representação das épocas de amostragem. DAA: dias após aplicação de lodo de esgoto.

Em cada parcela foram coletadas dez amostras simples e foram misturadas para formar uma amostra composta. As amostras compostas foram colocadas em embalagens de plástico, devidamente identificadas e enviadas para o laboratório. Ao chegar no laboratório, parte das amostras foi imediatamente colocada para secar ao ar e à sombra, foi destorroadada, passadas em peneira de 2 mm para obtenção da terra fina seca ao ar e homogeneizada e, colocadas em embalagens de plástico e armazenadas em freezer para posterior análises. Outra parte das amostras, usada para análise enzimática, foram coletadas e levadas diretamente para o freezer.

3.5 Precipitação, temperatura e umidade do solo

Durante 30 dias que antecederam as coletas de solo, a precipitação pluvial e a temperatura do solo nas áreas de estudo foram monitoradas e os valores computados: 273 mm (75 dias); 0 mm (236 dias) e 63,4 mm (306 dias). As temperaturas médias do solo foram de 27 °C (75 dias); 16 °C (236 dias) e 24 °C (306 dias), conforme os dados da Estação Agroclimatológica da FCAV/Unesp (2017), localizada a 1.000 metros da área LVeF e 200 m da área LVd, a umidade do solo, com base em massa, expressa

em percentual, apresentou média para LVef de 24% (75 dias); 21% (236 dias) e 25% (306 dias) e para LVd: 13% (75 dias); 16% (236 dias) e 14% (306 dias).

3.6 Atividade enzimática do solo

3.6.1 Amilase

A atividade da amilase foi determinada conforme a metodologia proposta por Ross (1965) e modificada por Melo et al. (1983), que inclui a incubação das amostras de solo com solução de amido, quantificando-se a leitura da concentração em espectrofotômetro a 420 nm. A atividade enzimática de amilase na amostra foi expressa em mg de glicose produzida por hora por quilograma de amostra.

3.6.2 Celulase

A determinação da celulase foi pelo método descrito por Melo et al. (2010), segundo padronização de Pancholy e Rice (1973). O método fundamenta-se na incubação do solo a 30 °C na presença do substrato carboximetilcelulose durante 24 horas. Posteriormente o período de incubação, foi determinada a leitura da absorbância em comprimento de onda de 420 nm, A atividade enzimática da celulase na amostra foi expressa em mg de glicose por kg de TFSE por hora.

3.6.3 Urease

A determinação da atividade da urease nas amostras de solo foi analisada pelo método proposto por May e Douglas (1976). O método consiste em incubar as amostras de solo em temperatura constante de 30 °C, na presença de ureia (substrato) por 1 hora. A amônia liberada pela hidrólise da ureia é avaliada, posteriormente, segundo metodologia descrita por Bremner e Keeney (1965). A atividade da urease foi expressa em mg de nitrogênio amoniacal por kg de TFSE por hora.

3.7 Respiração basal do solo (RBS)

A atividade respiratória (evolução de CO_2) foi determinada pelo método de Alef e Nannipieri (1995). A RBS foi determinada pela incubação da amostra de solo em frascos fechados, por 48 horas, sendo o CO_2 recebido em solução padronizada de NaOH. Por titulação da solução de NaOH após o período de incubação, determinou-se o CO_2 oriundo da atividade respiratória. Os valores foram convertidos para massa de dióxido de carbono (CO_2) por massa de solo.

3.8 Fracionamento do carbono

Para determinação do teor de C das substâncias húmicas no solo, seguiram-se as mesmas orientações de coleta de solo para avaliação da fertilidade, porém, as amostragens se deram em duas profundidades: 0-20 (cm); 20-40 (cm) e em três tempos amostrais, aos 75 dias, 236 dias e 306 dias após a aplicação de LE. O mesmo procedimento foi adotado para as duas áreas experimentais L_{Vef} e L_{Vd}.

Para avaliar os teores de carbono nas amostras de solo, utilizou-se o método de extração e de fracionamento das matérias húmicas descrito em Dabin (1971) e modificado por Duarte (1994), em que a MOS é fracionada qualitativamente por meio da solubilidade em meio alcalino e ácido, determinando os teores de carbono total nas frações obtidas.

O início da extração foi realizado com adição de um agente alcalino (NaOH 4 g/L) que origina uma fração solúvel em álcali - Extrato Húmico Total (EHT). Do extrato obtido foram tomados 10 mL para determinação do teor de carbono, seguindo o princípio do método da oxidação por via úmida (Walkley e Black, 1934) e 100 mL empregados para o fracionamento, seguindo método modificado por Duarte (1994) de determinação do teor de carbono das frações (Ácido húmico e Ácido fúlvico).

Quando acidificado o EHT produz-se uma fração insolúvel em meio ácido, denominado ácido húmico (AH), e uma fração solúvel neste meio conhecido como ácido fúlvico (AF). A determinação do carbono orgânico na fração do AF foi feita de

acordo com o princípio do método da oxidação por via úmida (Walkley e Black, 1934). O teor de carbono no AH foi obtido pela diferença entre carbono no EHT e AF.

3.9 Análise Estatística

Inicialmente os dados obtidos foram submetidos a análise de normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias. Em seguida, procedeu-se à análise de variância, e quando significativa, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, por meio do software AgroEstat 1.0 (Barbosa e Maldonado Jr., 2015).

4 RESULTADOS

4.1 Atividade enzimática do solo

A atividade da amilase, expressa em miligramas de açúcares redutores produzidos por quilograma de solo durante 24 horas de incubação, para os solos avaliados (LVef e LVd), na profundidade 0-20 cm de amostragem, não apresentou diferença significativa entre tratamentos com 5, 10 e 20 Mg ha⁻¹ de LE e o que não recebeu LE (Tabela 5).

Tabela 5. Média da atividade da enzima amilase (mg glicose kg⁻¹ h⁻¹) no solo $\pm$ erro padrão, avaliada com 75, 236 e 306 dias após aplicação de lodo de esgoto em dois Latossolos (LVef – LVd) tratado por 20 anos.

Tempo (dias) após aplicação do lodo de esgoto						
	75		236		306	
LVef						
T _{Controle}	0,18	±0,03 ^{Aa}	0,54	±0,11 ^{Aa}	0,41	±0,06 ^{Aa}
T ₁	0,20	±0,04 ^{Ab}	0,16	±0,07 ^{Ab}	0,59	±0,12 ^{Aa}
T ₂	0,22	±0,06 ^{Ab}	0,37	±0,08 ^{Aab}	0,69	±0,14 ^{Aa}
T ₃	0,09	±0,04 ^{Ab}	0,43	±0,09 ^{Aab}	0,63	±0,23 ^{Aa}
LVd						
T _{Controle}	0,23	±0,02 ^{Aa}	0,21	±0,04 ^{Aa}	0,32	±0,13 ^{Aa}
T ₁	0,28	±0,01 ^{Aa}	0,29	±0,02 ^{Aa}	0,28	±0,07 ^{Aa}
T ₂	0,33	±0,02 ^{Aa}	0,26	±0,03 ^{Aa}	0,38	±0,03 ^{Aa}
T ₃	0,28	±0,03 ^{Aa}	0,29	±0,02 ^{Aa}	0,41	±0,07 ^{Aa}

(F1: lodo de esgoto Mg ha⁻¹) (F: dias após aplicação do lodo). Fator. LVef: Lodo (ns) Dias (**) Interação L x D (ns); LVd: Lodo (ns) Dias (ns) Interação L x D (ns). ** significativo ao nível de 1% de probabilidade. * significativo ao nível de 5% de probabilidade. Minúscula: linha. Maiúscula: coluna.

No LVef, foi observada diferença entre os dias de amostragens realizadas após a aplicação do LE. No T₁, a atividade enzimática da amilase foi maior aos 306 dias, em relação as amostragens realizadas aos 75 e 236 dias. Em T₂ e T₃, foram observadas as maiores médias de atividade também aos 306 dias, no entanto, apenas em relação a primeira amostragem (75 dias), com incrementos de 213 e 600%, respectivamente (Tabela 5). Não foi observada diferença na atividade da amilase no LVd, nas diferentes amostragens após a aplicação de LE.

No solo LVef, na profundidade de amostragem 0-20 cm, a atividade da celulase

apresentou valores elevados a partir do T_{controle} (6,71 mg glicose kg⁻¹ h⁻¹) ao T₃ (13,92 mg glicose kg⁻¹ h⁻¹) aos 75 dias da aplicação de LE (Tabela 6). No entanto, não houve diferenças significativas entre as doses de LE e entre os diferentes dias de amostragem na atividade enzimática para a celulase no solo LVef.

Tabela 6. Média da atividade da enzima celulase (mg glicose kg⁻¹ h⁻¹) no solo $\pm$ erro padrão, avaliada com 75, 236 e 306 dias após aplicação de lodo de esgoto em dois Latossolos (LVef – LVd) tratado por 20 anos.

		Tempo (dias) após aplicação do lodo de esgoto					
		75		236		306	
LVef							
T _{Controle}	6,71	$\pm 3,29^{Aa}$	3,51	$\pm 1,56^{Aa}$	7,68	$\pm 1,38^{Aa}$	
T ₁	9,09	$\pm 2,85^{Aa}$	1,40	$\pm 1,00^{Aa}$	9,18	$\pm 2,29^{Aa}$	
T ₂	9,28	$\pm 2,76^{Aa}$	10,25	$\pm 6,13^{Aa}$	11,67	$\pm 5,77^{Aa}$	
T ₃	13,92	$\pm 4,55^{Aa}$	11,67	$\pm 5,41^{Aa}$	8,13	$\pm 2,25^{Aa}$	
LVd							
T _{Controle}	8,05	$\pm 1,40^{Aab}$	10,34	$\pm 1,52^{Aa}$	4,14	$\pm 2,21^{Ab}$	
T ₁	6,19	$\pm 1,22^{Aab}$	10,42	$\pm 3,25^{Aa}$	1,51	$\pm 0,74^{Ab}$	
T ₂	8,06	$\pm 2,41^{Ab}$	15,53	$\pm 1,24^{Aa}$	3,36	$\pm 1,89^{Ab}$	
T ₃	8,49	$\pm 1,33^{Aa}$	10,55	$\pm 0,65^{Aa}$	1,86	$\pm 0,91^{Ab}$	

(F1: lodo de esgoto Mg ha⁻¹) (F: dias após aplicação do lodo). Fator. LVef: Lodo (^{ns}) Dias (^{ns}) Interação L x D (^{ns}); LVd: Lodo (^{ns}) Dias (^{**}) Interação L x D (^{ns}). ^{**} significativo ao nível de 1% de probabilidade. ^{*} significativo ao nível de 5% de probabilidade. Minúscula: linha. Maiúscula: coluna.

Para o solo LVd, houve diferença significativa entre os dias de amostragens ($p < 0,001$) (Tabela 6). As maiores médias de atividade da celulase foram observadas na segunda amostragem (236 dias), com aumento de 28,4% (T_{controle}), 68,3% (T₁), 92,67% (T₂) e 24,26% (T₃) na atividade enzimática, comparativamente a primeira amostragem (75 dias), e 149,7; 590,0; 362,2 e 467,2% para T_{controle}, T₁, T₂ e T₃, respectivamente, com relação a terceira amostragem (306 dias).

