

ANARELLY COSTA ALVARENGA

**FITORREMEDIAÇÃO DE METAIS PESADOS E
CLOROBENZENOS EM LODO DE ESGOTO CULTIVADO
COM *Pennisetum purpureum*.**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Produção Vegetal do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Produção Vegetal.

Área de concentração: Produção Vegetal

Orientador: Prof. Regynaldo Arruda Sampaio
Coorientadora: Profa. Gevany Paulino de Pinho

Montes Claros
2015

A473f Alvarenga, Anarely Costa.
2015

Fitorremediação de metais pesados e clorobenzenos em lodo de esgoto cultivado com *Pennisetum purpureum* / Anarely Costa Alvarenga. Montes Claros, MG: ICA/ UFMG, 2015.

96 f.: il.

Dissertação (mestrado) - Área de concentração em Produção Vegetal, Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Agrárias.

Orientador: Prof. Regynaldo Arruda Sampaio.

Banca examinadora: Regynaldo Arruda Sampaio, Leonardo David Tuffi Santos, Charles Martins Aguilár.

Inclui bibliografia: f. 83-96.

1. Lodo de Esgoto. 2. Metais pesados. 3. Orgânicos persistentes. I. Sampaio, Regynaldo Arruda. II. Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Agrárias. III. Título.

CDU: 628.3

ELABORADA PELA BIBLIOTECA COMUNITÁRIA UNIVERSITÁRIA DO
ICA/UFMG

ANARELLY COSTA ALVARENGA

FITORREMEDIAÇÃO DE METAIS PESADOS E CLOROBENZENOS EM
LODO DE ESGOTO CULTIVADO COM *Pennisetum purpureum*.

Prof. Dr. Reginaldo Arruda Sampaio
(Orientador – ICA/UFMG)

Aprovada em 21 de fevereiro de 2015.

Montes Claros
2015

DEDICATÓRIA

A Deus, por ter - me dado a graça de concluir este trabalho. "Porque dele e por ele, e para ele, são todas as coisas; glória, pois a ele eternamente" (Romanos 11:36).

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, por guiar, iluminar meus passos e me dar força em todos os momentos difíceis desta caminhada.

Aos meus pais, Maria e Idemar, ao meu irmão, Charles Bruno, à minha cunhada, Luana, e aos meus sobrinhos Lara e Yan. À Paula Daiana, minha irmãzinha de coração, por todo apoio, conselho nas horas difíceis. Família, base da minha vida, muito obrigada pelo apoio e carinho em todos os momentos.

Ao orientador, Prof. Regynaldo Arruda Sampaio, pela orientação, pelo incentivo, dedicação e, principalmente, pela confiança. Um exemplo de profissionalismo, o qual vou seguir. Meus sinceros agradecimentos.

Ao Prof. Igo Lepsch, pela coorientação, conselhos, críticas, incentivos, colaborações nos momentos difíceis e, principalmente, pela amizade.

A Profa. Gevany Paulino pela coorientação, incentivos e conhecimentos repassados durante todo o trabalho.

Ao Prof. Flaviano Silvério pelos incentivos e conhecimentos repassados durante todo o trabalho.

Aos Profs. Leonardo Tuffi e Charles Aguilar pelos conhecimentos repassados e contribuições de grande relevância para melhoria do trabalho.

À servidora Ane Cacique, um exemplo de profissionalismo, muito obrigada pela ajuda nos experimentos, ensinamentos e amizade. Ao Márcio Neves e sua família, pela tamanha amizade, conselhos e ajuda nas soluções dos problemas. Ao Senhor Darci e toda sua equipe, sempre dispostos a ajudarem.

Ao Paulo Henrique, por ter - me ajudado em todas as etapas deste trabalho. Muito obrigada pela tamanha amizade, pela preocupação e por sempre me ouvir.

Aos amigos que participaram da realização do trabalho: Agda, Marcos, Emanuelle, Bruno, Fernanda, Daniela Freitas, especialmente, Mário Henrique, Izabelle, Igor Geraldo, Maria da Piedade e Isabella Thais. Vocês foram verdadeiros anjos enviados por Deus para me auxiliar na execução deste trabalho. Sem vocês, eu não chegaria até aqui.

Aos amigos do Grupo de Pesquisa em Agroquímica, obrigada pela ajuda nos experimentos, ensinamentos e pela convivência amigável. Em especial: Ana Luiza, Paula Wellen, Mariana Maia, Tatiane, Naruna, Alisson, Adriana, Taynan, Erica, Christielly, Polyana, Ludmara, Rizia e Natanny.

Às minhas irmãs de República, Jessika e Débora, especialmente a Ionara, por tamanha amizade, companheirismo, incentivo e por cada dia estar me ensinando que nada acontece por acaso e, sim, pela vontade de Deus. Aos nossos agregados oficiais Jéssica e Levi.

Aos meus amigos do mestrado: Dayana, Diemesson, Sandra, Gustavo, Juliana, Leandro e Julian. Obrigada por terem compartilhado ensinamentos, angústias e alegrias.

À Ariadna Faria pela amizade, e sua família, especialmente à Dona Carmen e Senhor Hermes por todo carinho e por me considerarem como uma filha.

À Universidade Federal de Minas Gerais e ao Instituto de Ciências Agrárias a oportunidade de estudar.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsas de estudo e à COPASA (Companhia de Saneamento de Minas Gerais) pela disponibilização do lodo de esgoto.

Muito obrigada!

RESUMO

Uma das grandes limitações do uso agrícola do lodo de esgoto é a presença de poluentes, os quais podem afetar o meio ambiente e a saúde dos seres vivos. Portanto, esforços devem ser envidados no sentido de se desenvolver técnicas eficientes para a redução destes contaminantes no resíduo, principalmente aquelas relacionadas a processos de fitorremediação, que são de baixo custo e de fácil aplicação. Objetivou-se neste trabalho avaliar o efeito do cultivo em lodo de esgoto sobre as concentrações de metais pesados e de clorobenzenos 1,4-CB e 1,3,5-CB, visando à utilização segura deste resíduo na agricultura. O experimento foi realizado em casa de vegetação do ICA/UFMG, durante 150 dias, utilizando o delineamento em blocos casualizados. Os tratamentos, em 5 repetições, corresponderam a 5 períodos do cultivo de *Pennisetum purpureum* Schum. em parcelas de lodo de esgoto (30; 60; 90; 120 e 150 dias, a partir do plantio de estacas) e 2 testemunhas (parcelas de lodo não cultivado e plantio da gramínea em solo). Aos 150 dias, as gramíneas cultivadas em solo apresentaram produção de massa seca total 1,5 vezes maiores do que as plantas crescidas no resíduo. Nos tecidos orgânicos da gramínea foram detectados apenas o As, Cu e Zn, porém só os dois últimos elementos estavam presentes na composição dos fitólitos. O sequestro de Zn e Cu em fitólitos é de elevada relevância, pois pode estar relacionado a não detecção de efeitos fitotóxicos desses metais sobre a gramínea. Além disso, a estabilidade química apresentada por essas estruturas silicosas garante a retirada permanente desses elementos da cadeia trófica. Apesar da gramínea em estudo não ter se enquadrado nos critérios de planta hiperacumuladora, a alta produção de biomassa e de fitólitos a potencializa para ser usada em sistemas de cultivo em lodo de esgoto. Durante o monitoramento dos clorobenzenos observou-se que, aos 30 dias de cultivo, as parcelas de lodo de esgoto apresentaram elevações nos teores de 1,4-CB e 1,3,5-CB da ordem de 15,5 e 8,36 vezes, respectivamente, em relação aos teores encontrados no lodo de esgoto antes do cultivo. Aos 150 dias não foram observadas diferenças significativas entre as concentrações de 1,4-CB da testemunha (sem cultivo) e o tratamento com cultivo em lodo nas camadas avaliadas. Por outro lado, a testemunha, nas camadas de 0-10 e 10-20 cm, apresentou maiores concentrações de 1,3,5-CB, quando comparada as mesmas profundidades do lodo de esgoto cultivado. A permanência dos clorobenzenos ao longo do tempo pode estar relacionada à estrutura química do contaminante, a qual apresenta características recalcitrantes à decomposição. Porém, no lodo cultivado, na camada de 10-20 cm, houve decréscimo das concentrações de 1,4-CB, enquanto, na profundidade de 20-30 cm, tanto as concentrações de 1,4-CB quanto de 1,3,5-CB diminuíram. As reduções observadas podem ser resultado das interações mutualísticas entre microrganismos decompositores e raízes de *P. purpureum*, o que favorece a decomposição.

Palavras-chaves: Biossólido. Capim-elefante. Orgânicos persistentes. Poluição do solo.

ABSTRACT

A major limitation of sewage sludge agricultural use is the presence of pollutants, which can affect the environment and the health of living beings. Therefore, efforts should be made in order to develop efficient techniques to reduce these contaminants in waste, especially those related to phytoremediation processes, which are inexpensive and easy to apply. The objective of this study was to evaluate the effect of cultivation in sewage sludge on heavy metal and chlorobenzenes 1,4-CB and 1,3,5-CB concentrations, seeking the safe use of this waste in agriculture. The experiment was conducted at the ICA/UFMG greenhouse, during 150 days, using a randomized block design. The treatments, 5 replicates, corresponded to 5 periods of *Pennisetum purpureum* Schum. cultivation in sewage sludge portions (30, 60, 90, 120 and 150 days from planting cuttings) and two controls (sludge uncultivated plots and planting of grass on the ground). After 150 days the grasses grown in soil showed the total dry mass of 1.5 times that of plants grown in the residue. In the sewage sludge and grassy organic tissues were only detected As, Cu and Zn, but only the last two components were present in the composition of phytolith. The kidnapping of Zn and Cu in phytoliths is highly relevant because it may be related to failure to detect phytotoxic effects of these metals on the grass. In addition, the chemical stability presented by these siliceous structures guarantees the permanent removal of these elements of the food chain. Although, the grass under study have not framed in hyperaccumulator plant criteria, the high biomass production and phytoliths the leverages for use in cultivation in sewage sludge systems. During the monitoring of chlorobenzenes was observed that after 30 days of cultivation the sewage sludge plots showed increases in levels of 1,4-CB and 1,3,5-CB on the order of 15.5 and 8.36 times, respectively, the contents found in the sewage sludge before the start of cultivation. After 150 days there were no significant differences between the concentrations of 1,4-CB control (not cultivated) and treatment with the plant grown in sewage sludge. On the other hand, the control, at 0-10 and 10-20 cm, showed higher concentrations of 1,3,5-CB, compared to the same depths grown sewage sludge. The permanence of chlorobenzenes over time may be related to contaminant chemical structure, which has characteristics recalcitrant to decomposition. However, the sludge grown in 10-20 cm depth, there was a decrease in the concentrations of 1,4-CB, while at a depth of 20-30 cm, both concentrations of 1,4-CB and 1,3,5-CB decreased. The observed reductions may be the result of interactions between mutualistic decomposing microorganisms and the roots of *P. purpureum*, which promotes decomposition.

Keywords: Biosolids. Elephant grass. Phytoremediation.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CB - Clorobenzenos

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente

COPASA - Companhia de Saneamento de Minas Gerais

ICA - Instituto de Ciências Agrárias

ETEs - Estação de Tratamento de Esgoto

L.E – Lodo de esgoto

MS – Massa Seca

T.O – Tecidos orgânicos

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO 2 – FITORREMEDIAÇÃO DE LODO DE ESGOTO POR MEIO DO SEQUESTRO DE METAIS PESADOS NOS TECIDOS ORGÂNICOS E EM SÍLICO-FITÓLITOS DE *Pennisetum purpureum* Schum.

| | |
|--|----|
| Figura–1 Representação da distribuição das parcelas..... | 30 |
| Figura–2 Unidade experimental com plantio de gemas de <i>Pennisetum purpureum</i> | 31 |
| Figura–3 Concentração de As, Cu e Zn em lodo de esgoto em função do período de cultivo de <i>P. purpureum</i> | 40 |
| Figura–4 Comparação entre perfilhamento de <i>P. purpureum</i> cultivado em solo e lodo de esgoto..... | 43 |
| Figura–5 Equações de Regressão referentes à produção de massa seca (MS) de <i>P. purpureum</i> cultivado em lodo de esgoto em diferentes períodos..... | 44 |
| Figura–6 Equações de regressão relacionando a concentração de fitólitos de <i>P. purpureum</i> cultivado em lodo de esgoto em diferentes períodos..... | 47 |
| Figura–7 Relações entre a concentração e conteúdo de As nos tecidos orgânicos de <i>P. purpureum</i> cultivado em lodo de esgoto em diferentes períodos..... | 50 |
| Figura–8 Equações de regressão referentes à concentração e conteúdo de Cu nos tecidos orgânicos de <i>P. purpureum</i> cultivado em lodo de esgoto em diferentes períodos..... | 55 |
| Figura–9 Equações de regressão referentes à concentração e conteúdo de Cu em fitólitos de <i>P. purpureum</i> cultivado em lodo de esgoto em diferentes períodos..... | 57 |
| Figura–10 Equações de regressão referentes ao conteúdo total e à percentagem de Cu em fitólitos de <i>P. purpureum</i> cultivado em lodo de esgoto em diferentes períodos..... | 58 |
| Figura–11 Equações de regressão referentes às concentrações e conteúdos de Zn nos tecidos orgânicos de <i>P. purpureum</i> cultivados em lodo de esgoto em diferentes períodos..... | 62 |
| Figura–12 Equações de regressão referentes às concentrações e aos conteúdos de Zn em fitólitos de <i>P. purpureum</i> cultivados em lodo de esgoto em diferentes períodos..... | 64 |
| Figura–13 Equações de regressão referentes aos conteúdos totais de Zn em <i>P. purpureum</i> cultivado em lodo de esgoto em diferentes períodos..... | 65 |
| Figura–14 Percentagem de Zn sequestrado em fitólitos de <i>P. purpureum</i> cultivado em lodo de esgoto em diferentes períodos..... | 66 |

CAPÍTULO 3 - FITORREMEDIAÇÃO DE 1,4-CB E 1,3,5-CB EM LODO DE ESGOTO CULTIVADO COM *Pennisetum purpureum* Schum. EM DIFERENTES PERÍODOS

Figura-1 Equações de regressão relacionados à concentração de 1,4-CB em lodo de esgoto com diferentes períodos de cultivo de *P. purpureum*.....80

Figura-2 Equações de regressão relacionados à concentração de 1,3,5-CB em lodo de esgoto com diferentes períodos de cultivo de *P. purpureum*.....81

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2 – FITORREMEDIAÇÃO DE LODO DE ESGOTO POR MEIO DO SEQUESTRO DE METAIS PESADOS NOS TECIDOS ORGÂNICOS E EM SÍLICO-FITÓLITOS DE *Pennisetum purpureum* Schum.

Tabela-1 Concentração inicial de metais pesados no lodo de esgoto e no solo.35

Tabela-2 Concentração de As, Cu e Zn em diferentes camadas de solo e lodo de esgoto nos tratamentos38

Tabela-3 Concentração de As, Cu e Zn em solo e Lodo de esgoto em função dos tratamentos.....39

Tabela-4 Produção de massa seca de *P. purpureum* cultivado em solo e lodo de esgoto em função dos tratamentos42

Tabela-5 Concentração de fitólitos em *P. purpureum* em função dos tratamentos.....46

Tabela-6 Concentração e conteúdo de As em *P. purpureum* em função dos tratamentos.....49

Tabela-7 Concentração e conteúdo de Cu na massa seca e em fitólitos de *P. purpureum* em função dos tratamentos53

Tabela-8 Concentração e conteúdo de Zn na massa seca e em Fitólitos de *P. purpureum* em função dos tratamentos.....61

CAPÍTULO 3 - FITORREMEDIAÇÃO DE 1,4-CB E 1,3,5-CB EM LODO DE ESGOTO CULTIVADO COM *Pennisetum purpureum* Schum. EM DIFERENTES PERÍODOS

Tabela-1 Concentração de 1,4-CB e 1,3,5-CB em lodo de esgoto sem e com cultivo *P. purpureum*76

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| CAPÍTULO 1 – REFERENCIAL TEÓRICO | 13 |
| 1 INTRODUÇÃO | 13 |
| 2 REVISÃO DE LITERATURA | 14 |
| 2.1 Investimentos em saneamento | 14 |
| 2.2 Disposição final do lodo em sistemas agrícolas tropicais | 16 |
| 2.3 Potências Contaminantes que podem ser encontradas no lodo de esgoto | 17 |
| 2.3.1 Metais pesados | 18 |
| 2.3.2 Orgânicos persistentes..... | 20 |
| 2.4 Processo de fitorremediação..... | 21 |
| 2.4.1 Critérios para escolha de uma espécie com potencial fitorremediador .. | 22 |
| 2.4.2 <i>Pennisetum purpureum</i> Shum..... | 23 |
| 2.5 Fitólitos | 23 |
| 3 Considerações finais | 24 |
| 4 Objetivos..... | 25 |
| 4.1 Objetivo geral | 25 |
| 4.2 Objetivos específicos | 25 |
| | |
| CAPÍTULO 2 - FITORREMEDIAÇÃO DE METAIS PESADOS EM LODO DE ESGOTO POR MEIO DO SEQUESTRO NOS TECIDOS ORGÂNICOS E EM FITÓLITOS DE <i>PENNISETUM PURPUREUM</i> | |
| Resumo | 26 |
| Abstract | 27 |
| 1 INTRODUÇÃO | 28 |
| 2 MATERIAL E MÉTODOS..... | 29 |
| 2.1 Plantio de <i>P. purpureum</i> em parcelas de..... | 29 |
| 2.2 Tratos culturais | 32 |
| 2.3 Coletas das amostras..... | 32 |
| 2.4 Extração de fitólitos de <i>P. purpureum</i> Shum..... | 33 |
| 2.5 Análises químicas dos metais pesados em solo, lodo de esgoto, tecidos orgânicos e fitólitos de <i>P. purpureum</i> Shum | 33 |
| 2.5.1 Mensuração da concentração de metais pesados nas diferentes amostras..... | 34 |
| 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 34 |
| 3.1 Elementos químicos quantificáveis no solo e lodo de esgoto..... | 34 |
| 3.2 Processo inicial de cultivo | 35 |
| 3.3 Comportamento químico de As, Cu e Zn em lodo de esgoto em diferentes períodos de crescimento de <i>P. purpureum</i> | 36 |
| 3.3.1 Comportamento químico de As, Cu e Zn em lodo de esgoto cultivado com <i>P. purpureum</i> Shum | 39 |
| 3.4 Produção de biomassa de <i>P. purpureum</i> Shum. cultivado em solo e lodo de esgoto..... | 41 |

| | |
|--|----|
| 3.4.1 Produção de biomassa pelo <i>P. purpureum</i> cultivado em lodo de esgoto em diferentes períodos..... | 43 |
| 3.5 Concentração de fitólitos em <i>P. purpureum</i> Shum cultivado em solo e lodo de esgoto..... | 45 |
| 3.5.1 Concentração de fitólitos em <i>P. purpureum</i> cultivado em lodo de esgoto em diferentes períodos..... | 46 |
| 3.6 Elementos químicos quantificados na planta..... | 47 |
| 3.6.1 Concentração e conteúdo de As em <i>P. purpureum</i> cultivado em solo e lodo de esgoto..... | 48 |
| 3.6.1.1 Concentração e Conteúdo de As em <i>P. purpureum</i> cultivado em lodo de esgoto em diferentes períodos..... | 49 |
| 3.6.2 Concentração e Conteúdo de Cu em <i>P. purpureum</i> cultivado em solo e lodo de esgoto..... | 51 |
| 3.6.2.1 Concentração e Conteúdo de Cu em <i>P. purpureum</i> cultivado L.E em diferentes períodos..... | 54 |
| 3.6.3 Concentração e Conteúdo de Zn em <i>P. purpureum</i> cultivado em solo e lodo de esgoto..... | 59 |
| 3.6.3.1 Concentração e conteúdo de Zn em <i>P. purpureum</i> cultivado em lodo de esgoto em diferentes períodos..... | 61 |
| 4 CONCLUSÕES | 66 |

CAPÍTULO 3 - FITORREMEDIAÇÃO DE 1,4-CB E 1,3,5-CB EM LODO DE ESGOTO CULTIVADO COM *PENNISSETUM PURPUREUM* EM DIFERENTES PERÍODOS

| | |
|--|----|
| Resumo | 67 |
| Abstract | 68 |
| 1 INTRODUÇÃO | 69 |
| 2 MATERIAL E MÉTODOS..... | 70 |
| 2.1 Plantio do <i>Pennisetum purpureum</i> em parcelas de lodo de esgoto | 70 |
| 2.2 Tratos culturais | 71 |
| 2.3 Coletas amostras | 71 |
| 2.4 Extração de 1,4-CB e 1,3,5-CB em lodo de esgoto com e sem cultivo.... | 72 |
| 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 73 |
| 3.1 Alterações químicas e físicas do lodo de esgoto com e sem cultivo | 73 |
| 3.2 Concentração de 1,4-CB e 1,3,5-CB em lodo com e sem cultivo..... | 74 |
| 3.2.1 Concentrações de 1,4-CB e 1,3,5-CB em lodo de esgoto em diferentes períodos..... | 76 |
| CONCLUSÕES | 81 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 83 |

CAPÍTULO 1 REFERENCIAL TEÓRICO

1 INTRODUÇÃO

O crescimento acelerado dos centros urbanos, aliado à forte conscientização ambiental da população e à criação de leis ambientais rigorosas, são os fatores responsáveis pela expansão dos investimentos nos setores de saneamento básico. Neste caso, considerando que a escassez da água potável é um grave problema que afeta os moradores dos centros urbanos, são necessárias construções de novas Estações de Tratamento de Esgotos (ETEs) e melhoria da eficiência daquelas já existentes.

As águas residuárias são conduzidas para as ETEs, onde passam por processos físicos, químicos e biológicos de tratamento, gerando no final água potável e um resíduo denominado de lodo de esgoto. O descarte adequado do lodo é um grande problema enfrentado pelas centrais de tratamento. A disposição em aterros sanitários, a incineração e a utilização na agricultura são apontadas como possíveis alternativas. No entanto, as duas primeiras técnicas citadas são ambientalmente indesejáveis. A última possibilidade é dotada de grande relevância em função das características químicas e físicas desse material, rico em nutrientes para as plantas, além de ser uma excelente fonte de matéria orgânica. Ao ser adicionado ao solo, provoca melhorias na fertilidade, na retenção de água e na agregação das partículas, resultando em aumento de produtividade das culturas.

Em solos tropicais, há uma rápida decomposição do lodo de esgoto, tornando-se necessária a adição frequente deste resíduo. No entanto, pode apresentar elevada carga de contaminantes, como metais pesados, substâncias orgânicas persistentes e patógenos. Neste contexto, diversas providências devem ser tomadas, tendo em vista a necessidade de torná-lo mais apto à agricultura.

No processo de aproveitamento dos benefícios do uso do lodo de esgoto em sistemas agrícolas tropicais, é preciso identificar os principais contaminantes, presentes neste resíduo e, com base neste estudo, manejá-lo de forma a minimizar os riscos de contaminação ambiental. Deste modo, o

uso do cultivo em lodo de esgoto pode se constituir em uma importante técnica de fitorremediação, com baixo custo e ambientalmente correta para a redução de contaminantes em lodo de esgoto.

Espécies como as gramíneas formam grandes quantidades de sílico-fitolitos em sua biomassa, os quais podem sequestrar metais pesados e, mesmo após a decomposição das plantas ou mesmo a sua digestão pelos animais, permanecem ligados à estrutura destes biominerais, não oferecendo risco ambiental. Além disso, a capacidade fitoestimuladora da planta, principalmente de seu sistema radicular, pode favorecer o crescimento de organismos capazes de promover intensa degradação de substâncias orgânicas indesejáveis.

Desta forma, o principal objetivo da pesquisa foi avaliar o crescimento de *Pennisetum purpureum* Schum. em lodo de esgoto e o seu potencial fitorremediador de metais pesados e de clorobenzenos, com vistas a se obter um lodo de esgoto com melhor qualidade para uso agrícola.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Investimentos em saneamento.

A população da terra deverá atingir 9,1 bilhões de pessoas em 2050 e cerca de três bilhões a mais de pessoas estarão vivendo em estado de extrema pobreza (ONU, 2013). Relatórios da FAO (2009) demonstram que, a cada seis pessoas no mundo, uma passa por restrições alimentares e a cada minuto uma criança morre de desnutrição. Segundo essa entidade, para que todos tenham acesso à alimentação, é preciso aumentar em 70% a produção de alimentos, nos próximos 40 anos, o que levará ao aumento da pressão sobre os recursos naturais e ecossistemas e intensificação da degradação do planeta, causando drásticas mudanças climáticas e catástrofes ambientais. Para que isso não aconteça, é preciso adotar, urgentemente, formas de exploração que sejam sustentáveis.

Além disso, em 2050, 70% da população mundial estarão vivendo nas cidades (ONU, 2013). O crescimento populacional será acompanhado do processo de urbanização, causando expressivo aumento dos resíduos

gerados pelas cidades, cujos descartes inadequados provocarão sérios problemas sanitários e ambientais, além da criação de um ambiente propício para o desenvolvimento de parasitas e vetores de doenças, contaminações dos lençóis freáticos e liberação de gases poluentes. A matéria orgânica, oriunda dos esgotos domésticos e águas residuárias de indústrias, provocarão cada vez mais contaminações dos corpos hídricos que abastecem as cidades (PEDROZA *et al.*, 2006; HECK *et al.*, 2013).

A eminência de grandes crises ambientais, como a escassez de água potável em futuro próximo, que ameaçam a vida na Terra, fez com que a população aumentasse a sua conscientização ambiental (MARTINS *et al.*, 2003). Pressionados por movimentos ambientalistas, os governos têm direcionado recursos para investimentos em saneamento. Estações de tratamento de Esgoto (ETEs) estão sendo construídas em todo mundo (HE *et al.*, 2014). Na região do Norte de Minas, mais de 40 ETEs já foram ou estão sendo implantadas pelos municípios, podendo-se citar dentre elas a ETE de Montes Claros. A construção das ETEs é uma importante medida para evitar os impactos ambientais causados pelo esgoto (MARTINS *et al.*, 2003), o qual é coletado nas redes de saneamento e direcionado para estações de tratamento, passando por um pré-tratamento para retirada do material grosseiro. Depois, segue para reatores, onde ocorrerá o processo de biodegradação, no qual microrganismos, principalmente bactérias e fungos, quebram as moléculas orgânicas e as aproveita como fonte de energia e nutrientes para seu desenvolvimento. Quando morrem, esses microrganismos passam a constituir a matéria orgânica do lodo. Após esse processo, o esgoto é separado por decantação em duas fases: líquida, que é denominada de efluente líquido, e a sólida, denominada de lodo de esgoto (SANTOS, 2009).

O funcionamento de novas estações de tratamento de esgotos acarreta no aumento do volume de lodo de esgoto gerado. A sua disposição de forma ambientalmente correta e economicamente viável é um dos grandes desafios enfrentados pelas ETEs, uma vez que o acúmulo do lodo de esgoto, a céu aberto nas ETEs, pode causar sérios impactos ambientais e malefícios à saúde dos seres vivos.

As principais alternativas para a disposição final do lodo são: em aterros sanitários, incineração e utilização na agricultura (SONG *et al.*, 2013). O primeiro método tem como inconveniente seu alto custo, podendo representar 50% dos custos operacionais de uma ETE (LOBO *et al.*, 2012). Além disso, a construção de aterros ocupa uma grande área, podendo gerar um grande volume de chorume e gases, em razão do elevado teor de matéria orgânica presente no resíduo (HE *et al.*, 2014). O segundo método tem a desvantagem de produzir liberação de gases tóxicos, durante a queima, além de liberar CO₂ para a atmosfera, o que o torna inviável do ponto de vista ambiental. A última alternativa proposta se destaca, visto que o lodo apresenta, na sua composição, elevadas concentrações de elementos essenciais à nutrição de plantas como N, P, K, S, Ca, Mg, Fe, Cu, Mn e Zn (SINGH; AGRAWAL, 2010), sendo, também, uma excelente fonte de matéria orgânica (SOUZA *et al.*, 2014). Em virtude destas características, a adição do resíduo ao solo promove melhorias de suas propriedades químicas e físicas, o que reflete diretamente no aumento da produtividade.

2.2 Disposição final do lodo de esgoto em sistemas agrícolas tropicais

Para as condições brasileiras, a utilização do lodo de esgoto na agricultura é controlada pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente, seguindo os parâmetros estabelecidos na Resolução CONAMA nº 375, publicada no ano de 2006 (BRASIL, 2006). As informações disponíveis neste documento fornecem parâmetros, para a utilização segura do lodo ou produto derivado, prevenindo possíveis impactos ambientais.

