

**Universidade Federal do Piauí**

**Potencial fitotóxico, citogenotóxico e mutagênico do lodo de  
curtume compostado**

**Matheus de Moraes Cunha Gonçalves**

**Dissertação apresentada à Universidade  
Federal do Piauí como parte das exigências  
do Programa de Pós-Graduação em  
Genética e Melhoramento para obtenção do  
título de “Mestre”.**

**Teresina**

**2019**



**Matheus de Moraes Cunha Gonçalves**  
**Bacharel em Ciências Biológicas**

**Potencial fitotóxico, citogenotóxico e mutagênico do lodo de curtume  
compostado**

**Orientadora:**

Profa. Dra. Ângela Celis de Almeida Lopes

**Coorientadores:**

Prof. Dr. Ademir Sérgio Ferreira de Araújo

Profa. Dra. Regina Lucia Ferreira Gomes

Profa. Dra. Maria Aparecida Marin Morales

**Dissertação apresentada à Universidade  
Federal do Piauí, como parte das  
exigências do Programa de Pós-Graduação  
em Genética e Melhoramento, para a  
obtenção do título de “Mestre”.**

**Teresina**

**2019**

FICHA CATALOGRÁFICA  
Universidade Federal do Piauí  
Biblioteca Setorial do Centro de Ciências Agrárias  
Serviço de Processamento Técnico

**G635p** Gonçalves, Matheus de Moraes Cunha  
Potencial fitotóxico citogenotóxico do lodo de curtume compos-  
tado. / Matheus de Moraes Cunha Gonçalves - 2019.  
50 f. : il.

Dissertação ( Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Progra-  
ma de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, Teresina,  
2019.

Orientação: Prof<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup> Ângela Celis de Almeida Lopes

1. Compostagem 2. Germinação de sementes 3. Aberrações  
cromossômicas 4. *Allium cepa* 5. *Lactuca sativa* I. Título.

**CDD 631.785**

**Potencial fitotóxico, citogenotóxico e mutagênico do lodo de curtume  
compostado**

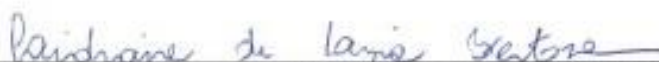
**Bacharelado em Ciências Biológicas**

**Aprovado em 22/04/2019**

**Comissão Julgadora:**



**Prof. Dr. Pedro Marcos de Almeida - UESPI**



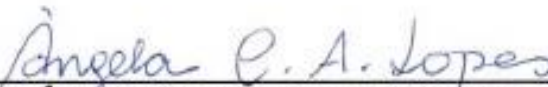
**Profa. Dra. Lidiane de Lima Feitoza - CCN/UFPI**



**Profa. Dra. Verônica Brito da Silva - PNP/UFPI**



**Prof. Dr. Ademir Sérgio Ferreira de Araújo - CCA/UFPI  
(Coorientador)**



**Profa. Dra. Ângela Celis de Almeida Lopes - CCA/UFPI  
(Orientadora)**

Aos meus pais, Fábio e Aline, e aos meus irmãos,  
Fábio e Gabriel, por toda motivação e apoio,  
dedico.

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Piauí, pela oportunidade de realização do curso de Mestrado em Genética e Melhoramento;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos e auxílio à moradia.

À minha orientadora, Profa. Dra. Ângela Celis de Almeida Lopes, e aos meus coorientadores, Dr. Ademir Sérgio Ferreira de Araújo e Profa. Dra. Regina Lucia Ferreira Gomes, por todo apoio, orientação, profissionalismo e incentivo.

À minha coorientadora Profa. Dra. Maria Aparecida Marin Morales e toda sua equipe da Universidade Estadual Paulista (UNESP), em Rio Claro, SP, por ajudarem na parte prática e por todo o conhecimento adquirido durante minha estadia.

Ao corpo docente do Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento, da Universidade Federal do Piauí, em especial, ao Prof. Dr. Raimundo Nonato Oliveira Silva por todo conhecimento passado e disponibilidade durante todo o curso.

Aos meus pais, Fábio e Aline, por toda motivação, conselhos, apoio e amor. Aos meus dois irmãos Fábio Augusto e Gabriel por todo companheirismo. Agradecer a minha namorada, Monique, por nunca me deixar desistir dos meus objetivos. E também para minhas cunhadas Pâmela e Samira por todo o incentivo. Vocês são as pessoas mais importantes da minha vida.

*“Confie em si mesmo, quem acredita sempre alcança”*

*(Renato Russo)*



## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	<b>9</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>10</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	<b>11</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	<b>12</b>
<b>LISTA DE ABREVIÇÕES</b> .....	<b>13</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>15</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>18</b>
2.1 Resíduos Sólidos e o Lodo de Curtume.....	18
2.2 Processo de compostagem.....	19
2.3 Bioensaios de fitotoxicidade com <i>Lactuca sativa</i> .....	21
2.4 Bioensaios de toxicidade genética com <i>Allium cepa</i> .....	23
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>26</b>
3.1 Compostagem do Lodo e coleta nos períodos de 15, 45 e 90 dias.....	26
3.2 Análise dos parâmetros físico-químicos.....	27
3.3 Obtenção dos extratos aquosos.....	27
3.3.1 Cálculo do peso seco.....	27
3.3.2 Obtenção dos solubilizado.....	27
3.4 Montagem dos experimentos.....	28
3.4.1 Bioensaio de germinação e crescimento de raiz em <i>Lactuca sativa</i> (L.).....	28
3.4.2 Bioensaio com sementes de <i>Allium cepa</i> .....	30
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>31</b>
4.1 Análise Química.....	31
4.2 Ensaio de germinação e crescimento de raízes.....	32
4.3 Avaliação da ação do Lodo de curtume compostado sobre o organismo teste <i>A. cepa</i> .....	35
<b>5 CONCLUSÕES</b> .....	<b>41</b>
<b>6 REFERÊNCIAS</b> .....	<b>42</b>

## RESUMO

GONÇALVES, M. M. C. **Potencial fitotóxico, citogenotóxico e mutagênico do lodo de curtume compostado.** 2019. 50 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal do Piauí – 2019.

O processo de refinamento do couro é responsável por gerar uma grande quantidade de efluentes, estes contendo em sua composição elevados teores de matéria orgânica e diversos componentes químicos com potencial tóxico. Portanto o descarte desse material no ambiente pode apresentar um risco de poluição ambiental. Entretanto, por apresentar conteúdo rico em matéria orgânica, o lodo de curtume pode ser um material interessante para o uso agrícola, após sua detoxificação. A compostagem tem sido indicada como um método eficiente para tratamento de resíduos. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial tóxico e citogenotóxico do lodo de curtume compostado através de diferentes bioindicadores. Foram avaliados os potenciais fitotóxicos, citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos nas amostras sólidas e nos extratos aquosos (solubilizado) do lodo de curtume não compostado e de três períodos de compostagem (15, 45 e 90 dias). Para a análise foi realizado os bioensaios de germinação de sementes e crescimento radicular com *L. sativa* e o teste de aberrações cromossômicas com *Allium cepa*. Os resultados da análise química mostraram que o lodo de curtume compostado apresentou quantidade de cromo acima do permitido pela legislação ambiental. O bioensaio com *L. sativa*, para as amostras sólidas, mostraram que o lodo não compostado afetou a germinação e o crescimento das raízes desse organismo, já o lodo compostado afetou apenas o crescimento radicular. Com relação a germinação e crescimento das sementes de alface nos extratos aquosos, foi observado efeitos significativos no crescimento de raiz apenas para o lodo de curtume não compostado. No bioensaio de aberrações cromossômicas com *A. cepa*, foram observados efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos no lodo não compostado e em todos períodos de compostagem, tanto nas amostras sólidas, quanto no solubilizado. Dessa forma, os resultados mostraram que a compostagem empregada para o lodo de curtume, não foi eficiente no processo de detoxificação do material. Portanto, o lodo de curtume compostado nesse estudo, não é recomendado para o uso agrícola, podendo apresentar riscos para contaminação do solo e de recursos hídricos.

**Palavras-chave:** Compostagem, germinação de sementes, aberrações cromossômicas, *Allium cepa*, *Lactuca sativa*.

## ABSTRACT

GONÇALVES, M. M. C. **Phytotoxic, cytogenotoxic and mutagenic potential of composted tannery sludge.** 2019. 50 f. Dissertation (Master in Genetics and Breeding) – Universidade Federal do Piauí, 2019.

The process of leather refinement is responsible for generating a large amount of effluents, which contain in their composition high levels of organic matter and several chemical components with toxic potential. Therefore the disposal of this material in the environment may present a risk of environmental pollution. However, due to its rich organic matter content, tannery sludge may be an interesting material for agricultural use, after its detoxification. Composting has been indicated as an efficient method for industrial waste treatment. The present work had as objective to evaluate the fitotoxic and cytogenotoxic potential of composted tannery sludge through different bioindicators. The phytotoxic, cytotoxic, genotoxic and mutagenic potentials of the non-composted tannery sludge and three composting periods (15, 45 and 90 days) in its solid sample and the aqueous (solubilized) extracts were evaluated. For the analysis the bioassays of seed germination and root growth with *L. sativa* and the test of chromosomal aberrations with *A. cepa* were performed. The results of the chemical analysis showed that the composted tannery sludge presented a quantity of chromium above that allowed by environmental legislation. The *L. sativa* bioassay, for the solid samples, showed that the non composted sludge affected the germination and root growth of this organism, and the composted sludge only affected the root growth. Regarding the germination and growth of lettuce seeds in the aqueous extracts, significant effects on root growth were observed only for the non composted tannery sludge. In the bioassay of chromosomal aberrations with *A. cepa*, cytotoxic, genotoxic and mutagenic effects were observed in the non-composted sludge and in all composting periods, both in solid and solubilized samples. Thus, the results showed that the composting used for tannery sludge was not efficient in the process of detoxification of the material. Therefore, composted tannery sludge in this study is not recommended for agricultural use and may present risks for contamination of soil and water resources.

**Keywords:** Composting, seed germination, chromosomal aberrations, *Allium cepa*, *Lactuca sativa*.

## LISTA DE FIGURAS

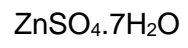
- Figura 1 - Método de compostagem em pilha revolvidas.....26
- Figura 2 - Solubilizados do lodo de curtume, dos períodos de compostagem e dos controles ambientais. **A:** Lodo de curtume cru; **B:** Compostagem de 15 dias; **C:** Compostagem de 45 dias; **D:** Compostagem de 90 dias; **E:** Esterco bovino; **F:** Bagaço de cana-de-açúcar. ....28
- Figura 3 - **A:** Esquema de uma plântula de alface ao final do período de exposição (Fonte: SOBRERO; RONCO, 2004); **B:** Raízes de *L. sativa* após 120h de exposição; **C:** Mensuração tamanho de raiz de alface ao final do período de exposição de 120 h. ....29
- Figura 4 - Células meristemáticas de *Allium cepa*. **A:** Intérfase normal. **A1, A2 e A3:** Intérfases com micronúcleo (seta). **B:** Prófase normal. **B1, B2 e B3:** Prófasas com MN (setas). **C:** Metáfase normal. **C1:** Metáfase com quebra cromossômica. **C2:** C-Metáfase. **C3:** Metáfase com aderência e MN (seta). **C4:** Metáfase com cromossomo perdido (seta). **D:** Anáfase normal. **D1:** Anáfase com ponte (seta). **D2:** Anáfase com cromossomo perdido (seta). **D3:** Anáfase com quebra cromossômica (seta). **E:** Telófase normal. **E1 e E2:** Telófases com pontes (seta). **E3:** Telófase com cromossomos perdidos (seta). ....37

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Espécies de plantas recomendadas pelas instituições Guidelines for the Testing of Chemicals (OECD), United States Environmental Protection Agency (USEPA) e U.S. Food and Drug Administration (USFDA).....	22
Tabela 2 - Propriedade química do lodo de curtume compostado e limite permitido pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA).....	30
Tabela 3 - Média e desvio padrão da germinação de sementes (%), da elongação radicular (%) e do índice de germinação do lodo de curtume compostado.....	31
Tabela 4 - Presença de alterações em células de <i>A. cepa</i> expostas ao lodo de curtume compostado.....	34
Tabela 5 - Total de alterações encontradas em células de <i>A. cepa</i> expostas ao lodo de curtume compostado.....	37

## LISTA DE ABREVIações

Ca	Cálcio
Cd	Cádmio
CN	Controle negativo
CP	Controle positivo
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
Corg	Carbono orgânico
Cu	Cobre
Cr	Cromo
Cr <sup>3+</sup>	Cromo trivalente
Cr <sup>6+</sup>	Cromo Hexavalente
EROs	Espécies Reativas a Oxigênio
Fe	Ferro
IM	Índice Mitótico
K	Potássio
LCC	Lodo de Curtume Compostado
LCNC	Loco de Curtume Não Compostado
Mg	Magnésio
MMS	Metilmetano Sulfonato
MN	Micronúcleo
Mn	Manganês
Ni	Níquel
NH <sup>4+</sup>	Amônia
OECD	Guidelines for the Testing of Chemicals
P	Fósforo
pH	Potencial hidrogeniônico
Pb	Chumbo
S	Enxofre
USDA	United States Department of Agriculture
USEPA	United States Environmental Protection Agency
USFDA	U.S. Food and Drug Administration
Zn	Zinco



Sulfato de zinco heptahidratado

## 1 INTRODUÇÃO

Uma das maiores preocupações ambientais é a crescente produção de resíduos sólidos urbanos (HARTMANN e AHRING, 2006). Comumente eles são introduzidos de maneira inadequada no meio ambiente, sem qualquer perspectiva para a sua reciclagem, havendo a possibilidade de contaminação ambiental (NASCIMENTO et al., 2004; TAHIR et al., 2006). Porém, muitos resíduos apresentam em sua composição nutrientes e matéria orgânica, tornando-os possíveis agentes para a fertilização de solos (SOMMAGGIO et al., 2018).