As aplicações de LE acumuladas, ao longo de vinte anos, não foram determinantes para implicar diferenças significativas entre os tratamentos (T_{controle}, T₁, T₂ e T₃) em relação a urease no solo, porém, apresentou significância entre os dias de avaliação (75, 236 e 306). Foram observados comportamentos distintos entre as amostras de LVef e LVd (Tabela 7).

Tabela 7. Média da atividade da enzima Urease (mg de N-NH₄ kg⁻¹ solo hora⁻¹) no solo $\pm$ erro padrão, avaliada com 75, 236 e 306 dias após aplicação de lodo de esgoto em dois Latossolos (LVef – LVd) tratado por 20 anos.

Tempo (dias) após aplicação do lodo de esgoto						
		75		236		306
LVef						
T _{Controle}	25,24	±2,51 ^{Aa}	7,97	±3,40 ^{Aa}	15,23	±3,37 ^{Aa}
T ₁	23,93	±9,63 ^{Aa}	11,60	±1,91 ^{Aa}	24,96	± 3,64 ^{Aa}
T ₂	35,53	±11,93 ^{Aa}	8,99	±1,79 ^{Ab}	14,81	±2,78 ^{Ab}
T ₃	32,63	±7,26 ^{Aa}	9,42	±2,89 ^{Ab}	17,77	±4,58 ^{Aab}
LVd						
T _{Controle}	4,76	±1,31 ^{Aa}	4,59	±0,51 ^{Aa}	8,46	±2,03 ^{Aa}
T ₁	5,81	±1,13 ^{Aa}	5,44	±1,78 ^{Aa}	9,30	±2,73 ^{Aa}
T ₂	9,52	±3,99 ^{Aab}	5,80	±0,29 ^{Ab}	13,92	±2,81 ^{Aa}
T ₃	5,29	±1,55 ^{Aa}	7,22	±0,74 ^{Aa}	8,04	±1,24 ^{Aa}

(F1: lodo de esgoto Mg ha⁻¹) (F: dias após aplicação do lodo). Fator. LVef: Lodo (^{ns}) Dias (^{**}) Interação L x D (^{ns}); LVd: Lodo (^{ns}) Dias (^{*}) Interação L x D (^{ns}). ^{**} significativo ao nível de 1% de probabilidade. ^{*} significativo ao nível de 5% de probabilidade. Minúscula: linha. Maiúscula: coluna.

No LVef, a atividade da urease foi significativamente mais expressiva na amostragem realizada aos 75 dias após a aplicação de LE, para o T₂ e o T₃. A atividade da urease em T₂ foi maior aos 75 dias comparativamente as duas outras amostragens (236 e 306 dias). Em T₃, também foi observada maior atividade enzimática da urease na amostragem aos 75 dias em relação a realizada aos 236 dias, mas não diferiu da amostragem aos 306 dias (Tabela 7).

A atividade da urease do LVd foi baixa, praticamente estável, aos 75 e 236 dias, porém, aos 306 dias após a aplicação do LE, foram observados os maiores valores da atividade, com maior média no T₂ (13,92 mg de N-NH₄ kg⁻¹ solo h⁻¹), comparada a amostragem feita aos 236 dias, sem diferir da realizada aos 75 dias (Tabela 7).

4.2 Respiração basal do solo (RBS)

Os diferentes períodos de amostragens do solo (75, 236 e 306 dias após aplicação do LE) e as doses de LE aplicadas em dois latossolos, influenciaram na RBS, com variações nos três períodos de avaliação (Tabela 8). Houve interação entre o LE adicionado ao solo e os diferentes dias de amostragem após sua aplicação

($p=0,005$), para o LVef, porém no LVd, houve diferença significativa apenas entre no tempo de amostragem após aplicação do LE ($p=0,001$).

Tabela 8. Média da respiração basal ($\text{mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$) do solo $\pm$ erro padrão, avaliada com 75, 236 e 306 dias após aplicação de lodo de esgoto em dois Latossolos (LVef – LVd) tratado por 20 anos.

		Tempo (dias) após aplicação do lodo de esgoto					
		75		236		306	
LVef							
T _{Controle}	3,58	$\pm 0,35^{\text{Bab}}$		1,56	$\pm 0,29^{\text{Ab}}$	4,07	$\pm 0,56^{\text{Ba}}$
T ₁	4,74	$\pm 0,34^{\text{ABa}}$		2,78	$\pm 0,93^{\text{Aa}}$	3,07	$\pm 0,55^{\text{Ba}}$
T ₂	4,64	$\pm 0,43^{\text{ABa}}$		1,13	$\pm 0,17^{\text{Ab}}$	4,17	$\pm 0,79^{\text{Ba}}$
T ₃	6,34	$\pm 0,79^{\text{Aa}}$		1,88	$\pm 0,60^{\text{Ab}}$	6,42	$\pm 0,37^{\text{Aa}}$
LVd							
T _{Controle}	2,39	$\pm 0,46^{\text{Ab}}$		1,19	$\pm 0,49^{\text{Ab}}$	7,13	$\pm 1,37^{\text{ABa}}$
T ₁	2,36	$\pm 0,55^{\text{Aa}}$		1,54	$\pm 0,55^{\text{Aa}}$	4,54	$\pm 1,13^{\text{Ba}}$
T ₂	3,15	$\pm 0,35^{\text{Ab}}$		1,86	$\pm 0,59^{\text{Ab}}$	8,25	$\pm 2,53^{\text{ABa}}$
T ₃	3,90	$\pm 0,41^{\text{Ab}}$		1,33	$\pm 0,37^{\text{Ab}}$	9,46	$\pm 1,08^{\text{Aa}}$

(F1: lodo de esgoto Mg ha^{-1}) (F: dias após aplicação do lodo). Fator. LVef: Lodo (**) Dias (**) Interação L x D (*); LVd: Lodo (^{ns}) Dias (**) Interação L x D (^{ns}). ** significativo ao nível de 1% de probabilidade. * significativo ao nível de 5% de probabilidade. Minúscula: linha. Maiúscula: coluna.

Para o LVef, o T₃ apresentou maior RBS que o T_{controle}, aos 75 dias após a aplicação do LE. O aumento das doses de LE, aos 306 dias, resultou em maior média de RBS no T₃ ($6,42 \text{ mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$) em comparação aos outros tratamentos (Tabela 8). Quanto aos dias de amostragem, para o LVef, o T_{controle} apresentou maior respiração do solo aos 306 dias, comparativamente aos 236 dias, e no T₂ e T₃, as maiores médias foram observadas nos 75 e 306 dias, também em relação a segunda amostragem realizada (236 dias).

Para LVd, nos T_{controle}, T₂ e T₃, a atividade microbiana avaliada através da RBS foi maior na amostragem realizada aos 306 dias após a aplicação do LE, comparativamente as amostragens anteriores (75 e 236 dias) (Tabela 8).

4.3 Teor de C nas substâncias húmicas

O teor de C nas frações húmicas do solo variou tanto com as doses de LE, como com os dias de amostragem após a aplicação do LE em LVef (Tabela 9).

Tabela 9. Carbono nas frações SH, AH e AF $\pm$ erro padrão, avaliado com 75, 236 e 306 dias após aplicação de lodo de esgoto em LVef tratado por 20 anos.

Tempo (dias) após aplicação do lodo de esgoto						
	75		236		306	
SH						
T _{Controle}	5,42	±0,52 ^{Bb}	9,19	±0,63 ^{Aa}	9,05	±0,62 ^{Aa}
T ₁	7,62	±0,51 ^{Aa}	8,89	±0,25 ^{Aa}	8,76	±0,20 ^{Aa}
T ₂	6,15	±0,49 ^{ABb}	9,17	±0,28 ^{Aa}	7,96	±0,78 ^{Aab}
T ₃	7,85	±0,66 ^{Ab}	10,25	±0,26 ^{Aa}	8,35	±0,68 ^{Ab}
AH						
T _{Controle}	1,80	±0,07 ^{Ac}	4,53	±0,38 ^{Aa}	3,18	±0,50 ^{Ab}
T ₁	1,96	±0,22 ^{Ab}	3,93	±0,30 ^{Aa}	3,26	±0,21 ^{Aa}
T ₂	2,05	±0,11 ^{Ab}	3,90	±0,35 ^{Aa}	2,79	±0,25 ^{Ab}
T ₃	2,63	±0,43 ^{Ab}	4,71	±0,07 ^{Aa}	3,51	±0,16 ^{Ab}
AF						
T _{Controle}	3,61	±0,49 ^{Bb}	4,66	±0,29 ^{Aab}	5,87	±0,14 ^{Aa}
T ₁	5,65	±0,56 ^{Aa}	4,95	±0,13 ^{Aa}	5,49	±0,26 ^{Aa}
T ₂	4,09	±0,43 ^{ABa}	5,26	±0,26 ^{Aa}	5,17	±0,67 ^{Aa}
T ₃	5,22	±0,62 ^{ABa}	5,54	±0,20 ^{Aa}	4,83	±0,52 ^{Aa}
HU						
T _{Controle}	7,40	±0,52 ^{Aa}	2,42	±0,44 ^{Ab}	1,18	±0,49 ^{Bb}
T ₁	4,80	±0,39 ^{Ba}	2,11	±0,46 ^{Ab}	1,34	±0,21 ^{Bb}
T ₂	8,39	±0,88 ^{Aa}	2,40	±0,33 ^{Ab}	2,65	±0,78 ^{ABb}
T ₃	7,58	±1,10 ^{Aa}	2,78	±0,50 ^{Ab}	3,94	±0,51 ^{Ab}

(F1: lodo de esgoto Mg ha⁻¹) (F: dias após aplicação do lodo). SH: Substâncias húmicas; AH: Ácidos húmicos; AF: Ácidos fúlvicos; HU: Huminas. Fator. SH: Lodo (ns) Dias (**) Interação L x D (ns); AH: Lodo (*) Dias (**) Interação L x D (ns); AF: Lodo (ns) Dias (ns) Interação L x D (*); HU: Lodo (**) Dias (**) Interação L x D (ns). ** significativo ao nível de 1% de probabilidade. * significativo ao nível de 5% de probabilidade. Minúscula: linha. Maiúscula: coluna.

O teor de C nas SH foi alterado com os dias de amostragem após aplicação do LE, no T_{controle}, na segunda e terceira amostragens, observou-se maior teor de C nas SH comparativamente a primeira amostragem realizada aos 75 dias após a aplicação da adubação mineral. Nos tratamentos 2 e 3 que receberam, respectivamente, 10 e

20 Mg ha⁻¹ de LE, o teor de C nas SH foi maior na segunda amostragem realizada aos 236 dias após a aplicação do LE (Tabela 9).

Os AH apresentaram maior concentração de C na amostragem realizada aos 236 dias no T_{controle}, aos 236 e 306 dias no T₁ e os 236 dias no T₂ e T₃, comparativamente a primeira amostragem realizada aos 75 dias após a aplicação de LE (Tabela 9).