A utilização do lodo de esgoto como fertilizante orgânico é de grande relevância, pois promove o aumento da produtividade das culturas, sem acarretar em acréscimos nos custos de produção. Estudo realizado por Lobo *et al.* (2012), com feijoeiro variedade carioquinha (*Phaseolus vulgaris* L.) em sistema de semeadura direta, no qual foram testados dois tipos de adubação nitrogenada: convencional e adubação nitrogenada proveniente do resíduo, foi constatado que os tratamentos nos quais foi utilizado lodo de esgoto apresentaram número de vagens, rendimento de massa seca, rendimento de

grãos e da massa de 1.000 grãos superior ao que recebeu adubação mineral, considerando a mesma dose de N. Para Vieira *et al.* (2004), o lodo de esgoto em doses adequadas pode substituir a adubação nitrogenada química no cultivo do feijoeiro, principalmente porque, além de ser fonte de nitrogênio, a matéria orgânica presente neste resíduo pode provocar efeitos benéficos aos microrganismos do solo, podendo estimular a nodulação e a fixação simbiótica de N₂ pelas estirpes nativas de rizóbio no feijoeiro. Também, Souza *et al.* (2009) verificaram que, no cultivo de soja cultivar BRS Raimunda, em Latossolo Vermelho, textura argilosa, a adubação com lodo de esgoto pode substituir a adubação convencional. Vaz *et al.* (2002), ao avaliarem o estado nutricional e o crescimento de *Eucalyptus grandis* Hill Ex Maiden em Latossolo Vermelho-Amarelo, textura média, distrófico, fertilizado com lodo de esgoto e adubação mineral, constataram que a aplicação deste resíduo influenciou positivamente na nutrição das plantas, proporcionando produção de madeira semelhante à obtida no tratamento que só recebeu adubação mineral, quando a dose aplicada de lodo de esgoto foi de 10 t ha⁻¹. Observaram, também, que a disponibilidade de nutrientes, provenientes da aplicação de lodo, eleva-se com o tempo, em decorrência da solubilização e mineralização dos componentes do resíduo.

Também, o efeito positivo da aplicação do resíduo na recuperação de um solo degradado foi destacado no trabalho de Sampaio *et al.* (2012), os quais constataram que a adição de 15 a 20 t ha⁻¹ de lodo de esgoto ao solo proporcionou a formação de agregados até 12 meses após a aplicação. Além disso, o teor de água retido no solo saturado e na tensão de -0,006 Mpa, bem como a porosidade do solo, foram aumentados com aplicação de 20 t ha⁻¹ do resíduo, aos seis meses após a sua aplicação.

2.3 Potenciais contaminantes que podem ser encontrados no lodo de esgoto

Embora a utilização agrícola de lodo de esgoto apresente-se como a melhor alternativa para a disposição final deste resíduo, altas concentrações de metais pesados, compostos orgânicos tóxicos e patógenos podem limitar

a sua aplicação. Estes poluentes, em altas concentrações, são agentes de contaminação do solo, dos sistemas aquáticos e da atmosfera, podendo entrar na cadeia alimentar e acumular-se nos organismos vivos (BRASIL, 2006; KAPANEN *et al.*, 2013; SUCHKOVA *et al.*, 2014).

O lodo de esgoto é uma matriz complexa, de composição química variada, onde as concentrações de contaminantes podem mudar de acordo com uma série de fatores: nível de industrialização, tamanho da população, hábitos culturais e alimentares e processo de tratamento do lodo, o que faz com que cada ETE produza um resíduo com características distintas (JONES *et al.*, 2014).

Quando utilizado como fertilizante agrícola, o resíduo deve ter mínimas concentrações dos contaminantes citados acima. Ressalta-se que, em sistemas agrícolas tropicais, ocorre uma rápida decomposição da matéria orgânica, tornando necessária a adição constante deste insumo ao solo, o que aumenta os riscos de contaminação do solo e dos alimentos (NOGUEIRA *et al.*, 2013).

2.3.1 Metais pesados

Ao contrário dos contaminantes orgânicos, os metais pesados não são biodegradáveis, podendo acumular-se no meio ambiente. Quando esses elementos entram na cadeia alimentar, suas concentrações podem aumentar à medida que passam dos níveis tróficos inferiores aos superiores (ALI *et al.*, 2013). Alguns desses compostos, mesmo em baixas concentrações, são capazes de causar distúrbios metabólicos e doenças crônicas em seres humanos (MEMON; SCHRODER, 2009).

A magnitude do impacto está diretamente relacionada à composição do resíduo, à quantidade aplicada, ao tipo de solo, à espécie cultivada e, principalmente, às práticas agrícolas adotadas na área (LATARE *et al.*, 2014). Outro fator importante a ser considerado é a forma química na qual estes contaminantes se encontram, que é, em geral, na forma de óxidos, hidróxidos e silicatos (PATHAK *et al.*, 2009), ou fazendo ligações químicas com a matéria orgânica (CAMPOS, 2010).

Os metais pesados mais facilmente encontrados no lodo de esgoto são o Arsênio (As), o Cádmiio (Cd), o Cromo (Cr), o Cobre (Cu), o Chumbo (Pb), o Níquel (Ni) e o Zinco (Zn) (ALVAREZ *et al.*, 2008). Em geral, no Brasil, os mais detectados em teores elevados são As, Cu e Zn (NOGUEIRA *et al.*, 2013; SOUZA *et al.*, 2014).

O As é um elemento químico de elevada toxicidade (ANDRIANISA *et al.*, 2008). A entrada de As nos sistemas pode se dar de forma natural, pois pode estar presente nas rochas de origem vulcânica, sedimentar e marinhas, ou, por meio das ações antrópicas, como a mineração, atividades industriais, uso de combustíveis fósseis, adubos, herbicidas e inseticidas pesticidas (BATTACHARYA *et al.*, 2007; ZHAO *et al.*, 2009; ZHENG *et al.*, 2011).

A exposição crônica, mesmo em baixas concentrações, pode causar efeitos deletérios aos seres humanos, como problemas neurológicos, lesões na pele, aterosclerose e, em casos mais graves, câncer (WATTS *et al.*, 2010). Estes sintomas podem variar de acordo com a dose e o tempo de exposição, bem como o estado nutricional da população exposta (MARKLEY; HERBERT, 2009). As principais vias de contaminação são por meio do consumo direto da água contaminada e da transferência via água-solo-planta (KHAN *et al.*, 2009).

O Zn é um elemento químico essencial tanto para plantas como animais, pois é requerido para execução das atividades metabólicas e fisiológicas, sendo componente de várias enzimas, as quais podem ter funções estruturais, catalíticas e ativadoras (LEHMANN *et al.*, 2014; ROOHANI *et al.*, 2013). A deficiência afeta o desenvolvimento físico e a reprodução dos seres vivos (ALLOWAY, 2009). No entanto, o excesso de Zn nos organismos vivos pode causar desequilíbrios nutricionais, pois afeta a absorção de outros nutrientes essenciais como o Cu e o Fe, causando distúrbios metabólicos e, por consequência, efeitos toxicológicos (CHERFI *et al.*, 2014). Os sintomas observados em seres humanos são fadigas e tonturas (HESS; SCHMID, 2002). Nas plantas, causa a inibição do crescimento, a clorose foliar e problemas na fotossíntese (CAMBROLLÈ *et al.*, 2012; KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2001; LI *et al.*, 2013). Quando em

excesso nos solos, afeta a atividade dos microrganismos, com efeitos prejudiciais na produtividade das culturas (HASSAN; AARTS, 2011).

O Cu é um micronutriente essencial para a nutrição das plantas, uma vez que, na sua ausência, os vegetais não são capazes de completar o seu ciclo de vida (LI *et al.*, 2014; RADWAN; SALAMA, 2006). No entanto, em elevadas concentrações nas células, passa a ter efeito tóxico, inibindo o crescimento e desenvolvimento dos vegetais (AHSAN *et al.*, 2007; CASPI *et al.*, 1999). É um elemento químico necessário para a nutrição humana, sendo requerido em mínimas concentrações. Quando o Cu se encontra em níveis elevados no corpo humano, passa a ter efeito tóxico, pois há formação de espécies reativas de oxigênio, superóxido, peróxido de hidrogênio e radical hidroxila, os quais causam desordens metabólicas e, em casos graves, câncer (BREWER, 2010).

2.3.2 Orgânicos persistentes

Apesar de todos os benéficos advindos da utilização do lodo de esgoto em sistemas agrícolas, é preciso ter cautela, pois esse resíduo pode apresentar em sua composição altas concentrações de compostos orgânicos persistentes (YU *et al.*, 2011), principalmente, de clorobenzenos (GUERIN, 2008; OONNITTAN *et al.*, 2009). Este fato pode estar relacionado à ampla utilização dos clorobenzenos nos processos agrícolas e industriais (GUERIN *et al.*, 2008). Estes compostos químicos são encontrados na composição de solventes orgânicos, agrotóxicos, fluidos dielétricos, desodorantes e desengordurantes (RAPP, 2001; KAMAREI *et al.*, 2010).

Os clorobenzenos constituem uma classe de compostos químicos aromáticos halogenados de grande periculosidade e persistência no meio ambiente (ZHANG *et al.*, 2011). A persistência é explicada pela conformação química do composto, cujos átomos de cloro, ao se ligarem ao anel benzênico, provocam a estabilização dessa estrutura, dificultando a sua degradação (LUO *et al.*, 2014).

As características químicas e a diversificada utilização dos clorobenzenos são responsáveis pela disseminação destes contaminantes no

meio ambiente, podendo entrar na cadeia alimentar e acumular nos seres vivos, causando inúmeros malefícios, como irritação nos olhos, na pele e no aparelho respiratório, bem como anemia (OLIVER *et al.*, 1982). Em casos mais graves há o comprometimento do sistema nervoso, mutações gênicas e câncer (DJOHAN *et al.*, 2007).

2.4 Processo de fitorremediação

A biorremediação é uma técnica de remediação que consiste na utilização de organismos vivos (microrganismos e plantas) para remover compostos químicos perigosos do meio ambiente (GIANFREDA; RAO, 2004; VANGRONSVELD *et al.*, 2009). Por ser essa uma técnica *in situ* não necessita da remoção do material contaminado para tratamento, evitando gastos com transporte e minimizando os riscos com impactos ambientais (NASCIMENTO; XING, 2006).

Os métodos convencionais de descontaminação de solos incluem incineração, escavação, lavagem e adição de produtos químicos no solo (SHEORAN *et al.*, 2011; WUANA; OKIEMEN, 2011). Todavia, possuem inconvenientes como o alto custo econômico, o grande gasto energético, as mudanças nas propriedades do solo e a perturbação da microbiota (ALI *et al.*, 2012). Comparando-se somente pelo custo, a biorremediação corresponde a 5% do valor desses métodos tradicionais de descontaminação (PRASAD, 2003).

Quando o processo de remediação é realizado por plantas, recebe a denominação de fitorremediação e algumas espécies vegetais têm capacidade de degradar, isolar ou imobilizar poluentes que estão presentes no solo (ALKORTA *et al.*, 2004). As plantas fitorremediadoras retiram contaminantes do sistema sem causar danos ao ambiente, podendo trazer benefícios ao solo, como o aumento do teor de matéria orgânica e da fertilidade (MENCH *et al.*, 2009).

Fernando e Oliveira (2004) ressaltam que essa técnica apresenta grande eficiência e potencialidade econômica e, em áreas contaminadas com metais pesados, pode ocorrer o processo de fitoextração, no qual plantas

com capacidade remediadora absorvem e acumulam estes metais em seus tecidos. Para Susurla *et al.* (2002), estes compostos contaminantes extraídos podem ser fitocompartimentalizados, fitovolatilizados, fitoexsudados ou fitodegradados. Além disso, Huang *et al.* (2005) destacam que essa técnica pode promover a descontaminação total ou parcial de uma área, evitando a dispersão dos poluentes.

Fatores climáticos e ambientais, como variação de temperatura, umidade, chuvas, pH e estrutura do solo, podem afetar a eficiência do processo de fitorremediação (VANGRONSVELD *et al.*, 2009). Contudo, clima quente e úmido com grande biodiversidade favorece a aceleração dos processos biológicos e aumenta a potencialidade para adoção de técnicas de fitorremediação em áreas contaminadas (MARQUES *et al.*, 2011).

2.4.1 Critérios para escolha de uma espécie vegetal com potencial fitorremediador

A escolha da espécie vegetal usada no processo de remediação é um fator de grande relevância, sendo necessário identificar plantas que apresentem bom desenvolvimento em ambientes contaminados, bem como tolerância e adaptação às condições locais de cultivo (ALI *et al.*, 2013; MARQUES *et al.*, 2011). Convém destacar que plantas remediadoras devem apresentar crescimento rápido, grande produção de biomassa, alta resistência às condições adversas, fácil propagação, facilidade de cultivo e colheita, tolerância aos efeitos tóxicos dos metais pesados alvos e sistema radicular amplamente distribuído e muito ramificado (ALI *et al.*, 2013; SIPOS *et al.*, 2013; ZHANG *et al.*, 2010).

Malik *et al.* (2010) relatam as vantagens da utilização de gramíneas em detrimento de arbustos ou árvores. Os autores mencionam que as gramíneas têm como vantagem a sua alta taxa de crescimento, grande produção de biomassa e grande adaptabilidade a estresse ambiental. Além disso, podem ter grande capacidade extratora, conforme exposto por Zhang *et al.* (2010), que afirmam que plantas do gênero *Pennisetum* apresentam grande capacidade de fitoextração de Cd e Zn.

2.4.2 *Pennisetum purpureum* Shum.

A gramínea do gênero *Pennisetum purpureum* é popularmente conhecida como capim elefante. É uma espécie originária da África tropical, tendo sido implantada no Brasil por volta de 1920. Nas últimas duas décadas, ganhou grande notoriedade na pecuária nacional por ser uma forrageira que apresenta excelentes qualidades nutricionais (MOTA *et al.*, 2010). Aliado a essa característica, soma-se a alta rusticidade, elevada eficiência fotossintética, fácil cultivo, crescimento rápido e elevada produção de biomassa na parte aérea (FONTOURA *et al.*, 2014). Estes atributos garantem a elevada adaptação da forrageira em diferentes tipos de manejo, possibilitando acréscimo na produção pecuária, sem aumentar a área explorada.

A elevada produção de massa seca favorece a utilização do capim elefante como planta fitorremediadora de metais pesados em sistemas contaminados, quando comparadas as outras espécies fitorremediadoras. De acordo com Zhang *et al.* (2010), a maioria das espécies vegetais com potencial fitorremediador relatadas na literatura apresentam baixa produção de biomassa, o que reflete diretamente na quantidade de contaminante extraído.

2.5 Fitólitos

O silício é um dos elementos químicos mais abundantes nos solos tropicais e, embora não seja um elemento essencial, a sua absorção resulta em efeitos benéficos, para algumas espécies de plantas, como: aumento da eficiência fotossintética, melhoria da arquitetura da planta, aumento da resistência a doenças e pragas e diminuição da toxidez causada por excesso de Al, Fe e Mn (CARVALHO *et al.*, 2009).

Os vegetais absorvem a sílica quando ela se encontra na forma de ácido silícico monomérico. Logo após, acontece o processo de polimerização, no qual o ácido é transformado em gel e opala, sendo depositado nos tecidos dos vegetais como fitólitos (HODSON *et al.*, 2005; LEPSCH; PAULA, 2006;

PIPERNO, 2006). Estes agregados de silício, quando presente nas células dos vegetais, têm a função de proteção contra estresses bióticos e abióticos (AGUIRRE *et al.*, 2007; FAUTEUX *et al.*, 2005).

Pesquisas demonstram que os fitólitos podem desempenhar importante papel nas atividades agrícolas e na preservação do planeta, diminuindo os problemas de intoxicação de plantas em solos contaminados com metais pesados (BUJÁN, 2013) e sequestrando carbono, o que contribui na mitigação dos gases de efeito estufa (CHAN *et al.*, 2008).

A biomineralização da sílica é, na maioria das vezes, irreversível e, após a senescência e decomposição do material vegetal, os fitólitos são liberados no solo, apresentando grande resistência à decomposição e permanecendo estáveis por milhares de anos (CAO *et al.*, 2006; EPSTEIN, 1994; PARR; SULLIVAN, 2005; WILDING; DREES, 1971). Deste modo, apresentam grande potencial de durabilidade e persistência no meio ambiente, mesmo quando submetido às intempéries climáticas (PARR, 2006; PIPERNO, 2006). A produção de fitólitos está diretamente relacionada à espécie vegetal e disponibilidade de ácido silícico na solução do solo (HENRIET *et al.*, 2008; ZUCOL, 2001). Neste contexto, Buján (2013) constatou maiores quantidades de fitólitos nas folhas da planta *Erica andevalensis* quando se desenvolveram em solos com alto teor de Si do que em solos com baixo teor de Si.

Convém destacar que a família *Gramineae* apresenta grande capacidade de acumular sílica, formando quantidades substanciais de fitólitos em suas cascas, talos e folhas (HODSON *et al.*, 2005). Segundo Lepsch e Paula (2006), a sílica amorfa nas gramíneas desempenha importantes funções, como a de promoção do crescimento da planta, reforço a rigidez e resistência às pragas.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para a utilização ecologicamente correta e economicamente sustentável do lodo de esgoto em sistemas agrícolas tropicais é preciso que

o mesmo apresente baixas concentrações de contaminantes. Neste caso, são necessárias medidas que atenuem as contaminações tanto das águas residuárias que chegam às ETEs quanto do lodo gerado após o tratamento do esgoto. No que tange às providências a serem tomadas em relação ao lodo de esgoto, cabem esforços no sentido de se desenvolver técnicas inovadoras, eficientes e de baixo custo para a redução dos teores dos elementos e compostos nocivos no resíduo. Assim, será possível obter um fertilizante orgânico com potencial de uso na agricultura e com baixo risco de causar danos ao meio ambiente.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Avaliar a fitorremediação de metais pesados e clorobenzenos em lodo de esgoto cultivado com *Pennisetum purpureum* em função do período de cultivo.

4.2 Objetivos específicos

- Avaliar e quantificar a produção de massa seca da planta em diferentes períodos de crescimento.
- Avaliar e quantificar a produção de sílico-fitólitos na planta em diferentes períodos de crescimento.
- Avaliar e quantificar os teores de metais pesados no tecido orgânico e nos sílico-fitólitos da planta em diferentes períodos de crescimento.
- Avaliar e quantificar os teores de metais pesados e de clorobenzenos (1,4-CB e 1,3,5-CB) no lodo de esgoto em diferentes períodos de crescimento.

CAPÍTULO 2 FITORREMEDIAÇÃO DE METAIS PESADOS EM LODO DE ESGOTO POR MEIO DO SEQUESTRO NOS TECIDOS ORGÂNICOS E EM FITÓLITOS DE *Pennisetum purpureum* Schum.

RESUMO

Uma das grandes limitações do uso agrícola do lodo de esgoto é a presença de metais pesados, os quais podem afetar o meio ambiente. Deste modo, é necessário o desenvolvimento de técnicas eficientes para a redução destes contaminantes no resíduo, principalmente, aquelas relacionadas a processos de fitorremediação, que são de baixo custo e de fácil aplicação. Diante do exposto, objetivou-se neste trabalho avaliar o efeito do cultivo de *P. purpureum* em lodo de esgoto, com o intuito de reduzir as concentrações de As, Cu e Zn, visando à sua utilização segura na agricultura. O experimento foi realizado, em casa de vegetação do ICA/UFMG, durante 150 dias, utilizando o delineamento em blocos casualizados. Os tratamentos, em 5 repetições, corresponderam a 5 períodos do cultivo de *P. purpureum* em parcelas de lodo de esgoto (30; 60; 90; 120 e 150 dias a partir do plantio de estacas) e 2 testemunhas (parcelas de lodo não cultivado e plantio da gramínea em solo). Aos 150 dias, as gramíneas cultivadas em solo apresentaram produção de massa seca total 1,5 vezes maior que as plantas que se desenvolveram no resíduo. O *P. purpureum* apresentou boa capacidade de produção de fitólitos, sendo o processo diretamente relacionado ao estágio vegetativo da planta. Nos tecidos orgânicos da gramínea, foram detectadas quantidades consideráveis de As, Cu e Zn, porém só os dois últimos elementos estavam presentes na composição dos corpos silicosos. A inclusão desses metais na estrutura desses biominerais está diretamente relacionada à concentração e biodisponibilidade destes elementos no substrato e à idade da planta. O sequestro de Zn e Cu em fitólitos é de grande relevância, pois pode explicar a não detecção de efeitos fitotóxicos destes metais sobre a gramínea, além de excluí-los da teia trófica. A alta produção de biomassa e de fitólitos por *P. purpureum* o potencializa para uso em sistemas de cultivo em lodo de esgoto.

Palavras-Chave: Biominerals. Biosolids. Environmental pollution.

**CHAPTER 2 PHYTOREMEDIATION OF HEAVY METAL IN SEWAGE
SLUDGE THROUGH KIDNAPPING IN THE TISSUE
ORGANIC AND SILICO-PHYTOLITHS OF *Pennisetum
purpureum* Schum.**

ABSTRACT

One of the major limitations of sewage sludge agricultural use is the presence of heavy metals, which can affect the environment. Thus, the development of efficient techniques for reduction of these contaminants is required at residue, especially those related to phytoremediation process that is inexpensive and easy to apply. Given the above, the objective of this study was to evaluate the effect of *P. purpureum* cultivation in sewage sludge in order to reduce the heavy metals concentrations, with a view to their safe use in agriculture. The experiment was conducted in the ICA/UFMG greenhouse 150 days, using a randomized block design. The treatments, with 5 replicates, corresponding to 5 periods grown of *P. purpureum* in sewage sludge portions (30, 60, 90, 120 and 150 days after planting cuttings) and two controls (sludge plots uncultivated and planting of grass on the ground). At 150 days, the grass grown in soil had total dry matter production 1.5 times greater than plants that evolved in the residue. The *P. purpureum* showed good phytoliths production capacity, and the process is directly related to the vegetative stage of the plant. In the organic grass tissue was found considerable amounts of As, Cu and Zn, but only the last two elements were present in the composition of phytoliths. The inclusion of these metals in the structure of these biominerals is directly related to the concentration and bioavailability of these elements on the substrate and the age of the plant. The kidnapping of Zn and Cu in phytoliths is very important because it can explain the failure to detect phytotoxic effects of these metals on the grassy, and exclude them from the food web. The high biomass and phytoliths production by *P. purpureum* potentiates it for use in cultivation in sewage sludge systems.

Keywords: Biominerals. Biosolids. Environmental pollution.

1 INTRODUÇÃO

A descontaminação dos recursos hídricos é uma preocupação mundial, o que tem impulsionado a criação de leis ambientais rigorosas e investimentos em saneamento básico. O tratamento de esgotos domésticos e industriais é um dos pontos-chaves para a manutenção da qualidade da água, o que tem intensificado a implantação de Estações de Tratamento de Esgotos (ETEs) em todo o mundo. Contudo, o processo de tratamento das águas servidas provoca o aumento da geração de lodo de esgoto, sendo a destinação adequada deste resíduo outro grande desafio a ser enfrentado.

A deposição em aterros sanitários, a incineração e a utilização como fertilizantes na agricultura são apontadas como alternativas para a destinação do lodo de esgoto (HE *et al.*, 2014). Todavia, o uso agrícola destaca-se como sendo a melhor alternativa, dada a riqueza do lodo de esgoto em matéria orgânica e nutriente para as plantas (SEGGIANI *et al.*, 2012; TIAN *et al.*, 2013). O lodo de esgoto, quando adicionado ao solo, melhora as propriedades físicas e químicas (MENDEZ *et al.*, 2012), reduzindo a necessidade do uso de fertilizantes sintéticos, o que é de grande importância econômica e ambiental.

Em sistemas agrícolas tropicais, ocorre uma rápida decomposição do lodo de esgoto, tornando-se necessária a aplicação constante deste resíduo para suprir as necessidades minerais dos cultivos. No entanto, a presença de organismos patogênicos, compostos orgânicos tóxicos e metais pesados podem limitar a sua utilização na agricultura (SUCHKOVA *et al.*, 2014). Quando em altas concentrações, causa sérios problemas ambientais, como a contaminação da água e do solo, e danos às culturas, podendo acumular-se ao longo da cadeia alimentar (LATARE *et al.*, 2014).

Para aproveitamento de todos os benefícios oferecidos pela utilização de lodo de esgoto em sistemas agrícolas tropicais, é preciso retirar ou diminuir a carga de contaminantes neste resíduo (SOUZA *et al.*, 2014). Neste caso, torna-se imprescindível o desenvolvimento de técnicas de baixo custo e ambientalmente sustentáveis que promovam a retirada total ou parcial dos metais pesados presentes no resíduo.

Diante do exposto, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o potencial de fitorremediação de metais pesados em lodo de esgoto, por meio do sequestro de metais pesados nos tecidos orgânicos e em sílico-fitólitos de *Pennisetum purpureum* Schum.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Plantio do *Pennisetum purpureum* Schum. em parcelas de lodo de esgoto

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, na fazenda experimental Professor Hamilton de Abreu Navarro, no Instituto de Ciências Agrárias ICA/UFMG, no período de novembro de 2013 a março de 2014. O delineamento utilizado foi em blocos casualizados, com 7 tratamentos, os quais corresponderam a 5 períodos de cultivo de *Pennisetum purpureum* Schum. do grupo Merker em lodo de esgoto (30; 60; 90; 120 e 150 dias, a partir do plantio das estacas) e 2 tratamentos adicionais (parcelas com lodo sem cultivo e parcelas com solo cultivado com a gramínea). Cada tratamento teve cinco repetições, totalizando 35 unidades experimentais. Os volumes de lodo de esgoto ou de solo foram contidos lateralmente por lâminas plásticas, compreendendo as seguintes dimensões: 1,0 m de comprimento x 1,0 m de largura x 0,5 m de altura, sendo necessários 0,5 m³ de solo ou lodo de esgoto para o preenchimento (FIGURA 1).



Fonte: Arquivo pessoal.

Figura 1- Representação da distribuição das parcelas

O material de solo utilizado no experimento foi coletado em área de Argissolo Vermelho-Amarelo, localizada no Campus da UFMG, em Montes Claros, na camada de 0 a 20 cm, possuindo os seguintes atributos: textura franco siltosa, matéria orgânica = 5,22 dag kg⁻¹, pH em água = 6,1; P-Mehlich1 = 6,4 mg dm⁻³; P-remanescente = 16,7 mg L⁻¹; K = 320 mg dm⁻³; Ca = 4,8 cmol_c dm⁻³; Mg = 1,60 cmol_c dm⁻³; Al = 0,10 cmol_c dm⁻³; H+Al = 2,92 cmol_c dm⁻³; Soma de bases = 7,22 cmol_c dm⁻³; CTC efetiva = 7,32 cmol_c dm⁻³; m = 1,36%; CTC total = 10,14 cmol_c dm⁻³; V = 71,2%, Si (solúvel) = 8,7 mg dm⁻³.

O lodo de esgoto utilizado foi coletado na Estação de Tratamento de Montes Claros (ETE Vieira), durante o mês de setembro de 2013, apresentando os seguintes atributos: matéria orgânica = 42,5 dag kg⁻¹, pH em água = 6,2; P₂O₅ (total) = 25 g dm⁻³; K₂O (total) = 2,9 mg dm⁻³; Ca (total) = 75 g dm⁻³; Mg (total) = 26 g dm⁻³; S = 10,1 g dm⁻³; Si (solúvel) = 14,2 mg dm⁻³.

Na unidade de tratamento, o lodo é processado da seguinte forma: o esgoto que chega à estação é direcionado para os biofiltros percolares,

passando pelo processo de decomposição bacteriana, no qual há redução de 90% da matéria orgânica. O líquido proveniente do processo anteriormente citado, apresentando 3% de sólidos totais, segue para centrifugação, atingindo 25% de sólidos. Logo após, é encaminhado para o secador térmico, sendo submetido a temperaturas de 350°C, num período de 30 minutos, convertendo-se em material granular (pellets). Vale ressaltar que a energia utilizada para a secagem do resíduo é proveniente do biogás gerado durante o processo de fermentação nos reatores, sendo um sistema com autossuficiência energética.

Logo após o preenchimento das unidades experimentais com lodo ou solo, foi feito o plantio das estacas de *P. purpureum*, obtidas nos canteiros de forragem do ICA/UFMG. O material propagativo foi cortado em toletes com 20 cm, deixando - se apenas uma gema em cada. Visando à germinação e ao crescimento uniforme das mudas da gramínea, foi realizada uma seleção criteriosa das gemas. Após esse processo, elas foram plantadas em uma profundidade de 10 cm, com espaçamento de 20 cm, totalizando 25 gemas por unidade experimental (FIGURA 2).



