

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CÂMPUS LONDRINA
CURSO DE ENGENHARIA AMBIENTAL E SANITÁRIA**

BEATRIZ BELCHOR DE LARA

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE DETOXIFICAÇÃO DE ASSOCIAÇÕES DO
LODO DE ESGOTO E SOLO POR MEIO DE BIOENSAIOS COM *ALLIUM CEPA***

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

LONDRINA

2022

BEATRIZ BELCHOR DE LARA

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE DETOXIFICAÇÃO DE ASSOCIAÇÕES DO LODO DE ESGOTO E SOLO POR MEIO DE BIOENSAIOS COM *ALLIUM CEPA*

EVALUATION OF DETOXIFICATION POTENTIAL OF SEWAGE SLUDGE AND SOIL ASSOCIATIONS THROUGH BIOASSAYS WITH *ALLIUM CEPA*

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação apresentada como requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia Ambiental e Sanitária da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientadora: Prof. Dra. Kátia Valéria Marques Cardoso Prates

LONDRINA

2022



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

BEATRIZ BELCHOR DE LARA

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE DETOXIFICAÇÃO DE ASSOCIAÇÕES DO
LODO DE ESGOTO E SOLO POR MEIO DE BIOENSAIOS COM *ALLIUM CEPA***

Trabalho de Conclusão de Curso de
graduação apresentada como requisito para
obtenção do título de Bacharel em
Engenharia Ambiental e Sanitária da
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
(UTFPR).

Orientadora: Prof. Dra. Kátia Valéria
Marques Cardoso Prates

Data de aprovação: 05/Dezembro/2022.

Prof. Dr. Bruno de Oliveira Freitas
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. Marcelo Hidemassa Anami
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Profa. Dra. Kátia Valéria Marques Cardoso Prates
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

LONDRINA

2022

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus por ter me sustentado durante os cinco longos anos de faculdade, oportunidade também concedida por Ele, e por ter a quem agradecer, como está escrito em Eclesiastes 4.9-10 "Melhor é serem dois do que um, porque tem melhor paga do seu trabalho. Se caírem, um levanta o companheiro; aí, porém, do que estiver só; pois, caindo, não haverá quem o levante". Sendo assim, agradeço a minha família que sempre incentivou meus estudos, e proveu os recursos necessários para que eu pudesse me dedicar exclusivamente aos meus estudos.

Agradeço ao Thiago Andrade Marques técnico de laboratório da UTFPR, *campus* Londrina e a minhas amigas da faculdade que me ajudaram com as análises de laboratório. Amizades que tornaram dias difíceis e cansativos em dias agradáveis.

Agradeço a Companhia de Saneamento do Paraná - SANEPAR, pela parceria, disposição e por fornecer o objeto de estudo (lodo) fundamental para o desenvolvimento do trabalho.

Agradeço a minha orientadora Dr. Kátia Prates, por ser paciente, atenciosa e querida em todas as orientações e correções, assim como, também é um exemplo de excelente profissional e ótima docente.

De forma geral agradeço a todas essas pessoas tão queridas em minha vida pela convivência e troca de experiência e conhecimentos, que enriqueceram minha formação, me tornando uma profissional preparada a nível intelectual, social e pessoal.

Agradeço a Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR pela concessão do recurso financeiro por meio do edital DIRGRAD/DIREC10/2022.

RESUMO

LARA, Beatriz Belchor. Avaliação do potencial de detoxificação de associações do lodo de esgoto e solo por meio de bioensaios com *Allium cepa*. 2022. 64 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Ambiental e Sanitária). – Curso de Engenharia Ambiental e Sanitária – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2022.

A garantia de uma destinação ambientalmente adequada do LE é de suma importância, considerando que embora seja constituído por matéria orgânica e nutrientes, são encontrados microrganismos patogênicos e metais tóxicos em sua composição. Por meio da técnica de biorremediação, é possível minimizar a toxicidade de um composto utilizando um agente bioestimulante e os próprios microrganismos presentes no meio. Testes com sementes de *Allium cepa* tem se mostrado um eficiente bioensaio, por serem ótimas indicadoras de agentes citogenotóxicos. O trabalho teve por objetivo estudar o processo de detoxificação do LE, utilizando solo agrícola e solo *in natura* como agentes biorremediadores, avaliando o potencial de toxicidade das composições de LE + solo nas proporções (1:1) e (1:3) nos períodos (T0) antes do tratamento e (T1) pós-biorremediação por meio de bioensaios com sementes de cebola (*Allium cepa*). Foram realizadas análises químicas e microbiológicas e ensaios de toxicidade por meio da análise macroscópicas das sementes. As análises químicas demonstraram maior redução da matéria orgânica para o LE e ao menos um macronutriente de cada amostra, em contrapartida houve aumento de micronutrientes, com destaque ao solo agrícola que apresentou maior disponibilidade de nutrientes em comparação ao solo *in natura*. As análises microbiológicas indicam elevada concentração de Unidades Formadoras de Colônias (UFCs) de bactérias no período inicial (T0) e predominância de UFCs de fungos em (T2). Os resultados dos ensaios de toxicidade mostram redução na toxicidade das unidades experimentais no período (T1), as amostras associadas ao solo agrícola apresentaram os melhores resultados de detoxificação. Com o trabalho foi concluído que o processo de biorremediação utilizando o solo como agente bioestimulante é promissor.

Palavras chaves: Ensaios de toxicidade; biorremediação; solo *in natura*; solo agrícola.

ABSTRACT

LARA, Beatriz Belchor. Evaluation of detoxification potential of sewage sludge and soil associations through bioassays with *Allium cepa*. 2022. 64 p. Course Conclusion work (Bachelor of Environmental Engineering). – Environmental Engineering Graduation, Federal Technological University of Parana (UTFPR). Londrina, 2022.

Ensuring an environmentally appropriate disposal of the LE is of paramount importance, considering that although it is made up of organic matter and nutrients, pathogenic microorganisms and toxic metals are found in its composition. Through the bioremediation technique, it is possible to minimize the toxicity of a compound using a biostimulant agent and the microorganisms present in the medium. Tests with *Allium cepa* seeds have proven to be an efficient bioassay, as they are excellent indicators of cytogenotoxic agents. The objective of this work was to study the LE detoxification process, using agricultural soil and soil in natura as bioremediating agents, evaluating the toxicity potential of the combinations of LE + soil in the proportions (1:1) and (1:3) in the periods (T0) before treatment and (T1) post-bioremediation through bioassays with onion seeds (*Allium cepa*). Chemical and microbiological analyzes and toxicity tests were carried out through macroscopic analysis of the seeds. Chemical analyzes required a greater reduction of organic matter for LE and at least one macronutrient from each sample, in comparison there was an increase in micronutrients, with emphasis on agricultural soil that presented greater availability of nutrients compared to soil in natura. Microbiological analyzes show a high concentration of Colony Forming Units (CFUs) of bacteria in the initial period (T0) and predominance of CFUs of fungi in (T2). The results of the toxicity tests show a reduction in the toxicity of the experimental units in the period (T1), as the association with the agricultural soil showed the best detoxification results. With the work it was concluded that the bioremediation process using the soil as a biostimulant agent is promising.

Keywords: Toxicity assays; bioremediation; sleep *in natura*; agricultural soil.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Leitões de secagem da ETE-sul da SANEPAR no município de Londrina-PR	23
Figura 2: Localização dos pontos de coleta dos solos agrícola e <i>in natura</i> na Fazenda Carambola no município de Jaguapitã-PR.....	24
Figura 3: Áreas de coleta de solo <i>in natura</i> e solo agrícola nas propriedades da Fazenda Carambola no município de Jaguapitã-PR.....	25
Figura 4: Preparação dos solos <i>in natura</i> e agrícola.....	25
Figura 5: Montagem das associações de LE, solo agrícola e <i>in natura</i> para processo de biorremediação	28
Figura 6: Representação da técnica de diluição em série e placas de Petri inoculadas com as diluições de 10^{-1} , 10^{-3} , 10^{-5}	30
Figura 7: Ensaio microbiológico de bactérias e fungos para contagem padrão em placa	31
Figura 8: Procedimentos de determinação de base seca	33
Figura 9: Obtenção do extrato solubilizado das amostras de LE, solo agrícola, solo <i>in natura</i> e suas respectivas associações	34
Figura 10: Procedimento de preparação de placas de Petri para ensaios de toxicidade	35
Figura 11: Média e desvio padrão das Unidades Formadoras de Colônias (UFCs) de bactérias por grama de cada unidade experimental para o período T0 e T1	42
Figura 12: Média e desvio padrão de Unidades Formadoras de Colônia (UFCs) de fungos por grama de cada unidade experimental para o período T0 e T1 ...	43
Figura 13: Representação das placas inoculadas com bactérias nos períodos T0 e T1 das unidades experimentais	44
Figura 14: Representação das placas inoculadas com fungos nos períodos T0 e T1 das unidades experimentais	45
Figura 15: Porcentagem de inibição do crescimento da radícula das sementes de <i>Allium cepa</i> expostas às unidades experimentais em T0 e T1	48
Figura 16: Gráfico box plot do índice de germinação de sementes de <i>Allium cepa</i> das unidades experimentais no período T0 e T1	49
Figura 17: Gráfico box plot do comprimento (cm) das radículas de <i>Allium cepa</i> das unidades experimentais no período T0 e T1	50
Figura 18: Resultados dos índices de Germinação Residual Normalizado (IGN) das unidades experimentais em T0 e T1	51
Figura 19: Resultados do índice de Alongamento Radial Residual Normalizado (IER) das unidades experimentais em T0 e T1.....	52

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Código de identificação das unidades experimentais de acordo com as associações de LE, solo in natura e solo agrícola	27
Quadro 2: Análise química das unidades experimentais realizadas pelo Instituto de Tecnologia e Laboratórios (ITL)	29
Quadro 3: Fórmulas para o cálculo dos índices macroscópicos	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Resultado das análises químicas: micronutrientes das unidades experimentais no período T0 e T1	38
Tabela 2: Resultados das análises químicas: macronutrientes das unidades experimentais no período T0 e T1	40
Tabela 3: Resultados das análises químicas: reações das unidades experimentais no período T0 e T1	41
Tabela 4: Resultados dos índices de toxicidade para os períodos T0 e T1	46

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	10
2.	OBJETIVO	13
2.1	Objetivo geral	13
2.2	Objetivos específicos	13
3.	REFERENCIAL TEÓRICO	14
3.1	Tratamento de Esgoto Sanitário e Geração de Lodo	14
3.2	Lodos de Esgoto Sanitário	15
3.3	Biorremediação	17
3.4	Solo agrícola e <i>in natura</i>	18
3.5	Aplicação e uso do Biossólido Solo	20
4.	MATERIAL E MÉTODOS	23
4.1	Coletas de Lodo de Esgoto (LE), Solo Agrícola e <i>in natura</i>	23
4.2	Preparo das unidades experimentais	26
4.3	Análises químicas, microbiológicas e ensaios de toxicidade das unidades experimentais	28
4.3.1	Análises químicas dos Solos, LE e associações	28
4.3.2	Análise microbiológica	29
4.3.3	Ensaio de toxicidade	32
4.3.3.1	Determinação da base seca para preparação do solubilizado	32
4.3.3.2	Obtenção do extrato solubilizado	33
4.3.3.3	Ensaio de toxicidade com sementes de <i>Allium cepa</i>	34
4.4	Avaliações Estatísticas	37
5.	RESULTADOS	38
5.1	Análises Químicas	38
5.2	Análises Microbiológicas	41
5.3	Ensaio de Toxicidade	46
6.	CONCLUSÃO	53
	REFERÊNCIAS	54

1. INTRODUÇÃO

O constante crescimento populacional e o desenvolvimento das cidades vêm aumentando gradativamente a demanda por serviços de saneamento básico (ZAGALLO, 2018), que são caracterizados, no Brasil, por meio da Lei nº 11.445 de 2007, que trata das Diretrizes Nacionais para o Saneamento Básico, como um conjunto de serviços públicos, entre eles: o abastecimento de água, esgotamento sanitário, manejo de resíduos sólidos, drenagem e manejo de águas pluviais. Assim como, também é regido pela Lei Federal nº 14.026 de 2020, Novo Marco do Saneamento, que altera e complementa as demais leis estruturais do saneamento básico.

Levando em consideração apenas a demanda pelos serviços de esgotamento sanitário, a disposição por novas tecnologias, visando melhorias e adequações no tratamento de esgoto sanitário, são primordiais para assegurar uma qualidade de vida minimamente aceitável a população (ZAGALLO, 2018). Embora, apenas 50,8% dos esgotos gerados em todo o país sejam tratados (SNIS, 2020), a grande quantidade de lodo final gerado nas Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs) é mais uma problemática que necessita de atenção.

O Lodo de Esgoto (LE) é gerado ao longo dos processos de tratamento primário e secundário do esgoto sanitário. É um subproduto do tratamento rico em micronutrientes e macronutrientes, como: fósforo, nitrogênio, magnésio, cálcio, entre outros (EMBRAPA, 2018). Embora existam vários processos de tratamento, todos os tratamentos biológicos geram lodo. No tratamento primário, o lodo gerado é composto pelos sólidos sedimentáveis, presentes no esgoto bruto; já no tratamento secundário ou também chamado tratamento biológico, o lodo é composto, principalmente, por biomassa, sendo sua composição predominantemente orgânica (EM et al., 2018).

O problema está em sua composição variável, o que o torna um desafio quando se trata de sua disposição final. São múltiplas as limitações, desde a localização adequada para destinação do resíduo, aspectos de ordem ambiental e sanitária e o elevado custo de operacionalização (BATISTA, 2015). Estima-se que em média são produzidos cerca de 17,5 kg/ano de lodo seco por habitante, o que equivale a 24 toneladas de lodo por dia com uma concentração de sólidos de 20% para cada 100.000 habitantes (MAZINI, 2016).

De acordo com a Resolução CONAMA nº 498 de 2020, o uso do lodo de esgoto em solos é considerado uma alternativa ambientalmente adequada para destinação e se enquadra nos princípios de reciclagem segundo a Lei nº 12.305, de 2010. Portanto, como um meio de destinação mais nobre, o uso do lodo de esgoto como insumo agrícola, vem se tornando uma prática de grande interesse para do setor de saneamento (BATISTA, 2015; DE ABREU, 2017; ZAVELINSKI, 2019). Segundo Lara et. al. (1999), as características do lodo o tornam um excelente bio sólido, desde que atenda as condições mínimas com relação à concentração de patógenos e metais tóxicos, podendo então, contribuir para a melhoria das práticas agrícolas, bem como na redução do uso de fertilizantes industriais (SOMMAGGIO, 2016).

O uso do LE, sem antes passar por processos que diminuam sua toxicidade, pode causar problemas quando aplicado diretamente ao solo. Dessa forma, o processo de biorremediação, é uma das alternativas de tratamento prévio, minimizando sua toxicidade e permitindo o uso seguro do bio sólido (SOMMAGGIO, 2016). O processo de biorremediação ocorre por meio de microrganismos que tem o potencial de biodegradar poluentes de uma matriz contaminada, convertendo em um composto inofensivo (BERTICELLI et al., 2016).

Algumas técnicas utilizadas no processo de biorremediação como compostagem, bioestimulação, bioaugmentação, entre outras, são capazes de tornar um composto menos tóxico, melhorando a eficiência na degradação destes por meio da estimulação do metabolismo microbiano presente no próprio ambiente (SOMMAGGIO, 2016). Estudos de Mazzeo et. al., (2015) e Santos (2018) mostram que após o processo de biorremediação, a associação do LE ao solo apresentou significativa detoxicação. Bem como, apresentam uma alternativa viável e segura do uso do LE em atividades agrícolas. Para tal finalidade, a realização de bioensaios se tornam essenciais como importante indicador de possíveis poluentes e impactos ambientais (SANTOS, 2018).

Um bioensaio que tem se mostrado eficiente na determinação de toxicidade, são testes realizados com cebola (*Allium cepa*) (OLIVEIRA et. al., 2021), visto que, segundo Leme e Marin-Morales (2009), as plantas, são ótimas identificadoras de agentes citogenotóxicos, devido a sua alta sensibilidade, e dessa forma podem ser consideradas ótimas bioindicadoras de toxicidade.

Considerando a permanente produção de LE e seus impactos negativos sobre o meio ambiente, torna-se essencial o desenvolvimento de estudos e novas tecnologias que permitam sua descontaminação, garantindo uma destinação mais nobre e a reutilização segura do resíduo, sob o ponto de vista ambiental e econômico. Neste contexto, foi avaliado no presente trabalho o potencial de detoxificação do LE, por meio do processo de biorremediação, avaliando o potencial do solo como agente bioestimulante na redução da toxicidade do composto por meio de composições de LE + solo.

2. OBJETIVO

2.1 Objetivo geral

Estudar a detoxificação do LE utilizando processo de biorremediação por meio da adição de solo como agente bioestimulante.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar o potencial toxicológico do LE puro, solo agrícola, solo *in natura* e das misturas do LE com o solo agrícola e *in natura*, por meio de análises macroscópicas, teste de fitotoxicidade utilizando *Allium cepa* mediante análises dos índices de germinação, crescimento e alongamento radial;
- Comparar a composição de macro e micronutrientes presentes no lodo de esgoto, solo agrícola e solo *in natura* e suas respectivas associações, antes e após o processo de detoxificação.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Tratamento de Esgoto Sanitário e Geração de Lodo

As demandas na melhoria dos processos de tratamento de esgoto e a ampliação do saneamento básico são demandas constantes devido ao aumento populacional (ZAGALLO, 2018). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), o saneamento básico está intimamente relacionado aos fatores físicos que interferem no bem estar e na saúde da população (RIBEIRO; ROOKE, 2010). A Lei nº 11.445 de 2007, divide o saneamento básico em abastecimento de água, esgotamento sanitário, manejo de resíduos sólidos, drenagem e manejo de águas pluviais.

Segundo dados da Agência Nacional de Águas – ANA (2020), cerca de 900 estações de tratamento de esgoto doméstico foram implantadas no Brasil entre os anos de 2013 a 2019. Dados mais recentes segundo o Ministério do Desenvolvimento Regional (2021) apontam um crescimento de 4% no ano de 2020 no atendimento por redes de esgotamento em relação aos números de 2019. Já com respeito ao tratamento, cerca de 79,8% do esgoto coletado é tratado antes de seu lançamento em corpo receptor.

Dados divulgados pelo Ministério do Desenvolvimento Regional – MDR (2021), registram que, em 2020, foram construídas cerca de 362,4 mil quilômetros de rede coletora de esgoto doméstico, as quais atendem 55,0% da população total do país, havendo um acréscimo de 2,3% em comparação ao ano anterior. Apesar disso, esses números representam apenas pouco mais da metade da população no país com acesso a rede coletora de esgotos.

O tratamento de esgoto doméstico é extremamente importante para preservação dos recursos naturais, bem como assegura melhor qualidade de vida e a prevenção do surgimento de doenças (OLIVEIRA, 2006).

