

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA**

GISLAYNE DE ARAUJO BITENCOURT

**Caracterização ecotoxicológica de lodo gerado em
estação de tratamento de água**

Piracicaba

2016

GISLAYNE DE ARAUJO BITENCOURT

**Caracterização ecotoxicológica de lodo gerado em
estação de tratamento de água**

Versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011

**Tese apresentada ao Centro de Energia
Nuclear na Agricultura da Universidade de
São Paulo para a obtenção do título de
Doutor em Ciências**

**Área de Concentração: Biologia na
Agricultura e no Ambiente**

**Orientadora: Profa. Dra. Regina Teresa
Rosim Monteiro**

Piracicaba

2016

AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP

Bitencourt, Gislayne de Araujo

Caracterização ecotoxicológica de lodo gerado em estação de tratamento de água / Gislayne de Araujo Bitencourt; orientadora Regina Teresa Rosim Monteiro. - - versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2016.

125 p. : il.

Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Biologia na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo.

1. Biodegradação 2. Ecotoxicologia 3. Fungos celulolíticos 4. Milho 5. Poluição ambiental 6. Poluição do solo 7. Resíduos sólidos 8. Toxicologia ambiental 9. Tratamento de água I. Título

CDU 504.5 : 268.39

*Aos meus pais Vera Lúcia de Araujo Bitencourt e
Godofredo Alves Bitencourt Filho pelo amor eterno
e incondicional apoio e confiança. Pelos ensinamentos e
exemplos de valores de honestidade, humildade, respeito e
determinação.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela concessão do dom da vida, pela fé que me mantém viva e fiel à vida honesta de trabalhos e estudos e guiar-me nessa estrada da vida.

Aos meus pais e meu irmão Vinicius de Araujo Bitencourt e a toda a minha família (Araujos, Bitencourts & Agregados) por entenderem minha ausência em vários momentos desde que ingressei na pós graduação, pelo apoio incondicional em todos os momentos, principalmente pelo auxílio direto e indireto em minha formação, não apenas profissional mas pessoal.

Ao meu companheiro Lucas Fernando S. Gastardelli e sua família pelo carinho, compreensão, paciência, apoio e toda ajuda conferida durante esta trajetória.

Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP) e ao programa de Doutorado em Ciências (Biologia na Agricultura e Meio Ambiente) e a todos os funcionários desta instituição pela oportunidade, amizade e apoio.

Às agências de fomento: Capes e CNPq pela concessão da bolsa de doutorado.

À professora Dra. Regina Teresa Rosim Monteiro pela oportunidade, orientação e ensinamentos durante todo o curso.

Em especial, aos professores Dr. Cássio Hamilton Abreu Júnior, Dr. Takashi Muraoka, Dra. Célia Regina Montes e Dr. Lucas Anjos da Silva e aos doutorandos Gleison de Souza, João Paulo Apolari e Joaquim Frazão e, ao mestrando Antônio L. Florentino, pela ajuda, apoio, amizade, sugestões, ensinamentos e contribuições no trabalho.

A todos os professores que fizeram parte do meu aprendizado e que colaboraram com a minha formação acadêmica.

À bibliotecária Marília R. G. Henyei, pela atenção e correções realizada na tese.

Aos técnicos de laboratório Luís Eduardo Fonseca, Cleusa Pereira Cabral, Marileuza Aparecida Bassi Elias e Sandra Tereza Pereira pela disponibilidade, auxílio e amizade.

Aos colegas do laboratório de Ecologia Aplicada (CENA/USP): André, Camila, Djanira, Gabriela, Gilda, Jacqueline, Joyce, Natália e Vinicius, pela ajuda nesse trabalho e por todos os momentos compartilhados no laboratório durante o doutorado;

Aos meus amigos queridos, Adriana Castro, Alan Rodrigo Panosso, André Luiz Julien Ferraz, Bruno Portela Brasileiro, Brunno Aguiar, Daiane Fausto, Daniela Faria Florêncio, Delma Rodrigues, Elaine Costa Souza, Evelyn Cathcart, Felipe Rodrigues, Laura Bomdespacho, Laura Penalva, Marli Regina Santos, Regiane Rubia, Rute Santos, Simone Moraes, que mesmo distantes sempre me apoiaram e almejaram junto a mim essa conquista. Amo vocês.

Por fim, agradeço a todos que contribuíram diretamente ou indiretamente na realização deste trabalho.

Gratidão, gratidão, gratidão.

*“Talvez não tenhamos conseguido fazer o melhor, mas
lutamos para que o melhor fosse feito.
Não sou o que deveria ser, mas graças a Deus, não sou o
que era antes”.*

Martin Luther King

RESUMO

BITENCOURT, G. A. **Caracterização ecotoxicológica de lodo gerado em estação de tratamento de água**. 2016. 125 p. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2016.

O lodo proveniente de estações de tratamento de água (ETA) é formado pela decantação do material particulado presente na água e sua composição varia conforme as atividades do entorno do manancial e dos produtos acrescentados durante o processo de potabilização da água. Seu destino é nos cursos de água ou armazenado na ETA, gerando um passivo ambiental. Esse, na forma *in natura* não apresenta características suficientes para sua aplicação em solos, no entanto, agregado ao bagaço e vinhaça de cana-de-açúcar e tratado com os fungos *Pleurotus* spp., constituirá um produto com melhor estruturação, devido a capacidade do fungo em degradar, mineralizar e transformar substâncias poluentes. O objetivo desse estudo foi caracterizar o lodo gerado em ETA quanto a sua toxicidade utilizando plântulas de milho e avaliar sua utilização na agricultura como material orgânico após o tratamento com *Pleurotus*, para uma destinação final adequada do lodo. Foram realizados dois experimentos em laboratório, o primeiro para definir a proporção adequada da composição da mistura em cinco composições (0:1; 1:1; 1:2; 1:3 e 2:1 de lodo/bagaço), inoculadas com cada uma das linhagens dos fungos (*P. sajor-caju* e *P. ostreatus*) incubados por 12 dias. Após, avaliou-se o pH; condutividade elétrica, umidade, análises químicas de fertilidade e a atividade de três enzimas (lacase, peroxidase e manganês peroxidase). O segundo experimento foi realizado após a definição da composição da mistura e a linhagem de fungo que proporcionou os melhores resultados. A mistura de 1:2 (lodo/bagaço) com *P. sajor-caju* foi incubada por 60 dias. Avaliações antes da inoculação e após 60 dias de incubação foram realizadas da mesma maneira que no primeiro experimento, acrescentados das análises dos elementos químicos potencialmente tóxicos. O potencial de utilização agrônômico da mistura tratada foi realizado incorporando o material ao solo nas concentrações de 0; 1; 10 e 100 de mistura/solo (g/kg). Dez sementes de milho (*Zea mays*) foram semeadas, após cinco dias de desenvolvimento realizou-se o desbaste, deixando cinco plântulas por vaso. As plântulas permaneceram em condições de casa de vegetação por mais 14 dias. Foram avaliadas: porcentagem de germinação, comprimento de raiz e parte aérea das plântulas e a produção de matéria seca e, os teores e acúmulo de elementos químicos potencialmente tóxicos nas raízes e parte aérea de milho. A proporção de 1: 2 da mistura tratada com *P. sajor-caju* foi escolhida com base nas características químicas avaliadas, produção de enzimas, redução de odor e descoloração da mistura. O material tratado não apresentou efeitos de toxicidade em *Z. mays* até a concentração de 10 g/kg (mistura/solo). Acima desta, na concentração de 100 g/kg observou-se a redução de parte aérea e aumento do crescimento das raízes e, elevadas concentrações de Al, Fe K e P. O teste de mistura e ecotoxicológico utilizando o lodo de ETA evidenciou sua utilização como material componente de um produto orgânico associado ao bagaço e vinhaça, na proporção de 1:2 (lodo/bagaço) inoculado com *P. sajor-caju* incubado por 60 dias em condições de laboratório.

Palavras-chave: Bagaço. Biodegradação. *Pleurotus*. Reciclagem. Milho. Vinhaça.

ABSTRACT

BITENCOURT, G. A. **Ecotoxicological characterization of sludge produced in water treatment plant**. 2016. 125 p. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2016.

The sludge generation from water treatment plants (WTP) is formed by the setting of the particulate matter. The chemical composition of the sludge varies according to the activities surrounding the watershed and products added during the water purifying process. The normal destination of the sludge are the watercourses or the storage in the area of WTP. The sludge in nature form does not have enough features to their application to land. However, added to bagasse and vinasse, after going through a biological treatment using the fungi of genus *Pleurotus*, will be transformed in a product with better structuring due to the capacity of degradation, mineralization and conversion of pollutants. Based on this, the objective of this study is to characterize the sludge produced in WTP on its toxicity and evaluate the viability of this utilization in agriculture as an organic material after *Pleurotus* treatment. There were two experiments in the laboratory, the first to set the proper proportion in the composition of the mixture testing in five compositions 1:0; 1:1; 1:2; 1:3 and 2:1 (sludge/bagasse), inoculated with each strain of the *P. sajor-caju* and *P. ostreatus*. After 12 days of incubation were evaluated of pH, electrical conductivity, moisture and the activity of three enzymes (laccase, peroxidase and manganese peroxidase). The second experiment was carried out after setting the composition of the mixture and the fungus strain that provided the best results. The mixture of 1:2 (sludge/bagasse) inoculated with *P. sajor-caju* with evaluations before and after 60 days of incubation. The treated material was evaluated in the same way as the first experiment, with further analyses of organic carbon, total nitrogen and chemical nutrients or potentially toxic elements. The ecotoxicological test was carried out by incorporating the mixture into the soil in pots at concentrations of 0; 1; 10 and 100 of mixture/soil (g/kg). After that the maize (*Zea mays*) was sown and grown in conditions of green house for 14 days. Then were evaluated: percentage of germination, plant height, root length, dry matter production, and the content and accumulation of nutrient and/or potentially toxic chemicals elements. The ratio of 1:2 (sludge/bagasse) inoculated with *P. sajor-caju* was chosen based on the results of chemical characteristics, production of enzymes, reducing odor and discoloration of the treated mixture. This material applied in soils showed no toxic effects in *Zea mays* up to a concentration of 10 g/kg (mixture/soil). Above this, in the concentration of 100 g/kg, was observed the shoot reduction, root growth and, high concentrations of Al, Fe, K and P. The mixture composition and ecotoxicological tests, revealed the potential of use sludge of WTS in material organic formulation together with bagasse and vinasse in the ratio 1:2 (sludge/bagasse) inoculated with *P. sajor-caju* incubated for 60 days under laboratory conditions.

Key-words: Bagasse. Biodegradation. *Pleurotus*. Recycling. Corn. Vinasse.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma geral do tratamento de água – ETA 3 Capim Fino.....	25
Figura 2 - Lagoa de decantação da ETA Capim Fino, Piracicaba – SP.....	26
Figura 3 - Estação de Tratamento do Lodo da ETA Capim Fino (a) Centrifugação; (b) Adição de acrilamida; (c) Despejo do lodo para secagem	27
Figura 4 - Cultivo e armazenamento dos fungos do gênero <i>Pleurotus</i> (a) Cultivo em placa de Petri contendo meio MEA por sete dias; (b) Cultivo em grão de trigo por sete dias	45
Figura 5 - Mistura 1:2 (lodo/bagaço) após 60 dias de incubação	47
Figura 6 - Teste de toxicidade com <i>Zea mays</i> em casa de vegetação	50
Figura 7 - Porcentagem da umidade (a), pH (b) e condutividade elétrica (c) das misturas de L:B (lodo/bagaço) após 12 dias com <i>P. sajor-caju</i> e <i>P. ostreatus</i>	62
Figura 8 - Atividade enzimática da lacase(a); peroxidase (b) e manganês peroxidase (c) nas misturas de L:B (lodo/bagaço) após 12 dias de incubação com <i>P. sajor-caju</i> e <i>P. ostreatus</i>	64
Figura 9 - Atividade enzimática da lacase (a); peroxidase (b) e manganês peroxidase (c) da mistura de 1: 2 (lodo/bagaço) em cinco tempos de incubação (0, 12, 24, 48 e 60 dias) com <i>P. sajor-caju</i>	71
Figura 10 - Porcentagem de germinação das sementes, comprimento de raiz e de parte aérea (caule + folhas) (cm), biomassa seca de raiz e parte aérea (g) de <i>Zea mays</i> cultivada em solo com aplicação da mistura 1: 2 (lodo/bagaço) tratada com <i>P. sajor-caju</i>	73

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição das misturas em cinco proporções de L:B (lodo/bagaço)	46
Tabela 2 - Caracterização química do solo coletado na Esalq/USP, Piracicaba-SP	49
Tabela 3 - Características química e física do lodo gerado na ETA Capim Fino, Piracicaba-SP.....	53
Tabela 4 - Concentração média pseudo-disponível dos elementos químicos, em mg/kg, obtidos por ICP-OES presentes na amostra de lodo da ETA Capim Fino	56
Tabela 5 - Caracterização química do bagaço de cana-de-açúcar	58
Tabela 6 - Caracterização química da vinhaça bruta coletada na Usina Iracema, Iracemápolis-SP	59
Tabela 7 - Caracterização química da mistura 1: 2 (lodo/bagaço) antes e após incubação com <i>P. sajor-caju</i> por 60 dias.....	67
Tabela 8 – Concentração pseudo-totais dos elementos químicos em mg/kg obtidos por ICP-OES presentes na mistura 1: 2 (lodo/bagaço) antes e após o tratamento com <i>P. sajor-caju</i>	69
Tabela 9 - Concentração pseudo-totais dos elementos em mg/kg obtidos por ICP-OES presentes nas raízes e parte aérea de <i>Zea mays</i> cultivada em solo com aplicação da mistura 1: 2 (lodo/bagaço) nas concentrações de 0, 1, 10 e 100 g/kg (mistura/solo)	76
Tabela 10 - Análise de correlação simples de Pearson entre as concentrações do material tratado com fungo com os teores de elementos químicos quantificados nas raízes e parte aérea de <i>Z. mays</i>	78

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas
AWWA – American Water Worlds Association
CENA – Centro de Energia Nuclear na Agricultura
CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
CE – Condutividade elétrica
CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente
COT – Carbono orgânico total
CPA – Comprimento de parte aérea
CRA – Capacidade de retenção de água
CR – Comprimento de raiz
CTC – Capacidade de troca catiônica
DBO – Demanda bioquímica de oxigênio
DQO – Demanda química de oxigênio
DRX - Difração de raios X
ESALQ – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz
ETA – Estação de Tratamento de Água
ETE – Estação de Tratamento de Esgoto
ETL – Estação de Tratamento de Lodo
ICP OES – Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado
ICP MS – Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado
ISO – International Organization for Standardization
LD – Limite de detecção dos métodos
MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MEA – Extrato de malte + ágar
MMA – Ministério do Meio Ambiente
MnP – Manganês Peroxidase
MO – Matéria orgânica
PAC – Hidroxi-cloreto de polialumínio
pH – potencial hidrogeniônico
SABESP – Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo
SEMAE – Serviço municipal de Água e Esgoto
UI L⁻¹ - Unidade Internacional por Litro

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	21
2. REVISÃO DE LITERATURA	24
2.1 Estação de tratamento de água e geração do lodo	24
2.2 Classificação, composição e destinação do lodo de ETA	28
2.3 Tratamento biológico do lodo	31
2.3.1 Composição da mistura: lodo de ETA, bagaço e vinhaça	33
2.3.2. Utilização dos fungos do gênero <i>Pleurotus</i> no tratamento	34
2.3.3 Enzimas ligninolíticas	37
2.3.3.1 Lacases	37
2.3.3.2 Peroxidase	38
2.3.3.3 Manganês peroxidase	39
2.4 Avaliação do material tratado	40
2.4.1 Teste de toxicidade com plantas	41
3. MATERIAL E MÉTODOS	43
3.1 Coleta de material	43
3.2 Caracterização do lodo de ETA.....	43
3.3 Caracterização do bagaço.....	44
3.4. Caracterização da vinhaça	44
3.5 Cultivo e armazenamento dos fungos	44
3.6 Composição da mistura para o tratamento.....	46
3.7 Tratamento com <i>Pleurotus sajor-caju</i>	47
3.8 Teste de toxicidade com <i>Zea mays</i>	48
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52
4.1 Caracterização do lodo de ETA.....	52
4.2 Caracterização do bagaço e da vinhaça de cana-de-açúcar.....	58
4.3 Testes de composição das misturas	60
4.4 Tratamento do lodo com <i>Pleurotus sajor-caju</i>	66
4.5 Teste de toxicidade utilizando <i>Zea mays</i>	72
5. CONCLUSÕES	84
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	85
REFERÊNCIAS.....	86
ANEXOS	99

1. INTRODUÇÃO

A demanda de água com qualidade e em quantidade suficiente para atender o crescimento populacional, representa um dos maiores desafios nos dias atuais. Por mais que existam várias tecnologias avançadas para o tratamento da água para fins de potabilidade, a crescente contaminação dos mananciais, utilizados para abastecimento público contaminados com esgotos domésticos e industriais, tratados ou não, o assoreamento dos rios e a escassez das fontes de água e mananciais, irão influenciar na qualidade e quantidade do resíduo gerado pelas Estações de Tratamento de Água (ETA) após o processo de potabilização da água.

O resíduo denominado lodo de ETA apresenta granulometria fina, de aspecto pastoso e úmido, é formado pela decantação do material particulado presente na água, sua composição varia conforme as atividades do entorno do manancial, da qualidade da água e dos produtos acrescentados durante o processo de potabilização.

O lodo de ETA é classificado como um resíduo sólido classe II A – não inerte, sendo necessário ser tratado e disposto de acordo com as recomendações de descarte para resíduos sólidos, ou seja, deve ser minimizado, utilizado e/ou reciclado de maneira ambientalmente correta segundo a política nacional de resíduos sólidos Lei 12.305.

A maioria das ETAs lança seus resíduos nos cursos d' água contrariando a legislação ou armazenam em leiras na própria área da ETA. Sendo assim, alternativas econômicas e tecnicamente viáveis, além de ambientalmente vantajosas são necessárias para uma destinação final adequada do lodo de ETA.

O lodo de ETA *in natura* não apresenta características adequadas para sua aplicação em solos, devido a alta umidade, composição argilosa, baixa quantidade de matéria orgânica e baixa relação carbono e nitrogênio (C/N). Quando aplicado isoladamente, ocasiona a compactação do solo, impedindo o crescimento das plantas.

No Brasil ainda não existe lei que regulamente a utilização do lodo de ETA em solos. Contudo, a utilização desse material agregado a outros materiais, como vinhaça e bagaço de cana-de-açúcar, poderá melhorar a estruturação e adicionar carbono ao lodo de ETA que, após um tratamento utilizando fungos do gênero

Pleurotus poderá apresentar características para ser utilizado de maneira benéfica na agricultura.

O interesse na produção de compostos orgânicos a partir de resíduos industriais, tais como o lodo de ETA tem crescido como alternativa de destinação adequada e na redução do volume do passivo ambiental, promovendo sua utilização na obtenção como produto orgânico para uso agrônômico. Há diversas formas de tratamento para os efluentes, sendo que o biológico utiliza microrganismos com capacidade de degradar compostos tóxicos no ambiente.

As pesquisas de degradação de compostos químicos têm mostrado vários microrganismos extremamente versáteis capazes de degradar substâncias recalcitrantes. Os caminhos atuais da biotecnologia indicam os fungos do gênero *Pleurotus* degradadores de lignina, eficientes na degradação de uma grande variedade de compostos tóxicos e de corantes, com alto potencial de ação na recuperação de ambientes contaminados.

A escolha desse gênero foi baseada na afinidade de crescimento do fungo no bagaço e na vinhaça de cana-de-açúcar, por serem considerados bons degradadores de celulose, hemicelulose e lignina e, sendo do grupo de cogumelos comestíveis, não produtores de toxinas, além de serem produzidos em larga escala e seus resíduos de produção comercial de Shimeji servirem de inóculo para degradação de poluentes.

Após a formulação da mistura e seu tratamento em laboratório é necessário avaliar a viabilidade de utilização do material obtido. Para isto, existe uma variedade de testes biológicos para a avaliação da fitotoxicidade de materiais potencialmente tóxicos antes de determinar os valores limites de aplicação ao solo. A norma ISO 11269 (2014) descreve um método para avaliar os efeitos de poluentes por meio da emergência e do crescimento inicial de vegetais superiores, comparando com uma testemunha (ensaio em branco).

Com a perspectiva de associar o lodo de ETA aos subprodutos da indústria canavieira, que são materiais orgânicos e estão bastante disponíveis em áreas de usinas de açúcar e álcool, principalmente no estado de São Paulo, a vinhaça e o bagaço foram utilizados como matéria prima na formulação de uma mistura orgânica. O objetivo deste estudo foi caracterizar o lodo gerado em ETA quanto a sua toxicidade utilizando plântulas de milho e avaliar seu potencial de

utilização segura na agricultura, após adicionar matéria orgânica e realizar o tratamento com *Pleurotus* visando uma destinação final adequada.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Estação de tratamento de água e geração do lodo

A Estação de Tratamento de Água (ETA) é o local das instalações e equipamentos destinados a realizar o tratamento da água bruta advinda dos mananciais e transformar em água potável para o consumo humano dentro dos padrões de potabilidade segundo a Portaria 2914 de 2011 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2011).

O serviço de água e esgoto de Piracicaba – SP possui três estações de tratamento de água sendo que a ETA Capim Fino trata aproximadamente 1.500 litros de água por segundo captada do rio Corumbataí, sendo responsável por 90% da produção da água distribuída na cidade.

O rio Corumbataí representa o principal manancial de abastecimento da cidade de Piracicaba – SP, está localizado na porção centro-leste de São Paulo a 170 Km da capital paulista, sua nascente está localizada na cidade de Analândia, abrangendo os municípios de Analândia, Corumbataí, Itirapina, Ipeúna, Santa Gertrudes, Rio Claro, Rio Claro, Charqueada e Piracicaba, sendo considerado Classe II (CETESB, 2010), exigindo, portanto, tecnologias de tratamento de ciclo completo (Figura 1).

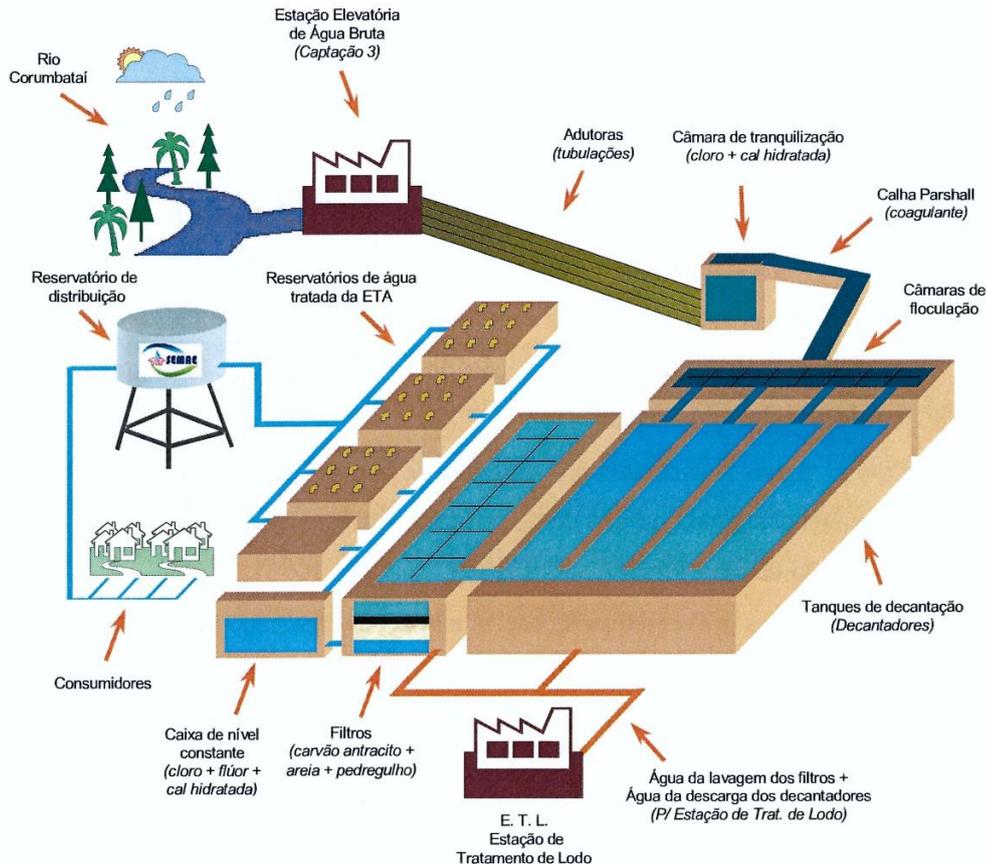


Figura 1 - Fluxograma geral do tratamento de água – ETA 3 Capim Fino (Fonte: SEMAE, 2005)

No Brasil cerca de 80% das ETA utilizam o tratamento do tipo convencional, compreendendo os seguintes processos (SEMAE, 2005):

- Mistura rápida: processo de adição e homogeneização dos coagulantes químicos em toda a massa de água bruta. Alguns dos principais coagulantes químicos utilizados no tratamento de água são sulfato de alumínio, sulfato férrico, cloreto férrico, cloreto de polialumínio (DI BERNARDO; DANTAS, 2005a; SEMAE, 2005). Nessa fase inicial do tratamento, pode-se realizar uma dosagem de cloro (pré-cloração) para desinfecção e oxidação de metais e matéria orgânica presentes na água bruta, além do ajuste de pH de coagulação;

- Coagulação/Floculação: após a adição do coagulante, inicia-se uma reação que dará origem a um material floculável e gelatinoso, com propriedade de agrupar as partículas em suspensão na água, juntamente com a matéria coloidal (microrganismos, corantes, argilas, matéria orgânica), formando os flocos. Esse processo ocorre nas câmaras de floculação, que são tanques de concreto providos de agitadores de baixa rotação;

- Decantação: a água floculada é encaminhada a grandes tanques, chamados decantadores. Nesses tanques, a água é conduzida em velocidade muito baixa, de forma que os flocos formados se sedimentam, promovendo a clarificação da mesma;

- Filtração: a água clarificada sai dos decantadores e é conduzida para os filtros, que são unidades de escoamento descendente, contendo estratos de materiais granulares com granulometria apropriada, geralmente camadas de carvão antracito, areia fina, areia grossa, pedrisco e pedregulhos. Essa etapa representa o processo final de remoção de partículas suspensas e coloidais e de microrganismos remanescentes dos decantadores (DI BERNARDO; DANTAS, 2005a).

Após a filtração, a água pode ainda receber produtos químicos para a correção de pH (para evitar problemas de incrustação ou corrosão nas tubulações da rede de distribuição), fluoretação (dosagem de flúor para proteção contra as cáries dentárias) e deve passar por processo de desinfecção (para inativação de microrganismos patogênicos). O cloro representa o agente desinfetante mais utilizado em águas de abastecimento. Ao final de todas as etapas, a água deverá estar dentro do padrão de potabilidade exigido pela legislação vigente e pode ser distribuída para a população (DI BERNARDO; DANTAS, 2005a).

O lodo acumulado no fundo das lagoas de decantação (Figura 2) é removido manualmente, três a doze vezes por ano, algumas ETA possuem sistemas hidráulicos ou equipamentos de remoção que possibilitam a retirada do lodo dos decantadores (DI BERNARDO; DANTAS, 2005b).



Figura 2 - Lagoa de decantação da ETA Capim Fino, Piracicaba – SP

Na ETA Capim fino, após a remoção manual do lodo dos decantadores o mesmo é direcionado para a estação de tratamento de lodo (ETL) para a adição de polímeros de acrilamida como agente floculador, sendo centrifugado para a remoção da água e disposto em leiras em áreas cobertas e impermeabilizadas para sua secagem ao ar livre, permanecendo por anos (Figura 3).



Figura 3 - Estação de Tratamento do Lodo da ETA Capim Fino (a) Centrifugação; (b) Adição de acrilamida; (c) Despejo do lodo para secagem

A quantidade de lodo gerada pela ETA Capim Fino não é controlada, mas é estimada a produção de 1,2 toneladas por dia, dependendo da quantidade e qualidade de sólidos suspensos presente nas águas sendo de 0,3 a 1,0% do volume de água tratada (MESSIAS, 2013). As características dos resíduos gerados na ETA podem variar em função da:

- a) qualidade da água bruta;
- b) técnica de tratamento da água;
- c) método de coagulação;
- d) quantidade e tipos de produtos químicos para o tratamento da água;
- e) local de geração (decantador, floculador, filtros, etc.) e,
- f) Tempo de limpeza dos decantadores e dos filtros.

O lodo originado do tratamento de água consiste de partículas contidas na água, tais como:

- a) microrganismos;
- b) sólidos orgânicos e não orgânicos;
- c) sólidos do próprio coagulante e dos produtos utilizados no tratamento da água.

2.2 Classificação, composição e destinação do lodo de ETA

A normativa ABNT NBR 10.004 (2004) para resíduos sólidos classifica o lodo de ETA como um resíduo sólido, que deve ser minimizado, reutilizado e/ou reciclado, sendo necessário ser tratado e disposto de acordo com as recomendações de descarte dos resíduos sólidos, classificado como resíduo classe II A – não inerte.

O lodo é um resíduo de granulometria fina e possui maior capacidade de retenção e adsorção de elementos químicos, quando o mesmo está parcialmente desidratado, apresenta aspecto pastoso, que dificulta a difusão do ar (TEIXEIRA; MELO; SILVA, 2005).

De acordo com Messias (2013) o lodo de ETA possui características de composição química e física mais similar aos solos do que comparado com o lodo de esgoto. Sendo o nitrogênio e o carbono orgânico no lodo de ETA mais estáveis, menos reativo e em menores concentrações. Pois, o mesmo é composto por água, sólidos, nutrientes, matéria orgânica, areia, argila, silte, organismos e microrganismos. É caracterizado por alta umidade, baixa relação C/N e elevadas concentrações de elementos químicos como alumínio, ferro e manganês (BOTERO et al., 2009).