Fonte: Arquivo pessoal.

Figura 2 - Unidade experimental com plantio de gemas de *Pennisetum purpureum*

A partir do primeiro dia de cultivo, foi feito o monitoramento diário da temperatura das parcelas cujo substrato era o lodo de esgoto.

2.2 Tratos culturais

A umidade dos substratos, lodo de esgoto e solo foi monitorada diariamente visando à manutenção do teor de água adequado para o desenvolvimento da gramínea, evitando-se o escoamento de chorume ou água.

Nos 30 dias iniciais de experimentação, foram feitas 4 irrigações diárias, com lâminas de irrigação de 1 mm cada, visando à manutenção de umidade na camada superficial. A partir dos 60 dias, adotaram -se 2 irrigações diárias e lâminas de 2 mm, em razão das raízes da gramínea já estarem amplamente distribuídas pelos diferentes substratos.

Nas parcelas do tratamento com solo, foram feitas capinas manuais, em virtude da ampla ocorrência de plantas invasoras.

2.3 Coleta de amostras

Para as análises de metais pesados nos substratos e nas plantas, a cada mês, 5 parcelas cultivadas eram coletadas, exceção para o quinto mês, no qual também foram coletados os tratamentos adicionais, cultivo em solo e lodo sem cultivo. Em cada unidade experimental, foram coletadas 4 plantas inteiras e, ao longo do perfil de exploração das raízes, foram retiradas amostras de solo e lodo em diferentes profundidades: 0-10, 10-20, 20-30, 30-40 e > 40 cm (inicialmente 40-50 cm).

As amostras de solos foram acondicionadas em latas de alumínio e secadas a 105° C, por 24 h, em estufa de circulação forçada de ar, enquanto as amostras de lodo foram acondicionadas em sacos de papel, alocadas no mesmo modelo estufa, permanecendo a 65° C até peso constante. Após este processo, as amostras foram maceradas em almofariz de ágata.

As plantas foram separadas em raiz, colmo e folha, e pesadas. Em seguida, foram submetidas a um processo de higienização, constituído de

três lavagens em água de torneira abundante, seguido por três enxagues em água destilada. Permanecendo em estufa a 65° C, até peso constante, sendo feita a maceração do material em almofariz de ágata.

2.4 Extração de fitólitos de *P. purpureum* Schum.

O processo de extração de sílico-fitólitos foi realizado, de acordo com a metodologia de Parr *et al.* (2001) e o material vegetal seco e macerado é pesado em balança analítica e transferido para cadinhos de porcelana, passando pelo processo de calcinação em mufla a 500°C, por um período de 6 horas. As cinzas são transferidas para tubos falcon, nos quais é feita a retirada dos carbonatos com uma solução de ácido clorídrico (10%) e os resquícios de matéria orgânica são oxidados com água oxigenada (10%). Logo após, o material é seco em estufa e o peso das amostras mensurado em balança analítica.

2.5 Análises químicas dos metais pesados em solo, lodo de esgoto, tecidos orgânicos e fitólitos de *P. purpureum* Schum.

As análises de metais pesados no solo, lodo de esgoto, tecidos orgânicos e em sílico-fitólitos do *P. purpureum* foram realizadas nos laboratórios de Agroquímica do ICA/UFMG.

As amostras de solo, lodo de esgoto e tecido orgânicos da planta foram preparadas, de acordo com a metodologia EPA-3051, a qual consiste na utilização de 0,5 grama do material macerado e 10 ml de ácido nítrico P.A (65° GL). A decomposição do material foi feita em aparelho Digestor de Microondas Mars 6.

Para a leitura dos metais contidos nos sílico-fitólitos, foi preciso fazer a dissolução dessas estruturas amorfas. Para essa finalidade foram testadas 4 metodologias, adaptadas do método EPA-3052, variando as quantidades de ácidos (HCL, HNO₃ e HF), visando à adoção de método que proporcionasse de forma mais eficiente a quebra das ligações entre o silício e os metais de interesse. A combinação de reagentes que proporcionou os

melhores resultados foi a constituída de 2 ml de ácido clorídrico P.A (37° GL), 3 ml de ácido nítrico P.A (65° GL) e 5 ml de ácido fluorídrico P.A (38° GL). Na mistura desses ácidos eram acrescentados 0,5 g de fitólitos, passando pelo processo de decomposição no aparelho Digestor de Microondas Mars 6. A neutralização do HF foi realizada com 2,25 g de ácido bórico (99,5 P.A), utilizando o aparelho citado.

2.5.1 Mensuração das concentrações de metais pesados nas diferentes amostras

Nas amostras de lodo e solo foi feita a mensuração dos seguintes metais pesados As (2 a 40 $\mu\text{g L}^{-1}$), Cu (0,1 a 10 mg L^{-1}), Zn (0,15 a 1,5 mg L^{-1}), Pb (2,5 a 24 mg L^{-1}), Ba (5 a 100 mg L^{-1}), Cd (0,3 a 3,2 mg L^{-1}), Cr (1,25 a 20 mg L^{-1}), Mo (7,5 a 75 mg L^{-1}) e Ni (5 a 20 mg L^{-1}). Os elementos detectados em níveis quantificáveis no lodo foram investigados nos tecidos orgânicos e em fitólitos da gramínea. Para a leitura das diferentes amostras, foi utilizado o aparelho espectrofotômetro de absorção atômica Varian, modelo AA 240, o qual possui os limites de quantificação descritos entre parênteses ao lado dos elementos citados neste parágrafo.

As concentrações de contaminantes presentes nas amostras foram comparadas com os limites estabelecidos pela Resolução nº 375, de 29 de agosto de 2006 (BRASIL, 2006), na qual se definem os padrões e procedimentos para a utilização de lodo de esgoto e produtos derivados em sistemas agrícolas.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, teste de médias e de regressão, da seguinte forma: Para comparação de cada testemunha com os períodos de crescimento da planta avaliada foi aplicado o teste de Dunnett a 5% de probabilidade, enquanto, para avaliação somente dos períodos de crescimento, foram ajustadas equações de regressão, testando-se os coeficientes até 10% de probabilidade pelo teste t.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Elementos químicos quantificáveis no solo e lodo de esgoto

Dos nove elementos químicos monitorados no lodo de esgoto e no solo, apenas três se encontravam em níveis quantificáveis: As, Cu e Zn; o Pb foi detectado, mas em concentrações não quantificáveis (TABELA 1). Todos os elementos quantificados estavam abaixo dos limites máximos preconizados pela Resolução CONAMA nº 375 (BRASIL, 2006). No entanto, em sistemas agrícolas tropicais ocorre uma rápida decomposição da matéria orgânica contida no lodo de esgoto, de forma que a utilização do resíduo como fertilizante orgânico requer aplicações periódicas (NOGUEIRA *et al.*, 2013). Diante deste fato, os metais pesados podem acumular-se nos solos, ao longo de cada aplicação do resíduo, podendo atingir níveis prejudiciais ao meio ambiente, tornando-se necessário diminuir ao máximo as concentrações dos metais As, Cu e Zn antes da adição do resíduo ao solo, de forma a permitir aplicações mais prolongadas do resíduo.

A semelhança entre as concentrações de As no solo e lodo de esgoto utilizado (TABELA 1) pode estar relacionada ao local onde o primeiro substrato foi coletado, que se situa a menos de 2 km à jusante da liberação das águas residuárias da Estação de Tratamento de Montes Claros. No período chuvoso esta área passa por processo de alagamento.

Tabela 1 - Concentração inicial de metais pesados no lodo de esgoto e no solo

| Variáveis | As | Cu | Zn |
|-----------------------|---------------------|-------|-------|
| | mg kg ⁻¹ | | |
| Solo | 0,41 | 22,0 | 131,0 |
| Lodo de Esgoto | 0,37 | 131,0 | 781,0 |

Fonte: Elaborado pela autora

3.2 Processo inicial de Cultivo

Nas parcelas cultivadas houve uma grande variação de temperatura durante os 2 primeiros meses, seguindo o padrão observado nos processos de compostagem. O aquecimento das pilhas iniciou-se a partir do fornecimento de umidade ao sistema; aos 15 dias a temperatura alcançou em torno de 50-55°C, atingindo a fase termófila, permanecendo nessa fase por 14 dias. As parcelas não cultivadas, que permaneceram apenas com o lodo, passaram pelo mesmo processo de aquecimento; no entanto, a fase termófila

ocorreu após 10 dias de experimentação, tendo uma duração de 8 dias, atingindo temperaturas em torno de 75°C. Durante esse período, houve decréscimo acentuado no volume das parcelas, em torno de 4% para não cultivadas e 10% para as cultivadas. Como amplamente discutido na literatura, a elevação da temperatura nas parcelas é consequência da atividade dos microrganismos decompositores, bactérias e fungos, que utilizam o C como fonte de energia (KULIKOWSKA; KLIMIUK, 2010). Em alguns casos, podem ser observadas, nesta fase, perdas entre 15 e 25% da massa total do composto, em virtude da elevada decomposição da matéria orgânica (OLESZCZUK, 2007). A maior decomposição observada no lodo cultivado pode estar relacionada à interação entre as raízes da gramínea utilizada e os microrganismos decompositores, pois, segundo Gupta *et al.* (2013), plantas do gênero *Pennisetum* são capazes de formar interações mutualísticas com microrganismos, favorecendo, por exemplo, a colonização da rizosfera por bactérias diazotróficas endofíticas, como a *Pseudomonas aeruginosa*. Estas promovem um maior desenvolvimento das gramíneas, em decorrência da fixação de nitrogênio, mineralização e solubilização de fosfato e produção de sideróforos.

3.3 Comportamento químico de As, Cu e Zn em lodo de esgoto em diferentes períodos de crescimento de *P. purpureum*

Em todos os tratamentos não foram observadas diferenças significativas entre as concentrações de As, Cu e Zn nas diferentes profundidades analisadas em cada parcela de lodo de esgoto (TABELA 2). Tal fato evidencia que os elementos químicos não lixiviaram ao longo do perfil. Esse fato pode ser explicado pela elevada quantidade de matéria orgânica, em torno de 42%, presente no lodo utilizado. As cargas positivas e a geometria dos íons de cobre fazem com que o elemento químico tenha grande afinidade pela matéria orgânica (AMERY *et al.*, 2010). Essas interações também são observadas para os íons de Zn (LOUIS *et al.*, 2014) e As (MANOKAVA *et al.*, 2014). Os pesquisadores Singh e Kalamdhad (2013) relatam que, durante o processo de decomposição da matéria orgânica, ocorre a desprotonação dos grupos carboxílicos COOH, gerando cargas

negativas superficiais que são capazes de complexar íons de alguns metais, impedindo que sejam lixiviados. Outro fator que pode explicar esses resultados é o caráter tamponante da matéria orgânica, impedindo que haja flutuações de pH. Abreu *et al.* (2007) mencionam que a variação de pH para condições mais ácidas aumenta a disponibilidade e a redistribuição de elementos traços no solo.

Apesar da alta fitoextração de As, Cu e Zn pelo *P. purpureum*, os valores destes elementos no tratamento lodo sem cultivo (150 LSC) e lodo cultivado aos 150 dias (150 CLE), não apresentaram diferenças estatísticas, exceto para o Cu (TABELA 3). Este resultado pode estar relacionado à maior taxa de mineralização do lodo cultivado, ocorrendo o aumento na sua concentração de metais, quando comparado ao lodo sem cultivo. O processo de decomposição do resíduo ocasiona incremento nos teores de metais, em consequência da perda de peso do material, em razão da liberação de água e dióxido de carbono (HAROUN *et al.*, 2009).

Tabela 2 - Concentração de As, Cu e Zn em diferentes camadas de solo e lodo de esgoto nos tratamentos

| Elemento | PROF. (cm) | PERÍODO DE CULTIVO (DIAS) | | | | | | |
|----------|---------------|---------------------------------|----------------|---------------|----------------|----------------|-----------------|----------------|
| | | 30 CLE | 60 CLE | 90 CLE | 120 CLE | 150 CLE | 150 LSC | 150 TCS |
| | | ----- mg kg ⁻¹ ----- | | | | | | |
| As | 0-10 | 0,36 ± 0,04 | 0,21 ± 0,03 | 0,26 ± 0,01 | 0,28 ± 0,01 | 0,29 ± 0,01 | 0,28 ± 0,08 | 0,28 ± 0,09 |
| | 10-20 | 0,39 ± 0,04 | 0,20 ± 0,04 | 0,27 ± 0,04 | 0,28 ± 0,02 | 0,27 ± 0,04 | 0,25 ± 0,05 | 0,30 ± 0,03 |
| | 20-30 | 0,41 ± 0,09 | 0,20 ± 0,03 | 0,28 ± 0,04 | 0,30 ± 0,06 | 0,31 ± 0,04 | 0,24 ± 0,07 | 0,30 ± 0,04 |
| | 30-40 | 0,39 ± 0,08 | 0,21 ± 0,04 | 0,25 ± 0,02 | 0,27 ± 0,01 | 0,27 ± 0,05 | 0,30 ± 0,11 | 0,31 ± 0,06 |
| | >40 | 0,35 ± 0,04 | 0,24 ± 0,03 | 0,03 ± 0,05 | 0,29 ± 0,03 | 0,24 ± 0,09 | 0,29 ± 0,10 | 0,32 ± 0,06 |
| Cu | 0-10 | 159,76 ± 6,54 | 187,22 ± 11,90 | 188,42 ± 23,1 | 147,48 ± 31,24 | 157,88 ± 12,82 | 172,51 ± 18,56 | 14,45 ± 2,78 |
| | 10-20 | 158,40 ± 3,91 | 200,20 ± 18,09 | 192,54 ± 20,7 | 148,52 ± 8,38 | 141,01 ± 32,98 | 224,88 ± 125,2 | 17,08 ± 2,37 |
| | 20-30 | 162,09 ± 7,43 | 187,96 ± 23,13 | 168,55 ± 24,2 | 139,19 ± 12,02 | 151,34 ± 11,4 | 166,09 ± 11,12 | 18,88 ± 3,14 |
| | 30-40 | 158,04 ± 13,23 | 184,96 ± 16,14 | 175,48 ± 20,0 | 137,92 ± 7,00 | 154,42 ± 17,53 | 183,01 ± 20,21 | 17,52 ± 4,27 |
| | >40 | 156,21 ± 13,94 | 192,80 ± 8,22 | 188,09 ± 15,5 | 155,34 ± 9,10 | 168,8 ± 11,03 | 175,76 ± 15,24 | 17,80 ± 2,19 |
| Zn | 0-10 | 484,75 ± 22,81 | 940,3 ± 353,7 | 852,0 ± 70,4 | 745,5 ± 109,37 | 837,15 ± 49,18 | 847,55 ± 207,8 | 104,23 ± 13,48 |
| | 10-20 | 485,33 ± 45,63 | 998,3 ± 316,1 | 772,0 ± 92,0 | 780,4 ± 49,86 | 707,5 ± 184,9 | 886,13 ± 298,9 | 102,78 ± 23,05 |
| | 20-30 | 453,20 ± 33,33 | 910,8 ± 365,4 | 753,3 ± 134,5 | 678,75 ± 82,80 | 787,25 ± 49,73 | 727,28 ± 116,6 | 131,55 ± 15,02 |
| | 30-40 | 479,65 ± 30,49 | 889,2 ± 206,0 | 742,2 ± 39,9 | 738,89 ± 46,26 | 725,9 ± 68,84 | 753,21 ± 185,5 | 112,29 ± 13,80 |
| | >40 | 462,55 ± 64,67 | 1078,3 ± 240,2 | 753,2 ± 183 | 817,7 ± 60,05 | 698,86 ± 110,6 | 781,30 ± 169,31 | 111,34 ± 9,34 |

Fonte: Elaborado pela autora

Notas: Médias das diferentes profundidades com seus respectivos intervalos de confiança (p < 0,05, teste t). CLE= Cultivo em lodo de esgoto;

LSC= Lodo sem cultivo; TCS= Testemunha cultivo em solo

Tabela 3 - Concentração de As, Cu e Zn em lodo de esgoto em função dos tratamentos

| PERÍODO | 150 LSC | 30 CLE | 60 CLE | 90 CLE | 120 CLE | 150 CLE | CV |
|-----------|---------------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|-------|
| | ----- mg kg ⁻¹ ----- | | | | | | % |
| As | 0,27 A | 0,38 B | 0,20 B | 0,26 A | 0,28 A | 0,27 A | 12,65 |
| Cu | 184,4 A | 159,0 A | 190,5 A | 182,6 A | 145,7 B | 151,7 B | 11,00 |
| Zn | 799, A | 473,1B | 963,3 A | 774,9 A | 752,3 A | 753,1 A | 14,66 |

Fonte: Elaborado pela autora

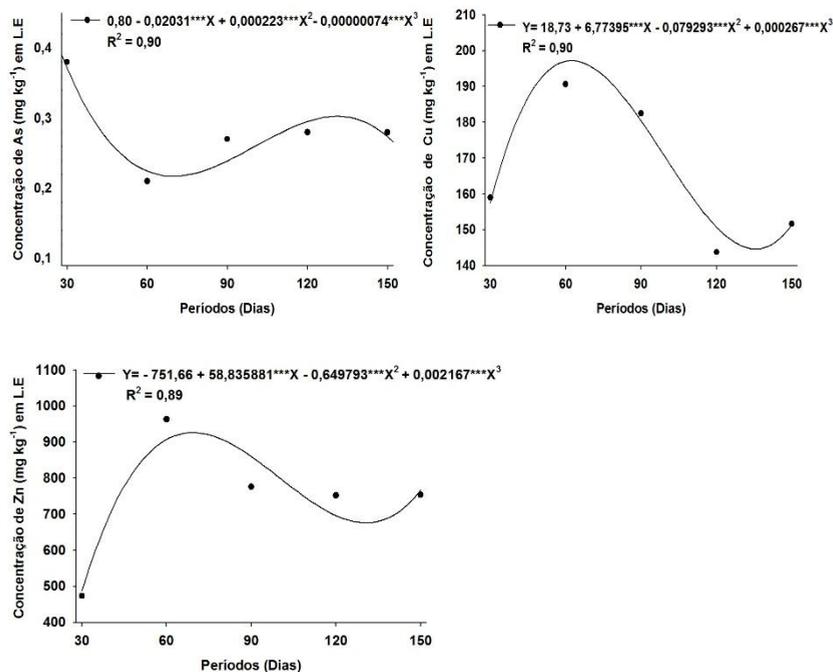
Notas: Médias dos tratamentos referentes ao cultivo em lodo de esgoto (CLE), em diferentes períodos, com a mesma letra do lodo de esgoto sem cultivo (LSC), na horizontal, não diferem deste último a 5% de probabilidade pelo teste Dunnett.

3.3.1 Comportamento químico de As, Cu e Zn em lodo de esgoto cultivado com *P. purpureum* Schum

O teor de As no lodo cultivado variou ao longo do período de cultivo e, próximo dos 70 dias, observou-se a menor concentração do elemento químico no composto. Após este período, houve um ligeiro aumento, permanecendo praticamente constante até o último período experimental (FIGURA 3). Resultados contrários foram relatados por Manokova *et al.* (2014), os quais observaram que a intensa mineralização do lodo nos primeiros 60 dias do processo de compostagem provocou aumentos expressivos das concentrações de As no composto. A divergência observada pode estar relacionada à fitoextração do elemento químico realizada pelo *P. purpureum*. A utilização de plantas que possuam a capacidade de acumular As é vista como umas das formas promissoras para mitigação dos efeitos nocivos deste metaloide (ROY *et al.*, 2015). Mesmo em baixas concentrações, este elemento apresenta elevada toxicidade aos seres vivos, sendo necessárias providências para atenuar os seus efeitos.

No final do período experimental, houve decréscimo de 27,03% na concentração de As, quando comparado aos valores iniciais (TABELA 1). A redução dos teores de As é de grande importância agrícola, pois mesmo não sendo um elemento essencial à nutrição de plantas, várias culturas, como arroz, trigo, milho e aveia, são capazes de fitoextrair o contaminante (SINGH *et al.*, 2015), podendo entrar na cadeia alimentar. A exposição crônica ao As

pode causar graves efeitos deletérios à saúde humana, afetando os sistemas dermatológicos, neurológicos, respiratórios, imunológicos e endócrinos e, por consequência, causar vários tipos de câncer (NAUJOKAS *et al.*, 2013).



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 3 - Concentração de As, Cu e Zn em lodo de esgoto em função do período de cultivo de *P. purpureum*.

Nota: *** = significativo a 0,1% de probabilidade pelo teste t.

O comportamento apresentado pelos elementos químicos Cu e Zn no lodo de esgoto cultivado foram muito semelhantes em todos os tratamentos (FIGURA 3). A elevada taxa de decomposição do resíduo nos períodos iniciais provocou aumento expressivo nas concentrações desses metais aos 60-70 dias. No referido período, a concentração de Cu aumentou em torno de 1,5 vezes, enquanto a de Zn aumentou 1,2 vezes, em relação à concentração inicial no lodo de esgoto (TABELA 1). Todavia, aos 150 dias do plantio, a concentração de Cu atingiu valor correspondente a 1,2 vezes a concentração inicial ($151,86 \text{ mg kg}^{-1}$) e a de Zn foi reduzida em aproximadamente 2% do valor inicial ($767,01 \text{ mg kg}^{-1}$). Conforme relatado por Haroun *et al.* (2009), durante o processo de mineralização do lodo de esgoto, ocorre elevação dos

teores de metais pesados; o decréscimo nos teores destes elementos só é constatado quando ocorre o processo de lixiviação. No presente trabalho foi feito um controle rigoroso das lâminas de irrigação, não sendo observada liberação de choroume pelas unidades experimentais, minimizando as perdas de elementos químicos por lixiviação.

Aos 90 dias, o processo de decomposição do lodo de esgoto já se encontrava praticamente estável. Neste período, as concentrações de Cu e Zn voltaram a decrescer (FIGURA 3). Como não houve lixiviação, o decréscimo observado pode ser atribuído à absorção destes elementos essenciais pelo *P. purpureum*. Apesar da essencialidade do Cu e Zn para os seres vivos, em altas concentrações estes elementos passam a ter efeitos nocivos aos organismos. A contaminação dos solos por Cu e Zn é uma grande preocupação agrícola e ambiental, pois possuem alta persistência e toxicidade (MACDONALD *et al.*, 2011), afetando negativamente a atividade dos microrganismos decompositores do solo (KHAN; SCULLION, 2002). Nas plantas, o efeito da fitotoxicidade de Cu é observado por meio de clorose, necrose, redução da fotossíntese e da produção de biomassa (CAMBROLLE *et al.*, 2012a). Sintomas semelhantes são observados para fitotoxicidade ocasionada pelo Zn (CAMBROLLÉ *et al.*, 2012b). Tanto o Cu quanto o Zn podem se acumular em grandes concentrações na cadeia alimentar, pois algumas espécies vegetais absorvem esses micronutrientes em teores acima de suas exigências nutricionais. O excesso de Zn no corpo humano inibe a absorção de cobre e ferro, já o Cu livre gera radicais livres que causam danos às moléculas de proteínas, lipídeos e DNA (CHERFI *et al.*, 2014).

3.4 Produção de biomassa de *P. purpureum* Schum. cultivado em solo e lodo de esgoto

As plantas de *P. purpureum* que se desenvolveram em parcelas de solo apresentaram, aos 150 dias de cultivo, maior produção de biomassa do colmo, raiz, parte aérea e total, quando comparadas às plantas estabelecidas nas parcelas de lodo de esgoto. Exceção para a produção de biomassa foliar

aos 120-150 dias, na qual não houve diferença estatística entre os tratamentos (TABELA 4).

Tabela 4 - Produção de massa seca de *P. purpureum* cultivado em solo e lodo de esgoto em função dos tratamentos

| TRAT. (DIA) | 150 TCS | 30 CLE | 60 CLE | 90 CLE | 120 CLE | 150 CLE | CV (%) |
|----------------|--------------------------|---------|---------|----------|----------|----------|-----------|
| | ----- g por planta ----- | | | | | | |
| FOLHA | 70,00 A | 22,73 B | 40,10 B | 53,50 B | 48,10 A | 55,20 A | 20,70 |
| COLMO | 146,00 A | 10,30 B | 31,50 B | 62,00 B | 97,00 B | 105,00 B | 24,21 |
| RAÍZ | 68,53 A | 4,53 B | 23,46 B | 34,93 B | 32,93 B | 34,66 B | 46,21 |
| PA | 216,00 A | 33,05 B | 71,60 B | 115,50 B | 145,10 B | 160,20 B | 16,75 |
| PTP | 284,53 A | 37,58 B | 95,06 B | 150,40 B | 178,03 B | 194,86 B | 16,71 |

Fonte: Elaborado pela autora.

Notas: TCS= testemunha cultivado em solo; CLE= cultivo em lodo de esgoto; PA= parte área; PTP= produção total por planta. Médias dos tratamentos referentes ao cultivo em lodo de esgoto (CLE), em diferentes períodos, com a mesma letra do cultivo em solo (TCS), na horizontal, não diferem a 5% de probabilidade pelo teste Dunnett.

Estes resultados estão relacionados às características físicas e químicas dos dois substratos utilizados para o cultivo da gramínea. Durante todo o período experimental, o solo apresentou-se como um substrato equilibrado, em termos de disponibilização de nutrientes, manutenção de umidade e de temperatura adequadas e suporte mecânico para o crescimento das plantas. As plantas que se desenvolveram no lodo de esgoto passaram por vários tipos de estresses, como o aumento da temperatura do substrato na fase inicial, desbalanço nutricional e a elevada carga de contaminantes, metais pesados e orgânicos persistentes. No entanto, se considerarmos a média de produtividade do *P. purpureum* Shum. em quatro cortes anuais, 45 t ha⁻¹ ano⁻¹ (BASSO *et al.*, 2014), nos referidos espaços de tempo, o sistema de cultivo em lodo de esgoto proporcionaria uma produtividade de 115,2 t ha⁻¹ ano⁻¹, ou seja, 2,5 vezes maior que o sistema de cultivo em solo citado acima. A elevada taxa de biomassa produzida, nesse sistema alternativo, pode ser usada na produção de fertilizantes orgânicos (compostagem) ou ser usada para produção de bioenergia (LIU *et al.*, 2009).

A gramínea cultivada em lodo de esgoto apresentou um intenso perfilhamento, durante a germinação, o que acarretou no decréscimo da altura da planta na fase adulta, 150 dias, em comparação com a testemunha no mesmo período (FIGURA 4). A absorção de elementos químicos não

essenciais pode causar desordens metabólicas em *P. purpureum* Shum., conforme relatado por Kang *et al.* (2011) e Kang *et al.* (2012), segundo os quais a absorção de césio por *P. purpureum* provocou intenso perfilhamento e decréscimo na altura das plantas, sendo este processo relacionado à inibição da auxina. Os autores afirmam que a aplicação de inibidor de auxina TIBA (ácido 2,3,5-triodobenzoico), em gemas de *P. purpureum*, causa o aumento do perfilhamento da espécie, o que explica o comportamento citado.



Solo

Lodo de Esgoto

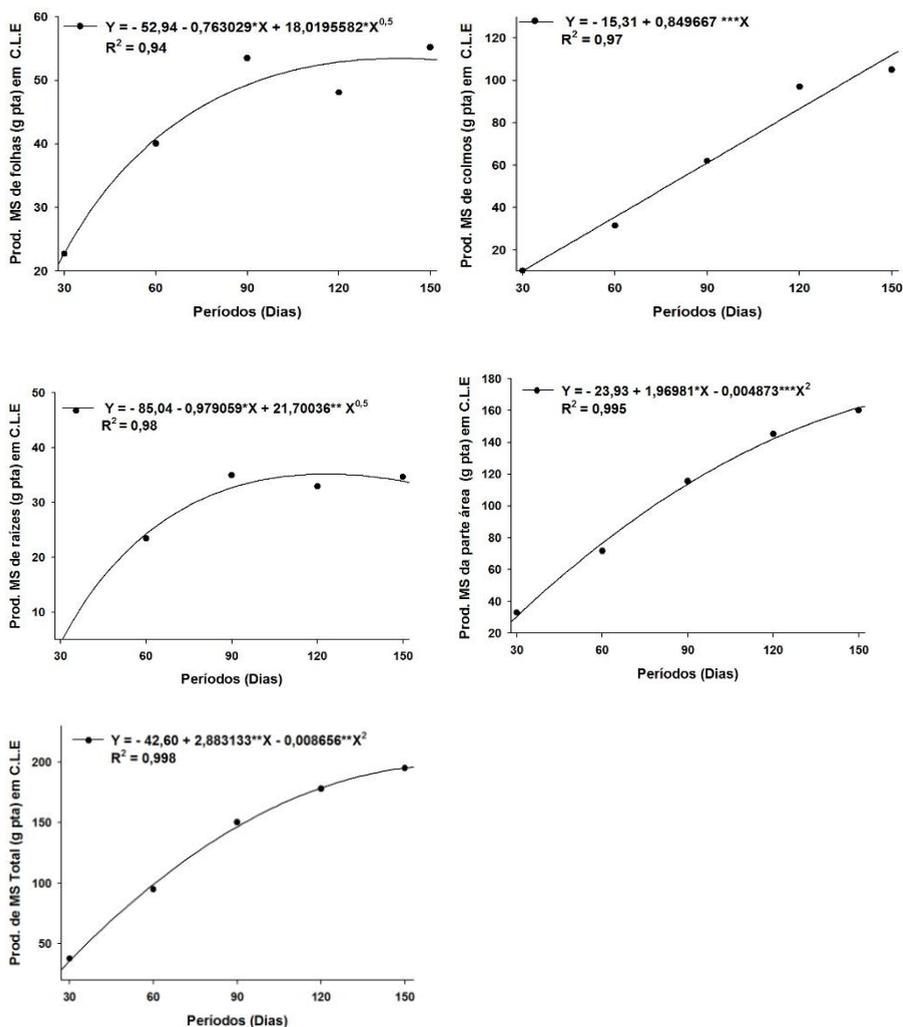
Fonte: Elaborado pela autora

Figura 4 - Comparação entre perfilhamento de *P. purpureum* cultivado em solo e lodo de esgoto.