No Brasil os métodos para o tratamento de esgotos domésticos mais utilizados, são: tratamento por lodos ativados, processo em que uma massa de microrganismos aeróbios consomem a matéria orgânica, nutrientes e fazem a remoção de sólidos presentes no esgoto; lagoas de estabilização, que possuem diversas variantes, como: facultativa, aerada, anaeróbia, de maturação, de polimento, além da possível conjugação entre elas em um mesmo sistema de

tratamento; tratamento anaeróbio, que se divide em reator UASB e RAFA (UFMG, 2019).

Em geral, os processos de tratamentos têm como principais objetivos a remoção de matéria orgânica, nutrientes, sólidos em suspensão e organismos patogênicos, de modo que a disposição final do esgoto não cause danos ao meio ambiente (MICHELAM, 2007). O processo de tratamento pode ser composto por diferentes fases: preliminar, primária, secundária e terciária, caso seja necessário. No Brasil, pouquíssimas estações de tratamento adotam o nível terciário, fazendo com que o nível secundário seja o nível de tratamento mais utilizado (AMBIENTAL, 2008).

Considerando apenas os serviços de esgotamento sanitário, o aumento em sua demanda, tem elevada significância quando se trata dos lodos gerados nas diferentes etapas do processo de tratamento, já que por consequência, tem-se um acréscimo na produção destes (JUNIOR, 2019). Segundo Iwaki (2018) embora o LE seja produzido em baixa quantidade e represente entre 1% a 2% do esgoto tratado, seus custos operacionais nas Estações de Tratamento de Esgoto podem chegar em torno de 60%, tornando o processo para destinação final deste subproduto, um constante desafio para as empresas de saneamento (BITTENCOURT; AISSE; SERRAT, 2017).

Portanto, o alto custo para as estações de tratamento (ETEs) no gerenciamento e destinação adequada do resíduo, torna seu uso em práticas agrícolas uma alternativa promissora (BARBOSA, 2016). Segundo Sommaggio (2016), a utilização do Lodo de Esgoto na agricultura, pode trazer benefícios quando submetido a tratamentos adequados que reduzam sua toxicidade e contaminação biológica.

3.2 Lodos de Esgoto Sanitário

Definido segundo a Resolução nº 375/2006, como resíduo gerado nos processos de tratamento de esgoto sanitário, o lodo de esgoto é um subproduto rico em matéria orgânica, nutrientes e com alto potencial poluidor, resultante do processo de tratamento de esgoto (BRASIL, 2006). As características do lodo gerado são definidas de acordo com a qualidade do esgoto efluente, o tipo de tratamento adotado e a eficiência operacional da estação de tratamento (BATISTA, 2015).

Segundo Bettiol e Camargo (2006) a composição do LE varia muito de acordo com sua origem, podendo ser proveniente de áreas industriais ou residenciais. Em geral, pode apresentar macronutrientes, micronutrientes, compostos orgânicos persistentes e tóxicos, patógenos, e metais tóxicos, como Hg, Cr, Pb e Cd. Sua composição contém aproximadamente 40% de matéria orgânica e pode apresentar porcentagens entre 2% de fósforo a 4% de nitrogênio (OLIVEIRA, 2000; SANTOS, 2018).

Outro fator relevante é a composição microbiológica do lodo de esgoto, que está diretamente relacionada com sua procedência, sendo de origem doméstica ou industrial, suas características dependem das condições de saneamento básico, da saúde da população e do tipo de tratamento aplicado ao esgoto sanitário. A diversidade dos microrganismos presentes no lodo de esgoto é variável, podendo ser encontrados saprófitas, comensais, parasitas e simbioses. Dos microrganismos que podem afetar a saúde humana e são denominados microrganismos patogênicos, ganham destaque protozoários, helmintos, vírus, bactérias e fungos (FARIA, 2018; PEDROSA et al, 2019).

O termo biossólido utilizado na denominação do lodo de esgoto sanitário, surgiu devido ao processo de tratamento biológico do esgoto, o qual tem como produto final o denominado lodo biológico ou lodo secundário, formado a partir da matéria orgânica estabilizada (PEDROZA et al, 2019).

Devido à composição diversificada do lodo, sua destinação final deve ser uma preocupação de toda a população e não somente dos administradores públicos, de modo que o resíduo deixe de ser um problema, mas, se torne um meio ambientalmente correto de mover a economia (BOINA, 2012).

Entre os métodos de disposição final mais empregados para o lodo de Estações de Tratamento de Esgoto, destacam-se sua incineração, o descarte em aterros sanitários, sua disposição em áreas a serem recuperadas, áreas agrícolas, fabricação de tijolos, cimento, compostagem, solo sintético e em alguns casos o descarte indevido em corpos hídricos (BORBOSA, 2018; GOMES, 2019; FIGUEIREDO, 2019).

Desse modo, o gerenciamento adequado de disposição e tratamento do lodo de esgoto é fundamental na minimização de problemas ambientais como o lançamento de contaminantes e patógenos no meio ambiente (CAMPOS, 2017). Segundo De Abreu (2017) quando se trata de reciclagem do lodo de esgoto, seu uso

na agricultura é a metodologia mais empregada, seguido do uso florestal e recuperação de áreas degradadas. Isso se deve pela dispensa no uso de tecnologias avançadas, bem como, proporciona uma destinação mais nobre do bio-sólido em comparação com as demais destinações adotadas.

3.3 Biorremediação

A biorremediação ou também chamada de biotecnologia ambiental, é uma forma de minimizar ou até mesmo sanar impactos antrópicos provocados ao meio ambiente, visando sua reestruturação e a restauração dos habitats naturais (CARNEIRO & GARIGLIO, 2010). Santos (2018) define o conceito de biorremediação como o processo pelo qual o resíduo se torna um componente inócuo mediante a biodegradação dos poluentes por meio dos microrganismos presentes no agente bioestimulante. Desta forma, a metodologia pode ser desenvolvida e aplicada por meio da utilização de microrganismos ou de plantas, ambas capazes de fazer a detoxificação ou remoção de poluentes dispostos no meio ambiente (OLIVEIRA NETTO et al., 2015).

O processo de biorremediação possui vasta aplicabilidade, dependendo apenas do tipo de contaminante e das condições ambientais do local a ser remediado (CARNEIRO & GARIGLIO, 2010). Dessa forma, se divide em duas técnicas diferentes: *in situ* e *ex situ*, ambas com metodologias distintas. A biorremediação *in situ* é realizada no próprio local de estudo e pode ser separada em três processos: biorremediação natural, bioestimulação e bioaumento, tendo como característica importante, o baixo custo de implementação e distúrbios ambientais; Já na biorremediação *ex situ* o contaminante é tratado fora do local de origem sendo aplicada para o tratamento de solos, águas residuárias e subterrâneas. É dividida em compostagem, uso de biorreatores e landfarming (LACERDA; NAVONI; AMARAL, 2019).

Uma das metodologias de biorremediação do solo é a técnica de *landfarming*, processo no qual o resíduo contaminado é misturado à camada superficial do solo, viabilizando a redução de possíveis contaminantes presentes no composto, por meio da ação dos próprios microrganismos presentes no solo. Para que se obtenha melhor eficiência no processo, é necessária a disposição de certos nutrientes, como:

nitrogênio, fósforo e potássio, importantes para o metabolismo dos microrganismos (SILVA, 2009; LACERDA, NAVONI, AMARAL, 2019; FERNANDES & SILVA, 2021).

Segundo Colla (2012) o sucesso no processo de biorremediação depende diretamente de condições bióticas e abióticas, assim como, fatores ligados ao clima, geologia e ecologia do local. Quando se tratam de técnicas de biorremediação em solos, suas propriedades e a população de microrganismos presentes têm significativa influencia no processo.

A microbiota presente no solo é capaz de degradar vários componentes que compõem a matéria orgânica, elas catabolizam as moléculas dos contaminantes, transformando-os em compostos mineralizados, água e gás carbônico ou em substâncias menos nocivas quando se tratam de substâncias tóxicas (CARDOSO & ANDREOTE, 2016).

Os processos de biodegradação, transformação, diluição, dispersão e volatilização, segundo Mazzeo, Fernandes, Marin-Morales (2016), são processos de atenuação natural, ou seja, redução de contaminantes do ambiente que ocorrem na própria natureza e que garantem uma melhor estabilidade tanto química quanto biológica do lodo de esgoto, quando este tem como sua destinação final a aplicação no solo, prevenindo possíveis impactos ambientais. Isso torna esta metodologia uma ótima alternativa de detoxificação do biossólido.

A Resolução nº 375/2006, define estabilização como processo que leva os lodos de esgoto destinados para o uso agrícola a não apresentarem potencial de geração de odores e de atratividade de vetores, mesmo quando reumificados. Dessa forma, o lodo de esgoto estabilizado tem sido destinado como fertilizante agrícola para sua utilização em diferentes culturas como no cultivo da soja, milho, trigo. (INÁCIO & RODRIGUES, 2004; MONTEIRO, 2009; DA SILVA, 2012; DELARICA, 2015).

3.4 Solo agrícola e *in natura*

Os solos apresentam diferentes características distribuídas de forma variável tanto em sua superfície como em profundidade, compreendendo variações físicas, químicas, biológicas e morfológicas. Quanto às características químicas dos solos, a diversidade de micro e macro nutrientes é específica de cada solo, podendo sofrer alterações dependendo da disponibilidade de matéria orgânica e da aplicação de

fertilizantes. Dessa forma, os solos agricultáveis possuem uma variabilidade maior de nutrientes do que solos sob vegetação natural e que não sofreram ações antrópicas (MENDES, 2007; LEAL et al, 2021).

O uso de fertilizantes nos solos agrícolas tem o papel importante de fornecer ou compensar os nutrientes suficientes para o bom desenvolvimento da planta ou até mesmo na produtividade de uma lavoura (CIRINO et al, 2021). Neste contexto, é considerado fertilizante: substância seja natural, sintética, mineral ou orgânica que forneça em sua composição no mínimo 5% ou mais dos macronutrientes primários, ou seja, os nutrientes que a planta necessita em maior porção, sendo estes: Nitrogênio (N), Fósforo (P) e Potássio (K). Há outros dezesseis elementos importantes na composição dos solos para o desenvolvimento das plantas, sendo classificados como macronutrientes (C, H, O, N, P, K, Ca, Mg, S,) e micronutrientes (B, Cl, Cu, Fe, Mn, Mo, Zn, Co, Si) (MULLER, 2019).

Segundo Muller (2019) o Brasil é o quarto país que apresenta o maior consumo de fertilizantes agrícolas chegando à estimativa de 163,7 Kg por hectare de terra. E embora seu uso seja fundamental no fornecimento de nutrientes garantindo a viabilidade do plantio, seu uso em excesso ou mal planejado, traz consequências como a acidificação do solo, contaminação das águas superficiais, do lençol freático, toxicidade aos microrganismos presentes no meio, contaminação por metais pesados ou em casos mais extremos, pode levar a inativação de áreas agrícolas (SOUZA, 2018; CIRINO et. al, 2021).

A manutenção dos solos depende diretamente das populações de microrganismos que coexistem em quantidade e diversidade que variam de acordo com fatores como pH, umidade, temperatura e a presença de outros componentes ou substâncias presentes no solo. Esses são determinantes para as atividades microbianas, uma vez que estas tem um papel fundamental na manutenção do equilíbrio ecológico desempenhando funções importantes na ciclagem de nutrientes, decomposição de matéria orgânica, fixação de N₂, nitrificação e produção de compostos essenciais para o desenvolvimento de outros organismos (PARRÉ, 2020; LEAL et al, 2021).

Os microrganismos presentes no solo são ótimos indicadores das condições ambientais e biológicas, possuindo potenciais biotecnológicos como bioinoculantes, controle biológico, produção de fármacos e biorremediação que agregam no manejo

dos solos, da cobertura vegetal e no desempenho da produtividade agrícola (LEAL et al, 2021).

3.5 Aplicação e uso do Biossólido Solo

Uma alternativa sustentável e ambientalmente adequada para a destinação do lodo de esgoto tem sido seu uso como fertilizante agrícola, alternativa que vem se tornando cada vez mais frequente e tem sido o foco de inúmeras pesquisas (DA SILVA, 2012; SOMMAGGIO, 2016; DE ABREU, 2017; RODRIGUES, 2019).

A disposição do lodo de esgoto no solo contribui para a conclusão do ciclo dos elementos químicos, já que promove o retorno de nutrientes para esse meio (FIGUEIREDO, 2019). Segundo Da Silva (2017), a presença de elementos essenciais ao desenvolvimento das plantas, como fósforo e nitrogênio, bem como o alto teor de matéria orgânica presente na composição do lodo de esgoto, torna viável seu uso como insumo agrícola.

Dessa forma, além de tornar ótima a estrutura do solo, também melhora a porosidade, densidade, aeração e drenagem, capacidade de troca catiônica e de água, a fauna e as comunidades microbianas do solo (LU; HE; STOFFELLA, 2012), tornando o composto, uma ótima alternativa para a substituição de fertilizantes químicos, proporcionando a redução de custos na produção (DE ABREU, 2017).

Segundo estudo realizado por Martins, De Camargo, Bataglia (2005) o uso do lodo de esgoto como insumo agrícola na cultura do café, mostrou melhorias na produtividade, bem como não houve alterações nas características qualitativas e sensoriais da bebida. O lodo de esgoto também pode ser utilizado na fruticultura, como exemplos na produção de laranja, mamão e banana. Bem como na agricultura, no cultivo de trigo e soja (MELO; LIGO, 2006; DA SILVA, 2012; LAMBERT, 2013; BOHM et al, 2014; FREITAS et al, 2017).

A Resolução CONAMA nº 498 de 19 de agosto de 2020, que define critérios e procedimentos para a produção e aplicação de biossólidos em solo e dá outras providências, no Art. 8º impõem características mínimas para o uso do biossólido em solos, como: potencial agronômico, redução de atratividade de vetores, substâncias químicas e qualidade microbiológica.

Segundo a mesma Resolução supracitada, no Art. 9º são estabelecidas classificações para o biossólido a ser destinado ao solo, o qual deve se enquadrar

em Classe A ou Classe B, de acordo com os requisitos definidos no artigo. Segundo § 1º e § 2º para que o biossólido se enquadre em Classe A, precisa atender o limite máximo de 10^3 *Escherichia coli* por grama de sólidos totais. Já para o enquadramento em Classe B, deve atender ao limite máximo de 10^6 *Escherichia coli* por grama de sólidos totais. Ambas as classes também devem ser resultantes de um dos processos de redução de patógenos estabelecidos no mesmo artigo.

Outros critérios são estabelecidos na Resolução nº 375 de 29 de agosto de 2006, que “define critérios e procedimentos para o uso agrícola de lodos de esgoto gerado em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados e dá outras providências”. Estabelece no Art.11 os requisitos mínimos de qualidade do lodo de esgoto e seus produtos derivados destinados à agricultura, respeitando os limites máximos de concentrações das seguintes substâncias: arsênio, bário, cádmio, chumbo, cobre, cromo, mercúrio, molibdênio, níquel, selênio e zinco. Bem como, estabelece limites para *Coliformes Termotolerantes*, ovos de helmintos, *Salmonella* e vírus.

3.6 Testes de Toxicidade com *Allium cepa*

Costa et. al. (2008), define testes de toxicidade como ensaios laboratoriais que têm por objetivo estimar os impactos e efeitos tóxicos de substâncias potencialmente poluidoras por meio de organismos-testes expostos ao contaminante sob diferentes condições e concentrações.

Os testes de toxicidade utilizando diferentes agentes bioindicadores como microrganismos, animais e vegetais, têm sido eficiente na identificação e controle de substâncias mutagênicas e tóxicas avaliando seus efeitos no meio ambiente e sobre os organismos do meio (MARTINS, 2015).

O organismo teste *Allium cepa* é considerado eficiente bioindicador para avaliação de possíveis contaminantes ambientais, por meio da avaliação de efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos em suas raízes, derivadas de um composto químico. Caracterizada como um vegetal superior, possui disponibilidade de cultivo durante todo o ano sendo tolerante a condições diferentes de cultivos, além de suas características de cinética celular permitirem um rápido crescimento de suas raízes e uma grande taxa de divisão celular, possibilitando a visualização de anormalidades

nas células de suas raízes quando expostas a substâncias tóxicas presentes no solo (MAZIVIERO, 2011; SOMMAGGIO, 2016; PARVAN et al, 2020).

Uma metodologia que permite a avaliação da toxicidade é por meio de análises macroscópicas das sementes, segundo Leles (2017); Bagur-González et al. (2011), quaisquer alterações nos processos fisiológicos, ocasionados por agentes externos potencialmente tóxicos, podem resultar em alterações no processo de germinação e desenvolvimento da plântula como: inibição da germinação e retardamento no crescimento, medido por meio do alongamento das radículas. Essa avaliação pode ser feita por meio dos cálculos de germinação relativa de sementes (GRS), crescimento relativo da radícula (CRR), índice de germinação (IG), porcentagem de germinação residual normalizado (IGN) e porcentagem de alongamento radial residual normalizado (IER).

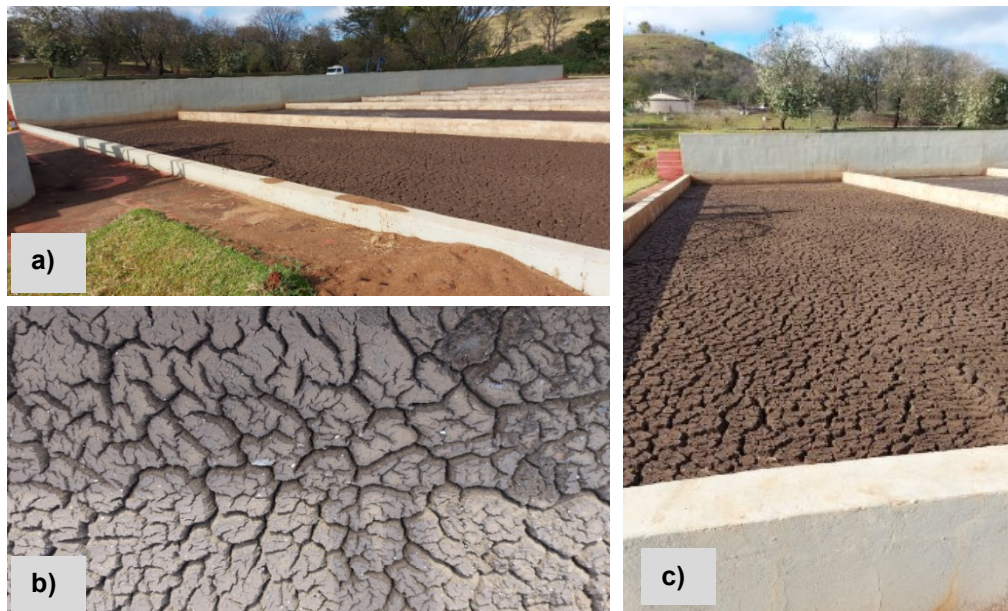
4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Coletas de Lodo de Esgoto (LE), Solo Agrícola e *in natura*

O LE utilizado no presente estudo foi coletado na Estação de Tratamento de Esgoto localizada na região sul (ETE-Sul) localizado no município de Londrina, Paraná, nas seguintes coordenadas geográficas (-23.354048° S; -51.116976° W). A estação pertence à Companhia de Saneamento do Paraná (SANEPAR).