O lançamento de efluentes nos corpos hídricos é regulamentado pela resolução 357 CONAMA (2005), que foi alterada pela resolução 430 CONAMA (2011) que para ser descartado o mesmo deve ser analisado quanto as suas propriedades física, química e biológica, antes da destinação. Segundo esta resolução, os efluentes em corpos hídricos não devem possuir sólidos sedimentáveis acima de 1m/L em teste de 1 h em cone “Inmhoff”. Por outro lado, a destinação em corpos hídricos próximo a ETA vem ocorrendo há muitos anos, agregando aos cursos d’água elevadas concentrações de elementos químicos e sólidos.

Após o desaguamento e a desidratação do lodo, a disposição final dos resíduos gerado na ETA vem sendo realizada por meio de: disposição em aterro industrial, disposição no solo, lançamento em rede de esgoto, uso em materiais de construção e as vezes com recuperação do coagulante presente no lodo (TEIXEIRA; MELO; SILVA, 2005; BOTERO et al., 2009; MESSIAS, 2013).

As disposições em aterros industriais, nos solos e/ou incineração devem ser escolhidas como última opção, uma vez que o lodo pode causar direta ou indiretamente a poluição atmosférica, terrestre e aquática, assim como sobrecarregar o ambiente receptor (REALI; 1999; RICHTER, 2001).

Segundo Carvalho e Carvalho (2001) e Rocha (1999), o Brasil ainda não possui uma legislação específica para a disposição final de lodos. Quaisquer medidas que forem tomadas existe a necessidade de regulamentação por meio de normas e leis para a determinação de padrões e diretrizes a serem seguidos, como é o caso da CETESB (1999), SANEPAR (1997) e da Comunidade Econômica Europeia que possuem suas diretrizes específicas para a destinação dos bio-sólidos.

A resolução 357 CONAMA (2005) define os critérios e os procedimentos, para uso agrícola, de lodos gerados em estação de tratamento de esgoto (ETE) e seus produtos derivados. O artigo 1º dessa resolução estabelece critérios e procedimentos visando os benefícios à agricultura e evitando riscos à saúde pública e ao ambiente. Nessa resolução não é mencionado o destino dos resíduos gerados em ETA.

Para a aplicação dos bio-sólidos na agricultura é necessário a regulamentação da atividade, para que estes possam ser aplicados de forma segura para a população e para o ambiente. Segundo Tsutiya (2001), a experiência mundial tem mostrado que, quando os bio-sólidos são aplicados na agricultura, obedecendo-se às diretrizes fixadas para seu uso, não foi constatado efeito adverso à saúde ou ao ambiente decorrente da aplicação do bio-sólido, apesar das diretrizes variarem consideravelmente em países que o utilizam na agricultura (CETESB, 1999; USEPA, 1993).

Quando um bio-sólido atender aos padrões de qualidade e for devidamente registrado, será aplicável a legislação federal enquanto que as normas da CETESB se restringem aos resíduos de tratamento biológico não enquadráveis na legislação federal (ROCHA, 1999).

A Resolução P4.230 (CETESB, 1999) estabelece os critérios e procedimentos para aplicação de bio-sólidos industriais em solos agrícolas com base: a) Quanto a composição do lodo; estabelece concentrações permissíveis de alguns metais pesados; b) Quanto a persistência de matéria orgânica do lodo e, c) Quanto ao tratamento do lodo.

A presença de metais pesados em biossólidos é um dos fatores que pode limitar o uso deste resíduo no solo agrícola. A norma da CETESB (1999) limita as concentrações máximas de metais no resíduo, a taxa máxima de aplicação anual e acumulada com o objetivo de evitar danos ao ambiente. Nessa norma, foram utilizados os mesmos limites adotados nos Estados Unidos (USEPA, 1993) que foram obtidos a partir de um estudo conhecido como avaliação de risco e foram avaliadas todas as possíveis rotas que os metais podem seguir ao serem adicionados ao solo.

As ETA utilizam muitos elementos químicos, mas também descartam grande quantidade de elementos metálicos como cádmio, chumbo, cobre, níquel, zinco, manganês, alumínio e ferro (WILSON; PYATT, 2007; KHAN et al., 2008).

Dentre os elementos químicos encontrados na natureza, como o Fe, Zn, Mn, Cu, Co, Mo e B são considerados essenciais aos seres vivos por participarem dos processos fisiológicos da cadeia respiratória. Os elementos B, Fe, Zn, Cu, Mn e Ni são essenciais por agirem como cofatores enzimáticos de plantas, animais e microrganismos. Por outro lado, os elementos como Hg, Pb, Cr e o Cd não possuem função biológica conhecida e comumente apresentam efeitos deletérios a fauna e flora (MENZIES; DONN; KOPITTKE, 2007; RODRIGUES et al., 2010).

Os metais considerados macro e micronutrientes (metais essenciais), quando encontrados em concentrações elevadas, podem ser tóxicos a diversos organismos vivos incluindo a espécie humana (MALAVOLTA et al., 2006; ZHAO; MCGRATH; MERRINGTON, 2007).

O potencial tóxico do lodo de ETA depende principalmente do teor e qualidade dos elementos químicos presentes, além das características físico-químicas e das condições em que estes resíduos são dispostos (BARROSO; CORDEIRO, 2001). Segundo os mesmos autores, alguns metais, como cobre, zinco, níquel, chumbo, cádmio, cromo e manganês e, em especial, o alumínio, podem estar presentes no lodo de ETA, que dependendo da sua concentração podem ser tóxicos, podendo apresentar efeitos positivos ou negativos nas técnicas de tratamento, disposição final e até mesmo, na utilização do lodo.

Diante das alternativas citadas para a disposição final deste resíduo, a reciclagem na agricultura vem se destacando como melhor opção, tanto pela adequação sanitária e ambiental quanto pela viabilidade econômica, desde que o resíduo atenda padrões mínimos de qualidade. O processamento destes resíduos e

sua transformação em insumo agrícola por meio de um tratamento biológico apresenta-se como uma eficiente alternativa de utilização.

2.3 Tratamento biológico do lodo

Para a elaboração de um composto, o mesmo deve passar por um processo de tratamento. A técnica da compostagem é um processo biológico de transformação da matéria orgânica. É definido como um conjunto de procedimentos que possibilitam a modificação em tempo relativamente reduzido, mas sob controle e monitoramento técnicos rigorosos, embora relativamente simples, de rejeitos orgânicos biodegradáveis em um “material orgânico”. Isto é, um complexo de materiais orgânicos estabilizados ou mineralizados que pode ser vantajosamente utilizado como fertilizante e/ou condicionador de solos agrícolas (VERAS; POVINELLI, 2004).

Segundo Tsutiya (2001), a compostagem é um processo de degradação aeróbia, natural ou induzida por agentes inoculantes, no qual a matéria orgânica se decompõe ou se transforma sob a ação de microrganismos.

O processo de compostagem é eficiente na redução da quantidade de resíduos gerados, pois transforma diferentes tipos de resíduos em adubo, proporcionando melhorias nas características físicas, físico-químicas e biológicas quando adicionado ao solo (COELHO, 2008). Porém é pouco divulgada no Brasil pela falta de conhecimentos sobre os benefícios de utilização destes compostos. Esse processo, parece ser uma alternativa natural e viável para o tratamento do lodo de ETA, visto que pela elevação da temperatura promove a desinfecção do resíduo, tendo como produto final um insumo de alto valor agrônômico, apresentando-se como alternativa para a utilização conjunta com outros materiais orgânicos como o bagaço de cana-de-açúcar, capim seco, folhas secas, podas de árvores, palha e farelo de arroz e de outras culturas (MORELLO et al., 2011).

De acordo com a USEPA (1993), o produto da compostagem tem sido utilizado como condicionador de solos ou em aplicações agrícolas. Os objetivos desta técnica têm sido a destruição de patógenos, remoção da umidade do lodo por meio da mistura e remoção de sólidos voláteis.

A compostagem combina vários tipos de resíduos de modo a respeitar certos parâmetros físico-químicos como aeração suficiente, relação C/N \pm 20, umidade

entre 55 e 65%, pH próximo da neutralidade e estrutura porosa, que permita a circulação do ar (KIEHL, 2012).

Segundo o decreto 8.384 do Ministério da agricultura (BRASIL, 2014), dispõe sobre a inspeção e fiscalização da produção e do comércio de fertilizantes, corretivos, inoculantes ou biofertilizantes destinados à agricultura, alguns parâmetros devem ser atendidos para a comercialização de um fertilizante orgânico, como o pH próximo a 6,0 e relação C/N = 18.

Silva, Melo e Teixeira (2005), utilizando lodo de ETA em estudos de recuperação de área degradada por mineradora de cassiterita, verificou aumento do pH do solo e dos teores de cálcio e ferro. O autor relata que o uso do lodo de ETA como fertilizante pode ser viável porque contém determinados nutrientes para as plantas. No entanto o nitrogênio não deve ser utilizado como critério para definir as doses de aplicação, já este se encontra em baixa concentração neste tipo de resíduo.

As vantagens dessa utilização promovem: o aumento da aeração, estruturação, do pH, adição de traços minerais e na capacidade de retenção de líquidos nos solos. Em solos com deficiência em ferro, o lodo pode promover o aumento da concentração desse elemento (AWWA, 1996; SABOGAL-PAZ, 2007; DI BERNARDO; DANTAS, 2005a).

Morello et al. (2011) realizou a compostagem do lodo de ETA utilizando resíduos de poda urbana. Santos (2014) utilizou a vinhaça, o bagaço de cana-de-açúcar e fungos do gênero *Pleurotus* na formulação de uma mistura e avaliou a toxicidade por meio de testes ecotoxicológicos utilizando o elutriado da amostra na sensibilidade dos seguintes organismos: *Daphia similis*, *D. magna*, *Hydra attenuata* e *Raphidocelis subcapitata*.

Desse modo, na perspectiva de realizar o tratamento do lodo de ETA, utilizou-se o princípio da técnica de compostagem e alguns parâmetros básicos como umidade, pH, condutividade elétrica, algumas análises químicas e de elementos químicos entre outras, que devem ser avaliados durante o processo de obtenção de um material orgânico e o enriquecimento com outros materiais que possam complementar suas características estruturais e nutricionais, adicionando microrganismos que possam atuar na degradação da mistura durante o tratamento biológico.

2.3.1 Composição da mistura: lodo de ETA, bagaço e vinhaça

Para a elaboração de uma mistura, o lodo de ETA foi agregado com bagaço de cana-de-açúcar e com a vinhaça que foi utilizada na complementação de elementos nutricionais e correção da umidade e, os fungos degradadores de resíduos.

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, sendo que a expansão do setor sucroenergético aumentou as áreas de plantio (ABREU JUNIOR et al., 2005), assim como os volumes de resíduos, como a vinhaça e o bagaço, que podem ser utilizados na agricultura como fonte de nutrientes, reduzindo a contaminação ambiental e os custos com adubação.

A prática da adubação orgânica utilizando esses subprodutos é de extrema importância e relevância, uma vez que a indústria gera diversos resíduos que apresentam potencial técnico e econômico para a aplicação em cana-de-açúcar. Entretanto, o conhecimento da composição e dos possíveis usos desses materiais na agricultura possibilitou sua utilização na forma de fertilizantes organo-minerais e fertirrigantes. Isso proporcionou menor impacto e relevante economia na adubação de canaviais (LUZ; VITTI, 2008).

O bagaço de cana-de-açúcar é um dos muitos resíduos lignocelulíticos provenientes da agricultura que apresenta potencial de matéria prima principalmente como fonte de energia pela sua queima (SCCOL; VANDENBERGHE, 2003; PATTRA et al., 2008), amplamente disponível e de baixo custo.

Pompeu (2010) descreve que a composição média do bagaço é a seguinte: 45% de celulose; 25% de hemicelulose e 20% de lignina e o restante são substâncias categorizadas como componentes estranhos.

Além das características citadas acima, o bagaço, como mostrado pelo trabalho de Aguiar Filho, Ferreira e Monteiro (2010) e Silva (2014) apresenta-se como material promissor para o crescimento de fungos basidiomicetos ligninolíticos e para a expressão de enzimas. O bagaço também pode é considerado um material de interesse biotecnológico pela sua capacidade de adsorver diferentes moléculas.

A vinhaça, proveniente da destilação final do álcool etílico, apresenta em sua composição 94-97% de água, matéria orgânica, potássio, cálcio, magnésio e enxofre. Apresenta coloração escura, devido a presença de melanoidinas de elevado peso molecular formado por compostos fenólicos. Estes compostos são

altamente recalcitrantes e permanecem no ambiente, mantendo propriedades antioxidantes (FERREIRA et al., 2011).

Segundo Freire e Cortez (2000), a vinhaça contém bastante matéria orgânica, pH ácido, elevada corrosividade, elevada demanda química de oxigênio (DQO) e demanda bioquímica de oxigênio (DBO). Todas essas características citadas acima, promove o aumento da população microbiana no solo e a matéria orgânica contida em sua composição que é metabolizada por fungos que neutralizam a acidez permitindo a proliferação bacteriana responsável pela mineralização e imobilização do nitrogênio, nitrificação, desnitrificação e fixação biológica (SILVA; COELHO, 2006).

A utilização da vinhaça associada com a matéria orgânica (bagaço) poderá melhorar as condições físicas do lodo e a mobilização de nutrientes, devido aos carboidratos presentes em sua composição que favorecerão o crescimento do *Pleurotus* que possuem um sistema lignocelulíticos formado por enzimas capazes de desestabilizar a estrutura da lignina, degradando assim o bagaço, liberando compostos que podem ser utilizados por outros organismos (CHAGAS; DURRANT, 2001; CHRISTOFOLETTI et al., 2013). Portanto, esses materiais associados ao lodo, podem ser utilizados como matéria prima e aumentar a capacidade de degradação dos compostos tóxicos pelos fungos do gênero *Pleurotus*.

2.3.2. Utilização dos fungos do gênero *Pleurotus* no tratamento

Os fungos do gênero *Pleurotus*, são comestíveis, de alto valor nutricional, rico em proteínas, fibras, hidratos de carbono, vitaminas e minerais. Ainda, estes fungos exibem propriedades terapêuticas como antiviral, antitumoral, indução de atividades imunológica, antioxidante, antimicrobiana e antiproliferativa (MODA, 2003).

Esses fungos apresentam grande potencial de cultivo no Brasil em razão de sua maior rusticidade e facilidade de cultivo (menos exigentes em relação ao clima). São encontradas várias espécies comestíveis entre elas, a *P. ostreatus*. Praticamente qualquer substrato orgânico pode ser utilizado para cultivo do *Pleurotus* spp. Normalmente são utilizados resíduos agroindustriais com elevada relação C/N entre 80-100:1 (SILVA; ESPOSITO, 2004).

Os fungos da degradação branca, também conhecidos assim, são responsáveis pela degradação de compostos lignocelulósico ou pela remoção

simultânea de todos os componentes ou seletiva de lignina e polioses, mantendo a celulose praticamente intacta (FERRAZ et al., 2000).

Segundo Ferraz (2004), para iniciar a degradação dos materiais lignocelulósicos os fungos promovem a penetração de suas hifas no lúmen das células vegetais. Essas hifas têm por finalidade a produção de grande diversidade de metabólitos extracelulares, os quais atuam na degradação da parede celular vegetal. Castro et al. (2004) relatam que os fungos da podridão branca decompõem enzimaticamente o substrato, convertendo-os em CO₂ e água para utilizá-los em seu metabolismo. Gao et al. (2010) também relataram que este grupo se destaca em relação a outros fungos pois suas enzimas têm tolerância a baixas temperaturas e recebem menos influência negativa da microbiota do solo.

Em função de sua reprodução e crescimento, os fungos adaptam-se em uma grande variedade de substratos, permitindo a bioconversão do substrato residual em biomassa microbiana, sendo esta utilizada para extração de proteínas, lipídeos, ácidos nucleicos ou também para uso direto em ração animal (TAVARES et al., 1998; BONATTI, 2002; CASTRO et al., 2004; DONINI; BERNARDI; NASCIMENTO, 2006; SARTORI et al., 2014).

Essa habilidade permite a utilização destes fungos em muitos processos biotecnológicos a fim de degradar substratos lignocelulósicos, e muitas vezes, serem utilizados como substratos para a produção de cogumelos comestíveis ou ainda para produção de biomassa fúngica a ser empregada em processos industriais (SILVA; COELHO, 2006).

A capacidade dos fungos se adaptarem rapidamente, está relacionado ao metabolismo a diferentes fontes de carbono e energia, deve-se à produção de enzimas intra e extracelulares, não específicas, capazes de degradar uma série de compostos poluentes persistentes no solo e em sedimento, tais como: hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, atrazina, dioxinas, pesticidas, organoclorados, corantes têxteis; elementos químicos como ferro e potássio e alguns metais pesados, explosivos e polímeros complexos (MENEZES, 1997; COHEN; PERSKY; HADAR, 2002; SILVA; ESPOSITO, 2004; DELLAMATRICE et al., 2005).

As enzimas produzidas por *Pleurotus* que atuam na degradação de ligninas, incluem lacase, lignina peroxidase e manganês peroxidase (JORGENSEN et al., 2005).

Muitos grupos de pesquisa vêm estudando o uso destes fungos ou de suas enzimas em uma grande variedade de processos biotecnológicos como bioclareamento, eliminação de fases em indústrias de papel e celulose, pré-tratamentos de biomassa lignocelulósica para produção de biocombustíveis, biorremediação do solo, degradação e descoloração de efluentes, uso como aditivos na alimentação, cosméticos e indústrias têxteis ou até mesmo na síntese de compostos orgânicos (BARR; AUST, 1994; PÉREZ; MORALEDA-MUÑOZ, 2011).

A medicina tradicional associa ao gênero algumas propriedades medicinais e, assim como apresentado na revisão de Wasser e Weis (1999), diversos estudos caracterizaram polissacarídeos com atividade imunomoduladora, antitumoral, antibiótica, antiviral, hematológica, dentre outras.

Segundo Ferreira (2009) e Souza (2012), *Pleurotus* spp. pode promover a degradação e descoloração da vinhaça, reduzindo parâmetros como pH, turbidez, DQO (demanda química de oxigênio), DBO (demanda bioquímica de oxigênio), fenóis, condutividade elétrica e elementos químicos como o ferro e o potássio.

Segundo Krienitz e Bock (2012) a linhagem *P. sajor-caju* CCB020 foi a que apresentou resultados promissores na redução da toxicidade da vinhaça, na descoloração, degradação de compostos, ocorrendo a desintoxicação, melhorando sua qualidade, podendo a mesma ser utilizada como água de reuso.

Autores relatam que o mecanismo de descoloração envolve primeiramente a absorção de pigmentos pelo micélio durante o crescimento fúngico e finalmente a acumulação extracelular no citoplasma. Conseqüentemente, as enzimas intracelulares atuam na degradação e/ou absorção em células como macromoléculas (FERREIRA et al., 2011; SOUZA, 2012).

Outros estudos mostram que alguns fungos têm a capacidade de adsorção de fenóis e clorofenóis presentes em resíduos agroindustriais (DENIZLI et al., 2005). Da mesma forma, *Pleurotus* spp. age na degradação dos resíduos como o bagaço por meio de hidrólise enzimática das ligações glicosídicas das cadeias de celulose em um ataque ao polímero da lignina. Estas fibras de celulose geralmente fixam outros polímeros, como hemicelulose. Durante o processo de degradação, o bagaço é convertido em fibra e em muitos tipos de açúcares, que podem ser disponibilizados para as plantas e outros organismos (ESPOSITO; AZEVEDO, 2004).

2.3.3 Enzimas ligninolíticas

Os fungos ligninolíticos são muito utilizados por apresentarem um sistema enzimático ligninolítico, com alto potencial redox, proporcionando a expressão das enzimas em altas concentrações de poluentes, o suficiente para inibir a atividade ou o crescimento de outros microrganismos (SILVA, 2014).

Para a biodegradação da lignina, requer o ataque de enzimas inespecíficas, capazes de clivar diversos substratos, possibilitando sua atuação sobre uma ampla gama de poluentes (BARR; AUST, 1994).

Segundo Ferraz (2004) a função de cada enzima no conjunto de reações que leva a mineralização da lignina não está bem estabelecida, porém, de modo geral, estas podem ser divididas entre fenoloxidasas (lacases e peroxidases) e enzimas produtoras de H₂O₂ (glicose oxidase, glioxal oxidase e metanol oxidase).

As principais enzimas ligninasas pertencem a três grupos: lacases (EC 1.10.32), manganês peroxidase (MnP – EC 1.11.1.13) e peroxidases – (EC 1.11.1.17), sendo estas expressas pelos basidiomicetos em diferentes proporções. (COHEN; PERSKY; HADAR, 2002).

2.3.3.1 Lacases

As enzimas da família lacase (benzenidiol: oxigênio oxidoreduases) são oxigenases contendo cobre que usam como substrato *orto*- e *para*-fenóis e são importantes na degradação de moléculas derivadas da degradação da lignina. Oxidam principalmente compostos fenólicos, agindo na clivagem de cadeias laterais e anéis aromáticos das porções fenólicas da lignina e estão envolvidas em outras funções, como proteção contra o estresse, interações planta-patógeno e morfogênese (DURÁN; ESPOSITO, 2000; GIARDINA et al., 2010; MOORE; ROBSON; TRINCI, 2011).

De acordo com Giardina et al. (2010), as lacases formam o maior subgrupo de oxidases azuis multicobre. Em seus três sítios ativos ocorre a presença de átomos de cobre, que catalisam a oxidação de uma ampla gama de substratos aromáticos (polifenóis, poliaminas, íons inorgânicos, *orto* e *para*-difenois, etc), simultaneamente a redução de um oxigênio, dando origem a uma molécula de água.

Os átomos de cobre das lacases apresentam-se como um átomo tipo 1 (Cu^{1+}), um átomo tipo 2 (Cu^{2+}) e dois tipos 3 (Cu^{3+}). Os dois últimos tipos se arranjam em um “cluster” trinuclear. O cobre tipo 1 é o aceptor de elétrons primário e, a partir dele, ocorrem quatro oxidações subsequentes ao fim das quais os elétrons são transferidos ao “cluster” trinuclear e ocorre a formação de água pela redução do oxigênio molecular (GIARDINA et al., 2010).

A sua capacidade de catalisar a oxidação de fenóis e outros compostos aromáticos, permite que as lacases sejam utilizadas em diversas aplicações industriais como deslignificação, produção de etanol, modificação de fibras da madeira, clareamento de corantes em processos têxteis, síntese de produtos químicos/medicinais e remediação de solos e águas contaminadas (DÚRAN et al., 2002; FERREIRA, 2009; MOREIRA NETO et al., 2013).

Essa enzima é geralmente extracelular, encontrando-se ligada à membrana celular (SZKLARZ et al., 1989). São excepcionalmente versáteis, catalisando reações com diferentes substratos, alguns destes recalcitrantes. Ainda, participam de outros eventos ligninolíticos de grande importância, como oxidação de unidades não-fenólicas de lignina, a geração de H_2O_2 , a formação de radicais hidroxilas e produção de Mn^{3+} . Atua, também, na geração de formas de oxigênio reduzidas (HÖFER; SCHLOSSER, 1999; GONZALES et al., 2002; SAPARRAT et al., 2002).

2.3.3.2 Peroxidase

As peroxidases são um grupo de enzimas oxidoreduzases que catalisam a redução do peróxido e a oxidação de uma variedade de substratos orgânicos e inorgânicos, sejam aromáticos ou não, em presença de peróxidos (IKEHATA; BUCHANAN; SMITH, 2004). Ocorrem em plantas, animais e microrganismos, esses catalizadores, que possuem inúmeras funções, variam de acordo com o grupo taxonômico. Algumas de suas funções são a oxidação de fenóis, ligação de polissacarídeos e defesa contra patógenos, estas também têm sido aplicadas em análises clínicas, na espectrofotometria de biomoléculas e em imunoenaios (NAKAYAMA; AMASHI, 1999; CAMPOS; SILVEIRA, 2003).

Diferentemente das lacases, as peroxidases possuem, como grupo prostético, uma protoporfirina que contém ferro (III). No primeiro estágio da catálise, o ferro (III) sofre oxidação pelo peróxido, dando origem a um intermediário instável (composto I)

e a uma molécula de água pela redução do peróxido. Numa segunda etapa, o composto I oxida o substrato, dando origem ao composto II e liberando um radical livre. Posteriormente, o composto II sofre redução por um segundo substrato, o que permite a regeneração do ferro (III) e provoca a liberação de mais um radical livre (HAMID; REHMAN, 2009).

A peroxidase atua diretamente na degradação de fenóis, por esse motivo é muito utilizada no tratamento de efluentes, solos contaminados, resíduos industriais e produtos alimentícios (SILVA, 2014). Hamid e Rehman (2009) citam exemplos na literatura do emprego dessas enzimas na remoção de compostos aromáticos em soluções aquosas e na descoloração de corantes. Ainda, relatam que as mesmas apresentam capacidade de precipitar compostos nocivos pela indução da formação de polímeros mistos que são facilmente removíveis do efluente.

2.3.3.3 Manganês peroxidase

As peroxidases dependentes de manganês, ou manganês peroxidase (MnP) são da família de hemeprotéínas glicosiladas (MOORE; ROBSON; TRINCI, 2011). Possui massa molecular de 45-47 kDa e é dependente de hidrogênio e do íon Mn^{+2} e α -cetoácidos como o lactato, os quais são responsáveis por estabilizar sua atividade (ESPOSITO; AZEVEDO, 2004).

Segundo Ferraz (2004), o potencial de oxidação das MnP é suficiente apenas para remover elétrons de estruturas fenólicas, ou seja, não atuam sobre estruturas aromáticas não fenólicas.

Seu mecanismo de ação é dependente de H_2O_2 . O peróxido ativa a enzima e produz um composto deficiente em elétrons que, para voltar a seu estado inicial promove duas reduções: primeiro elétron provém de uma estrutura fenólica, enquanto que o segundo não está diretamente ligado à atividade da enzima, mas é proveniente de uma segunda estrutura fenólica que se oxidou pela redução do composto formado entre o íon Mn^{3+} e o oxalato (COHEN; PERSKY; HADAR, 2002; FERRAZ, 2004).

A MnP gera Mn^{+3} , um poderoso agente oxidante, que possui papel chave no primeiro estágio de ligninólise. Este íon oxida determinadas estruturas aromáticas não-fenólicas de lignina, resultando na formação de radicais livres que reduzem o Fe^{+3} e iniciam reações com o envolvimento de radicais hidroxilas. Durante a

oxidação da lignina, o Mn^{+3} é quelado e estabilizado por ácidos orgânicos, atuando desta forma como mediador de baixa massa molecular. Esse sistema MnP é forte o bastante para degradar ligações entre carbonos e estruturas não fenólicas de lignina, pela subtração de hidrogênio do anel aromático (HIGUCHI, 2004; FERREIRA, 2009).

Uma cooperação “positiva” da MnP com outras oxidoredutases extracelulares como a lacase, assim como MnP e celulases, resultaram no aumento da despolimerização de lignina (HOFRICHTER, 2002; MOREIRA NETO et al., 2013).

Essas enzimas ocorrem em mais de uma forma molecular em uma mesma espécie, em um mesmo tecido, ou até mesmo, em uma mesma célula. Por esse motivo, a associação dos fungos aos materiais (lodo, bagaço e vinhaça), poderão aumentar a capacidade de degradação dos compostos orgânicos pelos microrganismos durante o tratamento do lodo de ETA.

2.4 Avaliação do material tratado

Para a avaliação do potencial uso do material tratado, se faz necessária sua caracterização, considerando alguns pontos como: a) matéria prima empregada e suas características (quantidade, tipo e origem); b) produtos acrescentados ao processo (quantidade, tipo e etapa); c) regime de produção (contínuo, intermitente ou sazonal); d) no caso de ser sólido (tipo, quantidade do resíduo); e) aspectos do resíduo (estado físico e temperatura); f) pré-tratamentos, assim como, a acidez ou alcalinidade, condutividade elétrica e a presença de odores, patógenos e compostos inorgânicos e orgânicos tóxicos (ABREU JUNIOR et al., 2005). Além disso, deve ser feita com atenção as características do solo, da cultura e do clima (JAHNEL; MELLONI; CARDOSO, 1999; CUNHA QUEDA, 2006).

Esse material estável melhora as características do solo, como a estruturação do mesmo, através da adição de materiais orgânicos, a porosidade de solos arenosos e calcários é incrementada; aumenta a capacidade de retenção de água e de nutrientes, nitrogênio, fósforo e potássio, melhora o arejamento, reduz a erosão (QUELHAS DOS SANTOS, 2003) e, de acordo com alguns estudos, diminui a ocorrência de determinadas pragas das plantas; aumenta a infiltração, reduz a formação de gás metano que contribui para o aquecimento global, elimina os excessos de fertilizantes inorgânicos que acabam por contaminar os lençóis de água

(ROSAS, 2002). E diminui o confinamento dos resíduos orgânicos biodegradáveis em aterro, prevenindo os reconhecidos impactos ambientais negativos resultantes desta prática (ROSAS, 2002).

Trabalhos experimentais realizados com um composto orgânico permitiram concluir que sua aplicação ao solo, aumentou seu pH, proporcionou melhores condições para que as plantas absorvessem menor quantidade de metais pesados presentes no solo, uma vez que os mesmos são mais solúveis em pH ácido (KIEHL, 2012).

As faixas de aplicação de um composto variam de acordo com as características anteriormente citadas, incluindo a atividade agrícola, a forma de adubação, dentre outros aspectos. Desse modo, para cada uso do produto final da compostagem é requerida uma taxa de aplicação específica, por exemplo, nas atividades agrícolas, o valor médio de aplicação têm sido de 10 a 15 t/ha para aplicações por lance (NETO, 2014).

Recomendações de aplicação de composto orgânico variam principalmente com o tipo de matéria prima utilizada. De maneira geral, as taxas de aplicação variam de 25 a 100 t/ha, não sendo comuns doses mais elevadas. Tester (1990) sugere a adição anual de 100 t/ha de composto é suficiente para produzir colheitas elevadas e induzir mudanças substanciais nas características físicas do solo.

Segundo Pereira (1985) a aplicação de composto orgânico nas culturas é em média de 20 a 30 t/ha, exceto para milho que é recomendada a dose de 10 t/ha.

A avaliação de compostos orgânicos para uso agrícola tem levado em consideração apenas conteúdo de elementos químicos, principalmente metais pesados, que podem estar presentes em concentrações elevadas (KAPANEN; ITAVAARA, 2001). Os mesmos autores sugerem que são necessários estudos para avaliar a toxicidade do composto antes de determinar os valores-limite para sua aplicação ao solo.