3.4.1 Produção de biomassa pelo *P. purpureum* cultivado em lodo de esgoto em diferentes períodos

Durante os cinco períodos de cultivo, ganhos expressivos de biomassa total foram observados até os 150 dias do plantio (FIGURA 5). Todavia, as maiores taxas de crescimento ocorreram até os 119 dias, quando

a produção de biomassa total atingiu 90% da produção máxima. Os acréscimos na massa seca das raízes e folhas atingiram os valores máximos no período de 123 e 139 dias, respectivamente, sendo as maiores taxas de crescimento ocorridas próximas de 84 dias (correspondente a 90% da produção máxima de massa seca). O colmo, por outro lado, apresentou aumento linear de massa seca, com o maior valor atingido aos 150 dias de plantio.



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 5 - Equações de Regressão referentes à produção de massa seca (MS) de *P. purpureum* cultivado em lodo de esgoto em diferentes períodos.

Notas: *, **, ***= significativos a 5, 1 e 0,1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste t.

A elevada quantidade de nitrogênio, contida no lodo de esgoto, pode ter sido a responsável pelo acelerado crescimento desta e de outras partes da planta. Trabalho realizado por Mota *et al.* (2010) comprovou que o aumento dos níveis de nitrogênio e umidade no solo causam um rápido alongamento dos colmos de *P. purpureum*, diminuindo a relação lâmina foliar/colmo.

Visando à obtenção de um grande volume de biomassa de *P. purpureum* por área em um menor espaço tempo, o cultivo em lodo esgoto poderia ser recomendado por 120 dias, pois a partir deste período há menor incremento da produção de massa seca total em função do tempo (FIGURA 5). Tal fato pode ser útil para uso da gramínea como material carbonáceo para compostagem do próprio lodo de esgoto no qual foi cultivada, podendo ser feito na própria ETE, caso haja espaço físico suficiente.

3.5 Concentração de fitólitos em *P. purpureum* Schum. cultivado em solo e lodo de esgoto

As plantas de *P. purpureum* apresentaram uma maior produção de fitólitos nas folhas, em relação aos colmos e raízes. No período de 90 dias, folhas da gramínea cultivada em lodo apresentavam percentagem de fitólitos igual à de folhas da gramínea cultivada em solo há 150 dias (TABELA 5). O processo de transpiração do vegetal é o principal desencadeador da formação de sílico-fitólitos nos tecidos vegetais (JENKINS, 2009). As raízes das plantas absorvem o ácido silícico da solução do solo e esse se polimeriza e se solidifica, principalmente, nos órgãos do vegetal que participam de forma efetiva no processo de transpiração, ou seja, tecidos epidérmicos e vasculares (PIPERNO, 1988). Isso explica o fato das folhas serem os locais com maior deposição de sílica.

A caracterização do solo e do lodo de esgoto, no início da pesquisa, revelou que as concentrações de Si solúvel nestes substratos foram muito próximas, sendo $8,7 \text{ mg dm}^{-3}$ para o solo e $14,2 \text{ mg dm}^{-3}$ para o lodo. Aos 150 dias, as plantas cultivadas tanto no solo quanto no lodo apresentavam a mesma percentagem de fitólitos, nos diferentes órgãos avaliados. Neste

período, a concentração média de corpos silicosos, em relação à massa seca da planta, foi de 1,81 e 1,79%, para cultivo em solo e lodo, respectivamente (TABELA 5). Estes resultados estão de acordo com a classificação proposta por Marschner (1995), o qual relata que as espécies monocotiledôneas produzem em média de 1 a 3% de fitólitos em relação à massa seca. No entanto, a produção de fitólitos pode variar de acordo com a espécie vegetal (ZUCOL, 2001) e a disponibilidade de ácido silícico na solução do solo (BUJÁN, 2013; HENRIET *et al.*, 2008).

Tabela 5 - Concentração de fitólitos em *P. purpureum* em função dos tratamentos

| TRAT. (DIA) | 150 TCS | 30 CLE | 60 CLE | 90 CLE | 120 CLE | 150 CLE | CV |
|------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|-------|
| CFI FOLHA | 3,68 A | 1,26 B | 1,95 B | 2,89 A | 3,23 A | 3,51 A | 20,18 |
| CFI COLMO | 0,860 A | 0,003 B | 0,019 B | 0,097 B | 0,400 B | 0,520 A | 88,23 |
| CFI RAIZ | 0,96 A | 0,25 B | 0,42 B | 0,66 A | 0,65 A | 1,30 A | 48,85 |
| CFITOT | 1,81 A | 0,50 B | 0,80 B | 1,21 B | 1,42 B | 1,79 A | 19,95 |

Fonte: Elaborado pela autora.

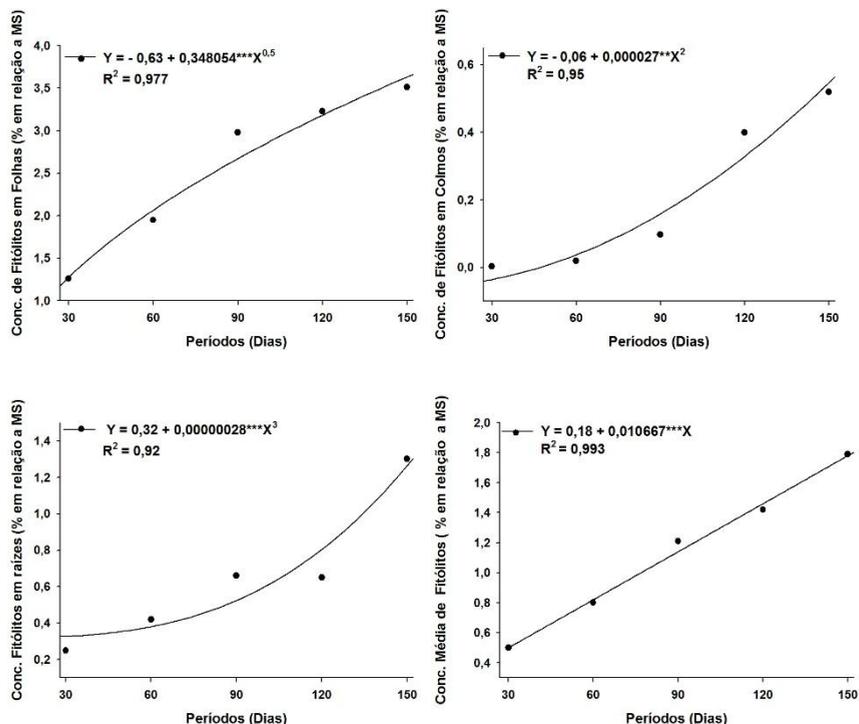
Notas: CFI = concentração de fitólitos; CFITOT = concentração de fitólitos total. Médias dos tratamentos referentes à concentração de fitólitos em plantas cultivadas em lodo de esgoto (CLE), em diferentes períodos, com a mesma letra da concentração de fitólitos de plantas cultivadas em solo (TCS), na horizontal, não diferem a 5% de probabilidade, pelo teste Dunnett.

3.5.1 Concentração de fitólitos em *P. purpureum* cultivado em lodo de esgoto em diferentes períodos

O acúmulo de fitólitos na massa seca do *P. purpureum* cultivado em lodo de esgoto está diretamente relacionado ao estágio vegetativo da planta. Ao longo dos períodos de cultivo houve aumentos lineares ou aproximadamente lineares na concentração de fitólitos em todas as partes da planta avaliada (FIGURA 6).

A silificação é um processo contínuo, durante o ciclo de vida de uma planta, podendo ser dividido em duas fases: inicialmente o ácido silícico é depositado na parede celular, quando a célula encontra-se altamente ativa e, posteriormente, com o envelhecimento das células, a sílica é depositada nas organelas e espaços intracelulares (BAUER *et al.*, 2011). O processo descrito acima pode ser responsável pelo aumento da concentração de fitólitos ao

longo dos períodos de cultivo em lodo de esgoto. A produção desses agregados de silício é de elevada relevância agrônômica, tendo a função de proteção das plantas contra estresses bióticos e abióticos (FAUTEUX *et al.*, 2005).



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 6 - Equações de regressão referentes à concentração de fitólitos em *P. purpureum* cultivado em lodo de esgoto em diferentes períodos.

Notas: **, ***= significativos a 1 e 0,1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste t.

3.6 Elementos químicos quantificados na planta

No material vegetal foram detectados em limites quantificáveis o Cu, o Zn e o As. Contudo, o *P. purpureum* não pode ser considerado como espécie hiperacumuladora destes três metais quantificados. Segundo os parâmetros estabelecidos por Baker e Brooks (1989), é preciso acumular $10.000 \text{ mg kg}^{-1}$ de Zn, 1.000 mg kg^{-1} de Cu e 3.000 mg kg^{-1} de As para ser considerada como espécie hiperacumuladora. No entanto, quase todas as espécies hiperacumuladoras reportadas em literatura apresentam baixa

produção de biomassa, refletindo em uma baixa extração de metais (ZHANG *et al.*, 2010). A elevada produção de biomassa e o rápido crescimento, possibilitando até 4 cortes por ano, potencializa a utilização do *P. purpureum* como uma espécie promissora para retirada de metais pesados do lodo de esgoto. O material contaminado pode ser usado para produção de bioenergia, uma vez que a espécie tem grande potencialidade para esse fim (LIU *et al.*, 2009). Além disso, os elementos de valor econômico podem ser reciclados após extração das cinzas (SHEARON *et al.*, 2011).

3.6.1 Concentração e conteúdo de As em *P. purpureum* cultivado em solo e lodo de esgoto

As concentrações de As em folhas, colmos e raízes de *P. purpureum* cultivado em solo foram iguais aos teores encontrados nas plantas cultivadas em lodo de esgoto, em todos os períodos avaliados (TABELA 6). Além disso, o conteúdo de As nas folhas no cultivo em solo foi igual aos dos tratamentos com cultivo em lodo de esgoto. Resultado diferente foi observado para o colmo, no qual o conteúdo do cultivo em solo superou os dos demais tratamentos. Para a raiz, o conteúdo do contaminante no cultivo em solo foi maior do que os cultivos em lodo para os períodos de 30 e 60 dias, porém, igual aos períodos de 90 a 150 dias.

Este resultado pode ser atribuído às concentrações de As praticamente iguais nos dois substratos utilizados para o cultivo (TABELA 1). O referido elemento químico não é essencial para as plantas, no entanto, a gramínea absorveu e acumulou esse elemento em quantidades razoáveis. Assim, a concentração média de As, detectado nas plantas, em mg kg^{-1} , ficou acima das concentrações encontradas nos substratos solo e lodo de esgoto utilizados no cultivo.

Tabela 6 - Concentração e conteúdo de As em *P. purpureum* em função dos tratamentos

| TRAT. (DIAS) | 150 TCS | 30 CLE | 60 CLE | 90 CLE | 120 CLE | 150 CLE | CV % |
|---------------------------|---------------------|--------|--------|--------|---------|---------|---------|
| | mg kg ⁻¹ | | | | | | |
| CF (mg kg ⁻¹) | 0,82 A | 0,76 A | 0,79 A | 0,82 A | 1,27 A | 0,74 A | 41,78 |
| COF (mg/pta) | 0,06 A | 0,02 A | 0,03 A | 0,04 A | 0,06 A | 0,04A | 53,22 |
| CC (mg kg ⁻¹) | 1,02 A | 0,90 A | 0,76 A | 0,60 A | 0,83 A | 0,83 A | 37,55 |
| COC (mg/pta) | 0,15 A | 0,01 B | 0,02 B | 0,04 B | 0,08 B | 0,09 B | 50,08 |
| CR (mg kg ⁻¹) | 0,71 A | 1,01 A | 0,62 A | 1,09 A | 0,74 A | 1,09 A | 38,91 |
| COR (mg/pta) | 0,04 A | 0,01 B | 0,01 B | 0,04 A | 0,02 A | 0,04 A | 57,14 |
| COT (mg/pta) | 0,21 A | 0,04 B | 0,07 B | 0,13 A | 0,17 A | 0,16 A | 41,23 |

Fonte: Elaborado pela autora.

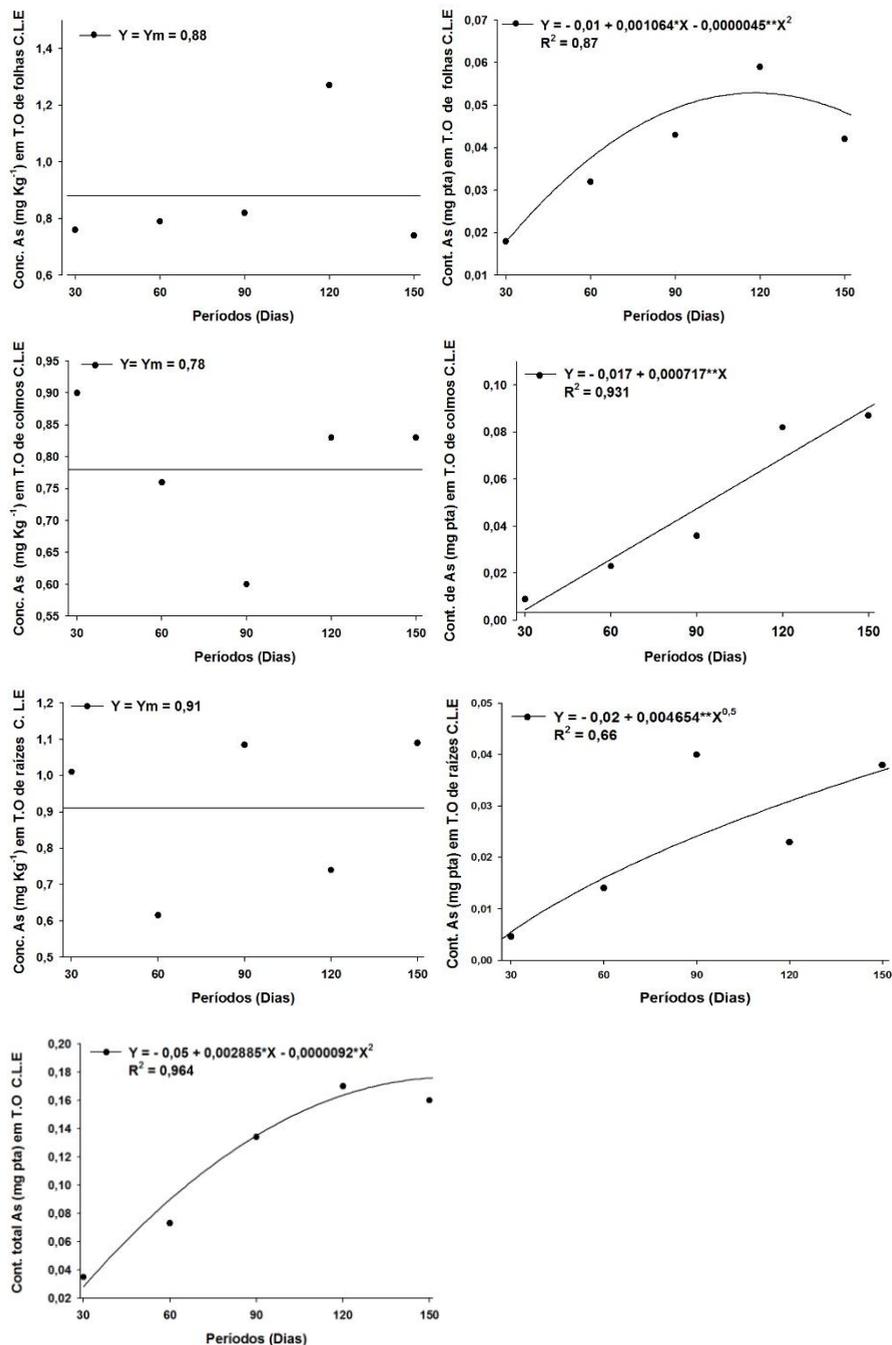
Notas: CF = Concentração na folha, COF = Conteúdo na folha, CC = Concentração no colmo, COC = Conteúdo no colmo, CR = Concentração da raiz, COR = Conteúdo na raiz, COT = Conteúdo total na planta. Médias dos tratamentos referentes à concentração de fitólitos em plantas cultivadas em lodo de esgoto (CLE), em diferentes períodos, com a mesma letra da concentração de fitólitos de plantas cultivadas em solo (TCS), na horizontal, não diferem a 5% de probabilidade, pelo teste Dunnett.

Algumas espécies vegetais têm a capacidade de acumular As em suas raízes, sendo captado juntamente com os íons fosfatos (RAHMAN; HASEGAWA, 2011). O *P. purpureum* secreta os ácidos cítrico, oxálico e, principalmente, pentanodioico, visando ao aumento da mobilização do fosfato, aumentando a absorção deste nutriente (SHEN *et al.*, 2001). Visto que os íons de As são captados junto com os fosfatos, esses ácidos orgânicos podem ser responsáveis pela alta absorção de As pelo *P. purpureum*.

3.6.1.1 Concentração e conteúdo de As em *P. purpureum* cultivado em lodo de esgoto em diferentes períodos

O incremento da produção de massa seca de *P. purpureum*, com o avançar do período de cultivo, promoveu a diluição do As na planta, de forma que não houve diferença na sua concentração entre os tratamentos (FIGURA 7). Salinas *et al.* (2012) relatam que um grupo de quatro gramíneas, dentre elas o gênero *Pennisetum*, é capaz de sobreviver em solos com elevada contaminação de As, cerca de 717 mg kg⁻¹, fitorremediando esse contaminante para os seus tecidos orgânicos. Neste caso, aos 120 dias de cultivo, as gramíneas apresentaram acumulação de As

de 610 mg kg^{-1} de massa seca das plantas.



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 7 - Relações entre a concentração e conteúdo de As nos tecidos orgânicos de *P. purpureum* cultivado em lodo de esgoto em diferentes períodos.

Notas: *, ** = significativos a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste t.

O resultado citado demonstra que as concentrações de As no solo e lodo de esgoto, utilizados no presente trabalho, estão muito abaixo do limite de tolerância de *P. purpureum*.

Os diferentes períodos de cultivo influenciaram os conteúdos de As em folhas, colmos e raízes de *P. purpureum* cultivado em lodo de esgoto. O aumento progressivo na massa seca de colmos da gramínea foi o responsável pelo acréscimo linear no conteúdo de As extraído por esta parte da planta. O mesmo ocorreu para folhas, mas de forma não linear, enquanto nas raízes houve acréscimo, aproximadamente, linear nos teores do contaminante (FIGURA 7).

A capacidade de translocar o As das raízes para a parte aérea é um dos fatores chaves que potencializa a utilização do *P. purpureum* para limpeza de ambientes contaminados com o referido elemento. Poucas espécies de plantas têm capacidade de translocar altas quantidades de As para a parte aérea; a maioria mantém cerca de 90% do contaminante armazenado nas raízes (RAHMAN; HASEGAWA, 2011).

3.6.2 Concentração e conteúdo de Cu em *P. purpureum* cultivado em solo e lodo de esgoto

Nos tecidos orgânicos de *P. purpureum*, as concentrações de Cu na folha e colmo foram menores no cultivo em solo do que no cultivo em lodo no período de 30 dias, enquanto, nas raízes, as concentrações do cultivo em solo foram inferiores aos tratamentos com cultivo em lodo no período de 30 a 120 dias (TABELA 7). Todavia, as concentrações de Cu no tratamento com cultivo em lodo aos 150 dias não diferiram dos teores encontrados no cultivo em solo, para todos os órgãos da planta. Não foram observados sintomas visuais que indicassem intoxicação pelo referido micronutriente. De acordo com Kabata-Pendias (2011), a concentração de Cu na massa seca de uma planta é considerada excessiva ou tóxica a partir de 20 mg kg⁻¹, no entanto esses valores podem variar de acordo com a espécie e estágio vegetativo. Diante do exposto, considera-se que os níveis do elemento atingido nesta pesquisa não causaram nenhum problema de fitotoxicidade na planta.

O conteúdo de Cu na massa seca do colmo do cultivo em solo foi superior aos do tratamento com cultivo em lodo nos períodos de 30 e 60 dias, enquanto, na raiz, o conteúdo de Cu do cultivo em solo foi maior apenas do que o cultivo em lodo no período de 30 dias (TABELA 7). No entanto, estas diferenças observadas estão relacionadas ao estágio vegetativo que a planta se encontrava em cada período, pois, aos 150 dias, os conteúdos de Cu no cultivo em solo foram iguais aos encontrados no tratamento com cultivo em lodo do último período, para todos os órgãos avaliados.

Os teores de Cu sequestrados em fitólitos de *P. purpureum* apresentaram diferenças entre o cultivo em solo e parte dos tratamentos com cultivo em lodo de esgoto (TABELA 7). Na folha, o teor de Cu em fitólitos no cultivo em solo foi menor que os tratamentos com cultivo em lodo de esgoto para os períodos de 30, 120 e 150 dias. No colmo, o teor de Cu em fitólitos no tratamento com cultivo em solo foi menor que os tratamentos com cultivo em lodo aos 90 e 120 dias, enquanto, nas raízes, o cultivo em solo apresentou teor de Cu em fitólitos menor que o tratamento com cultivo em lodo aos 120 dias. Ficou evidente, portanto, que os teores de Cu em fitólitos no tratamento com cultivo em lodo aos 120 dias, superaram os teores de Cu em fitólitos do cultivo em solo em todas as partes da gramínea. No cultivo em solo, o conteúdo de Cu em fitólitos das folhas não diferiu dos tratamentos com cultivo em lodo. Para o colmo, os conteúdos foram maiores para o cultivo em solo, comparado aos tratamentos com cultivo em lodo aos 30, 90 e 120 dias, enquanto, para as raízes, a superioridade do cultivo em solo ocorreu somente em relação ao cultivo em lodo no período de 30 dias.

As diferenças relatadas parecem estar relacionadas ao processo de formação dos corpos silicosos. Quando as plantas são mais jovens, há menos fitólitos formados e, por conseguinte, menor sequestro de Cu nestes biominerais, o que reflete em seu conteúdo na planta. Raízes de algumas espécies vegetais, ao longo de seu ciclo de vida, absorvem o ácido silícico da solução do solo, e esse é depositado nas estruturas celulares (PARR; SULLIVAN, 2005). Piperno (1988) explica que o processo de formação dos fitólitos é progressivo, iniciando-se pela parede celular e posteriormente pelo interior da célula.

Tabela 7 - Concentração e conteúdo de Cu na massa seca e em fitólitos de *P. purpureum* em função dos tratamentos

| TRAT. (DIA) | 150 TCS | 30 CLE | 60 CLE | 90 CLE | 120 CLE | 150 CLE | CV |
|----------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|--------|
| FOLHA | | | | | | | |
| CMS (mg kg ⁻¹) | 13,11 A | 25,35 B | 17,43 A | 14,47 A | 16,16 A | 14,47 A | 17,68 |
| COMS(mg/pta) | 0,93 A | 0,57 A | 0,70 A | 0,80 A | 0,78 A | 0,82 A | 28,94 |
| CFi (mg kg ⁻¹) | 113,80 A | 271,8 B | 215,5 A | 208,50 A | 342,10 B | 266,60 B | 41,84 |
| COFi (mg/pta) | 0,29 A | 0,08 A | 0,17 A | 0,32 A | 0,58 A | 0,54 A | 74,47 |
| COTF (mg/pta) | 1,22 A | 0,65 A | 0,87 A | 1,10 A | 1,37 A | 1,36 A | 34,44 |
| PFi (%) | 24,23 A | 12,18 A | 19,73 A | 29,96 A | 38,31 B | 38,37 B | 30,72 |
| COLMO | | | | | | | |
| CMS (mg kg ⁻¹) | 0,42 A | 1,66 B | 0,75 A | 0,59 A | 0,55 A | 0,60 A | 41,9 |
| COMS (mg/pta) | 0,060 A | 0,018 B | 0,024 B | 0,036 A | 0,053 A | 0,06 A | 56,72 |
| CFi (mg kg ⁻¹) | 134,2 A | 234,4 A | 257,4 A | 408,6 B | 282,6 B | 179,4 A | 35,27 |
| COFi (mg/pta) | 0,1800 A | 0,0001B | 0,0016B | 0,0250 B | 0,1100 A | 0,0980 A | 110,50 |
| COTC (mg/pta) | 0,24 A | 0,02 B | 0,03 B | 0,06 B | 0,16 A | 0,16 A | 76,59 |
| PFi (%) | 67,8 A | 0,42 B | 6,8 B | 38,08 A | 63,32 A | 62,71 A | 33,17 |
| RAIZ | | | | | | | |
| CMS (mg kg ⁻¹) | 19,75 A | 44,01 B | 57,61 B | 31,01 B | 35,88 B | 24,98 A | 30,49 |
| COMS (mg/pta) | 1,21 A | 0,20 B | 1,37 A | 1,12 A | 1,18 A | 0,85 A | 36,18 |
| CFi (mg kg ⁻¹) | 204,00 A | 192,60 A | 254,70 A | 227,90 A | 389,50 B | 300,90 A | 37,22 |
| COFi (mg/pta) | 0,110 A | 0,003 B | 0,030 A | 0,060 A | 0,090 A | 0,135 A | 81,74 |
| COTR (mg/pta) | 1,33 A | 0,20 B | 1,40 A | 1,17 A | 1,27 A | 0,98 A | 34,68 |
| PFi (%) | 8,81 A | 1,21 B | 1,79 A | 4,80 A | 7,25 A | 13,88 A | 77,48 |
| TOTAL | | | | | | | |
| CTFi (mg/pta) | 0,59 A | 0,09 B | 0,21 A | 0,41 A | 0,79 A | 0,77 A | 60,91 |
| COTP (mg/pta) | 2,80 A | 0,87 B | 2,30 A | 2,34 A | 2,80 A | 2,51 A | 25,85 |
| PTFi (%) | 21,15 A | 9,39 A | 8,75 A | 17,87 A | 26,12 A | 30,24 B | 37,9 |

Fonte: Elaborado pela autora

Notas: CMS = Concentração na massa seca; COMS = Conteúdo na massa seca; CFi = Concentração nos fitólitos; COFi = Conteúdo nos fitólitos; COTF = Conteúdo total na folha; COTC = Conteúdo total no colmo, COTR = Conteúdo total na raiz; PFi = Percentagem nos fitólitos; COTFi = Conteúdo total nos fitólitos; COTP = Conteúdo total na planta; PTFi = Percentagem total nos fitólitos. Médias dos tratamentos referentes à concentração de fitólitos em plantas cultivadas em lodo de esgoto (CLE), em diferentes períodos, com a mesma letra da concentração de fitólitos de plantas cultivadas em solo (TCS), na horizontal, não diferem a 5% de probabilidade, pelo teste Dunnett.

Para a real avaliação da capacidade fitoextratora de metais pesados por uma espécie vegetal, é preciso considerar o conteúdo de determinado elemento químico nos tecidos orgânicos e nos fitólitos. Quando o material vegetal é submetido à digestão ácida (Epa-3051), são liberados apenas os elementos contidos nos tecidos orgânicos. Neste caso, os corpos silicosos, que são estruturas muito resistentes, permanecem intactos, podendo ser dissolvidos com ácido fluorídrico (BAUER *et al.*, 2011).