De acordo com Iqbal (2010) a utilização de resíduos sólidos para preservar e restaurar a fertilidade do solo é uma prática cada vez mais comum. Porém, muitos resíduos podem apresentar uma alta quantidade de metais potencialmente tóxicos, o que torna a prática de reutilização um risco ao meio ambiente, principalmente se esses metais forem mobilizados por vegetais, ou transportados por águas de drenagem (SOMMAGGIO et al., 2018).

A indústria de couro tem uma alta representatividade na economia brasileira. Entretanto, o processo de curtimento da pele produz resíduos sólidos e semissólidos conhecidos por lodo de curtume (GONÇALVES et al., 2014). O lodo de curtume apresenta em sua composição um alto teor de matéria orgânica e elementos químicos para uso agrícola (SILVA, 2014). Porém, apresenta alto teor de Cr, usado no processo de curtimento, e sais inorgânicos, os quais podem representar risco de contaminação do solo (SANTOS et al., 2011).

Devido a toxicidade e o risco de contaminação biológica, o lodo de curtume pode ser inviável para a utilização no meio agrícola. Neste sentido, torna-se necessário detoxificá-lo antes da aplicação no solo, e a compostagem tem sido indicada como um processo alternativo e eficiente de tratamento do resíduo (SANTOS et al., 2011). A compostagem trata-se da decomposição aeróbica e acelerada de compostos orgânicos, na qual é realizada em condições que permitam a ação de microrganismos (MEIRA et al., 2003). Ao final do processo é obtido um produto que pode ser utilizado para enriquecer o solo e melhorar suas características.

Embora trabalhos recentes tenham mostrado que o lodo de curtume compostado melhora os teores de matéria orgânica, fertilidade e as propriedades biológicas do solo (SANTOS et al., 2011; ARAÚJO, et al., 2016a; ARAÚJO, et al., 2016b) é necessário conhecer o efeito sobre a estrutura cromossômica das plantas.



Reconhecidamente, os poluentes são capazes de transmitir efeitos tóxicos para organismos, onde estes são capazes de alterar a taxa de divisão celular, a estrutura do DNA e até mesmo prejudicar o sistema reprodutivo de organismos (FARMER e SINGH, 2008; CASTRO e SOUSA, et al., 2017). Logo, o presente trabalho tem como hipótese que o lodo de curtume compostado afetará negativamente o desenvolvimento e estrutura cromossômica dos bioindicadores, devido, principalmente, a presença de elementos traços em sua constituição.

Para a avaliação tóxica de resíduos no meio ambiente, há diversos testes utilizados, tais como ensaios com *Salmonella*, cultura de células humanas, leveduras geneticamente modificadas, uso de embriões de peixes *Danio rerio*, e com espécies de oligoquetas (MAZZEO, 2013). Além destes, bioensaios realizados com vegetais superiores, mostram que as espécies *Allium cepa* (L.) e *Lactuca sativa* (L.) têm eficientes organismos-teste para estudos básicos de ação de contaminantes (CARITÁ e MARIN-MORALES, 2008; LEME e MARIN-MORALES, 2009; MAZZEO et al., 2015; AGUIAR, ANDRADE e DAVID, 2016).

Para avaliação do efeito fitotóxico de compostos orgânicos, bioensaios de germinação de sementes e de crescimento vegetal são comumente utilizados (Kapanen and Itavaara, 2001). O principal benefício deste teste é a grande variedade de parâmetros de toxicidade que podem ser analisados, como taxa de germinação, ganho de biomassa, alongamento de raízes e aspectos bioquímicos (RODRIGUES et al., 2013; TIQUIA, TAM e HODGKISS, 1996). Segundo Lutterbeck et al., (2015), o ensaio com *L. sativa* é considerado um teste eficiente, rápido e de baixo custo, no qual pode ser utilizado para avaliar o potencial de reutilização de biossólidos para fins agrícolas. De acordo com Wieczerszak, Namie e Kud (2016) é importante combinar bioensaios e análises de parâmetros físico-químicos para avaliar a toxicidade de amostras ambientais, afim de ter um maior conhecimento dos efeitos tóxicos dessas substâncias.

Ensaio de genotoxicidade e mutagenicidade são capazes de detectar efeitos tóxicos de efluentes mesmo em concentrações muito baixas (AGUIAR, ANDRADE e DAVID, 2016). Segundo Leme e Marin-Morales (2009) a espécie *Allium cepa* (2n=16) é um dos melhores sistemas para avaliar efeitos citogenéticos de substâncias ambientais, devido ao pequeno número e grande tamanho de seus cromossomos, além de possuir alta sensibilidade na detecção de agentes químicos. Essas

características fazem com que esta espécie seja amplamente utilizada no monitoramento do efeito de poluentes ambientais (Bianchi et al., 2011).

Com a possibilidade de utilização do lodo de curtume como fertilizante agrícola, é necessário desenvolver tecnologias que permitam sua descontaminação antes do uso. Desse modo, o trabalho teve como objetivo avaliar o potencial fitotóxico e toxicogenético do lodo de curtume compostado por meio de ensaios desenvolvidos com os organismos-teste *Allium cepa* e *Lactuca sativa*.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Resíduos sólidos e o sodo de curtume**

O aumento na produção de resíduos sólidos industriais e urbanos é resultante das contínuas alterações no nosso estilo de vida, do crescimento industrial e comercial. Isto vem ocasionando um crescente aumento de substâncias e elementos tóxicos que podem afetar de forma direta ou indireta o ambiente (CARVALHO et al., 2006; RENOUE et al., 2008).

Geralmente, esses resíduos são destinados a aterros sanitários, todavia, eles podem apresentar um grande potencial para se tornarem agentes poluidores. Segundo Franco et al., (2017) um dos graves problemas ambientais que presenciamos é a contaminação dos solos, que pode levar à poluição de águas, como também provocar efeitos de bioacumulação e biomagnificação de tóxicos, podendo então afetar a saúde humana. O solo é o habitat de microorganismos, plantas e animais, é responsável pelos ciclos dos nutrientes e mantém o balanço oxigênio/dióxido de carbono na atmosfera. Porém, ele tem sido utilizado como destino final de muitos resíduos produzidos pelas atividades industriais, urbanas e agropecuárias (LOUREIRO, SOARES e NOGUEIRA, 2005).

Segundo Malafaia et al., (2015), o Brasil possui um dos maiores rebanhos bovinos do mundo, se destacando na produção mundial de couros. Por ano é processado cerca de 42 milhões de pele, metade da produção é importada pelos comércios italiano e chinês. Segundo dados do Centro das Indústrias de Curtume do Brasil (CICB), as exportações de couro e pele movimentaram um valor de 1,4 bilhões de dólares no ano de 2018.

A atividade curtumeira vem contribuindo para o crescimento econômico e social do país, além de gerar lucros significativos, porém o beneficiamento do couro produz grandes quantidades de resíduos, o que pode ser preocupante (MALAFAIA et al., 2015). Os mesmos autores comentam que são necessários diversos processos de origem química e mecânica para o curtimento do couro, e que em condições de baixa eficiência, podem gerar efluentes com grandes quantidades de matéria orgânica e de variados produtos químicos tóxicos.

A geração do resíduo torna-se um risco, devido muitas indústrias curtumeiras descartam de forma inadequada, ou então são simplesmente acondicionados em depósitos ou em aterros sanitários, onde o acúmulo desse material pode apresentar

um caráter altamente tóxico, com riscos de contaminação ambiental (GODECKE; SIQUEIRA; NAIME, 2012;).

De acordo com Batista e Alovise (2010), o lodo de curtume é composto por material orgânico e inorgânico, como ácidos, fenóis, sulfatos, sulfetos e elementos tóxicos como o cromo. Além desses, outros elementos químicos, tais como Zn, Cu, Pb, Ni e Cd podem estar presentes no lodo de curtume (SILVA, 2014).

Para o curtimento do couro, o processo químico mais utilizado é o sulfato de cromo (KILIÇ et al., 2011; KAVOURAS et al., 2015). Durante este processo, os componentes orgânicos e produtos químicos não são degradados e geralmente são removidos utilizando-se coagulantes inorgânicos e cal, por meio da técnica de precipitação físico-química. Os resíduos precipitados são descartados em forma de lodo (PANTAZOPOULOU e ZOUBOULIS, 2018).

O cromo está presente no lodo de curtume em concentrações elevadas, não sendo aconselhável sua disposição direta em aterros sanitários, porque os componentes tóxicos presentes no resíduo podem ser redissolvidos e assim percolar o solo durante a estação chuvosa, resultando na poluição do solo e das águas subterrâneas (KILIÇ et al., 2011). A contaminação do solo e das águas subterrâneas contaminadas pelo cromo pode representar uma séria ameaça à saúde humana, dos animais e das plantas, sendo a causa de diversas enfermidades, como reações alérgicas na pele e até mesmo câncer (JING et al., 2006; ABREU e TOFFOLI, 2009).

Conforme Pantazopoulou et al. (2017), a utilização de técnicas de estabilização podem limitar a solubilidade ou mobilidade de substâncias perigosas, mantendo-as assim é uma forma menos móvel ou tóxica. A estabilização pode minimizar o risco de contaminação por substâncias tóxicas, que podem poluir a água e o solo, principalmente por adsorção e oclusão em superfícies minerais, formação de complexos estáveis com ligantes orgânicos e precipitação superficial ( MOON E DERMATAS, 2007; KUMPIENE, LAGERKVIST e MAURICE, 2008).

## **2.2 Processo de compostagem**

A biorremediação é uma tecnologia com elevado potencial para ser empregada na descontaminação de ambientes poluídos. Neste processo utiliza-se microorganismos para metabolizar substâncias contaminantes presentes no ambiente, transformando-os em compostos não tóxicos (BAMFORTH e SINGLETON, 2005). Entre as técnicas de biorremediação mais utilizadas mundialmente, destaca-

se o processo de compostagem (CORRÊA, FONSECA e CORRÊA, 2007).

De acordo com Xavier et al., (2009), a compostagem é um processo de decomposição aeróbica controlada e de estabilização de matéria orgânica, no qual resulta em um produto final estável, sanitizado, rico em húmus e que pode ser utilizado no solo, sem riscos para a contaminação ambiental. Durante este procedimento ocorre a transformação de matéria orgânica em um produto rico em húmus pela ação enzimática de microorganismos (VARGAS et al., 2010).

Os microorganismos utilizam a matéria orgânica como fonte de energia e crescimento, por meio da degradação do composto (TIQUIA, 2005). Segundo Epstein (1997), durante este processo de degradação, há consumo de oxigênio e liberação de gás carbônico e água, além da geração de calor.

A compostagem tem sido muito utilizada em resíduos não fluidos, ou seja, resíduos sólidos e semi-sólidos, estes provenientes de diversas fontes, como os resíduos urbanos, agroindustriais e agropecuários (AMINE et al., 2006). A eficiência do processo depende da ação e interação dos microorganismos, os quais necessitam de condições favoráveis para suas atividades, como a temperatura, a umidade, a aeração, o pH, o tipo de composto orgânico, a relação carbono/nitrogênio (C/N), a granulometria do material e as dimensões das leiras (XAVIER et al., 2009).

Segundo Kiehl (2004), o processo de compostagem pode ser dividido em três fases, compreendendo uma fase inicial mesófila, no qual os microorganismos apresentam-se em estado de latência, porém apresentam uma intensa síntese de DNA e enzimas. Em seguida ocorre uma etapa de bioestabilização, denominada fase termofílica. O último estágio é denominado fase de humificação ou maturação, que resulta na mineralização de alguns componentes da matéria orgânica, como nitrogênio, fósforo, cálcio e magnésio, que são transformados em matéria inorgânica, tornando-se disponíveis para as plantas (XAVIER et al., 2009).

A técnica de biorremediação pode ser efetiva na destruição de patógenos, por meio do calor gerado na fase termofílica, degradando também um grande número de poluentes orgânicos e gerando um produto final livre de toxinas, podendo ser utilizado como fertilizante (Epstein, 1997). Segundo CAI et al. (2007), estudos com resíduos orgânicos compostados têm apresentado resultados satisfatórios.