Os AF, no T_{controle}, que recebeu apenas adubação mineral, apresentaram menor concentração de C do que o T₁ (5 Mg ha⁻¹ de LE) aos 75 dias após a aplicação dos tratamentos. Além de menor concentração de C aos 75 dias de amostragem, em comparação com maior tempo de aplicação da adubação mineral (306 dias).

A HU, fração mais estável da MOS, concentrou maior quantidade de C no tratamento que recebeu maior dose de LE (T₃) aos 306 dias de amostragem, frente ao T_{controle} e T₁. Aos 75 dias após a aplicação de LE, os teores de C nas HU foram maiores em todos os tratamentos comparativamente as outras amostragens realizadas (236 e 306 dias).

O teor de C quantificado nas frações húmicas em LVd diferiu com as doses de LE aplicadas e com os dias de amostragem realizadas após a aplicação do LE (Tabela 10).

As SH apresentaram maior teor de C no T₃ comparativamente ao T_{controle} e T₁, aos 75 e 306 dias após a aplicação de LE em LVd. Os T_{controle}, T₁ e T₂ acumularam mais C nas SH aos 236 dias do que aos 306 dias após a aplicação dos tratamentos. O T₃, que recebeu maior dose de LE (20 Mg ha⁻¹), teve maior teor de C nas SH aos 236 e 306 dias (Tabela 10).

O T₃ apresentou maior teor de C na fração AH aos 75 e 306 dias do que o T₁, bem como o T_{controle} e T₁ na amostragem feita aos 236 dias após a aplicação de LE, comparado as outras amostragens (Tabela 10). O teor de C na fração AF foi, no mínimo, 41 e 59% maior aos 236 dias, comparado, respectivamente, as amostragens realizadas aos 75 e 306 dias após a aplicação do LE, para todos os tratamentos.

Nas HU o maior teor de C foi obtido aos 75 dias após a aplicação do LE, comparado as amostragens realizadas posteriormente (236 e 306 dias) para todos os tratamentos. Além disso, aos 75 dias, T₂ e T₃, que receberam as maiores doses de LE, apresentaram maior teor de C nas HU que o T_{controle}.

Tabela 10. Carbono nas frações SH, AH e AF $\pm$ erro padrão, avaliado com 75, 236 e 306 dias após aplicação de lodo de esgoto em LVd tratado por 20 anos.

Tempo (dias) após aplicação do lodo de esgoto						
	75		236		306	
SH						
T _{Controle}	3,93	$\pm 0,41^{Bb}$	9,87	$\pm 0,34^{Aa}$	4,76	$\pm 0,33^{Bb}$
T ₁	3,88	$\pm 0,35^{Bb}$	9,38	$\pm 0,26^{Aa}$	4,87	$\pm 0,11^{Bb}$
T ₂	4,87	$\pm 0,20^{ABb}$	10,25	$\pm 0,68^{Aa}$	5,76	$\pm 0,44^{ABb}$
T ₃	5,65	$\pm 0,20^{Ab}$	10,57	$\pm 0,56^{Aa}$	6,76	$\pm 0,32^{Ab}$
AH						
T _{Controle}	1,62	$\pm 0,28^{ABb}$	4,32	$\pm 0,26^{Aa}$	1,46	$\pm 0,14^{Bb}$
T ₁	1,39	$\pm 0,18^{Bb}$	3,89	$\pm 0,29^{Aa}$	1,38	$\pm 0,21^{Bb}$
T ₂	2,27	$\pm 0,10^{ABb}$	4,01	$\pm 0,18^{Aa}$	2,03	$\pm 0,37^{ABb}$
T ₃	2,60	$\pm 0,13^{Ab}$	4,46	$\pm 0,37^{Aa}$	2,74	$\pm 0,32^{Ab}$
AF						
T _{Controle}	2,30	$\pm 0,17^{Ab}$	5,53	$\pm 0,47^{Aa}$	3,30	$\pm 0,26^{Ab}$
T ₁	2,49	$\pm 0,25^{Ab}$	5,48	$\pm 0,24^{Aa}$	3,48	$\pm 0,23^{Ab}$
T ₂	2,59	$\pm 0,11^{Ac}$	6,24	$\pm 0,53^{Aa}$	3,73	$\pm 0,47^{Ab}$
T ₃	3,04	$\pm 0,09^{Ab}$	6,10	$\pm 0,24^{Aa}$	4,02	$\pm 0,15^{Ab}$
HU						
T _{Controle}	6,03	$\pm 0,66^{Ba}$	2,66	$\pm 0,38^{Ab}$	2,43	$\pm 0,25^{Ab}$
T ₁	7,55	$\pm 0,49^{ABa}$	1,94	$\pm 0,21^{Ab}$	2,57	$\pm 0,13^{Ab}$
T ₂	8,49	$\pm 0,59^{Aa}$	1,13	$\pm 0,54^{Ac}$	3,56	$\pm 0,20^{Ab}$
T ₃	8,85	$\pm 0,15^{Aa}$	2,19	$\pm 0,43^{Ab}$	2,76	$\pm 0,33^{Ab}$

(F1: lodo de esgoto Mg ha⁻¹) (F: dias após aplicação do lodo). SH: Substâncias húmicas; AH: Ácidos húmicos; AF: Ácidos fúlvicos; HU: Huminas. Fator. SH: Lodo (**) Dias (**) Interação L x D (ns); AH: Lodo (**) Dias (**) Interação L x D (ns); AF: Lodo (*) Dias (**) Interação L x D (ns); HU: Lodo (ns) Dias (**) Interação L x D (**). ** significativo ao nível de 1% de probabilidade. * significativo ao nível de 5% de probabilidade. Minúscula: linha. Maiúscula: coluna.

5 DISCUSSÃO

5.1 Atividade enzimática do solo

Após vinte anos de aplicações contínuas de LE no solo, as variáveis bioquímicas avaliadas apresentaram poucas variações quando comparadas à área que recebeu fertilizante mineral no mesmo período. Em particular, algumas medidas com alta sensibilidade a alterações ambientais, como atividade da amilase, celulase e urease, apresentaram resultados semelhantes entre o tratamento controle e os tratamentos que receberam LE.

Embora os países europeus usem o LE na agricultura há vários anos (Lloret et al., 2016), para condições climáticas tropicais, há falta de pesquisas sobre o desempenho da LE no solo. Assim, os presentes resultados são importantes para fundamentar a legislação que trata do uso do LE em sistemas agrícolas no Brasil. Neste estudo, observou-se que, em relação aos impactos ambientais, o uso contínuo de LE, até a dose de 20 Mg ha⁻¹ por ano, é semelhante ao fertilizante mineral.

Dentre os polissacarídeos mais abundantes e facilmente hidrolisáveis, está o amido. A enzima amilase atua na quebra do amido em polímeros de menor peso molecular e resulta na liberação de açúcares que, consequentemente, tornam-se fonte de energia para os microrganismos do solo. Assim, Fernandes et al. (2005) e Melo et al. (2018) observaram aumento da atividade da amilase com o fornecimento de LE, até as doses de 64,7 e 100 Mg ha⁻¹ de LE, respectivamente. Os resultados do presente estudo, verificados na amostragem realizada aos 306 dias após a aplicação de LE em LVef, mostram maiores respostas da amilase, revelando que apesar de vários fatores afetarem a atividade enzimática no solo, como a presença de metais pesados, sais e pesticidas, que são componentes do LE (Gianfreda e Bollag, 1996), a atividade da amilase foi capaz de se manter alta por muito tempo após a aplicação do LE.

A inexistência da relação direta do LE na atividade da celulase nos Latossolos (LVef e LVd), possivelmente, pode ser relacionada a composição do LE, que é constituído em seu maior volume por componentes orgânicos, como proteínas, carboidratos, gorduras e óleos, e apresentam baixo teor de celulose (Saito, 2007). Entretanto, estes fatores não inibem a produção de celulases, pois a população microbiana do solo, por excreção, libera essa classe de enzimas, e esta liberação

pode ser impulsionada pela qualidade da matéria orgânica e de componentes minerais do solo (argila) (Han e He, 2010).

A atividade das celulasas depende da mobilidade, localização e concentração dessas enzimas, além de condições ótimas de pH, temperatura e teor de água no solo (Doyle et al., 2006). Entretanto, a atividade da celulase no LVd, apresentou-se, mesmo em solo com baixa umidade (Figura 1), valores mais elevados na segunda amostragem (236 dias), quando comparados as amostragens realizadas 75 e 306 dias após a aplicação do LE. A palhada do milho deixada na superfície do solo, contribuiu diretamente neste processo, por conter em sua composição de 13 a 51% de celulose (Doyle et al., 2006), além de aumentar a retenção de água no solo que resulta em microambientes de umidade adequada para os decompositores. Os principais microrganismos decompositores da celulose são os fungos, porém os actinomicetos são capazes de persistir em solos com baixa umidade, comparado a outros grupos taxonômicos, e assim, utilizam a celulose como a principal fonte de energia para cumprirem suas funções biológicas (Mccarthy, 1987; Deng e Tabatabai, 1996; Ganesan et al., 2017; Kutlu et al., 2018).

Algumas enzimas podem ficar estabilizadas na superfície das argilas do solo, ficando oclusas nos agregados do solo, podendo durar por anos, de acordo com o manejo adotado (Allison e Jastrow, 2006). Pode-se observar no presente estudo que o solo com argiloso (LVef-argila 556 g kg⁻¹) apresentou, em média, maior valor de atividade da celulase (8,54 mg glicose kg⁻¹ h⁻¹) entre os tratamentos em relação ao solo areno-argiloso (LVd-argila 329 g kg⁻¹) (7,37 mg glicose kg⁻¹ h⁻¹) (Tabela 6).

A composição do LE é muito variável, e isso pode resultar em diferentes respostas da microbiota do solo a sua presença. A menor dose de LE (50 Mg ha⁻¹) apresentou atividade celulósica 2,7 vezes maior que o tratamento que recebeu a maior dose de LE (147,5 Mg ha⁻¹), de acordo com Melo et al. (2018), que atribuíram este resultado como a uma possível resposta à suplementação de N solúvel com fertilizante mineral, que foi maior no tratamento intermediário, comparado ao tratamento com maior dose de LE. Moreira et al. (2017), observaram maior atividade enzimática da celulase na dose de 20 Mg ha⁻¹ de LE. Diferentemente, Lopes (2019) não observou diferença na atividade da celulase com as doses de LE aplicadas (0 a 20 Mg ha⁻¹), após 21 anos de aplicação de LE em dois diferentes latossolos, atribuindo

isto ao possível baixo teor de celulose no resíduo, que pode ter sido digerido ainda durante o tratamento do esgoto na ETE.

A atividade da urease do solo foi afetada pelo tempo de amostragem. Os maiores valores foram determinados nos meses quentes-chuvosos (306 dias após aplicação do LE no LVd) (Figura 1). A atividade da enzima urease aumenta com o aumento da temperatura e/ou da umidade, portanto essas condições favoreceram a atividade enzimática, sem haver perda de N por volatilização (Hao et al., 2018). De maneira semelhante, Longo e Melo (2005) avaliaram a atividade da urease em Latossolos de acordo com a época de amostragem, observando maiores valores de atividade nos meses quentes e chuvosos, apresentando alta correlação da atividade da urease com a umidade.