2.4.1 Teste de toxicidade com plantas

Segundo Tiquia, Tam e Hodgkiss (1996), a avaliação da toxicidade do composto é um dos mais importantes critérios usados pelas agências ambientais do mundo. A OECD (1984) recomenda testes de fitotoxicidade na germinação de

sementes e crescimento vegetal como as técnicas mais comuns na avaliação de compostos e, entre as espécies de plantas.

O termo fitotoxicidade é normalmente associado ao fenômeno de acumulação de uma substância potencialmente nociva nos tecidos da planta a um nível que afeta o seu crescimento e desenvolvimento da planta (BECKETT et al., 1977).

Existe uma variedade de testes biológicos para determinação da fitotoxicidade dos compostos que foram propostos para a monitorização da qualidade do composto (STOFFELLA; KAHN, 2004), como por exemplo, o teste de germinação e o teste de crescimento de plantas.

Para a avaliação da qualidade de um composto e/ou de um solo contaminado, ainda há a possibilidade de avaliar os efeitos de poluentes na flora terrestre. A norma ISO 11269-2 (2009; 2014), descreve como deve ser feito os testes para avaliação dos efeitos de emergência e crescimento das plantas expostas a um produto/material químico ou orgânico, conhecido ou desconhecido, aplicado ao solo. A norma sugere a aplicação do composto em até cinco concentrações em mg/kg do peso seco em escala de 10, incorporando-o ao solo e semeando 10 sementes de uma monocotiledônea ou dicotiledônea, após 50% da germinação no vaso controle, é realizado o desbaste para cinco plântulas por um período de até 21 dias.

Segundo a SANEPAR (1997) as gramíneas milho, trigo, cana-de-açúcar e sorgo, pelas suas características, são as culturas mais recomendadas e as que melhor responderam ao uso de biossólidos.

Dentre as espécies padronizadas mundialmente pela ISO 11269-2 (2009) e Fletcher (1991), o milho (*Zea mays*) é a monocotiledônea mais testada, caracterizada pelas diversas formas de sua utilização, que vai desde a alimentação animal até a indústria de alta tecnologia. Ele apresenta caule delgado, raízes fasciculadas, germinação e crescimento relativamente rápido, cultivado ao longo do ano, sendo muito comum sua utilização em testes germinativos, de crescimento e desenvolvimento de biomassa radicular e aérea e, adaptado às condições climáticas do Brasil (MATA et al., 2011; MACHADO et al., 2012; MESSIAS, 2013; SANTOS, 2014).

O teste de toxicidade revelará a possibilidade do uso do material tratado por meio do crescimento das plântulas de milho que evidenciarão a ocorrência de algum efeito nocivo no tecido da planta, afetando seu crescimento e desenvolvimento.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Coleta de material

As amostras de lodo foram coletadas nas leiras na ETA – Capim Fino de Piracicaba, localizada no bairro Guamium, saída 27 da rodovia Fausto Santo Mauro – SP 127, que liga Piracicaba a Rio Claro, São Paulo, Brasil no dia 3 de outubro de 2014. O lodo foi armazenado em sacos plásticos de polietileno em câmara fria a 4°C. No mesmo dia, a vinhaça foi coletada na usina Iracema do grupo de usinas São Martinho, no município de Iracemápolis, sendo realizada na saída da dorna de fermentação, o material foi estocado em galões de plástico de polietileno, armazenada em câmara fria a 4°C até a análise.

As amostras de bagaço moída de cana-de-açúcar foram cedidas pelo Laboratório de Radiobiologia e Ambiente do CENA/USP, foram secas ao ar livre, peneiradas em malha de 50 mm e armazenadas em latão de aço hermeticamente fechado.

3.2 Caracterização do lodo de ETA

As amostras foram secas em estufa a 35°C moídas e descompactadas em peneira de malha de 2 mm e foram encaminhadas para o laboratório de análise de solos da ESALQ/USP.

O lodo foi analisado pelo método de fertilidade sendo os seguintes parâmetros: o pH (CaCl_2); resíduos minerais e matéria orgânica (MO) pelo método de perda por ignição; MO compostável pelo método titulométrico de dicromato; nitrogênio total (NT) pelo método de digestão sulfúrica de Kjeldahl; enxofre (S) pelo método gravimétrico simplificado de cloreto de bário e, fósforo (P) pelo método do vanádio e molibdato de amônio. O potássio (K_2O), cálcio (Ca) e magnésio (Mg) foram determinados por espectrometria de absorção atômica em chama e análises granulométricas conforme metodologias descritas no manual de métodos analíticos oficiais para fertilizantes e corretivos IN 28 SP-5189-6 (BRASIL, 2013).

A quantificação dos elementos químicos pseudo-disponíveis como alumínio, boro, bário, cálcio, cádmio, chumbo, cobalto, cromo, cobre, enxofre, ferro, fósforo, potássio, manganês, magnésio, molibdênio, níquel, silício, sódio e zinco no lodo de

ETA foi realizada no Laboratório de Análises Ambientais do Departamento de Ciência do Solo da ESALQ/USP por sistema de digestão em micro-ondas e detecção por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) Thermo Scientific, modelo iCAP 6300 Duo, utilizando o método 3051a SW-846 (USEPA, 2007).

3.3 Caracterização do bagaço

As amostras de bagaço de cana-de-açúcar foram secas em estufa de aeração forçada a 35°C, foram utilizadas 250 mg da amostra seca para a análise pelo método de material orgânico, no Laboratório de Análises de Solos na ESALQ/USP sendo os mesmos parâmetros avaliados no lodo de ETA, conforme metodologia descrita no manual de métodos analíticos oficiais para fertilizantes e corretivos IN 28 SP-5189-6 (BRASIL, 2013).

3.4. Caracterização da vinhaça

Na vinhaça foi analisada conforme metodologia para efluentes no Laboratório de Análises de Solos da ESALQ/USP sendo analisados os parâmetros de: pH; resíduos minerais e MO pelo método de perda por ignição; NT pelo método de Kjeldahl; S pelo método gravimétrico simplificado de cloreto de bário e, P pelo método do vanádio e molibdato de amônio. O potássio (K_2O), Ca e Mg foram determinados por espectrometria de absorção atômica em chama. O S foi determinado pelo método gravimétrico com cloreto de bário conforme as metodologias descrita no manual de métodos analíticos oficiais para fertilizantes e corretivos IN 28 SP-5189-6 (BRASIL, 2013).

3.5 Cultivo e armazenamento dos fungos

As linhagens dos fungos *P. sajor-caju* CCB020 e *P. ostreatus* foram selecionadas para a degradação de uma mistura constituída de lodo, bagaço e vinhaça. A seleção foi realizada com base em trabalhos publicados na literatura e pelos resultados de trabalhos anteriores realizados no Laboratório de Ecologia

Aplicada do CENA/USP por Aguiar Filho, Ferreira e Monteiro (2010), Ferreira (2009); Ferreira et al. (2011); Souza (2012) e Santos (2014).

Os fungos que fazem parte do estoque de culturas do laboratório de Ecologia Aplicada CENA/USP, foram cultivados e armazenados de acordo com a metodologia de Bononi et al. (1995) em placas de Petri contendo meio MEA (extrato de malte e ágar) a 28°C em câmara de crescimento tipo BOD por sete dias (Figura 4a).

Para a produção do inóculo de fungo, grãos de trigo foram anteriormente pré-hidratados em água na proporção de 2:1 (água/trigo) por 24 horas. Após isso, foram lavados e cozidos por 30 minutos. Em seguida, os grãos foram tamponados com 0,2% de carbonato de cálcio e 0,8% de sulfato de cálcio na proporção do peso do grão. Logo após, os grãos foram transferidos para sacos de poliestireno (10 x 15 cm) com aproximadamente 100 g de grão de trigo. Os sacos plásticos foram vedados com tampão de algodão e amarrados com barbante e, autoclavados a 121°C e 1 atm por 20 minutos. Após a esterilização, os grãos de trigo foram inoculados com três discos 10 mm de diâmetro dos fungos crescidos em placas de Petri contendo meio MEA crescidos por sete dias a 28°C conforme metodologia de Bononi et al. (1995) (Figura 4b).

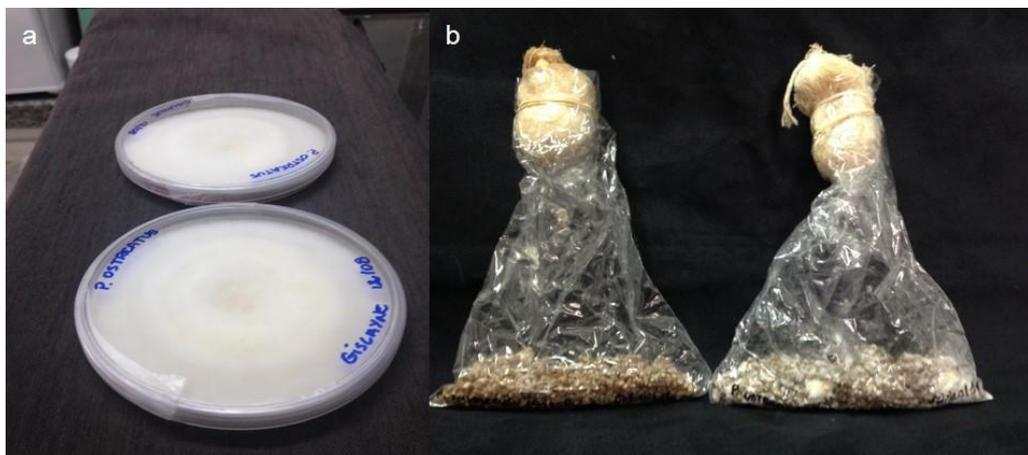


Figura 4 - Cultivo e armazenamento dos fungos do gênero *Pleurotus* (a) Cultivo em placa de Petri contendo meio MEA por sete dias; (b) Cultivo em grão de trigo por sete dias

3.6 Composição da mistura para o tratamento

O primeiro experimento foi realizado no laboratório de Ecologia Aplicada CENA/USP, utilizando sacos plásticos de poliestireno (18x15cm) com diferentes proporções de lodo de ETA e bagaço. A Tabela 1 apresenta os valores dos materiais, a relação foi feita com base na matéria seca de lodo e bagaço, no entanto, utilizou-se o lodo úmido, com a mesma umidade em que é descartado pela ETA, com aproximadamente 60-70%.

A umidade em cada saco plástico foi corrigida com a adição de vinhaça para 60%, condição ideal para o crescimento do fungo conforme recomendações de Kiehl (2012). O controle consistiu na mistura dos resíduos na proporção de 0:1 (lodo/bagaço) sem a inoculação do fungo (Tabela 1).

Tabela 1 - Composição das misturas em cinco proporções de L:B (lodo/bagaço)

Relação L:B	Lodo seco	Bagaço seco	Teor de água no Lodo úmido	Correção da umidade 60%
0 : 1	0	100 g	0	150 g de água
1 : 1	50 g	50 g	75 g	73,5 g de vinhaça
1 : 2	33,3 g	66,7 g	49,95 g	98 g de vinhaça
1 : 3	25 g	75 g	37,5 g	110,25 g de vinhaça
2 : 1	66,7 g	33,3 g	66,7 g	48,95 g de vinhaça

Os sacos foram vedados com tampão de algodão e amarrados com barbante e esterilizados em autoclave a 121°C e 1 atm por 20 minutos. Após atingir a temperatura ambiente, a mistura foi inoculada com as espécies de fungo *P. sajor-caju* e *P. ostreatus*, utilizando o inóculo preparado em grão de trigo, separadamente em cada saco plástico na proporção de 5 g de fungo para 100g de material. Foram mantidos por 12 dias a 28°C em câmara de crescimento tipo BOD distribuídos em delineamento inteiramente casualizado com três repetições.

Todo o experimento foi realizado em condições de laboratório, com os resíduos autoclavados, levando em consideração que fungos *Pleurotus* spp. não se desenvolvem de modo eficaz quando outros organismos estão presentes nos resíduos, conforme relatado por Heinfling et al. (1998).

Para observar a ação e modo como agem essas espécies de fungos, optou-se por esterilizar os resíduos em autoclave antes da inoculação dos fungos e foram mantidos a 28°C, temperatura recomendada para o crescimento de *Pleurotus* spp. sem revolvimento conforme sugerido por Souza (2012) e Santos (2014).

Após 12 dias de crescimento fúngico, tempo estabelecido por Souza (2012), foram avaliados os parâmetros: pH; condutividade elétrica e umidade conforme sugerido no manual de compostagem de Kiehl (2012). A atividade de três enzimas lignocelulíticas (lacase, peroxidase e MnP) foram analisadas em espectrofotômetro de microplaca Epock™ Biotech conforme metodologia utilizada por Souza (2012).

Os dados foram submetidos a análise de variância (proporção x fungo) e as médias foram comparadas por meio do teste de Bonferroni ($P < 0,01$) utilizando o programa estatístico Prism 5.

3.7 Tratamento com *Pleurotus sajor-caju*

O segundo experimento, foi realizado após a definição da mistura e da espécie de fungo que apresentou os melhores resultados. A mistura utilizada foi na proporção de 1:2 (lodo/bagaço), preparada conforme descrito no experimento acima, em sacos plásticos de 30 kg, inoculada *P. sajor-caju* em delineamento inteiramente casualizado com três repetições por 60 dias a 28°C (Figura 5).



Figura 5 - Mistura 1:2 (lodo/bagaço) após 60 dias de incubação

Antes e após a incubação com *P. sajor-caju*, amostras foram retiradas e analisadas os mesmos parâmetros no experimento anterior (item 3.6), acrescidos das análises de fertilidade iguais às realizadas nas amostras de lodo (item 3.2), conforme metodologia do manual de métodos analíticos oficiais para fertilizantes e corretivos IN 28 SP-5189-6 (BRASIL, 2013) e os elementos químicos pseudo-totais foram analisados por ICP-OES no Laboratório de Análises Ambientais do Departamento de Ciência do Solos da ESALQ/USP utilizando o método 3051a SW-846 (USEPA, 2007).

Subamostras antes da inoculação do fungo e após 12, 24, 48 e 60 dias foram retiradas para a avaliação da atividade das três enzimas ligninocelulíticas conforme metodologia utilizada por Souza (2012).

Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias foram comparadas por meio do teste de Bonferroni ($P < 0,01$) utilizando o programa estatístico Prism 5.

3.8 Teste de toxicidade com *Zea mays*

O teste de germinação e crescimento vegetal com *Z. mays* foi baseado na norma ISO 11269-1 (1993) e 11269-2 (1994; 2009; 2014) e nos trabalhos de Natal-da-Luz et al. (2009), Vaz (2010), Messias (2013) e Santos (2014).

O material tratado foi incorporado em amostras de solo do tipo Latossolo Vermelho distrófico típico (EMBRAPA, 2013) coletado no horizonte subsuperficial, em uma área do campo experimental da Esalq/USP a 500 m da rodovia Luiz de Queiroz (saída para Campinas). O solo foi seco ao ar por vários dias, seguido de peneiramento manual (malha 3 mm). Uma subamostra foi caracterizada quanto sua fertilidade pelo laboratório de análises Pirasolo (Tabela 2).

Tabela 2 - Caracterização química do solo coletado na Esalq/USP, Piracicaba-SP

Determinações	Solo
pH (CaCl ₂)	4,30
MO g/kg	7,00
P g/kg	0,01
K mmol _c dm ⁻³	0,60
Ca mmol _c dm ⁻³	5,00
Mg mmol _c dm ⁻³	1,00
H ⁺ Al mmol _c dm ⁻³	34,00
Al mmol _c dm ⁻³	5,00
CTC mmol _c dm ⁻³	41,00
Sat. Bases (V%)	16,00
Sat. Al (m%)	43,00
S (SO ₄) mg/kg	25,00
Cu mg/kg	0,10
Fe mg/kg	3,00
Zn mg/kg	0,20
Mn mg/kg	2,20
B mg/kg	0,14

*MO= matéria orgânica; SB = soma de bases

A acidez do solo foi corrigida pelo método da elevação da saturação por bases para 70%, de acordo com as recomendações de Raij et al. (1996), utilizando-se carbonato de cálcio (reagente analítico) com corretivo de acidez.

O material tratado foi aplicado nas concentrações de 0; 1; 10 e 100 de material/solo (g/kg) na base seca, nos vasos com capacidade de 2 kg, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado com três repetições em casa de vegetação.

Foram plantadas 10 sementes de *Z. mays* híbrido 2B433Hx da Dow Agrosiences em cada vaso. A porcentagem de germinação foi avaliada durante os cinco primeiros dias após a semeadura do milho até a emergência de sete plântulas no vaso controle (contendo apenas solo). Após esse período, foi realizado o desbaste de todos os tratamentos, de forma aleatória, totalizando cinco plântulas por vaso (Figura 6).



Figura 6 - Teste de toxicidade com *Zea mays* em casa de vegetação

O experimento foi realizado em condições de casa de vegetação com temperatura aproximada de 30°C, a umidade do solo foi mantida em 50% da capacidade de retenção de água, por meio da pesagem dos vasos e adição de água conforme metodologia descrita na norma ISO 11269-1 (1993).

Após 14 dias da realização do desbaste, as plântulas foram removidas dos vasos e lavadas em água e, avaliados os seguintes parâmetros: comprimento e biomassa seca das raízes e parte aérea.

As raízes e a parte aérea das plantas foram secas em estufa de aeração forçada a 60°C por 16 horas, então foram moídas em moinho para a quantificação pseudo-totais dos elementos químicos como alumínio, boro, bário, cálcio, cádmio, chumbo, cobalto, cromo, cobre, enxofre, ferro, fósforo, potássio, manganês, magnésio, molibdênio, níquel, silício, sódio e zinco, anteriormente determinadas no lodo de ETA e no material tratado. A análise foi realizada no Laboratório de Análises Ambientais do Departamento de Ciência do Solo da ESALQ/USP, utilizando peróxido de hidrogênio e ácido nítrico na proporção de 1:1 com digestão em micro-ondas e detecção em ICP-OES Thermo Scientific, modelo iCAP 6300 Duo, conforme metodologia de Araujo et al. (2002).

Os dados de germinação, comprimento e biomassa de raiz e parte aérea foram submetidos a análise de variância e as médias foram comparadas por meio do teste de Tukey ($P < 0,05$).

Os resultados da quantificação dos teores dos elementos químicos acumulados nas raízes e na parte aérea foram submetidos a análise variância (concentração x elementos químicos) e as médias foram comparadas por meio do teste de

Bonferroni ($P < 0,01$) utilizando o programa estatístico Prism 5. Ainda, os dados foram submetidos a análise multivariada de similaridade entre os elementos químicos para obtenção do coeficiente de correlação de Pearson ($P < 0,01$), utilizando o programa estatístico BioEstat 5.0.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização do lodo de ETA

O lodo foi avaliado para fins de fertilidade, não como um resíduo industrial, mas como um sedimento do rio concentrado, que segundo Messias (2013) apresentam características químicas semelhantes aos solos da bacia da região.

A análise granulométrica do lodo da ETA Capim Fino, Piracicaba – SP, resultou na caracterização da amostra como sendo predominantemente arenosa, com 623,35 g/kg de areia, 227,96 g/kg de argila e 148,69 g/kg de silte (Tabela 3).

Segundo Messias (2013) em uma amostra de lodo coletada na mesma ETA no ano de 2009, apresentou ser arenosa e em outras coletas as amostras foram predominantemente argilosas.

O lodo de ETA apresentou pH 7,0 e umidade total de 79,42%; CTC (capacidade de troca catiônica) de 310 mmol_c.kg⁻¹ e condutividade elétrica de 2,0 ds.m⁻¹. Outras características químicas do lodo estão apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3 - Características química e física do lodo gerado na ETA Capim Fino, Piracicaba-SP

Determinações	Lodo
pH CaCl ₂	7,00
Densidade (g cm ⁻³)	1,03
Umidade total (%)	79,42
MO total – combustão (%)	23,46
MO compostável (%)	17,51
MO resistente a compostagem (%)	5,94
Carbono total (%)	13,03
Carbono orgânico (%)	9,74
Nitrogênio total (%)	1,23
P (P ₂ O ₅) total (%)	0,82
K (K ₂ O) total (%)	0,27
Ca total (%)	1,97
Mg total (%)	0,50
S total (%)	0,23
Relação C/N (C orgânico e N total)	42377,00
Cu total (mg/kg)	23,00
Mn total (mg/kg)	3955,00
Zn total (mg/kg)	110,00
Fe total (mg/kg)	39941,00
B total (mg/kg)	5,00
Na total (mg/kg)	572,00
CTC mmol _c .Kg ⁻¹	310,00
CE ds.m ⁻¹	2,00
Argila (%)	227,96
Silte (%)	148,69
Areia (%)	623,35

*Valores apresentados com base na matéria seca

As determinações da quantidade de MO total; MO compostável e a relação C/N fornecem informações importantes sobre a viabilidade da utilização dos resíduos industriais.

A amostra em estudo, apresentou 17,5% de matéria orgânica (Tabela 3). Botero et al. (2009) caracterizou o lodo de três ETA, as quais a matéria orgânica variou de 20,5 a 68,9%. Santos (2014) caracterizou uma amostra de lodo da mesma ETA em estudo com matéria orgânica total de 1,49%.

A relação C/N nessa amostra de lodo é de 8:1 semelhante com as amostras de Botero et al. (2009) em que a relação foi 8,40-26,60. Messias (2013) encontrou para amostras de lodo coletadas na mesma ETA no ano de 2010, relação de 10:1, por outro lado, Santos (2014) encontrou uma relação de 5/1.

Segundo Messias (2013) os lodos de ETA normalmente apresentam relação C e N próximo de 10:1. Uma baixa razão C/N (<18) indica que o uso deste resíduo não é recomendado na agricultura, uma vez que há baixa disponibilidade de carbono que servirá como fonte de energia para os microrganismos (MOREIRA; SIQUEIRA, 2009).

Segundo a norma ABNT NBR 10.004 (2004), os lodos provenientes de ETA, são classificados como resíduo sólido, argilosos e alta umidade. Entretanto as características dos lodos podem oscilar com a época de amostragem e das características da bacia hidrográfica, considerando os fatores climáticos, tipos de solos e atividades antrópicas (SANTOS, 2014).

Resíduos industriais como o lodo de esgoto e lodos de curtume vêm sendo utilizados na incorporação de solos agricultáveis. Em estudos realizados por Martines (2009) foram encontradas concentrações de 177 g/kg de carbono orgânico e 22,8 g/kg de nitrogênio total, com relação C/N de 6, enquanto que em estudos da incorporação de lodo de esgoto no plantio de eucalipto, continham 340 g/kg de carbono orgânico e 33 g/kg de nitrogênio total (BROSSI, 2008).

O potencial nutritivo dos lodos de curtume e dos lodos de esgoto são superiores ao lodo de ETA, que apresentou 97,4 g/kg de carbono orgânico e 12,3 g/kg de nitrogênio total. Por isso a incorporação direta do lodo de ETA *in natura* é inviável, uma vez que é o carbono que servirá de como fonte de energia para os microrganismos, para a liberação de CO₂, vapor de água e calor (FIORI; SCHOENHALS; FOLLADOR, 2008).

Outro fator limitante para aplicação do lodo de ETA em solos é a umidade, o lodo em estudo apresentou 79,4% (Tabela 3), considerada alta, segundo Brossi (2008), ele obteve 79% de umidade do lodo de esgoto, enquanto Martines (2009) obteve 85%, pois o excesso de água pode acarretar na formação de lama e compactação do solo e efeitos negativos no crescimento e desenvolvimento da fauna e flora.

Por outro lado, a utilização do lodo de ETA pode ser interessante na reestruturação de áreas degradadas, aliada a um tratamento biológico sua aplicação poderá ser melhor aproveitada pela fauna e flora (MESSIAS, 2013).

Dados sobre a aplicação deste resíduo no Brasil ainda são escassos, sendo necessárias pesquisas sobre as vantagens e os riscos desta prática (TEIXEIRA; MELO; SILVA, 2005). Reis e Berton (2011), não recomendam a aplicação de lodo de ETA na sua forma *in natura* ao solo, pois o mesmo não apresentou efeito positivo no crescimento de plantas de milho, sugerindo a incorporação a outros materiais que possam melhorar sua estrutura e nutrição.

Segundo alguns autores, o lodo de ETA apresenta algumas espécies metálicas, consideradas tóxicas designadas de metais pesados. A presença desses elementos em excesso pode limitar o seu uso no solo agrícola.

A norma regulamentadora do uso agrícola de lodos de tratamento biológico no Estado de São Paulo (CETESB, 1999) limita as concentrações máximas de metais no resíduo, sendo a taxa máxima de aplicação anual e acumulada com o objetivo de evitar danos ao ambiente. A Tabela 4 apresenta as concentrações de 20 elementos químicos quantificados no lodo de ETA em estudo e compara com os limites recomendados pela norma P.4230 (CETESB, 1999).

Não foram encontradas concentrações dos elementos acima dos limites recomendados pela norma da CETESB (1999). Entretanto, apresentou elevadas concentrações (acima de 1000 mg/kg) de Al, Fe, K, P e Mg, não citados na norma (Tabela 4).

Tabela 4 - Concentração média pseudo-disponível dos elementos químicos, em mg/kg, obtidos por ICP-OES presentes na amostra de lodo da ETA Capim Fino

Elementos	Concentração	Limite ⁽²⁾
	mg/kg	mg/kg
Al	55575,00	-
B	< 0,03 ⁽¹⁾	-
Ba	118,28	-
Ca	4020,00	-
Cd	5,50	85,00
Co	14,58	-
Cr	15,65	3000,00
Cu	17,53	4300,00
Fe	19492,50	-
K	2185,25	-
Mg	2144,00	-
Mn	978,25	-
Mo	2,05	75,00
Na	< 0,1 ⁽¹⁾	-
Ni	13,80	420,00
P	5392,50	-
Pb	18,10	840,00
S	396,00	-
Si	108,13	-
Zn	88,05	7500,00

⁽¹⁾Abaixo do LD (limite de detecção do método)

⁽²⁾Limite de metais pesados permitidos em lodo aplicáveis em solo CETESB (1999)

Messias (2013) verificou que o lodo coletado na estação Capim Fino em 2009 continha mais de 20 elementos químicos, quando analisado por ICP-OES. Sendo eles Al, Ca, Fe, Ba, Cu, K, Mg, Mn, Na, Pb e Zn, os que estavam em maior concentração.

Segundo o mesmo autor, analisando o lodo da mesma ETA, em duas amostras diferentes, sendo do floculador e decantador por espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS), também não encontrou elementos químicos acima dos recomendados por esta norma, com exceção de uma coleta, que no lodo do floculador e decantador apresentaram 466 e 735 mg/kg de molibdênio respectivamente, sendo o limite recomendado abaixo de 75 mg/kg pela norma da CETESB (1999).

Segundo Botero et al. (2009) os elementos químicos: Cu, Zn, Ni, Pb, Cd, Cr, Mn, Al e Fe são provenientes dos rios, do descarte de efluentes no mesmo e da adição de coagulantes adicionados no tratamento da água, que podem apresentar efeitos positivos ou negativos, dependendo de sua concentração na disposição final e na utilização desses resíduos.

O aumento nas concentrações de Al e Fe no lodo da ETA Capim Fino no período de 2004 a 2014 são relatados por Messias (2013) e Santos (2014).

As concentrações elevadas de Al e Fe são provenientes em grande parte dos coagulantes adicionados na estação que são à base de hidróxidos de Al e Fe (alguns apresentam Mn na composição) que durante o processo de coagulação e decantação permanecem no lodo. E as concentrações de Ca podem ser oriundas do uso desse elemento na correção do pH da água na fase inicial de tratamento ETA (SANTOS, 2014; MESSIAS, 2013). Podendo também, ser oriundos de descartes industriais e da crescente degradação ambiental.

Os solos da região da bacia do rio Corumbataí, apresentam 43% da sua área predominantemente do tipo Podzólico ou Argissolo vermelho caracterizado como um material mais argiloso e 22% da área, do tipo Latossolo vermelho-amarelo, caracterizados por apresentarem em sua composição óxidos de Al e Fe, minerais de argila, quartzo, entre outros minerais (EMBRAPA, 2006). Podendo o excesso desses elementos encontrados no lodo de ETA oriundos da composição da bacia.

Segundo os autores, Falqueto (2008) e Messias (2008) avaliando a água e sedimentos do rio Corumbataí e Zambetta (2006) os sedimento e solo da bacia do mesmo rio, nos períodos de 2004 a 2008 eles identificaram o aumento nas concentrações de Al e Fe com o passar dos anos e ao longo do rio.

Nos Estados Unidos (Atlanta e Nova Jersey) e Portugal, o lodo de ETA foi aplicado em solos agrícolas com deficiência em ferro, promovendo aumento da concentração desse elemento, no cultivo da laranja e do limão (AWWA, 1996).

Santos (2014) sugere que as elevadas concentrações de K e Mg podem estar associadas ao uso de fertilizantes que podem ser lixiviados das áreas ocupadas próximas, na bacia do rio Corumbataí.

4.2 Caracterização do bagaço e da vinhaça de cana-de-açúcar

O bagaço de cana-de-açúcar, apresenta um pH próximo da neutralidade; 38% de umidade; 79% de matéria orgânica; alta relação C/N (57) e elevada concentração de Fe (Tabela 5).

Tabela 5 - Caracterização química do bagaço de cana-de-açúcar

Determinações	Bagaço
pH	6,70
Umidade %	38,19
MO %	79,13
Carbono %	45,90
Nitrogênio %	0,80
P ₂ O ₅ g/kg	3,80
K ₂ O g/kg	4,00
CaO g/kg	1,54
Mg O g/kg	2,00
SO ₄ g/kg	2,00
Cu mg/kg	9,70
Fe mg/kg	1044,20
Mn mg/kg	75,80
Zn mg/kg	16,40
Relação C/N (C e N total) %	57,38

O bagaço vem sendo muito utilizado como substrato para o cultivo de cogumelos como o *Pleurotus*. Sendo também utilizado em trabalhos de toxicidade e descoloração de vinhaça e corantes índigo e como substrato para a produção do inóculo do fungo (DELLAMATRICE et al., 2005; FERREIRA, 2009; SILVA, 2014; SOUZA, 2012).

Santos (2014) utilizou o bagaço de cana-de-açúcar em uma mistura contendo lodo de ETA e vinhaça como substrato de crescimento de *Pleurotus* spp.