Avaliando a compostagem de lodo de esgoto, KUHLMAN (1990) observou que o processo elimina de maneira satisfatória os patógenos presentes no resíduo. Araújo e Monteiro (2006), estudando o lodo têxtil compostado e não compostado,

constatarem que o não compostado causou efeito negativo na biomassa microbiana, em contrapartida, o compostado teve efeito positivo na biomassa e na atividade microbiana, melhorando a capacidade de reciclagem do carbono no solo.

Pesquisas têm demonstrado que a utilização da compostagem é efetiva para a supressão de patógenos e redução do teor de metais pesados (ARIAS et al., 2017; LIU et al., 2017). Ozaki et al. (2017) estudando o lodo de esgoto compostado, observou que no final do processo houve uma diminuição de substâncias tóxicas, evidenciando que micropoluentes orgânicos podem ser removidos com a utilização da compostagem convencional.

Conforme Chenon et al., (2003) é importante a avaliação ecotoxicológica dessas amostras através diferentes bioensaios, devido à dificuldade de identificar todas as substâncias tóxicas presentes em resíduos. Essas avaliações ecotoxicológicas podem ser realizadas utilizando diversos organismos teste, como microorganismos, células animais e plantas, isolados ou combinados (MATOS et al., 2017).

Entre as técnicas mais comuns para avaliação da toxicidade de compostos, estão o teste de germinação de sementes e alongação radicular, como também ensaio de aberrações cromossômicas e teste de micronúcleo em *Allium cepa* (OECD, 1984; MAZZEO et al., 2015).

### **2.3 Bioensaio de fitotoxicidade com *Lactuca sativa***

Em geral, na composição dos lodos, há elevada quantidade de metais pesados e de sais solúveis, essa característica pode limitar o seu uso na agricultura devido ao risco de contaminação do solo (PEREIRA et al., 2013). Segundo Santos et al. (2013) alguns metais como o alumínio, manganês, cálcio, níquel, cobre, cobalto e chumbo apresentam caráter fitotóxico, prejudicando a germinação de sementes e o desenvolvimento das plantas.

O lodo de curtume apresenta em sua constituição elevada concentração de sais, o que pode contribuir para uma mudança na característica do solo (MARTINES, 2009). De acordo com Gao et al. (2010), efeitos fitotóxicos na germinação e no crescimento vegetal pode ser decorrente do grau de salinidade do material. Solos salinos prejudicam a germinação das sementes pela diminuição do potencial osmótico externo, impedindo a absorção de água, ou por meio de efeitos tóxicos devido a absorção de íons como o Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> (SOARES et al., 2015). Segundo os mesmos

autores, a absorção indevida de íons e o estresse osmótico são responsáveis pela inibição ou demora tanto da germinação e como do desenvolvimento de plântulas.

As avaliações da germinação de sementes, do crescimento das raízes e do desenvolvimento das plantas são muito importantes para mensurar a fitotoxicidade de um composto, permitindo determinar a existência de substâncias tóxicas no material (BELO, 2011). Para medir o efeito fitotóxico de compostos orgânicos, bioensaios de germinação de sementes e de crescimento vegetal são comumente utilizados (KAPANEN e ITAVAARA, 2001). Apesar do seu frequente uso, estes testes possuem limitações, como a impossibilidade de identificar quais contaminantes específicos causam a toxicidade observada (TIQUIA, 2010).

Nos teste de fitotoxicidade quantifica-se o número de sementes germinadas e o comprimento das raízes dispostas em determinado composto (ARAÚJO E MONTEIRO, 2005; BELO, 2011). Diversas instituições governamentais utilizam o bioensaio de fitotoxicidade para estimar o grau de contaminação de compostos residuais e efluentes descartados no meio ambiente (OECD, 1984; USEPA, 1996). Além de apresentarem um baixo custo e possibilidade de serem realizados de forma contínua, muitos autores afirmam que o principal benefício do teste é a grande variedade de parâmetros de toxicidade, como taxa de germinação, ganho de biomassa, alongamento de raízes e aspectos bioquímicos (TIQUIA, TAM e HODGKISS, 1996; RODRIGUES et al., 2013)

Neste sentido, têm sido recomendadas diversas espécies de plantas, sendo as mais usadas representadas na Tabela 1. De acordo com Oleszczuk e Hollert (2011), a sensibilidade à toxicidade das sementes depende da quantidade de reservas alimentares que elas possuem, por isso sementes de tubérculos, cereais e legumes teriam baixa sensibilidade à toxidade.

Entre os bioensaios envolvendo plantas superiores, o ensaio com *Lactuca sativa* (alface) é um dos mais comuns e bem avaliados para a utilização em estudos de toxicidade (LUTTERBECK et al., 2015). De acordo com Charles et al. (2011), a utilização da alface como bioindicador de toxicidade apresenta várias vantagens, pois se caracteriza um teste simples, rápido e confiável, além de apresentar um baixo custo e alta repetibilidade.

Tabela 1 - Espécies de plantas recomendadas pelas instituições Guidelines for the Testing of Chemicals (OECD), United States Environmental Protection Agency (USEPA) e U.S. Food and Drug Administration (USFDA)

	Nome comum	Nome Científico
OECD	Arroz	<i>Oryza sativa</i> (L.)
	Trigo	<i>Triticuma estivum</i> (L.)
	Alface	<i>Lactuca sativa</i> (L.)
	Rabanete	<i>Raphanus sativus</i> (L.)
	Repolho	<i>Brassica campestris</i> (L.)
	Agrião	<i>Lepidium sativum</i> (Linn.)
	Mostarda	<i>Brassica sativum</i> (L.)
USEPA	Alface	<i>Lactuca sativa</i> (L.)
	Couve	<i>Brassica oleraceae</i> (L.)
	Soja	<i>Glycine max</i> (L.)
	Milho	<i>Zea mays</i> (L.)
USFDA	Cebola	<i>Allium cepa</i> (L.)
	Trigo	<i>Triticuma estivum</i> (L.)

Fonte: Kapanen e Itavaara (2001).

#### 2.4 Bioensaios de toxicidade genética com *Allium cepa*

Potencialmente genotóxicos e mutagênicos, os metais pesados são conhecidos como indutores de estresse oxidativo, este responsável por estimular a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), que resulta em danos no DNA e na morte celular (LUSHCHAK et al., 2008). De acordo com Beyersmann e Hartwig (2008), a bioacumulação de metais pesados no meio ambiente pode resultar no acréscimo de doenças degenerativas. A avaliação de poluentes em amostras ambientais exige uma série de testes de genotoxicidade, com crescente simplicidade, sensibilidade e acessibilidade (TABREZ e AHMAD, 2011).

As plantas apresentam alta sensibilidade para detectar agentes citotóxicos e mutagênicos por meio de diferentes mecanismos genéticos, incluindo mutações pontuais e aberrações cromossômicas, tornando-as importantes bioindicadores de toxicidade ambiental (MATOS et al., 2017). Segundo Leme e Marin-Morales (2009), a espécie *Allium cepa* ( $2n=16$ ) é um dos melhores sistemas para avaliar a citotoxicidade e a mutagenicidade de substâncias ambientais, devido ao pequeno número e grande tamanho de seus cromossomos, além de possuir alta sensibilidade na detecção de agentes químicos. Essas características fazem com que esta espécie seja



amplamente utilizada no monitoramento do efeito de poluentes ambientais (BIANCHI, ESPINDOLA e MARIN-MORALES, 2011).

O sistema de teste *A. cepa* é uma técnica rápida e sensível para o monitoramento de substâncias ambientais, o qual é usado avaliar o mecanismo de ação de substâncias tóxicas testadas no DNA de organismos expostos (LEME e MARIN-MORALES, 2009). Segundo Grant (1982), o sistema-teste *A. cepa* além de apresentar uma alta sensibilidade, apresenta uma boa correlação com os testes realizados em mamíferos. Rank e Nielsen (1993) calcularam a sensibilidade do teste de mutagenicidade com *A. cepa*, que se mostrou superior aos resultados obtidos com roedores.

Segundo Leme e Marin-Morales (2009) o teste de *A. cepa* permite a análise de diferentes parâmetros, como o índice mitótico, aberrações cromossômicas, anormalidades nucleares e micronúcleos. O índice mitótico é caracterizado pelo número total de células em divisão e tem sido utilizado como um parâmetro na avaliação da citotoxicidade de diversos agentes (FERNANDES et al., 2009). Dessa forma, índices mitóticos menores que os registrados no controle negativo podem indicar alterações derivadas da ação química no crescimento e desenvolvimento dos organismos expostos. Por outro lado, índices acima do controle negativo são resultados de um aumento da divisão celular, que podem levar à proliferação celular desordenada (LEME e MARIN-MORALES, 2009).

As aberrações cromossômicas são caracterizadas por mudanças estruturais ou no número total de cromossomos, estas podem ocorrer naturalmente ou devido a exposição de agentes químicos ou físicos (ALBERTINI et al., 2000). Dessa forma, agentes clastogênicos resultam em pontes e quebras cromossômicas, enquanto agentes aneugênicos apresentam como características perdas cromossômicas, atrasos, aderências, multipolaridade e C-metáfases (LEME e MARIN-MORALES, 2009). Estas alterações também resultam em anormalidades nucleares, como mudanças morfológicas nos núcleos interfásicos observadas na forma de núcleos lobulados, núcleos com brotos nucleares, células polinucleadas, mini células, dentre outros (CARITÁ e MARIN-MORALES, 2008; FERNANDES et al., 2009).

A perda cromossômica é induzida por distúrbios no fuso mitótico durante a divisão celular (AGUIAR, ANDRADE e DAVID, 2016). Segundo El-Ghamery, El-Kholy e El-Yousser (2003) esse efeito origina células-filhas com número irregular de cromossomos, resultando em um núcleo interfásico anormal. A C-Metáfase é

caracterizada pela desordem dos cromossomos na placa equatorial da célula durante a metáfase, isto ocorre devido a problemas na polimerização e despolimerização das fibras do fuso mitótico, ocasionada por algum componente tóxico ou mistura complexa (CAMPOS et al., 2008).

A alta condensação dos cromossomos durante a metáfase, devida a ação de componentes tóxicos sobre a estrutura do DNA e das proteínas associadas a ele, são a causa das metáfases com aderência (EL-GHAMERY, EL-KHOLY e EL-YOUSER, 2003). De acordo com Aguiar, Andrade e David (2016) a alta compactação cromossômica dificulta a ligação das fibras do fuso às regiões centroméricas dos cromossomos, impedindo, então, a divisão celular

A avaliação de micronúcleos é uma das análises mais eficientes de efeitos mutagênicos de compostos, devido ser consequência de danos não reparados ou reparados de forma errada nas células parentais, observados nas células-filha como uma estrutura similar ao núcleo principal, porém em tamanho reduzido (LEME e MARIN-MORALES, 2009). Micronúcleos podem derivar de aberrações cromossômicas como quebras e perdas ou ainda serem produtos da eliminação do DNA excedente do núcleo principal em processos de poliploidização, numa tentativa de retomar as condições normais de ploidia (FERNANDES et al., 2009).

Vários autores têm mostrado que a utilização do teste de aberrações cromossômicas com *Allium cepa* é eficiente para o monitoramento ambiental. Estudando atenuação natural de lodo de esgoto, Mazzeo et al. (2015) mostraram que a técnica foi eficiente para identificar os danos genéticos causados pelo resíduo. Avaliando a associação do lodo de esgoto com cana-de-açúcar, Sommaggio et al. (2018) observaram efeito citotóxico e genotóxico do composto nas células de cebola, mostrando que este método de detoxificação não foi eficiente para o resíduo estudado. Analisando água de um rio, Matos et al. (2017) associaram o efeito citotóxico em *A. cepa* às elevadas concentrações de metais pesados presentes nas amostras.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Compostagem do Lodo e coleta nos períodos de 15, 45 e 90 dias

O lodo de curtume utilizado foi obtido do curtume Gestão Peles e Couros, localizado no município de Teresina, Piauí. A formação da pilha de compostagem foi constituída de lodo de curtume misturado com bagaço de cana-de-açúcar e esterco bovino na proporção de 1:3:1 (v:v:v). O bagaço de cana e o esterco bovino foram obtidos na usina de álcool e açúcar da Companhia Vale do Parnaíba (COMVAP), no município de União, Piauí e no Departamento de Zootecnia da UFPI, respectivamente.

O processo de compostagem (Figura 1) foi realizado no Laboratório de Análise de Solos (LASO) da UFPI, e conduzido durante 90 dias, utilizando-se o método de pilhas revolvidas (USDA, 1980). Durante o processo de compostagem, foram retiradas amostras aos 15, 45 e 90 dias para avaliação do efeito citogenético. A escolha dos períodos de amostragem foi em decorrência das três fases da compostagem: Mesofílica, Termofílica e Maturação, respectivamente.



Figura 1 - Método de compostagem em pilha revolvidas.