A atividade da urease foi avaliada no decorrer dos dias após a aplicação de LE (75, 236 e 306 dias) e observou-se que a atividade aumentou substancialmente, especificamente no T₂ (35, 53 mg de N-NH₄ kg⁻¹ solo hora⁻¹) e T₃ (32,63 mg de N-NH₄ kg⁻¹ solo hora⁻¹) no solo LVef aos 75 dias, tratamentos que receberam as maiores doses de LE, comprovando que a quantidade do material orgânico incorporado influencia a atividade da urease (Armenta et al., 2012; Mattana et al., 2014; Cele e Maboeta, 2016; Liu et al., 2017).

Os valores elevados da atividade da urease no solo estão associados a diversos fatores, como a umidade do solo, o pH, a presença de grandes quantidades de N e de substratos enzimáticos, presença (ou ausência) de inibidores no LE (Calleja-Cervantes et al., 2017). A baixa umidade do solo (Figura 1), pode explicar a baixa atividade da urease na amostragem realizada aos 236 dias após a aplicação do LE (LVef e LVd), já que, em baixa umidade, a taxa de síntese de alguns compostos diminui, como a ureia, porém aumenta gradualmente à medida que a umidade do solo aumenta (Rochette et al., 2009). Como constatado por Sardans e Penuelas (2005), a redução da umidade do solo em 10 e 21% levou ao decaimento da atividade da urease de 42 a 62%.

5.2 Respiração basal do solo (RBS)

O aumento dos valores da RBS observado no presente estudo com adições anuais de LE, deve-se essencialmente a diversidade de microrganismos e carbono lábil contidos nos resíduos orgânicos, que causam o estímulo da microbiota do solo (Chang et al., 2014). Isso justifica porque os tratamentos (T₁, T₂ e T₃) que receberam LE, responderam positivamente com maiores taxas respiratórias, principalmente nas parcelas que acumularam as maiores doses de LE, 347,5 t ha⁻¹ (T₃ aos 306 dias). Estes resultados corroboram com os obtidos por Armenta et al. (2012), Vieira e Pazianotto (2016) e Melo et al. (2018). Porém, a interpretação destes resultados deve ser cautelosa, dado que o aumento da atividade microbiana pode ser devido ao aumento da mortalidade de microrganismos ou estresse produzido pelos poluentes inorgânicos contidos no LE (Carlson et al., 2015). Em estudo de campo com oito anos de aplicação com LE, foi verificado que a biomassa microbiana do solo decresceu de 7 a 12% em relação ao controle, porém após seis anos os solos apresentaram índices de recuperação (Charlton et al., 2016).

É importante ressaltar que a entrada de microrganismos do LE (efeito “priming”), assim como a oxidação do carbono que estava ocluído nos agregados do solo promovida pela aração /gradagem, que expõe o resíduo orgânico e que a MO que estavam protegidos da ação dos microrganismos, podem ter contribuído no aumento dos valores de CO₂ produzido, devido a maior taxa de decomposição (Guedes et al., 2006).

Boeira et al. (2009) e Hamdi et al. (2019) mostraram que tanto em Latossolo, como em outras classes de solo incubados com LE, maiores taxas respiratórias são observadas entre 15 a 30 dias iniciais da incubação, e posteriormente ocorre a estabilização do lodo e as taxas respiratórias se mantêm praticamente constantes.

Os principais fatores que explicam parte da variação da RBS no campo são a temperatura e o teor de água no solo (Wang et al., 2014), além das propriedades do solo como o teor de argila, de C_{org} e de N. Ao longo de mais de 300 dias de avaliação, constatou-se no presente estudo que, possivelmente, as condições adversas de umidade e temperatura do solo foram responsáveis pela variação da RBS e pela regulação dos microrganismos do solo (Linn e Doran, 1984).

Na primeira (75 dias) e na terceira (306 dias) amostragens, os solos encontravam-se com a umidade elevada, 273 mm e 63,4 mm, respectivamente, e coincidiram com os maiores fluxos de CO₂ emitidos como resultado da degradação do LE. Aos 75 dias, além do fator umidade do solo soma-se a liberação de exsudatos pelo sistema radicular do milho, que também promove estímulo da atividade microbiana do solo, assim como o conteúdo de carbono remanescente, que também possibilita este estímulo (Adachi et al., 2006).

Cabe destacar que, cerca de 40 a 70% da porosidade do solo preenchida com água estimula o aumento das taxas da respiração do solo. Contudo quando os poros do solo estão com menos de 40% de umidade, a respiração do solo é consideravelmente reduzida (Doran et al., 1990; Ruser et al., 2006), assim como observado no segundo período de avaliação (236 dias, estação inverno-seco), o fluxo de CO₂ emitido pela atividade microbiana apresentou taxas decrescentes em razão da baixa mobilidade dos microrganismos, devido à baixa umidade causada pela ausência de precipitações pluviais (Figura 1) (Cruvinel et al., 2011; Sheng et al., 2010; Moyano et al., 2013).

O tratamento com maior adição de LE (T₃) em ambos os solos, resultou em maior atividade microbiana, principalmente aos 306 dias de avaliação. Isto evidencia que a possível presença de contaminantes no LE não afetou a população microbiana do solo, não atingindo também a dinâmica da degradação e mineralização dos compostos orgânicos do lodo pelos microrganismos do solo, que se mostraram adaptados as substâncias inibitórias e às alterações nos processos biológicos e bioquímicos no solo promovidas pelo LE (Chen et al., 2008).

Ao comparar-se os resultados da primeira (75 dias) e da terceira (306 dias) amostragens, que apresentaram as mesmas condições de clima, e textura do solo diferentes para LVef e LVd, verifica-se que, para o LVef, a atividade microbiana não diferiu no tempo, entre os tratamentos que receberam LE e o controle. Em contrapartida, no T₃, em LVd, houve incremento de 141% na RBS aos 306 dias em relação ao valor emitido aos 75 dias (Tabela 8). Surgindo a possibilidade de que estas diferenças ocorridas em diferentes solos, com tratamentos e climas semelhantes, podem estar associadas aos teores de carbono remanescentes e ao poder de adsorção e agregação dos solos (Galdos et al., 2004), pois podem ter ocorrido

mudanças na estrutura da MOS após aplicação do LE ao longo dos 20 anos, com maiores concentrações de componentes húmicos de altos peso molecular (Bramryd, 2013).

5.3 Teor de C nas substâncias húmicas

O fracionamento da MOS objetiva caracterizar química e estruturalmente os compostos húmicos, além de avaliar o grau de decomposição e reatividade dos compartimentos químicos resultantes no ambiente (Dick et al., 2009), auxiliando na avaliação do impacto de diferentes manejos nos teores de carbono das frações húmicas do solo. Foi possível observar que a aplicação de LE ao longo de 20 anos, de maneira geral, não influenciou no acúmulo de C nas diferentes frações. Seria o oposto, já que foi verificado que a matéria orgânica das áreas apresentou grande capacidade de decomposição e diminuiu o grau de humificação da MO ao longo dos anos (Melo et al., 2018; Santos et al., 2010).

Vale ressaltar que, após a aplicação, o LE foi incorporado por meio de grade. Isso pode ter contribuído para o fato da aplicação de LE no solo não resultar em aumento do teor de matéria orgânica. Já que o revolvimento com arado reduz o teor de carbono de compostos orgânicos, pois facilita a oxidação do C protegido nos agregados do solo, expondo-o a ação de microrganismos que o decompõe (Costa et al., 2009).

O LE obtido a partir de resíduos urbanos e industriais apresenta baixos níveis de lignina, que contribuem para o aumento da MOS, e alto teor de proteínas (Carvalho et al., 2015). Em outros trabalhos, em que foi verificado aumento da MO em solos tropicais, foram usadas altas doses de LE, em pouco tempo, e realizaram coletas de solo muito próximas à aplicação da LE (Canellas et al., 2001; Wang et al., 2008; Lakhdar et al., 2011). No entanto, observou-se no presente estudo, que os diferentes tempos de amostragem resultaram em variações no teor de C das frações húmicas em ambos Latossolos (LVef e LVd).

A segunda amostragem realizada aos 236 dias após a aplicação de LE foi a que mais alterou o teor de C nas frações SH, AH e AF nos Latossolos avaliados, na maioria dos tratamentos, apresentando maior valor de C nessas frações quando

comparado as outras amostragens realizadas (75 e 306 dias). Possivelmente isto está relacionado a menor umidade do solo neste período de coleta, visto que a precipitação acumulada foi de 0 mm (Figura 1). A taxa de evolução do CO₂ pelo solo é determinada principalmente pela temperatura ambiente, umidade, C disponível para a atividade dos microrganismos e relação C/N da matéria orgânica e dos resíduos incorporados (Buyanovsky et al., 1986). No entanto, como a umidade apresenta maior variação, tem sido mostrada como um dos mais importantes fatores para definir o ritmo da atividade biológica e, portanto, determinante no efluxo de CO₂ (La Scala et al., 2000).

De acordo com McBride (1995) e Chang et al. (1997), após o cessamento das aplicações de LE, com os processos de degradação do C_{org} e a acidificação natural do solo, os metais pesados até então indisponíveis, passariam a formas solúveis e disponíveis às plantas. Esta é uma definição simplificada da chamada "teoria da bomba relógio", proposta por McBride (1995). Isso pode ter um grande impacto no meio ambiente. No presente estudo, mesmo com a rápida decomposição da matéria orgânica, não houve alterações nos principais indicadores bioquímicos avaliados em relação ao tratamento controle.

Quanto ao teor de C nas SH, observou-se que as maiores concentrações de C foram encontradas nos AF (em média, 5,02 para o LVef e 4,02 para o LVd), comparado aos AH (em média, 3,18 para o LVef e 2,68 para o LVd), o que, de acordo com Delarica (2016), indicaria um menor grau de humificação da MOS, em função da incompleta estabilização das SH no solo.

No LVef, o C acumulado na fração HU foi maior no tratamento que recebeu maior dose de LE (T₃), comparado ao que recebeu menor quantidade de LE (T₁), aos 75 e 306 dias. No entanto, tanto no LVef, como no LVd, os teores de C na fração HU, quando se considerou as diferentes amostragens, foi maior aos 75 dias após a aplicação de LE, em todos os tratamentos. Além de ser observado, também aos 75 dias, em ambos os Latossolos, maior concentração de C na fração HU, comparado as outras frações (AH e AF). Diversos trabalhos verificaram o predomínio do C da fração HU em relação às outras frações húmicas (Loss et al., 2011; Rossi et al., 2012; Guareschi et al., 2013), o que sugere a existência de matéria orgânica possivelmente mais humificada no solo. O acúmulo dos teores de C da fração HU possivelmente estão relacionados ao tamanho e ao maior grau de estabilidade dessa fração (Fontana

et al., 2006; Guareschi et al., 2013), além da forte interação da HU com a fração mineral do solo e sua maior resistência à decomposição (Stevenson, 1994). Melo et al. (1994) também observaram elevação da fração HU da matéria orgânica após aplicação de LE. Em contrapartida, observou-se, em ambos os Latossolos, que o teor de C diminuiu na fração HU e aumentou nas outras frações (AH e AF), ao longo dos dias após a aplicação do LE (amostragens aos 236 e 306 dias), provavelmente devido a entrada de resíduos da cultura do milho próxima a primeira amostragem (75 dias), a palhada deixada na superfície do solo com o tempo foi decomposta pelos microrganismos.