A literatura traz exemplos de aplicações do bagaço na adsorção de corantes azul índigo e verde malaquita e de metais como o Cu²⁺, Zn²⁺, Cd²⁺ e Pb²⁺ (SOUZA, 2012).

O pH da vinhaça é ácido, a condutividade elétrica é alta (9870 μ S) quando comparado a outros resíduos, como o lodo de esgoto, devido a elevada concentração de matéria orgânica e elementos minerais (FREIRE; CORTEZ, 2000). Além disso, a vinhaça apresenta densidade 0,96 mg/mL e elevadas concentrações de Fe e K (Tabela 6).

Tabela 6 - Caracterização química da vinhaça bruta coletada na Usina Iracema, Iracemápolis-SP

Determinações	Vinhaça
pH	4,40
CE μ S	9870,00
Densidade g/mL	0,96
Resíduo seco a 100-110°C g/L	39,84
Matéria Orgânica total (combustão) g/L	29,26
Carbono total (orgânico e mineral) g/L	16,26
Resíduo mineral total g/L	10,58
Resíduo mineral insolúvel g/L	0,27
Resíduo mineral solúvel g/L	10,30
Nitrogênio total g/L	0,92
F (P_2O_5) total g/L	0,23
K (K_2O) g/L	5,10
Ca g/L	0,84
Mg g/L	0,45
S g/L	0,89
Cu total mg/kg	2,00
Mn total mg/kg	7,00
Zn total mg/kg	2,00
Fe total mg/kg	28,00
Relação C/N (C e N total)	18/1

A composição química da vinhaça depende do tipo da planta utilizada na produção do etanol e do processo de destilação (ESPAÑA-GAMBOA et al., 2011).

De modo geral, a vinhaça é composta basicamente por água (aproximadamente 93%) e 7% de sólidos orgânicos e minerais, sendo que altos índices de matéria orgânica podem estar na forma de ácidos e cátions Ca, K, Mg e, baixas concentrações de N e P (LAIME et al., 2011).

A matéria orgânica a partir da vinhaça e do bagaço de cana-de-açúcar é uma fonte importante de carbono para os microrganismos (PRATA et al., 2001). Segundo o mesmo autor, a degradação pode ocorrer pelo aumento da atividade microbiana

proporcionado pela adição de vinhaça que fornece energia na forma de carbono. A maior parte do carbono da vinhaça pode estar na forma de glicerol, provenientes de rotas alternativas durante a fermentação do álcool. Na célula microbiana, o glicerol pode passar a diidroxicetona, que pode ser incorporada a via glicolítica do metabolismo microbiano.

Prata et al. (2001) observou que a adição de vinhaça em solos contendo o herbicida ametrina proporcionou um aumento significativo na taxa de desprendimento de CO₂, contribuindo para a maior mineralização do herbicida.

Lourencetti, Marchi e Ribeiro (2008) também mostrou que a adição da vinhaça em solos argilosos aumentou a degradação dos herbicidas diurom e tebutiurom, reduzindo a meia vida de 80 para sete dias e 128 para 73 dias respectivamente.

Vários autores recomendam a utilização da vinhaça tratada com fungos do gênero *Pleurotus* ao solo, pois podem melhorar o crescimento e desenvolvimento de algumas espécies de plantas.

Aguiar Filho, Ferreira e Monteiro (2010) verificaram o crescimento e desenvolvimento de fungos do gênero *Pleurotus* em bagaço de cana-de-açúcar suplementado com meio mineral e vinhaça em diferentes temperaturas, resultando no aumento de biomassa do micélio de *P. sajor-caju* em meio suplementado com vinhaça a 30°C.

Souza (2012) obteve resultados positivos com aumento substancial na produção das enzimas do sistema ligninolítico, cultivando os fungos *P. sajor-caju* e *P. ostreatus* em uma mistura contendo bagaço + vinhaça.

Alves Martins (2013), tratando a vinhaça com os mesmos fungos, observou que a vinhaça mostrou-se ser fonte de carbono e nutrientes para as plantas de milho e sorgo, proporcionando aumento na porcentagem de germinação e biomassa.

4.3 Testes de composição das misturas

O teste de composição das misturas foi realizado em cinco composições alterando-se a proporção de lodo e bagaço inoculada com duas espécies de fungos (*P. sajor-caju* e *P. ostreatus*) separadamente, incubadas por 12 dias, para a determinação da melhor composição dos materiais e a espécie de fungo na formulação da mistura.

Observando os resultados apresentados na Figura 7, a variável porcentagem de umidade ocorreu a redução para ambos os fungos na composição de mistura de 1:2 (lodo/bagaço). Apresentando diferença significativa ($P < 0,05$) quando comparada com o controle, a composição com o fungo *P. ostreatus*, evidenciando o consumo de água e oxigênio para o crescimento e desenvolvimento do fungo (Figura 7a).

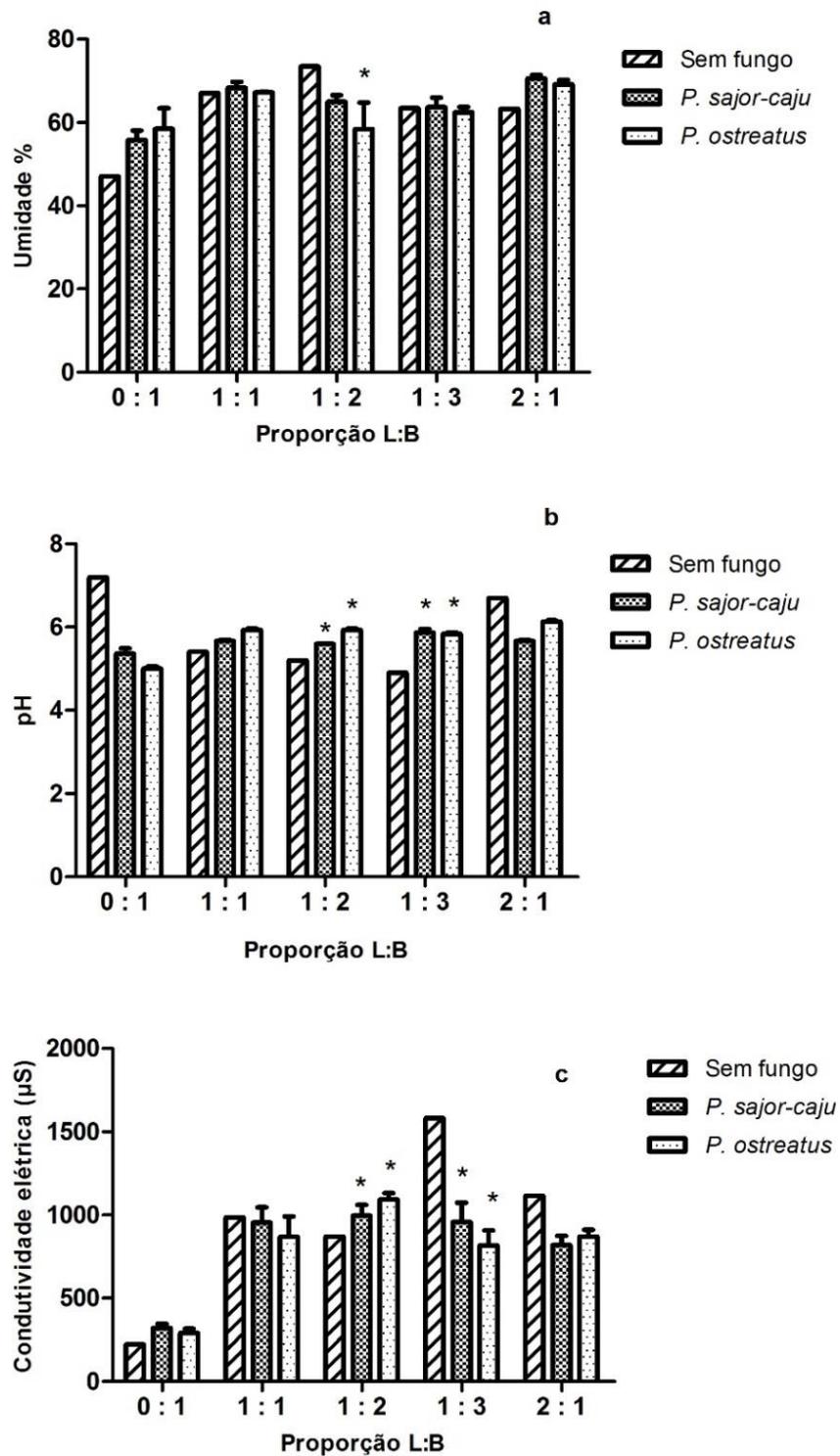


Figura 7 - Porcentagem da umidade (a), pH (b) e condutividade elétrica (c) das misturas de L:B (lodo/bagaço) após 12 dias com *P. sajor-caju* e *P. ostreatus* (*significativo $P < 0,05$)

Ainda na Figura 7, ocorreu aumento do pH nas misturas 1: 2 e 1:3 inoculadas com os dois fungos comparadas ao controle (significativo $P < 0,05$) (Figura 7b).

Foi possível observar nos resultados citados acima, que o aumento de pH está relacionado com o aumento de bagaço, pois quando é reduzida sua quantidade e aumentada a de lodo de ETA, ocorre uma redução do pH tornando a mistura ácida.

Os resultados de condutividade elétrica (Figura 7c) mostraram aumento na mistura de 1:2 e redução na mistura 1:3 para ambos os fungos, com relação ao controle, não diferindo estatisticamente entre os tratamentos e as espécies de fungos.

O bom desenvolvimento de ambas as linhagens de fungos nas misturas deve-se a presença de materiais ligninocelulíticos, como o bagaço e a vinhaça. Os testes evidenciaram que em 12 dias, *Pleurotus* foi capaz de crescer e descolorir as misturas. Sendo que, observou-se maior descoloração nas misturas crescidas com *P. sajor-caju*.

Na figura 8 estão apresentados os resultados da atividade enzimática. Ocorreu maior produção das enzimas lacase e peroxidase (significativo $P < 0,01$) na mistura com proporção 1:2 com 12 dias de crescimento com o fungo *P. sajor-caju*. Diferentemente, foi observado nas misturas inoculadas com *P. ostreatus*, a proporção de 2:1 uma maior produção das três enzimas simultaneamente, porém em menor concentração (Figura 8 a e b).

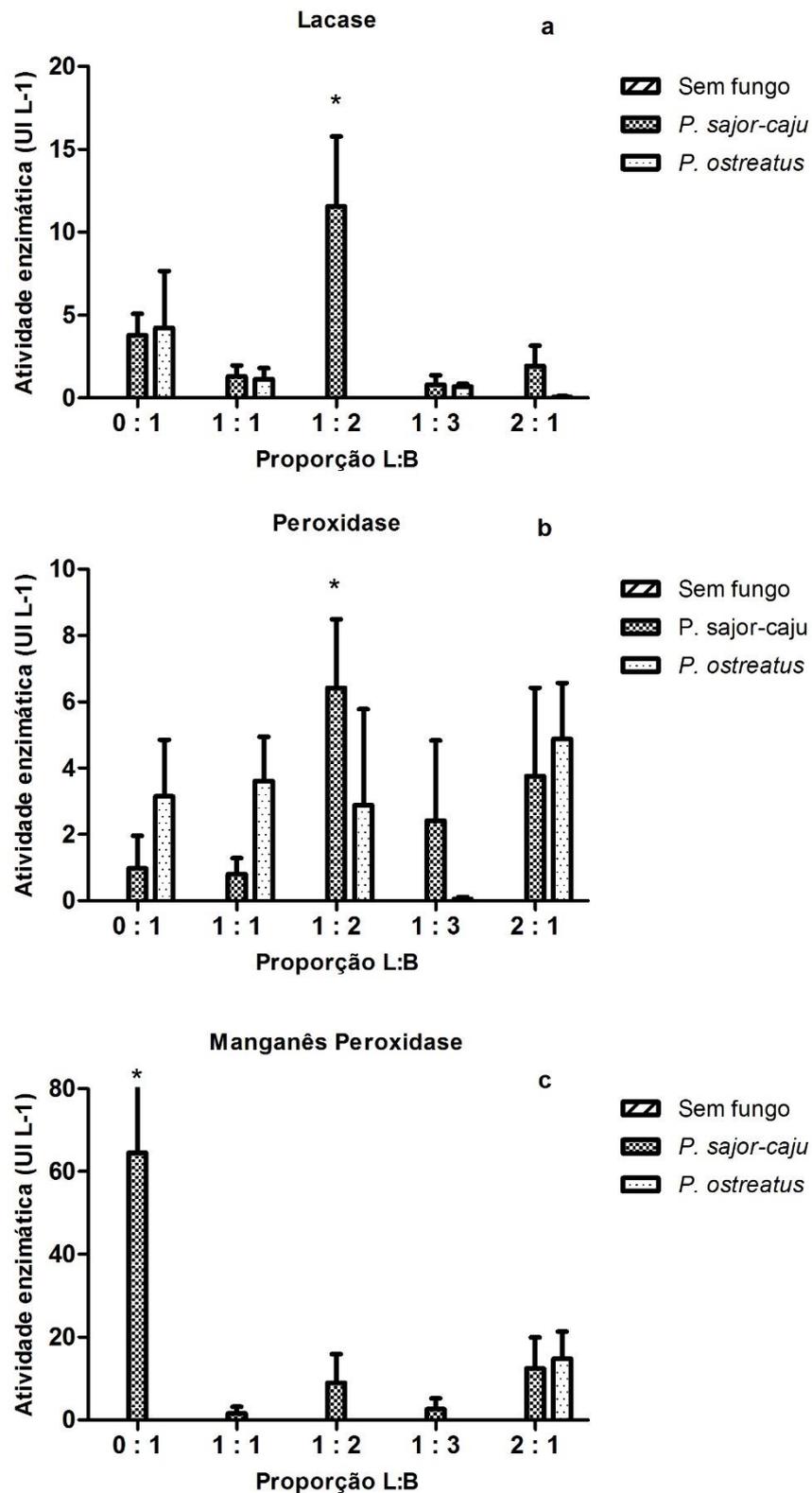


Figura 8 - Atividade enzimática da lacase(a); peroxidase (b) e manganês peroxidase (c) nas misturas de L:B (lodo/bagaço) após 12 dias de incubação com *P. sajor-caju* e *P. ostreatus* (*significativo $P < 0,05$)

A enzima MnP apresentou maior produção na proporção de 0:1 de (lodo/bagaço) significativo ($P < 0,01$). Ou seja, na mistura contendo apenas bagaço de cana-de-açúcar umedecido com água, considerada o controle. Nas proporções de 1:2 e 1:3 observou-se baixa atividade (figura 8c). Diferentemente, foi observado nas misturas inoculadas com *P. ostreatus*, na mistura 2:1, apresentou maior produção das três enzimas simultaneamente, porém em menores concentrações comparadas com *P. sajor-caju*.

O teste de misturas evidenciou o potencial de utilização do lodo de ETA como material componente da formulação de um material orgânico juntamente com o bagaço e a vinhaça tratadas com *P. sajor-caju*.

A escolha da mistura de 1:2 (lodo/bagaço) foi realizada com base nos resultados significativos de pH e produção das enzimas lignocelulíticas simultaneamente. Além disso, com base nas características visuais de descoloração e mudança do odor, em todas as proporções das misturas inoculadas com *P. sajor-caju*.

O crescimento dos microrganismos em resíduos está relacionado com a homeostase, que envolve a absorção de elementos essenciais suficientes para o funcionamento ideal dos processos metabólicos enquanto promove proteção contra o excesso de outros elementos e metais presentes nos resíduos (THOMSETT, 1993).

O Cu e o Mn participam dos processos de degradação da lignina, sendo que o Cu atua como cofator no centro catalítico da lacase e o Mn integra o ciclo de reações da MnP (BALDRIAN; GABRIEL, 2002; BALDRIAN, 2003).

Segundo Stajic et al. (2013) a presença de Fe e Zn juntos ou apenas de Zn em meio de cultivo proporcionou um aumento de 0,7% de lacase e de três vezes da atividade da lacase em *P. ostreatus* em relação ao controle.

A presença de Na e Si em meio de cultivo também proporcionou um aumento de cinco vezes a atividade de lacase em *P. ostreatus* e de 25% da enzima MnP (BALDRIAN; GABRIEL, 2002; BALDRIAN, 2003).

Aguiar Filho, Ferreira e Monteiro (2010) e Souza (2012) verificaram maior produção de enzimas em *P. sajor-caju* crescido em bagaço e vinhaça após 15 dias de crescimento a 28°C, quando comparado com outras linhagens de fungos.

Segundo Santos (2014) a mistura de resíduos contendo amostra lodo da mesma ETA com o crescimento de *P. sajor-caju* apresentou-se melhor do que *P. ostreatus*.

A presença de materiais lignocelulósicos podem induzir a produção de enzimas ligninocelulíticas produzidas por fungos, como lacase, peroxidase e MnP que agem em sinergismo na degradação de efluentes industriais (FERREIRA et al., 2011). Essa degradação ocorre, pela ação de enzimas, capazes de quebrar estruturas fenólicas de compostos presentes nestes resíduos. A MnP é capaz de oxidar compostos fenólicos da estrutura da lignina (TIEN; KIRK, 1984; SZKLARZ et al., 1989; NOVIKOVA et al., 2002) e a lacase atua principalmente na quebra de compostos fenólicos, aminofenóis, difenóis e polifenóis (SALIS et al., 2009). Desse modo, a lacase e a MP atuam na quebra da molécula de lignina, uma vez que em sua estrutura apresenta fenóis.

Com base nos resultados, podemos confirmar o potencial dos fungos do gênero *Pleurotus* em crescer em resíduos como o lodo de ETA associado ao bagaço e vinhaça de cana-de-açúcar e, que seu crescimento promoveu a degradação do material e de alguns compostos provavelmente por meio do mecanismo de produção das enzimas.

4.4 Tratamento do lodo com *Pleurotus sajor-caju*

A mistura com composição de lodo e bagaço na proporção de 1:2 permaneceu incubada por até 60 dias a 28°C. Essa mistura antes do tratamento foi caracterizada com pH 4,2, condutividade elétrica de 1029 μ S, umidade de 68,81%, relação de carbono e nitrogênio igual a 27 e CTC de 300 mmolc/kg. Após a incubação da mistura por 60 dias com *P. sajor-caju*, observou-se o aumento do pH para 6,8 e da CTC para 410 mmolc/kg e a redução de algumas características como a condutividade elétrica para 697 μ S, umidade para 67,57% e relação C/N para 18 (Tabela 7).

Tabela 7 - Caracterização química da mistura 1: 2 (lodo/bagaço) antes e após incubação com *P. sajor-caju* por 60 dias

Determinações	dias de incubação	
	0	60
pH em CaCl ₂ 0,01 M	4,20	6,80
CE μ S	1029,00	697,00
Umidade total %	68,81	67,57
Carbono orgânico %	40,41	46,38
Nitrogênio total %	1,48	2,59
Relação C/N	27,00	18,00
P (P ₂ O ₅) total %	0,18	0,34
K (K ₂ O) total %	0,88	0,20
Ca total %	0,79	1,05
Mg total %	0,15	0,19
S total %	0,15	0,22
Cu total mg/kg	6,00	19,00
Mn total mg/kg	392,00	278,00
Zn total mg/kg	40,00	52,00
Fe total mg/kg	6029,00	4373,00
B total mg/kg	6,00	2,00
Na total mg/kg	337,00	219,00
CTC mmolc/kg	300,00	410,00

*0= antes do tratamento; 60= após tratamento

A determinação do pH, em amostras agronômicas, como solos, resíduos e fertilizantes, é importante, pois é um indicador de suas condições químicas. A acidez (ou alcalinidade) interfere na forma como os elementos químicos essenciais ao desenvolvimento vegetal estão disponíveis favorecendo ou não sua liberação para uso pelas plantas (ABREU et al., 2009). Por exemplo, a elevação de uma unidade do pH no solo, reduz 100 vezes a solubilidade de Zn, 100 vezes a concentração de Mg²⁺, 100 vezes a de Fe²⁺ e 1000 vezes a de Fe³⁺.

A matéria orgânica tem importante papel na capacidade de troca de cátions (CTC) principalmente nos horizontes mais superficiais ricos em húmus. Os sais solúveis ocorrem em quantidades variáveis no solo. Em condições de clima árido e semi-árido, por exemplo, quando a disponibilidade de água no solo é menor que a evaporação, pode haver acúmulo de sais. Seu excesso prejudica a germinação, o desenvolvimento dos vegetais, pois exige da planta um gasto maior de energia para

absorção de água no solo, o que prejudica seus processos metabólicos (ABREU et al., 2009). A medição da condutividade elétrica, estima a quantidade total de sais presentes no extrato (fertilizante-água ou resíduo-água), levando em consideração que a resistência para a passagem de corrente elétrica diminui com o aumento da concentração de sais (RAIJ et al., 2001).

Segundo Andreoli, Lara e Fernandes (2001) um composto para ser aplicado ao solo após a maturação (fase final da compostagem), ele deve apresentar uma relação C/N inferior a 20. Caso contrário, se aplicado ao solo há o risco dos microrganismos imobilizarem o nitrogênio do solo, podendo assim faltar o nitrogênio para as plantas.

Na Tabela 8 estão apresentados os valores da concentração dos elementos químicos quantificados por ICP-OES antes e após o tratamento com *P. sajor-caju*.

A concentração de Al na mistura tratada após 60 dias com *P. sajor-caju* foi menor comparada a amostra inicial antes do tratamento, apresentando redução de 45% (significativa $P < 0,01$) (Tabela 8). Os dados sugerem que o fungo *P. sajor-caju* atuou na redução de sua concentração de alguma maneira, podendo ter transformado e/ou mineralizado deixando-o na forma de Al indisponível por meio do mecanismo de produção das enzimas.

Uma interessante classificação de qualidade do composto e de seus conteúdos de metais pesados e dos limites a serem aplicados no solo foi proposta por Genevini et al. (1997), que analisaram trinta compostos produzidos com diferentes matérias primas e organizaram uma classificação de acordo com leis e normas estipuladas por países europeus. As classes de composto foram definidas como: qualidade muito alta, qualidade alta, presença de contaminantes e qualidade baixa. O material tratado com *P. sajor-caju* segundo Genevini et al. (1997) foi classificado como de muito alta qualidade, pois os teores dos elementos químicos avaliados estão todos abaixo do limite recomendado (Tabela 8).

Tabela 8 – Concentração pseudo-totais dos elementos químicos em mg/kg obtidos por ICP-OES presentes na mistura 1: 2 (lodo/bagaço) antes e após o tratamento com *P. sajor-caju*

Elementos químicos	Tempo de incubação		
	0 mg/kg	60 mg/kg	Limite ⁽²⁾ mg/kg
Al	28077,57	12646,29**	-
B	< 0,005 ⁽¹⁾	< 0,005 ⁽¹⁾	-
Ba	67,70	44,97	-
Ca	3311,51	3366,87	-
Cd	1,46	0,65	<1,0
Co	3,37	2,19	-
Cr	12,57	20,27	<70
Cu	11,43	16,39	<100
Fe	12058,85	7660,73	-
K	4756,36	5680,58	-
Mg	1515,97	1149,55	-
Mn	570,41	419,22	-
Mo	0,75	< 0,002 ⁽¹⁾	-
Na	1310,61	< 0,1 ⁽¹⁾	-
Ni	4,59	6,88	<30
P	1113,08	1610,18	-
Pb	3,13	4,92	<100
S	1386,35	1786,72	-
Si	398,97	177,69	-
Zn	41,50	54,39	<200

Significativo **($P < 0,01$) Teste de Bonferroni; 0= antes do tratamento; 60= após tratamento

⁽¹⁾LD=limite de detecção do método

⁽²⁾Limite de metais pesados para classificação de composto (GENEVINI et al., 1997).

Os resultados de atividade enzimática estão apresentados na Figura 9, ocorreu produção das enzimas lacase e peroxidase na mistura de 1:2 apenas aos 12 dias de incubação com *P. sajor-caju* (Figura 9 a e b). A enzima MnP apresentou início da atividade enzimática aos 12 dias, aumentando aos 24 dias e reduzindo aos 48 dias (Figura 9c).

Os dados de atividade enzimática demonstram que até 48 dias de incubação com *P. sajor-caju* ocorreu produção de enzimas, ou seja, o fungo estava ativo na degradação, mineralização e/ou transformação de compostos, após esse período, não foi observada atividade enzimática (Figura 9). O material permaneceu incubado por até 60 dias, tempo mínimo indicado para estabilização da matéria orgânica e maturação do composto segundo recomendações de Kiehl (2012).

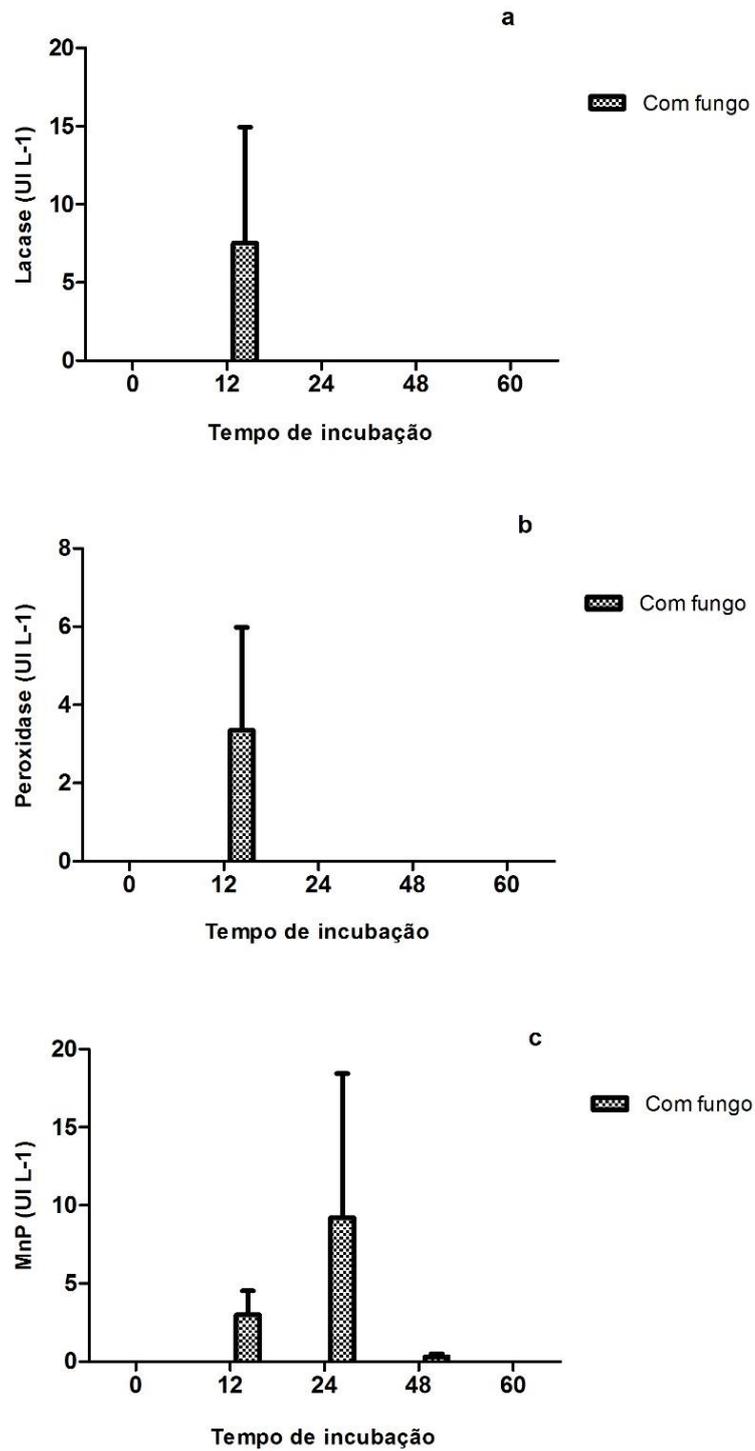


Figura 9 - Atividade enzimática da lacase (a); peroxidase (b) e manganês peroxidase (c) da mistura de 1: 2 (lodo/bagaço) em cinco tempos de incubação (0, 12, 24, 48 e 60 dias) com *P. sajor-caju*

Alguns elementos químicos são essenciais para o metabolismo de *Pleurotus* spp., para ocorrer a síntese de determinada enzima, alguns desses elementos, participam na ativação enzimática e na localização em sítios ativos, pois atuam como moduladores de enzimas, por isso as enzimas lacase e MnP foram produzidas em momentos diferentes durante o tratamento, possivelmente devido a presença de um elemento químico específico ou em concentrações diferentes (STAJIC et al., 2013).

A alta atividade da MnP sugere a presença de elementos como o Cu e Mn no material, pois esses estão no processo de degradação da lignina, o Mn integra os ciclo de reações da manganês peroxidase (MnP) e o Cu atua como cofator no centro catalítico da lacase (BALDRIAN; GABRIEL, 2002; BALDRIAN, 2003).

4.5 Teste de toxicidade utilizando *Zea mays*

A germinação de pelo menos 50% das sementes de *Z. mays* ocorreu no 5º dia após a semeadura nas diferentes concentrações do material tratado, sendo superior a 80% em todas as doses aplicadas, não apresentando diferença estatística entre as concentrações (Figura 10). Ressaltando que mesmo em alta concentração (100 g/kg) do material não ocorreu inibição da germinação.

Messias (2013) e Santos (2014) também obtiveram 50% de germinação de milho após o 5º dia de plantio.

Por outro lado, os resultados do teste de crescimento vegetal foram diferentes da germinação das sementes. A aplicação da mistura tratada na concentração de 100 g/kg promoveu o aumento significativo ($P < 0,01$) do comprimento das raízes e a redução significativa ($P < 0,01$) do comprimento da parte aérea (caule + folhas) das plântulas de milho. Entretanto, não apresentou diferença estatística para produção de biomassa seca nas raízes e na parte aérea de *Z. mays* entre os tratamentos e o controle (Figura 10).