### **3.2 Análise dos parâmetros físico-químicos**

A análise química do composto foi realizada no LASO, localizado no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí. O teor total de C orgânico foi avaliado a partir do protocolo definido por Nelson e Sommers (1996). O conteúdo total de N foi determinado pelo método de Kjeldahl após digestão com ácido sulfúrico das amostras (BREMNER, 1996). As concentrações totais de Ca, Mg, K, P, S, Zn, Cu, Cd, Pb, Ni e Cr foram determinadas por espectrofotometria de absorção atômica após digestão das amostras com ácido nítrico (USEPA, 1996).

### **3.3 Obtenção dos extratos aquosos**

Os extratos aquosos foram obtidos em outubro de 2018, no Laboratório de Mutagênese, localizado no Instituto de Biociência da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Rio Claro, São Paulo.

#### **3.3.1 Cálculo da massa seca**

A massa seca de cada amostra foi obtida pela pesagem de 5 g da amostra, em recipientes individuais tarados. Esse ensaio foi realizado em duplicata. A secagem ocorreu em estufa a 70°C por 48h. Posteriormente, uma nova pesagem foi realizada e a média de cada duplicata foi considerada como equivalente ao peso seco da amostra.

#### **3.3.2 Obtenção dos solubilizados**

A obtenção dos solubilizados (fase líquida) foi baseada na norma ABNT NBR 10.006 (2004), adicionando 62,5 g de cada amostra (peso seco) em 250 mL de água destilada, seguido por agitação constante por 5 minutos. Após 7 dias de decantação, a temperatura de 22 °C, foi coletada e filtrada em membrana com 0,45 µm de porosidade.

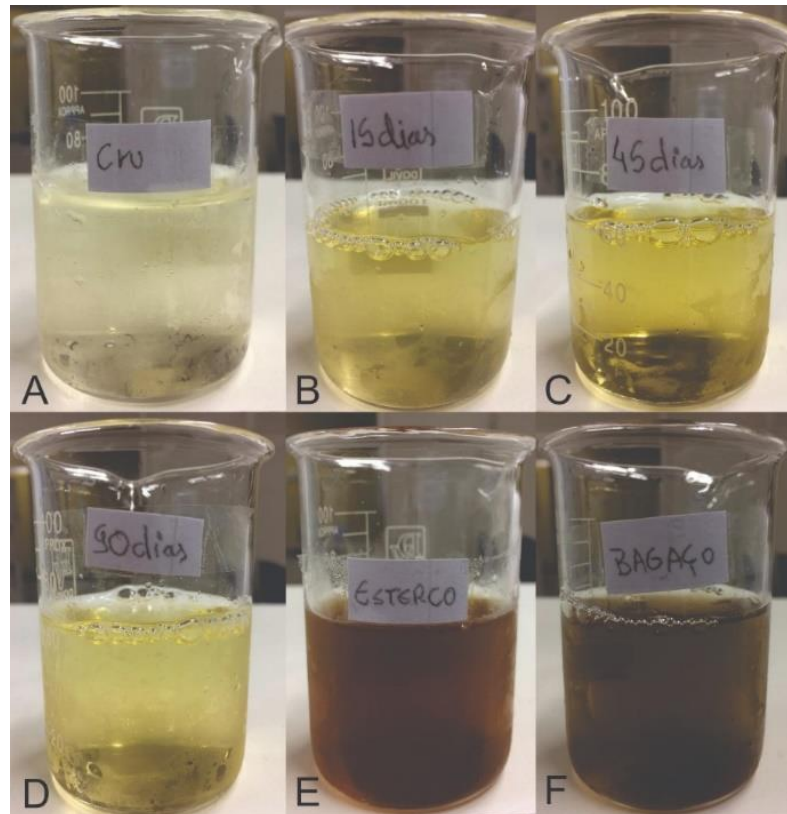


Figura 2 - Solubilizados do lodo de curtume, dos períodos de compostagem e dos controles ambientais. **A:** Lodo de curtume cru; **B:** Compostagem de 15 dias; **C:** Compostagem de 45 dias; **D:** Compostagem de 90 dias; **E:** Esterco bovino; **F:** Bagaço de cana-de-açúcar.

### 3.4 Montagem dos experimentos

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Mutagênese, da Universidade Estadual Paulista (UNESP), conduzidos em delineamentos inteiramente casualizados (DIC), composto por oito tratamentos, estes constituídos por três períodos de compostagem (15, 45 e 90 dias), três controles ambientais (o lodo de curtume não compostado, bagaço de cana-de-açúcar e esterco bovino), além de um controle negativo e outro positivo, todos em triplicata. Cada repetição foi representada por uma placa de petri, contendo 20 sementes para o modelo de *L. sativa*, e 100 sementes para o teste de *A. cepa*. Em ambos os ensaios, as sementes foram germinadas em amostra sólida, contendo 20g de material em cada placa, e no seu respectivo solubilizado, utilizando 5 mL em cada repetição.

#### 3.4.1 Bioensaio de germinação e crescimento de raiz em *Lactuca sativa* (L.)

Para o bioensaio utilizou-se placas de Petri devidamente higienizadas, em lavagens com água destilada e detergente sem resíduo; posteriormente, aplicou-se acetona nas placas para a retirada de algum possível resíduo orgânico; após a

completa volatilização da acetona e secagem das placas, um novo e último banho em água destilada foi realizado.

A substância utilizada para o controle positivo (CP) foi sulfato de zinco heptahidratado (0,05 M) (LOPES, 2014). O controle negativo (CN) foi realizado com água destilada. As placas de Petri foram distribuídas aleatoriamente em estufa BOD, sem fotoperíodo, a 22 °C, com exposição de 120 horas.

Após o período de incubação, foram mensurados o número de sementes germinadas e os tamanhos das radículas, com auxílio de régua milimetrada. A germinação de sementes (GS%), alongação radicular (ER%) e o índice de germinação (IG%) foram calculados através das equações de Tiquia, Tam e Hodgkiss (1996).

Germinação de sementes:

$$GS(\%) = \frac{N^{\circ} \text{ de sementes germinadas no extrato}}{N^{\circ} \text{ de sementes germinadas no controle}} \times 100$$

Elongação radicular:

$$ER(\%) = \frac{\text{Média do comprimento radicular no extrato}}{\text{Média do comprimento radicular no controle}} \times 100$$

Índice de Germinação

$$IG(\%) = \frac{(\% \text{ de germinação de sementes}) \times (\% \text{ crescimento radicular})}{100\%}$$



Figura 3 - **A**: Esquema de uma plântula de alfafa ao final do período de exposição (Fonte: SOBRERO; RONCO, 2004); **B**: Raízes de *L. sativa* após 120h de exposição; **C**: Mensuração tamanho de raiz de alfafa ao final do período de exposição de 120 h.

Para todos os parâmetros, foi realizado análise de variância (ANOVA) e para as comparações múltiplas, entre os grupos, foi realizado o teste post-hoc de Dunnet

a 0,05 de significância, devido a distribuição normal dos dados (AGUIAR, ANDRADE e DAVID, 2016). As análises estatísticas de todos os testes foram realizadas com auxílio dos programas estatísticos, SPSS versão 22 (MARÔCO, 2014).

### 3.4.2 Bioensaio com sementes de *Allium cepa*

As sementes de *A. cepa* (2n=16 cromossomos) do mesmo lote e variedade (cebola “Baia Periforme”) foram submetidas à germinação em placas de petri individuais. Como controle negativo foi utilizado água ultra pura, e para controle positivo utilizou 10 mg/L de metilmetano sulfonato (MMS, Sigma-Aldrich, CAS 66-27-3) (Mazzeo et al., 2015). O ensaio foi realizado em estufa BOD, com fotoperíodo de 12h, a 21 °C, por um tempo de exposição de 120 h.

Após germinação, radículas com cerca de 2,0 cm de comprimento foram coletadas e fixadas em Carnoy (álcool e ácido acético: 3;1 – v/v), por 6 a 8 horas a temperatura ambiente. Decorrido esse período, o fixador foi substituído por um novo e as raízes foram armazenadas a 4°C. Para a confecção das lâminas com as raízes fixadas, utilizou-se a região meristemática conforme protocolo descrito por Leme e Marin-Morales (2009).

As células meristemáticas de *A. cepa* foram avaliadas pelo índice mitótico, o *endpoint* de citotoxicidade. O *endpoint* de genotoxicidade foi caracterizado pelo índice das aberrações cromossômicas (perda, ponte, atraso, aderência cromossômica, metáfase poliplóide e C-metáfases). Para o *endpoint* de mutagenicidade foi considerado a presença de Micronúcleo (MN) e de quebras cromossômicas.

$$\text{Índice mitótico} = \frac{N^{\circ} \text{ de células em divisão}}{N^{\circ} \text{ de células totais}} \times 100$$

$$\text{Índice Genotóxico} = \frac{N^{\circ} \text{ de aberrações cromossômicas}}{N^{\circ} \text{ de células totais}} \times 100$$

$$\text{Índice Mutagênico} = \frac{N^{\circ} \text{ de micronúcleos} + N^{\circ} \text{ de quebras cromossômicas}}{N^{\circ} \text{ de células totais}} \times 100$$

A análise de todos os parâmetros foi realizada pela contagem de aproximadamente 6000 células por tratamento, sendo 12 lâminas por amostra (cerca de 500 células/lâmina). As análises estatísticas foram feitas pelo teste estatístico de Mann-Whitney a 0,05 de nível de significância, utilizando o software SPSS versão 22 (MARÔCO, 2014; MAZZEO et al., 2015).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Análise Química

Pelos resultados obtidos (Tabela 2) pôde-se observar elevada quantidade de cromo em todos os períodos de compostagem, apresentando-se muito acima do estabelecido pelo CONAMA (2009). Estes resultados corroboram com Oliveira et al. (2015), que também observaram uma elevada quantidade desse elemento traço no lodo de curtume compostado.

Tabela 2 – Propriedade química do lodo de curtume compostado e limite permitido pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA)

Propriedade	Esterco	Bagaco	LCNC	Lodo de Curtume Compostado			Limite
				15 dias	45 dias	90 dias	
C <sub>org</sub> (g kg <sup>-1</sup> )	10,9	5,4	169,7	156,3	175,2	187,5	-
N (g kg <sup>-1</sup> )	1,2	0,2	1,2	1,2	1,28	1,7	-
P (g kg <sup>-1</sup> )	1,5	0,5	2,1	1,89	2,9	4,02	-
K (g kg <sup>-1</sup> )	0,8	0,4	1,8	1,93	2,4	3,25	-
Ca (g kg <sup>-1</sup> )	4,7	3,1	103,6	40,3	73,2	95,33	-
Mg (g kg <sup>-1</sup> )	2,5	1	3,9	3,7	6,2	6,8	-
S (g kg <sup>-1</sup> )	9,4	0,9	5,9	5,1	9,4	9,39	-
Fe (mg kg <sup>-1</sup> )	163,3	nd	1.945,8	2.781,4	3.781,3	4.171,6	-
Mn (mg kg <sup>-1</sup> )	nd	nd	2.092,6	1.983,7	1.783,3	1.848,7	-
Cu (mg kg <sup>-1</sup> )	7,4	1,6	15,7	16,5	18,9	17,8	200
Zn (mg kg <sup>-1</sup> )	0,3	nd	148,5	118,6	132,1	141,67	450
Mo (mg kg <sup>-1</sup> )	0,1	nd	8,4	7,3	7,9	9,28	50
Ni (mg kg <sup>-1</sup> )	nd	nd	30,5	26,9	24,3	21,92	70
Cd (mg kg <sup>-1</sup> )	nd	nd	5,1	4,8	3,9	2,87	3
Cr (mg kg <sup>-1</sup> )	nd	nd	22.255,0	8.728,4	4.530,1	1.815,0	150
Pb (mg kg <sup>-1</sup> )	nd	nd	25,3	17,5	16,7	12,6	180
pH				8,5	8,5	8,5	

Nd: Não detectado. LCNC: Lodo de curtume não compostado. Limite de acordo com CONAMA (2009).

A elevada quantidade de cromo no lodo de curtume é um dos grandes impasses para sua utilização no meio agrícola, visto que essa característica pode afetar negativamente a qualidade do solo (ARAÚJO et al., 2016<sup>a</sup>). De acordo com Mazzeo (2013) é muito difícil a remoção de metais pesados do solo, principalmente devido a sua mobilidade e seu tempo residual, o que a longo prazo podem interferir nas propriedades do solo e sua qualidade para atividade agrícola. Além disso os metais pesados são conhecidos por apresentarem caráter fitotóxico e zootóxico em



concentrações elevadas (PARK, et al., 2011). Compostos que apresentam cromo são conhecidos por serem tóxicos, apresentando efeitos genotóxicos, mutagênicos e carcinogênicos ao homem, animais e plantas (MATOS et al., 2017)

Nota-se também diminuição de 79,21% da concentração de cromo do período de compostagem de 15 dias até o período de 90 dias (Tabela 2). Estudando o comportamento do cromo no solo, Oliveira et al. (2015) constataram que mais de 57% do cromo existente estava associado com substâncias húmicas, mostrando que a disponibilidade desse metal é influenciada pela matéria orgânica. Analisando o comportamento do elemento Cr no lodo de esgoto compostado, Chen, Dou e Xu, (2017) observaram uma atração desta molécula com a hidroxila presente na biomassa do composto. Os autores concluíram que temperaturas elevadas e pH alcalino favorecem essa ligação. Supõe-se que a ligação do Cr com outras moléculas do composto pode ter alterado a sua concentração final na diluição utilizada para a análise química.