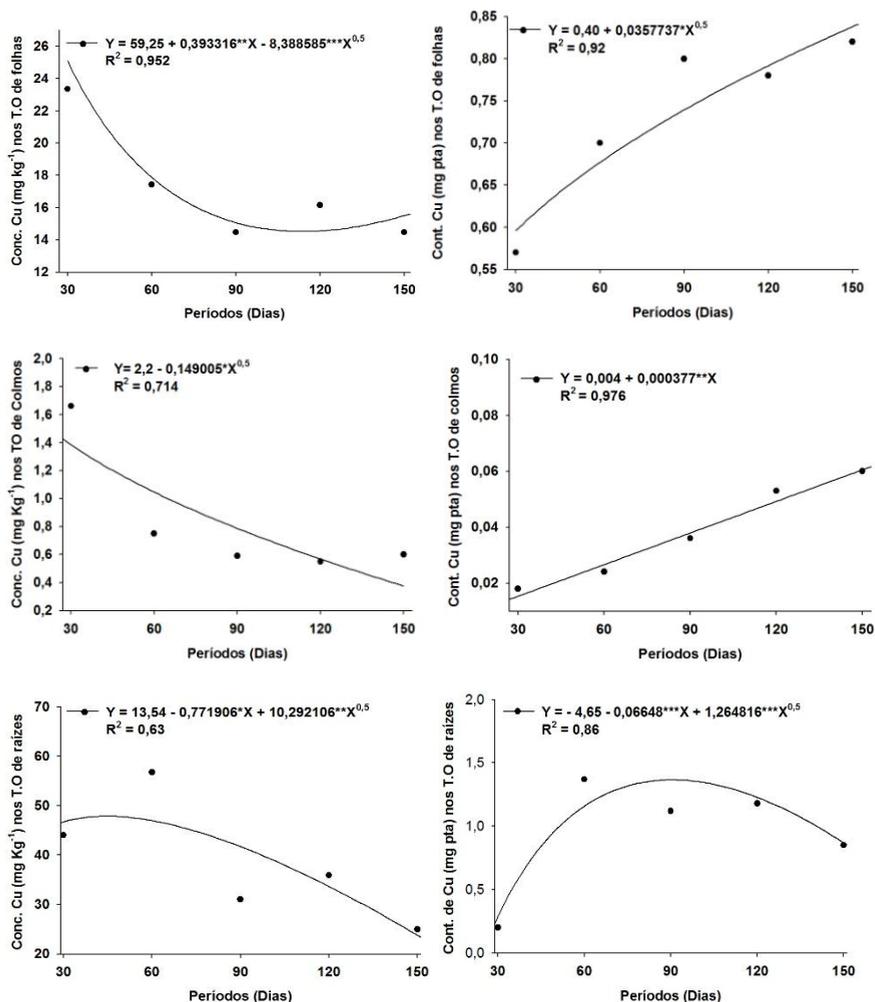
Neste caso, considerando a extração total de Cu, somando tecidos orgânicos mais fitólitos, observa-se que o conteúdo total de Cu, no cultivo em solo, diferiu dos conteúdos de cultivos em lodo de esgoto (TABELA 7). No colmo, o tratamento com cultivo em solo apresentou conteúdo total de Cu maior que os tratamentos com cultivo em lodo nos períodos de 30, 60 e 120 dias, enquanto, na raiz, o conteúdo total de Cu do cultivo em solo foi maior do que o cultivo em lodo no período de 30 dias. Considerando o conteúdo total

de Cu, ou seja, considerando toda a planta, o cultivo em solo superou apenas o tratamento com cultivo em lodo para o período de 30 dias. A comparação entre o cultivo no solo e o tratamento com cultivo em lodo no período de 150 dias revela que não houve diferença na acumulação de Cu entre estes tratamentos. Apesar da alta concentração de Cu no resíduo, 10 vezes maiores que no solo, este elemento possui alta afinidade pela formação de ligações estáveis com a matéria orgânica presente no lodo de esgoto (INGELMO *et al.*, 2012), de forma que, o processo de complexação destes íons pela matéria orgânica, faz com que haja decréscimo na disponibilidade deste nutriente para *P. purpureum* cultivado no lodo de esgoto.

Apesar da atuação da matéria orgânica do lodo na redução da disponibilidade de Cu para absorção pelas plantas, observa-se que o maior teor inicial deste elemento no lodo de esgoto em comparação ao solo (TABELA 1), refletiu-se em maior sequestro deste elemento nos fitólitos, principalmente nas folhas de *P. purpureum* (TABELA 7). Fica evidente, portanto, a influência da concentração do elemento no substrato e da idade da planta na inclusão deste metal na estrutura do biomineral, tornando-o indisponível para a teia trófica por um longo período geológico. Ressalte-se, ainda, o valor percentual do sequestro que chega próximo de 38% nas folhas, no cultivo em lodo até 150 dias e de até 63% no colmo para períodos a partir de 120 dias de crescimento.

3.6.2.1 Concentração e conteúdo de Cu em *P. purpureum* cultivado lodo de esgoto em diferentes períodos

As concentrações de Cu nas folhas, colmos e raízes de *P. purpureum* cultivado em lodo de esgoto foram influenciadas pelos períodos de cultivo. Na fase inicial a gramínea apresentou alta concentração do nutriente, no entanto, o acelerado crescimento vegetativo neste período acarretou na diluição do elemento na massa seca (FIGURA 8).



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 8 - Equações de regressão referentes à concentração e conteúdo de Cu nos tecidos orgânicos de *P. purpureum* cultivado em lodo de esgoto em diferentes períodos.

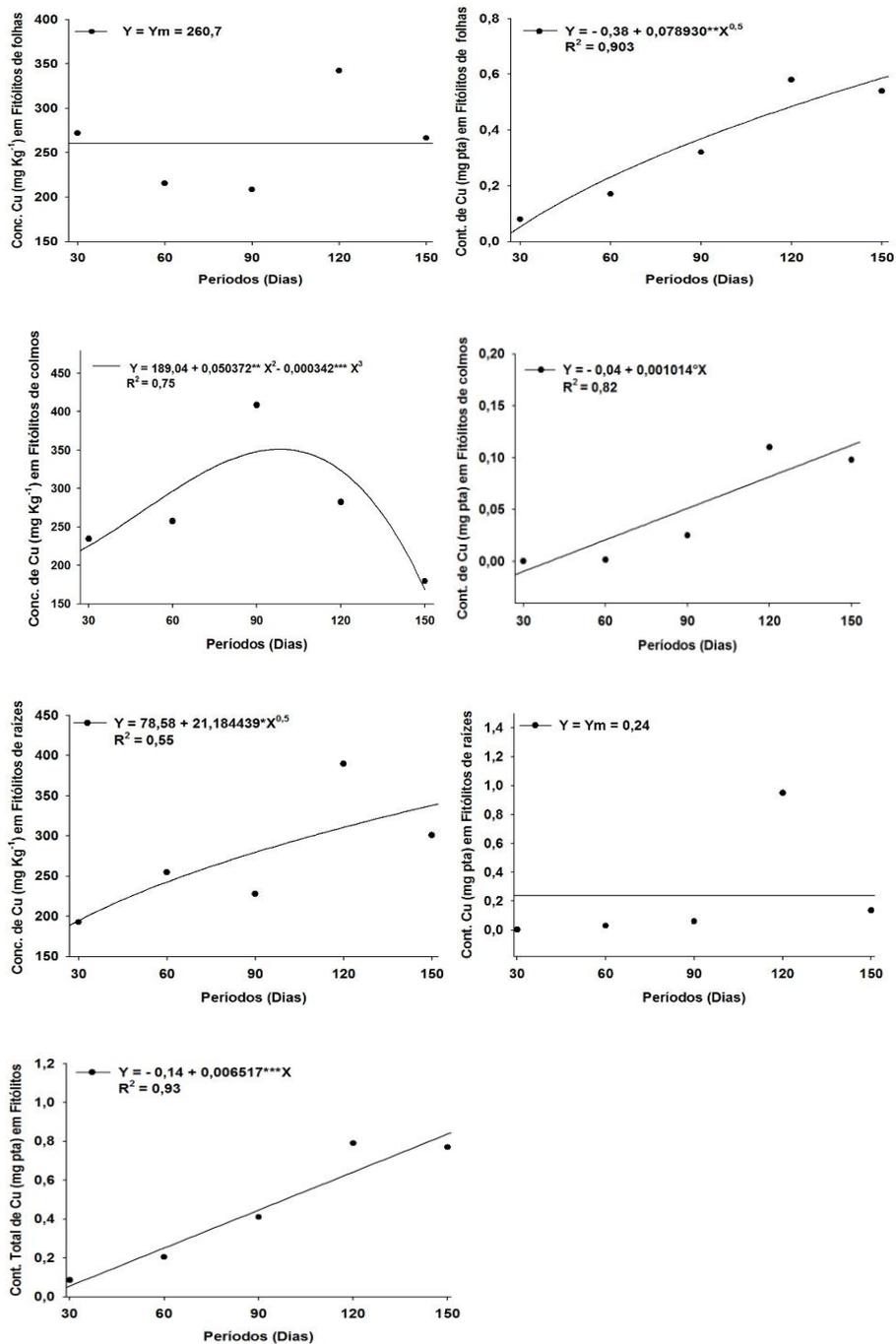
Notas: *, **, *** = significativos a 5, 1 e 0,1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste t.

O aumento na produção de biomassa, ao longo do tempo, fez com que aumentasse de forma aproximadamente linear o conteúdo de Cu em folhas e colmos. Nas raízes, após 60 dias de cultivo, houve decréscimo no conteúdo do micronutriente. No entanto, as concentrações de Cu encontradas no presente trabalho estão muito abaixo do potencial de acumulação da graminea. Liu *et al.* (2009) relataram que o *P. purpureum* é

uma espécie promissora para descontaminação de áreas contaminadas com Cu, uma vez que tolera contaminações de Cu de até 1.500 mg kg^{-1} de solo, sem ocorrer decréscimo na produção de massa seca. Na referida contaminação, a planta acumulou em seus tecidos orgânicos 485,63 e $194,07 \text{ mg kg}^{-1}$, na parte aérea e raízes, respectivamente. Tal fato demonstra que, apesar das elevadas concentrações de Cu no lodo de esgoto deste estudo, este não se encontrava totalmente disponível para absorção pelo *P. purpureum*, possivelmente em razão das reações de complexação pela matéria orgânica.

Em fitólitos extraídos de folhas, as concentrações de Cu permaneceram constantes nos diferentes períodos. Todavia, em corpos silicosos de colmos, os teores de Cu aumentaram inicialmente e depois sofreram um ligeiro decréscimo. Resultados diferentes foram observados para fitólitos de raízes, nos quais houve acréscimo aproximadamente linear nos teores do elemento sequestrado (FIGURA 9).

Com o aumento da produção de biomassa, houve acréscimo no conteúdo de Cu sequestrado em fitólitos de folhas, colmos e na planta total. Nos corpos silicosos de raízes, o conteúdo permaneceu constante ao longo de todo o período experimental (FIGURA 9). Plantas de *E. andevalensis*, que se desenvolveram em solos contaminados com Cu, 1.072 mg kg^{-1} concentraram cerca de 2.000 mg kg^{-1} deste elemento em fitólitos (BUJÁN, 2013). Esta pesquisadora afirma que a presença e quantificação de um determinado elemento químico na composição dos fitólitos estão diretamente relacionadas à espécie vegetal estudada e à concentração e biodisponibilidade do metal pesado no substrato de cultivo, pois estes podem formar complexos, principalmente com a matéria orgânica.

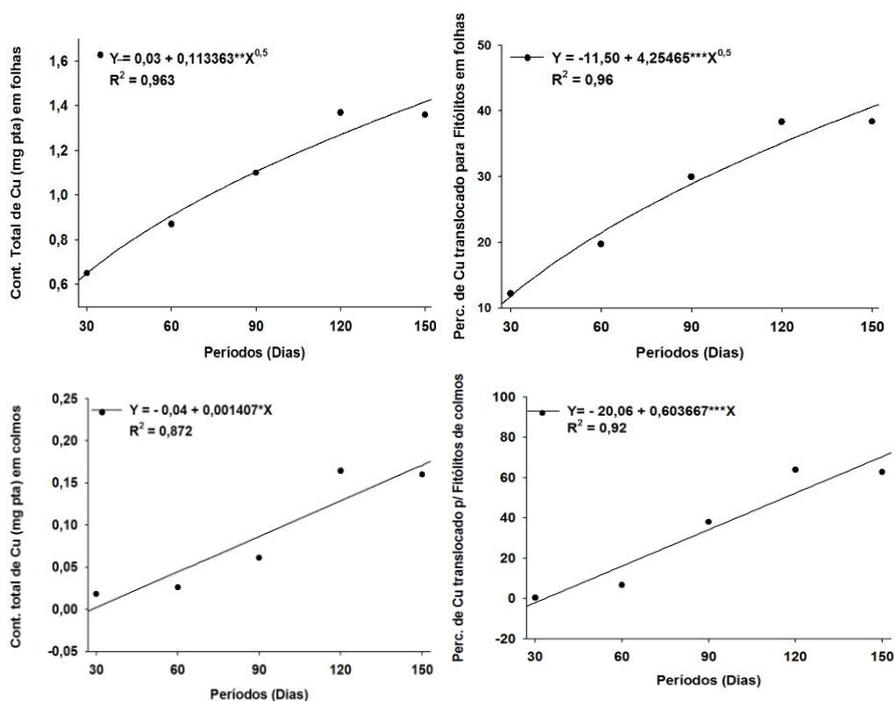


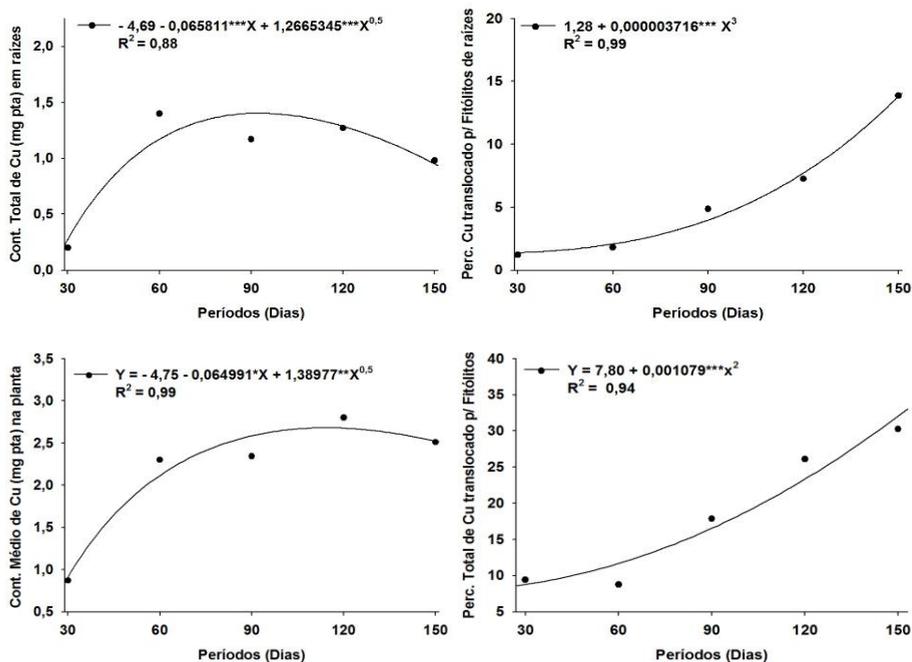
Notas: Elaborado pela autora.

Figura 9 - Equações de regressão referentes à concentração e conteúdo de Cu em fitólitos de *P. purpureum* cultivado em lodo de esgoto em diferentes períodos.

Notas: °, **, ***= significativos a 5, 1 e 0,1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste

A elevada produção de biomassa e de fitólitos por *P. purpureum* com o avançar dos períodos de cultivo foi o responsável pelo aumento no conteúdo total de Cu em folhas e colmos, exceção para conteúdo em raízes, nas quais os valores decresceram levemente após 93 dias de cultivo. Depois do período de 114 dias, os conteúdos totais na gramínea permaneceram praticamente constantes. Houve acréscimo na percentagem de Cu em fitólitos à medida que avançou o estágio de vida da planta, indicando que, com o avançar do tempo, a planta acumula maiores quantidades de Cu nos corpos silicosos (FIGURA 10). Pesquisa realizada por Oliva *et al.* (2011) relata que a alta tolerância da espécie *Erica andevalensis* a elevados níveis de Cu pode estar relacionada ao sequestro do referido elemento químico na estrutura dos corpos silicosos. Esses pesquisadores observaram que as plantas que crescem em solos contaminados apresentavam fitólitos constituídos por depósitos de silício associados com Cu, contribuindo para imobilização e inativação dos excessos desse elemento.





Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 10 - Equações de regressão referentes ao conteúdo total e à percentagem de Cu em fitólitos de *P. purpureum* cultivado em lodo de esgoto em diferentes períodos.

Notas: *, **, ***= significativos a 5, 1 e 0,1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste t.

3.6.3 Concentração e conteúdo de Zn em *P. purpureum* cultivado em solo e lodo de esgoto

A concentração de Zn nos tecidos orgânicos de folhas e raízes foram maiores nos cultivos em lodo para períodos a partir de 60-90 dias, comparado ao cultivo no solo, enquanto, para o colmo, não houve diferença entre os cultivos nos dois substratos (TABELA 8). Na gramínea cultivada em lodo de esgoto, exceto na folha no período de 30 dias, foram encontradas concentrações de Zn acima de 100 mg kg^{-1} de massa seca. Kabata-Pendias (2011) afirma que concentrações de 100 a 500 mg kg^{-1} de Zn são consideradas como excessivas ou tóxicas para as plantas.

A partir de 60 dias de experimentação, o *P. purpureum* cultivado em lodo apresentava o mesmo conteúdo de Zn do cultivo em solo, em todas as partes da planta avaliadas (TABELA 8). O conteúdo do elemento em folhas e

raízes do tratamento com cultivo em lodo por período de 150 dias foi cerca de 2 vezes maior que no cultivo no solo. O conteúdo de Zn em uma planta é um importante indicativo da eficiência de fitoextração de uma determinada espécie. Quase todos hiperacumuladores de Zn reportados na literatura apresentam altas concentrações do elemento químico na massa seca, todavia, produzem pouca biomassa, o que resulta em uma baixa absorção do metal por área (ZHANG *et al.*, 2010). A alta produção de massa seca pelo *P. purpureum* e capacidade de acumulação de Zn o potencializa para ser usado em programas de fitorremediação de Zn.

As concentrações de Zn em fitólitos de folhas e colmo foram mais elevadas nos tratamentos com cultivos em lodo do que com o cultivo em solo, enquanto, para as raízes, não houve diferença entre tratamentos (TABELA 8). Neste caso, fica evidente o efeito da maior concentração de Zn no lodo, comparado ao solo (TABELA 1). Segundo Buján (2013), a concentração de um metal pesado na composição dos fitólitos está diretamente relacionada à sua abundância e disponibilidade no substrato onde a planta se desenvolve. Embora o conteúdo de Zn em fitólitos do colmo não tenha sido influenciado pelo tipo de substrato, nas folhas, houve maior acúmulo do nutriente no cultivo em lodo por 150 dias do que no cultivo no solo, enquanto, nas raízes, o conteúdo do cultivo no solo superou apenas o cultivo em lodo até 60 dias. A capacidade de sequestro de Zn em fitólitos produzidos pelo *P. purpureum* pode ser um mecanismo fundamental que ajuda a reduzir a toxicidade do metal para a espécie (COSTA *et al.*, 2010).

Aos 150 dias, raízes e folhas da gramínea cultivada em lodo de esgoto apresentavam conteúdo total de Zn (teor no tecido orgânico mais fitólitos) cerca de 1,8 e 2,1 vezes maiores, respectivamente, quando comparado ao cultivo em solo (TABELA 8). Considerando o conteúdo na planta completa, o tratamento com cultivo em lodo por 150 dias acumulou 2 vezes mais Zn do que o cultivo em solo. Embora não tenha sido detectada diferença na percentagem de Zn em fitólitos entre os cultivos no solo e em lodo, constatam-se sequestros da ordem de até 18% deste elemento na folha, o que é de grande relevância ambiental.

Tabela 8 - Concentração e conteúdo de Zn na massa seca e em fitólitos de *P. purpureum* em função dos tratamentos

| | 150 TCS | 30 CLE | 60 CLE | 90 CLE | 120 CLE | 150 CLE | CV (%) |
|----------------------------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|--------|
| FOLHA | | | | | | | |
| CMS (mg kg ⁻¹) | 28,9 A | 76,15 A | 130,3 A | 193,3 B | 252,5 B | 269,5 B | 23,25 |
| COMS (mg/pta) | 8,68 A | 1,69 B | 5,35 A | 10,38 A | 12,18 A | 14,38 B | 34,48 |
| CFi (mg kg ⁻¹) | 670,56 A | 1.217,0 B | 1.503,5 B | 1.287,4 B | 1.714,7 B | 1.782,8 B | 25,7 |
| COFi (mg/pta) | 1,30 A | 0,34 A | 1,12 A | 1,85 A | 2,65 A | 3,40 B | 51,77 |
| COT (mg/pta) | 9,98 A | 2,03 B | 6,47 A | 12,23 A | 14,83 A | 18,23 B | 33,0 |
| PFI (%) | 16,63 A | 17,45 A | 8,14 A | 15,50 A | 17,30 A | 18,48 A | 39,6 |
| COLMO | | | | | | | |
| CMS (mg kg ⁻¹) | 60,60 A | 242,83 A | 179,50 A | 190,0 A | 213,80 A | 197,5 A | 64,25 |
| COMS (mg/pta) | 9,10 A | 2,10 b | 5,52 A | 12,57 A | 20,39 A | 21,26 A | 75,85 |
| CFi (mg kg ⁻¹) | 829,21 A | 3.991,1 B | 1.570,6 B | 1.504,4 B | 1.499,9 B | 2.067,7 B | 141,2 |
| COFi (mg/pta) | 1,50 A | 0,010 A | 0,0102 A | 0,105 A | 0,58 A | 1,17 A | 214,76 |
| COT (mg/pta) | 10,60 A | 2,10 A | 5,53 A | 12,67 A | 20,47 A | 22,43 A | 73,424 |
| PFI (%) | 11,13 A | 0,054 A | 0,19 A | 0,90 A | 3,78 A | 7,09 A | 203,55 |
| RAIZ | | | | | | | |
| CMS (mg kg ⁻¹) | 137,28 A | 102,17 A | 449,75 B | 299,25 B | 525,25 B | 514,75 B | 26,18 |
| COMS (mg/pta) | 7,77 A | 0,48 B | 10,87 A | 10,64 A | 17,04 B | 17,53 B | 35,19 |
| CFi (mg kg ⁻¹) | 1196,3 A | 1641,7 A | 1560,6 A | 1683,9 A | 1735,5 A | 1649,9 A | 34,55 |
| COFi (mg/pta) | 0,78 A | 0,02 B | 0,15 B | 0,38 A | 0,38 A | 0,86 A | 89,95 |
| COT (mg/pta) | 8,55 A | 0,49 B | 11,02 A | 11,02 A | 17,42 B | 18,40 B | 34,97 |
| PFI (%) | 13,22 A | 4,32 A | 1,40 A | 3,68 A | 2,24 A | 4,33 A | 131,64 |
| TOTAL | | | | | | | |
| COTFi (mg/pta) | 3,58 A | 0,36 B | 1,28 A | 2,34 A | 3,61 A | 5,43 A | 67,64 |
| COTP (mg pta) | 29,14 A | 4,64 B | 23,03 A | 35,92 A | 53,23 B | 59,06 B | 34,40 |
| PTFi (%) | 10,19 A | 7,89 A | 5,82 A | 6,64 A | 7,19 A | 9,44 A | 48,38 |

Fonte: Elaborado pela autora.

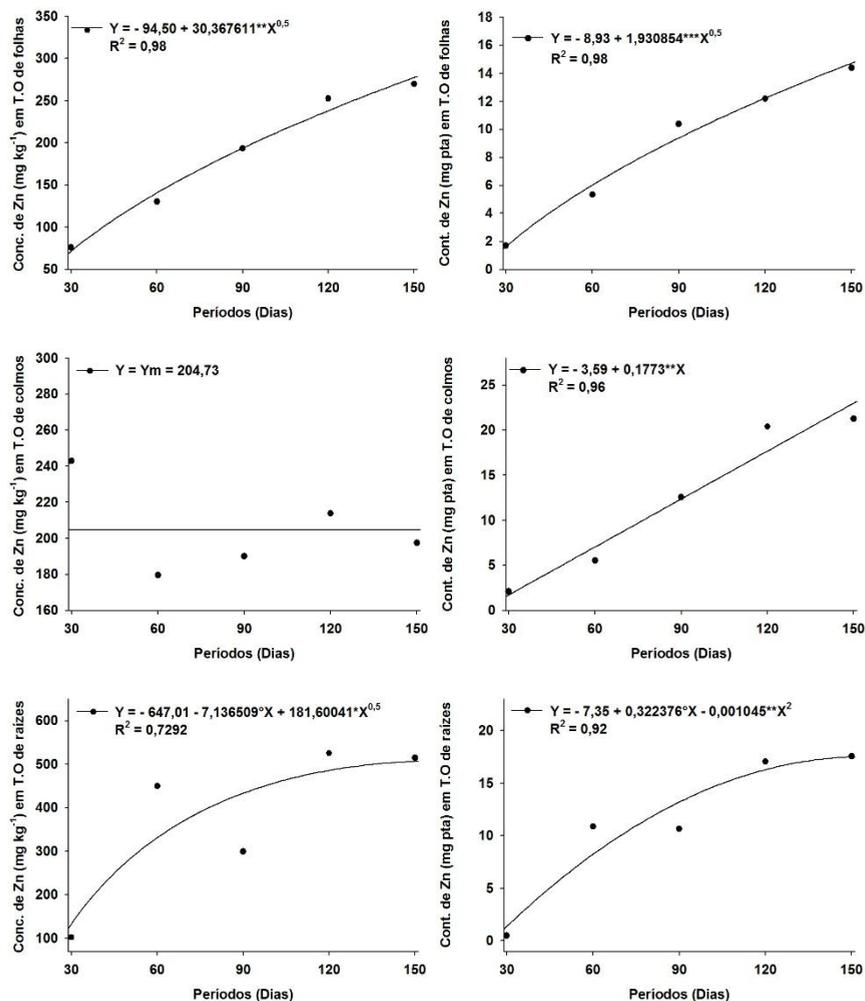
Notas: CMS = Concentração de Zinco na massa seca; COMS= Conteúdo de Zinco na massa seca; CFi = Concentração de Zinco nos fitólitos; COFi = Conteúdo de Zinco nos fitólitos; COT = Conteúdo total de Zinco; PFI = Percentagem de Zinco nos fitólitos em relação ao total; COTFi = Conteúdo total de Zinco nos fitólitos; COTP = Conteúdo total de Zinco na planta; PTFi = Percentagem total de Zn nos fitólitos. Médias dos tratamentos referentes à concentração de fitólitos em plantas cultivadas em lodo de esgoto (CLE), em diferentes períodos, com a mesma letra da concentração de fitólitos de plantas cultivadas em solo (TCS), na horizontal, não diferem a 5% de probabilidade, pelo teste Dunnett.

A biomineralização da sílica é, na maioria das vezes, um processo irreversível; após a morte e decomposição do material vegetal, os fitólitos são liberados no solo, apresentando grande resistência à decomposição e permanecendo estáveis por milhares de anos (CAO *et al.*, 2006; PARR; SULLIVAN, 2005; WILDING; DREES, 1971).

3.6.3.1 Concentração e conteúdo de Zn em *P. purpureum* cultivado em lodo de esgoto em diferentes períodos

Em plantas de *P. purpureum* cultivadas em lodo de esgoto, ocorreram incrementos nas concentrações de Zn nos tecidos orgânicos de folhas e raízes ao longo do período de cultivo (FIGURA 11). Todavia, não houve alteração nos teores deste nutriente no colmo da gramínea nos

diferentes períodos experimentais. Apesar da elevada fitoextração de Zn pela gramínea, a espécie não pode ser enquadrada como uma espécie hiperacumuladora do referido elemento (BAKER; BROOKS, 1989).



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 11 - Equações de regressão referentes às concentrações e conteúdos de Zn nos tecidos orgânicos de *P. purpureum* cultivados em lodo de esgoto em diferentes períodos.

Notas: °, *, ** = significativos a 10, 5 e 1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste t.