O LE é proveniente do processo de tratamento de esgoto por meio de Reatores Anaeróbios de Leito Fluidizado (RALF), o LE no final do tratamento o lodo é encaminhado para os leitos de secagem (Figura 1) com concentração de 2 a 6% de teor de sólidos e sem passar por processo de estabilização, onde permanece por aproximadamente 25 a 30 dias até atingir concentração do teor de sólidos de 30 a 40%. O LE utilizado no trabalho foi coletado diretamente dos leitos de secagem da ETE.

Figura 1: Leitos de secagem da ETE-sul da SANEPAR no município de Londrina-PR



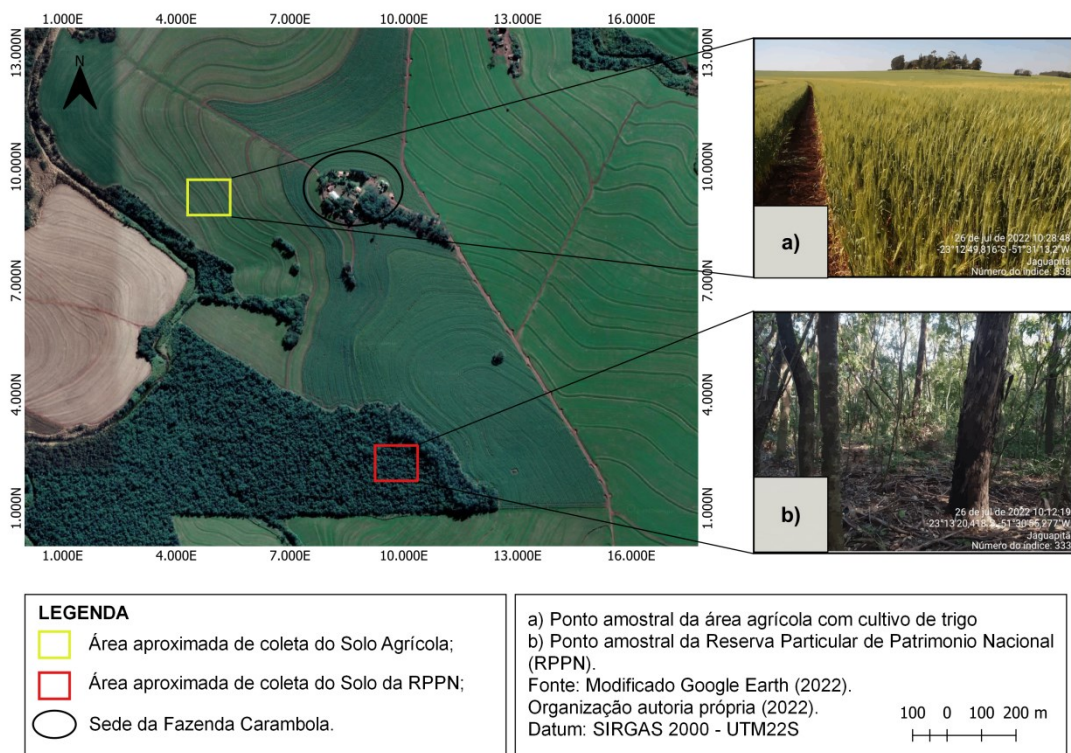
a) Visão lateral dos leitos de secagem na ETE sul; b) Aspecto do lodo de esgoto coletado; c) Leito de secagem de onde foram coletadas as amostras.

Fonte: autoria própria (2022).

Segundo dados da própria ETE-sul, estima-se que em média 3 toneladas de LE provenientes dos leitos de secagem, sejam geradas por ano. O lodo foi coletado e armazenado em sacos de rafia pelos próprios trabalhadores da ETE.

Para estudar o processo de detoxicação do LE, foi utilizado solo de área de floresta (denominado neste trabalho como solo *in natura*) coletado na Reserva Particular de Patrimônio Natural (RPPN) Fazenda Carambola, localizada no Município de Jaguapitã – PR, localizado nas coordenadas (-23.216548°S; -51.515924°W), com área de 129,14 ha (IAT, 2005). Com o mesmo objetivo e comparar se ocorrem diferenças no processo de biorremediação utilizando diferentes solos, também foi utilizado solo agrícola, coletado nas áreas de cultivo da propriedade Fazenda Carambola, que no mês da coleta apresentava como cultura, o trigo (Figura 2).

Figura 2: Localização dos pontos de coleta dos solos agrícola e *in natura* na Fazenda Carambola no município de Jaguapitã-PR

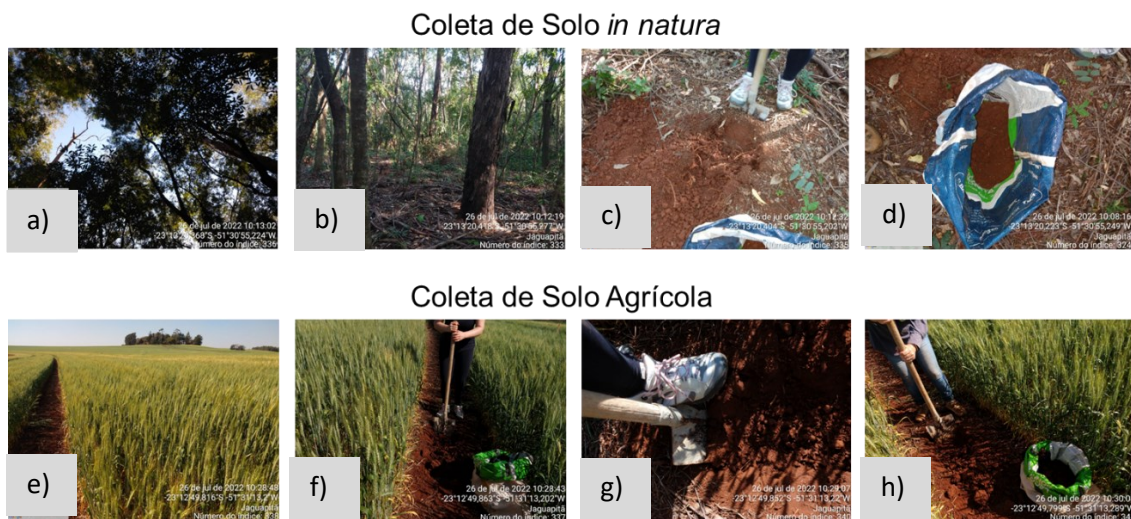


**Fonte: Modificado Google Earth (2022).
 Elaboração: autoria própria (2022).**

Os solos foram coletados segundo o manual de coleta de solos da Embrapa (2006) como pode ser visualizado na Figura 3.

Com o objetivo de manter um padrão de granulometria para os dois tipos de solos, após a coleta o solo *in natura* foi passado em moedor de café para facilitar o peneiramento e em seguida foi passado em peneira de 2,0 mm. Já o solo agrícola, por apresentar uma consistência mais argilosa (maior umidade), foi apenas passado pela peneira de 2,0 mm. A Figura 4 representa o procedimento de preparação dos dois solos.

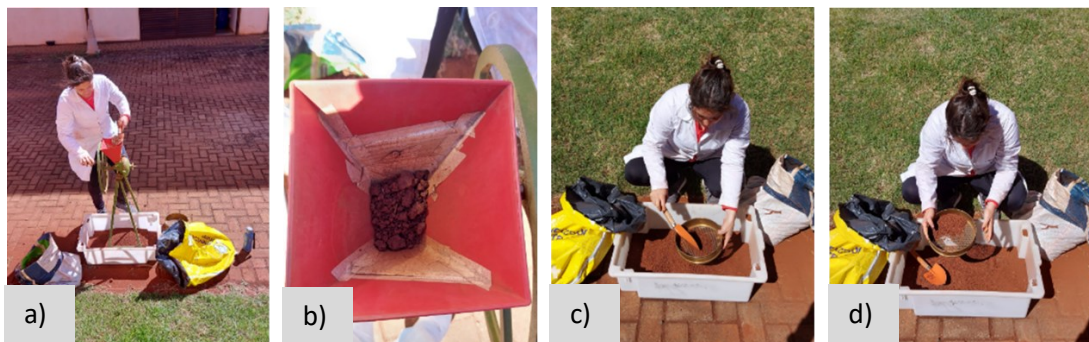
Figura 3: Áreas de coleta de solo *in natura* e solo agrícola nas propriedades da Fazenda Carambola no município de Jaguapitã-PR



a) Detalhe da copa das árvores na área de coleta de solo *in natura* b) Visão da área de coleta de solo *in natura*; c) Procedimento de coleta de solo na RPPN; d) Acondicionamento da amostra de solo *in natura*; e) Área agrícola com cultivo de trigo; f) Área de coleta; g) Coleta do solo agrícola; h) Acondicionamento do solo agrícola.

Fonte: autoria própria (2022).

Figura 4: Preparação dos solos *in natura* e agrícola



a) Moagem da amostra de solo *in natura*; b) Vista superior das características do solo *in natura*; c) e d) Processo de peneiramento do solo *in natura* e solo agrícola, respectivamente.

Fonte: autoria própria (2022).

4.2 Preparo das unidades experimentais

As unidades experimentais foram montadas em frascos de polietileno de alta densidade (PEAD) de 2 L, devido a não alteração de sua composição quando submetidas a agentes químicos, ácidos, sais e alcalis.

Os tratamentos preparados foram:

- LE puro;
- Solo Agrícola;
- Solo *in natura*;
- LE + Solo Agrícola na proporção 3:1 (v/v);
- LE + Solo *in natura* na proporção 3:1 (v/v);
- LE + Solo Agrícola na proporção 1:1 (v/v);
- LE + Solo *in natura* na proporção 1:1 (v/v).

Foram utilizados três frascos (triplicata) para cada tratamento de LE, solo *in natura*, solo agrícola e suas associações, totalizando 21 unidades, todas devidamente identificadas de acordo com a Quadro 1.

As associações de cada tratamento foram misturadas previamente em caixas de PEAD. Todas as amostras foram umedecidas com água destilada até que atingissem umidade entre 40% e 50%, com exceção do LE puro. Após este processo as amostras foram acondicionadas em frascos de 2L, todas contendo o mesmo volume de preenchimento e cada frasco recebeu a devida identificação (Quadro 1). Em seguida foram dispostas de forma randômica e mantidas dentro da Estufa da UTFPR, *Campus* Londrina, em local aberto a temperatura ambiente e protegido de intemperes (ventos, chuva). Os processos de montagem das unidades experimentais estão representados na Figura 5.

Quadro 1: Código de identificação das unidades experimentais de acordo com as associações de LE, solo *in natura* e solo agrícola

Códigos:
L.E (1) – Lodo Esgoto (triplicata 1); L.E (2) – Lodo Esgoto (triplicata 2); L.E (3) – Lodo Esgoto (triplicata 3);
S.A (1) - Solo Agrícola (triplicata 1); S.A (2) – Solo Agrícola (triplicata 2); S.A (3) – Solo Agrícola (triplicata 3);
S.In (1) – Solo <i>In Natura</i> (triplicata 1); S.In (2) – Solo <i>In Natura</i> (triplicata 2); S.In (3) – Solo <i>In Natura</i> (triplicata 3);
S.A + L.E (3:1) (1) – Solo Agrícola + Lodo de Esgoto (triplicata 1); S.A + L.E (3:1) (2) – Solo Agrícola + Lodo de Esgoto (triplicata 2); S.A + L.E (3:1) (3) – Solo Agrícola + Lodo de Esgoto (triplicata 3);
S.In + L.E (3:1) (1) – Solo <i>in natura</i> + Lodo de Esgoto (triplicata 1); S.In + L.E (3:1) (2) – Solo <i>in natura</i> + Lodo de Esgoto (triplicata 2); S.In + L.E (3:1) (3) – Solo <i>in natura</i> + Lodo de Esgoto (triplicata 3);
S.A + L.E (1:1) (1) – Solo Agrícola + Lodo de Esgoto (triplicata 1); S.A + L.E (1:1) (2) – Solo Agrícola + Lodo de Esgoto (triplicata 2); S.A + L.E (1:1) (3) – Solo Agrícola + Lodo de Esgoto (triplicata 3);
S.In + L.E (1:1) (1) – Solo <i>in natura</i> + Lodo de Esgoto (triplicata 1); S.In + L.E (1:1) (2) – Solo <i>in natura</i> + Lodo de Esgoto (triplicata 2); S.In + L.E (1:1) (3) – Solo <i>in natura</i> + Lodo de Esgoto (triplicata 3);

Fonte: autoria própria (2022).

Figura 5: Montagem das associações de LE, solo agrícola e in natura para processo de biorremediação



a) Fragmentação dos torrões de lodo (LE); b) Retirada de resíduos encontrados no meio do lodo de esgoto; c) Representação da medida padrão do solo e lodo para montagem das associações; d) Medição das amostras; e) Mistura de solo e lodo de esgoto para montagem da associação; f) Homogeneização do solo com o lodo; g) Montagem da unidade experimental da associação; h) e i) Disposição das unidades experimentais na estufa da UTFPR.

Fonte: autoria própria (2022).

4.3 Análises químicas, microbiológicas e ensaios de toxicidade das unidades experimentais

Para a realização dos ensaios microbiológicos e de toxicidade e análises químicas foram realizadas coletas das amostras no tempo zero (T0) e após 60 dias do processo de biorremediação (T1).

50g de cada unidade experimental foram coletadas e armazenadas em frascos estéreis para análise microbiológica e 200g para a preparação do solubilizado para os ensaios de toxicidade. Para a realização das análises químicas foram coletados 500g de cada amostra/associação e armazenados em sacos plásticos de 1 Kg e levados para laboratório particular.

4.3.1 Análises químicas dos Solos, LE e associações

Para o solo agrícola, solo *in natura*, lodo de esgoto e suas respectivas associações, foram realizadas análises antes (T0) e depois do processo de

biorremediação (T1) para as determinação dos parâmetros apresentados no Quadro 2, respectivamente. As análises foram realizadas no Instituto de Tecnologia e Laboratórios – ITL, localizado no Município de Londrina – PR.

Quadro 2: Análise química das unidades experimentais realizadas pelo Instituto de Tecnologia e Laboratórios (ITL)

Análises	Parâmetros
Micronutrientes	Cobre (Cu)
	Zinco (Zn)
	Ferro (Fe)
	Manganês (Mn)
	Sódio (Na ⁺)
	Boro (B)
Macronutrientes	Matéria Orgânica
	Carbono (C)
	Nitrogênio Total
	Fósforo (MEHLICH-1)
	Potássio (K ⁺)
	Cálcio (Ca ⁺²)
Reações químicas	Magnésio (Mg ⁺²)
	pH em CaCl ₂
	pH em H ₂ O
	CTC (pH 7,0)
	CTC (Efetiva)

Fonte: Instituto de Tecnologia e Laboratórios (ITL) (2022).
Organização autoria própria (2022).

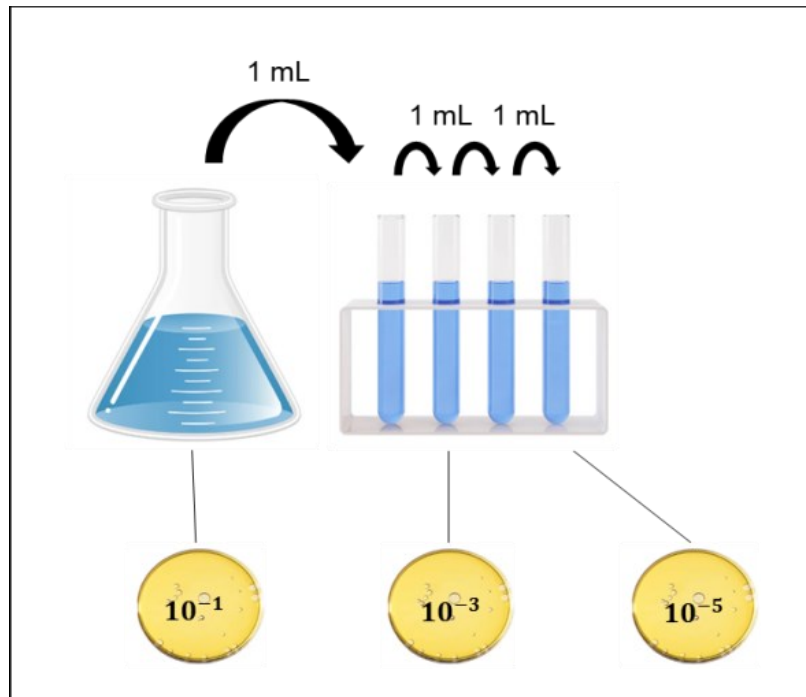
Para as análises de todos os parâmetros foram utilizados os seguintes extratores: Ca, Mg, Al (KCL 1mol L⁻¹); B (BaCl₂); S (Ca(H₂PO₄)₂ 0,01 mol L⁻¹) e P, K, Cu, Zn, Fe, Mn, Na (MEHLICH-1).

4.3.2 Análise microbiológica

As amostras coletadas para a análise microbiológica foram levadas para o laboratório de Microbiologia, onde foi pesado 10g de cada amostra de solo, LE e suas associações e depositadas em Erlenmeyers contendo 90 mL de solução salina (primeira diluição – 10⁻¹) para proceder com as diluições seriadas até 10⁻⁵, seguindo metodologia descrita em Microbiologia Básica (2010).

Placas de Petri devidamente identificadas e contendo meio de cultura estéril Plate Count Agar (PCA) e Sabouraud, para crescimento de bactérias e fungos, respectivamente foram inoculadas com 0,1 mL das soluções com diluições de 10^{-1} , 10^{-3} e 10^{-5} de cada amostra (Figura 6). O procedimento foi realizado em duplicata.