#### 4.2 Ensaio de germinação e crescimento de raízes

A fitotoxicidade dos diferentes tempos de compostagem do lodo de curtume foi avaliada por meio de bioensaios de germinação, crescimento de raiz e determinação do índice de germinação com sementes de *Lactuca sativa*. Observou-se na Tabela 3 que não houve efeito significativo do LCC (lodo de curtume compostado) na germinação das sementes de alface em nenhum dos dois experimentos, quando comparado com o controle negativo. Tanto no experimento com a amostra sólida, como com o solubilizado, a germinação foi acima de 80%, indicando que não houveram danos na germinação. Por outro lado, o LCNC (lodo de curtume não compostado) reduziu em cerca de 50% a germinação das sementes no tratamento com a amostra sólida, porém o mesmo não foi observado quando este foi diluído.

Tabela 3 – Média e desvio padrão da germinação de sementes (%), da alongação radicular (%) e do índice de germinação de *Lactuca sativa* em lodo de curtume compostado

Amostra Sólida	GS (%)	ER (%)	IG (%)
CN	100± 0,00	100±0	100±0
Lodo Cru	50,87±1,51*	13,32±0,91*	8,45±0,68*
15 dias	89,82±10,00	13,70±0,96*	18,98±2,75*
45 dias	99,07±11,86	13,87±0,23*	24,09±2,52*

Continua

Tabela 3 – Média e desvio padrão da germinação de sementes (%), da alongação radicular (%) e do índice de germinação de *Lactuca sativa* em lodo de curtume compostado

Amostra Sólida	GS (%)	ER (%)	IG (%)
90 dias	91,57±10,36	14,70±0,35*	21,94±3,22*
Bagaço	88,24±16,01	75,09±18,50	70,57±9,30
Esterco	36,44±1,29*	0,00±0,00*	0±0*
CP	0,00±0,00*	0,00±0,00 *	0±0*
Solubilizado	GS (%)	ER (%)	IG (%)
CN	100± 0	100±0	100±0
Lodo Cru	85,96± 6,07	71,94±8,98	61,78±8,54*
15 dias	92,98±12,15	87,21±8,94	80,66±9,39
45 dias	91,22±13,24	88,42±10,75	79,74±2,65
90 dias	96,49±8,03	87,62±7,27	84,57±10,36
Bagaço	89,47±5,26	91,97±8,76	82,02±4,55
Esterco	78,94±13,92	89,23±4,09	70,49±13,34
CP	0±0 *	0±0 *	0±0*

CN: Controle negativo; CP: Controle Positivo (ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O); 15d, 45d, 90d: Tempos de compostagem; LCNC: Lodo de curtume não compostado; GS: Germinação de sementes; ER: Elongação radicular; IG: Índice de germinação.\* Estatisticamente diferente do controle negativo ( $p < 0,05$ ), pelo teste estatístico Anova/Dunnett.

Segundo Sobrero e Ronco (2004) a inibição da germinação de sementes pode ser considerada um efeito letal, caracterizada pela morte do embrião. Resultados semelhantes foram observados por Silva (2014), onde diluições feitas com o lodo de curtume compostado apresentaram germinação de 80% em sementes de repolho e de couve, e feijão-caupi, porém as dosagens com uma maior concentração do lodo de curtume inibiram parcialmente a germinação das sementes.

Para a variável de alongação radicular observou-se efeito significativo nas sementes de alface em todos os períodos de compostagem e para o LCNC no experimento com a amostra sólida, reduzindo em até 87% o tamanho da raiz quando comparado com o controle negativo (Tabela 3). Após a solubilização dos materiais, apenas o LCNC continuou apresentando efeito fitotóxico nas raízes, mostrando-se significativamente diferente do CN.

A inibição de crescimento de raiz é um indicador de efeito sub letal, pois alguns compostos não conseguem inibir a germinação das sementes, porém possuem a capacidade de retardar o crescimento da raiz (SOBRERO e RONCO, 2004). Esse retardo na alongação das raízes é, provavelmente, devido aos elementos químicos existentes no composto, principalmente metais pesados. De acordo com Pereira et al. (2013) elementos traços podem retardar o crescimento das raízes ou de toda planta.

Estudando os efeitos de diferentes dosagens de cromo hexavalente ( $\text{Cr}^{6+}$ ), no solo em plantas de sorgo, Reis et al. (2017) observaram que nos tratamentos com  $300 \text{ mg.Kg}^{-1}$  de Cr, houve um decréscimo de 47% da altura das plantas e 83% da matéria seca. Em estudo realizado com milho, sorgo, feijão e rabanete, Santos (2015) constatou que o Cr reduziu a germinação, o crescimento, o desenvolvimento, as trocas gasosas, teor de nutrientes das plantas e que as raízes apresentaram maior sensibilidade do que a parte aérea.

Avaliando diferentes dosagens de lodo de curtume, Silva (2014) observou um decréscimo na alongação radicular de repolho, couve e feijão-caupi com o aumento das doses nos extratos. Já López et al. (2009) observaram uma redução na germinação de sementes de aveia em solos contendo  $4.000 \text{ mg.Cr. kg}^{-1}$ , enquanto no solo contendo  $8.000 \text{ mg.Cr. kg}^{-1}$ , houve inibição total da germinação de sementes de aveia e sorgo. No mesmo estudo, eles relataram que os comprimentos das raízes de trigo, aveia e sorgo diminuíram com o aumento das concentrações de Cr.

A análise do índice germinação (IG) mostrou significância entre todos os tempos de compostagem e no LCNC, em relação ao controle negativo na amostra sólida (Tabela 3). No experimento com o material solubilizado só foi possível verificar significância no LCNC.

O índice de germinação (IG) tem-se revelado útil para quantificar o nível de fitotoxicidade de compostos (BELO, 2011). Plantas que apresentar IG maiores que 80% indicam que o composto não apresenta toxicidade, índices entre 70 – 80% são considerados moderadamente tóxicos, entre 50 – 70% tóxicos, no intervalo de 30 – 50% muito tóxicos, e abaixo de 30% extremamente tóxicos (TIQUIA, TAM E HODGKISS, 1996; ARAÚJO e MONTEIRO, 2005; BELO, 2011).

Os resultados para a amostra sólida mostraram que os períodos de compostagem de 15, 45 e 90 dias e o lodo não compostado provocaram IG de 18,98%, 24,09%, 21,94% e 8,45%, respectivamente, nas sementes de alface. De acordo com a qualificação dos índices, esses tratamentos apresentaram-se extremamente tóxicos. No material solubilizado apenas o lodo de curtume não compostado entrou na definição de tóxico, obtendo uma média de 61,78%. Os resultados corroboram com Silva (2014), que observou valores de IG de 50,50% e 42,81% para repolho e feijão-caupi, respectivamente, em altas doses de lodo de curtume. Quando estas doses foram menores, houve um acréscimo do índice para 121,29% e 117,23%.

De acordo com Zucconi e Bertoldi (1987), compostos que causam IG inferiores a 60% não podem ser aplicados com segurança em solos agrícolas. Segundo Tiquia, Tam e Hodgkiss (1996) o índice de germinação, baseado na germinação de sementes e na alongação radicular tem-se demonstrado um sensível parâmetro, adequado para indicar tanto baixa toxicidade, no qual afeta o desenvolvimento das raízes, como detectar elevada, que pode afetar na germinação de sementes.

### 4.3 Avaliação da ação do Lodo de curtume compostado sobre o organismo teste

#### A. *cepa*

A Tabela 4 apresenta os resultados obtidos em relação ao efeito do lodo de curtume compostado sobre o organismo *A. cepa*. A avaliação do potencial citotóxico das sementes de cebola germinadas diretamente na amostra sólida (Tabela 4), mostrou que os tempos de compostagem de 15, 45 e 90 dias inibiram a divisão mitótica dessa espécie. O mesmo efeito pode ser observado para o lodo de curtume não compostado e para o esterco bovino. No ensaio realizado com os extratos aquosos o único tratamento que continuou apresentando citotoxicidade foi o LCNC. Esses resultados mostram que as substâncias que estavam causando o efeito citotóxico no material compostado e no esterco bovino não foram carregados pela água, já que este efeito foi menor no extrato solubilizado, logo, estão aderidas às partículas do composto.

Tabela 4 - Presença de alterações em células de *A. cepa* expostas ao lodo de curtume compostado

Amostra sólida	Índice Mitótico (IM)	Genotoxicidade	Mutagenicidade
CN	23,44±2,65	0,08±0,98	0,016±0,56
LCNC	4,5±1,07*	0,30±0,18*	0,24±0,17*
15d	10,12±1,97*	0,31±0,18*	0,24±0,17*
45d	10,64±1,66*	0,32±0,23*	0,23±0,26*
90d	9,73±1,57*	0,27±0,18*	0,24±0,34*
Bagaço	20,76±3,97	0,37±0,29*	0,02±0,057
Esterco	5,18±1,44*	0,032±0,076	0,06±0,90
CP	20,88±1,73	1,540±0,18*	1,69±0,82*
Solubilizado	Índice Mitótico (IM)	Genotoxicidade	Mutagenicidade
CN	16,86±1,37	0,08±0,12	0,08±0,18
LCNC	9,29±1,61*	0,41±0,29*	1,11±0,37*
15d	17,78±1,53	1,05±0,27*	0,62±0,48*
45d	16,99±0,99	1,08±0,20*	0,61±0,27*
90d	17,25±1,35	1,10±0,31*	0,61±0,20*
Bagaço	15,71±1,39	0,58±0,32*	0,08±0,13

Continua

Tabela 4 - Presença de alterações em células de *A. cepa* expostas ao lodo de curtume compostado

Solubilizado	Índice Mitótico (IM)	Genotoxicidade	Mutagenicidade
Esterco	16,32±1,10	0,15±0,08	0,08±0,13
CP	15,79±1,38	1,52±0,35*	1,86±0,82*

CN: Controle negativo (água ultra pura); CP: Controle Positivo (Metilmetano Sulfonato); 15d, 45d, 90d: Tempos de compostagem; LCNC: Lodo de curtume não compostado. \* Estatisticamente diferente do controle negativo ( $p < 0,05$ ), pelo teste estatístico de Mann-Whitney.

A análise do ciclo celular permitiu fazer uma correlação entre os parâmetros microscópicos e macroscópicos. Os tratamentos que tiveram uma maior inibição do ciclo celular, constituídos pelo LCNC, 15d, 45d, 90d de compostagem e o esterco nas amostras sólidas, apresentando índice mitótico de 4,5, 10,12, 10,64, 9,73, 5,18, respectivamente, foram aqueles que impossibilitaram um maior desenvolvimento radicular, que no bioensaio de *L. sativa* inibiram em 86.68%, 86.3%, 86.13%, 85.3%, 100% o crescimento da raiz. O LCNC apresentou IM de 9,29 na amostra solubilizada, e o mesmo extrato inibiu em 28,06% o desenvolvimento da raiz na alface.

De acordo com Harashima e Schnittger (2010) existe uma relação entre o crescimento radicular e o número de células em divisão. A frequência de IM afeta diretamente a proliferação celular e conseqüentemente o desenvolvimento e crescimento de órgãos das plantas (ESPEN, PIROVANO e COCUCCI, 1997). Resultados semelhantes foram observados por Aguiar, Andrade e David (2016), estudando o efeito do efluente do processamento de café em alface, quando verificaram que os tratamentos que inibiram o crescimento radicular foram aqueles que apresentaram menores índices de divisão. De acordo com Leme e Marin-Morales (2009), a avaliação do índice mitótico apresenta-se como um importante indicador para a avaliação de poluição ambiental, especialmente para compostos com potencial tóxico e citotóxico.

Em relação aos efeitos genotóxicos, foram observadas frequências significativas de alterações celulares (Figura 4) em todos os períodos de compostagem, no LCNC e no bagaço de cana-de-açúcar, tanto nas amostras sólidas, como no solubilizado (Tabela 4).