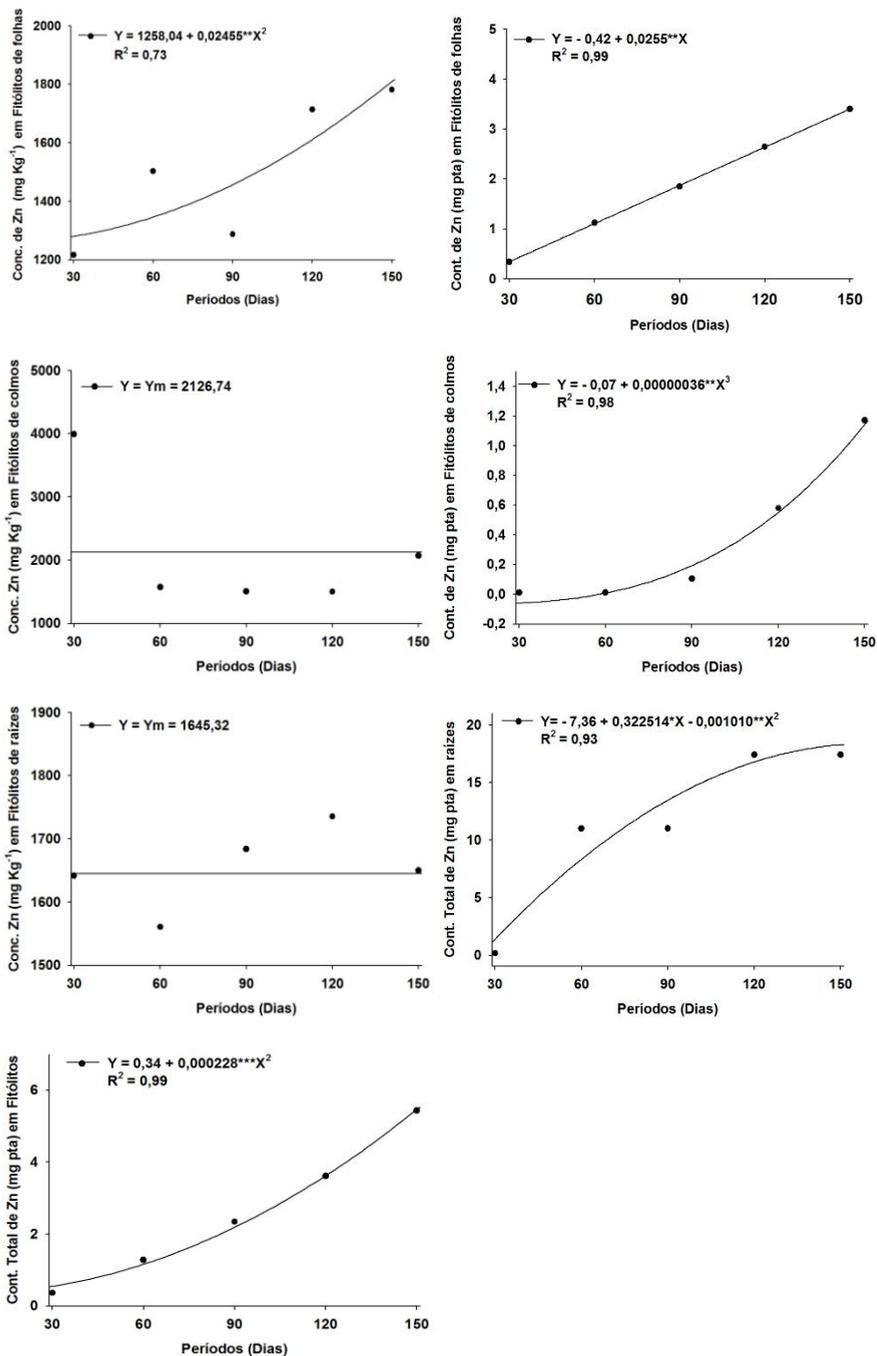
Em conformidade com os autores citados acima, plantas hiperacumuladoras acumulam 10.000 mg kg⁻¹ de Zn na biomassa. No entanto, esse parâmetro não leva em consideração a biomassa total produzida pela espécie. A baixa produção de biomassa e o crescimento lento

são fatores que limitam sobremaneira a utilização de espécies hiperacumuladoras em programas de descontaminação de áreas (ALI *et al.*, 2013).

A alta produção de biomassa vegetal foi a responsável pelo aumento nos conteúdos de Zn em todos os tecidos da gramínea (FIGURA 11). Pesquisa realizada por Zhang *et al.* (2010), cultivando *P. purpureum* por 100 dias em solo contaminado com 600 mg kg⁻¹ de Zn, encontraram conteúdo deste elemento na parte aérea e em raízes, respectivamente, da ordem de 2 e 8 mg por planta. Estes valores são bem inferiores aos encontrados neste trabalho aos 150 dias de cultivo em lodo de esgoto, o qual apresentou conteúdos totais nas diferentes partes da planta variando de 18 a 24 mg por planta. Considerando-se apenas os conteúdos de Zn do tecido orgânico (sem considerar os fitólitos), para o mesmo tratamento citado, as variações foram da ordem de 15 a 23 mg por planta.

Houve acréscimo na concentração de Zn em fitólitos de folhas com o incremento do período de cultivo (FIGURA 12). Todavia, os teores do metal em fitólitos de raízes e colmo não foram influenciados pelos diferentes períodos de cultivo. O aumento do sequestro de Zn em folhas tem enorme importância ambiental, uma vez que esta parte da planta se destaca pela produção de biomassa e de fitólitos (BAUER *et al.*, 2011).

O crescente acúmulo de fitólitos, ao longo do ciclo de vida da gramínea, foi também responsável pelo aumento do conteúdo do elemento sequestrado nestes biominerais em todos os órgãos da planta (FIGURA 12). Conforme já comentado, o sequestro de Zn em fitólitos é um processo praticamente irreversível, pois os biominerais apresentam grande durabilidade e persistência no meio ambiente, mesmo quando submetidos a intempéries climáticas e processos digestivos por animais (PARR, 2006; PIPERNO, 2006; ROVNER, 1986).

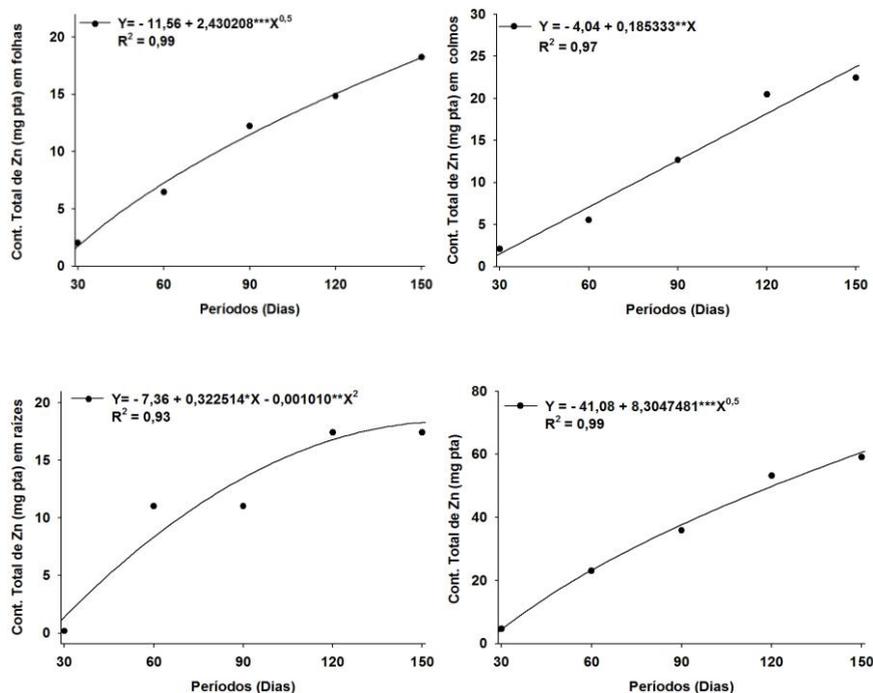


Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 12 - Equações de regressão referentes às concentrações e os conteúdos de Zn em fitólitos de *P. purpureum* cultivados em lodo de esgoto em diferentes períodos.

Notas: *, **, *** = significativos a 5, 1 e 0,1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste t.

O incremento dos períodos de cultivo do *P. purpureum* fez com que houvesse maior produção de biomassa vegetal e de fitólitos e, por consequência, maior o conteúdo total de Zn capturado pela planta em todos os seus órgãos (FIGURA 13).

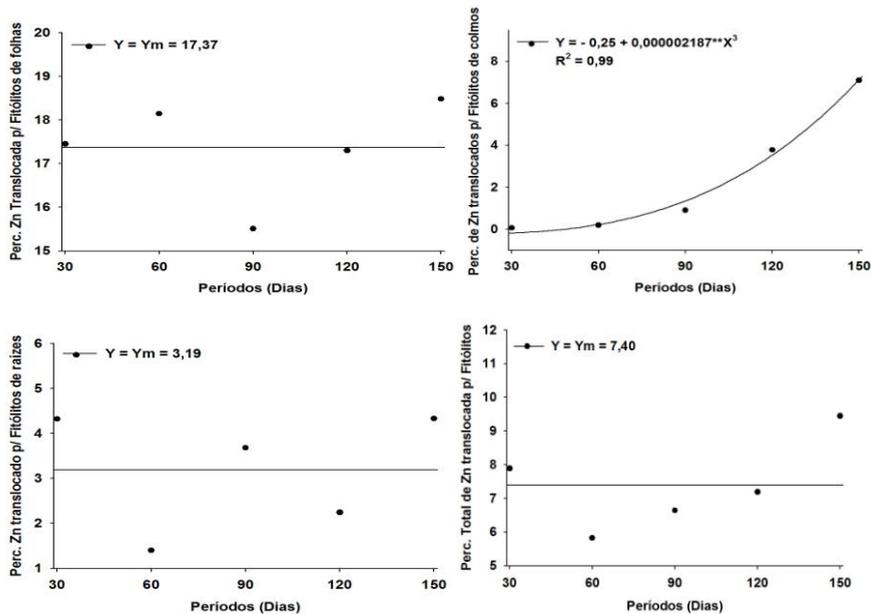


Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 13 - Equações de regressão referentes aos conteúdos totais de Zn sequestrado em *P. purpureum* cultivado em lodo de esgoto em diferentes períodos.

Notas: *, **, ***= significativos a 5, 1 e 0,1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste t.

Todavia, os períodos de cultivo não influenciaram a percentagem de Zn sequestrada pelos fitólitos (FIGURA 14). Exceção para fitólitos do colmo, nos quais a concentração do elemento aumentou de forma linear. A alta produção de biomassa e o rápido crescimento de *P. purpureum* o potencializa para ser usado em processos de fitorremediação de ambientes contaminados com Zn (ZHANG *et al.*, 2010).



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 14 - Percentagem de Zn sequestrado em fitólitos de *P. purpureum* cultivado em lodo de esgoto em diferentes períodos.

Notas: *, **, ***= significativos a 5, 1 e 0,1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste t.

CONCLUSÕES

O cultivo de *P. purpureum* em lodo de esgoto apresenta alta potencialidade de produção de massa seca; para essa finalidade, seria recomendado o cultivo desta gramínea por cerca de 119 dias.

Durante o processo de cultivo de *P. purpureum* em lodo de esgoto, ocorreu a estabilização do resíduo, melhorando suas características para uso agrônomico. No decorrer desta fase, a gramínea exerceu função remediadora evitando que houvesse acréscimos nas concentrações de As, Cu e Zn.

A gramínea tem alta capacidade de produção de fitólitos e este processo está diretamente relacionado ao estágio vegetativo da planta.

O *P. purpureum* é capaz de acumular concentrações relevantes de As e Zn na massa seca, assim como sequestrar elevadas quantidades de Cu e Zn em fitólitos. No entanto, os teores de metais quantificados podem sofrer interferência dos seguintes fatores: concentração dos contaminantes presentes no substrato utilizado para cultivo, períodos de cultivo, parte da planta analisada.

CAPÍTULO 3 FITORREMEDIAÇÃO DE 1,4-CB E 1,3,5-CB EM LODO DE ESGOTO CULTIVADO COM *PENNISETUM PURPUREUM* EM DIFERENTES PERÍODOS

RESUMO

Uma das grandes limitações do uso agrícola do lodo de esgoto é a presença de clorobenzenos (CB), que são tóxicos ao meio ambiente. Todavia, o uso de técnicas de fitorremediação de lodo de esgoto pode ser uma importante alternativa para a degradação destas substâncias no resíduo. Objetivou-se neste trabalho avaliar o tempo de cultivo de *Pennisetum purpureum* sobre as concentrações de 1,4-CB e 1,3,5-CB em lodo de esgoto. O experimento foi realizado em casa de vegetação do ICA/UFMG, durante 150 dias, utilizando o delineamento em blocos casualizados. Os tratamentos, em cinco repetições, corresponderam a cinco períodos do cultivo de *P. purpureum* em parcelas de lodo de esgoto (30; 60; 90; 120 e 150 dias a partir do plantio de estacas) e uma testemunha (parcelas de lodo não cultivado). Aos 30 dias de cultivo, o lodo de esgoto apresentou elevações nos teores de 1,4-CB e 1,3,5-CB da ordem de 15,5 e 8,36 vezes, respectivamente, os teores encontrados no resíduo antes do início do cultivo. Aos 150 dias não foram observadas diferenças significativas entre as concentrações de 1,4-CB da testemunha (sem cultivo) e o tratamento com cultivo em lodo em nenhuma das camadas avaliadas. Por outro lado, a testemunha, nas camadas de 0 a 20 cm, apresentou maiores concentrações de 1,3,5-CB, quando comparada às mesmas profundidades do lodo de esgoto cultivado. A permanência dos clorobenzenos estudados, ao longo do tempo, pode estar relacionada à estrutura química do contaminante, a qual apresenta características recalcitrantes à decomposição. Porém, no lodo cultivado, na camada de 10-20 cm, houve decréscimo das concentrações de 1,4-CB, enquanto, na profundidade de 20-30 cm, tanto as concentrações de 1,4-CB quanto de 1,3,5-CB diminuíram. As reduções observadas podem ser resultado das interações mutualísticas entre organismos decompositores e as raízes de *P. purpureum*, favorecendo o processo de decomposição.

Palavras-chave: Biossólido, substância orgânica tóxica, poluição ambiental.

**CHAPTER 3 PHYTOREMEDIATION OF 1,4-CB AND 1,3,5-CB IN SEWAGE
SLUDGE CULTIVATED WITH *PENNISETUM PURPUREUM*
IN DIFFERENT PERIODS**

ABSTRACT

One of the major limitations of sewage sludge agricultural use is the presence of chlorobenzene (CB), which are toxic to the environment. However, the use of techniques of sewage sludge phytoremediation may be an important alternative for the degradation of these substances in the residue. The objective of this study was to evaluate the time of *Pennisetum purpureum* farming on concentrations of 1,4-CB and 1,3,5-CB in sewage sludge. The experiment was conducted at the ICA greenhouse/UFMG, during 150 days, using a randomized block design. The treatments, with five replicates, corresponded to five times of the *P. purpureum* cultivation in sewage sludge (30, 60, 90, 120 and 150 days from planting cuttings) and one control (sludge plots uncultivated). After 30 days of cultivation the sewage sludge had elevations in the levels of 1,4-CB and 1,3,5-CB of the order of 15.5 and 8.36 times, respectively, the levels found at residue before the cultivation. After 150 days significant differences were observed between the concentrations of 1,4-CB control (sludge plots uncultivated) and treatment with sewage sludge in cultivation in any of the evaluated layers. On the other hand, control, in layers from 0 to 20 cm, showed higher concentrations of 1,3,5-CB, compared to the same depths grown sewage sludge. The permanence of chlorobenzenes studied over time may be related to contaminant chemical structure, which has recalcitrant characteristics decomposition. However, the cultured sludge in the 10-20 cm layer, there was a decrease in the concentrations of CB-1,4, while at a depth of 20-30 cm, both concentrations of 1,4-CB as 1,3,5-CB decreased. The observed reductions may be the result of mutualistic interactions between decomposing organisms and the roots of *P. purpureum*, favoring the decomposition process.

Keywords: Biosolids, Toxic organic substance, Environmental pollution.

1 INTRODUÇÃO

Diante do iminente risco de escassez de água potável no mundo, uma das principais providências para conservar os mananciais tem sido a construção de Estações de Tratamento de Esgoto (ETE). No entanto, durante o processo de tratamento das águas residuárias é produzido um resíduo sólido denominado lodo de esgoto, cuja disposição de forma ambientalmente correta e economicamente viável é dos maiores desafios enfrentados pelas ETEs.

A deposição em aterros sanitários, a incineração e a utilização como fertilizante na agricultura, são apontadas como as alternativas mais comuns para a destinação do lodo de esgoto (SONG *et al.*, 2013). Todavia, o uso agrícola destaca-se como sendo a mais adequada, dada a riqueza do lodo de esgoto em matéria orgânica e nutrientes essenciais para as plantas.

Apesar de todos os benefícios advindos da utilização do lodo de esgoto em sistemas agrícolas, é preciso ter cautela, pois este resíduo pode apresentar em sua composição altas concentrações de contaminantes como: organismos patogênicos, metais pesados e compostos orgânicos persistentes (YU *et al.*, 2011). Dentre os compostos orgânicos do lodo, podemos citar os clorobenzenos (CBs), os quais podem ser encontrados em elevadas concentrações (GUERIN, 2008; OONNITTAN *et al.*, 2009). Este fato pode estar relacionado à ampla utilização destes compostos nos processos agrícolas e industriais (GUERIN *et al.*, 2008), sendo encontrados na composição de solventes orgânicos, agrotóxicos, fluidos dielétricos, desodorantes e desengordurantes (KAMAREI *et al.*, 2010; RAPP, 2001), constituindo uma classe de compostos químicos aromáticos halogenados de grande periculosidade e persistência no meio ambiente (ZHANG *et al.*, 2011).

As características químicas e a diversificada utilização dos CBs são responsáveis pela disseminação desses contaminantes no meio ambiente, podendo entrar na cadeia alimentar e acumular nos seres vivos, causando inúmeros malefícios, como irritação nos olhos, na pele e no aparelho respiratório, bem como anemia (OLIVER *et al.*, 1982). Em casos mais graves

há o comprometimento do sistema nervoso, mutações gênicas e câncer (DJOHAN *et al.*, 2007).

Em razão dos riscos apresentados pelos clorobenzenos, é preciso que se façam estudos sobre o comportamento químico deste contaminante em processos de biorremediação, de forma a se definir as condições ideais para a sua biodegradação (ADEBUSOYE *et al.*, 2007). Tal fato pode ser extensivo aos estudos em lodo de esgoto, uma vez que é inerente a este resíduo a presença da substância mencionada, sendo as suas concentrações limites estabelecidas pela Resolução CONAMA nº 375 (BRASIL, 2006).

Fica evidente, portanto, a necessidade de se minimizar os impactos ambientais, causados pela utilização do lodo de esgoto em sistemas agrícolas, reduzindo-se ao máximo as concentrações de quaisquer contaminantes presentes no resíduo. Assim, este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito do plantio de *Pennisetum purpureum* Shum., por diferentes períodos, sobre as concentrações de 1,4-CB e 1,3,5-CB em lodo de esgoto.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Plantio do *Pennisetum purpureum* em parcelas de lodo de esgoto

O experimento foi realizado em casa de vegetação, na fazenda experimental Professor Hamilton de Abreu Navarro, no Instituto de Ciências Agrárias ICA/UFMG, ao longo de 5 meses. O trabalho foi conduzido no delineamento em blocos casualizados, com 6 tratamentos, os quais corresponderam a 5 períodos do cultivo de *P. purpureum* Shum. Grupo Merker, em parcelas de lodo de esgoto (30; 60; 90; 120 e 150 meses, a partir do plantio de estacas) e 1 testemunha (parcelas de lodo sem cultivo). Os tratamentos tiveram cinco repetições, perfazendo 30 unidades experimentais.

As concentrações iniciais de clorobenzenos, encontrados no lodo de esgoto, anteriormente à instalação das parcelas, foram: 0,004 mg kg⁻¹ de 1,4-CB e 0,023 mg kg⁻¹ 1,3,5-CB.

Na unidade ETE-Vieira, o lodo é processado da seguinte forma: o esgoto que chega à estação é direcionado para os biofiltros percolares, no

qual pelo processo bacteriano há a redução de 90% da matéria orgânica. O líquido proveniente do processo anteriormente citado, com 3% de sólidos totais, segue para centrifugação, atingindo 25% de sólidos. Logo após, é encaminhado para o Secador Térmico, onde é submetido a temperaturas de 350°C, por período de 30 minutos, convertendo-se em material granular (pellets). Vale ressaltar que a energia utilizada para a secagem do resíduo é proveniente do biogás, gerado durante o processo de fermentação nos reatores, sendo um sistema com autossuficiência energética.

As unidades experimentais foram confeccionadas com as seguintes dimensões: 1,0 m de comprimento x 1,0 m de largura x 0,5 m de altura, com 0,5 m³ de volume para preenchimento com o lodo de esgoto.

Logo após o preenchimento das parcelas com lodo de esgoto, foi feito o plantio das estacas de *P. purpureum* Shum. Grupo Merker, coletadas nos canteiros de forragem do ICA/UFMG. O material propagativo foi cortado em toletes com 20 cm, deixando-se apenas uma gema em cada um. O plantio foi feito em uma profundidade de 10 cm, com espaçamento de 20 cm, totalizando 25 plantas por unidade experimental.

2.2 Tratos culturais

A umidade do substrato foi monitorada diariamente com o intuito de manter a quantidade de água necessária para o desenvolvimento da gramínea sem escoamento de chorume. Nos 30 dias iniciais de experimentação, foram realizadas 4 irrigações diárias, com lâminas de irrigação de 1 mm cada, visando à manutenção da umidade na camada superficial. Contudo, a partir dos 60 dias, adotaram -se 2 irrigações diárias com lâminas de 2 mm, em razão das raízes da gramínea já estarem amplamente distribuídas pelo substrato. A temperatura das parcelas foi aferida diariamente antes das irrigações.

2.3 Coletas de amostras

As amostragens de lodo de esgoto, para análises das concentrações de 1,4-CB e 1,3,5-CB, foram feitas, ao final de cada tratamento, em diferentes profundidades: 0-10, 10-20, 20-30, 30-40 e > 40 cm (inicialmente 40-50 cm). Para a parcela sem cultivo de gramíneas, a amostragem foi realizada aos 150 dias do início do ensaio.

2.4 Extração de 1,4-CB e 1,3,5-CB em lodo de esgoto com e sem cultivo

As amostras de lodo de esgoto foram armazenadas em frascos de vidro, alocados em geladeira a 4°C, para preservação dos contaminantes orgânicos. O processo de extração dos clorobenzenos foi realizado nos laboratórios de Agroquímica da UFMG, seguindo a metodologia proposta por Pinho *et al.* (2014). Esta é uma técnica de extração sólido-líquido, na qual a purificação é feita em baixa temperatura, sendo um método de grande eficiência para determinação de nove tipos de clorobenzenos. No presente trabalho, foram monitorados dois contaminantes: diclorobenzeno (1,4-CB), com tempo de retenção de 7,004 minutos e triclorobenzeno (1,3,5-CB), com tempo de retenção de 10,4 minutos.

O processo de extração dos contaminantes seguiu as seguintes etapas:

- Pesagem de 4 gramas de amostras, sendo essa transferida para um frasco de vidro transparente.
- Adição de 2,40 ml de solução de hidróxido de sódio (pH 14,0).
- Aquecimento em banho-maria a 50°C durante 10 min.
- Adição de 8,00 mL da fase de extração, composta de acetonitrila, acetato de etila e diclorometano (6,50, 1,50 e 0,70 mL, respectivamente).
- Homogeneização em vortex, durante 5 min.
- Arrefecimento dos frascos até -18°C durante 45 minutos para o congelamento da água e das lamas.
- A fase orgânica, ainda líquida, foi transferida para uma coluna de vidro (20 cm de comprimento x 10 mm de diâmetro), contendo 0,08 g de lã de vidro, 1,50 g de sulfato de sódio anidro e 2,00 g de sílica. A taxa de fluxo foi

mantida a $0,50 \text{ mL min}^{-1}$ e a coluna foi eluída com acetonitrila até o volume final do extrato atingir de 5,00 mL.

- Foi realizada a homogenização, sendo transferido 1 ml da solução para vials de injeção.

As análises dos extratos foram realizadas em cromatógrafo de gás, Agilent Technologies (GC 7890 A), acoplado com um espectrômetro de massa (MS 5975C), utilizando uma coluna HP-MS capilar 5 (Agilent Technologies). Os cromatogramas foram processados utilizando o programa Data-analise.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos dos clorobenzenos, presentes em lodo de esgoto cultivado por diferentes períodos, foram comparadas à média do tratamento do lodo de esgoto não cultivado a 5% de probabilidade pelo teste Dunnett. Por outro lado, as médias referentes às concentrações dos clorobenzenos, presentes no lodo de esgoto cultivados por diferentes períodos, foram ajustadas a modelos de regressão, testando-se os coeficientes até 10% de probabilidade pelo teste t.

3 RESULTADO E DISCUSSÃO

3.1 Alterações químicas e físicas em lodo de esgoto com e sem cultivo

Nas parcelas cultivadas, houve uma grande variação de temperatura durante os 2 primeiros meses, seguindo o padrão observado nos processos de compostagem. O aquecimento das pilhas iniciou-se a partir do fornecimento de umidade ao sistema, tendo a temperatura alcançado a faixa de $50\text{-}55^{\circ}\text{C}$ aos 15 dias, atingindo a fase termófila e permanecendo assim por 14 dias. As parcelas com lodo sem cultivo passaram pelo mesmo processo de aquecimento, no entanto, a fase termófila ocorreu após 10 dias de experimentação, tendo uma duração de 8 dias, atingindo temperaturas em torno de 75°C . Durante este período, houve decréscimo acentuado no volume das parcelas, em torno de 4% para não cultivadas e 10% para as cultivadas. Durante esta fase inicial, observou-se um acréscimo acentuado na concentração dos dois clorobenzenos monitorados (TABELA 1). Aos 30 dias

de cultivo, os valores médios de concentração de 1,4-CB e 1,3,5-CB em lodo de esgoto foram da ordem de 19,21 e 8,37 vezes, respectivamente, as concentrações obtidas antes do início do ensaio. É possível que a elevação da temperatura nas unidades experimentais tenha favorecido a atividade dos microrganismos decompositores, como bactérias e fungos, os quais utilizam o carbono como fonte de energia (KULIKOWSKA; KLIMIUK, 2011), provocando a perda de massa orgânica e aumento das concentrações dos contaminantes. Segundo Oleszczuk (2007), no decorrer desta fase pode haver perdas entre 15 e 25% da massa total do composto, em virtude da elevada decomposição da matéria orgânica. Haroun *et al.* (2009), também, enfatizam a existência de um incremento na concentração de contaminantes durante a fase de mineralização do lodo de esgoto. Todavia, Adebusoye e Miletto (2011) destacam que a comunidade microbiana, presente no resíduo, pode interferir nos resultados finais, uma vez que, ao mesmo tempo em que há decomposição da matéria orgânica, pode haver degradação de clorobenzenos por várias estirpes bacterianas.

3.2 Concentração de 1,4-CB e 1,3,5-CB em lodo com e sem cultivo

As concentrações de 1,4-CB, verificadas no lodo cultivado por 30 dias, foram maiores que as concentrações observadas no lodo sem cultivo em praticamente todas as camadas avaliadas, exceto para a profundidade de 0-10 cm (TABELA 1). Ao longo do período de cultivo, outros tratamentos diferiram da testemunha, sendo eles: 60 dias de cultivo nas camadas de 20 a >40 cm, e 90 e 120 dias de cultivo nas camadas 30 a >40 cm. Fica bem evidente, portanto, que a influência neste caso foi do período experimental, uma vez que, quando comparadas as concentrações do lodo cultivado por 150 dias com as do lodo sem cultivo, não há diferença em nenhuma das profundidades avaliadas. De acordo com Cai *et al.* (2012) os clorobenzenos são compostos semivoláteis; a redução na concentração deste contaminante, durante a fase de mineralização do lodo de esgoto, está diretamente relacionada ao fornecimento de aeração ao sistema. Estes autores comprovaram que o revolvimento manual das pilhas de composto, a cada

cinco dias, promoveu melhor aeração durante o processo e, por conseguinte, redução acentuada da concentração de clorobenzenos. Com base no princípio de que o revolvimento do lodo de esgoto é o principal fator que define a taxa de biodegradação dos clorobenzenos, conforme mencionado acima, isto explica a semelhança nas concentrações de 1,4-CB nos tratamentos com lodo não cultivado e lodo cultivado por 150 dias, uma vez que não houve revolvimento do lodo de esgoto em nenhum tratamento durante todo o período experimental.