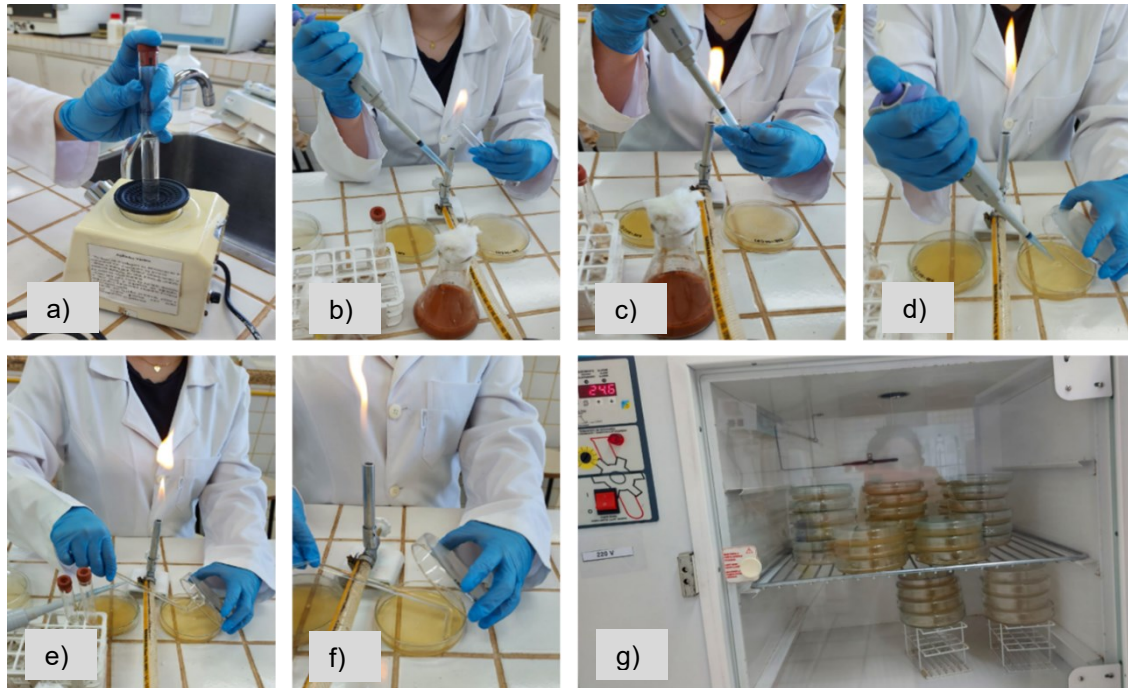
Figura 6: Representação da técnica de diluição em série e placas de Petri inoculadas com as diluições de 10^{-1} , 10^{-3} , 10^{-5} .



Fonte: autoria própria (2022).

Em cada placa a solução foi espalhada por toda a superfície do meio com o auxílio de alça de Drigalski. Após inoculação, as placas de PCA foram incubadas em estufa bacteriológica a 35°C por 24 horas, e as placas de Sabouraud foram incubadas em estufa bacteriológica a 25°C por 72 horas. Os procedimentos de inoculação da solução diluída nas placas de Petri estão representados na Figura 7.

Figura 7: Ensaio microbiológico de bactérias e fungos para contagem padrão em placa



a) Homogeneização da diluição; b) Esterilização da boca do tubo de ensaio; c) Coleta de 0,1 mL da solução diluída; d) Inoculação das placas; e) e f) Espalhamento da solução diluída sobre o meio de cultura; g) Incubação das Placas de Petri.

Fonte: autoria própria (2022).

Após período de incubação, foram feitas análises quantitativas com o objetivo de determinar o número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por mL de cada amostra. Para isso, foram selecionadas as placas que continham entre 30 e 300 colônias, sendo as diluições 10^{-5} , como descrito destas foram contados os números de colônias em cada placa e foi feita a caracterização colonial.

Para se calcular as UFCs presente em cada placa, utilizou-se a Equação 1:

$$UFC = (n^{\circ} \text{ de colônias}) \times 10^{**} \times (\text{diluição utilizada para a contagem}) \text{ Eq. (1)}$$

Onde:

UFC significa Unidade Formadora de Colônia;

10^{**} é o fator de correção utilizado quando a quantidade de amostras inoculadas na placa de Petri foi 0,1 mL.

4.3.3 Ensaio de toxicidade

As amostras provenientes das unidades experimentais (Quadro 1) foram submetidas a análise macroscópica por meio de teste de fitotoxicidade e avaliação dos índices de germinação, crescimento e alongamento radial, utilizando como organismo teste o *Allium cepa*.

As placas de Petri para o ensaio de obtenção da base seca e os tubos Falcon que foram utilizados na fixação das sementes, foram separados e devidamente identificados previamente de acordo com os códigos de cada amostra (Quadro 1).

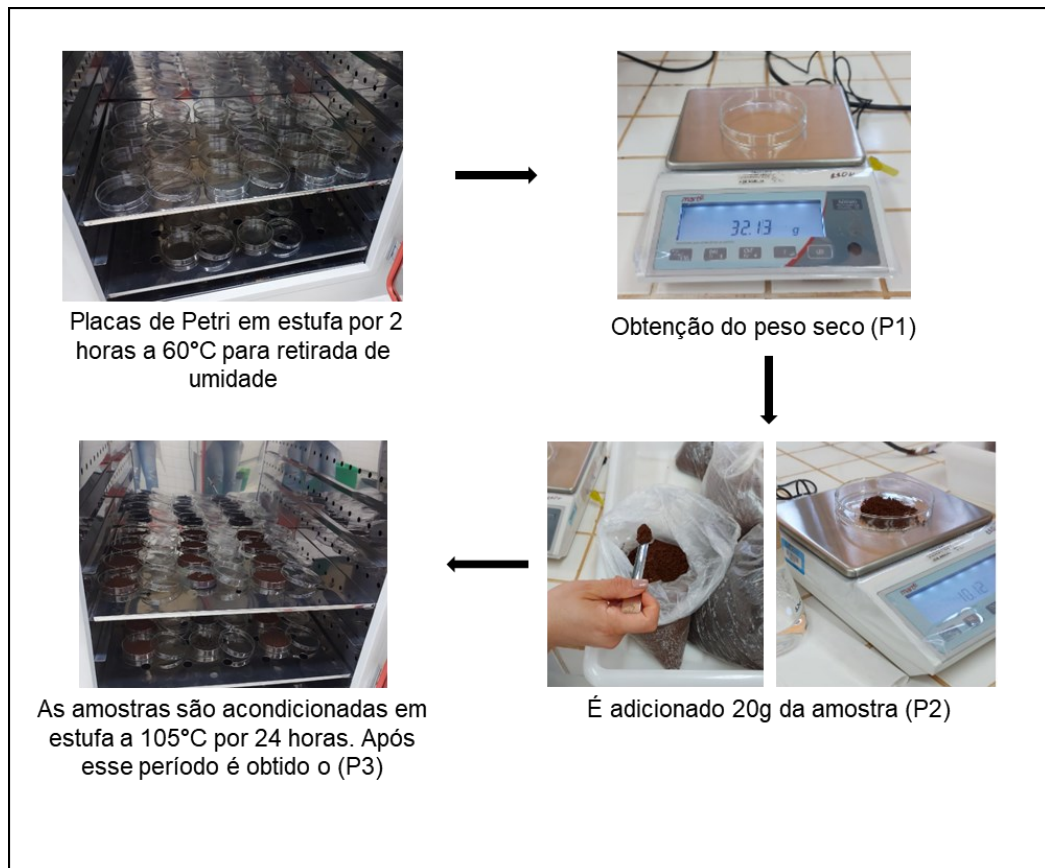
Para a realização dos ensaios de toxicidade as placas de Petri foram forradas com papel filtro, na sequência as placas foram expostas a luz ultravioleta por 15 minutos na capela de fluxo laminar para esterilização do papel filtro.

4.3.3.1 Determinação da base seca para preparação do solubilizado

Foi determinada a base seca das unidades experimentais segundo a norma ABNT NBR 10006:2004, que estabelece que o peso de material a ser solubilizado deve ser calculado em base seca.

As amostras foram pesadas obtendo-se três pesos: (P1) correspondente ao peso da placa de Petri, (P2) ao peso da placa mais 20g da amostra e (P3) ao peso da placa mais o peso da amostra após passar um período de 24 horas em estufa a 105°C (alteração feita a partir da ABNT NBR 10.006:2004, onde a mesma determina que a secagem da amostra seja feita a 42°C). O ensaio foi realizado em triplicata, sendo a média de cada triplicata considerada como o equivalente ao peso seco da amostra. A Figura 8 representa o procedimento de determinação da base seca.

Figura 8: Procedimentos de determinação de base seca



Fonte: autoria própria (2022).

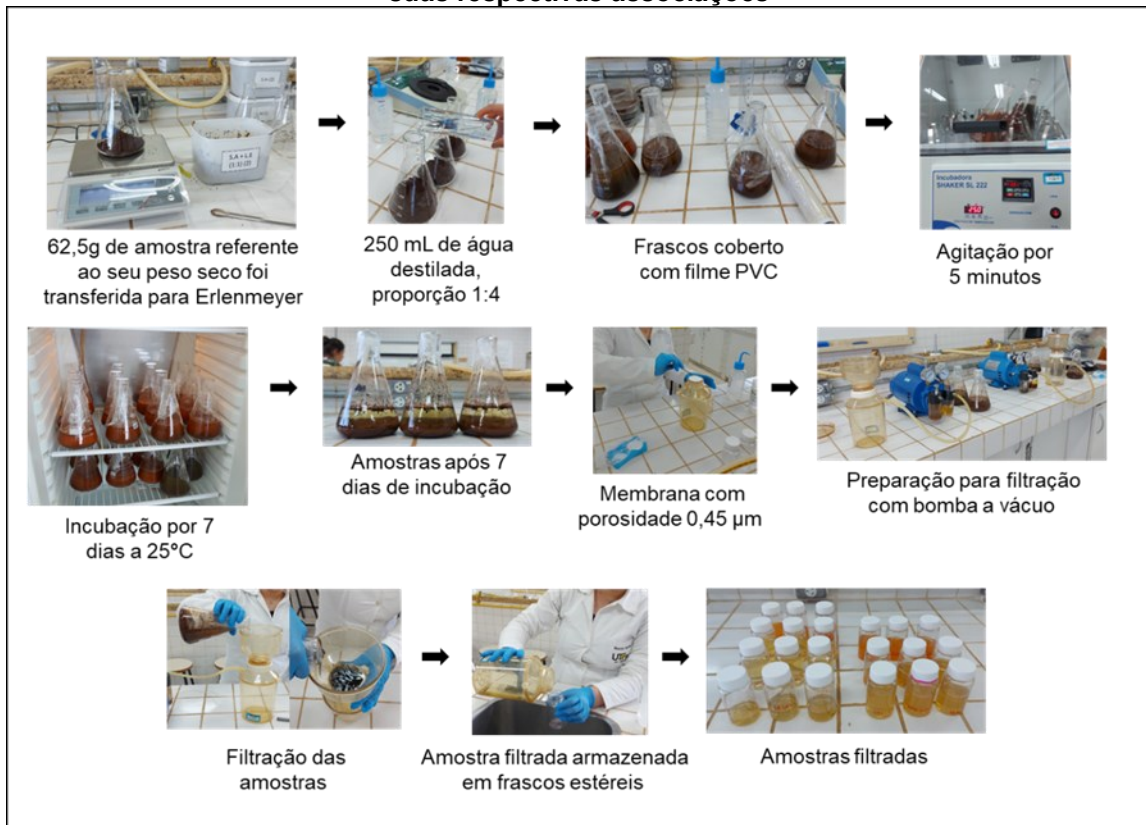
4.3.3.2 Obtenção do extrato solubilizado

Para obtenção do extrato solubilizado, seguiu-se a norma da ABNT NBR 10.006 de 2004, com alterações. 62,5 g de cada amostra referente ao seu peso seco foram transferidas para um frasco (Erlenmeyer) e em seguida foram adicionados 250 mL de água destilada, resultando em uma porção 1:4 g:mL. Em seguida, os frascos foram cobertos com papel filme PVC e agitados por 5 minutos em estufa incubadora Shaker obtendo-se uma mistura homogênea. Após este processo as amostras foram alocadas em estufa incubadora a temperatura de 25°C por 7 (sete) dias.

Passados os dias de incubação, as amostras foram filtradas em membrana com 0,45 um de porosidade e 47 mm (ABNT NBR 10.006:2004), obtendo-se o extrato solubilizado.

Todo o processo de obtenção do extrato solubilizado das unidades experimentais está representado na Figura 9.

Figura 9: Obtenção do extrato solubilizado das amostras de LE, solo agrícola, solo *in natura* e suas respectivas associações



Fonte: autoria própria (2022).

4.3.3.3 Ensaio de toxicidade com sementes de *Allium cepa*

Com base nas metodologias de Sommaggio (2016) e Silva & Tofolo (2017), foram utilizadas sementes de *Allium cepa* para análise da toxicidade do extrato solubilizado das amostras obtidas como descrito no item 5.3.3.2 na concentração de 100%.

Foram adicionadas 10 sementes de *Allium cepa* em placas de Petri sobre o papel filtro. O papel filtro foi umedecido com 2 mL do extrato solubilizado de cada amostra correspondente. O controle negativo foi montado utilizando água destilada e como controle positivo utilizou-se Sulfato de cobre (0,1 mg/L). A Figura 10 representa o procedimento de montagem das unidades experimentais em placas de Petri.

As amostras já inoculadas foram acondicionadas em ambiente escuro (caixa de papelão) e alocadas em incubadora a temperatura de 25°C por período de 4 dias (96 horas) (Figura 10).

Figura 10: Procedimento de preparação de placas de Petri para ensaios de toxicidade



a) Exposição das placas de Petri contendo papel filtro à luz ultravioleta; b) Adição de sementes de *Allium cepa nas placas de Petri*; c) Inoculação de extrato solubilizado nas placas de Petri; d) Placas de Petri contendo as sementes já inoculadas; e) Placas acondicionadas em local escuro; f) Caixa contendo as placas de Petri em estufa incubadora a temperatura de 25°C

Fonte: autoria própria (2022).

Passado o período de incubação das sementes foram feitas as análises macroscópicas por meio de resultados de germinação, de acordo com as etapas seguintes:

- Registro do número de sementes germinadas (resultado em porcentagem de germinação);
- Medição do tamanho das raízes das sementes germinadas (crescimento radicular),
- Registro de qualquer alteração nas raízes das sementes germinadas (alteração de morfologia – mudança de cor, formato, textura, espessura e comprimento);
- Cálculo dos índices macroscópicos para obtenção:
 - a. Germinação relativa de sementes;
 - b. Crescimento relativo da radícula;
 - c. Índice de germinação;
 - d. Índice de porcentagem de germinação residual normalizado;
 - e. Índice de porcentagem de alongamento radical residual normalizado;

Para a determinação entre os níveis de toxicidade das diferentes associações de LE, solo agrícola e solo *in natura*, foram calculados os índices macroscópicos por meio das equações representadas no Quadro 3, segundo os trabalhos de Leles (2017) e Bagur-González et al. (2011).

Quadro 3: Fórmulas para o cálculo dos índices macroscópicos

Índice	Equação
Germinação relativa de sementes	$GRS (\%) = \frac{\text{número de sementes germinadas por amostras}}{\text{número de sementes germinadas no controle negativo}}$
Crescimento relativo de radícula	$CRR (\%) = \frac{\text{comprimento médio da radícula por amostra}}{\text{comprimento médio da radícula no controle negativo}}$
Índice de germinação	$IG (\%) = \frac{GRS \times CRR}{100}$
Índice de germinação residual normalizado	$IGN (\%) = \frac{Germ\ x - Germ\ controle}{Germ\ controle}$ <p>Onde:</p> <p><i>Germ x</i> é a porcentagem média de sementes germinadas em cada amostra;</p> <p><i>Germ controle</i> é a porcentagem de sementes germinadas no controle.</p>
Índice de alongamento radial residual normalizado	$IER (\%) = \frac{Along\ x - Along\ controle}{Along\ controle}$ <p>Onde:</p> <p><i>Along x</i> é o comprimento médio da radícula das sementes germinadas em cada amostra;</p> <p><i>Along controle</i> é o comprimento médio da radícula das sementes germinadas no controle.</p>

Fonte: autoria própria (2022).

Os índices de IGN e IER, segundo a metodologia de Bagur-González et al. (2011), apresentam níveis de toxicidade em diferentes categorias:

- 0 a -0,25: Toxicidade baixa;
- -0,25 a -0,5: Toxicidade moderada;
- -0,5 a -0,75: Toxicidade alta;
- -0,75 a -1,0: Toxicidade muito alta;

- Maior que 0: Hormese

Onde hormese significa baixas concentrações do contaminante. Porém, não pode ser considerado que o contaminante não seja prejudicial aos organismos testes.

4.4 Avaliações Estatísticas

Os resultados de média e desvio padrão para germinação e crescimento de radícula das unidades experimentais coletadas nos períodos T0 e T1, foram comparadas por meio de BoxPlot feitos em programa estatístico Past4.03.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análises Químicas

Nas Tabelas 1, 2 e 3 são apresentados os resultados das análises químicas realizadas para o solo agrícola, solo *in natura*, lodo de esgoto e suas respectivas associações nos períodos antes e após o processo de biorremediação, respectivamente.

Tabela 1: Resultado das análises químicas: micronutrientes das unidades experimentais no período T0 e T1

AMOSTRAS:	S.A ¹	S.In ²	L.E ³	S.A + L.E (1:3)	S.In + L.E (1:3)	S.A + L.E (1:1)	S.In + L.E (1:1)
MICRONUTRIENTES							
T0 (mg/dm ³)							
Cobre (Cu)	19,51	12,54	21,17	25,91	20,46	24,76	21,43
Zinco (Zn)	5,12	3,93	191,00	134,29	138,5	112,77	58,84
Ferro (Fe)	18,85	12,84	351,05	208,61	157,19	174,74	99,25
Manganês (Mn)	34,72	63,07	37,13	68,93	48,22	65,68	82,65
Sódio (Na ⁺)	-	-	-	-	-	-	-
Boro (B)	-	-	-	-	-	-	-
T1 (mg/dm ³)							
Cobre (Cu)	17,19	12,68	19,61	20,49	19,65	20,59	18,62
Zinco (Zn)	4,25	3,83	196,31	152,15	131,01	112,62	97,21
Ferro (Fe)	21,5	16,96	275,52	186,76	170,97	120,28	119,37
Manganês (Mn)	44,91	66,26	20,8	72,83	90,74	86,64	106,78
Sódio (Na ⁺)	-	-	-	-	-	-	-
Boro (B)	-	-	-	-	-	-	-

(S.A)¹ = Solo Agrícola; (S.In)² = Solo *in natura*; (L.E)³ = Lodo de Esgoto; (T0) = Período antes do processo de biorremediação; (T1) = Período pós-processo de biorremediação; (-) = não detectado.

Fonte: Instituto de Tecnologia e Laboratórios - ITL (2022).

Organização autoria própria (2022).

Nas análises químicas das unidades experimentais, foi observado que ao menos um micronutriente aumentou em todas as amostras, mas também houve redução após o processo de biorremediação (T1) (Tabela 1). O manganês (Mn) apresentou predominância no aumento de sua concentração em todas as amostras se comparado com os demais micronutrientes, com exceção do LE. A concentração de Ferro (Fe) aumentou nas amostras de solo e apenas nas associações de solo *in natura* com o LE. Já nas amostras de LE e suas associações com solo agrícola (1:3)

e solo *in natura* (1:1), houve o aumento na concentração de Zinco (Zn). Por fim o Cobre (Cu) apresentou valor mais alto apenas na amostra de solo *in natura*.

Referente às reduções de micronutrientes nas unidades experimentais no período (T1), houve redução de Cobre (Cu) em todas as amostras, exceto a de solo *in natura*, o zinco (Zn) reduziu nas amostras de solos e nas associações de S.In + L.E (1:3) e S.A + L.E (1:1), os níveis de ferro (Fe) diminuíram nas amostras de LE e em ambas as associações de S.A + LE nas proporções (1:3) e (1:1).