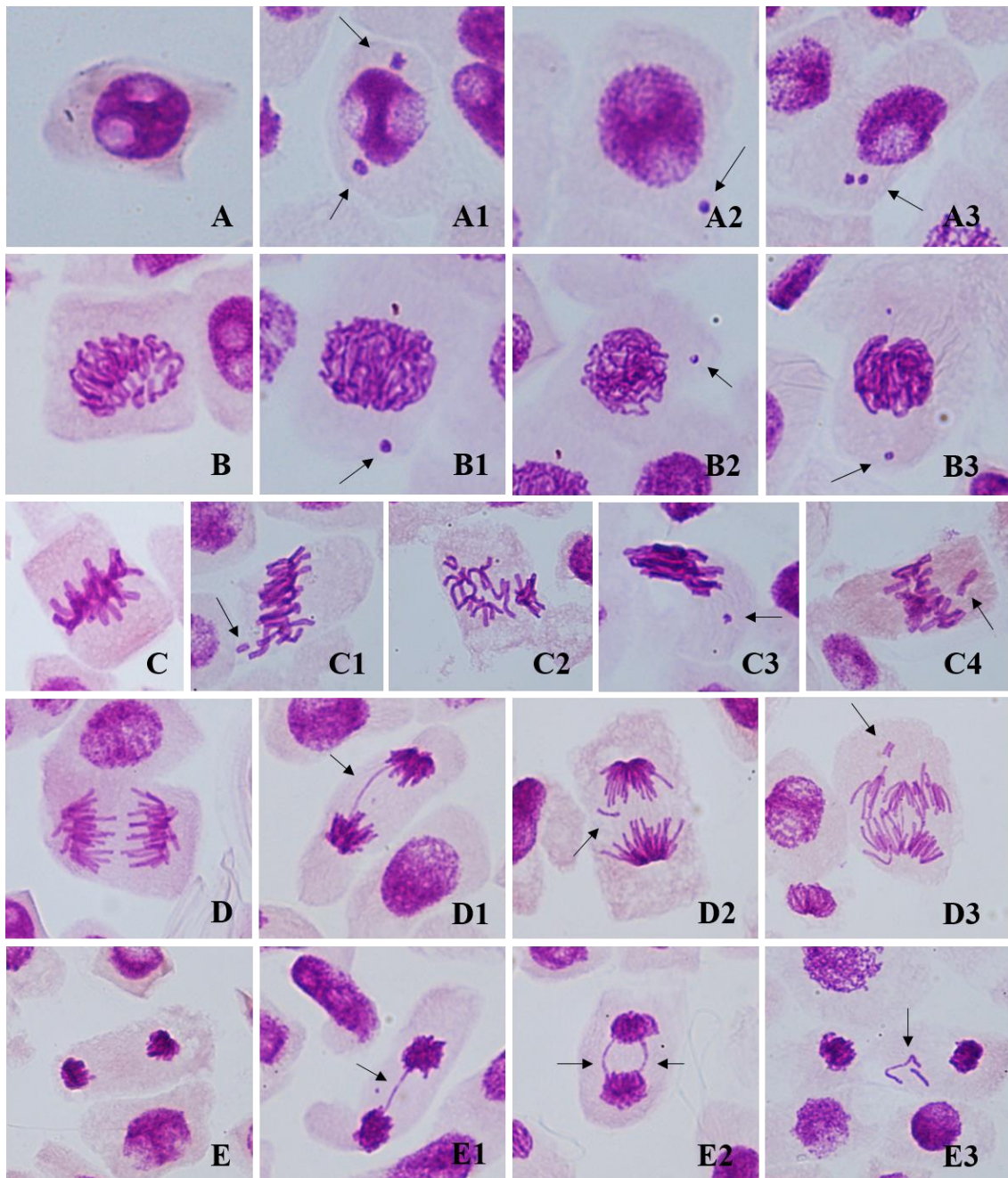


Figura 4 - Células meristemáticas de *Allium cepa*. **A**: Intérfase normal. **A1**, **A2** e **A3**: Intérfases com micronúcleo (seta). **B**: Prófase normal. **B1**, **B2** e **B3**: Prófasas com MN (setas). **C**: Metáfase normal. **C1**: Metáfase com quebra cromossômica. **C2**: C-Metáfase. **C3**: Metáfase com aderência e MN (seta). **C4**: Metáfase com cromossomo perdido (seta). **D**: Anáfase normal. **D1**: Anáfase com ponte (seta). **D2** e **D3**: Anáfase com quebra cromossômica (seta). **E**: Telófase normal. **E1** e **E2**: Telófases com pontes (seta). **E3**: Telófase com cromossomos perdidos (seta).

Todas as alterações cromossômicas encontradas nas células de cebola estão representadas na tabela 5. As alterações mais frequentes no LCC e no LCNC foram perdas e quebras cromossômicas, além de pontes e micronúcleos. Entretanto, também foram observadas aderências cromossômicas e C-metáfases. Através dos dados obtidos, foi possível observar que os tratamentos com os materiais

solubilizados apresentaram maiores quantidades de alterações, tanto para os três períodos de compostagem, como para o LCNC. Esse fato é devido aos tratamentos com as amostras sólidas terem apresentado um menor índice mitótico. Segundo Bianchi, Fernandes e Marin-Morales (2015) componentes que apresentam característica citotóxica prejudicam na avaliação de alterações cromossômicas. Devido as alterações observadas, o LCC apresentou ação aneugênica, caracterizada pelas aderências, perdas cromossômicas e C-metáfases, interferindo na ação dos microtúbulos e, conseqüentemente, afetando na divisão celular. O composto também apresentou ação clastogênica, representada por quebras e pontes cromossômicas.

Tabela 5 - Total de alterações encontradas em células de *A. cepa* expostas ao lodo de curtume compostado

A.S.	MN	Quebra	BN	Poliploidia	AD	C-M	Ponte	Perda	Perda e Ponte	C.A.
CN	1	0	0	0	0	0	3	2	0	6195
CP	71	31	3	13	21	10	21	19	6	6034
LCNC	16	1	0	0	3	2	4	10	0	6177
15d	7	8	2	0	1	3	5	8	0	6135
45d	8	6	0	0	2	2	6	10	0	6219
90d	9	6	0	0	2	1	4	8	2	6284
Esterco	4	0	1	0	0	0	1	0	0	6142
Bagaço	1	0	0	7	3	1	6	5	0	6000
Sol.	MN	Quebra	BN	Poliploidia	AD	C-M	Ponte	Perda	Perda e Ponte	C.A.
CN	3	2	0	0	3	0	1	1	0	6161
CP	103	11	6	6	15	19	28	10	9	6128
LCNC	60	8	1	0	3	3	8	9	1	6115
15d	26	12	0	0	10	5	18	25	6	6082
45d	24	13	0	0	2	6	32	21	4	6085
90d	23	14	0	0	9	5	29	19	5	6083
Esterco	5	0	0	0	4	0	5	0	0	6120
Bagaço	5	0	0	0	10	11	14	1	0	6179

A.S.: Amostra sólida; Sol.: Solubilizado; MN: Micronúcleo; BN: Broto nuclear; AD: Aderência cromossômica; C-M: C-Metáfases; C.A: Total de células analisadas;

Em relação ao efeito mutagênico observado nas células de cebola, foram encontrados resultados significativos para o LCNC e para todos os períodos de compostagem, tanto no ensaio com as amostras sólidas, como com elas solubilizadas (Tabela 4). Segundo Leme e Marin-Morales (2009), a forma mais simples e eficaz de analisar a ação mutagênica de um composto tóxico é a partir da contagem de micronúcleos (MN). MN são decorrentes a danos não reparados nas células parentais, onde estes são caracterizados por apresentar estruturas semelhantes ao núcleo (Figura 4), porém de tamanho reduzido (RIBEIRO, 2003). Micronúcleos podem surgir

por meio do desenvolvimento de algumas aberrações cromossômicas, como quebras e perdas cromossômicas (LEME e MARIN-MORALES, 2009).

Provavelmente os efeitos genotóxicos e mutagênicos observados são decorrentes aos metais presentes no composto, principalmente o cromo. De acordo com Matos et al. (2017), os elementos traço exercem sua toxicidade de diversas maneiras, como deslocando metais essenciais de seus locais normais de ligação, por inibição enzimática ou por ruptura da estrutura do ácido nucléico. Elementos traços são conhecidos por seus efeitos tóxicos e pelos danos causados no DNA (KORPINEN et al., 2012).

Compostos que apresentam o cromo em sua composição são conhecidos por apresentarem efeitos genotóxicos, mutagênicos e carcinogênicos no homem e em animais (MATSUMOTO et al., 2006). Segundo os mesmos autores, o cromo possui duas formas na natureza, o cromo trivalente ( $\text{Cr}^{3+}$ ) e o cromo hexavalente ( $\text{Cr}^{6+}$ ), sendo o último mais biologicamente ativo. O  $\text{Cr}^{6+}$  atravessa facilmente as membranas celulares por meio de difusão facilitada, induzindo efeitos genotóxicos e mutagênicos nas células (LUSHCHAK et al., 2008; MARCON et al., 2010). O  $\text{Cr}^{3+}$  é incapaz de atravessar membranas, porém, pode ser transformado no ambiente em  $\text{Cr}^{6+}$ , ou pode ser absorvido por pinocitose e endocitose, atuando diretamente no DNA e causando mais danos (MATSUMOTO, MANTOVANI e MALLAGUTI, 2003; MATSUMOTO e MARIN-MORALES, 2004; MATSUMOTO et al., 2006).

Dentro da célula o cromo pode agir de diversas maneiras, realizando cortes da fita simples ou dupla do DNA, promovendo deleção de bases, aumentando o estresse oxidativo. (MARCON et al., 2010; SANTOYO, 2017). Além disso, o Cr inibe a DNA polimerase, reduzindo a replicação do DNA e conseqüentemente gerando diferentes mutações (MARCON et al., 2010).

Observando a taxa de mutação do gene marcador CAN1, Santoyo (2017) constatou que as concentrações de 25 e 50 mM de Cr aumentaram a taxa de mutação desse gene em 20 e 28 vezes, respectivamente. Estudando água contaminada por efluentes da indústria curtumeira, Matsumoto et al., (2006), observaram uma alta frequência de anormalidades cromossômicas, como C-Metáfases, cromossomos quebrados e perdidos, anáfases com ponte, anáfase multipolares, micronúcleo e células binucleadas em células de cebola. Os autores associaram as alterações com as elevadas concentrações de cromo presente na água coletada. Em outro estudo, Matsumoto, Mantovani e Mallaguti (2003) realizando o ensaio cometa, constataram



que o cromo em baixas concentrações na água ( $0.01 \text{ mg.L}^{-1}$ ) já foi capaz de causar efeito genotóxico nas células. Avaliando concentrações de  $6 \text{ mg.L}^{-1}$ ,  $12 \text{ mg.L}^{-1}$  e  $24 \text{ mg.L}^{-1}$ , de  $\text{Cr}^{6+}$ , Costa, Silva e Rocha, (2016) observaram micronúcleos em células de cebola em todos os tratamentos.

Além do lodo de curtume não compostado, o composto também foi constituído por esterco bovino e bagaço de cana-de-açúcar. O esterco apresentou-se citotóxico quando testado com o material bruto. Já o bagaço apresentou efeito genotóxico quando foi solubilizado. Segundo Luo et al. (2018), compostos ricos em amônia ( $\text{NH}_4^+$ ), como é o caso do esterco bovino, ocasiona toxicidade nas plantas, principalmente no desenvolvimento das raízes. Estudando associação do lodo de esgoto com bagaço-de-cana, Sommaggio et al. (2018) observaram efeitos genotóxicos do bagaço em células de cebola.

Os resultados obtidos para os ensaios realizados com as amostras sólidas e solubilizados do LCC mostraram que ambos causam danos celulares. O fato dos efeitos tóxicos também terem sido observados nos extratos aquosos gera maior preocupação, uma vez que o LCNC e o compostado poderão contaminar não somente o solo, mas também águas subterrâneas, por meio de lixiviação dos componentes tóxicos presentes nesses compostos.

## 5 Conclusões

De acordo com os resultados obtidos neste estudo, conclui-se que o lodo de curtume compostado, em sua forma sólida e solubilizada, apresentaram efeitos fitotóxicos, citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos para as espécies *Lactuca sativa* e *Allium cepa*.

O lodo de curtume compostado pelo período de 90 dias não é recomendado para o uso agrícola, por apresentar efeitos tóxicos. Sugere-se um maior período de compostagem, visto que o utilizado no estudo não foi suficiente para a detoxificação do resíduo.

## 6 Referências

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 10006: Procedimento para obtenção de extrato solubilizado de resíduos sólidos (Procedure for Obtention of Solubilized Extraction of Solid Wastes)**. ABNT, Rio de Janeiro, 2004.

ABREU, M. A.; TOFFOLI, S. M. Characterization of a chromium-rich tannery waste and its potential use in ceramics. **Ceramics International**, v. 35, n. 6, p. 2225–2234, 2009.

AGUIAR, L. L.; ANDRADE, V. L. F.; OLIVEIRA DAVID, J. A. DE. Evaluation of the toxic potential of coffee wastewater on seeds, roots and meristematic cells of *Lactuca sativa* L. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 133, n. July, p. 366–372, 2016.

ALBERTINI, R. J. *et al.* IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. **Mutation Research**, v. 463, p. 111–172, 2000.

AMINE, K. A.; TRUBETSKAYA, O.; TRUBETSKOJ, O.; CAVANI, L.; CIAVATTA, C.; GUYOT, G.; RICHARD, C. Humic-like substances extracted from composts can promote the photodegradation of Irgarol 1051 in solar light. **Chemosphere**, v. 62, n. 6, p. 1021–1027, 2006.