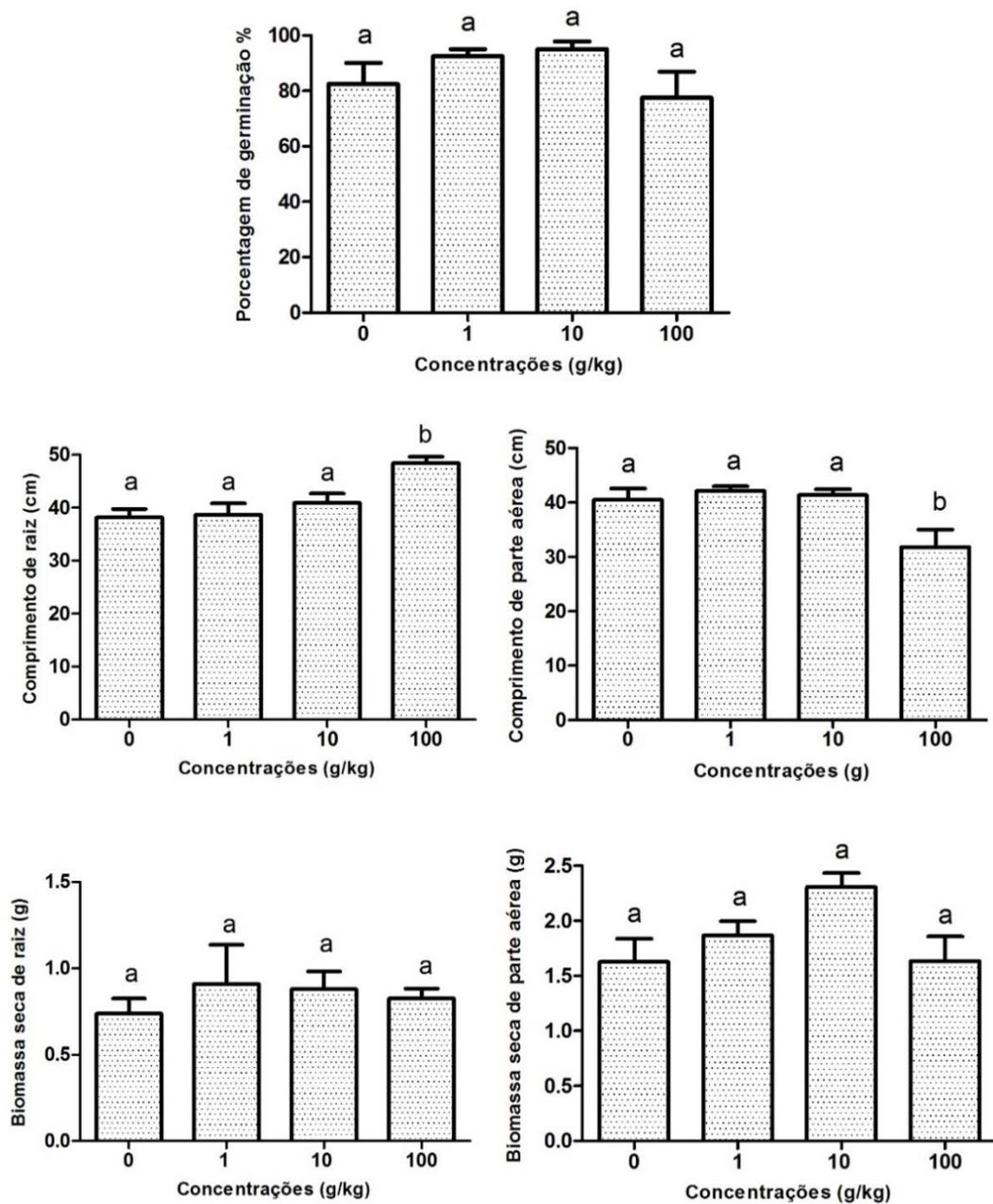


Figura 10 - Porcentagem de germinação das sementes, comprimento de raiz e de parte aérea (caule + folhas) (cm), biomassa seca de raiz e parte aérea (g) de *Zea mays* cultivada em solo com aplicação da mistura 1: 2 (lodo/bagaço) tratada com *P. sajor-caju*

A germinação de sementes e a alongação radicular são considerados métodos importantes na avaliação da fitotoxicidade de compostos orgânicos (WONG, 1985) e estes resultados indicam nenhum efeito inibitório do composto sobre as sementes de milho avaliadas neste estudo, mesmo em altas concentrações.

Messias (2013) verificou que a concentração de 50% de lodo de ETA aplicado ao substrato comercial estimulou o crescimento das raízes de milho. Em um outro estudo semelhante, Santos (2014) aplicou uma mistura de lodo de ETA tratado por 15 dias com *P. sajor-caju*, em um substrato comercial e obteve efeitos positivos no crescimento de milho e girassol.

Mata et al. (2011) observaram a ocorrência de 100% da germinação de milho, quando as sementes foram cultivadas em solos que receberam adubação com esterco bovino. Com doses acima de 20 t/ha, houve correlação positiva entre germinação e velocidade de emergência conforme as doses aplicadas. As doses acima de 30 t/ha foram viáveis para a substituição da adubação química.

Finoto et al. (2011) avaliaram a porcentagem de germinação de milho exposta a agroquímicos formulados e observaram a inibição de 38% do índice germinativo das sementes quando expostas ao imazipac na dose de 140 g/ha.

Machado et al. (2012) também obteve resultados semelhantes quando expuseram as sementes de *Z. mays* ao imazamoxi e glifosato, observaram a inibição de 33% e 13,3% na germinação respectivamente.

Vaz (2010) analisou o lodo da água residual de uma indústria de revestimento de Águeda (Portugal), na qual continha Cr, Cu, Ni e Zn em sua composição. O lodo foi incorporado ao solo e inibiu 100% da germinação de *Brassica rapa* e *Avena sativa*, nas aplicações de 1250 g/kg, indicando que os metais pesados podem interferir negativamente e significativamente a germinação de monocotiledôneas, dependendo da sua concentração.

Finoto et al. (2011) observaram redução de 81,35 % da parte aérea de milho em solo com aplicação de imazapic. Machado et al. (2012) obteve redução de 75,8; 70,9% e 80% da altura da parte aérea, comprimento do caule, comprimento de raiz quando aplicado imazamoxi na dose de 100 mg/kg. Em solo com aplicação de glifosato 100 mg/kg houve redução de 92,53%; 73,39% e 96,92% da altura de planta, comprimento do caule e comprimento da raiz, respectivamente.

Os efeitos dos compostos tóxicos, na maioria dos casos, afetam primeiramente a germinação e o crescimento e desenvolvimento das raízes. A função das raízes é realizar a sustentação e absorção de água e nutrientes presentes na solução e/ou mistura. Conseqüentemente, os poluentes, elementos químicos e agrotóxicos, dependendo da concentração, podem interferir de maneira positiva ou negativa no desenvolvimento das plantas (MATA et al., 2011).

Segundo Kiehl (2012) não se conhece ainda os limites de toxidez ou de tolerância por elementos químicos considerados essenciais para plantas cultivadas no país. Sabe-se que cada planta tem diferentes exigências por quantidades de nutrientes e diferentes mecanismos de absorção esgotamento para elementos essenciais ou para elementos químicos não considerados nutrientes.

As quantificações dos teores dos elementos químicos presentes nas raízes e parte aérea de milho foram realizadas para determinar em qual parte da planta (raiz ou parte aérea) ocorreu acúmulo dos elementos químicos. Comparando os resultados, de modo geral, os teores dos elementos químicos acumulados foram maiores nas raízes do que na parte aérea de milho (Tabela 9).

Elevadas concentrações de Al (13863,35 mg/kg) significativa ($P < 0,01$) foram encontradas nas raízes de *Z. mays* quando crescidas na concentração de 1 g/kg da mistura comparada com o controle e todos os tratamentos. Diferentemente foi observado quando aumentada as concentrações da mistura, que promoveu a redução nos teores de Al nas concentrações de 10 e 100 mg/kg. Na concentração de 100 g/kg, observou a redução de 59,44% de Al comparada com a concentração de 1 g/kg. Ainda, observou redução de 10,28% de Al na parte aérea de milho, comparada ao acúmulo do mesmo nas raízes (Tabela 9).

Tabela 9 - Concentração pseudo-totais dos elementos em mg/kg obtidos por ICP-OES presentes nas raízes e parte aérea de *Zea mays* cultivada em solo com aplicação da mistura 1: 2 (lodo/bagaço) nas concentrações de 0, 1, 10 e 100 g/kg (mistura/solo)

Elemento químico	Raiz (mg/kg)				Parte aérea (mg/kg)				Limite ⁽²⁾
	0	1	10	100	0	1	10	100	
Al	10266,63	13863,35**	9886,08	8242,23	528,59	966,94	2257,03	1426,03	-
B	< 0,005 ⁽¹⁾	20							
Ba	5,99	6,56	6,63	20,22	9,19	7,70	6,62	6,36	-
Ca	3288,94	3170,05	3709,39	3239,65	14122,00	12723,13	9280,86	4804,00**	4000
Cd	0,87	1,00	0,80	0,54	0,27	0,26	0,30	0,13	-
Co	0,78	0,75	0,76	0,98	< 0,002 ⁽¹⁾	0,26	0,03	0,04	-
Cr	5,77	6,43	4,88	4,78	0,09	0,70	1,70	0,59	-
Cu	13,93	16,12	14,50	11,91	10,11	10,60	10,13	10,36	20
Fe	8623,42	12010,62*	9006,71	7386,98	536,80	923,61	2242,70	1436,27	250
K	4390,51	5979,24	12350,92**	29171,89**	5060,27	7249,31	20645,38**	41778,86**	29700
Mg	458,35	534,49	692,14	1010,88	1460,23	1533,40	1304,94	1259,18	4000
Mn	71,52	71,66	81,48	197,01	174,48	169,23	179,22	213,77	150
Mo	< 0,002 ⁽¹⁾	0,2							
Na	1219,35	1025,04	1062,02	434,15	< 0,1 ⁽¹⁾	< 0,1 ⁽¹⁾	< 0,1 ⁽¹⁾	< 0,1 ⁽¹⁾	-
Ni	2,87	2,85	2,58	1,94	0,46	0,83	1,28	0,85	-
P	1676,73	1584,10	1665,12	2060,00	2404,77	2239,72	2482,34	4533,97	3500
Pb	5,15	5,93	4,83	4,20	< 0,01 ⁽¹⁾	< 0,01 ⁽¹⁾	< 0,01 ⁽¹⁾	< 0,01 ⁽¹⁾	-
S	1700,78	1574,74	1734,79	2903,16	2157,85	2052,73	1693,56	1964,18	2100
Si	4505,68	4732,09	4580,77	3996,27	961,17	1215,60	1799,91	1246,02	-
Zn	26,27	20,65	28,37	46,67	21,05	20,73	22,92	32,48	50

Significativo **($P < 0,01$); *($P < 0,05$) Teste de Bonferroni ⁽¹⁾Abaixo do LD= limite de detecção do método ⁽²⁾Limite recomendado dos teores de macro e micronutrientes acumulados nas folhas de milho por Coelho et al. (2006)

O elemento Fe comportou-se da mesma maneira, sendo estatisticamente diferente ($P < 0,05$) nas raízes na concentração de 1 g/kg com teor de 12010,62 mg/kg. Quando comparado com a concentração de 100 g/kg de mistura aplicada, promoveu redução de 61,5% de Fe nas raízes de milho (Tabela 9).

Outro elemento químico que apresentou elevados teores nas raízes e na parte aérea de *Z. mays* foi o K, significativo ($P < 0,01$) nas concentrações de 10 e 100 mg/kg da mistura comparada ao controle. Sendo que, ocorreu aumento de 15% nas raízes e 12% na parte aérea de milho (Tabela 9).

Os teores de Mn em maior concentração foram obtidos na parte aérea de milho (213,77 mg/kg) na concentração de 100 g/kg de composto, com relação ao controle e com os teores quantificados nas raízes. Elevados teores de Ba também foram acumulados nas raízes na concentração de 100 g/kg da mistura, sendo de 20,22 mg/kg (Tabela 9).

Elevadas concentrações de Ca foram observados na parte aérea das plântulas de milho, em relação ao controle, com redução de 34% na concentração 100 g/kg significativa ($P < 0,01$) (Tabela 9).

O aumento das concentrações do material tratado aplicado ao solo no crescimento de *Z. mays*, na dose máxima utilizada de 100 g/kg, proporcionou o acúmulo na parte aérea de K e P em alta concentração e a redução de Ca comparado com o controle (Tabela 9). O material tratado apresentou os elementos químicos como Cd, Cr, Cu, Mo, Ni, Pb e Zn inferiores aos limites máximos sugeridos pela norma P4230 da CETESB (1999).

Com relação aos micronutrientes, as quantidades requeridas pelas plantas de milho são muito pequenas. Coelho et al. (2006), sugere os teores foliares considerados adequados de macro e micronutrientes nas plantas de milho.

Os teores quantificados na parte aérea de milho foram comparados com o limite sugerido pelo mesmo autor citado acima, e os elementos B, Cu, Mg, Mo, Pb e Zn apresentaram-se em concentrações inferiores ao limite e, os elementos Ca, Fe, K, Mn e P estão superiores ao recomendado (Tabela 9).

Na Tabela 10 estão listados o resumo dos resultados das análises de correlação simples de Pearson entre as concentrações do material tratado com os teores de elementos químicos quantificados nas raízes e parte aérea de *Z. mays* que apresentaram significância estatística, positiva ou negativa, até 1% de probabilidade, totalizando 28 contrastes, dentre as 57 correlações significativas.

Os resultados da correlação evidenciaram o aumento de K e Zn conforme o aumento das concentrações de material aplicado nas plântulas de milho (Tabela 10).

O Al apresentou correlação positiva com os elementos químicos Co, Cu, Fe, Na, Ni, Pb e Si ou seja, conforme o aumento da concentração de Al menor os teores dos elementos citados e, negativa com Mg que reduziu-se sua concentração com o aumento de Al (Tabela 10).

Tabela 10 - Análise de correlação simples de Pearson entre as concentrações do material tratado com fungo com os teores de elementos químicos quantificados nas raízes e parte aérea de *Z. mays*

Correlações	R	R ²	P	Correlações	R	R ²	P
dose e K	0,917	0,841	0,001	Cr e Ni	0,980	0,960	< 0.0001
dose e Zn	0,860	0,739	0,006	Cr e Pb	0,983	0,967	< 0.0001
Al e Co	0,877	0,769	0,004	Cr e Si	0,989	0,978	< 0.0001
Al e Cr	0,986	0,972	< 0.0001	Cu e Fe	0,960	0,921	0,000
Al e Cu	0,962	0,925	0,000	Cu e Mg	-0,923	0,852	0,001
Al e Fe	0,999	0,998	< 0.0001	Cu e Mn	-0,895	0,800	0,003
Al e Mg	-0,949	0,900	0,000	Cu e Na	0,937	0,878	0,001
Al e Na	0,931	0,866	0,001	Cu e Ni	0,929	0,864	0,001
Al e Ni	0,969	0,938	< 0.0001	Cu e Pb	0,937	0,879	0,001
Al e Pb	0,986	0,973	< 0.0001	Cu e Si	0,912	0,833	0,002
Al e Si	0,977	0,954	< 0.0001	Fe e Mg	-0,942	0,888	0,001
Ba e S	0,940	0,883	0,001	Fe e Na	0,924	0,854	0,001
Cd e Cr	0,954	0,910	0,000	Fe e Ni	0,966	0,933	< 0.0001
Cd e Cu	0,969	0,939	< 0.0001	Fe e Pb	0,984	0,969	< 0.0001
Cd e Fe	0,964	0,930	0,000	Fe e Si	0,979	0,959	< 0.0001
Cd e Mg	-0,943	0,888	0,001	Mg e Mn	0,843	0,711	0,009
Cd e Mn	-0,913	0,833	0,002	Mg e Na	-0,972	0,944	< 0.0001
Cd e Na	0,963	0,928	0,000	Mg e Ni	-0,973	0,946	< 0.0001
Cd e Ni	0,961	0,924	0,000	Mg e Pb	-0,944	0,891	0,000
Cd e Pb	0,962	0,925	0,000	Mg e Si	-0,943	0,888	0,001
Cd e Si	0,947	0,897	0,000	Mg e Na	-0,913	0,833	0,002
Co e Cr	0,912	0,832	0,002	Mn e Ni	-0,843	0,711	0,009
Co e Pb	0,927	0,859	0,001	Na e Ni	0,962	0,926	0,000
Co e Si	0,926	0,858	0,001	Na e Pb	0,946	0,895	0,000
Cr e Cu	0,914	0,836	0,002	Nie Pb	0,960	0,922	0,000
Cr e Fe	0,984	0,968	< 0.0001	Ni e Si	0,977	0,955	< 0.0001
Cr e Mg	-0,945	0,892	0,000	Pb e Si	0,987	0,975	< 0.0001
Cr e Na	0,925	0,855	0,001				

Dados significativos a 1%

O alumínio, ao ser liberado para a solução, pode causar problemas de fitotoxicidade às plantas. A toxidez por Al tem sido identificada como um dos mais importantes fatores limitantes do crescimento e desenvolvimento das plantas em solos ácidos. O sintoma mais visível nas plantas é a redução do crescimento do sistema radicular, causada por mecanismos diferentes, que atuam fora ou no interior das células (DELHAIZE; RYAN, 1995).

Nos resultados apresentados na Figura 10, não foi observada a redução no crescimento das raízes, mas ocorreu a diminuição da parte aérea, não sendo considerada um dos sintomas de toxicidade pelo acúmulo de Al. É importante ressaltar a existência da variabilidade genética, principalmente em *Z. mays*, que é muito utilizada em estudos de melhoramento genético, podendo ocorrer diferentes respostas com relação a toxidez por alumínio (KORNDÖRFER, 2006).

A forte correlação de Al com Si (Tabela 10) pode sugerir que o mesmo possa ter interferido inibindo a toxicidade do Al. Segundo Epstein (2001) o silício não é considerado um elemento essencial para as plantas, mas, ele pode funcionar como um elemento benéfico, atuando na redução de estresse bióticos e abióticos, incluindo a toxicidade por Al.

O silício influencia também o crescimento das plantas sob condições de toxidez de alumínio devido à formação de complexos na solução do solo e/ou por reduzir a toxidez interna de alumínio (SANGSTER; HODSON; TUBB, 2001). Na planta, pode ocorrer a formação de compostos aluminossilicatos na parede celular do córtex de raízes, inibindo a absorção de alumínio para o protoplasma, impedindo desta forma a inibição da atividade enzimática e aumentando as concentrações de ácidos orgânicos no interior de raízes (MA, 2000; PIÑEROS et al., 2002).

As concentrações de Ca na presença de Si, podem ser alteradas influenciando o processo de divisão celular. O cálcio, além de atuar como componente estrutural, ele também apresenta importante função como mensageiro secundário na condução de sinais de fatores ambientais e resposta das plantas em termos de crescimento e desenvolvimento (VITTI; LIMA; CICARONE, 2006).

Observou-se também, a forte correlação de Al com Fe (Tabela 10). Segundo Santos (2014) elevadas concentrações desses elementos nas raízes das plantas de milho e girassol são provenientes do lodo de ETA, que durante o processo de potabilização da água na ETA, são adicionados sulfato de alumínio e de ferro, como coagulantes e sedimentam na lagoa de decantação formando o lodo.

O elemento Fe apresentou correlação positiva com os elementos químicos Mg, Na, Ni, Pb e Si. Sendo que, os elementos Mg e Mn apresentaram correlação negativa com Na, Ni, Pb, e Si (Tabela 10).

Messias (2013) cultivando milho em substrato comercial com aplicação de lodo de ETA, também obteve elevadas concentrações de Al nas raízes e K na parte aérea. O mesmo foi observado por Santos (2012), que encontrou elevadas concentrações dos elementos Al, Fe e S nas raízes e três vezes mais K na parte aérea de milho do que nas raízes.

Segundo Horn et al. (2006), a absorção de nutrientes pelo sistema radicular pode variar conforme sua morfologia e fisiologia e pode acontecer por meio de interceptação radicular, fluxo em massa ou difusão, além de serem absorvidos em taxas diferenciadas de acordo com a necessidade de cada vegetal. Assim os nutrientes podem ser classificados em macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg e S) exigidos em maior quantidade ou micronutrientes (B, Cl, Co, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Se e Zn) exigidos em quantidades menores (CASTRO, 2007).

Os sintomas de deficiência ou excesso de um elemento mineral têm semelhança em todas as espécies de plantas (LEAL; PRADO, 2008). Segundo Pozza et al. (2001), os nutrientes exercem funções específicas no metabolismo vegetal, influenciando no seu crescimento e sua produção, assim, um nutriente em níveis anormais pode prejudicar a produção ocasionando um estresse nutricional para a planta (DEON, 2007).

A concentração de elementos químicos acumulados nas plantas nem sempre refletirá a concentração dos elementos presentes no solo (MARWA; MEHARGA; RICE, 2012), mostrando que existe complexidade no mecanismo de absorção e fatores ambientais ligados a este processo (SINGH et al., 2004; RIVELLI et al., 2012).

O acúmulo de K pode ser devido as altas concentrações desse elemento químico encontrado na vinhaça de cana-de-açúcar. Segundo Baran et al. (2001) observaram o acúmulo de K nas raízes e parte aérea de *Hypostases phyllostagya* quando cultivada em bagaço de uva e turfa, conforme aumentou a concentração de bagaço foi maior a concentração de K acumulado.

A literatura mostra que a concentração de elementos provenientes de diversos contaminantes ou fontes poluidoras é maior nas raízes do que no caule e folhas. Singh et al. (2004) encontraram um acúmulo de metais principalmente nas

raízes seguido de parte área e folhas de girassóis crescidos em várias concentrações de lodo de curtume, durante 60 dias. Houve maior absorção de Fe ($476,18 \mu\text{g g}^{-1}$), Cr ($426,33 \mu\text{g g}^{-1}$), Zn ($103,74 \mu\text{g g}^{-1}$) e Mn ($424,46 \mu\text{g g}^{-1}$) no tratamento com 100% de lodo.

Segundo Tamoutsidis et al. (2009), estudando milho crescidos em áreas com irrigação com águas residuárias urbanas observou-se aumento de K, Mn e Mg, sendo de 25,7; 12,5 e 22,45 em relação ao controle.

Segundo Malavolta et al. (2006) o potássio está envolvido no crescimento meristemático, uma vez que os fitohormônios atuantes neste processo são postos em ação por esse mineral. A assimilação do K é feita basicamente num processo ativo, atingindo o máximo de absorção com a presença de Ca^{2+} no meio, embora o excesso tenha o efeito inibidor, como por exemplo, na utilização de calcário em excesso para a neutralização da acidez. Este elemento é encontrado no solo sob a forma iônica K^+ , sendo absorvido em grandes quantidades pelas plantas, não formando compostos.

O potássio, por ser um nutriente muito móvel, atua no transporte transmembrana, é ativador de um grande número de enzimas do metabolismo vegetal, sendo que algumas participam das reações da fotossíntese, respiração, síntese de amidos, proteínas e lignina, como o piruvato quinase, amido sintetase, desidrogenases e aldolases (NAIFF, 2007). Ele mantém o potencial osmótico e o balanço iônico, participando do processo de abertura e fechamento dos estômatos, regulando a transpiração e a entrada de CO_2 , atuando como um grande influenciador na fotossíntese, uma vez que promove a síntese da enzima Ribulose bifosfato carboxilase (rubisco) (EPSTEIN; BLOOM, 2006). Atua ainda no processo de translocação e armazenamento de assimilados (LIMA, 2009).

Malavolta et al. (1997), citam que em algumas culturas, foi possível observar que a deficiência de K está ligada à deficiência de ferro, isso devido ao acúmulo deste último na região dos internódios, causando dificuldade no transporte. Diferentemente do observado neste estudo, pois elevadas concentrações de Fe também foram quantificadas nas raízes e parte aérea de *Z. mays*, neste caso ocorreu o acúmulo de ambos os elementos.

Bergmann (1992) acredita que plantas podem tolerar relativamente altas concentrações de potássio sem apresentar distúrbios. Porém, ele pode causar efeitos indiretos pela deficiência induzida de outros elementos, como o cálcio e o magnésio. O excesso de K pode causar também a inibição na absorção de B, Zi, Mn e Ni, induzindo, ou ao menos contribuindo para a deficiência destes elementos.

A alta concentração de K tem ação antagonista sobre absorção de Ca^{2+} e Mg^{2+} (FAGERIA, 2001). O autor afirma ainda que, a diminuição na absorção cálcio pelo potássio deve-se à competição decorrente de propriedades fisiológicas destes cátions, enquanto a influência sobre a absorção do magnésio advém da competição por compostos ligantes do metabolismo do vegetal.

Em comparações realizadas por Keogh, Sabbe e Caviness (1972), em concentrações foliares de nutrientes de dez variedades de grupos de maturação diferentes, cultivadas sob dois níveis de fertilidade de solo, mostraram como resultado que, as concentrações foliares de K mais elevadas estavam na variedade mais produtiva testada do que na menos produtiva, evidenciando que a concentração foliar de potássio reflete a disponibilidade deste no solo.

Malavolta (2006) afirma que há diferentes tipos de interações entre os nutrientes, são eles: antagonismo ou inibição onde a presença de um elemento diminui a absorção de outro, evitando assim a toxidez, a exemplo o Ca^{2+} que impede a absorção exagerada do Cu^{2+} ; inibição, que consiste na diminuição de um nutriente provocada pela presença de outro íon; e o sinergismo, onde a presença de um dado elemento aumenta a absorção de outro.

Com base nos resultados obtidos e segundo vários autores, não podemos afirmar que existe relação direta entre a absorção e a concentração de elementos químicos nos vegetais compatíveis com os elementos encontrados no solo ou em um contaminante ou fonte poluidora.

O material tratado utilizando o lodo de ETA apresentou potencial de utilização no solo em dosagens iguais ou inferiores a 10 g/kg sem apresentar efeitos negativos sobre os indicadores avaliados: porcentagem de germinação, comprimento de raiz e parte aérea e produção de biomassa nas plântulas de milho. Entretanto, os teores dos elementos químicos Al, Ca, Fe e Mn estão superiores ao recomendado por Coelho et al. (2006).

O efeito negativo de redução da parte aérea e aumento do crescimento das raízes de *Z. mays* observados na concentração de 100 g/kg de material aplicado, provavelmente ocorreu devido à presença e/ou absorção dos elementos Al, Fe, P e K que provavelmente desencadeou um estresse nutricional por excesso e falta de nutrientes, principalmente devido ao antagonismo de absorção de elementos, que o excesso de algum pode interferir na absorção de outro e vice-versa, ocasionando um estresse pelo desequilíbrio das concentrações de nutrientes ou a toxicidade pode advir de outros compostos não analisados nesse estudo.

5. CONCLUSÕES

Considerando os resultados obtidos nos experimentos foi possível concluir que, o lodo coletado na ETA Capim Fino, Piracicaba - SP foi caracterizado predominantemente como arenoso, alta umidade, baixa relação C/N e elevada concentrações de Al, Fe e Mn.

O teste de composição de misturas utilizando as duas espécies de *Pleurotus* permitiu selecionar a proporção dos materiais e a espécie de fungo a ser utilizada.

A composição de 1:2 lodo/bagaço umedecida com vinhaça inoculada e incubada com o fungo *P. sajor-caju* durante 12 dias, apresentou as melhores características, como o aumento de pH, a redução do odor, descoloração da mistura e a produção das três enzimas lignocelulíticas.

O tratamento da mistura utilizando os princípios da técnica de compostagem durante 60 dias promoveu aumento do pH, da CTC, redução da CE e relação carbono e nitrogênio.

Os dados de atividade enzimática demonstram que até 48 dias de incubação da mistura tratada ocorreu produção de enzimas, o fungo manteve-se ativo na degradação, mineralização e/ou transformação de compostos.

O material tratado utilizando o lodo de ETA como matéria prima apresentou potencial de utilização no solo em dosagens próximas a 10 g/kg sem apresentar efeitos negativos sobre a porcentagem de germinação, crescimento de raiz e parte aérea e produção de biomassa em *Zea mays*.

O efeito negativo de redução da parte aérea e aumento do crescimento das raízes de *Z. mays* na concentração de 100 g/kg do material aplicado, provavelmente ocorreu devido à presença e/ou absorção dos elementos Al, Fe, P e K que provavelmente desencadeou um estresse nutricional nas plântulas.

O teste de misturas e o teste de toxicidade utilizando o milho possibilitou a utilização do lodo de ETA como material componente de um material orgânico juntamente com os subprodutos da indústria canavieira (vinhaça e bagaço) na proporção de 1:2 (lodo/bagaço) tratado com *P. sajor-caju* por 60 dias em condições de laboratório.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O tratamento de resíduos orgânicos em um país com as características do Brasil é de grande importância. Essas características tropicais, associadas a grande produção diária de resíduos orgânicos nas comunidades brasileiras, fazem da compostagem um dos processos com grande viabilidade de uso e flexibilidade de escala operacional, uma vez que pode ser facilmente desenvolvida.

O estudo desenvolvido revelou o potencial de utilização do lodo de ETA como material componente da formulação de um “material orgânico” utilizando os princípios, técnicas e alguns parâmetros da compostagem, contudo o mesmo foi realizado em condições de laboratório.

É recomendável a realização de outros estudos para avaliar outros efeitos da utilização do lodo de ETA como um produto orgânico, realizando seu tratamento em leiras em larga escala, utilizando como inóculo os resíduos de produção comercial de Shimeji (*P. sajor-caju*) e sua aplicação em campo experimental com monitoramentos de todos os parâmetros ambientais, para que futuramente seja aprovado seu uso por meio de normas e legislações pelos órgãos ambientais.

REFERÊNCIAS

ABREU, M.F. de; ABREU JUNIOR, C.H.; SILVA, F.C. da.; SANTOS, G.C.G.; ANDRADE, J.C. de; GOMES, T.F.; COSCIONE, A.R.; ANDRADE, C.A. Análises químicas de fertilizantes orgânicos (urbanos). In: SILVA, F.C. da. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2. ed. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. 627 p.

ABREU JUNIOR, C.H.; BOARETO, A.E.; MURAOKA, T.; KIELH, J.C. Uso agrícola de resíduos orgânicos: propriedades químicas do solo e produção vegetal. **Tópicos em Ciência do Solo**, Viçosa, v. 4, p. 391-470, 2005.

AGUIAR FILHO, J.M.M.; FERREIRA, L.F.R.; MONTEIRO, R.T.R. Use of vinasse and sugarcane bagasse for the production of enzyme by lignocellulolytic fungi. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 53, n. 5, p. 1245-1254, 2010.