A testemunha, nas camadas de 0-10 e 10-20 cm, apresentou maiores concentrações de 1,3,5-CB mg kg^{-1} , quando comparada às concentrações do lodo de esgoto cultivado, em todos os períodos experimentais (TABELA 1). A menor concentração do contaminante nas referidas camadas de lodo de esgoto cultivado pode ter sido influenciada pelo cultivo *P. purpureum*, uma vez que estas profundidades foram exploradas por um maior volume de raízes da gramínea. Pesquisas comprovam a potencialidade do uso do capim elefante para fitorremediação de compostos tóxicos, em decorrência da excelente capacidade de desenvolvimento da gramínea em ambientes contaminados e capacidade de absorver e acumular elevadas concentrações de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (SOJINU *et al.*, 2010), além de pesticidas organoclorados (SOJINU *et al.*, 2012).

Aos 150 dias de experimentação, as concentrações dos contaminantes no lodo de esgoto cultivado, nas camadas de 20 a >40 cm, não diferiram da testemunha (TABELA 1). A persistência dos dois clorobenzenos mencionados pode estar relacionada às suas estruturas químicas, as quais são reconhecidamente recalcitrantes. Haggblom *et al.* (2006) afirmam que os clorobenzenos são compostos halogenados, com núcleo aromático, que confere maior estabilidade ao composto e que limita a sua degradação química e microbiana. Schroll *et al.* (2004), também, destacam que a biodegradação deste contaminante por microrganismos indígenas do solo ocorre em taxas muito baixas. Sua mineralização poderia ser reforçada por meio da inoculação de bactérias especializadas para degradação desse contaminante. Por outro lado, Zhang *et al.* (2011) expõem que concentrações de clorobenzenos acima de 100 mg L^{-1} causam efeitos

toxicológicos sobre os microrganismos decompositores do solo. Além disso, considerando que o lodo de esgoto é uma matriz complexa, na qual podem ser encontrados vários tipos de contaminantes, como: metais pesados, patógenos e outras substâncias orgânicas persistentes, pode haver também influência destes no processo de decomposição, afetando a atividade biológica e reduzindo a degradação dos clorobenzenos (MOREIRA *et al.*, 2012).

Tabela 1 - Concentração de 1,4-CB e 1,3,5-CB em lodo de esgoto com e sem cultivo de *P. purpureum*

| 1,4-CLOROBENZENO | | | | | | | |
|---------------------------|---------------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|--------|
| PERÍODO | 150TLSC | 30 CLE | 60 CLE | 90 CLE | 120 CLE | 150 CLE | CV |
| PROF. (cm) | ----- mg kg ⁻¹ ----- | | | | | | (%) |
| 0-10 | 0,0410 A | 0,0650 A | 0,0870 A | 0,0250 A | 0,0280 A | 0,0840 A | 137,19 |
| 10-20 | 0,0067 A | 0,0910 B | 0,0450 A | 0,0330 A | 0,0430 A | 0,0240 A | 62,75 |
| 20-30 | 0,0023 A | 0,1150 B | 0,0630 B | 0,0310 A | 0,0460 A | 0,0340 A | 74,22 |
| 30-40 | 0,002 A | 0,0740 B | 0,0820 B | 0,0560 B | 0,0970 B | 0,0340 A | 56,40 |
| >40 | 0,002 A | 0,0391 B | 0,0740 B | 0,1300 B | 0,0680 B | 0,0230 A | 37,02 |
| 1,3,5-CLOROBENZENO | | | | | | | |
| 0-10 | 0,431 A | 0,161 B | 0,115 B | 0,048 B | 0,229 B | 0,185 B | 31,85 |
| 10-20 | 0,483 A | 0,288 B | 0,152 B | 0,095 B | 0,261 B | 0,083 B | 34,56 |
| 20-30 | 0,313 A | 0,268 A | 0,155 A | 0,114 A | 0,172 A | 0,102 A | 85,39 |
| 30-40 | 0,201 A | 0,175 B | 0,384 B | 0,189 A | 0,505 B | 0,159 A | 38,68 |
| >40 | 0,217 A | 0,070 B | 0,315 A | 0,335 A | 0,573 B | 0,106 A | 36,16 |

Fonte: Elaborado pela autora

Notas: TLSC= Testemunha lodo de esgoto sem cultivo; CLE = Cultivo em lodo de esgoto. Médias dos tratamentos referentes às concentrações de clorobenzenos em lodo de esgoto cultivado por diferentes períodos, com a mesma letra da concentração de clorobenzenos em lodo de esgoto sem cultivo, na horizontal, não diferem a 5% de probabilidade, pelo teste Dunnett.

3.2.1 Concentrações de 1,4-CB e 1,3,5-CB em lodo de esgoto em diferentes períodos

As concentrações de 1,4-CB nas camadas de 0-10 e 30-40 cm não foram influenciadas pelos períodos de cultivo, permanecendo constantes, durante todo o período experimental (FIGURA 1 A e D). Também, não houve variação nas concentrações do contaminante 1,3,5-CB nas camadas de 0-10,

10-20 e 30-40 cm em lodo de esgoto cultivado por diferentes períodos (FIGURA 2 A, B e D). É bem possível que o alto teor de matéria orgânica do lodo de esgoto tenha preservado os clorobenzenos da decomposição, uma vez que podem ser fortemente adsorvidos por essa matriz, limitando a sua mineralização pelos microrganismos decompositores (LEE *et al.*, 2009). A estrutura química e o tamanho dos clorobenzenos favorecem a sua adsorção na matéria orgânica, diminuindo a sua biodisponibilidade e mobilização no substrato (XING e PIGNATELLO, 1998).

A persistência destes contaminantes no lodo de esgoto pode limitar o uso agrícola deste último. Pesquisadores como Su e Liang (2011) destacam que mudas de tomate e trigo podem absorver e translocar clorobenzenos para a sua parte aérea. Estes compostos orgânicos clorados são altamente voláteis e solúveis em gordura (LI *et al.*, 2014), apresentando elevada toxicidade aos seres humanos, podendo entrar na cadeia alimentar e bioacumular-se ao longo da cadeia trófica (KOZANI *et al.*, 2007; MONFERRÁN *et al.*, 2005). Os sintomas observados em seres vivos expostos aos contaminantes são agitação, tremores e espasmos musculares; em longo prazo, têm efeito carcinogênico, teratogênicos e mutagênicos, além de afetar o sistema nervoso central (KHAN *et al.*, 2008; MOREIRA *et al.*, 2012).

A baixa biodegradabilidade dos clorobenzenos é de grande preocupação ambiental, pois esses compostos orgânicos são amplamente utilizados na produção de corantes, pesticidas, desengordurantes, lubrificantes, solventes e em transformadores elétricos (SCHROLL *et al.*, 2004), o que ocasiona ampla difusão deste contaminante no meio ambiente. Os efeitos nocivos dos clorobenzenos têm longa duração, em função de sua alta estabilidade nos solos (KOE; SHEN, 1997).

As concentrações de 1,4-CB e 1,3,5-CB no lodo de esgoto, em quase todos os tratamentos, com exceção apenas do 1,3,5-CB no tratamento com cultivo em lodo por 120 dias, nas camadas de 30 a >40 cm, estavam abaixo das concentrações aceitáveis pela Resolução CONAMA nº 375 (BRASIL, 2006), a qual estabelece limites de $0,39 \text{ mg kg}^{-1}$ de 1,4-CB e $0,50 \text{ mg kg}^{-1}$ de 1,3,5-CB, em solos. Todavia, considerando que ao ser incorporado ao solo o

lodo de esgoto ficará bastante diluído, considera-se que as concentrações atingidas não extrapolariam os limites impostos pela resolução CONAMA. Apesar disso, há necessidade sempre de um constante monitoramento, a fim de evitar danos ao meio ambiente e risco à saúde dos animais, haja vista que, em sistemas tropicais, as altas temperaturas e elevada umidade favorecem uma rápida decomposição da matéria orgânica, demandando a aplicação constante deste resíduo no solo (NOGUEIRA *et al.*, 2013). Alguns destes compostos, mesmo em baixas concentrações, são capazes de causar distúrbios metabólicos e doenças crônicas em seres humanos (MEMON; SCHRODER, 2009). Os sintomas agudos, após a exposição, incluem dores de cabeça, tonturas, perturbações visuais e comprometimento da memória (RODRIGUEZ *et al.*, 2012). Estes efeitos podem ser reflexos da interferência dos clorobenzenos sobre a atividade dos aceptores de acetilcolina (YAN *et al.*, 2008).

Com base nas Figura 1 e 2, observa-se que os períodos de cultivo influenciaram a concentração dos clorobenzenos em algumas camadas. Nas profundidades de 10 a 30 cm, foram observados decréscimos aproximadamente lineares nos teores de 1,4-CB (FIGURA 1 B e C) e, na de 20-30 cm, de 1,3,5-CB (FIGURA 2 C). Nestes casos, considerando o período de cultivo de 150 dias, os valores mínimos observados para as concentrações de 1,4-CB foram de 0,026 e 0,022 mg kg⁻¹, enquanto para o 1,3,5-CB a concentração foi de 0,097 mg kg⁻¹.

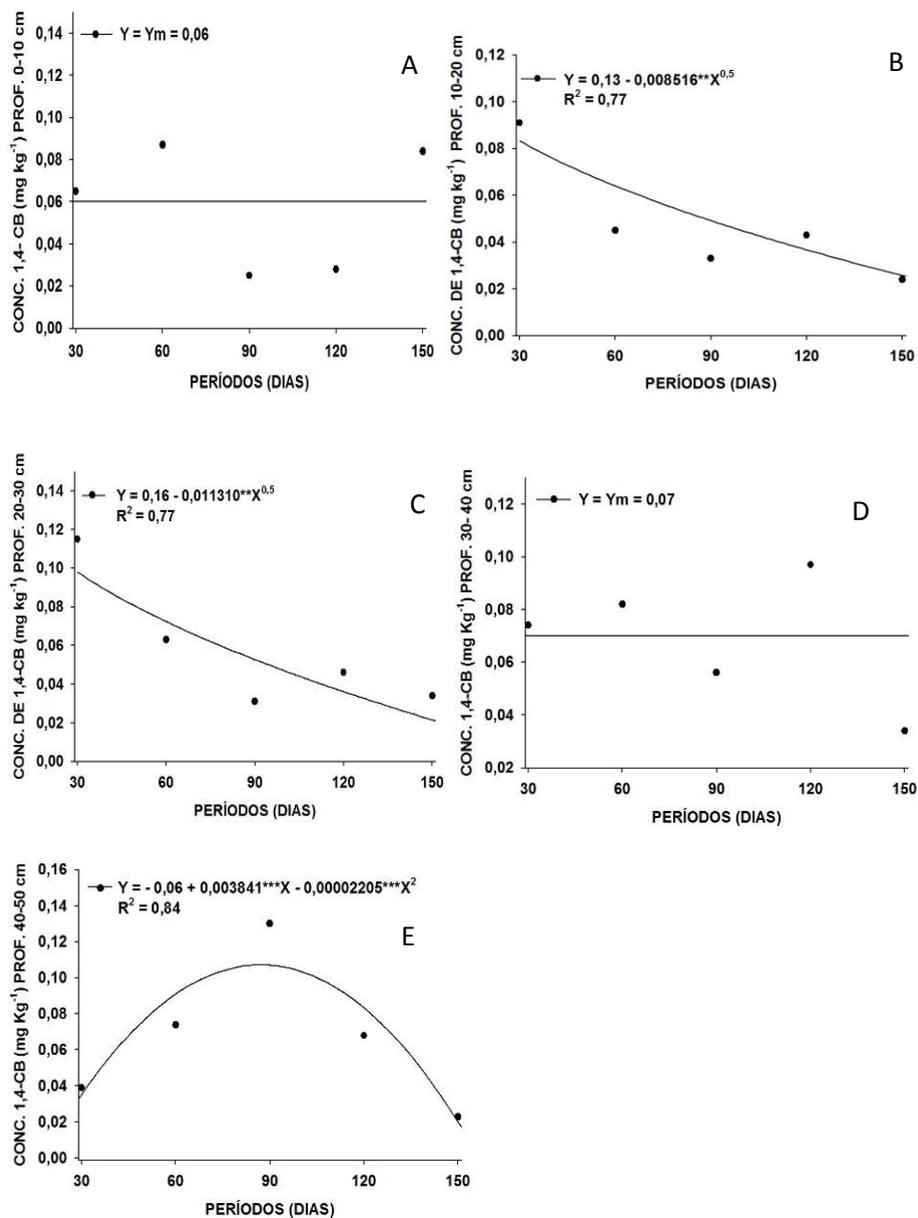
Apesar da grande estabilidade dos clorobenzenos, alguns microrganismos encontrados no lodo de esgoto são capazes de degradar o contaminante (GUERIN *et al.*, 2008). Neste caso, as bactérias *Enterobacter* sp. SA-2 e *Pseudomonas* sp. SA-6 são capazes de utilizar 1,3-clorobenzeno e 1,3,5-clorobenzeno como fontes de carbono e energia (ADEBUSOYE *et al.*, 2007). Este último gênero pode formar associações mutualísticas com o *Pennisetum glaucum*. Estas bactérias diazotróficas endofíticas colonizam as raízes da gramínea, aumentando o suprimento de nitrogênio, fosfato e produzindo sideróforos (GUPTA *et al.*, 2013). Por outro lado, as gramíneas favorecem o ambiente adequado para o desenvolvimento destas bactérias. Essa interação planta-microrganismo pode explicar o decréscimo das

concentrações dos clorobenzenos nas camadas de 10 a 30 cm, pois as raízes se encontravam mais concentradas nesta profundidade. Conforme discutido por Braeckevelt *et al.* (2011), as espécies vegetais podem alterar as condições do meio, liberando oxigênio pelas raízes, favorecendo e estimulando a atividade microbiana. Assim, podemos inferir que nestas camadas se encontrava uma maior quantidade de bactérias responsáveis pela biodegradação do contaminante. Além disso, a maior atividade microbiana presumidamente nestas camadas pode ter causado uma maior mineralização do lodo de esgoto, causando a liberação dos clorobenzenos adsorvidos na matéria orgânica, aumentando, por conseguinte, a disponibilidade desses contaminantes para a mineralização.

Outros fatores, além do capim elefante e da biodegradação microbiana, também, podem ter influenciado nas concentrações de clorobenzenos finais. O 1,4-CB e 1,3,5-CB são considerados compostos orgânicos semivoláteis, podendo haver grandes perdas por meio da volatilização. Segundo Guerin (2008), mesmo que haja estimulação da microflora natural do solo, por meio do arejamento e de nutrientes, cerca de 5% dos clorobenzenos são removidos do meio por volatilização.

Na profundidade >40 cm os dois clorobenzenos avaliados apresentaram comportamento químico muito semelhante. No período de até 87 dias para o 1,4-CB e até 96 dias para o 1,3,5-CB, houve acréscimo nas concentrações dos contaminantes, logo após constatou-se diminuição em seus teores no lodo de esgoto (FIGURA 1 E e FIGURA 2 E). Estes resultados podem ser explicados pelo modo de ação dos microrganismos decompositores, os quais agem inicialmente sobre a matéria orgânica do lodo de esgoto, pois se trata de um material de fácil decomposição e alto valor energético (LERCH *et al.*, 1993). Todavia, ao longo do processo de mineralização do lodo de esgoto, há perdas de carbono, liberado na forma de CO₂, causando decréscimo no volume do resíduo e, por conseguinte, aumento na concentração dos clorobenzenos. Com a redução deste processo, acredita-se que os decompositores começam a atuar sobre os poluentes orgânicos, degradando estes compostos. As concentrações

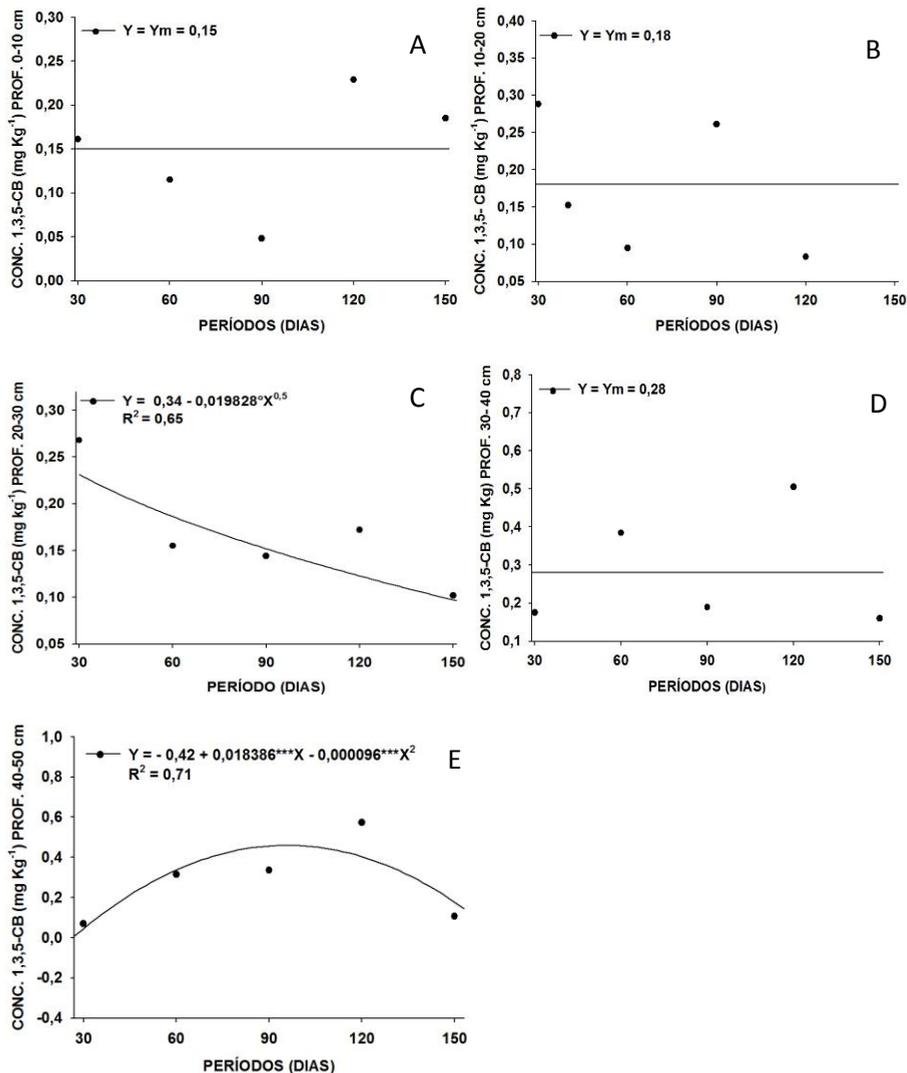
mínimas, atingidas ao final de 150 dias de cultivo de *P. purpureum*, na última camada, foram 0,02 e 0,18 mg kg⁻¹ de 1,4-CB e 1,3,5-CB, respectivamente.



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 1 - Equações de regressão relacionando a concentração de 1,4-CB em lodo de esgoto em diferentes períodos de cultivo de *P. purpureum*.

Notas: **, *** = significativos a 1 e 0,1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste t.



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 2 - Equações de regressão referente à concentração de 1,3,5-CB em lodo de esgoto em diferentes períodos de cultivo de *P. purpureum*.

Notas: °, ***= significativos a 10 e 0,1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste t.

4 CONCLUSÕES

O cultivo de *P. purpureum* em lodo de esgoto, por período de 150 dias, promove reduções nas concentrações de 1,3,5-CB nas camadas de maior concentração das raízes, quando comparado ao lodo de esgoto não cultivado, todavia, não influencia as concentrações de 1,4-CB.

De modo geral, as concentrações de 1,4-CB e 1,3,5-CB, em lodo de esgoto, diminuem com o aumento do período de cultivo do *P. purpureum* neste substrato, sendo aconselhável o cultivo por pelo menos 150 dias para manter os níveis dos contaminantes dentro de limites mais seguros para o uso agrícola do resíduo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, C. A.; LOPES, A. S.; SANTOS, G. C. G., XI - Micronutrientes. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. **Fertilidade do Solo**. Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p. 645-736, 2007.

ADEBUSOYE, S. A.; MILLETO, M., Characterization of multiple chlorobenzoic acid-degrading organisms from pristine and contaminated systems: Mineralization of 2,4-dichlorobenzoic acid. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 3, p. 3041-3048, 2011.

ADEBUSOYE, S. A.; PICARDAL, F. W.; LLORI, M. O.; AMUND, O. O.; FUQUA, C.; GRINDLE, N., Aerobic degradation of di- and trichlorobenzenes by two bacteria isolated from polluted tropical soils. **Chemosphere**, v. 66, n. 10, p. 1939-1946, 2007.

AGUIRRE, C.; CHÁVEZ, T.; GARCIA, P.; RAYA, C., El silício em los organismos vivos. **Interciencia**, n. 32, v. 8, p. 504-509, 2007.

AHSAN, N.; LEE, D. G.; KANG, K. Y.; LEE, J. J.; KIM, P. J.; YOON, H. S.; KIM, J. S.; LEE, B. H., Excess copper induced physiological and proteomic changes in germinating rice seeds. **Chemosphere**, v. 67, p.1182-1193, 2007.

ALI, H.; KHAN, E.; SAJAD, M. A., Phytoremediation of heavy metals- Concepts and applications. **Chemosphere**, v. 91, n. 7, p. 869-881, 2013.

ALI, H.; NASSEER, M.; SAJAD, M. A. Phytoremediation of heavy metals by *Trifolium alexandrinum*. **International Journal of Environmental Sciences**, v. 2, n. 3. p. 1459-1469, 2012.

ALKORTA, I.; HERNANDEZ-ALLICA, J.; BECERRIL, J.; AMEZAGA, I.; ALBIZU, I.; GARBISU, C., Recent findings on the phytoremediation of soils contaminated with environmentally toxic heavy metals and metalloids such as zinc, cadmium, lead, and arsenic. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v. 3, n. 1, p. 71-90, 2004.

ALLOWAY, B. J., Soil factors associated with zinc deficiency in crops and humans. **Environmental Geochemistry and Health**, v. 31, n. 5, p. 537-548, 2009.

ALVAREZ, V. F. C.; BOARETO, A. E.; ABREU JUNIOR, C. H.; MURAOKA, T.; TREVIZAN, A. R.; FERNANDES, H. M. G., Chemical alterations and nickel phytoavailability in sewage sludge-amended soil. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 990-997, 2008.

AMERY, F.; DEGRYSE, F.; VAN MOORLEGHEM, C.; DUYCK, M.; SMOLDERS, E., The dissociation kinetics of Cu-dissolved organic matter

complexes from soil and soil amendments. **Analytica Chimica Acta**, v. 670, n. 1-2, p. 24-32, 2010.

ANDRIANISA, H. A.; ITO, A.; SASAKI, A.; AIZAWA, J.; UMITA, T., Biotransformation of arsenic species by activated sludge and removal of bio-oxidised arsenate from wastewater by coagulation with ferric chloride. **Water Research**, v. 42, n. 19, p. 4809-4817, 2008.

ARAÚJO, J. C. T.; NASCIMENTO, C. W. A., Redistribuição entre frações e teores disponíveis de zinco em solos incubados com lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 29, n. 4, p. 635-644, 2005.

BAKER, A. J. M.; BROOKS, R. R., Terrestrial higher plants wich hyper-accumulate metallic elements-A review of the distribution, ecology and phytochemistry. **Biocoverly**, v. 1, p. 81-126, 1989.

BASSO, V.; MACHADO, J. C.; LÉDO, F. J. S.; CARNEIRO, J. C.; FONTANA, R. C.; DILON, A. J. P.; CAMASSOLA, M., Different elephant grass (*Pennisetum purpureum*) accessions as substrates for enzyme production for the hydrolysis of lignocellulosic materials. **Biomass and Bioenergy**, v. 71, p. 155-161, 2014.

BATTACHARYA, P.; WELCH, A. H.; STOLLENWERK, K. G.; BUNDSCHUN, J.; PANAUULLAH, J., Arsenic in the environment: biology and chemistry. **Science of the Total Environment**, v. 379, n. 2, p. 109-112, 2007.

BAUER, P.; ELBAUM, R.; WEISS, I. M., Calcium and silicon mineralization in land plants: Transport, structure and function. **Plant Science**, v. 180, p. 746-756, 2011.

BENEGAS, M. L. F.; MORENO, J. L.; GÁRCIA, C.; LEÓN, G.; HERMÁNDEZ, T., Composting anaerobic and aerobic sewage sludges using two proportions of sawdust. **Waste Management**, v. 27, n. 10, p. 1317-1327, 2007.

BRAECKEVELT, M.; REICHE, N.; TRAPP, S.; WIESSNER, A.; PASCHKE, H.; KUSCHK, P.; KAESTNER, M., Chlorobenzene removal efficiencies and removal processes in a pilot-scale constructed wetland treating contaminated groundwater. **Ecological Engineering**, v. 37, n. 6, p. 903-913, 2011.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional de Meio Ambiente. **Resolução n. 375**, de 29 de agosto de 2006. Define critérios e procedimentos, para o uso agrícola de lodos de esgoto gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados. Brasília, 2006. Disponível em: <http://www.fundagresorg.br/biossolido/images/downloads/res_conama37506>. Acesso em: 10 mar. 2013.

BREWER, G. J., Copper toxicity in the general population. **Clinical Neurophysiology**, v. 121, n. 4, p. 459-460, 2010.

BUJÁN, E., Elemental composition of phytoliths in modern plants (ERICACEAE). **Quaternary International**, n. 287, p. 114-120, 2013.

CAI, Q. Y.; MO, C. H.; LU, H.; ZENG, Q. Y.; WU, Q. T.; LI, Y. W., Effect of composting on the removal of semivolatile organic chemicals (SVOCs) from sewage sludge. **Bioresource Technology**, v. 126, p. 453-457, 2012.

CAMBROLLÉ, J.; MANCILLA-LEYTÓN, J. M.; MUÑOZ-VALLÉS, S.; LUQUE, T.; FIQUEROA, M. E., Tolerance and accumulation of copper in the salt-marsh shrub *Halimione portulacoides*, **Marine Pollution Bulletin**, v. 64, n. 4, p. 721-728, 2012. A

CAMBROLLÉ, J.; MANCILLA-LEYTÓN, J. M.; MUÑOZ-VALLÉS, S.; LUQUE, T.; FIQUEROA, M. E., Zinc tolerance and accumulation in the salt-marsh shrub *Halimione portulacoides*. **Chemosphere**, v. 86, n. 9, p. 867-874, 2012. B

CAMPOS, M. C. C., Atributos dos solos e riscos de lixiviação de metais pesados em solos tropicais. **Ambiência**, v. 6, n. 3, p. 547-565, 2010.

CAO, Z. H.; DING, J. L.; HU, Z. Y.; KNICKER, H.; KÖGEL-KNABNER, I.; YANG, L. Z.; YIN, R.; LIN, X. G.; DONG, Y. H., Ancient paddy soils from the Neolithic age in China's Yangtze River Delta. **Naturwissenschaften**, v. 93, n. p. 232-236, 2006.

CARVALHO, M. P.; ZANÃO JUNIOR, L. A.; GROSSI, J. A. S.; BARBOSA, J. G., Silício melhora produção e qualidade do girassol ornamental em vaso. **Ciência Rural**, v. 39, n. 8, p. 2394-2399, 2009.

CASPI, V.; DROPPA, M.; HORVATH, G.; MALKIN, S.; MARDER, J. B.; RASKIN, V. I., The effect of copper on chlorophyll organization during greening of barley leaves. **Photosynthesis Research**, v. 62, n. 8, p. 165-174, 1999.

CHAN, K. Y.; COWIE, A.; KELLY, G.; SINGH, B.; SLAVICH, P., Scoping paper: soil organic carbon sequestration potential for agriculture in NSW. **NSW DPI Science & Research Technical paper**, NSW, Dept Primary Industries, p. 1-28, 2008.

CHERFI, A.; ABDOUN, S.; GACI, O., Food survey: Levels and potential health risks of chromium, lead, zinc and copper content in fruits and vegetables consumed in Algeria. **Food and Chemical Toxicology**, v. 70, p. 48-53, 2014.

COSTA, L. M.; MOREAU, A. M. S.; MOREAU, M. S., Estabilidade da sílica biogênica extraída de capim Jaraguá (*Hyparrhenia rufa*) em solução de NaOH. **Química Nova**, v. 33, n. 8, p. 1658-1663, 2010.

DJOHAN, D.; YU, J.; CONNELL, D.; CHRISTENSEN, E., Health risk assessment of chlorobenzenes in the air of residential houses using probabilistic techniques. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, part A, v. 70, n.19, p.1594-1603, 2007.

EPA, Environmental Protection Agency. Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils, and oils. Method 3051, 1994.

EPA, Environmental Protection Agency. Microwave assisted acid digestion of siliceous and organically based matrices. Method 3052, 1996.

EPSTEIN, E., The anomaly of silicon in plant biology. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, n. 91, n. 1, p.11-17, 1994.