Em resumo, as variações nos teores de carbono nas frações humificadas da matéria orgânica após a aplicação de LE, mesmo que por longo tempo, corresponderam à diminuição do grau de humificação da matéria orgânica, sugerindo poucas mudanças no processo de estabilização e na qualidade da matéria orgânica do solo com as aplicações de LE ao longo de 20 anos.

6 CONCLUSÕES

1 - Para condições de clima tropical, embora a aplicação de LE por vinte anos tenha afetado a microbiota do solo, não apresentou nenhum efeito negativo nos atributos avaliados nos dois Latossolos, mostrando que o uso do LE por muitos anos pode ser uma alternativa segura de destino para este resíduo, podendo levar a substituição parcial dos fertilizantes minerais, mediante estudos complementares.

2 - Todas as respostas dos valores da RBS e atividades enzimáticas (amilase, celulase e urease) em adições de dose de LE, foram influenciadas pelas alterações climáticas e tempo de amostragem.

3 - Com o passar dos dias da aplicação de LE, o conteúdo de C nas frações húmicas da MOS aumentou, no entanto, não se encontra em estágio avançado de decomposição, apresentando baixo grau de humificação.

REFERÊNCIAS

- ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas (2004) ABNT NBR 10004. Resíduos Sólidos – Classificação, 71p.
- Abreu AHM, Leles PSS, Alonso JM, Abel ELS, Oliveira RR (2017) Characterization of sewage sludge generated in Rio de Janeiro, Brazil, and perspectives for agricultural recycling. **Semina: Ciências Agrária** 38(4):2433-2448. DOI: 10.5433/1679-0359.2017v38n4Supl1p2433
- Adachi M, Bekku, YS, Rashidah W, Okuda T, Koizumi H (2006) Differences in soil respiration between different tropical ecosystems. **Applied soil ecology** 34:258-265. DOI: 10.1016/j.apsoil.2006.01.006
- Alef K, Nannipierl P. (Eds.) (1995) Methods in applied soil microbiology and biochemistry. New York: Academic Press, 608p.
- Allison SD, Jastrow JD (2006) Activities of extracellular enzymes in physically isolated fractions of restored grassland soils. **Soil Biology and Biochemistry** 38(11):3245-3256. DOI: 10.1016/j.soilbio.2006.04.011
- Alves MC, Suzuki LGA, Suzuki LEAS (2007) Densidade do solo e infiltração de água como indicadores da qualidade física de um Latossolo Vermelho distrófico em recuperação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 31(4):617-625. DOI: 10.1590/S010006832007000400002
- Andreolli CV (coordenador) (2006) Alternativas de Uso dos Resíduos do Saneamento. Curitiba: PROSAB, 416p.
- Andrews SS, Karlen DL, Cambardella CA (2004) The soil management assessment framework. **Soil Science Society of America Journal** 68(6):1945-1962.
- Araújo ASF, Monteiro RTR (2007) Indicadores biológicos de qualidade do solo. **Bioscience Journal** 23:66-75.
- Araújo EA, Ker JC, Neves JCL, Lani JL (2012) Qualidade do solo: conceitos, indicadores e avaliação. **Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias** 5(1):187- 206. DOI: 10.5777/PAeT.V5.N1.12
- Armenta R, Vaca R, Lugo J, Aguila P (2012) Microbiological and biochemical properties of an agricultural Mexican soil amended with sewage sludge. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 36:1646-1655. DOI: 10.1590/S0100-06832012000500029
- Bai Y, Zang C, Gu M, Gu C, Shao H, Guan Y, Wang X, Zhou X, Shan Y, Feng K (2017) Sewage sludge as an initial fertility driver for rapid improvement of mudflat salt-soils. **Science of the Total Environment** 578:47-55. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2016.06.083

Balota EL, Nogueira MA, Mendes IC, Hungria M, Fagotti ASL, Melo GMP, Souza RC, Melo WJ (2013) Enzimas e seu papel na qualidade do solo. **Tópicos em Ciência do Solo** 8:221-278.

Barbosa GMC, Tavares Filho J, Fonseca ICB (2007) Efeito do lodo de esgoto em propriedades físicas de um Latossolo Vermelho eutroférico. **Semina: Ciências Agrárias** 28(1):65-69. DOI: 10.5433/1679-0359.2007v28n1p65

Barbosa JC, Maldonado Júnior W (2015) AgroEstat – Sistema para análises estatísticas de ensaios agrônômicos. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, (FCAV/Unesp), 396p.

Barreto AC, Freire MBG, Nacif PGS, Araújo QR, Freire FJ, Inácio ESB (2008) Fracionamento químico e físico do carbono orgânico total em um solo de mata submetido a diferentes usos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 32:1471-1478. DOI: 10.1590/S0100-06832008000400011

Bastida F, Kandeler E, Moreno JL, Ros M, Garcia C, Hernandez T (2008) Application of fresh and composted organic wastes modifies structure, size and activity of soil microbial community under semiarid climate. **Applied Soil Ecology** 40:318-329. DOI: 10.1016/j.apsoil.2008.05.007

Benites VM, Madari B, Machado PLOA (2003) **Extração e fracionamento quantitativo de substâncias húmicas do solo: Um procedimento simplificado de baixo custo**. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 7p. (Comunicado Técnico, 16).

Bettiol W, Camargo OA (Eds.) (2000) Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente. 19p.

Bilotta P, Ross BZL (2016) Estimativa de geração de energia e emissão evitada de gás de efeito estufa na recuperação de biogás produzido em estação de tratamento de esgotos. **Revista Engenharia Sanitária** 21(2):275-282. DOI: 10.1590/s1413-41522016141477

Bittencourt S, Aisse MM, Serrat BM (2017) Gestão do uso agrícola do lodo de esgoto: estudo de caso do estado do Paraná, Brasil. **Revista Engenharia Sanitária** 22(6):1129-1139. DOI: 10.1590/S1413-41522017156260

Boeira RC, Ligo MAV, Maximiliano VCB (2009) **Emissão de C-CO₂ em amostras de latossolo tratadas com lodos de esgoto**. Embrapa Meio Ambiente-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E). 20p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 53).

Bohm GMB, Karsburg RM, Heidrich C, Bohm EM, Machado, RCO (2016) Effects of different sewage sludge concentrations on soil and cultivated *Raphanus sativus* L. **American Journal of Experimental Agriculture** 10(3):1-7. DOI: 10.9734/AJEA/2016/2173

Bohm GB, Betemps GR, Bierhals LN, Sanches Filho PJ, Schwanz SM (2014) Uso de lodo de estação de tratamento de esgoto em Argissolo cultivado com soja. **Revista Thema** 11:12-23.

Bonini CSB, Alves MC, Montanari R (2015) Lodo de esgoto e adubação mineral na recuperação de atributos químicos de solo degradado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental** 19(4):388-393. DOI: 10.1590/1807-1929/agriambi.v19n4p388-393

Bowles TM, Acosta-Martínez V, Calderón F, Jackson LE (2014) Soil Enzyme Activities, Microbial Communities, and Carbon and Nitrogen Availability in Organic Agroecosystems across an Intensively-Managed Agricultural Landscape. **Soil Biology & Biochemistry** 68:252-262. DOI: 10.1016/j.soilbio.2013.10.004

Brady NC, Weil RR (Eds.) (2013) Elementos da natureza e propriedades dos solos. 3.ed. Porto Alegre: Bookman. 704p.

Bramryd T (2013) Long-term effects of sewage sludge application on the heavy metal concentrations in acid pine (*Pinus sylvestris* L.) forests in a climatic gradient in Sweden. **Forest Ecology and Management** 289:434-444. DOI: 10.1016 / j.foreco.2012.08.045

BRASIL (2017) Ministério das Cidades. Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental – SNSA. Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento: Diagnóstico dos Serviços de Água e Esgotos – 2015. Brasília: SNSA/MCIDADES. 212 p.

BRASIL (2014) Ministério das Cidades. Plano Nacional de Saneamento Básico (PLANSAB). Disponível em: http://www.cidades.gov.br/images/stories/ArquivosSNSA/Arquivos_PDF/ . Acesso em: 28 jan. 2020.

BRASIL (2006) Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução – CONAMA. Resolução no 375/2006. Define critérios e procedimentos para o uso agrícola de lodos de esgoto gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília. 167:141-146.

Bremner JM, Keeney DR (1965) Steam distillation methods for determination of ammonium, nitrate and nitrite. **Analytica Chimica Acta** 32:485-495. DOI: 10.1016/S0003-2670(00)88973-4.

Bueno JRP, Berton RS, Silveira APD, Chiba MK, Andrade CA, Maria IC (2011) Chemical and microbiological attributes of an oxisol treated with successive applications of sewage sludge. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 35(4):1461-1470. DOI: 10.1590/S0100-06832011000400040

Buyanovsky GA, Wagner GH, Gantzer C (1986) Soil respiration in a winter wheat ecosystem. **Soil Science Society of American Journal** 50:338-344.

Calleja-Cervantes ME, Aparicio-Tejo PM, Villadas PJ, Irigoyen I, Irañeta J, Fernández González AJ, Menéndez S (2017) Rational application of treated sewage sludge with urea increases GHG mitigation opportunities in Mediterranean soils. **Agriculture, Ecosystems & Environment** 238:114-127. DOI: 10.1016/j.agee.2016.09.021

Camilotti F, Andrioli I, Marques MO, Silva AR, Tasso Júnior LC, Nobile FO (2006) Atributos físicos de um Latossolo cultivado com cana-de-açúcar após aplicações de lodo de esgoto e vinhaça. **Revista Engenharia Agrícola** 26(3):738-747. DOI: 10.1590/S010069162006000300010

Canellas LP, Mendonça ES, Dobbss LB, Baldotto MA, Velloso ACX, Santos AG, Amaral Sobrinho NMB (2008) Reações da matéria orgânica. In: Santos GA, Silva LS, Canellas LP, Camargo FAO (Eds.) **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. 2.ed. Porto Alegre: Metrópole. p. 45-61.

Canellas LP, Santos GDEA, Rumjanek VM, Moraes AA, Guridi F (2001) Distribution of the organic matter and humic acid characteristic in soils with addition of residues of urban origin. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 36:1529–1538. DOI: 10.1590/S0100-204X2001001200010

Carlson J, Saxena J, Basta N, Hundal L, Busalacchi D, Dick RP (2015) Application of organic amendments to restore degraded soil: effects on soil microbial properties. **Environmental Monitoring and Assessment** 187:109. DOI: 10.1007/s10661-015-4293-0

Carvalho CS, Ribeirinho VS, Andrade CA, Grutzmacher P, Pires AMM (2015) Composição Química da Matéria Orgânica de Lodos de Esgoto. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias** 10(3):413-419. DOI: 10.5039/agraria.v10i3a5174

Cele EM, Maboeta M (2016) Response of soil enzyme activities to synergistic effects of biosolids and plants in iron ore mine soils. **International Journal of Environmental Science and Technology** 13:2117-2126. DOI 10.1007/s13762-016-1043-y

Chang AC, Hyun H, Page AL (1997) Cadmium uptake for swiss chard grown on composted sewage sludge treated field plots: plateau or time bomb? **Journal of Environmental Quality** 26:11-19.