ALVES MARTINS, N.M. **Avaliação da aplicação de vinhaça tratada com *Pleurotus* no crescimento de milho e sorgo**. 2013. 20 f. Monografia (TCC) – Faculdade de Tecnologia de Piracicaba, FATEC. Piracicaba, 2013.

AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION - AWWA. **Technology transfer handbook**: management of water treatment plant residual. Reston, VA: ASCE, AWWA, 1996. 294 p.

ANDREOLI, C.V.; LARA, A.I.; FERNANDES, F. **Reciclagem de biossólidos**: transformando problemas em solução. 2. ed. Curitiba: SANEPAR, FINEP, 2001. 288 p.

ARAUJO, G.C.L.; GONZALEZ, M.H.; FERREIRA, A.G.; NOGUEIRA, A.R.A.; NOBREGA, J.A. Effect of acid concentration on closed-vessel microwave-assisted digestion of plant materials. **Spectrochimica Acta Part B- Atomic Spectroscopy**, Oxford, v. 57, p. 2121-2132, 2002.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 10.004**. Resíduos sólidos – Classificação. 2. ed. Rio de Janeiro, 2004. 71 p.

BALDRIAN, P. Interactions of heavy metals with white-rot fungi. **Enzyme and Microbial Technology**, Surrey, v. 32, n. 1, p. 78-91, 2003.

BALDRIAN, P.; GABRIEL, J. Copper and cadmium increase laccase activity in *Pleurotus ostreatus*. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 206, p. 69-74, 2002.

BARR, D.P.; AUST, S.D. Mechanisms white rot fungi use to degrade pollutants. **Environmental Science & Technology**, Easton, v. 28, p. 78A-87A, 1994.

BARROSO, M.M.; CORDEIRO, J.S. Metais e sólidos: aspectos legais dos resíduos e estação de tratamento de água. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 21., 2001, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: ABES, 2001. 1 CD-ROM.

BECKETT, P.H.T., DAVIS, R.D. Upper critical levels of toxic elements in plants. **New Phytologist**, London, v. 79, p. 95-106, 1977.

BERGMANN, W. **Nutritional disorders of plants**: development, visual and analytical diagnosis. 2. ed. Jena: Gustav Fischer Publishing, 1992. 741 p.

BONATTI, M. Estudo da composição das espécies *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus sajor-caju* cultivados em palha de bananeira. **Revista Saúde e Ambiente**, Joinville, v. 4, n.1, p. 1-35, 2002.

BONONI, V.L.R.; CAPELARI, M.; MAZIERO, R.; TRUFEM, S.F. (Ed.) **Cultivo de cogumelos comestíveis**. São Paulo: Ícone, 1995. 209 p.

BOTERO, W.G.; SANTOS, A.; OLIVEIRA, L.C.; ROCHA, J.C. Caracterização de lodo gerado em estações de tratamento de água: perspectivas de aplicação agrícola. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 8, p. 2018-2022, 2009.

BRASIL. Lei nº 12.305, de 2 de agosto de 2010. Dispõe sobre a política nacional de resíduos sólidos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 02 ago. 2010.

BRASIL. Lei 8.384 de 29 de dezembro de 2014. Dispõe sobre a inspeção e fiscalização da produção e do comércio de fertilizantes, corretivos, inoculantes ou biofertilizantes destinados à agricultura. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 29 dez. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de métodos analíticos oficiais para fertilizantes e corretivos**. Brasília, DF, 2013. Disponível em: <http://sistemasweb.agricultura.gov.br/arquivosislegis/anexos/arquivos/1204363.PDF>. Acesso em: 11 nov. 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria 2914 de 12 de dezembro de 2011**. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Brasília, DF, 12 dez. 2011.

BROSSI, M.J.L. **Ecotoxicologia de um sistema florestal de eucalipto tratado com lodo de esgoto**. 2008. 85 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

CAMPOS, A.D.; SILVEIRA, A.M.L. **Metodologia para determinação da peroxidase e da polifenol oxidase em plantas**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2003. 3 p. (Comunicado Técnico, 87).

CARVALHO, P.C.T.; CARVALHO, F.J.P.C. Legislação sobre biossólidos. In: TSUTIYA, M.T. **Biossólidos na agricultura**. São Paulo: SABESP, 2001. p. 209-226.

CASTRO, A.L.A.; PAIVA, P.C.A.; DIAS, E.S.; SANTOS, J. Avaliação das alterações bromatológicas e de degradabilidade do resíduo de lixadeira de algodão após tratamento biológico com *Pleurotus sajor-caju*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 3, p. 608-613, 2004.

CASTRO, A.C.R. **Deficiência de macronutrientes em helicônia 'Golden Torch'**. 2007. Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2007.

COELHO, A.M.; FRANÇA, G.E.; PITTA, G.V.E.; ALVES, V.M.C.; E HERNANI, L.C. **Fertilidade de solos: Nutrição e adubação do milho**. 7. ed. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2006. (Sistemas de Produção, 1).

COHEN, R.; PERSKY, L.; HADAR, Y. Biotechnological applications and potential of wood-degrading mushrooms of the genus *Pleurotus*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 58, n. 5, p. 582-594, 2002.

COMPANHIA DE SANEAMENTO DO PARANÁ - SANEPAR. **Manual técnico para utilização agrícola do lodo de esgoto no Paraná**. Curitiba, 1997. 96 p.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL - CETESB. **Norma P4.230: Aplicação de lodos de sistemas de tratamento biológico em áreas agrícolas. Critérios para projeto e operação**. São Paulo, 1999. 32 p.

CONSELHO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE - CONAMA. **Resolução nº 357, de 17 de março de 2005**. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes e dá outras providências. Brasília, DF, 2005. 23 p.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - CONAMA. **Resolução nº 430, de 13 de maio de 2011**. Dispõe sobre condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357, de 17 de março de 2005, do CONAMA. Brasília, DF, 2011. 9 p.

CUNHA QUEDA, A.C.F. Compostagem de resíduos orgânicos biodegradáveis para uso compatível em agricultura biológica. **Vida Rural**, Madrid, v. 1719, n. 54, p. 37-40, 2006.

DAVIS, R.D.; BECKETT, P.H.T.; WOLLAN, E. Critical levels of twenty potentially toxic elements in young spring barley. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 49, p. 395-408, 1977.

DELLAMATRICE, P.M.; MONTEIRO, R.T.R.; KAMIDA, H.M.; NOGUEIRA, N.L.; ROSSI, M.L.; BLAISE, C. Decolourization of municipal effluent and sludge by *Pleurotus sajor-caju* and *Pleurotus ostreatus*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v. 21, p. 1363-1369, 2005.

DENIZLI, A.; CIHANGIR, N.; TUZMEN, N.; ALSANCAK, G. Removal of chlorophenols from aquatic systems using the dried and dead fungus *Pleurotus sajor-caju*. **Bioresource Technology**, New York, v. 96, p. 59-62, 2005.

DEON, M.D. **Crescimento e nutrição mineral da soja submetida a excesso de P, S, K, Ca e Mg em solução nutritiva**. 2007. 72 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

DELHAIZE, E.; RYAN, P. R. Aluminium toxicity and tolerance in plants. **Plant Physiology**, Rockville, v. 107, p. 315-321, 1995.

DI BERNARDO, L.; DANTAS, A.B. **Métodos e técnicas de tratamento de água**. 2. ed. São Carlos: RiMa, 2005a. v. 1

DI BERNARDO, L.; DANTAS, A.B. **Métodos e técnicas de tratamento de água**. 2. ed. São Carlos: RiMa, 2005a. v. 2.

DONINI, L.P.; BERNARDI, E.; NASCIMENTO, J.S. do. Colonização do substrato capim-elefante suplementado com farelos por *Pleurotus ostreatus*. **Revista de Biologia e Ciência da Terra**, João Pessoa, v. 6, n. 2, p. 185-192, 2006.

DURÁN, N.; ESPOSITO, E. Potential applications of oxidative enzymes and phenoxidase – like compounds in wastewater and soil treatment: a review. **Applied Catalysis Serie B: Environmental**, Amsterdam, v. 28, p. 83-99, 2000.

EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006. 305 p.

EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2013. 353 p.

EPSTEIN, E. Silicon in plants: facts vs. concepts. In: DATNOFF, L.E.; SNYDER, G.H.; KORNDÖRFER, G.H. **Silicon in agriculture**. Amsterdam: Elsevier, 2001. p. 1-15.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A.J. **Nutrição mineral de plantas** - princípios e perspectivas. 2. ed. Londrina: Editora Planta, 2006. 401 p.

ESPAÑA-GAMBOA, E.; MIJANGOS-CORTES, J.; BARAHONA-PEREZ, L.; DOMINGUEZ-MALDONADO, J.; HERNÁNDEZ-ZARATE, G.; ALZATE-GAVIRIA, L. Vinasse: characterization and treatments. **Waste Management**, Amsterdam, v. 29, p. 1235-1250, 2011.

ESPOSITO, E.; AZEVEDO, J.L. Introdução. In: _____. (Org.). **Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**. Caxias do Sul: EDUCS, 2004. cap. 1, p. 9-11.

FAGERIA, V. D. Nutrient interactions in crop plants. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 24, p. 1269-1290, 2001.

FALQUETO, M.A. **Avaliação do Índice de qualidade da água (IQA) e dos elementos químicos nas águas e nos sedimentos do rio Corumbataí-SP**. 2008. 116 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia Aplicada) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

FERREIRA, L.F.R.; AGUIAR, M.; MESSIAS, T.G.; POMPEU, G.B.; QUEIJEIRO LOPEZ, A.M.; SILVA, D.P.; MONTEIRO, R.T.R. Evaluation of sugar-cane vinasse treated with *Pleurotus sajor-caju* utilizing aquatic organisms as toxicological indicators. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Amsterdam, v. 74, p. 132-137, 2011.

FERREIRA, L.F.R. **Biodegradação de vinhaça proveniente do processo industrial de cana-de-açúcar por fungos**. 2009. 134 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

FINOTO, E.L.; SOARES, M.B.B.; MICHELOTTO, M.D.; MARTINS, A.L.M. Efeito residual do herbicida imazapic sobre a germinação e o desenvolvimento inicial da cultura do milho. **Pesquisa & Tecnologia**, Campinas, v. 8, n. 2, p. 1-7, 2011.

FIORI, M.G.S.; SCHOENHALS, M.; FOLLADOR, F.C. Análise da evolução tempo-eficiência de duas composições de resíduos agroindustriais no processo de compostagem aeróbia. **Engenharia Ambiental**, Espírito Santo do Pinhal, v. 5, n. 3, p. 178-191, 2008.

FLETCHER, J. A brief overview of plant toxicity testing. In: GORUCH, J.W.; LOWER, W.R.; LEWIS, M.A.; WANG, W. (Ed.). **Plants for toxicity assessment**. Philadelphia, PA: American Society for Test and Materials, 1991. P. 5-11. (PCN 04- 011150-16).

FREIRE, W.J.; CORTEZ, L.A.B. **Vinhaça de cana-de-açúcar**. Guaíba: Ed. Agropecuária, 2000.

GAO, D.; DU, L.; YANG, J.; WU, W.M.; LIANG, H. A critical review of the application of White rot fungus to environmental pollution control. **Critical Reviews in Biotechnology**, Boca Raton, v. 30, n. 1, p. 70-77, 2010.

GENEVINI, P.L.; ADANI, F.; BORIO, D.; TAMBONE, E. Heavy metal content in selected European commercial compost. **Compost & Science & Utilization**, Emmaus, v. 5, n. 4, p. 31-39, 1997.

GIARDINA, P.; FARACO, V.; PEZZELLA, C.; PISCITELLI, A.; VANHULLE, S.; SANNIA, G. Laccases: a never-ending story. **Cellular and Molecular Life Sciences**, Basel, v. 67, n. 3, p. 369-385, 2010.

GONZALES, L.; GONZALES, L.; HERNÁNDEZ, J.R.; PERESTELO, F.; CARNICERO, A.; FALCÓN, M.A. Relationship between mineralization of synthetic lignins and the generation of hydroxyl radicals by lacase and a low molecular weight substance produced by *Petriellidium fusoides*. **Enzyme and Microbial Technology**, Surrey, v. 30, p. 474-481, 2002.

HAMID, M.; REHMAN, K. Potential applications of peroxidases. **Food Chemistry**, Barking, v. 115, p. 1177-1186, 2009.

HIGUCHI, T. Microbial degradation of lignin: Role of lignin peroxidase, manganese peroxidase and laccase. **Proceedings of the Japan Academy, Series B Physical and Biological Sciences**, Tokyo, v. 80, p. 204-214, 2004.

HEINFLING, A.; MARTÍNEZ, M.J.; MARTÍNEZ, A.T.; BERGAUER, M.; SZEWYK, U. Transformation of industrial dyes by manganese peroxidase from *Bjerkandera adusta* and *Pleurotus eryngii* in a manganese independent reaction. **Applied and Environmental Microbiology**, Baltimore, v. 64, p. 2788-2793, 1998.

HÖFER, C.; SCHLOSSER, D. Novel enzymatic oxidation of Mn^{2+} to Mn^{3+} catalyzed by a fungal laccase. **FEBS Letters**, Amsterdam, v. 451, p. 186-190, 1999.

HOFRICHTER, M. Mangan-Peroxidasen: enzymatische verbrennung von lignin. **BioSpektrum**, Helsinki, v. 6, p. 198-199, 2000.

HORN, D.; ERNANI, P.R.; SANGOI, L.; SCHWEITZER, C.; CASSOL, P.C. Parâmetros cinéticos e morfológicos da absorção de nutrientes em cultivares de milho com variabilidade genética contrastante. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 30, p. 77-85, 2006.

IKEHATA, K.; BUCHANAN, I.D.; SMITH, D.W. Recent developments in the production of extracellular fungal peroxidases and laccases for waste treatment. **Journal of Environmental of Engineering and Science**, Ottawa, v. 3, n. 1, p. 1-19, 2004.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 11269-1**: Soil quality - Determination of the effects of pollutants on soil flora - Part 1: Method for the measurement of inhibition of root growth. Geneva, 1993.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 11269-2**: Soil quality - Determination of the effects of pollutants on soil flora - Part 2: Effects of chemicals on the emergence and growth of higher plants. Geneva, 1994.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 1269:2**. Qualidade do solo – determinação dos efeitos de poluentes na flora terrestre. Rio de Janeiro, 2009. 17 p.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 1269:2**. Qualidade do solo – determinação dos efeitos de poluentes na flora terrestre. 2. ed. Rio de Janeiro, 2014. 23 p.

JAHNEL, M.C.; MELLONI, R.; CARDOSO, E.J.B.N. Maturidade de composto de lixo urbano. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 56, n. 2, p. 301-304, 1999.

JORGENSEN, H.; MORKEBERG, A.; KROGH, K.; OLSSON, L. Production of cellulases and hemicellulases by three *Penicillium* species: effect of substrate and evaluation of cellulose adsorption by capillary electrophoresis. **Enzyme and Microbial Technology**, Surrey, v. 36, p. 42-48, 2005.

KAPANEN, A.; ITAVAARA, M. Ecotoxicity tests for compost applications. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Amsterdam, v. 49, p. 1-16, 2001.

KEOGH, J.L.; SABBE, W.E.; CAVINESS, C. E. Nutrient concentration of selected soybean cultivars. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 3, n. 1, p. 29-35, 1972.

KHAN, S.; CAO, Q.; ZHENG, Y.; HUANG, Y.; ZHU, Y. Health risks of heavy metals in contaminated soils and food crops irrigated with wastewater in Beijing, China. **Environmental Pollution**, London, v. 152, p. 686-692, 2008.

KIEHL, R.J. **Manual de compostagem: maturação e qualidade do composto**. 6. ed. Piracicaba: O autor, 2012. 171 p.

KORNDÖRFER, G.H. Elementos benéficos. In: FERNANDES, M.S. **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa: SBCS, 2006. p. 355-374.

KRIENITZ, L.; BOCK, C. Present state systematics of planktonic coccoid green algae of inland waters. **Hydrobiologia**, Dordrecht, v. 698, p. 295-326, 2012.

LAIME, E.M.O.; FERNANDES, P.D.; OLIVEIRA, D.C.S.; FREIRA, E.A. Possibilidades tecnológicas para a destinação da vinhaça: uma revisão. **Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas**, Chapadinha, v. 5, p. 16-29, 2011.

LAU, K.L.; TSANG, Y.Y.; CHIU, S.W. Use of spent mushroom compost to bioremediate PAH-contaminated samples. **Chemosphere**, Oxford, v. 52, p. 1539-1546, 2003.

LEAL, R.M.; PRADO, R.M. Desordens nutricionais no feijoeiro por deficiência de macronutrientes, boro e zinco. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 3, n. 4, p. 301-306, 2008.

LIMA, S.S. **Crescimento, composição mineral e sintomas visuais de deficiências de macronutrientes em plantas de *Zingiber Spectabilis* Griff.** 2009. 84 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, PA, 2009.

LOURENCETTI, C.; MARCHI, M.R.R.; RIBEIRO, M.L. Determination of sugar cane herbicides in soil and soil treated with sugar cane vinasse by solid-phase extraction and HPLC-UV. **Talanta**, London, v. 77, p. 701-709, 2008.

MA, J.F. Role of organic acids in detoxification of aluminum in higher plants. **Plant and Cell Physiology**, Tokyo, v. 41, p. 383-390, 2000.

MACHADO, M.S.; NOGUEIRA, C.H.P.; PEREIRA, A.A.; MAIA, L.; CINTRA, E.B.; OLIVEIRA, J.V.S.; NOCITI, L.A.S.; CRUZ, C. Efeitos de herbicidas sobre a germinação e crescimento de milho (*Zea mays*) utilizando como planta teste. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS NA ERA DA BIOTECNOLOGIA, 28., 2012, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: ABES, 2012. 1 CR-ROM.

MALAVOLTA, E; VITTI, G. C; OLIVEIRA, S. A. Princípios, métodos e técnicas de avaliação do estado nutricional. In: MALAVOLTA, E; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: POTAFOS, 1997. p. 115-230.

MALAVOLTA, E.; MORAES, M.F.; LAVRES JÚNIOR, J.; MALAVOLTA, M. Micronutrientes e metais pesados - essencialidade e toxidez. In: PATERNIANI, E. (Ed.). **Ciência, agricultura e sociedade**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. cap. 4, p. 117-154.

MARTINES, A.M. **Avaliação ambiental e agronômica do uso de lodo de curtume no solo**. 2009. 84 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

MARWA, E.M.M.; MEHARG, A.A.; RICE, C.M. Risk assessment of potentially toxic elements in agricultural soils and maize tissues from selected districts in Tanzania. **Science of the total Environment**, Amsterdam, v. 416, p. 180-186, 2012.

MATA, J.F.; PEREIRA, J.C.S.; CHAGAS, J.F.R.; VIEIRA, L.M. Germinação e emergência de milho híbrido sob doses de esterco bovino. **Amazônia: Ciência & Desenvolvimento**, Belém, v. 6, n. 12, p. 31-40, 2011.

MENEZES, T.J.B. Os fungos na indústria. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 31, n. 2, p. 116-120, 1997.

MENZIES, N.; DONN, M.; KOPITKE, P. Evaluation of extractants for estimation of the phytoavailable trace metals in soils. **Environmental Pollution**, London, v. 145, p. 121-130, 2007.

MESSIAS, T.G. **Influência da toxicidade da água e do sedimento dos rios São Joaquim e Ribeirão Claro na bacia do Corumbataí**. 2008. 125 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

MESSIAS, T.G. **Avaliação ecotoxicológica de lodo gerado por estação de tratamento de água**. 2013. 163 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

MODA, E.M. **Produção de *Pleurotus sajor-caju* em bagaço de cana-de-açúcar lavado e o uso de aditivos visando sua conservação *in natura***. 2003. 84 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

MOREIRA NETO, S.L.; MUSSATTO, S.I.; MACHADO, K.M.G.; MILAGRES, A.M.F. Decolorization of salt-alkaline effluent with industrial reactive dyes by laccase-producing basidiomycetes strains. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 56, p. 283-290, 2013.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. Transformações bioquímicas e ciclos dos elementos no solo. In: _____. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: Editora UFLA, 2009. cap. 5, p. 313-403.

MORELLO, C.G.; CANSIAN, D.C.V.; SILVA, T.L.; LAUTENSCHLAGER, S.R. Compostagem orgânica utilizando como substrato resíduos da poda urbana com lodo de ETA. In: ENCONTRO INTERNACIONAL DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA - EPCC, 7., 2011, Maringá. **Anais...** Maringá: UNICESUMAR, 2011.

NAIFF, A.P.M. **Crescimento, composição mineral e sintomas visuais de deficiências de macronutrientes em plantas de *Alpinia Purpurata* Cv. Jungle King**. 2007. 77 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2007.

NETO, J.T.P. **Manual de compostagem**: Processo de baixo custo. Viçosa: Editora UFV, 2014. 81 p.

NOVIKOVA, L.N.; MEDVEDEVA, S.A.; VOLCHATOVA, I.V.; BOGATYREVA, S.A. Changes in macromolecular characteristics and biological activity of hydrolytic lignin in the course of composting. **Applied Biochemistry and Microbiology**, New York, v. 38, p. 181-185, 2002.

OECD. **Guidelines for testing of chemicals**: guideline 208 - Terrestrial plants, growth test. Paris, 1984.

PATTRA, S.; SANGYOKA, S.; BOONMEE, M.; REUNGSANG, A. Bio-hydrogen production from the fermentation of sugarcane bagasse hydrolysate by *Clostridium butyricum*. **International Journal of Hydrogen Energy**, Oxford, v. 33, n. 19, p. 5256-5265, 2008.

PEREIRA, E.B. **Produção de composto orgânico**. Vitória: EMCAPA, 1985. 15 p. (Circular Técnica, 9).

PIÑEROS, M.A.; MAGALHAES, J.V.; ALVES, V.M.C.; KOCHIAN, L.V. The physiology and biophysics of aluminum tolerance mechanism based on root citrate exudation in maize. **Plant Physiology**, Rockville, v. 129, n. 3, p. 1194-1206, 2002.

POMPEU, G.B. **Comportamento enzimático de quatro fungos ligninolíticos crescidos em bagaço e palha de cana-de-açúcar e expostos à duas concentrações de nitrogênio, visando à produção de etanol**. 2010. 96 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

POZZA, A.A.A.; MARTINEZ, H.E.P.; CAIXETA, L.S.C.; CARDOSO, A.A.; ZAMBOLIM, L.; POZZA, E.A. Influência da nutrição mineral na intensidade da mancha-de-olho-pardo em mudas de cafeeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 36, n. 1, p. 53-60, 2001.

PRATA, F.; LAVORENTI, A.; REGITANO, J.B.; TORNISIELO, V.L. Degradação e sorção de ametrina em dois solos com aplicação de vinhaça. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 36, n. 7, p. 975-981, 2001.

QUELHAS DOS SANTOS, J. **Interesse fertilizante e ecológico dos RSU**. Sintra, Portugal: Publicações Europa, 2003. (Frutas, Legumes e Flores, 71).

RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. **Recomendação de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2. ed. Campinas: IAC, 1996. 285 p. (Boletim Técnico, 100).

RAIJ, B. van; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2001. cap. 10, p. 181-188.

REALI, M.A.P. Espessamento de lodos de ETAs. In: _____. (Cord.). **Noções gerais de tratamento e disposição final de lodos de estações de tratamento de água**. Projeto PROSAB. Rio de Janeiro: ABES, 1999. p. 21-39.

REIS, J.C.P. dos.; BERTON, R.S. Utilização de lodo de ETA como fonte de N para a cultura de milho em ensaio em casa de vegetação. In: CONGRESSO INTERINSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA – CIIC, 5., 2011, Campinas. **Anais...** Campinas: Embrapa Monitoramento por Satélite, 2011.

RICHTER, C.A. **Tratamento de lodo de estação de tratamento de água**. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. 102 p.

RIVELLI, A.R.; MARIA, D.; PUSCHENREITER, M.; GHERBIN, P. Accumulation of cadmium, zinc, and copper by *Helianthus annuus* L.: impact on plant growth and uptake of nutritional elements. **International Journal of Phytoremediation**, Philadelphia, v. 14, p. 320-332, 2012.

ROCHA, M.T. Reciclagem agrícola de lodo de esgoto - algumas considerações a respeito da legislação ambiental. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ECONOMIA E SOCIOLOGIA RURAL, 37., 1999, Foz de Iguaçu. **Anais...** São Paulo: SOBER, 1999.

RODRIGUES, S.; HENRIQUES, B.; COIMBRA, J.; SILVA, E.; PEREIRA, M.; DUARTE, A. Water-soluble fraction of mercury, arsenic and other potentially toxic elements in highly contaminated sediments and soils. **Chemosphere**, Oxford, v. 78, p. 1301-1312, 2010.

ROSAS, C. **Compostagem**. Destino alternativo de alguns resíduos orgânicos. Lisboa: CONFAGRI, 2002. Disponível em: <http://www.confagri.pt/Ambiente/AreasTematicas/Pages/Compostagemdestialternativo.aspx>.

SABOGAL-PAZ, L.P. **Modelo conceitual de seleção de tecnologias de tratamento de água para abastecimento de comunidades de pequeno porte**. 2007. 364 f. Tese (Doutorado em Engenharia Civil) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007.

SALIS, A.; PISANO, M.; MONDUZZI, M.; MONDUZZI, M.; SOLINAS, V.; SANJUST, E. Laccase from *Pleurotus sajor-caju* on functionalised SBA-15 mesoporous silica: Immobilisation and use for the oxidation of phenolic compounds. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, Amsterdam, v. 58, p. 175-180, 2009.

SANGSTER, A.G.; HODSON, M.J.; TUBB, H.J. Silicon deposition en higher plants. In: DATNOFF, L. E.; SNYDER, G. H.; KORNDÖRFER, G. H. **Silicon in agriculture**. Amsterdam: Elsevier, 2001. p. 85-113.

SANTOS, J.R.P. **Potencial de biodegradação de resíduos por *Pleurotus* spp.** 2014. 110 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2014.

SAPARRAT, M.; GUILLÉN, F.; ARAMBARRI, A.M.; MARTINEZ, A.T.; MARTINEZ, M.J. Induction, isolation and characterization of two laccases from the white rot basidiomycete *coriolopsis rigida*. **Applied and Environmental Microbiology**, Baltimore, v. 68, n. 4, p. 1534-1540, 2002.

SARTORI, S.B.; FERREIRA, L.F.R.; MESSIAS, T.G.; SOUZA, G.; POMPEU, G.B.; MONTEIRO, R.T.R. *Pleurotus* biomass production on vinasse and its potential use for aquaculture feed. **Mycology: An International Journal on Fungal Biology**, Abingdon, v. 6, n. 1, p. 28-34, 2014.

SERVIÇO MUNICIPAL DE ÁGUA E ESGOTO DE PIRACICABA - SEMAE. **A água que você bebe**. Piracicaba, 2005. 10 p. (Cartilha educativa).

SILVA, M. da; ESPOSITO, E. O papel dos fungos na recuperação ambiental. In: ESPOSITO; E.; AZEVEDO, J.L. de. **Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**. Caxias do Sul: EDUCS, 2004. 510 p.

SILVA, E.T.; MELO, W.J.; TEIXEIRA, S.T. Chemical attributes of a degraded soil after application of water treatment sludges. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 62, n. 6, p. 559-563, 2005.

SILVA, R.R.; COELHO, G.D. **Fungos: principais grupos e aplicações biotecnológicas**. São Paulo: Instituto de Botânica, 2006. 20 p.

SILVA, G.M. **Expressão de enzimas de *Pleurotus* spp. e descoloração do corante azul índigo**. 2014. 122 p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2014.

SINGH, S.; SAXENA, R.; PANDEY, K.; BHATT, K.; SARITA, S. Response of antioxidants in sunflower (*Helianthus annuus*. L.) grown on different amendments of tannery sludge: its metal accumulation potential. **Chemosphere**, Oxford, v. 57, p. 1663-1673, 2004.

SCCOL, C.R.; VANDENBERGHE, L.P.S. Overview of applied solid-state fermentation in Brazil. **Biochemical Engineering Journal**, Amsterdam, v. 13, p. 205-218, 2003.

SOUZA, G. de. **Produção, extração e estabilidade de enzimas lignocelulolíticas para uso em degradação de compostos poluentes**. 2012. 111 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

SZKLARZ, G.; ANTIBUS, R.K.; SINSABAUGH, R.L.; LINKINS, A.E. Production of fenoloxidasas and peroxidases by wood-rotting fungi. **Mycologia**, Lancaster, v. 81, p. 234-240, 1989.

STAJIC, M.; VUKOIEVIC, J.; KNEZEVIC, A.; MILOVANOVIC, I. Influence of trace elements on ligninolytic enzyme activity of *Pleurotus ostreatus* and *P. pulmonarius*. **BioResources**, Raleigh, v. 8, n. 2, p. 3027-3037, 2013.

STOFFELLA, P.J.; KAHN, B.A. **Utilización de compost en los sistemas de cultivo hortícola**. Madrid: Edicions Mundi-Prensa, 2004.

TAMOUTSIDIS, E.; LAZARIDOU, M.; PAPADOPOULOS, I.; SPANOS, T.; PAPATHANASIOU, F.; TAMOUTSIDOU, M.; MITLIANGA, P.; VASILIOU, G. The effect of treated urban wastewater on soil properties, plant tissue composition and biomass productivity in berseem clover and corn. **Journal of Food, Agricultura & Environment**, Helsinki, v. 7, p. 782-786, 2009.

TAVARES, V.B.; SILVIERI, K.; CERON, C.R.; SILVA, R.; TRABUCCO, E. Utilização do resíduo líquido de indústria de processamento de suco de laranja como meio de cultura de *Penicillium citinum*: depuração biológica do resíduo e produção de enzima. **Química Nova**, São Paulo, v. 21, n. 6, p. 772-725, 1998.

TEIXEIRA, S.T.; MELO, W.J.; SILVA, E.T. Aplicação de lodo da estação de tratamento de água em solo degradado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 40, n. 1, p. 91-94, 2005.

TIQUIA, S.M.; TAM, N.F.Y.; HODGKISS, I.J. Effects of composting on phytotoxicity of spent pig-manure sawdust litter. **Environmental Pollution**, London, v. 93, p. 249-256, 1996.