Os micronutrientes são importantes para o enriquecimento do solo, sendo indispensáveis para o crescimento e desenvolvimento das plantas, mesmo que, sua demanda seja em menores quantidades do que os macronutrientes. Por outro lado, a falta destes resulta em um solo com baixa produtividade (GONÇALVES et al, 2019). Neste contexto, os resultados indicam que associações de solo com LE podem favorecer o aumento na disponibilidade destes micronutrientes, embora nem todas as amostras tenham surtido efeitos positivos quanto ao aumento, como apresentado no trabalho de Sommaggio (2016).

Pela análise dos resultados de macronutrientes (Tabela 2) observou-se a redução da matéria orgânica, carbono e nitrogênio para todas as amostras após 60 dias de biorremediação (T1), com exceção do solo agrícola e *in natura*. Também houve redução nos teores de fósforo (P), com exceção da associação de S.In + LE (1:1).

Os teores de matéria orgânica no período T1 podem estar associados segundo Guimarães, Matos & Carpaneze (2022) à degradação rápida que ocorre logo nas primeiras semanas da matéria orgânica lábil. Isso porque, a fração lábil é decomposta mais facilmente em um curto período de tempo, fornecendo nutrientes, energia e carbono (C) às plantas e a microbiota presente no solo (SANTANA, 2019). Essa degradação dos componentes mais fáceis presentes na matéria orgânica, intensificam a mineralização do carbono, nitrogênio e fósforo no primeiro mês (SILVA, MATOS & MATOS, 2019). Portanto eram esperados teores mais elevados e maior disponibilidade desses nutrientes presentes nas associações, uma vez que no trabalho de SOMMAGGIO (2016) foi observado o aumento na concentração de macro e micronutrientes (N, P, Zn, Cu, Fe, Mn) em todas as associações de LE com o solo.

Tabela 2: Resultados das análises químicas: macronutrientes das unidades experimentais no período T0 e T1

AMOSTRAS:	S.A ¹	S.In ²	L.E ³	S.A + L.E (1:3)	S.In + L.E (1:3)	S.A + L.E (1:1)	S.In + L.E (1:1)
MACRONUTRIENTES							
T0							
(g/dm ³)							
Matéria Orgânica	33,19	39,15	81,28	55,32	66,81	51,91	53,62
Carbono (C)	19,30	22,76	47,25	32,16	38,84	30,18	31,17
Nitrogênio Total	1,66	1,96	4,06	2,77	3,34	2,6	2,68
(mg/dm ³)							
Fósforo Remanescente	-	-	-	-	-	-	-
Fósforo (MEHLICH-1)	39,26	5,08	254,02	187,98	140,56	150,41	76,9
Fósforo (Resina)	-	-	-	-	-	-	-
Enxofre (SO ₄ ²⁻)	-	-	-	-	-	-	-
(cmol/dm ³)							
Potássio (K ⁺)	0,88	0,64	1,11	0,97	0,96	1,06	0,8
Cálcio (Ca ⁺²)	9,77	11,51	27,84	18,1	19,95	16,98	14,54
Magnésio (Mg ⁺²)	3,19	3,84	7,55	5,69	6,99	5,19	4,93
T1							
g/dm ³							
Matéria Orgânica	35,74	40	54,47	51,06	53,83	48,51	48,51
Carbono (C)	20,78	23,26	31,67	29,69	31,3	28,2	28,2
Nitrogênio Total	1,79	2	2,72	2,55	2,69	2,43	2,43
mg/dm ³							
Fósforo Remanescente	-	-	-	-	-	-	-
Fósforo (MEHLICH-1)	35,85	4,99	191,05	154,99	131,41	117,2	80,1
Fósforo (Resina)	-	-	-	-	-	-	-
Enxofre (SO ₄ ²⁻)	-	-	-	-	-	-	-
cmol/dm ³							
Potássio (K ⁺)	0,87	0,72	1,05	1,01	0,87	1,01	0,87
Cálcio (Ca ⁺²)	8,31	10,58	20,12	17,39	16,15	15,22	15,35
Magnésio (Mg ⁺²)	2,81	3,7	6,28	5,56	5,72	4,85	5,13

(S.A)¹ = Solo Agrícola; (S.In)² = Solo *in natura*; (L.E)³ = Lodo de Esgoto; (T0) = Período antes do processo de biorremediação; (T1) = Período pós-processo de biorremediação; (-) = não detectado.

Fonte: Instituto de Tecnologia e Laboratórios - ITL (2022).

Organização autoria própria (2022).

Na Tabela 3 são apresentados os resultados de pH e capacidade de troca catiônica (CTC). Pode-se notar que houve redução nos valores de pH em CaCl₂ em todas as amostras, exceto para o L.E e a associação S.In + L.E (1:3), podendo estar relacionado a liberação de compostos ácidos provenientes do metabolismo dos microrganismos decompositores (RODRIGUES et al, 2022).

Tabela 3: Resultados das análises químicas: reações das unidades experimentais no período T0 e T1

AMOSTRAS:	S.A ¹	S.In ²	L.E ³	S.A + L.E (1:3)	S.In + L.E (1:3)	S.A + L.E (1:1)	S.In + L.E (1:1)
REAÇÃO DA AMOSTRA							
T0							
pH em CaCl ₂	5,31	5,47	5,76	5,76	5,74	5,67	5,69
pH em H ₂ O	5,00	5,10	5,05	5,35	5,14	5,91	5,35
cmol/dm ³							
CTC (pH 7,0)	18,63	20,4	41,77	29,27	32,44	27,81	24,72
CTC (Efetiva)	13,87	16,01	36,59	24,81	27,93	23,27	20,3
T1							
pH em CaCl ₂	5,29	5,45	6,1	5,66	6,03	5,04	5,31
pH em H ₂ O	-	-	-	-	-	-	-
cmol/dm ³							
CTC (pH 7,0)	17,26	19,75	31,63	28,85	26,69	27,62	26,85
CTC (Efetiva)	12	15,02	27,51	24,03	22,79	21,24	21,39

(S.A)¹ = Solo Agrícola; (S.In)² = Solo *in natura*; (L.E)³ = Lodo de Esgoto; (T0) = Período antes do processo de biorremediação; (T1) = Período pós-processo de biorremediação; CTC = Capacidade de troca catiônica; (-) = não detectado..

Fonte: Instituto de Tecnologia e Laboratórios - ITL (2022).

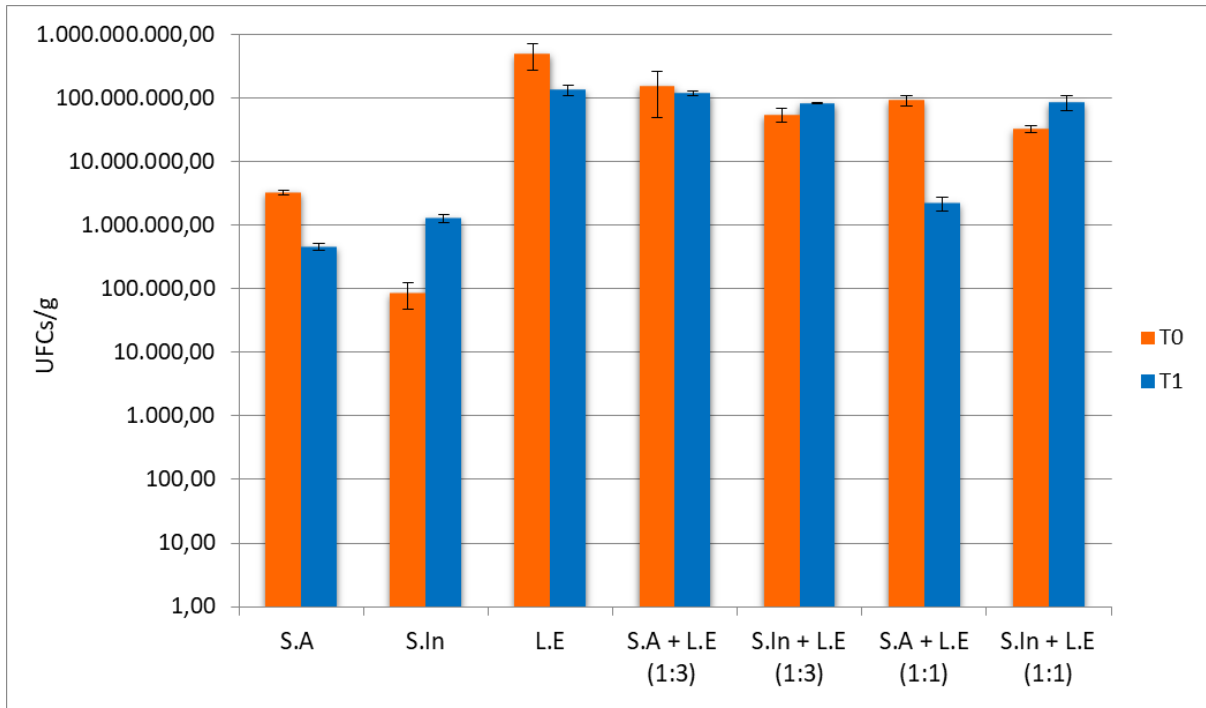
Organização autoria própria (2022).

No estudo também foi observado uma redução da capacidade de troca catiônica (CTC efetiva) em todas as amostras, com exceção de S.In + L.E (1:1). Isso significa que houve redução na capacidade de reter cátion trocáveis (Ca²⁺, Mg²⁺, K⁺, Al³⁺). Os teores de matéria orgânica aumentam a CTC efetiva, dessa forma, o baixo teor de matéria orgânica nas amostras, esta relacionada aos níveis baixos de CTC efetiva e, portanto a menor retenção de cátions, ou seja, menor absorção de nutrientes (GUIMARÃES, MATOS & CARPANEZ, 2022).

5.2 Análises Microbiológicas

Os resultados correspondentes à média e desvio padrão das Unidades Formadoras de Colônias (UFC) de bactérias correspondente às unidades experimentais para o período T0 e T1, estão representadas na Figura 11.

Figura 11: Média e desvio padrão das Unidades Formadoras de Colônias (UFCs) de bactérias por grama de cada unidade experimental para o período T0 e T1



(T0) = Período antes do processo de biorremediação; (T1) = Período pós-processo de biorremediação; (S.A) = Solo Agrícola; (S.In) = Solo *In natura*; (L.E) = Lodo de Esgoto.

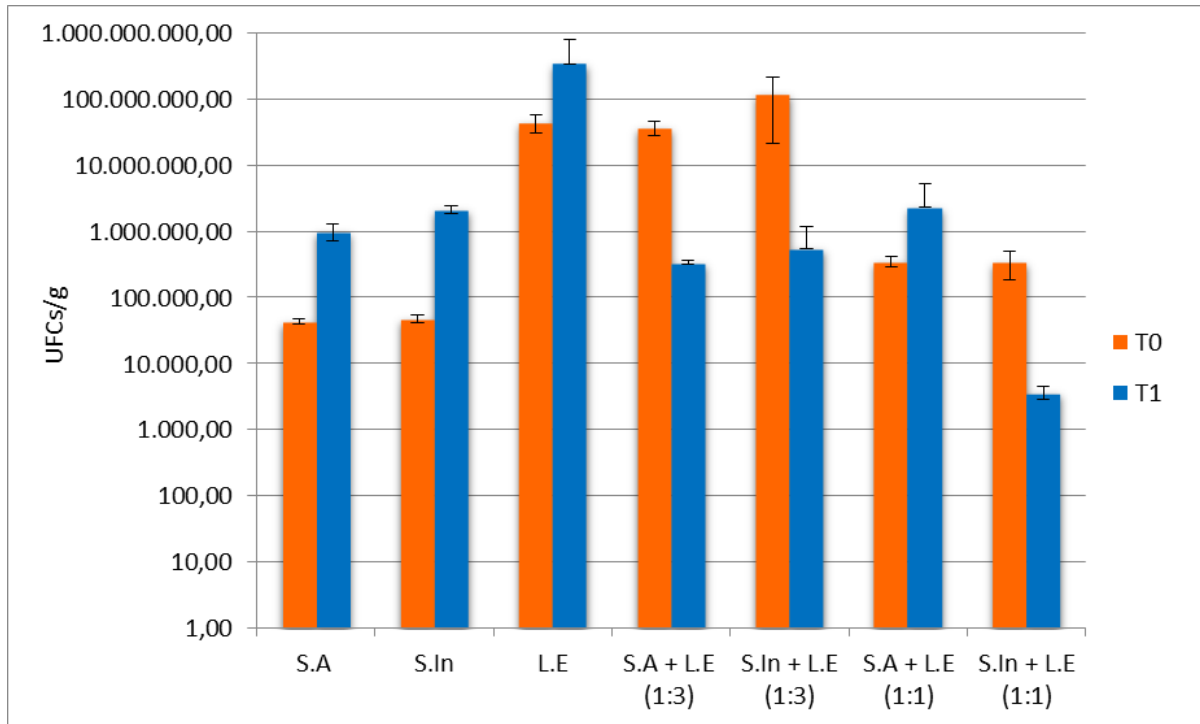
Fonte: autoria própria (2022).

A amostra de solo *in natura* e suas respectivas associações com o LE nas proporções (1:3) e (1:1) apresentaram aumento das UFCs após o período de biorremediação (T1). Já as amostras de lodo de esgoto, solo agrícola e suas associações nas proporções (1:3) e (1:1) para o mesmo período (T1) houve a diminuição na população de bactérias.

A Figura 12 representa os resultados de média e desvio padrão das UFCs de fungos das unidades experimentais nos períodos T0 e T1.

Dos resultados apresentado na Figura 12, foi observado o aumento das UFCs de fungos nas amostras de solo agrícola, solo *in natura*, lodo de esgoto e na associação de S.A + L.E (1:1), após o período de biorremediação (T1), em contrapartida, as populações de fungos diminuiram nas demais associações na proporção (1:3) e S.In + L.E (1:1) para o mesmo período (T1).

Figura 12: Média e desvio padrão de Unidades Formadoras de Colônia (UFCs) de fungos por grama de cada unidade experimental para o período T0 e T1



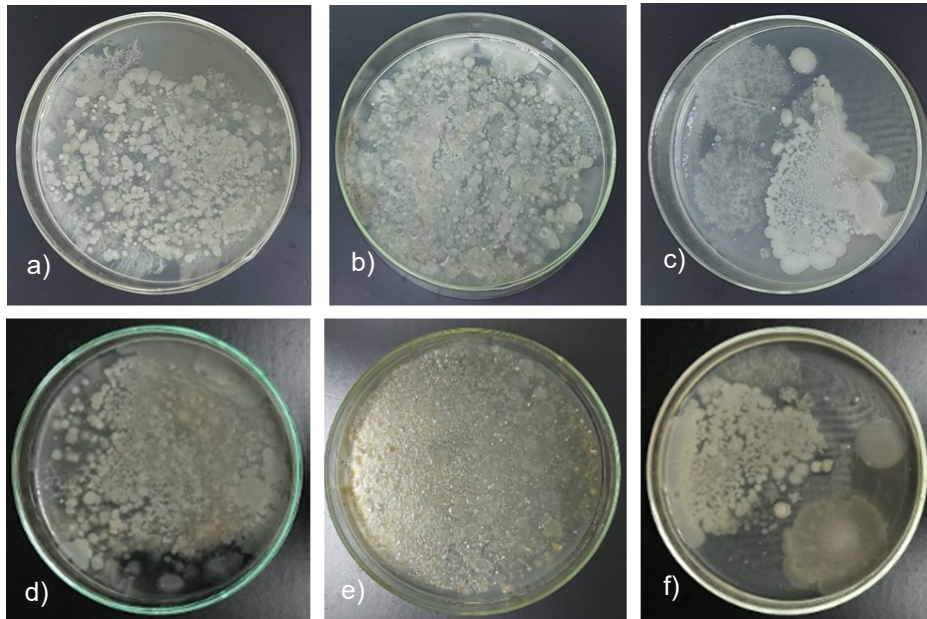
(T0) = Período antes do processo de biorremediação; (T1) = Período pós-processo de biorremediação; (S.A) = Solo Agrícola; (S.In) = Solo In natura; (L.E) = Lodo de Esgoto.

Fonte: autoria própria (2022).

Ao comparar os resultados de UFCs de fungos e bactérias, foi observado que no período T0 todas as amostras apresentavam valores superiores na concentração de UFCs/g de bactérias em comparação com os fungos. Já para o período pós 60 dias de biorremediação (T1), as UFCs/g de fungos apresentaram valores superiores às de bactérias. A hipótese é que o elevado número de colônias de bactérias no início do processo de biorremediação esteja relacionada com a degradação inicial da matéria orgânica lábil, ou seja, de rápida decomposição, isso porque as bactérias conseguem degradar com maior facilidade e rapidez essas moléculas, em contrapartida, após o período de biorremediação (T1) houve o aumento das comunidades fúngicas que são importantes na degradação dos componentes recalcitrantes, ou seja, moléculas mais complexas (MONTEIRO, 2019).

Com relação a caracterização colonial, em ambos os períodos antes do processo de biorremediação (T0) e após 60 dias de biorremediação (T1), as bactérias apresentaram cor branca e amarela, com aspecto cremoso, elevação plana, margem inteira e lobulada em formato circular ou irregular, como representado na Figura 13.

Figura 13: Representação das placas inoculadas com bactérias nos períodos T0 e T1 das unidades experimentais

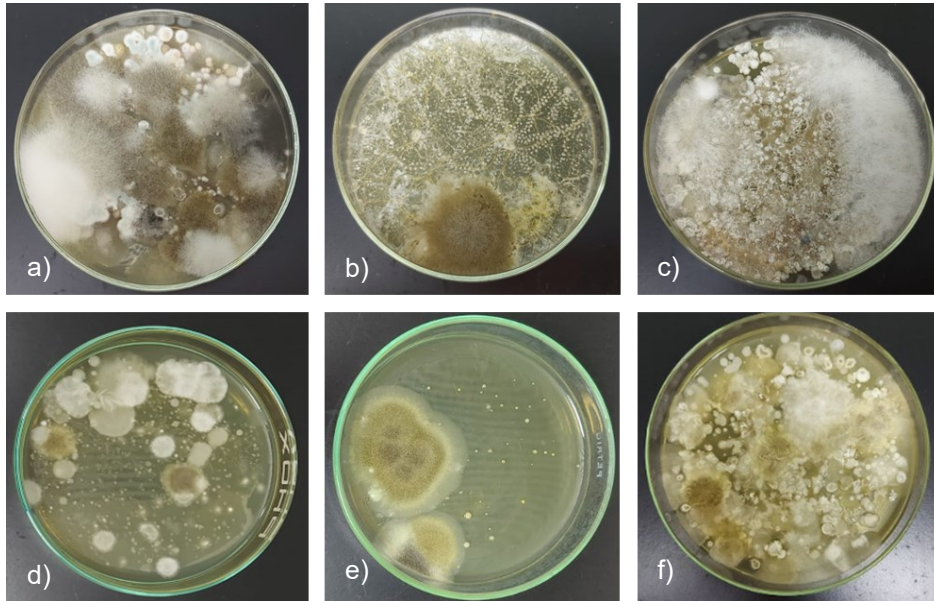


a) Solo *in natura* (S.In) em T1; b) Lodo de esgoto (LE) em T1; c) Solo agrícola (S.A) em T1; d) Solo *in natura* (S.In) em T0; e) Lodo de esgoto (LE) em T0; f) Solo agrícola (S.A) em T0; (T0) = Período antes do processo de biorremediação; (T1) = Período pós-processo de biorremediação.