ARAÚJO, A. S. F. DE; LIMA, L. M.; MELO, W. J. DE; SANTOS, V. M.; ARAUJO, F. F. Soil properties and cowpea yield after six years of consecutive amendment of composted tannery sludge. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 38, n. 3, p. 407, 2016a.

ARAÚJO, A. S. F.; LIMA, L. M.; SANTOS, V. M.; SCHMIDT, R. Repeated application of composted tannery sludge affects differently soil microbial biomass, enzymes activity, and ammonia-oxidizing organisms. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 19, p. 19193–19200, 2016b.

ARAÚJO, A. S. F.; MONTEIRO, R. T. R. Plant bioassays to assess toxicity of textile sludge compost. **Scientia Agricola**, v. 62, n. 3, p. 286–290, 2005.

ARAÚJO, A. S. F.; MONTEIRO, R. T. R. Microbial biomass and activity in a Brazilian soil amended with untreated and composted textile sludge. **Chemosphere**, v. 64, n. 6, p. 1043–1046, 2006.

ARIAS, O.; VIÑA, S.; UZAL, M.; SOTO, M. Composting of pig manure and forest green waste amended with industrial sludge. **Science of the Total Environment**, v. 586, p. 1228–1236, 2017.

BAMFORTH, S. M.; SINGLETON, I. Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons: Current knowledge and future directions. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 80, n. 7, p. 723–736, 2005.

BATISTA, M.M, ALOVISI, A.M.T. Alterações de atributos químicos do solo e rendimento da cana soca pela utilização de lodo de curtume. **Anuário da produção de iniciação científica discente**, v. 13, n. 17, p. 387-396. 2010.

BELO, S. R. S. **Avaliação de fitotoxicidade através de *Lepidium sativum* no âmbito de processos de compostagem**. 79 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade de Coimbra, 2011.

BEYERSMANN, D.; HARTWIG, A. Carcinogenic metal compounds: Recent insight into molecular and cellular mechanisms. **Archives of Toxicology**, v. 82, n. 8, p. 493–512, 2008.

BIANCHI, J.; ESPINDOLA, E. L. G.; MARIN-MORALES, M. A. Genotoxicity and mutagenicity of water samples from the Monjolinho River (Brazil) after receiving untreated effluents. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, n. 4, p. 826–833, 2011.

BIANCHI, J.; FERNANDES, T.C.C.; MARIN-MORALES, M.A. Induction of mitotic and chromosomal abnormalities on *Allium cepa* cells by pesticides imidacloprid and sulfentrazone and the mixture of them. **Chemosphere**, v. 144, p. 475–483, 2016.

BREMNER, J.M. Nitrogen total. In: SPARKS, D.L., ed. **Methods of soil analysis. Part 3**. Madison, America Society of Agronomy. p.1085-1121. 1996.

CAI, Q. Y.; MO, C. H.; WU, Q. T.; ZENG, Q. Y.; KATSOYIANNIS, A. Concentration and speciation of heavy metals in six different sewage sludge-composts. **Journal of Hazardous Materials**, v. 147, n. 3, p. 1063–1072, 2007.

CAMPOS, J.M.S., VICCINI, L.F., ANDRADE, L.F., DAVIDE, L.C., RODRIGUE, G.S. Chapter 5: genetic toxicology and environmental mutagenesis in allelopathic interactions. In: Narwal, S.S., Sampietro, D.A., Catalán, C.A.N., Vattuone, M.A., Politycka, B. (Eds.), **Plant Bioassays**. Studium Press, Houston, Texas, p. 81–96. 2008.

CARITÁ, R.; MARIN-MORALES, M. A. Induction of chromosome aberrations in the *Allium cepa* test system caused by the exposure of seeds to industrial effluents contaminated with azo dyes. **Chemosphere**, v. 72, n. 5, p. 722–725, 2008.

CARVALHO, A. L. DE; MATOS, A. T. DE; HAMAKAWA, P. J.; AZEVEDO, R. F. DE. PRODUÇÃO DE PERCOLADO POR RESÍDUOS SÓLIDOS URBANOS DE DIFERENTES IDADES, NA PRESENÇA DE RESÍDUOS DA CONSTRUÇÃO CIVIL E SOB RECIRCULAÇÃO. **Engenharia na Agricultura**, v.14, n.2, p. 131–138, 2006.

CASTRO E SOUSA, J. M. DE *et al.* Physico-chemical and genotoxicity analysis of Guaribas river water in the Northeast Brazil. **Chemosphere**, v. 177, p. 334–338, 2017.

CHARLES, J.; SANCEY, B.; MORIN-CRINI, N.; BADOT, P.-M.; DEGIORGI, F.; TRUNFI, G.; CRINI, G. GORIO. Evaluation of the phytotoxicity of polycontaminated industrial effluents using the lettuce plant (*Lactuca sativa*) as a bioindicator. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, p. 2057–2064, 2011.

CHEN, H.; DOU, J.; XU, H. Applied Surface Science Removal of Cr ( VI ) ions by sewage sludge compost biomass from aqueous solutions : Reduction to Cr ( III ) and biosorption. **Applied Surface Science**. v. 425, p. 728–735, 2017.

CHENON, P.; GAUTHIER, L.; LOUBIÈRES, P.; SÉVERAC, A.; DELPOUX, M. Evaluation of the genotoxic and teratogenic potential of a municipal sludge and sludge-amended soil using the amphibian *Xenopus laevis* and the tobacco: *Nicotiana tabacum* L. var. *xanthi* Dulieu. **Science of the Total Environment**, v. 301, n. 1–3, p. 139–150, 2003.

CICB, **Couro do Brasil: Exportações em alta em março**. Disponível em: <http://www.cicb.org.br/cicb/noticias/couro-do-brasil-exportacoes-em-alta-em-marco>. Acesso em 9 de junho de 2017.

Conselho Nacional do Meio Ambiente - **Conama**. Resolução nº 420, de 28 de dezembro de 2009. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente; 2009.

CORRÊA, R. S.; FONSECA, Y. M. F.; CORRÊA, A. S. Production of agricultural biosolid by composting and vermicomposting sewage sludge. **Produção de biossólido agrícola por meio da compostagem e vermicompostagem de lodo de esgoto**, v. 11, n. 4, p. 420–426, 2007.

COSTA, M. H. P.; SILVA, P. C. C.; ROCHA, C. A. M. Efeitos do cromo hexavalente sobre o crescimento de raízes e ciclo celular no meristema da ponta da raiz de *Allium cepa*. **Biota Amazônia**, v. 6, n. 3, p. 40–44, 2016.

EL-GHAMERY, A. A.; EL-KHOLY, M. A.; EL-YOUSER, M. A. A. Evaluation of cytological effects of Zn 2 + in relation to germination and root growth of *Nigella sativa* L . and *Triticum aestivum* L . **Mutation Research**, v. 537, p. 29–41, 2003.

EPSTEIN, E. **The Science of Composting**. Boca Raton, FL: CRC Press. 1997.

ESPEN, L.; PIROVANO, L.; COCUCCHI, S. M. Effects of Ni 2 + during the early phases of radish (*Raphanus sativus*) seed germination. **Environmental and Experimental Botany**, v. 38, p. 187–197, 1997.

FARMER, P. B.; SINGH, R. Use of DNA adducts to identify human health risk from exposure to hazardous environmental pollutants: The increasing role of mass spectrometry in assessing biologically effective doses of genotoxic carcinogens. **Mutation Research - Reviews in Mutation Research**, v. 659, n. 1–2, p. 68–76, 2008.

FATHY, N. A.; EL-WAKEEL, S. T.; EL-LATIF, R. R. A. Journal of Environmental Chemical Engineering Biosorption and desorption studies on chromium ( VI ) by novel biosorbents of raw rutin and rutin resin. **Biochemical Pharmacology**, v. 3, n. 2, p. 1137–1145, 2015.

FERNANDES, T.C.C.; MAZZEO, D.E.C.; MARIN-MORALES, M.A. Origin of nuclear and chromosomal alterations derived from the action of an aneugenic agent - trifluralin herbicide. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.72, p.

1680-1686, 2009.

FRANCO, H. A.; MARTINS, G. M. DE O.; MUSSEL, Y. L.; MORENO, S. C.; THODE FILHO, S.; MARQUES, M. R. DA C. ECOTOXICIDADE DE LIXIVIADO DE ATERRO SANITÁRIO NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE ALFACE (*Lactuca sativa* L.) E PEPINO (*Cucumis sativus* L.). **Revista de Estudos Ambientais**, v. 19, n. 1, p. 36, 2017.

GAO, M.; LIANG, F.; YU, A.; LI, B.; YANG, L. Evaluation of stability and maturity during forced-aeration composting of chicken manure and sawdust at different C/N ratios. **Chemosphere**, v. 78, n. 5, p. 614–619, 2010.

GODECKE, M. V.; SIQUEIRA RODRIGUES, M. A.; NAIME, R. H. Resíduos De Curtumes: Estudo Das Tendências De Pesquisa. **Rev. Elet. em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 7, n. 7, p. 1357–1378, 2012.

GONÇALVES, I. C. R.; ARAÚJO, A. S. F.; NUNES, L. A. P.; BEZERRA, A. A. C.; MELO, W. J. DE. & Heavy metals and yield of cowpea cultivated under composted tannery sludge amendment. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 36, n. 4, p. 443, 2014.

GRANT, W. F. Chromosome aberration assays in allium. A report of the U.S. environmental protection agency gene-tox program. **Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology**, v. 99, n. 3, p. 273–291, 1982.

HARASHIMA, H.; SCHNITTGER, A. Cell division, growth and differentiation. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 13, p. 66–74, 2010.

HARTMANN, H.; AHRING, B. K. Strategies for the anaerobic digestion of the organic fraction of municipal solid waste: An overview. **Water Science and Technology**, v. 53, n. 8, p. 7–22, 2006.

IQBAL, M. K.; SHAFIQ, T.; HUSSAIN, A.; AHMED, K. Effect of enrichment on chemical properties of MSW compost. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 15, p. 5969–5977, 2010.

JING, C.; LIU, S.; KORFIATIS, G. P.; MENG, X. Leaching behavior of Cr(III) in stabilized/solidified soil. **Chemosphere**, v. 64, n. 3, p. 379–385, 2006.

KAPANEN, A.; ITAVAARA, M. Ecotoxicity Tests for Compost Applications. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 49, p. 1–16, 2001.

KAVOURAS, P.; PANTAZOPOULOU, E.; VARITIS, S.; VOURLIAS, G.; CHRISAFIS, K.; DIMITRAKOPULOS, G. P.; MITRAKAS, M.; ZOUBOULIS, A. I.; KARAKOSTAS, T.; XENIDIS, A. Incineration of tannery sludge under oxic and anoxic conditions: Study of chromium speciation. **Journal of Hazardous Materials**, v. 283, p. 672–679, 2015.

KIEHL, E.J. **Manual de compostagem: maturação e qualidade do composto**. 4. ed. Piracicaba: E. J. KIEL. 173p. 2004.

KILIÇ, E.; FONT, J.; PUIG, R.; ÇOLAK, S.; ÇELİK, D. Chromium recovery from tannery sludge with saponin and oxidative remediation. **Journal of Hazardous Materials**, v. 185, n. 1, p. 456–462, 2011.

KONRAD, E. E.; CASTILHOS, D. D. ALTERAÇÕES QUÍMICAS DO SOLO E CRESCIMENTO DO MILHO DECORRENTES DA ADIÇÃO DE LODOS DE CURTUME. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 26, p. 257–265, 2002.

KORPINEN, S.; MESKI, L.; ANDERSEN, J. H.; LAAMANEN, M. Human pressures and their potential impact on the Baltic Sea ecosystem. **Ecological Indicators**, v. 15, p. 105–114, 2012.

KUHLMAN, L. R. Windrow composting of agricultural and municipal wastes. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 4, n. 1–2, p. 151–160, 1990.

KUMPIENE, J.; LAGERKVIST, A.; MAURICE, C. Stabilization of As, Cr, Cu, Pb and Zn in soil using amendments - A review. **Waste Management**, v. 28, n. 1, p. 215–225, 2008.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. Allium cepa test in environmental monitoring: A review on its application. **Mutation Research - Reviews in Mutation Research**, v. 682, n. 1, p. 71–81, 2009.

LIU, W.; HUO, R.; XU, J.; LIANG, S.; LI, J.; ZHAO, T.; WANG, S. Effects of biochar on nitrogen transformation and heavy metals in sludge composting. **Bioresource Technology**, v. 235, p. 43–49, 2017.

LOPES, P. R. M. **Biorremediação de solo contaminado com óleo lubrificante pela aplicação de diferentes soluções de surfactante químico e biosurfactante produzido por Pseudomonas aeruginosa LBI**. 183 p. Tese - (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro, 2014.

LOPEZ, L. J.; GONZÁLEZ, M. M. C.; ESPARZA, G. F. J.; RODRÍGUEZ, V. R. Toxicity assessment of soil amended with tannery sludge, trivalent chromium and hexavalent chromium, using wheat, oat and sorghum plants. **Journal of Hazardous Materials**, vol. 163, p. 829–834, 2009.