TSUTIYA, M.T. Características de bio sólidos gerados em estações de tratamento de esgotos. In: _____. (Ed.). **Bio sólidos na agricultura**. São Paulo: SABESP, 2001. p. 89-132.

USEPA. Final rules: Standards for the use of sewage sludge. 40 CFR Parts 257, 403 and 503. **Federal Register**, Washington, DC, v. 58, n. 32, p. 9248-9415, 1993.

USEPA. **Method 3051a** – Microwave assisted digestion of sediments, sludges, soils and oils. Washington, DC, 2007. (SW-846).

VAZ, J.L.N. **Bioavailability and toxicity of metals to plants**: Influence of ageing and the type contamination matrix. 2010. 34 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia) – Universidade de Coimbra, Coimbra, 2010.

VERAS, L.R.V.; POVINELLI, J. A vericompostagem do lodo de lagoas de tratamento de efluentes industriais consorciada com composto de lixo urbano. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro, v. 9, n. 3, p. 218:224, 2004.

VITTI, G.C.; LIMA, E.; CICARONE, F. Cálcio, magnésio e enxofre. In: FERNANDES, M.S. **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa: SBCS, 2006. p. 299-326.

WASSER, S.P.; WEIS, A.L. Therapeutic effects of substances occurring in higher basidiomycetes mushrooms: a modern perspective. **Critical Reviews in Immunology**, Boca Raton, v. 19, n. 1, p. 65-96, 1999.

WILSON, B.; PYATT, F.B. Heavy metal dispersion, persistence, and bioaccumulation around an ancient copper mine situated in Anglesey. UK. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Amsterdam, v. 66, p. 224-231, 2007.

ZAMBETTA, P.M.A. **Espécies químicas inorgânicas (Al, As, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb e Se) no sedimento e nos sólidos em suspensão do rio Corumbataí, SP**. 2006. 73 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia de Agroecossistemas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

ZHAO, F.; MCGRATH, S.; MERRINGTON, G. Estimates of ambient background concentrations of trace metals in soils for risk assessment. **Environmental Pollution**, London, v. 148, p. 221-229, 2007.

ANEXOS

Anexo A – Análise estatística do experimento 1 – Teste de composição de mistura L:B (lodo/bagaço) em cinco proporções e duas espécies de fungos

Experimento 1 Proporção e Fungo.pzf:2way ANOVA of pH:Tabular results - Thu Jan 14 12:13:28 2016

2way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	pH			
2					
3	Two-way RM ANOVA	Matching by cols			
4					
5	Source of Variation	% of total variation	P value		
6	Interaction	80.36	P<0.0001		
7	Time	15.46	P<0.0001		
8	Column Factor	2.93	0.0028		
9	Subjects (matching)	0.4790	0.0494		
10					
11	Source of Variation	P value summary	Significant?		
12	Interaction	***	Yes		
13	Time	***	Yes		
14	Column Factor	**	Yes		
15	Subjects (matching)	*	Yes		
16					
17	Source of Variation	Df	Sum-of-squares	Mean square	F
18	Interaction	8	12.53	1.566	316.7
19	Time	4	2.410	0.6026	121.9
20	Column Factor	2	0.4573	0.2287	18.38
21	Subjects (matching)	6	0.07467	0.01244	2.517
22	Residual	24	0.1187	0.004944	
23					
24	Number of missing values	0			
25					
26	Bonferroni posttests				
27					
28	Sem fungo vs P. sajor-caju				
29	Column Factor	Sem fungo	P. sajor-caju	Difference	95% CI of diff.
30	0 : 1	7.200	5.367	-1.833	-2.032 to -1.635
31	1 : 1	5.400	5.667	0.2667	0.06807 to 0.4653
32	1 : 2	5.200	5.600	0.4000	0.2014 to 0.5986
33	1 : 3	4.900	5.867	0.9667	0.7681 to 1.165
34	2 : 1	6.700	5.667	-1.033	-1.232 to -0.8347
35					
36	Column Factor	Difference	t	P value	Summary
37	0 : 1	-1.833	27.97	P<0.001	***
38	1 : 1	0.2667	4.068	P<0.01	**
39	1 : 2	0.4000	6.103	P<0.001	***
40	1 : 3	0.9667	14.75	P<0.001	***
41	2 : 1	-1.033	15.76	P<0.001	***
42					
43	Sem fungo vs P. ostreatus				
44	Column Factor	Sem fungo	P. ostreatus	Difference	95% CI of diff.
45	0 : 1	7.200	5.000	-2.200	-2.399 to -2.001
46	1 : 1	5.400	5.933	0.5333	0.3347 to 0.7319
47	1 : 2	5.200	5.933	0.7333	0.5347 to 0.9319
48	1 : 3	4.900	5.833	0.9333	0.7347 to 1.132
49	2 : 1	6.700	6.133	-0.5667	-0.7653 to -0.3681
50					
51	Column Factor	Difference	t	P value	Summary
52	0 : 1	-2.200	33.56	P<0.001	***
53	1 : 1	0.5333	8.137	P<0.001	***
54	1 : 2	0.7333	11.19	P<0.001	***
55	1 : 3	0.9333	14.24	P<0.001	***
56	2 : 1	-0.5667	8.645	P<0.001	***

Experimento 1 Proporção e Fungo.pzf:2way ANOVA of Umidade:Tabular results - Thu Jan 14 12:16:29 2016

2way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	Umidade			
2					
3	Two-way RM ANOVA	Matching by cols			
4					
5	Source of Variation	% of total variation	P value		
6	Interaction	26.50	0.0010		
7	Time	50.94	P<0.0001		
8	Column Factor	1.19	0.5540		
9	Subjects (matching)	5.4849	0.2623		
10					
11	Source of Variation	P value summary	Significant?		
12	Interaction	***	Yes		
13	Time	***	Yes		
14	Column Factor	ns	No		
15	Subjects (matching)	ns	No		
16					
17	Source of Variation	Df	Sum-of-squares	Mean square	F
18	Interaction	8	624.4	78.05	5.005
19	Time	4	1200	300.1	19.24
20	Column Factor	2	28.12	14.06	0.6528
21	Subjects (matching)	6	129.2	21.54	1.381
22	Residual	24	374.3	15.59	
23					
24	Number of missing values	0			
25					
26	Bonferroni posttests				
27					
28	Sem fungo vs P. sajor-caju				
29	Column Factor	Sem fungo	P. sajor-caju	Difference	95% CI of diff.
30	0 : 1	47.00	55.75	8.753	-1.381 to 18.89
31	1 : 1	67.00	68.35	1.347	-8.788 to 11.48
32	1 : 2	73.51	64.99	-8.520	-18.65 to 1.615
33	1 : 3	63.46	63.70	0.2433	-9.891 to 10.38
34	2 : 1	63.33	70.54	7.210	-2.925 to 17.34
35					
36	Column Factor	Difference	t	P value	Summary
37	0 : 1	8.753	2.617	P > 0.05	ns
38	1 : 1	1.347	0.4026	P > 0.05	ns
39	1 : 2	-8.520	2.547	P > 0.05	ns
40	1 : 3	0.2433	0.07275	P > 0.05	ns
41	2 : 1	7.210	2.155	P > 0.05	ns
42					
43	Sem fungo vs P. ostreatus				
44	Column Factor	Sem fungo	P. ostreatus	Difference	95% CI of diff.
45	0 : 1	47.00	58.50	11.50	1.369 to 21.64
46	1 : 1	67.00	67.21	0.2067	-9.928 to 10.34
47	1 : 2	73.51	58.45	-15.06	-25.19 to -4.925
48	1 : 3	63.46	62.46	-1.003	-11.14 to 9.131
49	2 : 1	63.33	69.18	5.853	-4.281 to 15.99
50					
51	Column Factor	Difference	t	P value	Summary
52	0 : 1	11.50	3.439	P<0.01	**
53	1 : 1	0.2067	0.06178	P > 0.05	ns
54	1 : 2	-15.06	4.502	P<0.001	***
55	1 : 3	-1.003	0.3000	P > 0.05	ns
56	2 : 1	5.853	1.750	P > 0.05	ns

Experimento 1 Proporção e Fungo.pzf:2way ANOVA of CE:Tabular results - Thu Jan 14 12:18:08 2016

2way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	CE			
2					
3	Two-way RM ANOVA	Matching by cols			
4					
5	Source of Variation	% of total variation	P value		
6	Interaction	18.38	P<0.0001		
7	Time	70.94	P<0.0001		
8	Column Factor	4.53	0.0011		
9	Subjects (matching)	0.5154	0.8931		
10					
11	Source of Variation	P value summary	Significant?		
12	Interaction	***	Yes		
13	Time	***	Yes		
14	Column Factor	**	Yes		
15	Subjects (matching)	ns	No		
16					
17	Source of Variation	Df	Sum-of-squares	Mean square	F
18	Interaction	8	1010000	126300	9.794
19	Time	4	3899000	974700	75.60
20	Column Factor	2	248800	124400	26.35
21	Subjects (matching)	6	28330	4721	0.3662
22	Residual	24	309400	12890	
23					
24	Number of missing values	0			
25					
26	Bonferroni posttests				
27					
28	Sem fungo vs P. sajor-caju				
29	Column Factor	Sem fungo	P. sajor-caju	Difference	95% CI of diff.
30	0 : 1	223.0	320.7	97.67	-164.8 to 360.1
31	1 : 1	986.0	954.0	-32.00	-294.5 to 230.5
32	1 : 2	870.0	996.3	126.3	-136.1 to 388.8
33	1 : 3	1583	958.0	-625.0	-887.5 to -362.5
34	2 : 1	1116	819.7	-296.3	-558.8 to -33.85
35					
36	Column Factor	Difference	t	P value	Summary
37	0 : 1	97.67	1.127	P > 0.05	ns
38	1 : 1	-32.00	0.3694	P > 0.05	ns
39	1 : 2	126.3	1.458	P > 0.05	ns
40	1 : 3	-625.0	7.214	P<0.001	***
41	2 : 1	-296.3	3.421	P<0.01	**
42					
43	Sem fungo vs P. ostreatus				
44	Column Factor	Sem fungo	P. ostreatus	Difference	95% CI of diff.
45	0 : 1	223.0	290.3	67.33	-195.1 to 329.8
46	1 : 1	986.0	869.0	-117.0	-379.5 to 145.5
47	1 : 2	870.0	1093	223.0	-39.48 to 485.5
48	1 : 3	1583	817.3	-765.7	-1028 to -503.2
49	2 : 1	1116	871.3	-244.7	-507.1 to 17.81
50					
51	Column Factor	Difference	t	P value	Summary
52	0 : 1	67.33	0.7772	P > 0.05	ns
53	1 : 1	-117.0	1.351	P > 0.05	ns
54	1 : 2	223.0	2.574	P > 0.05	ns
55	1 : 3	-765.7	8.838	P<0.001	***
56	2 : 1	-244.7	2.824	P < 0.05	*

Experimento 1 Proporção e Fungo.pzf:2way ANOVA of Lacase:Tabular results - Thu Jan 14 12:20:58 2016

2way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	Lacase			
2					
3	Two-way RM ANOVA	Matching by cols			
4					
5	Source of Variation	% of total variation	P value		
6	Interaction	32.54	0.0103		
7	Time	13.51	0.0499		
8	Column Factor	19.74	0.0084		
9	Subjects (matching)	5.0404	0.6588		
10					
11	Source of Variation	P value summary	Significant?		
12	Interaction	*	Yes		
13	Time	*	Yes		
14	Column Factor	**	Yes		
15	Subjects (matching)	ns	No		
16					
17	Source of Variation	Df	Sum-of-squares	Mean square	F
18	Interaction	8	193.6	24.20	3.347
19	Time	4	80.38	20.09	2.779
20	Column Factor	2	117.5	58.74	11.75
21	Subjects (matching)	6	29.99	4.999	0.6912
22	Residual	24	173.6	7.232	
23					
24	Number of missing values	0			
25					
26	Bonferroni posttests				
27					
28	Sem fungo vs P. sajor-caju				
29	Column Factor	Sem fungo	P. sajor-caju	Difference	95% CI of diff.
30	0 : 1	0.0000	3.778	3.778	-2.666 to 10.22
31	1 : 1	0.0000	1.299	1.299	-5.145 to 7.743
32	1 : 2	0.0000	11.56	11.56	5.120 to 18.01
33	1 : 3	0.0000	0.7863	0.7863	-5.658 to 7.230
34	2 : 1	0.0000	1.923	1.923	-4.521 to 8.367
35					
36	Column Factor	Difference	t	P value	Summary
37	0 : 1	3.778	1.776	P > 0.05	ns
38	1 : 1	1.299	0.6108	P > 0.05	ns
39	1 : 2	11.56	5.437	P<0.001	***
40	1 : 3	0.7863	0.3697	P > 0.05	ns
41	2 : 1	1.923	0.9042	P > 0.05	ns
42					
43	Sem fungo vs P. ostreatus				
44	Column Factor	Sem fungo	P. ostreatus	Difference	95% CI of diff.
45	0 : 1	0.0000	4.231	4.231	-2.213 to 10.67
46	1 : 1	0.0000	1.120	1.120	-5.324 to 7.564
47	1 : 2	0.0000	0.0000	0.0000	-6.444 to 6.444
48	1 : 3	0.0000	0.6838	0.6838	-5.760 to 7.128
49	2 : 1	0.0000	0.05128	0.05128	-6.393 to 6.495
50					
51	Column Factor	Difference	t	P value	Summary
52	0 : 1	4.231	1.989	P > 0.05	ns
53	1 : 1	1.120	0.5264	P > 0.05	ns
54	1 : 2	0.0000	0.0000	P > 0.05	ns
55	1 : 3	0.6838	0.3215	P > 0.05	ns
56	2 : 1	0.05128	0.02411	P > 0.05	ns

Experimento 1 Proporção e Fungo.pzf:2way ANOVA of Peroxidase:Tabular results - Thu Jan 14 12:23:02 2016

2way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	Peroxidase			
2					
3	Two-way RM ANOVA	Matching by cols			
4					
5	Source of Variation	% of total variation	P value		
6	Interaction	16.80	0.2674		
7	Time	9.22	0.2388		
8	Column Factor	21.44	0.0717		
9	Subjects (matching)	15.2348	0.1813		
10					
11	Source of Variation	P value summary	Significant?		
12	Interaction	ns	No		
13	Time	ns	No		
14	Column Factor	ns	No		
15	Subjects (matching)	ns	No		
16					
17	Source of Variation	Df	Sum-of-squares	Mean square	F
18	Interaction	8	65.83	8.228	1.351
19	Time	4	36.12	9.029	1.482
20	Column Factor	2	84.04	42.02	4.223
21	Subjects (matching)	6	59.71	9.951	1.633
22	Residual	24	146.2	6.092	
23					
24	Number of missing values	0			
25					
26	Bonferroni posttests				
27					
28	Sem fungo vs P. sajor-caju				
29	Column Factor	Sem fungo	P. sajor-caju	Difference	95% CI of diff.
30	0 : 1	0.0000	0.9826	0.9826	-5.499 to 7.464
31	1 : 1	0.0000	0.8125	0.8125	-5.669 to 7.294
32	1 : 2	0.0000	6.425	6.425	-0.05650 to 12.91
33	1 : 3	0.0000	2.419	2.419	-4.063 to 8.900
34	2 : 1	0.0000	3.760	3.760	-2.721 to 10.24
35					
36	Column Factor	Difference	t	P value	Summary
37	0 : 1	0.9826	0.4593	P > 0.05	ns
38	1 : 1	0.8125	0.3798	P > 0.05	ns
39	1 : 2	6.425	3.003	P < 0.05	*
40	1 : 3	2.419	1.131	P > 0.05	ns
41	2 : 1	3.760	1.758	P > 0.05	ns
42					
43	Sem fungo vs P. ostreatus				
44	Column Factor	Sem fungo	P. ostreatus	Difference	95% CI of diff.
45	0 : 1	0.0000	3.156	3.156	-3.326 to 9.637
46	1 : 1	0.0000	3.609	3.609	-2.872 to 10.09
47	1 : 2	0.0000	2.891	2.891	-3.590 to 9.372
48	1 : 3	0.0000	0.05669	0.05669	-6.425 to 6.538
49	2 : 1	0.0000	4.875	4.875	-1.606 to 11.36
50					
51	Column Factor	Difference	t	P value	Summary
52	0 : 1	3.156	1.475	P > 0.05	ns
53	1 : 1	3.609	1.687	P > 0.05	ns
54	1 : 2	2.891	1.352	P > 0.05	ns
55	1 : 3	0.05669	0.02650	P > 0.05	ns
56	2 : 1	4.875	2.279	P > 0.05	ns

Experimento 1 Proporção e Fungo.pzf.2way ANOVA of MnP:Tabular results - Thu Jan 14 12:21:56 2016

2way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	MnP			
2					
3	Two-way RM ANOVA	Matching by cols			
4					
5	Source of Variation	% of total variation	P value		
6	Interaction	30.98	0.0162		
7	Time	14.23	0.0484		
8	Column Factor	14.30	0.0702		
9	Subjects (matching)	10.0423	0.2869		
10					
11	Source of Variation	P value summary	Significant?		
12	Interaction	*	Yes		
13	Time	*	Yes		
14	Column Factor	ns	No		
15	Subjects (matching)	ns	No		
16					
17	Source of Variation	Df	Sum-of-squares	Mean square	F
18	Interaction	8	6081	760.1	3.053
19	Time	4	2792	698.0	2.803
20	Column Factor	2	2806	1403	4.272
21	Subjects (matching)	6	1971	328.5	1.319
22	Residual	24	5976	249.0	
23					
24	Number of missing values	0			
25					
26	Bonferroni posttests				
27					
28	Sem fungo vs P. sajor-caju				
29	Column Factor	Sem fungo	P. sajor-caju	Difference	95% CI of diff.
30	0 : 1	0.0000	64.52	64.52	24.26 to 104.8
31	1 : 1	0.0000	1.619	1.619	-38.64 to 41.88
32	1 : 2	0.0000	8.969	8.969	-31.29 to 49.23
33	1 : 3	0.0000	2.616	2.616	-37.65 to 42.88
34	2 : 1	0.0000	12.46	12.46	-27.81 to 52.72
35					
36	Column Factor	Difference	t	P value	Summary
37	0 : 1	64.52	4.855	P<0.001	***
38	1 : 1	1.619	0.1219	P > 0.05	ns
39	1 : 2	8.969	0.6749	P > 0.05	ns
40	1 : 3	2.616	0.1968	P > 0.05	ns
41	2 : 1	12.46	0.9374	P > 0.05	ns
42					
43	Sem fungo vs P. ostreatus				
44	Column Factor	Sem fungo	P. ostreatus	Difference	95% CI of diff.
45	0 : 1	0.0000	0.0000	0.0000	-40.26 to 40.26
46	1 : 1	0.0000	0.0000	0.0000	-40.26 to 40.26
47	1 : 2	0.0000	0.0000	0.0000	-40.26 to 40.26
48	1 : 3	0.0000	0.0000	0.0000	-40.26 to 40.26
49	2 : 1	0.0000	14.82	14.82	-25.44 to 55.09
50					
51	Column Factor	Difference	t	P value	Summary
52	0 : 1	0.0000	0.0000	P > 0.05	ns
53	1 : 1	0.0000	0.0000	P > 0.05	ns
54	1 : 2	0.0000	0.0000	P > 0.05	ns
55	1 : 3	0.0000	0.0000	P > 0.05	ns
56	2 : 1	14.82	1.115	P > 0.05	ns

Anexo B – Análise estatística do experimento 2 – Tempo de incubação: mistura L:B (lodo/bagaço) na proporção 1: 2 sem e com fungo antes e após incubação de 12, 24, 48 e 60 dias

Experimento 2 (Tempo compostagem).pzf:2way ANOVA of pH:Tabular results - Thu Jan 14 12:26:02 2016

2way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	pH			
2					
3	Two-way RM ANOVA	Matching by cols			
4					
5	Source of Variation	% of total variation	P value		
6	Interaction	2.49	0.0078		
7	Time	92.70	P<0.0001		
8	Column Factor	2.43	0.0084		
9	Subjects (matching)	0.4149	0.5168		
10					
11	Source of Variation	P value summary	Significant?		
12	Interaction	**	Yes		
13	Time	***	Yes		
14	Column Factor	**	Yes		
15	Subjects (matching)	ns	No		
16					
17	Source of Variation	Df	Sum-of-squares	Mean square	F
18	Interaction	4	0.3280	0.08200	5.072
19	Time	4	12.21	3.053	188.9
20	Column Factor	1	0.3203	0.3203	23.44
21	Subjects (matching)	4	0.05467	0.01367	0.8454
22	Residual	16	0.2587	0.01617	
23					
24	Number of missing values	0			
25					
26	Bonferroni posttests				
27					
28	Sem fungo vs Com fungo				
29	Column Factor	Sem fungo	Com fungo	Difference	95% CI of diff.
30	0	4.233	4.233	0.0000	-0.2908 to 0.2908
31	12	4.633	4.900	0.2667	-0.02412 to 0.5575
32	24	4.933	5.133	0.2000	-0.09079 to 0.4908
33	48	5.733	5.733	0.0000	-0.2908 to 0.2908
34	60	5.700	6.267	0.5667	0.2759 to 0.8575
35					
36	Column Factor	Difference	t	P value	Summary
37	0	0.0000	0.0000	P > 0.05	ns
38	12	0.2667	2.609	P > 0.05	ns
39	24	0.2000	1.957	P > 0.05	ns
40	48	0.0000	0.0000	P > 0.05	ns
41	60	0.5667	5.545	P<0.001	***

Experimento 2 (Tempo compostagem).pzf:2way ANOVA of Umidade:Tabular results - Thu Jan 14 12:28:05 2016

2way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	Umidade			
2					
3	Two-way RM ANOVA	Matching by cols			
4					
5	Source of Variation	% of total variation	P value		
6	Interaction	24.97	0.0438		
7	Time	25.71	0.0399		
8	Column Factor	0.19	0.8448		
9	Subjects (matching)	17.3435	0.1174		
10					
11	Source of Variation	P value summary	Significant?		
12	Interaction	*	Yes		
13	Time	*	Yes		
14	Column Factor	ns	No		
15	Subjects (matching)	ns	No		
16					
17	Source of Variation	Df	Sum-of-squares	Mean square	F
18	Interaction	4	72.96	18.24	3.142
19	Time	4	75.14	18.78	3.236
20	Column Factor	1	0.5522	0.5522	0.04358
21	Subjects (matching)	4	50.68	12.67	2.182
22	Residual	16	92.88	5.805	
23					
24	Number of missing values	0			
25					
26	Bonferroni posttests				
27					
28	Sem Fungo vs Com fungo				
29	Column Factor	Sem Fungo	Com fungo	Difference	95% CI of diff.
30	0	64.44	64.44	0.0000	-6.224 to 6.224
31	12	66.74	66.56	-0.1767	-6.401 to 6.048
32	24	65.66	69.02	3.360	-2.864 to 9.584
33	48	68.55	69.98	1.430	-4.794 to 7.654
34	60	69.00	63.03	-5.970	-12.19 to 0.2544
35					
36	Column Factor	Difference	t	P value	Summary
37	0	0.0000	0.0000	P > 0.05	ns
38	12	-0.1767	0.08076	P > 0.05	ns
39	24	3.360	1.536	P > 0.05	ns
40	48	1.430	0.6537	P > 0.05	ns
41	60	-5.970	2.729	P > 0.05	ns

2way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	CE			
2					
3	Two-way RM ANOVA	Matching by cols			
4					
5	Source of Variation	% of total variation	P value		
6	Interaction	15.63	0.0822		
7	Time	8.48	0.2892		
8	Column Factor	41.00	0.0157		
9	Subjects (matching)	10.0659	0.2172		
10					
11	Source of Variation	P value summary	Significant?		
12	Interaction	ns	No		
13	Time	ns	No		
14	Column Factor	*	Yes		
15	Subjects (matching)	ns	No		
16					
17	Source of Variation	Df	Sum-of-squares	Mean square	F
18	Interaction	4	161000	40260	2.519
19	Time	4	87400	21850	1.367
20	Column Factor	1	422500	422500	16.29
21	Subjects (matching)	4	103700	25930	1.622
22	Residual	16	255800	15990	
23					
24	Number of missing values	0			
25					
26	Bonferroni posttests				
27					
28	Sem fungo vs Com fungo				
29	Column Factor	Sem fungo	Com fungo	Difference	95% CI of diff.
30	0	1030	1030	0.0000	-311.5 to 311.5
31	12	1053	807.0	-245.7	-557.1 to 65.80
32	24	1113	945.3	-167.3	-478.8 to 144.1
33	48	1110	749.0	-360.7	-672.1 to -49.20
34	60	1110	697.0	-413.0	-724.5 to -101.5
35					
36	Column Factor	Difference	t	P value	Summary
37	0	0.0000	0.0000	P > 0.05	ns
38	12	-245.7	2.244	P > 0.05	ns
39	24	-167.3	1.529	P > 0.05	ns
40	48	-360.7	3.295	P < 0.05	*
41	60	-413.0	3.773	P < 0.01	**

Experimento 2 (Tempo compostagem).pzf.2way ANOVA of Lacase:Tabular results - Thu Jan 14 12:28:52 2016

2way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	Lacase			
2					
3	Two-way RM ANOVA	Matching by cols			
4					
5	Source of Variation	% of total variation	P value		
6	Interaction	14.09	0.4214		
7	Time	14.09	0.4214		
8	Column Factor	3.52	0.3673		
9	Subjects (matching)	13.6609	0.4362		
10					
11	Source of Variation	P value summary	Significant?		
12	Interaction	ns	No		
13	Time	ns	No		
14	Column Factor	ns	No		
15	Subjects (matching)	ns	No		
16					
17	Source of Variation	Df	Sum-of-squares	Mean square	F
18	Interaction	4	68.04	17.01	1.031
19	Time	4	68.04	17.01	1.031
20	Column Factor	1	17.01	17.01	1.031
21	Subjects (matching)	4	65.98	16.50	1.000
22	Residual	16	263.9	16.50	
23					
24	Number of missing values	0			
25					
26	Bonferroni posttests				
27					
28	Sem fungo vs Com fungo				
29	Column Factor	Sem fungo	Com fungo	Difference	95% CI of diff.
30	0	0.0000	0.0000	0.0000	-9.436 to 9.436
31	12	0.0000	7.530	7.530	-1.906 to 16.97
32	24	0.0000	0.0000	0.0000	-9.436 to 9.436
33	48	0.0000	0.0000	0.0000	-9.436 to 9.436
34	60	0.0000	0.0000	0.0000	-9.436 to 9.436
35					
36	Column Factor	Difference	t	P value	Summary
37	0	0.0000	0.0000	P > 0.05	ns
38	12	7.530	2.271	P > 0.05	ns
39	24	0.0000	0.0000	P > 0.05	ns
40	48	0.0000	0.0000	P > 0.05	ns
41	60	0.0000	0.0000	P > 0.05	ns

2way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	Peroxidase			
2					
3	Two-way RM ANOVA	Matching by cols			
4					
5	Source of Variation	% of total variation	P value		
6	Interaction	18.75	0.2175		
7	Time	18.75	0.2175		
8	Column Factor	4.69	0.2719		
9	Subjects (matching)	11.5644	0.4362		
10					
11	Source of Variation	P value summary	Significant?		
12	Interaction	ns	No		
13	Time	ns	No		
14	Column Factor	ns	No		
15	Subjects (matching)	ns	No		
16					
17	Source of Variation	Df	Sum-of-squares	Mean square	F
18	Interaction	4	13.47	3.367	1.621
19	Time	4	13.47	3.367	1.621
20	Column Factor	1	3.367	3.367	1.621
21	Subjects (matching)	4	8.308	2.077	1.000
22	Residual	16	33.23	2.077	
23					
24	Number of missing values	0			
25					
26	Bonferroni posttests				
27					
28	Sem Fungo vs Com fungo				
29	Column Factor	Sem Fungo	Com fungo	Difference	95% CI of diff.
30	0	0.0000	0.0000	0.0000	-3.348 to 3.348
31	12	0.0000	3.350	3.350	0.001836 to 6.698
32	24	0.0000	0.0000	0.0000	-3.348 to 3.348
33	48	0.0000	0.0000	0.0000	-3.348 to 3.348
34	60	0.0000	0.0000	0.0000	-3.348 to 3.348
35					
36	Column Factor	Difference	t	P value	Summary
37	0	0.0000	0.0000	P > 0.05	ns
38	12	3.350	2.847	P < 0.05	*
39	24	0.0000	0.0000	P > 0.05	ns
40	48	0.0000	0.0000	P > 0.05	ns
41	60	0.0000	0.0000	P > 0.05	ns

Experimento 2 (Tempo compostagem).pzf:2way ANOVA of MnP:Tabular results - Thu Jan 14 12:30:38 2016

2way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	MnP			
2					
3	Two-way RM ANOVA	Matching by cols			
4					
5	Source of Variation	% of total variation	P value		
6	Interaction	12.38	0.4797		
7	Time	12.38	0.4797		
8	Column Factor	6.22	0.2653		
9	Subjects (matching)	14.8560	0.3916		
10					
11	Source of Variation	P value summary	Significant?		
12	Interaction	ns	No		
13	Time	ns	No		
14	Column Factor	ns	No		
15	Subjects (matching)	ns	No		
16					
17	Source of Variation	Df	Sum-of-squares	Mean square	F
18	Interaction	4	93.83	23.46	0.9137
19	Time	4	93.83	23.46	0.9137
20	Column Factor	1	47.15	47.15	1.674
21	Subjects (matching)	4	112.6	28.16	1.097
22	Residual	16	410.8	25.67	
23					
24	Number of missing values	0			
25					
26	Bonferroni posttests				
27					
28	Sem fungo vs Com fungo				
29	Column Factor	Sem fungo	Com fungo	Difference	95% CI of diff.
30	0	0.0000	0.0000	0.0000	-11.89 to 11.89
31	12	0.0000	3.000	3.000	-8.885 to 14.89
32	24	0.0000	9.213	9.213	-2.672 to 21.10
33	48	0.0000	0.3233	0.3233	-11.56 to 12.21
34	60	0.0000	0.0000	0.0000	-11.89 to 11.89
35					
36	Column Factor	Difference	t	P value	Summary
37	0	0.0000	0.0000	P > 0.05	ns
38	12	3.000	0.7182	P > 0.05	ns
39	24	9.213	2.206	P > 0.05	ns
40	48	0.3233	0.07741	P > 0.05	ns
41	60	0.0000	0.0000	P > 0.05	ns