Fonte: autoria própria (2022).

As placas de fungos das unidades experimentais nos períodos T0 e T1 em sua grande maioria apresentaram cor branca, amarela e verde de aspecto cottonoso, pulverulento, seco e aveludado de borda lisa e arredondado.

Figura 14: Representação das placas inoculadas com fungos nos períodos T0 e T1 das unidades experimentais



a) Solo *in natura* (S.In) em T1; b) Lodo de esgoto (LE) em T1; c) Solo agrícola (S.A) em T1; d) Solo *in natura* (S.In) em T0; e) Lodo de esgoto (LE) em T0; f) Solo agrícola (S.A) em T0; (T0) = Período antes do processo de biorremediação; (T1) = Período pós-processo de biorremediação.

Fonte: autoria própria (2022).

5.3 Ensaio de Toxicidade

Os resultados dos cálculos dos índices macroscópicos para o período T0 e T1 estão representados na Tabela 4.

Tabela 4: Resultados dos índices de toxicidade para os períodos T0 e T1

Amostragem	TG (%) ¹		GRS (%) ²		CRR (%) ³		IG (%) ⁴		IGN (%) ⁵		IER (%) ⁶	
	T0	T1	T0	T1	T0	T1	T0	T1	T0	T1	T0	T1
S.A	63,33	70,00	82,53	88,61	95,24	88,89	78,60	78,76	-0,21	-0,21	-0,05	-0,11
S.In	76,66	76,00	99,87	96,20	103,17	100,00	103,04	96,20	0,03	-0,04	0,03	0,00
L.E	20,00	22,00	26,08	27,85	12,70	44,44	3,31	12,38	-0,97	-0,88	-0,87	-0,56
S.A + L.E (1:3)	40,00	46,00	52,15	58,23	25,40	44,44	13,24	25,88	-0,87	-0,74	-0,75	-0,56
S.In + L.E (1:3)	43,33	37,00	56,45	46,84	26,98	44,44	15,23	20,82	-0,85	-0,79	-0,73	-0,56
S.A + L.E (1:1)	53,33	64,00	69,49	81,01	53,97	55,56	37,50	45,01	-0,62	-0,55	-0,46	-0,44
S.In + L.E (1:1)	66,67	70,00	86,96	88,61	63,49	55,56	55,21	49,23	-0,45	-0,51	-0,37	-0,44
CN*	76,67	79,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00
CP**	53,33	61,00	69,49	77,22	20,63	11,11	14,34	8,58	-0,86	-0,91	-0,79	-0,89

¹(TG) = Taxa de germinação; ²(GRS) = Germinação relativa de sementes; ³(CRR) = Crescimento relativo de radícula; ⁴(IG) = Índice de germinação residual normalizado; ⁵(IGN) = Índice de germinação residual normalizado; ⁶(IER) = Índice de alongamento radial residual normalizado. (S.A) = Solo Agrícola; (S.In) = Solo *In natura*; (L.E) = Lodo de Esgoto; *(CP) = Controle Negativo; **(CP) = Controle Positivo; (T0) = Período antes do processo de biorremediação; (T1) = Período pós-processo de biorremediação.

 Toxicidade baixa;	 Toxicidade muito alta;
 Toxicidade moderada;	 Hormese.
 Toxicidade alta;	

Fonte: autoria própria (2022)

Após o período de incubação das sementes de *Allium cepa* nos períodos T0 e T1, foram observadas diferenças quanto à contagem do número de sementes germinadas. As triplicatas inoculadas com solo *in natura* foram às unidades que mais se aproximaram dos valores obtidos no controle negativo de 100% de germinação (IG). Em contrapartida, houve maior inibição na germinação das sementes inoculadas com o lodo de esgoto do que no controle positivo, indicando toxicidade em T0 para o LE. Já em T1, o LE apresentou valor abaixo do CP e comparado com T0 houve aumento no IG o que indica redução na toxicidade do composto, porém ainda indica toxicidade. A toxicidade do L.E para as sementes de *Allium cepa* eram esperadas considerando os resultados apresentados no trabalho de Sommaggio (2016), no qual ocorreu a inibição de todas as sementes de *Allium cepa* expostas ao solubilizado de L.E.

As associações dos solos com o LE (1:1) e (1:3) apresentaram aumento do IG no período T1 em comparação com o T0, com exceção da amostra S.In + L.E (1:1) que em T1 houve redução no valor deste mesmo índice. Em virtude da maior proporção de LE nas associações com concentração (1:3), estas se mostraram mais tóxicas às sementes de *Allium cepa* do que as associações na proporção 1:1.

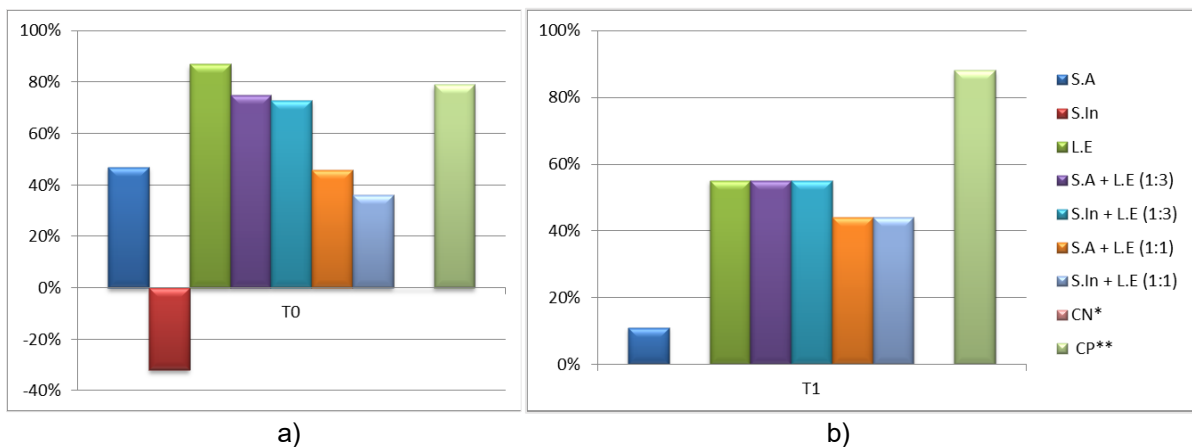
As porcentagens de germinação relativa de sementes (GRS) do solo *in natura* em T0 e T1 (99,87 e 96,20, respectivamente) podem ser explicadas devido ser um solo coletado em uma área de preservação de vegetação natural, diferente do solo agrícola que sofre manejo e é exposto a fertilizantes e herbicidas, tendo porcentagem de GRS em T0 e T1 de 82,53 e 88,61, respectivamente. Para o LE, o valor de GRS foi de 26,08 e 27,85%, respectivamente em T0 e T1. Estes valores representam alterações no desenvolvimento das sementes e a presença de possíveis agentes tóxicos em sua composição. Já as associações de LE com o solo agrícola e o solo *in natura* em ambos os períodos, apresentaram porcentagens de GRS maiores indicando diminuição dos efeitos negativos no desenvolvimento das sementes.

Os resultados de crescimento relativo de radícula (CRR) para o solo agrícola e solo *in natura* nos períodos T0 e T1, indicam um bom crescimento e desenvolvimento das radículas (acima de 80%), diferente do LE e as associações com S.A e S.In que apresentaram baixos valores de CRR, embora todas as amostras, exceto os solos e a associação S.In + L.E (1:1) tenham aumentado seu valor em T1 e indiquem menos toxicidade do que em T0.

Embora os resultados de LE e suas associações ainda apresentem resultados de toxicidade moderada a alta, a redução na toxicidade do LE associado aos solos no período T1, demonstram que sua utilização como fertilizante agrícola é uma alternativa promissora. Já que segundo Sommaggio (2016) seu uso na agricultura já vem sendo estudada e tem demonstrado melhoras na produtividade de cultivos com girassol e tem sido usado em culturas de cana de açúcar, café, milho e eucalipto.

Na Figura 15 a e Figura 15 b é apresentada as porcentagens de inibição do crescimento e desenvolvimento das radículas antes do processo de biorremediação (T0) e pós-período de biorremediação (T1) das unidades experimentais.

Figura 15: Porcentagem de inibição do crescimento da radícula das sementes de *Allium cepa* expostas às unidades experimentais em T0 e T1



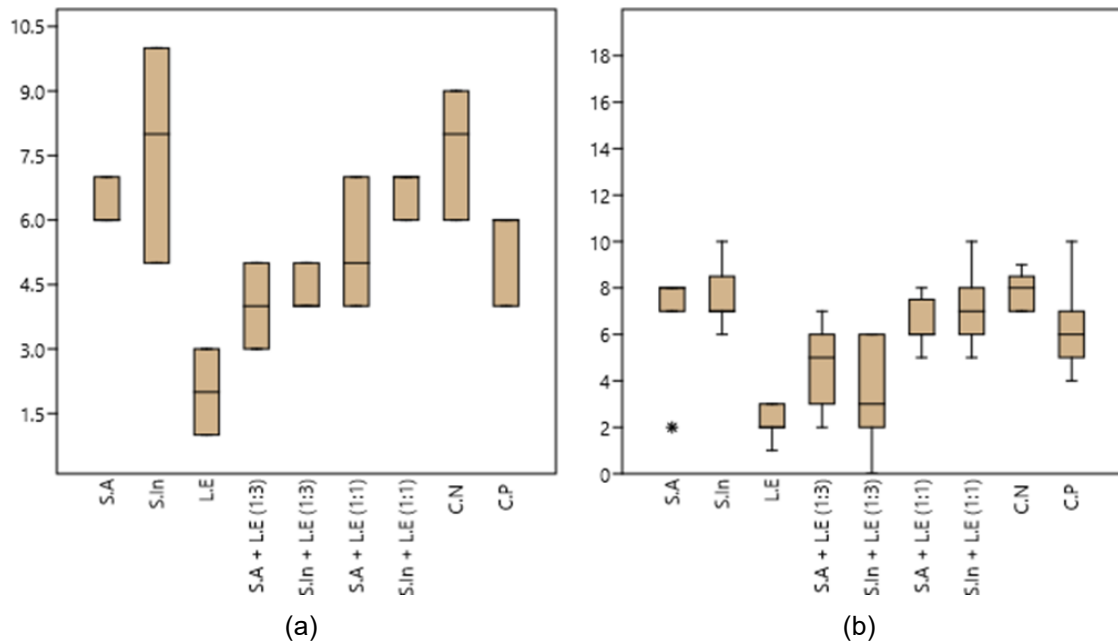
(S.A) = Solo Agrícola; (S.In) = Solo *in natura*; (L.E) = Lodo de esgoto; a) (T0) = Período antes do processo de biorremediação; *Controle Negativo; **Controle Positivo; b) (T1) = Período pós-processo de biorremediação.

Fonte: autoria própria (2022).

A partir das porcentagens apresentadas na Figura 15, foi observada a redução na inibição do crescimento das radículas em todas as unidades experimentais, com exceção das amostras de S.In + LE (1:1) que apresentou aumento de inibição e S.A + L.E (1:1) que manteve sua porcentagem de inibição em torno de 40%. Com relação à S.In observa-se que em T0 apresentou porcentagem negativa de inibição, o que indica favorecimento no crescimento e em T1 não apresentou inibição assim como o CN. Portanto, as unidades experimentais apresentaram o comportamento esperado de diminuição na toxicidade para o período pós-biorremediação (T1) quando se observa a porcentagem de inibição do crescimento da radícula..

Nas Figuras 16 e 17 são representados os gráficos box plot dos índices de germinação das sementes e crescimento das radículas antes do processo de biorremediação (T0) e pós-processo de biorremediação (T1).

Figura 16: Gráfico box plot do índice de germinação de sementes de *Allium cepa* das unidades experimentais no período T0 e T1



(a) Período antes do processo de biorremediação (T0); (b) Período pós-processo de biorremediação (T1); S.A = Solo Agrícola; S.In = Solo *In natura*; L.E = Lodo de Esgoto.

Fonte: autoria própria (2022).

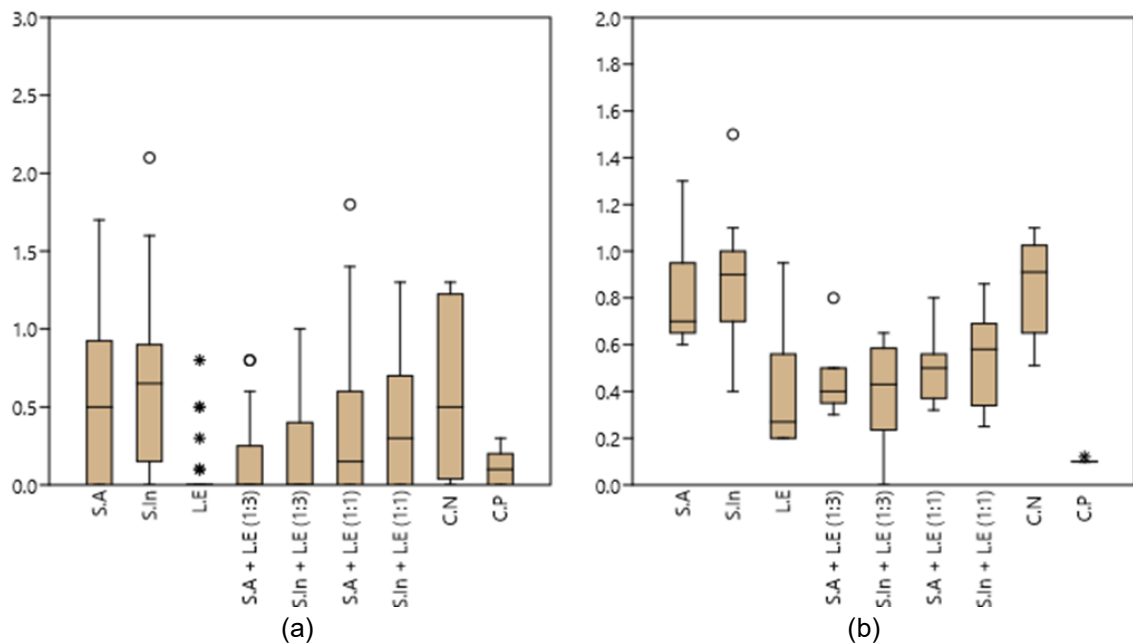
Os resultados apresentados na Figura 16 mostram uma variação significativa nos valores de germinação em todas as amostras no período T0, já o posto ocorre em T1, onde há uma menor variação nos valores, indicando que houve uma mudança na porcentagem de sementes germinadas.

Neste caso houve aumento nas máximas para todas as amostras, exceto solo *in natura* e o lodo de esgoto. Portanto, pode-se afirmar que no período pós biorremediação (T1) mais sementes de *Allium cepa* germinaram, indicando uma redução na toxicidade das amostras.

Por meio da análise do comprimento das radículas (Figura 17), pode-se observar que após o tratamento houve aumento nas máximas, exceto para S.A, S.A + L.E (1:3), SA + L.E (1:1) que mantiveram o mesmo valor e no CN houve redução. Em destaque, o LE apresentou maior discrepância em seus valores em T0, tendo um aumento significativo de sua máxima em T1, porém apresentando discrepância

em seus valores. Dessa forma, pode afirmar que as amostras que obtiveram aumento de suas máximas em T1 correspondem a um maior crescimento maior de suas radículas para este período, indicando que as associações de solo com LE, podem ter favorecido o crescimento.

Figura 17: Gráfico box plox do comprimento (cm) das radículas de *Allium cepa* das unidades experimentais no período T0 e T1



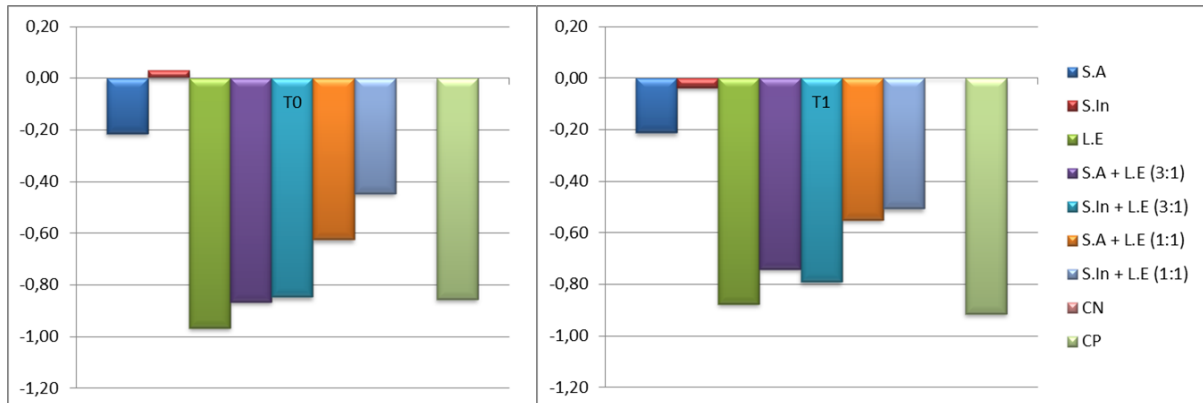
(a) Período antes do processo de biorremediação (T0); (b) Período pós-processo de biorremediação (T1); S.A = Solo Agrícola; S.In = Solo *In natura*; L.E = Lodo de Esgoto.

Fonte: autoria própria (2022).

No período T0 houve maior variação nos valores, ou seja, o tamanho das radículas em cada amostras, não apresentaram uma proporcionalidade em seu crescimento. O oposto ocorreu em T1, os valores se mostram que houve uma mudança na variação do crescimento, principalmente nas amostras S.A + L.E (1:3) e AS + L.E (1:1) mostrando uma proporção no comprimento das radículas.

Os índices de IGN e IER foram classificados de acordo com as Figuras 18 e 19 em diferentes níveis de toxicidade de acordo com os resultados de cada unidade experimental.

Figura 18: Resultados dos índices de Germinação Residual Normalizado (IGN) das unidades experimentais em T0 e T1



a) (T0) = Período antes do processo de biorremediação; b) (T1) = Período pós-processo de biorremediação; (S.A) = Solo Agrícola; (S.In) = Solo In natura; (L.E) = Lodo de Esgoto.

Fonte: autoria própria (2022).