LOUREIRO, S.; SOARES, A. M. V. M.; NOGUEIRA, A. J. A. Terrestrial avoidance behaviour tests as screening tool to assess soil contamination. **Environmental Pollution**, v. 138, n. 1, p. 121–131, 2005.

LUO, Y.; LIANG, J.; ZENG, G.; CHEN, M.; MO, D.; LI, G.; ZHANG, D. Seed germination test for toxicity evaluation of compost: Its roles, problems and prospects. **Waste Management**, v. 71, p. 109–114, 2018.

LUSHCHAK, O. V.; KUBRAK, O. I.; NYKORAK, M. Z.; STOREY, K. B.; LUSHCHAK, V. I. The effect of potassium dichromate on free radical processes in goldfish: Possible protective role of glutathione. **Aquatic Toxicology**, v. 87, n. 2, p. 108–114, 2008.

LUTTERBECK, C. A.; KERN, D. I.; MACHADO, Ê. L.; KÜMMERER, K. Evaluation of

the toxic effects of four anti-cancer drugs in plant bioassays and its potency for screening in the context of waste water reuse for irrigation. **Chemosphere**, v. 135, p. 403–410, 2015.

MALAFAIA, G.; JORDÃO, C. R.; ARAÚJO, F. G. DE; LEANDRO, W. M.; RODRIGUES, A. S. DE L. Vermicompostagem de lodo de curtume em associação com esterco bovino utilizando *Eisenia fetida*. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 20, n. 4, p. 709–716, 2015.

MARCON, A. E.; FERREIRA, D. DE M.; MOURA, M. DE F. V. DE; CAMPOS, T. F. DA C.; AMARAL, V. S. DO; AGNEZ-LIMA, L. F.; MEDEIROS, S. R. B. DE. Genotoxic analysis in aquatic environment under influence of cyanobacteria, metal and radioactivity. **Chemosphere**, v. 81, n. 6, p. 773–780, 2010.

MARÔCO, J. Análise Estatística com o SPSS Statistics. **Report Number**. 6 ed p. 990.2014

MARTINES, A. M. **Impacto do lodo de curtume nos atributos biológicos e químicos do solo**. 62 p. Piracicaba: Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2009.

MATOS, L. A. *et al.* The influence of heavy metals on toxicogenetic damage in a Brazilian tropical river. **Chemosphere**, v. 185, p. 852–859, 2017.

MATSUMOTO, S. T.; MANTOVANI, M. S.; IRENE, M.; MALAGUTTI, A.; DIAS, A. L.; FONSECA, I. C.; MARIN-MORALES, M. A. Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberrations in onion root-tips. **Genetics and Molecular Biology**, v. 29, n. 1, p. 148–158, 2006.

MATSUMOTO, S. T.; MANTOVANI, M. S.; MALLAGUTI, M. I. Investigation of the Genotoxic Potential of the Waters of a River Receiving Tannery Effluents by Means of the in vitro Comet Assay. **Cytologia**, v. 68, n. 4, p. 395–401, 2003.

MATSUMOTO, S. T.; MARIN-MORALES, M. A. That Receives Tannery Effluent Using the *Allium cepa* Test System. **Cytologia**, v. 69, n. 4, p. 399–408, 2004.

MAZZEO, D. E. C. **Avaliação da viabilidade do lodo de esgoto como recondicionante de solos agrícolas, após processo de atenuação natural, por meio de diferentes bioensaios**. 225 p. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Molecular). Universidade Estadual Paulista. Rio Claro. 2013.

MAZZEO, D. E. C.; FERNANDES, T. C. C.; LEVY, C. E.; FONTANETTI, C. S.; MARIN-MORALES, M. A. Monitoring the natural attenuation of a sewage sludge toxicity using the *Allium cepa* test. **Ecological Indicators**, v. 56, p. 60–69, 2015.

MEIRA, A. M.; CAZZONATTO, A. C.; SOARES, C. A. **Manual básico de compostagem – série: conhecendo os resíduos**. Piracicaba, USP Recicla, p. 23. 2003.

MOON, D. H.; DERMATAS, D. Arsenic and lead release from fly ash



stabilized/solidified soils under modified semi-dynamic leaching conditions. **Journal of Hazardous Materials**, v. 141, n. 2, p. 388–394, 2007.

NASCIMENTO, C. W. A.; BARROS, D. A. S.; MELO, E. E. C.; OLIVEIRA, A. B. Alterações químicas em solos e crescimento de milho e feijoeiro após aplicação de lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.28, p. 385-392, 2004.

NELSON, D.W. & SOMMERS, L.E. Total carbon, organic carbon and organic matter. In: SPARKS, D.L.; PAGA, A.L.; HELMKE, P.A.; LOEPPERT, R.H.; SOLTANPOUR, P.N.; TABATABAI, M.A.; JOHNSTON, C.T. & SUMMER, M.E., eds. Methods of soil analysis: Chemical methods. Part 3. Madison, **Soil Science Society of America**. p.961-1010. 1996

OECD. **OECD guidelines for testing of chemicals**: guideline 208, terrestrial plants, growth test. Paris, 1984.

OLESZCZUK, P.; HOLLERT, H. Comparison of sewage sludge toxicity to plants and invertebrates in three different soils. **Chemosphere**, v. 83, n. 4, p. 502–509, 2011.

OLIVEIRA, M. L. J.; ARAUJO, A. S. F. DE; MELO, W. J. DE. Chromium in soil organic matter and cowpea after four consecutive annual applications of composted tannery sludge. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 39, p. 297–302, 2015.

OZAKI, N.; NAKAZATO, A.; NAKASHIMA, K.; KINDAICHI, T.; OHASHI, A. Loading and removal of PAHs, fragrance compounds, triclosan and toxicity by composting process from sewage sludge. **Science of the Total Environment**, v. 605–606, p. 860–866, 2017.

PANTAZOPOULOU, E.; ZEBILIADOU, O.; MITRAKAS, M.; ZOUBOULIS, A. Stabilization of tannery sludge by co-treatment with aluminum anodizing sludge and phytotoxicity of end-products. **Waste Management**, v. 61, p. 327–336, 2017.

PANTAZOPOULOU, E.; ZOUBOULIS, A. Chemical toxicity and ecotoxicity evaluation of tannery sludge stabilized with ladle furnace slag. **Journal of Environmental Management**, v. 216, p. 257–262, 2018.

PARK, J.H.; LAMB, D.; PANEERSELVAM, P.; CHOPPALA, G.; BOLAN, N.; CHUNG, J.W. Role of amendments on enhanced bioremediation of heavy metal (loid) contaminated soils. **Journal of Hazardous Materials**, v.185, p.549-574, 2011.

PASSIONOTO, C. C.; CASTILHOS, D. D.; CASTILHOS, R. M. V.; LIMA, A. C. R. DE; LIMA, C. L. R. DE. Atividade e Biomassa no Solo com a Aplicação de Dois diferentes Lodos de Curtume. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 7, p. 125–130, 2001.

PEREIRA, M. P.; CARLOS, L.; RODRIGUES, D. A.; BARBOSA, S.; CASTRO, E. M. DE. Fitotoxicidade do chumbo na germinação e crescimento inicial de alface em função da anatomia radicular e ciclo celular. **Revista Agro@mbiente On-line**, v. 7, n. 1, p. 36–43, 2013.

RANK, J.; NIELSEN, M. H. A modified *Allium* test as a tool in the screening of

genotoxicity of complex mixtures. **Hereditas**, v.118, p.49-53, 1993

REIS, R. H. C. L.; ENGELHARDT, M. M.; LIMA, F. R. D. DE; SCHERRER, C. N. Fitotoxicidade de cromo VI em plantas de sorgo ( *Sorghum bicolor* L.). **II Simpósio de Ciência do Solo**, 2017.

RENOU, S.; GIVAUDAN, J. G.; POULAIN, S.; DIRASSOUYAN, F.; MOULIN, P. Landfill leachate treatment: Review and opportunity. **Journal of Hazardous Materials**, v. 150, n. 3, p. 468–493, 2008.

RIBEIRO, L.R., Teste do micronúcleo em medula óssea de roedores in vivo, in: L.R. Ribeiro, D.M.F. Salvadori, E.K. Marques (Eds.), **Mutagênese Ambiental**, Ulbra, Canoas. p. 201–219.2003.

RODRIGUES, L. C. DE A.; BARBOSA, S.; PAZIN, M.; MASELLI, B. DE S.; BEIJO, L. A.; KUMMROW, F. Fitotoxicidade e citogenotoxicidade da água e sedimento de córrego urbano em bioensaio com *Lactuca sativa*. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, n. 10, p. 1099–1108, 2013.

SANTOS, J. A.; NUNES, L. A. P. L.; MELO, W. J.; ARAÚJO, A. S. F. Tannery sludge compost amendment rates on soil microbial biomass of two different soils. **European Journal of Soil Biology**, v. 47, n. 2, p. 146–151, 2011.

SANTOS, J. L. A. **Valores de prevenção para fitotoxidez por cromo em solos de minas gerais**.98 p. Dissertação (Pós- Graduação em Ciências do Solo) - Universidade Federal de Lavras.Lavras. 2015.

SANTOS, D.C.; MEDEIROS, R.M.; OLIVEIRA, V.G. Estudo da fitotoxicidade dos resíduos urbanos da cidade de Campina Grande-PB. **Revista Nacional de Gerenciamento de Cidades**, v. 01, n. 05, 2013, p. 36-50, 2013.

SANTAYO, G. El cromo (VI) induce la frecuencia de mutación y pérdida de heterocigocidad en *Saccharomyces cerevisiae*. **Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas**, v. 21, n. 1, p. 34–39, 2018.

SILVA, A. A. L. DA. **Avaliação da fitotoxicidade do lodo de curtume compostado através de bioensaios**.64p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal do Piauí. Teresina. 2014.

SOARES, M. M.; SANTOS, H. C. DOS; SIMÕES, M. G.; PAZZIN, D.; SILVA, L. J. DA. Estresse hídrico e salino em sementes de soja classificadas em diferentes tamanhos. **Pesquisa Agropecuaria Tropical**, v. 45, n. 4, p. 370–378, 2015.

SOBRERO, M. C.; RONCO, A. Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.). In: G. Castillo (ed.) **Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones**. Canadá: IDRC/IMTA, p. 71-79. 2004.

SOMMAGGIO, L.R.D., MAZZEO, D.E.C., SANT' ANNA, D. DE A. E. S., LEVY, C.E., MARIN-MORALES, M.A. Ecotoxicological and microbiological assessment of sewage sludge associated with sugarcane bagasse. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. v. 147, n. May 2017, p. 550–557, 2018.

- TABREZ, S.; AHMAD, M. Oxidative stress-mediated genotoxicity of wastewaters collected from two different stations in northern India. **Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 726, n. 1, p. 15–20, 2011.
- TAHIR, M.; ARSHAD, M.; NAVEED, M.; ZAHIR, Z.A.; SHAHAROONA, B.; AHMAD, R. Enrichment of recycled organic waste with N fertilizer and PGPR containing ACC-deaminase for improving growth and yield of tomato. **Soil Environmental**, v.25, p.105–112, 2006
- TIQUIA, S. M. Microbiological parameters as indicators of compost maturity. **Journal of Applied Microbiology**, v. 99, n. 4, p. 816–828, 2005.
- TIQUIA, S. M. Reduction of compost phytotoxicity during the process of decomposition. **Chemosphere**, v. 79, n. 5, p. 506–512, 2010.
- TIQUIA, S. M.; TAM, N. F. Y.; HODGKISS, I. J. Effects of composting on phytotoxicity of spent pig-manure sawdust litter. **Environmental Pollution**, v. 93, n. 3, p. 249–256, 1996.
- USDA. United States Department of Agriculture. **Manual for Composting of Swage Sludge by the Beltsville Aerated – pile Method**. USDA – EPA. p. 65 1980.
- U.S.E.P.A. Ecological Effects Test Guidelines. OPPTS 850.4200. **Seed Germination/Root Elongation Toxicity Test**. EPA 712-C-96-154. april 1996.
- VARGAS, G. M. C.; SUÁREZ, E. F.; LÓPEZ, M. J.; MORENO, J. Microbial population dynamics and enzyme activities in composting processes with different starting materials. **Waste Management**, v. 30, n. 5, p. 771–778, 2010.
- WIECZERZAK, M.; NAMIE, J.; KUD, B. Bioassays as one of the Green Chemistry tools for assessing environmental quality. **Environment International**. v. 94, p. 341–361, 2016.
- XAVIER, E.; MORSELLI, T.; JAHNKE, D.; BRUM JR, B. S. DE; CABRERA, B.; MORAES, P. O. DE; LOPES, D. Issues Concerning Composting of Organic Residues. **Archives de Zootecnia**, v. 58, p. 59–85, 2009.
- ZUCCONI, F., DE BERTOLD, M. Compost specifications for the production and characterization of compost from municipal solid waste. In: de BERTOLDI, M., FERRANTI, M.P., L'HERMITE, P.L., ZUCCONI, F. (Eds.), **Compost: Production, Quality and Use**. Elsevier, London, UK, p. 30–50.1987