Chang EH, Wang CH, Chen CL, Chung RS (2014) Effects of long-term treatments of different organic fertilizers complemented with chemical N fertilizer on the chemical and biological properties of soils. **Soil Science and Plant Nutrition** 60(4):499-511. DOI: 10.1080/00380768.2014.917333

Charlton A, Sakrabani R, Tyrrel S, Casado MR, McGrath SP, Crooks B, Cooper P, Campbell CD (2016) Long-term impact of sewage sludge application on soil microbial biomass: an evaluation using meta-analysis. **Environmental Pollution** 219:1021-1035. DOI: 10.1016/j.envpol.2016.07.050

Chen Y, Cheng JJ, Creamer KS (2008) Inhibition of anaerobic digestion process: a review. **Bioresource Technology** 99:4044-4064. DOI: 10.1016/j.biortech.2007.01.057

Christensen BT (1992) Physical fractionation of soil and organic matter in primary particle size and density separates. **Advances in Soil Science** 20:1-90.

Christodoulou A, Stamatelatos K (2016) Overview of legislation on sewage sludge management in developed countries worldwide. **Water Science and Technology** 73(3):453 – 462. DOI: 10.2166/wst.2015.521

Coscione AR, Silva LFM, De Maria IC, Andrade CA, Ferracini VL (2014) Solução do solo e análise de componentes principais para monitoramento da aplicação de lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 38:1654-1662.

Costa EM, Silva HF, Ribeiro PRA (2013) Matéria orgânica do solo e o seu papel na manutenção e produtividade dos sistemas agrícolas. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer 9(17):1843-1860.

Costa A, Albuquerque J, Mafra AL, Silva FR (2009) Propriedades físicas do solo em sistemas de manejo na integração lavoura-pecuária. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 33:235-244. DOI: 10.1590/S0100-06832009000200001

Costa NA, Costa AFS, Lima MF, Mattos CN, Caetano LCS, Taques RC, Almeida LF, Guarçoni AM, Bassani PD, Goulart FVB, Bastos FA, Paye HS (2008) Lodo de esgoto: utilização sustentável. 168:2. Disponível em: <http://www.fundagres.org.br/biossolido/index.php/publicacoes?download> 26:lodo-deesgoto-utilizacao-sustentavel-2. Acesso em: 05 jan. 2020.

Cruvinel ÊBF, Bustamante MMDC, Kozovits AR, Zepp RG (2011) Soil emissions of NO, N₂O and CO₂ from croplands in the savanna region of central Brazil. **Agriculture, Ecosystems and Environment** 144:29-40. DOI: 10.1016/j.agee.2011.07.016

Cunha EDQ, Stone LF, Ferreira EPDB, Didonet AD, Moreira JAA, Leandro WM (2011) Sistemas de preparo do solo e culturas de cobertura na produção orgânica de feijão e milho: II - atributos biológicos do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 35:603-611. DOI: 10.1590/S0100-06832011000200029

Dalvachior FC, Dal Bem EA, Souza MFP, Ribeiro R, Alves MC, Colodro G (2013) Atributos físicos de um latossolo vermelho distrófico degradado em resposta à aplicação de biossólidos. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias** 8(2)205-210. DOI: 10.5039/agraria.v8i2a2370

Delarica DLD (2016) **Carbono, nitrogênio e fósforo em latossolo após aplicação de lodo de esgoto por dezoito anos consecutivos**. 97 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal.

Deng SP, Tabatabai MA (1996) Effect of tillage and residue management on enzyme activities in soils. **Biology and Fertility of Soils** 22:202-207. DOI: 10.1007/BF00382513

Dick DP, Novotny EH, Dieckow J, Bayer C (2009) Química da matéria orgânica do solo. In: Melo VF, Alleoni LRF (Eds.) **Química e mineralogia do solo**. 1. ed. Viçosa: SBCS. p. 1-67.

Dick DP, Martinazzo R (2006) Matéria orgânica em ambientes terrestres e aquáticos: composição, reações e técnicas de caracterização. In: Poletto C, Merten G (Org.) **Qualidade de Sedimentos**. Porto Alegre: Ed. ABRH. p.65-80.

Doran JW, Sarrantonio M, Liebig M (1996) Soil health and sustainability. In: Sparks DL (Org.) **Advances in Agronomy**. San Diego: Academic Press. p. 1-54.

Doran JW, Parkin TB (1994) Defining and assessing soil quality. In: Doran JW, Coleman DC, Bezdicek DF, Stewart BA (Org.) **Defining soil quality for a sustainable environment**. Madison: SSSA. p. 3-21.

Doran JW, Mielke LN, Power JF (1990) Microbial activity as regulated by soil water-filled pore space. In: International Congress of Soil Science, 14., Kyoto. **Anais...** Kyoto, Japan, p. 94-99.

Doyle J, Pavel R, Barness G, Steinberger Y (2006) Cellulase dynamics in a desert soil. **Soil Biology & Biochemistry** 38:371-376. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2005.05.017>

Duarte AP (1994) **Calagem e sistemas de rotação de culturas: efeitos nas características e propriedades da matéria orgânica do solo**. 165 f. Dissertação de Mestrado – Unesp, Jaboticabal.

Dynia JF, Souza MD, Boeira RC (2006) Lixiviação de nitrato em Latossolo cultivado com milho após aplicações sucessivas de lodo de esgoto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 41(5):855-862. DOI: 10.1590/S0100-204X2006000500019

Epron D, Nouvellon Y, Deleporte P, Ifo S, Kazotti G, M'bou AT, Mouvondy W, Saint-André L, Roupsard O, Jourdan C, Hamel O (2006) Soil carbon balance in a clonal Eucalyptus plantation in Congo: effects of logging on carbon inputs and soil CO₂ efflux. **Global Change Biology** 12:1021-1031. DOI: 10.1111/j.1365-2486.2006.01146.x

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (2013) Sistema brasileiro de classificação de solos. 3 ed. Brasília: Embrapa. 363p.

Fernandes SAP, Bettiol W, Cerri CC (2005) Effect of sewage sludge on microbial biomass, basal respiration, metabolic quotient and soil enzymatic activity. **Applied Soil Ecology** 30(1):65-77. DOI: 10.1016/j.apsoil.2004.03.008

Fontana A, Pereira MG, Loss A, Cunha TJF, Salton JC (2006) Atributos de fertilidade e frações húmicas de um Latossolo Vermelho no Cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 41:847-853.

Galdos MV, De Maria IC, Camargo OA (2004) Atributos químicos e produção de milho em um Latossolo Vermelho eutroférico tratado com lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 28:569-577. DOI:10.1590/S0100-06832004000300017

Gama-Rodrigues EF, Gama-Rodrigues AC (2008) Biomassa microbiana e ciclagem de nutrientes. In: Santos GA, Silva L, Canellas LP, Camargo FAO (Eds.) **Fundamentos da matéria orgânica no solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. 2. ed. Porto Alegre: Metropole. p. 159-168.

Ganesan P, Reegan AD, David RHA, Gandhi MR, Paulraj MG, Al-Dhabi NA, Ignacimuthu S (2017) Antimicrobial activity of some actinomycetes from Western Ghats of Tamil Nadu, India. **Alexandria Medical Journal** 53:101-110. DOI: 10.1016/j.ajme.2016.03.004

Guareschi RF, Pereira MG, Perin A (2013) Frações da matéria orgânica em áreas de Latossolo sob diferentes sistemas de manejo no cerrado do estado de Goiás. **Semina: Ciências Agrárias** 34:2615-2628. DOI: 10.1590/S0100-204X2000000100018

Gianfreda L, Bollag JM (1996) Influence of soil natural and anthropogenic factors on enzyme activity in soil. In: Stotzky G, Bollag JM (Eds.) **Soil Biochemistry** M. Dekker, New York p. 123–193.

Gonçalves ICR, Araujo ASF, Carvalho EMS, Carneiro RFV (2009) Effect of paclobutrazol on microbial biomass, respiration and cellulose decomposition in soil. **European Journal of Soil Biology** 45:235-238. DOI: 10.1016/j.ejsobi.2009.01.002

Guedes MC, Andrade CA, Poggiani F, Matiazzi ME (2006) Propriedades químicas do solo e nutrição do eucalipto em função da aplicação de lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 30:267-280. DOI: 10.1590/S0100-06832006000200008

Guerra JGM, Santos GA, Silva LS, Camargo FAO (2008) Macromoléculas e substâncias húmicas. In: Santos GA, Silva L, Canellas LP, Camargo FAO (Eds.) **Fundamentos da matéria orgânica no solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. 2. ed. Porto Alegre: Metropole. p. 19-26.

Hamdi H, Hechmi S, Khelil MN, Zoghlami IR, Benzarti S, Mokni-Tlili S, Hassena A, Jedidi N (2019) Repetitive land application of urban sewage sludge: Effect of amendment rates and soil texture on fertility and degradation parameters. **Catena** 172: 11-20. DOI: 10.1016/j.catena.2018.08.015

Han W, He M (2010) The application of exogenous cellulase to improve soil fertility and plant growth due to acceleration of straw decomposition. **Bioresource Technology** 101:3724-3731. DOI: 10.1016/j.biortech.2009.12.10

Hao F, Li J, Wang Z, Li Y (2018) Influence of chlorine injection on soil enzyme activities and maize growth under drip irrigation with secondary sewage effluent. **Irrigation Science** 36(6):363-379. DOI: 10.1007/s00271-018-0589-5

Heděšec P, Jílková V, Lin Q, Cajthaml T, Filipova A, Baldrian P, Vetrovsky T, Kristufek V, Chroňáková A, Setälä H, Tsiafouli M, Mortimer SR, Kukla J, Frouz J (2019) Microbial communities in local and transplanted soils along a latitudinal gradient. **Catena** 173:456-464. DOI: 10.1016/j.catena.2018.10.043

Helingerová M, Frouz J, Santruková H (2010) Microbial activity in reclaimed and unreclaimed post-mining sites near Sokolov (Czech Republic). **Ecological Engineering** 36:768-776. DOI: 10.1016/j.ecoleng.2010.01.007

Hernández T, García C (2003) Estimación de la respiración microbiana del suelo. In: Izquierdo CG, Gil-Sotres F, Fernández TH, Cepeda CT (Eds.) **Técnicas de análisis de parámetros bioquímicos en suelos: medida de actividades enzimáticas y biomasa microbiana**. Madrid: Mundi-Prensa. p. 313-346.