Anexo C – Análise estatística do experimento 2 – Elementos químicos quantificados no material antes e após incubação por 60 dias

Experimento 2 (Tempo compostagem).pzf:2way ANOVA of 0 e 60 dias:Tabular results - Thu Jan 14 12:40:23 2016

2way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	0 e 60 dias			
2					
3	Two-way ANOVA				
4					
5	Source of Variation	% of total variation	P value		
6	Column Factor	0.96	0.0796		
7	Row Factor	87.53	P<0.0001		
8					
9	Source of Variation	P value summary	Significant?		
10	Column Factor	ns	No		
11	Row Factor	***	Yes		
12					
13	Source of Variation	Df	Sum-of-squares	Mean square	F
14	Column Factor	1	20000000	20000000	3.240
15	Row Factor	39	1830000000	46920000	7.603
16	Residual	39	240700000	6171000	
17					
18	Number of missing values	14			
19					
20	Bonferroni posttests				
21					
22	0 vs 60				
23	Row Factor	0	60	Difference	95% CI of diff.
24	Al	28080	12650	-15430	-27660 to -3206
25	B	0.0050	0.0050	0.0000	-12230 to 12230
26	Ba	67.70	44.97	-22.73	-12250 to 12200
27	Ca	3312	3367	55.36	-12170 to 12280
28	Cd	1.460	0.6500	-0.8100	-12230 to 12220
29	Co	3.370	2.190	-1.180	-12230 to 12220
30	Cr	12.57	20.27	7.700	-12220 to 12230
31	Cu	11.43	16.39	4.960	-12220 to 12230
32	Fe	12060	7661	-4398	-16620 to 7827
33	K	4756	5681	924.2	-11300 to 13150
34	Mg	1516	1150	-366.4	-12590 to 11860
35	Mn	570.4	419.2	-151.2	-12380 to 12070
36	Mo	0.7500	0.0020	-0.7480	-12230 to 12220
37	Na	1311	0.1000	-1311	-13540 to 10910
38	Ni	4.590	6.880	2.290	-12220 to 12230
39	P	1113	1610	497.1	-11730 to 12720
40	B	3.130	4.920	1.790	-12220 to 12230
41	S	1386	1787	400.4	-11820 to 12630
42	Si	399.0	177.7	-221.3	-12450 to 12000
43	Zn	41.50	54.39	12.89	-12210 to 12240
44	Al	28080	12650	-15430	-27660 to -3206
45	B	0.0050	0.0050	0.0000	-12230 to 12230
46	Ba	67.70	44.97	-22.73	-12250 to 12200
47	Ca	3312	3367	55.36	-12170 to 12280

48	Cd	1.460	0.6500	-0.8100	-12230 to 12220
49	Co	3.370	2.190	-1.180	-12230 to 12220
50	Cr	12.57	20.27	7.700	-12220 to 12230
51	Cu	11.43	16.39	4.960	-12220 to 12230
52	Fe	12060	7661	-4398	-16620 to 7827
53	K	4756	5681	924.2	-11300 to 13150
54	Mg	1516	1150	-366.4	-12590 to 11860
55	Mn	570.4	419.2	-151.2	-12380 to 12070
56	Mo	0.7500	0.0020	-0.7480	-12230 to 12220
57	Na	1311	0.1000	-1311	-13540 to 10910
58	Ni	4.590	6.880	2.290	-12220 to 12230
59	P	1113	1610	497.1	-11730 to 12720
60	B	3.130	4.920	1.790	-12220 to 12230
61	S	1386	1787	400.4	-11820 to 12630
62	Si	399.0	177.7	-221.3	-12450 to 12000
63	Zn	41.50	54.39	12.89	-12210 to 12240
64					
65					
66					
67					
68					
69					
70					
71					
72	Row Factor	Difference	t	P value	Summary
73	Al	-15430	4.393	P<0.01	**
74	B	0.0000	0.0000	P > 0.05	ns
75	Ba	-22.73	0.006470	P > 0.05	ns
76	Ca	55.36	0.01576	P > 0.05	ns
77	Cd	-0.8100	0.0002306	P > 0.05	ns
78	Co	-1.180	0.0003359	P > 0.05	ns
79	Cr	7.700	0.002192	P > 0.05	ns
80	Cu	4.960	0.001412	P > 0.05	ns
81	Fe	-4398	1.252	P > 0.05	ns
82	K	924.2	0.2631	P > 0.05	ns
83	Mg	-366.4	0.1043	P > 0.05	ns
84	Mn	-151.2	0.04304	P > 0.05	ns
85	Mo	-0.7480	0.0002129	P > 0.05	ns
86	Na	-1311	0.3730	P > 0.05	ns
87	Ni	2.290	0.0006519	P > 0.05	ns
88	P	497.1	0.1415	P > 0.05	ns
89	B	1.790	0.0005095	P > 0.05	ns
90	S	400.4	0.1140	P > 0.05	ns
91	Si	-221.3	0.06299	P > 0.05	ns
92	Zn	12.89	0.003669	P > 0.05	ns
93	Al	-15430	4.393	P<0.01	**
94	B	0.0000	0.0000	P > 0.05	ns

95	Ba	-22.73	0.006470	P > 0.05	ns
96	Ca	55.36	0.01576	P > 0.05	ns
97	Cd	-0.8100	0.0002306	P > 0.05	ns
98	Co	-1.180	0.0003359	P > 0.05	ns
99	Cr	7.700	0.002192	P > 0.05	ns
100	Cu	4.960	0.001412	P > 0.05	ns
101	Fe	-4398	1.252	P > 0.05	ns
102	K	924.2	0.2631	P > 0.05	ns
103	Mg	-366.4	0.1043	P > 0.05	ns
104	Mn	-151.2	0.04304	P > 0.05	ns
105	Mo	-0.7480	0.0002129	P > 0.05	ns
106	Na	-1311	0.3730	P > 0.05	ns
107	Ni	2.290	0.0006519	P > 0.05	ns
108	P	497.1	0.1415	P > 0.05	ns
109	B	1.790	0.0005095	P > 0.05	ns
110	S	400.4	0.1140	P > 0.05	ns
111	Si	-221.3	0.06299	P > 0.05	ns
112	Zn	12.89	0.003669	P > 0.05	ns

Anexo D – Análise estatística do experimento 3 – Teste de toxicidade com *Zea mays*, porcentagem de germinação, comprimento de raiz (CR), comprimento de parte aérea (caule+folhas) (CPA) e biomassa seca de raiz e parte aérea

Análise Milho.pzf:1way ANOVA of Germinação - Thu Jan 14 12:46:44 2016

1way ANOVA					
1	Table Analyzed	Germinação			
2					
3	One-way analysis of variance				
4	P value	0.2196			
5	P value summary	ns			
6	Are means signif. different? (P < 0.05)	No			
7	Number of groups	4			
8	F	1.701			
9	R squared	0.2984			
10					
11	ANOVA Table	SS	df	MS	
12	Treatment (between columns)	818.8	3	272.9	
13	Residual (within columns)	1925	12	160.4	
14	Total	2744	15		
15					
16	Tukey's Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
17	0 vs 1	-10.00	1.579	No	ns
18	0 vs 10	-12.50	1.974	No	ns
19	0 vs 100	5.000	0.7895	No	ns
20	1 vs 10	-2.500	0.3948	No	ns
21	1 vs 100	15.00	2.369	No	ns
22	10 vs 100	17.50	2.763	No	ns

Análise Milho.pzf:1way ANOVA of CR - Thu Jan 14 12:44:07 2016

1way ANOVA					
1	Table Analyzed	CR			
2					
3	One-way analysis of variance				
4	P value	0.0041			
5	P value summary	**			
6	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
7	Number of groups	4			
8	F	7.612			
9	R squared	0.6555			
10					
11	ANOVA Table	SS	df	MS	
12	Treatment (between columns)	270.8	3	90.25	
13	Residual (within columns)	142.3	12	11.86	
14	Total	413.0	15		
15					
16	Tukey's Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
17	0 vs 1	-0.5000	0.2904	No	ns
18	0 vs 10	-2.725	1.583	No	ns
19	0 vs 100	-10.28	5.968	Yes	**
20	1 vs 10	-2.225	1.292	No	ns
21	1 vs 100	-9.775	5.678	Yes	**
22	10 vs 100	-7.550	4.385	Yes	*

Análise Milho.pzf:1way ANOVA of CPA - Thu Jan 14 12:45:46 2016

1way ANOVA					
1	Table Analyzed	CPA			
2					
3	One-way analysis of variance				
4	P value	0.0132			
5	P value summary	*			
6	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
7	Number of groups	4			
8	F	5.479			
9	R squared	0.5780			
10					
11	ANOVA Table	SS	df	MS	
12	Treatment (between columns)	276.5	3	92.17	
13	Residual (within columns)	201.9	12	16.82	
14	Total	478.4	15		
15					
16	Tukey's Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
17	0 vs 1	-1.610	0.7851	No	ns
18	0 vs 10	-0.8800	0.4291	No	ns
19	0 vs 100	8.680	4.233	Yes	*
20	1 vs 10	0.7300	0.3560	No	ns
21	1 vs 100	10.29	5.018	Yes	*
22	10 vs 100	9.560	4.662	Yes	*

Análise Milho.pzf:1way ANOVA of Biomassa Raiz - Thu Jan 14 12:47:35 2016

1way ANOVA					
1	Table Analyzed	Biomassa Raiz			
2					
3	One-way analysis of variance				
4	P value	0.8207			
5	P value summary	ns			
6	Are means signif. different? (P < 0.05)	No			
7	Number of groups	4			
8	F	0.3058			
9	R squared	0.07103			
10					
11	ANOVA Table	SS	df	MS	
12	Treatment (between columns)	0.06722	3	0.02241	
13	Residual (within columns)	0.8792	12	0.07326	
14	Total	0.9464	15		
15					
16	Tukey's Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
17	0 vs 1	-0.1700	1.256	No	ns
18	0 vs 10	-0.1425	1.053	No	ns
19	0 vs 100	-0.09000	0.6650	No	ns
20	1 vs 10	0.02750	0.2032	No	ns
21	1 vs 100	0.08000	0.5911	No	ns
22	10 vs 100	0.05250	0.3879	No	ns

Análise Milho.pzf:1way ANOVA of Biomassa Parte aérea - Thu Jan 14 12:53:07 2016

1way ANOVA					
1	Table Analyzed	Biomassa Parte aérea			
2					
3	One-way analysis of variance				
4	P value	0.0623			
5	P value summary	ns			
6	Are means signif. different? (P < 0.05)	No			
7	Number of groups	4			
8	F	3.200			
9	R squared	0.4444			
10					
11	ANOVA Table	SS	df	MS	
12	Treatment (between columns)	1.220	3	0.4067	
13	Residual (within columns)	1.525	12	0.1271	
14	Total	2.745	15		
15					
16	Tukey's Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
17	0 vs 1	-0.2400	1.346	No	ns
18	0 vs 10	-0.6800	3.815	No	ns
19	0 vs 100	-0.007500	0.04208	No	ns
20	1 vs 10	-0.4400	2.469	No	ns
21	1 vs 100	0.2325	1.304	No	ns
22	10 vs 100	0.6725	3.773	No	ns

Anexo E – Análise estatística do experimento 3 – Teste de toxicidade com Zea mays, quantificação dos elementos químicos acumulados nas raízes e parte aérea de milho

Análise Milho.pzf:2way ANOVA of Elemento químicos Raiz:Tabular results - Thu Jan 14 12:59:01 2016

2way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	Elemento químicos Raiz			
2					
3	Two-way RM ANOVA	Matching by rows			
4					
5	Source of Variation	% of total variation	P value		
6	Interaction	24.00	P<0.0001		
7	Row Factor	71.26	P<0.0001		
8	Time	0.77	P<0.0001		
9	Subjects (matching)	0.5760	0.9920		
10					
11	Source of Variation	P value summary	Significant?		
12	Interaction	***	Yes		
13	Row Factor	***	Yes		
14	Time	***	Yes		
15	Subjects (matching)	ns	No		
16					
17	Source of Variation	Df	Sum-of-squares	Mean square	F
18	Interaction	57	1209000000	21210000	14.89
19	Row Factor	19	3590000000	188900000	260.5
20	Time	3	39020000	13010000	9.133
21	Subjects (matching)	40	29010000	725400	0.5093
22	Residual	120	170900000	1424000	
23					
24	Number of missing values	0			
25					
26	Bonferroni posttests				
27					
28	0 vs 1				
29	Row Factor	0	1	Difference	95% CI of diff.
30	Al	10270	13860	3597	256.3 to 6937
31	B	-95.49	-95.61	-0.1132	-3341 to 3340
32	Ba	5.991	6.569	0.5780	-3340 to 3341
33	Ca	3289	3170	-118.9	-3459 to 3222
34	Cd	0.8780	1.072	0.1941	-3340 to 3341
35	Co	0.7878	0.7597	-0.02807	-3340 to 3340
36	Cr	5.770	6.436	0.6662	-3340 to 3341
37	Cu	13.94	16.12	2.183	-3338 to 3343
38	Fe	8623	12010	3387	46.76 to 6728
39	K	4391	5979	1589	-1752 to 4929
40	Mg	458.4	534.5	76.14	-3264 to 3417
41	Mn	71.52	71.66	0.1392	-3340 to 3341
42	Mo	-0.6459	-0.5288	0.1171	-3340 to 3341
43	Na	1219	1025	-194.3	-3535 to 3146
44	Ni	2.879	2.852	-0.02623	-3340 to 3340
45	P	1677	1584	-92.64	-3433 to 3248
46	Pb	5.152	5.931	0.7791	-3340 to 3341
47	S	1701	1575	-126.0	-3466 to 3214

Análise Milho.pzf:2way ANOVA of Elemento químicos Raiz:Tabular results - Thu Jan 14 12:59:01 2016

2way ANOVA Tabular results					
48	Si	4506	4732	226.4	-3114 to 3567
49	Zn	26.27	20.65	-5.616	-3346 to 3335
50					
51	Row Factor	Difference	t	P value	Summary
52	Al	3597	3.691	P<0.01	**
53	B	-0.1132	0.0001162	P > 0.05	ns
54	Ba	0.5780	0.0005932	P > 0.05	ns
55	Ca	-118.9	0.1220	P > 0.05	ns
56	Cd	0.1941	0.0001992	P > 0.05	ns
57	Co	-0.02807	0.00002881	P > 0.05	ns
58	Cr	0.6662	0.0006837	P > 0.05	ns
59	Cu	2.183	0.002241	P > 0.05	ns
60	Fe	3387	3.476	P < 0.05	*
61	K	1589	1.630	P > 0.05	ns
62	Mg	76.14	0.07814	P > 0.05	ns
63	Mn	0.1392	0.0001429	P > 0.05	ns
64	Mo	0.1171	0.0001201	P > 0.05	ns
65	Na	-194.3	0.1994	P > 0.05	ns
66	Ni	-0.02623	0.00002692	P > 0.05	ns
67	P	-92.64	0.09507	P > 0.05	ns
68	Pb	0.7791	0.0007996	P > 0.05	ns
69	S	-126.0	0.1293	P > 0.05	ns
70	Si	226.4	0.2324	P > 0.05	ns
71	Zn	-5.616	0.005763	P > 0.05	ns
72					
73	0 vs 10				
74	Row Factor	0	10	Difference	95% CI of diff.
75	Al	10270	9886	-380.6	-3721 to 2960
76	B	-95.49	-95.10	0.3895	-3340 to 3341
77	Ba	5.991	6.633	0.6419	-3340 to 3341
78	Ca	3289	3709	420.5	-2920 to 3761
79	Cd	0.8780	0.8078	-0.07017	-3340 to 3340
80	Co	0.7878	0.7690	-0.01885	-3340 to 3340
81	Cr	5.770	4.888	-0.8821	-3341 to 3340
82	Cu	13.94	14.51	0.5673	-3340 to 3341
83	Fe	8623	9007	383.3	-2957 to 3724
84	K	4391	12350	7960	4620 to 11300
85	Mg	458.4	692.1	233.8	-3107 to 3574
86	Mn	71.52	81.49	9.961	-3330 to 3350
87	Mo	-0.6459	-2.147	-1.501	-3342 to 3339
88	Na	1219	1062	-157.3	-3498 to 3183
89	Ni	2.879	2.580	-0.2983	-3341 to 3340
90	P	1677	1665	-11.61	-3352 to 3329
91	Pb	5.152	4.833	-0.3183	-3341 to 3340
92	S	1701	1735	34.01	-3306 to 3374
93	Si	4506	4581	75.09	-3265 to 3416
94	Zn	26.27	28.38	2.105	-3338 to 3343

Análise Milho.pzf:2way ANOVA of Elemento químicos Raiz:Tabular results - Thu Jan 14 12:59:01 2016

2way ANOVA Tabular results					
95					
96	Row Factor	Difference	t	P value	Summary
97	Al	-380.6	0.3905	P > 0.05	ns
98	B	0.3895	0.0003997	P > 0.05	ns
99	Ba	0.6419	0.0006587	P > 0.05	ns
100	Ca	420.5	0.4315	P > 0.05	ns
101	Cd	-0.07017	0.00007201	P > 0.05	ns
102	Co	-0.01885	0.00001934	P > 0.05	ns
103	Cr	-0.8821	0.0009053	P > 0.05	ns
104	Cu	0.5673	0.0005822	P > 0.05	ns
105	Fe	383.3	0.3933	P > 0.05	ns
106	K	7960	8.169	P<0.001	***
107	Mg	233.8	0.2399	P > 0.05	ns
108	Mn	9.961	0.01022	P > 0.05	ns
109	Mo	-1.501	0.001541	P > 0.05	ns
110	Na	-157.3	0.1615	P > 0.05	ns
111	Ni	-0.2983	0.0003062	P > 0.05	ns
112	P	-11.61	0.01192	P > 0.05	ns
113	Pb	-0.3183	0.0003266	P > 0.05	ns
114	S	34.01	0.03491	P > 0.05	ns
115	Si	75.09	0.07706	P > 0.05	ns
116	Zn	2.105	0.002161	P > 0.05	ns
117					
118	0 vs 100				
119	Row Factor	0	100	Difference	95% CI of diff.
120	Al	10270	8242	-2024	-5365 to 1316
121	B	-95.49	-95.84	-0.3436	-3341 to 3340
122	Ba	5.991	20.22	14.23	-3326 to 3355
123	Ca	3289	3240	-49.29	-3390 to 3291
124	Cd	0.8780	0.5478	-0.3302	-3341 to 3340
125	Co	0.7878	0.9896	0.2017	-3340 to 3341
126	Cr	5.770	4.788	-0.9822	-3341 to 3339
127	Cu	13.94	11.92	-2.021	-3342 to 3338
128	Fe	8623	7387	-1236	-4577 to 2104
129	K	4391	29170	24780	21440 to 28120
130	Mg	458.4	1011	552.5	-2788 to 3893
131	Mn	71.52	197.0	125.5	-3215 to 3466
132	Mo	-0.6459	-1.809	-1.163	-3342 to 3339
133	Na	1219	434.2	-785.2	-4126 to 2555
134	Ni	2.879	1.942	-0.9364	-3341 to 3339
135	P	1677	2060	383.3	-2957 to 3724
136	Pb	5.152	4.200	-0.9511	-3341 to 3339
137	S	1701	2903	1202	-2138 to 4543
138	Si	4506	3996	-509.4	-3850 to 2831
139	Zn	26.27	46.67	20.40	-3320 to 3361
140					
141	Row Factor	Difference	t	P value	Summary

Análise Milho.pzf:2way ANOVA of Elemento químicos Raiz:Tabular results - Thu Jan 14 12:59:01 2016

2way ANOVA Tabular results					
142	Al	-2024	2.078	P > 0.05	ns
143	B	-0.3436	0.0003526	P > 0.05	ns
144	Ba	14.23	0.01460	P > 0.05	ns
145	Ca	-49.29	0.05059	P > 0.05	ns
146	Cd	-0.3302	0.0003389	P > 0.05	ns
147	Co	0.2017	0.0002070	P > 0.05	ns
148	Cr	-0.9822	0.001008	P > 0.05	ns
149	Cu	-2.021	0.002074	P > 0.05	ns
150	Fe	-1236	1.269	P > 0.05	ns
151	K	24780	25.43	P<0.001	***
152	Mg	552.5	0.5670	P > 0.05	ns
153	Mn	125.5	0.1288	P > 0.05	ns
154	Mo	-1.163	0.001193	P > 0.05	ns
155	Na	-785.2	0.8058	P > 0.05	ns
156	Ni	-0.9364	0.0009610	P > 0.05	ns
157	P	383.3	0.3933	P > 0.05	ns
158	Pb	-0.9511	0.0009761	P > 0.05	ns
159	S	1202	1.234	P > 0.05	ns
160	Si	-509.4	0.5228	P > 0.05	ns
161	Zn	20.40	0.02094	P > 0.05	ns

Análise Milho.pzf:2way ANOVA of Elementos químicos PA:Tabular results - Thu Jan 14 13:02:02 2016

2way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	Elementos químicos PA			
2					
3	Two-way RM ANOVA	Matching by rows			
4					
5	Source of Variation	% of total variation	P value		
6	Interaction	32.23	P<0.0001		
7	Row Factor	58.02	P<0.0001		
8	Time	1.14	0.0002		
9	Subjects (matching)	2.0633	0.5669		
10					
11	Source of Variation	P value summary	Significant?		
12	Interaction	***	Yes		
13	Row Factor	***	Yes		
14	Time	***	Yes		
15	Subjects (matching)	ns	No		
16					
17	Source of Variation	Df	Sum-of-squares	Mean square	F
18	Interaction	57	2644000000	46390000	10.38
19	Row Factor	19	4760000000	250500000	59.20
20	Time	3	93650000	31220000	6.981
21	Subjects (matching)	40	169300000	4232000	0.9464
22	Residual	120	536600000	4471000	
23					
24	Number of missing values	0			
25					
26	Bonferroni posttests				
27					
28	0 vs 1				
29	Row Factor	0	1	Difference	95% CI of diff.
30	Al	528.6	966.9	438.3	-5480 to 6357
31	B	-100.2	-101.9	-1.697	-5920 to 5917
32	Ba	9.194	7.706	-1.488	-5920 to 5917
33	Ca	14120	12720	-1399	-7318 to 4520
34	Cd	0.2732	0.2625	-0.01061	-5919 to 5919
35	Co	-0.0003988	0.02633	0.02673	-5919 to 5919
36	Cr	0.09168	0.7069	0.6153	-5918 to 5919
37	Cu	10.11	10.61	0.4977	-5918 to 5919
38	Fe	536.8	923.6	386.8	-5532 to 6306
39	K	5060	7249	2189	-3730 to 8108
40	Mg	1460	1533	73.17	-5846 to 5992
41	Mn	174.5	169.2	-5.247	-5924 to 5913
42	Mo	-1.325	-1.523	-0.1984	-5919 to 5919
43	Na	-29.26	-59.42	-30.16	-5949 to 5889
44	Ni	0.4681	0.8392	0.3711	-5918 to 5919
45	P	2405	2240	-165.0	-6084 to 5754
46	Pb	-3.041	-2.089	0.9519	-5918 to 5920
47	S	2158	2053	-105.1	-6024 to 5814

Análise Milho.pzf:2way ANOVA of Elementos químicos PA:Tabular results - Thu Jan 14 13:02:03 2016

2way ANOVA Tabular results					
48	Si	961.2	1216	254.4	-5664 to 6173
49	Zn	21.06	20.73	-0.3265	-5919 to 5918
50					
51	Row Factor	Difference	t	P value	Summary
52	Al	438.3	0.2539	P > 0.05	ns
53	B	-1.697	0.0009829	P > 0.05	ns
54	Ba	-1.488	0.0008617	P > 0.05	ns
55	Ca	-1399	0.8102	P > 0.05	ns
56	Cd	-0.01061	0.000006148	P > 0.05	ns
57	Co	0.02673	0.00001548	P > 0.05	ns
58	Cr	0.6153	0.0003564	P > 0.05	ns
59	Cu	0.4977	0.0002883	P > 0.05	ns
60	Fe	386.8	0.2240	P > 0.05	ns
61	K	2189	1.268	P > 0.05	ns
62	Mg	73.17	0.04238	P > 0.05	ns
63	Mn	-5.247	0.003039	P > 0.05	ns
64	Mo	-0.1984	0.0001149	P > 0.05	ns
65	Na	-30.16	0.01747	P > 0.05	ns
66	Ni	0.3711	0.0002150	P > 0.05	ns
67	P	-165.0	0.09560	P > 0.05	ns
68	Pb	0.9519	0.0005513	P > 0.05	ns
69	S	-105.1	0.06089	P > 0.05	ns
70	Si	254.4	0.1474	P > 0.05	ns
71	Zn	-0.3265	0.0001891	P > 0.05	ns
72					
73	0 vs 10				
74	Row Factor	0	10	Difference	95% CI of diff.
75	Al	528.6	2257	1728	-4190 to 7647
76	B	-100.2	-102.4	-2.179	-5921 to 5917
77	Ba	9.194	6.623	-2.570	-5921 to 5916
78	Ca	14120	9281	-4841	-10760 to 1078
79	Cd	0.2732	0.3015	0.02835	-5919 to 5919
80	Co	-0.0003988	0.02535	0.02575	-5919 to 5919
81	Cr	0.09168	1.700	1.609	-5917 to 5920
82	Cu	10.11	10.14	0.02720	-5919 to 5919
83	Fe	536.8	2243	1706	-4213 to 7625
84	K	5060	20650	15590	9666 to 21500
85	Mg	1460	1305	-155.3	-6074 to 5763
86	Mn	174.5	179.2	4.742	-5914 to 5923
87	Mo	-1.325	-1.348	-0.02296	-5919 to 5919
88	Na	-29.26	-75.32	-46.05	-5965 to 5873
89	Ni	0.4681	1.284	0.8162	-5918 to 5920
90	P	2405	2482	77.57	-5841 to 5996
91	Pb	-3.041	-0.5894	2.452	-5916 to 5921
92	S	2158	1694	-464.3	-6383 to 5454
93	Si	961.2	1800	838.7	-5080 to 6757
94	Zn	21.06	22.92	1.865	-5917 to 5921

2way ANOVA Tabular results					
95					
96	Row Factor	Difference	t	P value	Summary
97	Al	1728	1.001	P > 0.05	ns
98	B	-2.179	0.001262	P > 0.05	ns
99	Ba	-2.570	0.001489	P > 0.05	ns
100	Ca	-4841	2.804	P > 0.05	ns
101	Cd	0.02835	0.00001642	P > 0.05	ns
102	Co	0.02575	0.00001492	P > 0.05	ns
103	Cr	1.609	0.0009318	P > 0.05	ns
104	Cu	0.02720	0.00001575	P > 0.05	ns
105	Fe	1706	0.9881	P > 0.05	ns
106	K	15590	9.027	P<0.001	***
107	Mg	-155.3	0.08994	P > 0.05	ns
108	Mn	4.742	0.002747	P > 0.05	ns
109	Mo	-0.02296	0.00001330	P > 0.05	ns
110	Na	-46.05	0.02667	P > 0.05	ns
111	Ni	0.8162	0.0004727	P > 0.05	ns
112	P	77.57	0.04493	P > 0.05	ns
113	Pb	2.452	0.001420	P > 0.05	ns
114	S	-464.3	0.2689	P > 0.05	ns
115	Si	838.7	0.4858	P > 0.05	ns
116	Zn	1.865	0.001080	P > 0.05	ns
117					
118	0 vs 100				
119	Row Factor	0	100	Difference	95% CI of diff.
120	Al	528.6	1426	897.4	-5021 to 6816
121	B	-100.2	-135.8	-35.51	-5954 to 5883
122	Ba	9.194	6.367	-2.826	-5922 to 5916
123	Ca	14120	4804	-9318	-15240 to -3399
124	Cd	0.2732	0.1304	-0.1427	-5919 to 5919
125	Co	-0.0003988	0.03920	0.03960	-5919 to 5919
126	Cr	0.09168	0.5931	0.5014	-5918 to 5919
127	Cu	10.11	10.36	0.2498	-5918 to 5919
128	Fe	536.8	1436	899.5	-5019 to 6818
129	K	5060	41780	36720	30800 to 42640
130	Mg	1460	1259	-201.0	-6120 to 5718
131	Mn	174.5	213.8	39.29	-5879 to 5958
132	Mo	-1.325	-0.9894	0.3354	-5918 to 5919
133	Na	-29.26	-101.7	-72.42	-5991 to 5846
134	Ni	0.4681	0.8524	0.3844	-5918 to 5919
135	P	2405	4534	2129	-3790 to 8048
136	Pb	-3.041	-0.6719	2.369	-5916 to 5921
137	S	2158	1964	-193.7	-6112 to 5725
138	Si	961.2	1246	284.9	-5634 to 6204
139	Zn	21.06	32.49	11.43	-5907 to 5930
140					
141	Row Factor	Difference	t	P value	Summary

Análise Milho.pzf:2way ANOVA of Elementos químicos PA:Tabular results - Thu Jan 14 13:02:03 2016

2way ANOVA Tabular results					
142	Al	897.4	0.5198	P > 0.05	ns
143	B	-35.51	0.02057	P > 0.05	ns
144	Ba	-2.826	0.001637	P > 0.05	ns
145	Ca	-9318	5.397	P<0.001	***
146	Cd	-0.1427	0.00008268	P > 0.05	ns
147	Co	0.03960	0.00002294	P > 0.05	ns
148	Cr	0.5014	0.0002904	P > 0.05	ns
149	Cu	0.2498	0.0001447	P > 0.05	ns
150	Fe	899.5	0.5210	P > 0.05	ns
151	K	36720	21.27	P<0.001	***
152	Mg	-201.0	0.1164	P > 0.05	ns
153	Mn	39.29	0.02276	P > 0.05	ns
154	Mo	0.3354	0.0001943	P > 0.05	ns
155	Na	-72.42	0.04195	P > 0.05	ns
156	Ni	0.3844	0.0002226	P > 0.05	ns
157	P	2129	1.233	P > 0.05	ns
158	Pb	2.369	0.001372	P > 0.05	ns
159	S	-193.7	0.1122	P > 0.05	ns
160	Si	284.9	0.1650	P > 0.05	ns
161	Zn	11.43	0.006620	P > 0.05	ns