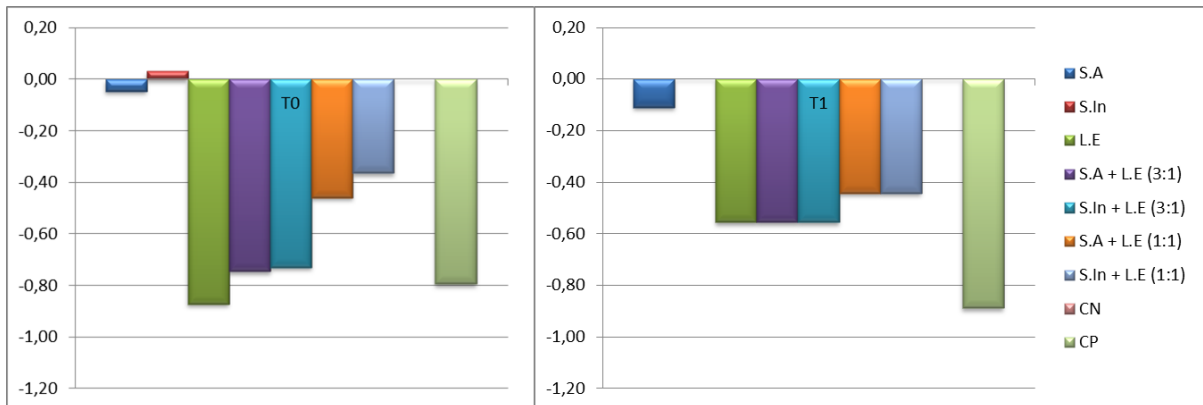
Todas as amostras apresentaram redução nos valores de IGN para o período T1, com exceção da amostra de S.In + L.E (1:1) que assim como o C.P apresentou aumento nos valores, bem como segundo os dados representados na tabela 4 observasse que S.A não apresenta alteração em seu valor do período T0 para T1, já o S.In tem um ligeiro aumento em seu valor, passando de hormese para toxicidade baixa. Esses resultados indicam a redução da toxicidade das amostras como pode ser observado por meio da Figura 21 e Tabela 4.

O S.In assim como o C.N foi classificado em hormese (Tabela 4) no período T0, passando a apresentar toxicidade baixa em T1, indicando um aumento na toxicidade do solo. O S.A apresentou os mesmos valores e nível de toxicidade baixa em ambos os períodos T0 e T1. As amostras de L.E, S.A + L.E (1:3) e S.In + L.E (1:3) apresentaram nível de toxicidade muito alta em T0, permanecendo no mesmo nível de toxicidade em T1, com exceção de S.A + L.E (1:3) que passou para a classificação de toxicidade alta. A amostra de S.A + L.E (1:1) foi classificada com alto nível de toxicidade e S.In + L.E (1:1) com nível moderado de toxicidade no período T0, em T1 ambas as associações foram classificadas com toxicidade alta.

Conforme os resultados apresentados na Figura 21 e Tabela 4 foram observados que houve redução nos valores de IER para todas as amostras, com exceção de S.A, a associação S.In + L.E (1:1) e o C.P que apresentaram aumento em seus valores no período T1 (Tabela 4). O solo agrícola em T0 e T1 foi classificado com baixo nível de toxicidade, o solo *in natura* foi classificado como hormese, ou seja, não apresentam toxicidade para ambos os períodos, assim como

o controle negativo. O lodo de esgoto no período T0 foi classificado com nível de toxicidade muito alta e em T1 sua classificação passou para toxicidade alta. As associações de S.A e S.In com o L.E na proporção (1:3) em ambos os períodos T0 e T1 apresentaram nível de toxicidade alto, já as associações na proporção (1:1) também para ambos os períodos permaneceram com níveis de toxicidade moderado.

Figura 19: Resultados do índice de Alongamento Radial Residual Normalizado (IER) das unidades experimentais em T0 e T1



a) (T0) = Período antes do processo de biorremediação; b) (T1) = Período pós-processo de biorremediação; (S.A) = Solo Agrícola; (S.In) = Solo In natura; (L.E) = Lodo de Esgoto.

Fonte: autoria própria (2022).

6. CONCLUSÃO

Por meio do estudo pode-se concluir que os solos são agentes bioestimulantes no processo de biorremediação, dando destaque ao solo agrícola que apresentou melhores resultados de detoxificação de suas associações com o L.E, apresentando queda nos índices de toxicidade e valores maiores para a maior parte dos micro e macronutrientes após período de biorremediação.

Por meio das análises macroscópicas de fitotoxicidade utilizando sementes de *Allium cepa* foi possível avaliar o potencial tóxico do solo agrícola, in natura, LE e suas respectivas associações.

Como já esperado, o solo agrícola apresentou toxicidade mais alta em relação ao solo *in natura*, isso em virtude de seu manejo e sua exposição direta a fertilizantes e pesticidas. As associações com a mesma proporção de solo e LE (1:1) se mostraram menos tóxicas e obtiveram melhores resultados quanto ao crescimento e germinação das sementes.

As análises químicas demonstraram que o solo agrícola é mais rico em nutrientes se comparado com o solo in natura e sua associação com LE. Como já era esperado, o LE apresentou valores mais elevados de macro e micronutrientes, isso porque é composto a maior parte por matéria orgânica de origem variada, indicando seu elevado potencial como bio sólido.

REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **ABNT NBR 10.006**: Procedimento para obtenção de extrato solubilizado de resíduos sólidos. v. 2^a Edição, p. 1–14, 2004.

AMBIENTAL, R. N. DE S. **Processos em Tratamento de Esgoto**. p. 76, v. 1. 2008. Disponível em: https://antigo.mdr.gov.br/images/stories/ArquivosSNSA/Arquivos_PDF/recesa/proces sosdetratamentodeesgoto-nivel1.pdf. Acesso em: 07 abril 2022.

AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS E SANEAMENTO BÁSICO - ANA. Amplia base com informações sobre estações de tratamento de esgotos em todo o Brasil. Ministério do Desenvolvimento Regional - MDR, 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/ana/pt-br/assuntos/noticias/ana-amplia-base-com-informacoes-sobre-estacoes-de-tratamento-de-esgotos-em-todo-o-brasil#:~:text=As%20900%20esta%C3%A7%C3%B5es%20acrescentadas%20pode m,%3A%2F%2Fbit.ly%2F2x2CKMI>. Acesso em: 23 mar. 2022.

BAGUR-GONZÁLEZ, M. G. *et al.* Toxicity assessment using *Lactuca sativa* L. bioassay of the metal(loid)s As, Cu, Mn, Pb and Zn in soluble-in-water saturated soil extracts from an abandoned mining site. **Journal of Soils and Sediments**, v. 11, n. 2, p. 281–289, 2011. Disponível em: <https://www.ugr.es/~fjmartin/TRABAJOS%20PUBLICADOS%20PDF/JSS%202010.pdf>. Acesso em: 23 mar. 2022.

BARBOSA, J. G. Gestão ambiental em estações de tratamento de esgoto sanitário: alternativas para o lodo de esgoto. **Revista Especialize On-line IPOG**, v. 01, n. 15, p. 15, 2018. Disponível em: <https://ipog.edu.br/wp-content/uploads/2020/11/jessica-goncalves-barbosa-pagyn12-175131614.pdf>. Acesso em: 23 mar. 2022.

BARBOSA, R.S. **Efeito do lodo de esgoto em latossolo vermelho e na cultura do milho**. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais), Universidade Federal de Alfenas-UNIFAL. Alfenas, MG, 2016. Disponível em: <https://btdt.unifal-mg.edu.br:8443/bitstream/tede/769/5/Disserta%c3%a7%c3%a3o%20de%20Romulo%20Spuri%20Barbosa.pdf>. Aceso em: 26 mar. 2022.

BATISTA, L. F. **Lodos gerados nas estações de tratamento de esgotos no distrito federal** : um estudo de sua aptidão para o condicionamento , utilização e disposição final. 2015. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos) - Faculdade de Tecnologia. Universidade de Brasília. Brasília, DF, 2015. Disponível em: <http://ptarh.unb.br/wp-content/uploads/2017/03/PUBLICA%C3%87%C3%83O-PTARH.DM-%E2%80%931682015.pdf>. Acesso em: 26 mar. 2022.

BERTICELLI, R. *et al.* Compostagem como alternativa de biorremediação de áreas contaminadas composting as alternative bioremediation contaminated área. **Revista CIATEC-UPF**. Passo Fundo/RS, v. 8, n. 1, p. 12–28, 2016. DOI: <http://seer.upf.br/index.php/ciatec/article/view/4143/3679>. Acesso em: 26 mar. 2022.

BETTIOL, W; CAMARGO, O.A. Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto. **Embrapa Meio Ambiente**. Jaguariúna, SP, 2006. DOI: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/127218/1/2005AA-073.pdf>.

Acesso em: 26 mar. 2022.

BITTENCOURT, S.; AISSE, M. M.; SERRAT, B. M. Gestão do uso agrícola do lodo de esgoto: estudo de caso do estado do Paraná, Brasil. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 22, n. 6, p. 1129–1139, 2017. DOI:

<https://www.scielo.br/j/esa/a/jSf4HxFmndFtpHHPkHjnmHP/?lang=pt>. Acesso em: 26 mar. 2022.

BOHM, G. B. *et al.* Uso de lodo de estação de tratamento de esgoto no cultivo de soja em argissolo. **Revista Thema**. v. 11, n. 01, p. 12–23, 2014. DOI:

<https://periodicos.ifsul.edu.br/index.php/thema/article/view/202/113>. Acesso em: 27 mar. 2022.

BOINA, W. L. D. O. **Análise das condições de desaguamento de lodos de ETEs em Bag´S**: o caso da ETE -Limoeiro – Presidente Prudente-SP. 2012. Dissertação (Mestrado em Engenharia Urbana). Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, 2012. Disponível em:

<https://repositorio.ufscar.br/bitstream/handle/ufscar/4332/4632.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 27 mar. 2022.

BONOMO, M. M. **Efeitos citogenéticos, bioquímicos, morfológicos e anatômicos da aplicação de lodo de esgoto higienizado em *Carica papaya***

L.2014. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal). Universidade Federal do Espírito Santo. Vitória, 2014. Disponível em:

https://repositorio.ufes.br/bitstream/10/10011/1/tese_7844_Disserta%c3%a7%c3%a3o%20Marina%20Marques%20Bonomo.pdf. Acesso em: 27 mar. 2022.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente, Conselho Nacional de Meio Ambiente, Resolução CONAMA n° 369. **Resolução CONAMA n° 369**, 2006.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente, Conselho Nacional de Meio Ambiente, Resolução CONAMA n°375. **Resolução CONAMA n° 375**, 2006.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente, Conselho Nacional de Meio Ambiente, Resolução CONAMA n°498. **Resolução CONAMA n° 498**, 2020.

BRASIL. **Lei n°11.445, de 5 de janeiro de 2007**. Estabelece as diretrizes nacionais para o saneamento básico, cria o Comitê Interministerial de Saneamento Básico.

República Federativa do Brasil, Brasília, D.F. [2005]. Disponível em:

http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2007/lei/l11445.htm. Acesso em: 02 abril 2022.

BRASIL. **Lei n°12.305, de 02 de agosto de 2010**. Política Nacional de Resíduos Sólidos. República Federativa do Brasil, D.F. [2010]. Disponível em:

<https://www.jusbrasil.com.br/topicos/26265110/artigo-9-da-lei-n-12305-de-02-de-agosto-de-2010#:~:text=Agosto%20de%202010->

[,Art.,final%20ambientalmente%20adequada%20dos%20rejeitos](https://www.jusbrasil.com.br/topicos/26265110/artigo-9-da-lei-n-12305-de-02-de-agosto-de-2010#:~:text=Agosto%20de%202010-). Acesso em: 02 abril 2022.

BRASIL. **Lei n°14.026, de 15 de julho de 2020**. Atualiza o marco legal do

saneamento básico. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, D.F.

[2020]. Disponível em: <https://www.in.gov.br/web/dou/-/lei-n-14.026-de-15-de-julho-de-2020-267035421>. Acesso em: 02 abril 2022.

CAMPOS, G. G. . **Análise de áreas agrícolas para disposição de lodo**

proveniente da estação de tratamento de esgoto de Tijucas - SC. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia Ambiental e Sanitária). Universidade Federal de Santa Catarina UFSC, Florianópolis, 2017. Disponível em:

<https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/191296/TCC2%20-%20Gabriele%20Galv%C3%A3o%20Ferreira%20Campos.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 02 abril 2022.

CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. **Microbiologia do solo.** 2. ed., Piracicaba: ESALQ, 2016. E-book. Disponível em:

https://www.esalq.usp.br/biblioteca/sites/default/files/Microbiologia_solo.pdf. Acesso em: 02 abril 2022.

CARNEIRO, D. A.; GARIGLIO, L. P. A Biorremediação como Ferramenta para a Descontaminação de Ambientes Terrestres e Aquáticos. **Revista Tecer**, Belo Horizonte, v. 3, n. 4, p. 82–95, 2010. DOI:

https://www.researchgate.net/publication/276859728_A_Biorremediacao_como_Ferramenta_para_a_Descontaminacao_de_Ambientes_Terrestres_e_Aquaticos#:~:text=A%20biorremedia%C3%A7%C3%A3o%20%C3%A9%20um%20processo,%C3%A0%20reestrutura%C3%A7%C3%A3o%20dos%20habitats%20naturais. Acesso em: 02 abril 2022.

CIRINO, E.; VEIGA, L.; ANTUNES, M.; ALVES, V.; VALDO, V. O. P. O uso de fertilizantes e seus impactos ambientais. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso.

ETEC Benedito Storani. Jundiaí, SP, 2021. Disponível em:

https://ric.cps.sp.gov.br/bitstream/123456789/6770/1/tecnicoemqu%C3%ADmica_2021_2_ednaldocirino_ousodefertilizanteseseusimpactosambientais.pdf. Acesso em: 06 novembro 2022.

COLLA, T. S. **Avaliação da biorremediação de solo contaminado pela mistura B10 por consórcio bacteriano.** 2012. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012. Disponível em:

<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/61774/000866621.pdf?sequence=1>. Acesso em: 02 abril 2022.

COSTA, C. R. et al. A toxicidade em ambientes aquáticos: Discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 7, p. 1820–1830, 2008. DOI:

<https://www.scielo.br/j/qn/a/X6sRQb5cdDnHxgPJvZR33PN/?lang=pt>. Acesso em: 02 abril 2022.

DA SILVA, D. A. P. **Mineralização da matéria orgânica do lodo aplicado no solo e produtividade do capim-tifton 85.** 2017. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2017. Disponível em:

<https://www.smarh.eng.ufmg.br/defesas/1311M.PDF>. Acesso em: 02 abril 2022.

DE ABREU, A. H. . **Reciclagem agrícola e floretal de lodo de esgoto no Estado do Rio de Janeiro.** 2017. Tese (Doutorado em Ciências). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2017. Disponível em:

http://r1.ufrj.br/wp/ppgcaf/files/2018/06/TESE_ALAN_ABREU.pdf. Acesso em: 05 abril 2022.

DELARICA, D. L. *et al.* Lodo de esgoto como fertilizante para a cultura do milho em dois tipos de solo. **Anais eletrônicos [...]**. Natal, RN: 2015. Disponível em:

<<http://eventosolos.org.br/cbcs2015/arearestrita/arquivos/1571.pdf>. Acesso em: 05 abril 2022.

EM, E. et al. **Alternativas de aproveitamento do lodo gerado na estação de tratamento de esgoto pajuçara, Maracajú - CE**. 2018. Instituto Federal De Educação , Ciência E Tecnologia Do Ceará – Ifce Agência Nacional De Águas – Ana Projetos Para a Gestão Municipal De Recursos Estação De Tratamento De Esgoto Pajuçara , Maracanaú, Fortaleza - CE, 2018. Disponível em: <https://capacitacao.ana.gov.br/conhecerc/h/bitstream/ana/1784/1/JANE%20MARY%20TARGINO%20MOREIRA.pdf>. Acesso em: 07 abril 2022.

EMBRAPA. Lodo de Esgoto é ótimo componente de substrato para plantas. **Research, Development and Innovation Plant production**, 2018. Disponível em: [https://www.embrapa.br/en/busca-de-noticias/-/noticia/32485890/lodo-de-esgoto-e-otimo-componente-de-substratos-para-plantas#:~:text=antes%20do%20uso-,Os%20lodos%20de%20esta%C3%A7%C3%A3o%20de%20tratamento%20de%20esgoto%20\(Letes\)%20s%C3%A3o,Esta%C3%A7%C3%B5es%20de%20Tratamento%20de%20Esgoto%20](https://www.embrapa.br/en/busca-de-noticias/-/noticia/32485890/lodo-de-esgoto-e-otimo-componente-de-substratos-para-plantas#:~:text=antes%20do%20uso-,Os%20lodos%20de%20esta%C3%A7%C3%A3o%20de%20tratamento%20de%20esgoto%20(Letes)%20s%C3%A3o,Esta%C3%A7%C3%B5es%20de%20Tratamento%20de%20Esgoto%20). Acesso em: 07 abril 2022.

FARIA, M. F. **Compostagem de lodo de esgoto e indicadores de patogenicidade**. 2018. Tese de doutorado em Ciência Florestal. Faculdade de Ciências Agrônômicas da Unesp. Botucatu, SP, 2018. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/180485>. Acesso em: 10 nov. 2022.

FERNANDES, J. A. F; SILVA, L. N. A. Técnicas de biorremediação microbiana de solos contaminados com metais pesados. **XII Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental**, Salvador, BA, 2021. Disponível em: <https://www.ibeas.org.br/congresso/Trabalhos2021/IV-006.pdf>. Acesso em 06 nov. 2022.

FIGUEIREDO, R. S. **Impacto da disposição de esgoto sanitário sobre características físicas e químicas e a comunidade microbiana do solo**. 2019. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos). Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2019. Disponível em: <https://www.smarh.eng.ufmg.br/defesas/1337M.PDF>. Acesso em: 20 out. 2021.

FREITAS, A. R. et al. **Crescimento de Mudas de Mamoeiro em Lodo de Esgoto**. Universidade Federal de Espírito Santo. SEAGRO: Anais de Semana Acadêmica do curso de Agronomia do CCAE/UFES. Universidade Federal do Espírito Santo. Espírito Santo, 2017. Disponível em: <https://periodicos.ufes.br/seagro/article/view/17417>. Acesso em: 20 out. 2021

GOMES, L. DE A. **Aproveitamento do lodo gerado em estações de tratamento de esgoto e a relação com o meio ambiente**. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso em Engenharia de Materiais. Universidade Federal de Minas Gerais, 2019. Disponível em: <https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/32595/1/APROVEITAMENTO%20DO%20LODO%20DE%20ESGOTO.pdf>. Acesso em: 20 out. 2021.

Guimarães, R. N; MATOS, A. T; CARPANEZ, T. G. Alterações químicas e sanitárias em solos e estéril de mineração receptores de lodo de esgoto sanitário, composto orgânico e fertilizante mineral. **Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental (ABES)**. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-415220200225>. Acesso em: 21 nov. 2022.