Hu Y, Pang S, Yang J, Zhao X, Cao J (2019) Changes in soil microbial community structure following amendment of biosolids for seven years. **Environmental Pollutants and Bioavailability** 31(1):24-31. DOI: 10.1080/26395940.2019.1569478

Ischia M, Perazzolli C, Dal Maschio R, Campostrini R (2007) Pyrolysis study of sewage sludge by TG-MS and TG-GC-MS coupled analyses. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry** 87(2):567-574. DOI: 10.1007/s10973-006-7690-3

Islam KR, Weil RR (2000) Land use effects on soil quality in a tropical forest ecosystem of Bangladesh. **Agriculture, Ecosystems and Environment** 79:9-16. DOI: 10.1016/S0167-8809(99)00145-0

Jordán MM, Almendro-Candel MB, Romero M, Rincón JM (2005) Application of sewage sludge in the manufacturing of ceramic tile bodies. **Applied Clay Sciences** 30(3-4):219-224. DOI: 10.1016/j.clay.2005.05.001

Jorge RF, Corá JE, Barbosa JC (2010) Número mínimo de tensões para determinação da curva característica de retenção de água de um Latossolo Vermelho eutrófico sob sistema de semeadura direta. **Revista Brasileira de Ciência do solo** 34(6):1831-1840. DOI: 10.1590/S0100-06832010000600007.

Junio GRZ, Sampaio RA, Nascimento AL, Santos GB, Santos LDT, Fernandes LA (2013) Produtividade de milho adubado com composto de lodo de esgoto e fosfato natural de Gafsa. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental** 17(7):706-712. DOI: 10.1590/S1415-43662013000700003

Kallenbach CM, Frey SD, Grandy AS (2016) Direct evidence for microbial-derived soil organic matter formation and its ecophysiological controls. **Nature Communications** 7:1-10. DOI: 10.1038/ncomms13630

Karlen DL, Mausbach MJ, Doran JW, Cline RG, Harris RF, Schuman, GE (1997) Soil quality: a concept, definition, and framework for evaluation (a guest editorial). **Soil Science Society of America Journal** 61(1):4-10. DOI: 10.2136/sssaj1997.03615995006100010001x

Karlen DL, Andrews SS, Doran JW (2001) Soil quality: Current concepts and applications. **Advances in Agronomy** 74:1–40. DOI: 10.1016/S0065-2113(01)74029-1

Karlen DL, Stott DE (1994) A framework for evaluating physical and chemical indicators of soil quality. In: Doran JW, Coleman DC, Bezdicek DF, STEWART BA (Eds.) **Defining soil quality for a sustainable environment**. Madison: Soil Science Society of America. p. 53-72.

Kaschuk G, Alberton O, Hungria M (2010) Three decades of soil microbial biomass studies in Brazilian ecosystems: Lessons learned about soil quality and indications for improving sustainability. **Soil Biology and Biochemistry** 42(1):1-13. DOI: 10.1016/j.soilbio.2009.08.020

Kominko H, Gorazda K, Wzorek Z (2017) The possibility of Organo-Mineral fertilizer production from sewage sludge. **Waste and Biomass Valorization** 1(1):1-11. DOI: 10.1007/s12649-016-9805-9

Kutlu T, Guber AK, Rivers ML, Kravchenko AN (2018) Moisture absorption by plant residue in soil. **Geoderma** 316:47-55. DOI: 10.1016/S0038-0717(01)00020-7

Lakhdar A, Scelza R, Achiba WB, Scotti R, Rao MA, Jedidi N, Abdelly C, Gianfreda L (2011) Effect of municipal solid waste compost and sewage sludge on enzymatic activities and wheat yield in a clayey-loamy soil. **Soil Science** 176, 15-21.

Lavezzo LF (2016) **Atributos químicos, bioquímicos e microbiológicos em solos com 18 anos de aplicações anuais de lodo de esgoto**. 71 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal.

Linn DM, Doran JW (1984) Effect of water-filled pore space on carbon dioxide and nitrous oxide production in tilled and non-tilled soils. **Soil Science Society of America Journal** 48:1267-1272. DOI: 10.2136 / sssaj1984

Liu X, Guo K, Huang L, Ji Z, Jiang H, Li H, Zhang J (2017) Responses of absolute and specific enzyme activity to consecutive application of composted sewage sludge in a Fluventic Ustochrept. **Plos One** 12(5):e0177796. DOI: 10.1371/journal.pone.0177796

Lloret E, Pascual JA, Brodie EL, Bouskill NJ, Insam H, Juárez MFD, Goberna M (2016) Sewage sludge addition modifies soil microbial communities and plant performance depending on the sludge stabilization process. **Applied Soil Ecology** 101:37–46. DOI: 10.1016/j.apsoil.2016.01.002.

Lobo TF, Grassi Filho H, Büll LT, Moreira LLQ (2013) Manejo do lodo de esgoto e nitrogênio mineral na fertilidade do solo ao longo do tempo. **Semina: Ciências Agrárias** 34(6):2705-2726. DOI: 10.5433/1679-0359.2013v34n6p2705

Longo RM, Melo WJ (2005) Atividade da urease em Latossolos sob influência da cobertura vegetal e da época de amostragem. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 29:645-650. DOI: 10.1590/S0100-06832005000400017

Lopes NRC (2019) **Atributos biológicos, atividade enzimática e nitrogênio em solos após 21 anos de tratamento com lodo de esgoto**. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal.

Loss A, Pereira MG, Giácomo SG, Perin A, Anjos LHC (2011) Agregação, carbono e nitrogênio em agregados do solo sob plantio direto com integração lavoura-pecuária. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 46(10):1269-1276.

La Scala Jr N, Marques JR, Pereira JT, CORA JE (2000) Short-term temporal changes in the spatial variability model of CO₂ emissions from Brazilian bare soil. **Soil biology & biochemistry** 32:1459-1462. DOI: 10.1016/S0038-0717(00)00051-1

McBride MB (1995) Toxic metal accumulation from agricultural use of sludge: are USEPA regulations protective? **Journal of Environmental Quality** 24:5-18.

Macedo FGD, Melo WJD, Merlino LCS, Torres LS, Guedes ACTP, Melo GMPD, Camacho MA (2012) Lodo de esgoto como fonte de nitrogênio: concentração no perfil do solo e em plantas de milho. **Engenharia Sanitária e Ambiental** 17(3):263-268. DOI: 10.1590/S1413-41522012000300002

Malliou O, Katsioti M, Georgiadis A, Katsiri A (2007) Properties of stabilized/solidified admixtures of cement and sewage sludge. **Cement and Concrete Composites** 29(1):55-61. DOI: 10.1016/j.cemconcomp.2006.08.005

Mateo-Sagasta J, Raschid-Sally L, Thebo A. (2015) Global wastewater and sludge production, treatment and use. In: Drechsel P, Qadir M, Wichelns D. (eds.). **Wastewater: economic asset in an urbanizing world**. Dordrecht: Springer. p. 15-38.

Matsumiya Y (2012) Green Energy Production from Municipal Sewage Sludge in Japan. Japan Sewage Works Association. 14 p. Disponível em: <<http://gcus.jp/wp/wp-content/uploads/2011/10/b9d3da09628478f76161e05c89b06be91.pdf>>. Acesso em: 05 jan. 2020.

Mattana S, Petrovicová B, Landi L, Gelsomino A, Cortés P, Ortiz O, Renella G (2014) Sewage sludge processing determines its impact on soil microbial community structure and function. **Applied Soil Ecology** 75:150–161. DOI: 10.1016/j.apsoil.2013.11.007

May PB, Douglas LA (1976) Assay for soil urease activity. **Plant Soil** 45:301-305. DOI: 10.1007/BF00011156

McCarthy AJ (1987) Lignocellulose-degrading actinomycetes. **FEMS Microbiology Letters** 46:145-163. DOI: 10.1155/2015/279381

Melo W, Delarica D, Guedes A, Lavezzo L, Donha R, Araújo A, Melo G, Macedo F (2018) Ten years of application of sewage sludge on tropical soil. A balance sheet on agricultural crops and environmental quality. **Science of the Total Environment** 643:1493–1501. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.06.254

Melo WJ, Marques MO, Melo VP (2001) O uso agrícola do biossólido e as propriedades do solo. In: Tsutiya MT, Comparini JB, Alem Sobrinho P, Hespanhol I, Carvalho PCT, Melfi AJ, Melo WJ, Marques MO (Eds.) **Biossólidos na agricultura**. São Paulo: Sabesp 468p.

Melo WJ, Melo GMP, Araújo AF, Melo VP (2010) Avaliação da atividade enzimática em amostras de solo. In: Figueiredo et al. (Eds.) **Biotechnologia aplicada à agricultura**. Brasília, EMBRAPA, Informação tecnológica, Recife, Instituto Agrônômico de Pernambuco. p. 158-187.

Melo WJ, Marques MO, Ferreira ME, Melo GMP, Melo VP (2002) Chemical properties and enzyme activity in a sewage sludge-treated soil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis** 33(9-10):1643-1659. DOI:10.1081/CSS-120004305

Melo WJ, Marques MO (2000) Potencial do lodo de esgoto como fonte de nutrientes para as plantas. In: Bettiol W, Camargo OA (Eds.) **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto**. Jaguariúna: EMBRAPA Meio Ambiente p.109-141.

Melo WJ, Marques MO, Santiago G, Chelli RA, Leite SAS (1994) Efeito de doses crescentes de lodo de esgoto sobre frações da matéria orgânica e CTC de um Latossolo cultivado com cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 18:449-455.

Melo WJ, Pizauro-Júnior JM, Sartori JL, Kanesiro MAB (1983) Amilase em solos do município de Jaboticabal (SP). **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 7:213-215.

Mendes IC, Vivaldi L (2001) Dinâmica da biomassa e atividade microbiana em uma área sob mata de galeria na região do DF. In: Ribeiro JF, Fonseca CEL, Sousa Silva JC (Eds.). **Cerrado: caracterização e recuperação de Matas de Galeria**. Planaltina: Embrapa-CPAC p. 664-687.

MMA - Ministério do Meio Ambiente (2017) O Bioma Cerrado. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/biomas/cerrado>>. Acesso em: 18 fev. 2019.

Moreira SF, Santos SDO, Sardinha AS, Júnior A (2019) O lodo de ETE como alternativa para a recuperação do solo em áreas degradadas. **Brazilian Applied Science Review** 3(3):1564-1585. DOI: 10.34115/basrv3n3-006

Moreira RS, Chiba MK, Nunes SB, Maria IC (2017) Air-drying pretreatment effect on soil enzymatic activity. **Plant, Soil and Environment** 63(1):29-33. DOI: 10.17221/656/2016-PSE

Moyano FE, Manzoni S, Chenu C (2013) Responses of soil heterotrophic respiration to moisture availability: An exploration of processes and models. **Soil Biology & Biochemistry** 59:72-85. DOI: 10.1016/j.soilbio.2013.01.002

Nannipieri P, Giagnoni L, Landi L, Renella G (2011) Role of phosphatase enzymes in soil. In: Bünemann E, Oberson A, Frossard E (Eds.) **Phosphorus in action**. Springer, Berlin, Heidelberg. p. 215-243.