FAO - Novo relatório: Quase 870 milhões de pessoas no mundo estão subnutridas – novo relatório sobre a fome. Fonte: <<https://www.fao.org.br/q870mpmesnrsf.asp>>. Acesso dia 19 de março de 2013.

FAUTEUX, F.; REMUS-BOREAL, W.; MENZIES, J. G.; BELANGAR, R. R., Silicon and plant disease resistance against pathogenic fungi. **FEMS Microbiology Letters**, v. 249, n. 1, p. 1-6, 2005.

FERNANDO, A. L.; OLIVEIRA, J. F. S., Fitorremediação de solos contaminados com metais pesados – Mecanismos, vantagens e limitações. **Biologia Vegetal e Agro-Industrial**, v. 1, p. 103-114, 2004.

FONTOURA, C. F.; BRANDÃO, L. E.; GOMES, L. L., Elephant grass bio-refineries: towards a cleaner Brazilian energy matrix. **Journal of Cleaner Production**, v. 30, p.1-9, 2014.

GIANFREDA, L.; RAO, M. A., Potential of extra cellular enzymes in remediation of polluted soils: A review. **Enzyme Microbiology Technology**, v. 35, p. 339-354, 2004.

GUERIN, F. T., Ex-situ bioremediation of chlorobenzenes in soil. **Journal of hazardous Materials**, v. 1 54, n. 1-3, p. 9-20, 2008.

GUPTA, G.; PANWAR, J.; JHA, P. N., Natural occurrence of *Pseudomonas aeruginosa*, a dominant cultivable diazotrophic endophytic bacterium colonizing *Pennisetum glaucum* (L.) R. Br. **Applied Soil Ecology**, v. 64, p. 252-261, 2013.

HAGGBLON, M. N.; FENNELL, D. E.; AHN, Y. B.; RAVIT, B.; KERKHOF, L. M., Anaerobic dehalogenation of halogenated organic compounds. **Soil and Water Pollution Monitoring, Protection and Remediation**, v. 69, p. 505-521, 2006.

HAROUN, M.; IDRIS, A.; OMAR, S., Analysis metal during composting of the tannery sludge using physicochemical and spectroscopic techniques. **Journal of Hazardous Materials**, v. 165, p.111-119, 2009.

HASSAN, Z.; AARTS, M. G. M., Opportunities and feasibilities for biotechnological improvement of Zn, Cd or Ni tolerance and accumulation in plants. **Environmental and Experimental Botany**, v. 72, n. 1, p. 53-63, 2011.

HE, C.; CHEN, C. L.; GIANNIS, A.; YANG, Y.; WANG, J. Y., Hydrothermal gasification of sewage Sludge and model compounds for renewable hydrogen production: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 39, p. 1127-1142, 2014.

HECK, K.; MARCO, E.G. M.; HAHN, A. B. B.; KLUGE, M.; SPILKI, F. R.; VAN DER SAND, S. T. V., Temperatura de degradação de resíduos em processo de compostagem e qualidade microbiológica do composto final. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 17, n. 1, p. 54-59, 2013.

HENRIET, C.; BODARWE, L.; DOREL, M.; DRAYE, X.; DELVAUX, B., Leaf silicon content in banana (*Musa* spp.) reveals the weathering stage of volcanic ash soils in Guadeloupe. **Plant and soil**, v. 313, n. 1, p. 71-82, 2008.

HESS, R.; SCHMID, B., Zinc supplement overdose can have toxic effects. **Journal of Pediatric, Hematology e Oncology**, v. 24, p. 582-584, 2002.

HODSON, M. J.; WHITE, P. J.; MEAD, A.; BROADLEY, M. R., Phylogenetic variation in the silicon composition of plants. **Annals of Botany**, v. 96, n. 6, p. 1027-1046, 2005.

HUANG, X. D.; EL-ALAWI, Y.; GURSKA, J.; GLICK, B. R.; GREENBERG, B. M., A multi-process phytoremediation system for decontamination of persistent total petroleum hydrocarbons (HTPs) from soils. **Microchemical Journal**, v. 81, p. 139-147, 2005.

INGELMO, F.; MOLINA, M. J.; SORIANO, M. D.; GALLARDO, A.; LAPEÑA, I., Influence of organic matter transformations on the bioavailability of heavy metals in a sludge based compost. **Journal of Environmental Management**, v. 95, Supplement, p. 104-109, 2012.

JENKINS. E., Phytolith taphonomy: a comparison of dry ashing and acid extraction on the breakdown of conjoined phytoliths formed in *Triticum durum*. **Journal of Archaeological Science**, v. 36, n. 10, p. 2402-2407, 2009.

JONES, V.; GARDNER, M.; ELLOR, B., Concentrations of trace substances in sewage sludge from 28 wastewater treatment works in the UK. **Chemosphere**, v. 111, p. 478-484, 2014.

KABATA-PENDIAS, H., **Trace elements in Soils and Plants**, 3^o edition, CRC Press, Boca Ratón, Florida, 413p, 2001.

KABATA-PENDIAS, H., **Trace elements in Soils and Plants**, 4^o edition, CRC Press, Boca Ratón, Florida, 534p, 2011.

KAMAREI, F.; EBRAHIMZADEH, F.; YADOLLAH, Y., Optimization of temperature-controlled ionic liquid dispersive liquid phase microextraction combined with high performance liquid chromatography for analysis of chlorobenzenes in water samples, **Talanta**, v. 83, n. 1, p. 36-41, 2010

KANG, D. J.; ISHII, Y.; NISHIWAKI, A., Effects of the shoot-cutting method on field propagation in napiergrass (*Pennisetum purpureum* Schum.). **Journal of crop science and biotechnology**, v. 14, n. 2, p. 139-142, 2011.

KANG, D. J.; SEO, Y. J.; SAITO, T.; SUZUKI, H.; ISHII, Y., Uptake and translocation of cesium-133 in napiergrass (*Pennisetum purpureum* Schum.) under hydroponic conditions. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 82, p. 122-126, 2012.

KAPANEN, A.; VIKMAN, M.; RAJASARKKA, J.; VIRTALA, M., Biotests for environmental quality assessment of composted sewage sludge. **Waste Management**, v. 33, n. 6, p. 1451–1460, 2013.

KHAN, M. A. Q.; KHAN, S. F.; SHATTARI, F., Halogenated Hydrocarbons. **Encyclopedia of Ecology**, p.1831-1834, 2008.

KHAN, M.; SCULLION, J., Effects of metal (Cd, Cu, Ni, Pb or Zn) enrichment of sewage-sludge on soil micro-organisms and their activities. **Applied Soil Ecology**, v. 20, n. 2, p. 145-155, 2002.

KHAN, N. I.; OWENS, G.; BRUCE, D.; NAIDU, R., Human arsenic exposure and risk assessment at the landscape level: a review. **Environmental Geochemistry and Health**, v. 31, p. 143-166, 2009.

KOE, L. C. C.; SHEN, W., High resolution GC – MS analysis of VOCs in wastewater and sludge. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 44, n. 1, p. 549–561, 1997.

KOZANI, R. R.; ASSADI, Y.; SHEMIRANI, F.; HOSSEINI, M. R. M.; JAMALI, M., Part-per-trillion determination of chlorobenzenes in water using dispersive liquid–liquid microextraction combined gas chromatography–electron capture detection. **Talanta**, v. 72, n. 2, p. 387-393, 2007.

KULIKOWSKA, D.; KLIMIUK, E., Co-composting of sewage sludge with lignocellulosic amendments - assessment of compost quality. **Journal of Biotechnology**, v. 150, Supplement, November, p. 282-283, 2010.

LATARE, A. M.; KUMAR, O.; SINGH, S. K.; GUPTA, A., Direct and residual effect of sewage sludge on yield, heavy metals content and soil fertility under rice–wheat system. **Ecological Engineering**, v. 69, p.17-24, 2014.

LEE, S.; PARDUE, J. H.; MOE, W. M.; KIM, D. J., Effect of sorption and desorption-resistance on biodegradation of chlorobenzene in two wetland soils. **Journal of Hazardous Materials**, v. 161, n. 1, p. 492-498, 2009.

LEHMANN, A.; VERESOGLOU, S. D.; LEIFHET, E. F; RILLIG, M. C., Arbuscularmycorrhizal influence on zinc nutrition in crop plants – A meta-analysis. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 69, p. 123-131, 2014.

LEPSCH, I. F.; PAULA, L. M. A., Fitólitos em solos sob cerradões do Triângulo Mineiro: relações com atributos e silício absorvido. **Revista Caminhos de Geografia**, v. 7, n.19, 2006. Revista online. Disponível em: <www.ig.ufu.br/revista/caminhos.html>. Acesso 15 de maio 2013.

LERCH, R. N.; BARBARICK, K. A.; AZARI, P.; SOMMERS, L. E.; WESTFALL, D. G., Sewage sludge proteins II: extract characterization. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 22, n. 3, p. 625-629, 1993.

LI, J. H.; SUN, X. F.; YAO, Z. T.; ZHAO, X. Y., Remediation of 1,2,3-trichlorobenzene contaminated soil using a combined thermal desorption–molten salt oxidation reactor system. **Chemosphere**, v. 97, p. 125-129, 2014.

LI, X.; YANG, Y.; JIA, L.; CHEN, H.; WEI, X., Zinc-induced oxidative damage, antioxidant enzyme response and proline metabolism in roots and leaves of wheat plants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 89, n. 1, p. 150-157, 2013.

LI, Z.; MA, T.; KUIJP, T. J. V.; Z. YUAN, Z.; HUANG, L., A review of soil heavy metal pollution from mines in China: pollution and health risk assessment. **Science of the Total Environment**, v. 468-469, p. 843–853, 2014.

LIU, X.; SHEN, Y.; LOU, L.; DING, C.; CAI, Q., Copper tolerance of the biomass crops Elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schumach), *Vetiver grass* (*Vetiveria zizanioides*) and the upland reed (*Phragmites australis*) in soil culture. **Biotechnology Advances**, v. 27, p. 633-640, 2009.

LOBO, T. F.; GRASSI FILHO, H.; BULL, L. T., Efeito do nitrogênio e do lodo de esgoto nos fatores produtivos do feijoeiro. **Revista Ceres**, v. 59, n. 1, p. 118-124, 2012.

LOUIS, Y.; PERNET-COUDRIER, B.; VARRAULT, G., Implications of effluent organic matter and its hydrophilic fraction on zinc(II) complexation in rivers under strong urban pressure: Aromaticity as an inaccurate indicator of DOM–metal binding. **Science of The Total Environment**, v. 490, p. 830-837, 2014.

LUO, C.; CHEN, Z.; WU, D.; MA, L., Electrochemical reductive degradation of chlorobenzene using galvanically replaced Pd/Fe nanoscale particles. **Chemical Engineering Journal**, v. 241, p. 376-383, 2014.

MACDONALD, C. A.; CLARK, I. M.; ZHAO, F. L.; HIRSCH, P. R.; SINGH, B. K.; MCGRATH, S.P., Long-term impacts of zinc and copper enriched sewage sludge additions on bacterial, archaeal and fungal communities in arable and grassland soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 43; n. 5, p. 932-941, 2011.

MALIK, R. N.; HUSAIN, S. Z.; NAZIR, E. U., Heavy metal contamination and accumulation in soil and wild plant species from industrial area of Islamabad, Pakistan. **Pakistan Journal of Botany**, v. 42, n.1, p. 291-301, 2010.

MAŇÁKOVÁ, B.; KUTA, J.; SVOBODOVÁ, M.; HOFMAN, J., Effects of combined composting and vermicomposting of waste sludge on arsenic fate and bioavailability. **Journal of Hazardous Materials**, v. 280, p. 544-551, 2014.

MARKLEY, C. T.; HERBERT, B. E., Arsenic risk assessment: the importance of speciation in different hydrologic systems. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 204, n. 1-4, p. 385-398, 2009.

MARQUES, M.; AGUIAR, C. R. C.; SILVA, J. J. L. S., Desafios técnicos e barreiras sociais, econômicas e regulatórias na fitorremediação de solos contaminados. **Revista Brasileira de Ciências do Solos**, v. 35, n. 1, p.1-11, 2011.

MARSCHNER, H., Mineral Nutrition of Higher Plants. **Academic Press**. London, n.1, p. 889, 1995.

MARTINS, A. L. C.; BATAGLIA, O. C.; CAMARGO, O. A.; CANTARELLA, H., Produção de grãos e absorção de Cu, Fe, Mn e Zn pelo milho em solo adubado com lodo de esgoto, com e sem calcário. **Revista Brasileira de Ciência de Solo**, v. 27, p. 563-574, 2003.

MEMON, A. R.; SCHRODER, P., Implications of metal accumulation mechanisms to phytoremediation. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 16, n. 2, p. 162-175, 2009.

MENCH, M.; SCHWITZGUEBEL, J. P.; SCHROEDER, P.; BERT, V.; GAWRONSKI, V.; GUPTA, S., Assessment of successful experiments and limitations of phytotechnologies: contaminant uptake, detoxification and sequestration, and consequences for food safety. **Environmental Science Poluentes**, v. 1, p. 876-900, 2009.

MENDEZ, A.; GÓMEZ, A.; PAZ-FERREIRO, GASCO, G., Effects of sewage sludge biochar on plant metal availability after application to a Mediterranean soil. **Chemosphere**, v. 89, n. 11, p. 1354-1359, 2012.

MONFERRAN, M.; ECHENIQUE, J. R.; WUNDERLIN, D. A., Degradation of chlorobenzenes by a strain of *Acidovorax avenae* isolated from a polluted aquifer. **Chemosphere**, v. 61, p. 98-106, 2005.

MOREIRA, I. S.; AMORIM, C. L.; CARVALHO, M. F.; CASTRO, P. M. L., Co-metabolic degradation of chlorobenzene by the fluorobenzene degrading wild strain *Labrys portucalensis*. **Internation Biodeterioration & Biodegradation**, v. 72, p. 76-81, 2012.

MOTA, V. J. G.; REIS, S. T.; SALES, E. C. J.; ROCHA JUNIOR, V. R.; OLIVEIRA, F. G.; WALKER, S. F.; MARTINS, C. E.; CÓSER, A. C., Lâminas de irrigação e doses de nitrogênio em pastagem de capim-elefante no período seco do ano no norte de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 6, p. 1191-1199, 2010.

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.

NASCIMENTO, C. W. A.; XING, B., Phytoextraction: A review on enhanced metal availability and plant accumulation. **Scientia Agricola**, v. 63, p. 299-311, 2006.

NAUJOKAS, M. F.; ANDERSON, B.; AHSAN, H.; APOSHIAN, V.; GRAZIANO, J. H., The broad scope of health effects from chronic arsenic exposure, update on a worldwide public health problem. **Environmental Health Perspectives**, v. 121, n. 3, p. 295-302, 2013.

NOGUEIRA, T. A. R.; FRANCO, A.; HE, Z.; BRAGA, V. S.; FIRME, L. P.; ABREU-JUNIOR, C. H., Short-term usage of sewage sludge as organic fertilizer to sugarcane in a tropical soil bears little threat of heavy metal contamination. **Journal of Environmental Management**, v. 114, p. 168-177, 2013.

OLESZCZUK, P., Investigation of potentially bioavailable and sequestered forms of polycyclic aromatic hydrocarbons during sewage sludge composting. **Chemosphere**, v. 70, n. 2, p. 288-297, 2007.

OLIVA, S. R.; MINGORANCE, M. D.; LEIDI, E. O., Effects of silicone on copper toxicity in *Erica andevalensis* Cabezudo and Rivera. A potential species to remediate contaminated soils. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 13, n. 3, p. 591-596, 2011.

OLIVER, B. G.; BOTHEN, K. D., Extraction and clean-up procedures for measuring chlorobenzenes in sediments and fish by capillary gas chromatography. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 12, n. 2, p. 131-139, 1982.

OONNITTAN, A.; REENA, A.; SHRESTHA, R. A.; MSILLANPÄÄ, M., Removal of hexachlorobenzene from soil by electrokinetically enhanced chemical oxidation. **Journal of Hazardous Materials**, v. 162, p. 989-993, 2009.

PARR, J. R., Effect of fire on phytolith coloration. **Geoarchaeology**, v. 21, n. 2, p. 171-185, 2006.

PARR, J. R.; SULLIVAN; L. A., Sequestro de carbono no solo phytoliths. **Soil Biology & Biochemistry**, Austrália, v. 37, n. 1; p. 117-124, 2005.

PARR, J. F.; LENTFER, C. J.; BOYD, W. E., A Comparative Analyses of Wet and Dry Ashing Techniques for the Extractions of Phytoliths from Plant Material. **Journal of Archaeological Science**, v. 28, p. 875-886, 2001.

PATHAK, A.; DASTIDAR, M. G.; SREEKRISHNAN, T. R., Bioleaching of heavy metals from sewage sludge: A review. **Journal of Environmental Management**, v. 90, n. 8, p. 2343-2353, 2009.

PEDROZA, J. P.; VAN HAANDEL, A. C.; BELTRÃO, N. E. M.; DIONÍSIO, J. A.; DUARTE, M. E. M., Qualidade tecnológica da pluma do algodoeiro herbáceo cultivado com biossólidos. **Revista Brasileira Engenharia Agrícola Ambiental**, v. 10, p. 586-592, 2006.

PINHO, G. P.; SILVERIO, F. O.; EVANGELISTA, G. P.; MESQUITA, L. V.; BARBOSA, E. S., Determination of chlorobenzenes in sewage sludge by solid-liquid extraction with purification at low temperature and gas chromatography mass spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 25, n. 7, p. 1292-1301, 2014.

PIPERNO, D. R., Phytolith analysis: An archaeological and geological perspective. **Academic Press**, London, 1988.

PIPERNO, D. R., Phytoliths: A Comprehensive Guide for Archaeologists. **A for and Paleoecologists**. London: Altamira Press, p. 5-21, 2006.

PRASAD; M. N. V., Phytoremediation of metal-polluted ecosystems: hype for commercialization. **Russia Jornal Plant Physiology**, n. 50, p. 686-700, 2003.

RADWAN, M. A.; SALAMA A. K., Market basket survey for some heavy metals in Egyptian fruits and vegetables. **Food and Chemical Toxicology**, v. 44, p. 1273-1278, 2006.

RAHMAM; M. A.; HASEGAWA, H., Aquatic arsenic: Phytoremediation using floating macrophytes. **Chemosphere**, v. 83, p. 633–646, 2011.

RAPP, P., Multiphasic Kinetics of Transformation of 1,2,4-Trichlorobenzene at Nano- and Micromolar Concentrations by Burkholderia sp. Strain PS14, **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, n. 8, p. 3496-3500, 2001.

Relatório de desenvolvimento Humano 2013, ONU. Disponível em: <<http://www.un.cv/files/HDR2013%20Report%20Portuguese.pdf>>. Acesso em: 20 maio 2013.

RODRIGUEZ, C.; LINGE, K.; BLAIR, P.; BUSETTI, F.; DEVINE, B.; BUYNDER, P. V.; WEINSTEIN, P.; COOK, A., Recycled water: Potential health risks from volatile organic compounds and use of 1,4-dichlorobenzene as treatment performance indicator. **Water Research**, v. 46, n. 1, p. 93-106, 2012.

ROOHANI, N.; HURRELL, R.; KELISHADI, R.; SCHULIN, R., Zinc and its importance for human health: an integrative review. **International Journal of Research in Medical Sciences**, v. 18, p. 144-157, 2013.

ROVNER, I., Downward percolation of phytoliths in stable soils: a non-issue. In: Rovner I (ed) Plant opal phytolith analysis in archaeology and palaeoecology. **The Phytolitharian, Occasional Papers, Raleigh**, p. 23-28, 1986.

ROY, M.; GIRI, A. K.; DUTTA, A.; MUKHERJEE, P., Integrated phytobial remediation for sustainable management of arsenic in soil and water. **Environment International**, v. 75, p. 180-189, 2015.

SALINAS, M. Z.; VILLAVIVENCIO, M. B.; BUSTILLOS, L. G. T.; AROGÓN, A. G., Assessment of in situ phytoremediation with grass mixtures in soils polluted with nickel, copper and arsenic. **Physics and Chemistry of the Earth**, v. 37-39, p. 52-57, 2012.

SAMPAIO, T. F.; GUERRINI, I. A.; BACKES, C.; HELIODORO, J. C. A.; RONCHI, H. S.; TANGANELLI, K. M.; CARVALHO, N. C.; OLIVEIRA, F. C., Lodo de esgoto na recuperação de áreas degradadas: efeito nas características físicas do solo. **Revista Brasileira Ciências do Solo**, v. 36, n. 5, p. 1637-1645, 2012.

SANTOS, E. R., Caracterização química, microbiológica e toxicidade do lodo de esgoto da estação Mangueira. 2009. 68p. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento de Processos Ambientais). Universidade Católica de Pernambuco, Pernambuco, Recife. Disponível em: <http://www.unicap.br/tede/tde_arquivos/6/TDE-2011-0530T150823Z385/Publico/dissertacao_ednaldo_ramos.pdf>. Acesso em 25 março de 2013.

SCHROLL, R.; BRAHUSHI, F.; DORFLER, U.; KUHN, S.; FEKETE, J.; MUNCH, J. C., Biomineralisation of 1,2,4-trichlorobenzene in soils by an adapted microbial population. **Environmental Pollution**, v. 127, n. 3, p. 395-401, 2004.

SEGGIANI, M.; VITOLO, S.; PUCCINI, M.; BELLINI, A., Cogasification of sewage sludge in an updraft gasifier. **Fuel**, v. 93, p. 486-491, 2012.

SHEN, H.; WANG, X. C.; SHI, W. M.; CAO, Z. H.; YAN, X. L., Isolation and identification of specific root exudates in elephant grass in response to mobilization of iron- and aluminum-phosphates. **Journal Plant Nutrition**, v. 24, p. 1117-1130, 2001.

SHEORAN, V.; SHEORAN, A.; POONIA, P., Papel de hiperacumuladoras em fitoextração de metais de minas contaminadas: uma revisão. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, n. 41, p. 168-214, 2011.

SINGH, J.; KALAMDHAD, A. S., Assessment of bioavailability and leachability of heavy metals during rotary drum composting of green waste (Water hyacinth). **Ecological Engineering**, v. 52, p. 59-69, 2013.

SINGH, R. P.; AGRAWAL, M., Variations in heavy metal accumulation, growth and yield of rice plants grown at different sewage sludge amendment rates. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 73, n. 4, p. 632-641, 2010.

SINGH, R.; SINGH, S.; PARIHAR, P.; SINGH, V. P.; PRASAD, S. M., Arsenic contamination, consequences and remediation techniques: A review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 112, p. 247-270, 2015.

SIPOS, G.; SOLTÍ, A.; CZECH, V.; VASHEGYI, L.; TÓTH, B.; CSEH, E.; FODOR, F., Accumulation of heavy metals and tolerance of energy grass (*Elymuselongatus* subsp. *Ponticus* cv. Szarvasi-1) grown in hydroponic culture. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 68, p. 96-103, 2013.

SOJINU, O. S.; SONIBARE, O. O.; EKUNDAYO, O. O.; ZENG, E. Y., Assessment of organochlorine pesticides residues in higher plants from oil exploration areas of Niger Delta, Nigeria. **Science of the Total Environment**, v. 433, p. 169-177, 2012.

SOJINU, O. S.; SONIBARE, O. O., EKUNDAYO, O. O.; ZENG, E. Y., Biomonitoring potentials of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by higher plants from an oil exploration site, Nigeria. **Journal of Hazardous Materials**, v. 184, n. 1-3, p. 759-764, 2010.

SONG, F.; GU, L.; ZHU, N.; YUAN, H., Leaching behavior of heavy metals from sewage sludge solidified by cement-based binders. **Chemosphere**, v. 92, n. 4, p. 344-350, 2013.

SOUZA, C. A.; REIS JUNIOR, F. B.; MENDES, I. C.; LEMAINSKI, J.; SILVA, J. E., Lodo de esgoto em atributos biológicos do solo e na nodulação e produção de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 10, p. 1319-1327, 2009.

SOUZA, L. C. F.; CANTERAS, F. B.; MOREIRA, S., Analyses of heavy metals in sewage and sludge from treatment plants in the cities of Campinas and Jaguariúna, using synchrotron radiation total reflection X-rayfluorescence. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 95, p. 342-345, 2014.

SU, Y. H.; LIANG, Y. C., Transport via xylem of atrazine, 2,4-dinitrotoluene, and 1,2,3-trichlorobenzene in tomato and wheat seedlings. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 100, n. 3, p. 284-288, 2011.

SUCHKOVA, N.; TSIRIPIDIS, I.; ALIFRAGKIS, D.; GANOULIS, J.; DARAKAS, E.; SAWIDIS, TH., Assessment of phytoremediation potential of native plants during the reclamation of an area affected by sewage sludge. **Ecological Engineering**, v. 69, p. 486-491, 2014.

SUSARLA, S.; MEDINA, V. F.; MCCUTCHEON, S. C., Phytoremediation: An ecological solution to organic chemical contamination. **Ecological Engineering**, v. 18, n. 5, p. 647-658, 2002.

TIAN, Y.; ZHANG, J.; ZUO, W.; CHEN, L.; CUI, Y.; TAN, T., Nitrogen conversion in relation to NH₃ and HCN during microwave pyrolysis of sewage sludge. **Environmental Science & Technology**, v. 47, p. 3498-3505, 2013.

VANGRONSVELD, J.; HERZIG, R.; WEYENS, N., Phytoremediation of contaminated soils and groundwater: lessons from the field. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 16, n. 7, p. 765-794, 2009.

VAZ, L. M. S.; GONÇALVES J. L. M., Uso de biossólido em povoamento de eucalipto: efeito em atributos químicos do solo, no crescimento e na absorção de nutrientes. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 26, n. 3, p. 747-758, 2002.

VIEIRA, F. V.; TSAI, S. M.; TEIXEIRA, M. A., Efeito da Utilização do Lodo de Esgoto no Crescimento e Fixação Simbiótica do N Feijoeiro 2 (*Phaseolus vulgaris* L.). Boletim de pesquisa e desenvolvimento. **Embrapa**, Jaguariúna, n. 19, 2014.

WATTS, M. J.; O'REILLY, J.; MARCILLA, A. L.; SHAM, R. A., WARD, N. I., Field in UK and Argentine an water samples. **Environmental Geochemistry and Health**, v. 32, n. 6, p. 479-490, 2010.

WILDING, L. P.; DREES, L. R., Biogenic opal in ohio soils. **Soil Science Society of America Proceedings**, n. 35, n. 6, p. 1004-1010, 1971.

WUANA, R. A.; OKIEIMEN, F. E., Metais pesados em solos contaminados: uma revisão de fontes, química, riscos e melhores estratégias disponíveis para a remediação. **Ecologia**, p. 1-20, 2011.

XING, B.; PIGNATELLO, J. J., Competitive Sorption between 1,3-Dichlorobenzene or 2,4-Dichlorophenol and Natural Aromatic Acids in Soil Organic Matter. **Environmental Science & Technology**, v. 32, p. 614-619, 1998.

YAN, R. M.; CHIUNG, Y. M.; PAN, C. Y.; LIU, J. H.; LIU, P. S., Effects of dichlorobenzene on acetylcholine receptors in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. **Toxicology**, v. 253, n. 1-3, p. 28-35, 2008.

YU, Y.; HUANG, Q.; CUI, J.; ZHANG, K.; TANG, C.; PENG, X., Determination of pharmaceuticals, steroid hormones, and endocrine-disrupting personal care products in sewage sludge by ultra-high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 399, p. 891–902, 2011.

ZHANG, L.; LENG, S. Q.; ZHU, R. Y.; CHEN, J. M., Degradation of chlorobenzene by strain *Ralstonia pickettii* L2 isolated from a biotrickling filter treating a chlorobenzene-contaminated gas stream. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 91, n. 407-415, 2011.

ZHANG, X.; XIA, H.; LI, Z.; ZHUANG, P.; GAO, B. O., Potential of four forage grasses in remediation of Cd and Zn contaminated soils. **Bioresource Technology**, China, v. 101, n. 6, p. 2063-2066, 2010.

ZHAO, F. J.; MA, J. F.; MEHARG, A. A.; McGRATH, S. P., Arsenic uptake and metabolism in plants. **New Phytologist**, v. 181, p. 777-794, 2009.

ZHENG, M. Z.; CAI, C.; HU, Y.; SUN, G. X.; WILLIAMS, P. N., Spatial distribution of arsenic and temporal variation of its concentration in rice. **New Phytologist**, v. 189, p. 200-209, 2011.

ZUCOL, A. F., Fitólitos. Uma nueva metodologia descriptiva. Asociaciones fitolíticas de *Piptochaetium montevidense* (Poaceae). **Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica**, n. 36, p. 69-85, 2001.