GONÇALVES, A. S. F; NETO, S. S. O; MACHADO, G. G. Uso de micronutrientes na agricultura: efeitos e aplicações. 2019. Artigo científico. **Revista Agronomia Brasileira**. v.3. Universidade Estadual Paulista, SP, 2019. DOI:10.29372/rab201912. Acesso em: 22 nov. 2022.

IAT-Instituto Água e Terra. Reservas Particulares do Patrimônio Natural (RPPN).2005. Disponível em: http://www.iat.pr.gov.br/sites/agua-terra/arquivos_restritos/files/documento/2020-07/pe_cabeca_cachorro_anexo_104_rppns.pdf. Acesso em: 07 abril 2022.

INÁCIO, L.; RODRIGUES, R. Utilização de Lodo de Esgoto na Cultura da Soja. 2004. **Embrapa**. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, Jaguariúna-SP, 2004. Disponível em: https://www.cnpma.embrapa.br/download/boletim_21.pdf. Acesso em: 10 abril 2021.

IWAKI, G. Destinação Final de Lodos de ETAs e ETEs. **Portal Tratamento de Água**, 2018. Disponível em: <https://tratamentodeagua.com.br/artigo/destinacao-final-de-lodos-de-et-as-e-etes/>. Acesso em: 10 abril 2021.

JÚNIOR, F.M.S. **Aproveitamento e Caracterização do lodo de ETE para fins energéticos e como adição Pozolân**. Universidade Federal do Tocantins. Palmas-TO, 2019. Disponível em: <https://repositorio.uft.edu.br/bitstream/11612/1452/1/Fernando%20Moreno%20Suarte%20Junior%20-%20Disserta%20c3%a7%20c3%a3o.pdf>. Acesso em: 10 abril 2021.

LACERDA, F.; NAVONI, J.; AMARAL, V. Biorremediação: educação em saúde e alternativas à poluição ambiental. **editoraifrn**. p.82. Natal-RN, 2019. E-book: <https://memoria.ifrn.edu.br/bitstream/handle/1044/1771/A%20biorremedia%20C3%A7%20C3%A3o.pdf?sequence=5&isAllowed=y#:~:text=A%20biorremedia%20C3%A7%20C3%A3o%20consiste%20em%20um,a%20compostos%20de%20baixa%20toxicidade>. Acesso em: 16 out. 2021.

LAMBERT, R. A. **Eficiência do uso da água residuária e do lodo de esgoto compostado nas propriedades químicas e físicas de solo cultivado com laranjeiras**. Tese (Doutorado em Agronomia, Irrigação e Drenagem). Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Botucatu – SP, 2013. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/103459/lambert_ta_dr_botfca.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em: 20 out. 2021.

LARA, A. I. DE et al. Uso E Manejo Do Lodo De Esgoto Na Agricultura. **Companhia de Saneamento do Paraná -Sanepar**. Programa de Pesquisa em Saneamento Básico, p. 98, Curitiba-PR,1999. Disponível em: http://www.finep.gov.br/images/apoio-e-financiamento/historico-de-programas/prosab/uso_manejo_lodo_agricultura.pdf. Acesso em: 10 abril 2022.

LEAL, M. L. A; CHAVES, J. S; SILVA, J. A; SILVA, L.S; SOARES, R. B; NASCIMENTO, J. P. S; MATOS, S. M; JUNIOR, D. L. T; NETO, A. F.B. Effect of management systems and land use on the population of soil microorganisms. **Reserch Society Development**, v.10, n.9, 2021. DOI: 10.33448/rsd-v10i9.17966. Acesso em: 10 novembro 2022.

LELES, D. **Avaliação ecotoxicológica de efluente têxtil com corante utilizando sementes de Lactuca sativa e Allium cepa**. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso em Engenharia Ambiental. Universidade Federal de Goiás. Goiânia-GO, 2017.

Disponível em: https://files.cercomp.ufg.br/weby/up/140/o/TCC_2_-_DENISE_LELES.pdf. Acesso em: 21 out 2021.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. Allium cepa test in environmental monitoring: A review on its application. **Mutation Research - Reviews in Mutation Research**, v. 682, n. 1, p. 71–81, 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383574209000404>. Acesso em: 21 out 2021.

LU, Q.; HE, Z. L.; STOFFELLA, P. J. Land application of biosolids in the USA: A review. **Applied and Environmental Soil Science**, v. 2012, 2012. DOI: <https://downloads.hindawi.com/journals/aess/2012/201462.pdf>. Acesso em: 23 out 2021.

DA SILVA, R.L. **Utilização do lodo de esgoto como fertilizante na cultura do trigo**. 2012. Projeto de Conclusão de Curso. Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis. Assis, SP, 2012. Disponível em: <https://cepein.femanet.com.br/BDigital/arqTccs/0911290175.pdf>. Acesso em: 10 abril 2022.

MARTINS, D. R.; DE CAMARGO, O. A.; BATAGLIA, O. C. Bean and beverage quality in coffee crops treated with sewage sludge. **Bragantia**, v. 64, n. 1, p. 115–126, 2005. DOI: <https://www.scielo.br/j/brag/a/J4JNbPbr5vxfTQ99gJXQccx/?format=html>. Acesso em: 10 abril 2022.

MARTINS, M.N.C. **Análise do Potencial Genotóxico e Mutagênico de Lodo de Esgoto em Allium cepa**. 2015. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento. Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias, Alegre- ES, 2015. Disponível em: http://bdtd.ibict.br/vufind/Record/UFES_42c8d064d692afcb91d24d18903858ca#:~:text=potencial%20genot%C3%B3xico...-,%An%C3%A1lise%20do%20potencial%20genot%C3%B3xico%20e%20mutag%C3%AAnico%20de%20lodo%20de%20esgoto,propriedades%20t%C3%B3xicas%2C%20genot%C3%B3xicas%20e%20mutag%C3%AAnicas. Acesso em: 01 nov. 2021.

MAZINI, L. C. **Associação dos Engenheiros e Arquitetos de ITU**. 2016. Disponível em: <https://aeaitu.org.br/uso-agricola-do-lodo-de-esgoto/#:~:text=O%20lodo%20de%20esgoto%20%C3%A9,do%20ciclo%20urbano%20da%20%C3%A1gua.&text=Normalmente%20nos%20sistemas%20de%20tratamentos,s%C3%B3lidos%20para%20cada%20100000%20habitantes>. Acesso em: 15 abril 2022.

MAZIVIERO, G.T. **Avaliação do Potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico de lodo de esgoto por meio dos sistemas-teste Allium cepa e Tradescantia pallida**. 2011. Dissertação (Mestrado em Biociências). Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho. Rio Claro, SP, 2011. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/87700/maziviero_gt_me_rcla.pdf;jsessionid=F5FFFFFF4BDBC54B2EADF7FED39AC08DD?sequence=1. Acesso em: 02 nov 2021.

MAZZEO, D. E. C. et al. Monitoring the natural attenuation of a sewage sludge toxicity using the Allium cepa test. **Ecological Indicators**, v. 56, p. 60–69, 2015. DOI: <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/177339/2-s2.0->

84928473982.pdf?sequence=1. Acesso em: 04 nov. 2021

MAZZEO, D.E.C; FERNANDES, T.C.C; MARIN-MORALES, M.A. **Attenuation in the detoxification of Sewage Sludge by means of genotoxic and mutagenic bioassays.** Departamento de Biologia. Instituto de Biociências. Universidade Estadual de São Paulo-UNESP. Rio Claro, SP, Brasil, 2016. DOI: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045653516310785?via%3Dihub>. Acesso em: 02 nov 2021.

MELO, L. A; LIGO, M. A. Uso de Lodo de Esgoto em Bananicultura: Efeitos de doses no primeiro ano de aplicação. **Revista Científica Rural**, v. 11, n. 2, p. 33-38, 2006. Jaguariúna – SP, 2006. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/125725/1/2006AP-034.pdf>. Acesso em: 15 abril 2022.

MENDES, A. M. S. **Introdução a fertilidade do solo.** Universidade Federal da Bahia, Barreiras, BA, 2007. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CPATSA/35800/1/OPB1291.pdf>. Acesso em: 06 novembro 2022.

MICHELAM, T. H. **Sistemas de tratamento de efluente sanitário utilizados no município de Bebedouro / SP** (Systems of treatment of sanitary effluent used in the municipality of. p. 1–21, 2007. Disponível em: <https://www.unifafibe.com.br/revistasonline/arquivos/engenhariaciviletecnologia/sumario/52/14052018175230.pdf>. Acesso em: 15 abril 2022.

MDR, Ministério do Desenvolvimento Regional. **Cobertura de saneamento básico cresce no Brasil, mostra diagnóstico elaborado pelo Governo Federal.** Governo Federal, 2021. Disponível em: [https://www.gov.br/mdr/pt-br/noticias/cobertura-de-saneamento-basico-cresce-no-brasil-mostra-diagnostico-elaborado-pelo-governo-federal#:~:text=Com%20o%20aumento%20das%20liga%C3%A7%C3%B5es,Pa%C3%ADs\)%20t%C3%AAm%20acesso%20aos%20servi%C3%A7os](https://www.gov.br/mdr/pt-br/noticias/cobertura-de-saneamento-basico-cresce-no-brasil-mostra-diagnostico-elaborado-pelo-governo-federal#:~:text=Com%20o%20aumento%20das%20liga%C3%A7%C3%B5es,Pa%C3%ADs)%20t%C3%AAm%20acesso%20aos%20servi%C3%A7os). Acesso em: 16 abril 2022.

MONTEIRO, L. S. V. E. **Sucessão da comunidade fúngica termofílica e termotolerante na compostagem da gordura de frango.** 2019. Trabalho de conclusão de curso (Engenharia Ambiental). Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Rio Claro, SP, 2019. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/203757>. Acesso em: 21 nov. 2022.

MONTEIRO, T. L. V. **Efeito Da Aplicação De Lodo E De Efluente De Reator Uasb No Cultivo De Feijão Caupi (Vigna Unguiculata (L.) Walp).** 2009. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil). Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE, 2009. DOI: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/5344>. Acesso em: 16 abril 2022.

MULLER, A. **Determinação de nutrientes, contaminantes e elementos-traço em fertilizantes minerais por MIP OES.** 2019. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2019. DOI: <https://lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/204529/001109281.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 06 novembro 2022.

OLIVEIRA, A. DA S. **Tratamento de esgoto pelo sistema de lodos ativados no município de Ribeirão Preto, SP:** Avaliação da remoção de metais pesados. 2006.

Dissertação (Mestrado em Enfermagem em Saúde Pública). Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto-SP, 2006. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/22/22133/tde-20062006-160725/publico/AlineDaSilvaOliveira.pdf>. Acesso em: 16 abril 2022.

OLIVEIRA, F. **Disposição de Lodo de Esgoto e Composto de Lixo Urbano num Latossolo Vermelho-Amarelo Cultivado com Cana-de-açúcar**. 2000. Tese (Doutorado em Agronomia). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, 2000. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11140/tde-20210104-180736/publico/OliveiraFernandoCarvalho.pdf>. 16 abril 2022.

OLIVEIRA NETTO, A. et al. Biorremediação vegetal do esgoto domiciliar: o caso da fossa verde em comunidades rurais do Alto Sertão Alagoano. **Revista Produção e Desenvolvimento**, v. 1, n. 3, p. 103–113, 2015. DOI: <http://revistas.cefet-rj.br/index.php/producaoedesenvolvimento>. Acesso em: 06 nov 2021.

OLIVEIRA, R.J. et al. **Águas e Florestas: desafio para conservação e utilização**. editora Científica. ed. 1. v.1. Guarujá-SP, 2021. Disponível em: <https://downloads.editoracientifica.org/books/978-65-89826-21-7.pdf>. Acesso em: 06 nov 2022.

PARRÉ, F. M. **Impactos do tipo de manejo de plantas invasoras nos microrganismos do solo em plantio de Restauração Florestal**. 2020. Trabalho de Conclusão do Curso de Agroecologia. Universidade Federal de São Carlos. Araras, SP, 2020. Disponível em: <https://repositorio.ufscar.br/handle/ufscar/13125?show=full>. Acesso em: 10 novembro 2022.

PARVAN, L. G. et al. Bioensaio com Allium cepa revela genotoxicidade de herbicida com flumioxazina. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 11, n. 0, p. 1–10, 2020. DOI: http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2176-62232020000100018. Acesso em: 02 nov. 2021.

PEDROZA, M. M. Domestic sewage sludge: physical, chemical and biological characteristics. **Revista Multidebates**, p. 206–218, 2019. DOI: <https://revista.faculdadeitop.edu.br/index.php/revista/article/view/173/164>. Acesso em: 03 nov 2021.

RIBEIRO, J. W.; ROOKE, J. M. S. Saneamento básico e sua relação com o meio ambiente e a saúde pública. 2010. Trabalho de Conclusão de Curso de Especialização em Análise Ambiental. **Faculdade de Engenharia da UFJF**, Juiz de Fora, 2010. Disponível em: <https://www.ufjf.br/analiseambiental/files/2009/11/TCC-SaneamentoeSa%C3%BAde.pdf>. Acesso em: 05 abril 2022.

RODRIGUES, M. . **Lodo de esgoto como matriz orgânica na formulação de fertilizante organomineral para a cultura da soja**. 2019. Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, SP, 2019. Disponível em: https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11140/tde-04092019-151830/publico/Mayra_Maniero_Rodrigues_versao_revisada.pdf. Acesso em: 05 abril 2022.

RODRIGUES, M. N. et al. **Decomposição de lodo de esgoto utilizando-se cultivo com gramíneas e aeração para uso como adubo orgânico**. 2022. Artigo Técnico.

Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental - ABES, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-415220200262>. Acesso em: 21 nov. 2022.

SANEPAR. Companhia de Saneamento do Paraná, 2020. Disponível em: <https://site.sanepar.com.br/a-sanepar/perfil>. Acesso em: 04 nov 2021.

SANEPAR, Companhia de Saneamento do Paraná. Sanepar amplia distribuição de adubo para agricultores. 2020. Disponível em: <https://site.sanepar.com.br/noticias/sanepar-amplia-distribuicao-de-adubo-para-agricultores#:~:text=O%20adubo%20produzido%20a%20partir,de%2046%20munic%C3%ADpios%20no%20Paran%C3%A1>. Acesso em: 07 abril 2022.

SANEPAR, Companhia de Saneamento do Paraná. Agricultores ampliam lodo de esgoto da Sanepar na safra 2019/2020, 2020. Disponível em: <https://site.sanepar.com.br/noticias/agricultores-aplicam-lodo-de-esgoto-da-sanepar-na-safra-20192020>. Acesso em: 07 abril 2022.

SANTANA, J. C. A. **Frações lábeis e recalitrantes da matéria orgânica de solos da região semiárida potiguar. Trabalho de conclusão de curso**. 2019. Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Mossoró, RN, 2019. Disponível em: <https://repositorio.ufersa.edu.br/handle/prefix/3271>. Acesso em: 20 nov. 2022.

SANTOS, A. B. **Caracterização, tratamento e gerenciamento de subprodutos de correntes de esgoto segregadas e não segregadas em empreendimentos habitacionais**. Imprece, 2019. Disponível em: http://www.finep.gov.br/images/apoio-e-financiamento/historico-de-programas/prosab/06_11_2019_ProSab_Tratamento_de_Esgoto.pdf. Acesso em: 10 nov. 2022.

SANTOS, T. **Avaliação Da Detoxificação De Associações De Lodos De Ete E Eta Pelo Bioensaio De Allium Cepa**. Trabalho de Conclusão de Curso em Ecologia. Universidade Estadual Paulista. Rio Claro, 2018. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/157048/000907049.pdf?sequencia=1&isAllowed=y>. Acesso em: 07 nov. 2021.

SILVA, C. R. F.; TOFOLO, L. **Avaliação do potencial citotóxico e genotóxico do rio alegria, Medianeira-PR utilizando bioensaios com *Allium cepa***. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso em Tecnologia em Meio Ambiente. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Medianeira-PR, 2017. Disponível em: <http://repositorio.utfpr.edu.br:8080/jspui/bitstream/1/13527/1/avalia%C3%A7%C3%A3o3potencialrioalegria.pdf>. Acesso em: 07 nov 2021.

SILVA, D. A; MATOS, A. T; MATOS, M. P. Mineralization of organic matter and productivity of tifton 85 grass (*Cynodon* spp.) in soil incorporated with stabilized sludge from a vertical flow constructed wetland. **Journal of Water, Sanitation and Hygiene for Development**. 2019. Disponível em: <http://iwaponline.com/washdev/article-pdf/9/2/309/643683/washdev0090309.pdf>. Acesso em: 20 nov. 2022.

SILVA, L. J. DA. **Processo de Landfarming para tratamento de Resíduos Oleosos**. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro-RJ, 2009. Disponível em: <http://tpqb.eq.ufrj.br/download/landfarming-para-tratamento-de-residuos-oleosos.pdf>. Acesso em: 06 mar 2022.

SOUZA, A. K. R; MOURASSUTI, C. Y; DEUS, W. B. Poluição do ambiente por metais pesados e utilização de vegetais como bioindicadores. **ACTA Biomedica Brasiliensia**. 2018. Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul, Dourados, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.18571/acbm.189>. Acesso em: 06 novembro 2022.

SOMMAGGIO, L. R. D. **Avaliação da possibilidade de detoxicação e utilização agrícola de lodo de esgoto, após bioestimulação, por meio de diferentes bioensaios**. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Universidade Estadual Paulista. Rio Claro-SP, 2016. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/143069/sommaggio_lrd_me_rcla_par.pdf?sequence=5&isAllowed=y. Acesso em: 06 out 2021.

SNIS, Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento. Esgotamento Sanitário no Brasil, 2020. Disponível em: <http://www.snis.gov.br/painel-informacoes-saneamento-brasil/web/painel-esgotamento-sanitario>. Acesso em: 05 mar 2022.

UFMG-INCT Sustentáveis. Principais Métodos de tratamento de esgoto, 2019. Disponível em: <https://etes-sustentaveis.org/metodos-tratamento-de-esgoto/>. Acesso em: 06 mar 2022.

ZAGALLO, A. S. **Esgotamento Sanitário e Vulnerabilidade Social: um estudo de caso em São Luís-MA com a utilização de técnicas de geoprocessamento**. 2018. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Sustentável). Universidade de Brasília. Brasília-DF, 2018. Disponível em: file:///C:/Users/ADM/Downloads/2018_SofiaAraujoZagallo.pdf. Acesso em: 07 mar 2022.

ZAVELINSKI, J. E. **Inovação no Aproveitamento de Lodo de Esgoto na Agricultura: Análise à Luz da Perspectiva da Ecoinovação**. 2019. Dissertação (Mestrado em Administração). Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba-PR, 2019. Disponível em: <https://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/4289>. Acesso em: 10 abril 2022.

ZUBA JUNIOR, G. R. et al. Processos de geração e destinação do lodo de esgoto. **Vozes dos Vales**, v. 9, n. 18, p. 1–16, 2020. Disponível em: <http://site.ufvjm.edu.br/revistamultidisciplinar/files/2020/10/Michelle.pdf>. Acesso em: 07 abril 2022.