Oliveira FC, Matiazzi ME, Marciano CR, Rosseto R (2002) Efeitos de aplicações sucessivas de lodo de esgoto em Latossolo Amarelo distrófico cultivado com cana-de-açúcar: carbono orgânico, condutividade elétrica, pH e CTC. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 26:505-519. DOI: 10.1590/S0100-06832002000200025

Pancholy SK, Rice EL (1973) Soil enzymes in relation to old field succession: amylase, celulase, invertase, dehydrogenase and urease. **Soil Science Society of America, Proceedings** 37:47-50. DOI: 10.2136/sssaj1973.03615995003700010018x

Pereira NGF, Frazão LA, Oliveira ALG, Cardoso PHS, Sampaio RA, Fernandes LA (2015) Efeitos da aplicação de lodo de esgoto estabilizado por diferentes processos nos atributos químicos e microbiológicos de um Cambissolo Háplico. **Cadernos de Ciência e Tecnologia** 32(1/2):115-127. DOI: 10.35977/0104-1096.cct2015.v32.23307

Pereira RD, Murashita EM, Fluminhan Jr A (2013) Reciclagem agrícola de biossólidos: Aspectos ambientais e aceitação pública. **Colloquium Humanarum** 10(2):90-101. DOI: 10.5747/ch.2013.v10.n2.h145

Pinheiro EFM, Pereira MG, Anjos LHC (2004) Aggregate distribution and soil organic matter under different tillage systems for vegetable crops in a Red Latosol from Brazil. **Soil and Tillage Research** 30:1-6. DOI: 10.1016/j.still.2003.11.005

Pires AMM, Andrade CA, Souza NAP, Carmo JB, Coscione AR, Carvalho CS (2015) Disponibilidade e mineralização do nitrogênio após aplicações sucessivas de LE no solo, estimadas por meio de incubação anaeróbica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 50:333- 342. DOI: 10.1590/S0100-204X2015000400009

Poggiani F, Guedes MC, Benedetti V (2000) Aplicabilidade de biossólido em plantações florestais: I. reflexo no ciclo dos nutrientes. In: Bettiol W, Camargo OA (Eds.) **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente. p. 163-178.

Powlson DS, Prookes PC, Christensen BT (1987) Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total organic matter due to straw incorporation. **Soil Biology and Biochemistry** 19(2):159-164.

Pragana RB, Nobrega RSA, Ribeiro MR, Lustosa Filho JF (2012) Atributos biológicos e dinâmica da matéria orgânica em latossolos amarelos na região do cerrado piauiense sob sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 36:851-858. DOI: 10.1590/S0100-06832012000300015

Primavesi A (2002) Manejo ecológico do solo: a agricultura em regiões tropicais. NBL Editora. 549p.

Protano G, Baroni F, Di Lella LA, Mazzoni A, Nannoni F, Papale A (2019) How do properties and heavy metal levels change in soils fertilized with regulated doses of urban sewage sludge in the framework of a real agronomic treatment program? **Journal of Soils and Sediments**. DOI: 10.1007/s11368-019-02511-3

Raij BVan, Cantarella H (1997) Milho. In: Raij BVan, Cantarella H, Quaggio JA, Furlani AMC (Eds.) **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2.ed. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, p. 56-59. (Boletim Técnico, 100).

Rochette P, Angers D, Chantini MH, MacDonald JD, Gasser M, Bertrand N (2009) Reducing ammonia volatilization in a no-till soil by incorporating urea and pig slurry in shallow bands. **Nutrient Cycling in Agroecosystems** 84:71-80. DOI: 10.1007/s10705-008-9227-6

Rose MT, Patti AF, Little KR, Brown AL, Jackson WR, Cavagnaro TR (2014) A meta-analysis and review of plant-growth response to humic substances: practical implications for agriculture. **Advances in Agronomy** 124(1):37-46. DOI: 10.1016/B978-0-12-800138-7.00002-4

Roldán A, Caravaca F, Hernández Garccía C, Sánchez-Brito C, Velásquez M, Tiscareño M (2003) No-tillage, crop residue additions, and legume cover cropping effects on soil quality characteristics under maize in Patzcuaro watershed (Mexico). **Soil and Tillage Research** 72(1):65-73. DOI: 10.1016/S0167-1987(03)00051-5

Rolim GS (2019) Dados meteorológicos, UNESP - Jaboticabal. 2017. Disponível em: <<http://www.fcav.unesp.br/#!/estacao>>. Acesso em: 18 fev. 2019.

Ross DJ (1965) A seasonal study of oxygen uptake of some pasture soils and activities of enzymes hydrolysing sucrose and starch. **Journal of Soil Science** 16:73-85.

Rossi CQ, Pereira MG, Giácomo SG, Betta M, Polidoro JC (2012) Frações lábeis da matéria orgânica em sistema de cultivo com palha de braquiária e sorgo. **Ciência Agrônômica** 43:38-46. DOI: 10.1590/S1806-66902012000100005

Ruser R, Flessa H, Russow R, Schmidt G, Buegger F, Munch JC (2006) Emission of N₂O, N₂ and CO₂ from soil fertilized with nitrate: effect of compaction, soil moisture and rewetting. **Soil Biology & Biochemistry** 38:263-274. DOI: 10.1016/j.soilbio.2005.05.005

Saito ML (2007) **O uso do lodo de esgoto na agricultura: Precauções com os contaminantes orgânicos**. Jaguariúna, Embrapa Meio Ambiente, 36p. (Documentos, 64).

Sampaio A, Vieira D, Silva D, Generoso L, Lopes L, Matsumoto M, Poubel R, Valle R, Klier V (2017) Plano recupera cerrado: Uma avaliação de oportunidades de Recomposição para o Distrito Federal, DF, Brasil. SEMA: Brasília/DF. 99p.

Santos DC, Farias MO, Lima CLR, Kunde RJ, Pillon CN, Flores CA (2013) Fracionamento químico e físico da matéria orgânica de um argissolo vermelho sob diferentes sistemas de uso. **Ciência Rural** 43(5):838-844. DOI: 10.1590/S0103-84782013005000037

Santos LM, Simões ML, Melo WJ, Martin-Neto L, Pereira-Filho ER (2010) Application of chemometric methods in the evaluation of chemical and spectroscopic data on organic matter from Oxisols in sewage sludge applications. **Geoderma** 155:121–127. DOI: 10.1016/j.geoderma.2009.12.006

Santos GA, Silva LS, Canellas LP, Camargo FAO (Eds.) (2008) Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais. Porto Alegre: Metrópole. 645p.

Santos MV, Maia LC (2013) Bioindicadores de qualidade do solo. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica** 10:195-223.

Sardans J, Peñuelas J (2005) Drought decreases soil enzyme activity in a Mediterranean *Quercus ilex* L. forest. **Soil Biology & Biochemistry** 37:455-461. DOI: 10.1016/j.soilbio.2004.08.004

Scotti R, Bonanomi G, Scelza R, Zoina A, Rao MA (2015) Organic amendments as sustainable tool to recovery fertility in intensive agricultural systems. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition** 15(2):333-352. DOI: 10.4067/S0718-95162015005000031

Sheng HAO, Yang Y, Yang Z, Chen G, Xie J, Guo J, Zou S (2010) The dynamic response of soil respiration to land-use changes in subtropical China. **Global Change Biology** 16:1107-1121. DOI: 10.1111/j.1365-2486.2009.01988.x

Silva AP, Babujia LC, Franchinia JC, Souza RA, Hungria M (2010) Microbial biomass under various soil- and crop-management systems in short and long-term experiments in Brazil. **Field Crops Research** 119:20-26. DOI: 10.1016/j.fcr.2010.06.012

Silva JE, Resck DVS (1997) Matéria orgânica do solo. In: Vargas MAT, Hungria M (Eds.) **Biologia dos solos dos cerrados**. Planaltina: Embrapa-CPAC, p. 467-524.

Smoliński A, Karwot J, Bondaruk J, Bąk A (2019) The bioconversion of sewage sludge to bio-fuel: the environmental and economic benefits. **Materials** 12(15): 2417. DOI: 10.3390/ma12152417

Snajdr J, Valasková V, Merhautová V, Henriková J, Cajthaml T, Baldrian P (2008) Spatial variability of enzyme activities and microbial biomass in the upper layers of *Quercus petraea* forest soil. **Soil Biology and Biochemistry** 40:2068-2075. DOI: 10.1016/j.soilbio.2008.01.015

Sposito G, Zabel A (2003) The assessment of soil quality. **Geoderma** 114(3/4):143-144.

Souza ZM, Beutler NA, Melo VP, Melo WJ (2005) Estabilidade de agregados e resistência à penetração em Latossolos adubados por cinco anos com biossólido. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 29(1):117-123. DOI: 10.1590/S0100-06832005000100013

Stevenson FJ (1994) Humus chemistry: Genesis, composition, reaction. New York, Wiley Interscience. 443p.

Tamanini CR, Motta ACV, Andreoli CV, Doetzer BH (2008) Land reclamation recovery with the sewage sludge use. **Brazilian Archives of Biology and Technology** 51(4):643-655. DOI: 10.1590/S1516-89132008000400023

Tsutiya MT. (2001) Alternativas de disposição final de biossólidos. In: Tsutiya MT, Comparini JB, Sobrinho PA, Hespanhol I, Carvalho PCT, Melfi AJ, Melo WJ, Marques MO (Eds.) **Biossólidos na agricultura**. São Paulo: Sabesp. 468 p.

United Nations. Department of Economic and Social Affairs. World population prospects: the 2018 revision. New York, 2018. Disponível em: <<https://population.un.org/wup/>>. Acesso em: 01 fev. 2020.

Upadhyay LSB (2012) Urease Inhibitors: A Review. **Indian Journal of Biotechnology** 11(4):381–388.

Van Soest PJ, Robertson JD, Lewis BA (1991) Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science** 74:3583-3597.

Vieira RF, Pazianotto RAA (2016) Microbial activities in soil cultivated with corn and amended with sewage sludge. **Springer Plus** 5:1844. DOI: 10.1186/s40064-016-3502-9

Wang B, Zha TS, Jia X, Wu B, Zhang YQ, Qin SG (2014) Soil moisture modifies the response of soil respiration to temperature in a desert shrub ecosystem. **Biogeosciences** 11:259-268. DOI: 10.5194/bg-11-259-2014

Wang J, Yi Y, Tang F, Pang X, Chen Z, Peng L, Zhou X, Yang C (2012) Effects of composted sewage sludge on the enzyme activities in the aeolian sandy soil. **Advanced Materials Research** 518-523:3341-3344. DOI: 10.4028/www.scientific.net/AMR.518-523.3341

Wang X, Chen T, Ge Y, Jia Y (2008) Studies on land application of sewage sludge and its limiting factors. **Journal of Hazardous Materials** 160:554–558. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2008.03.046.

Walkley A, Black IA (1934) An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. **Soil Science** 37:29-38.

Xu H, Wang C, WANG K (2015) Full-Scale Plant Study of the Innovative Spray-Drying-Based Sludge Incineration (SDSI) Process: Behavior of Heavy Metals. **Energy Fuels** 29(6):3908-3912. DOI: 10.1021/acs.energyfuels.5b00212

Yada MM, Melo WJ, Mingotte FLC, Melo VP, Melo GMP (2015) Chemical and Biochemical Properties of Oxisols after Sewage Sludge Application for 16 Years. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 39:1303-1310. DOI: 10.1590/01000683rbcS20140728