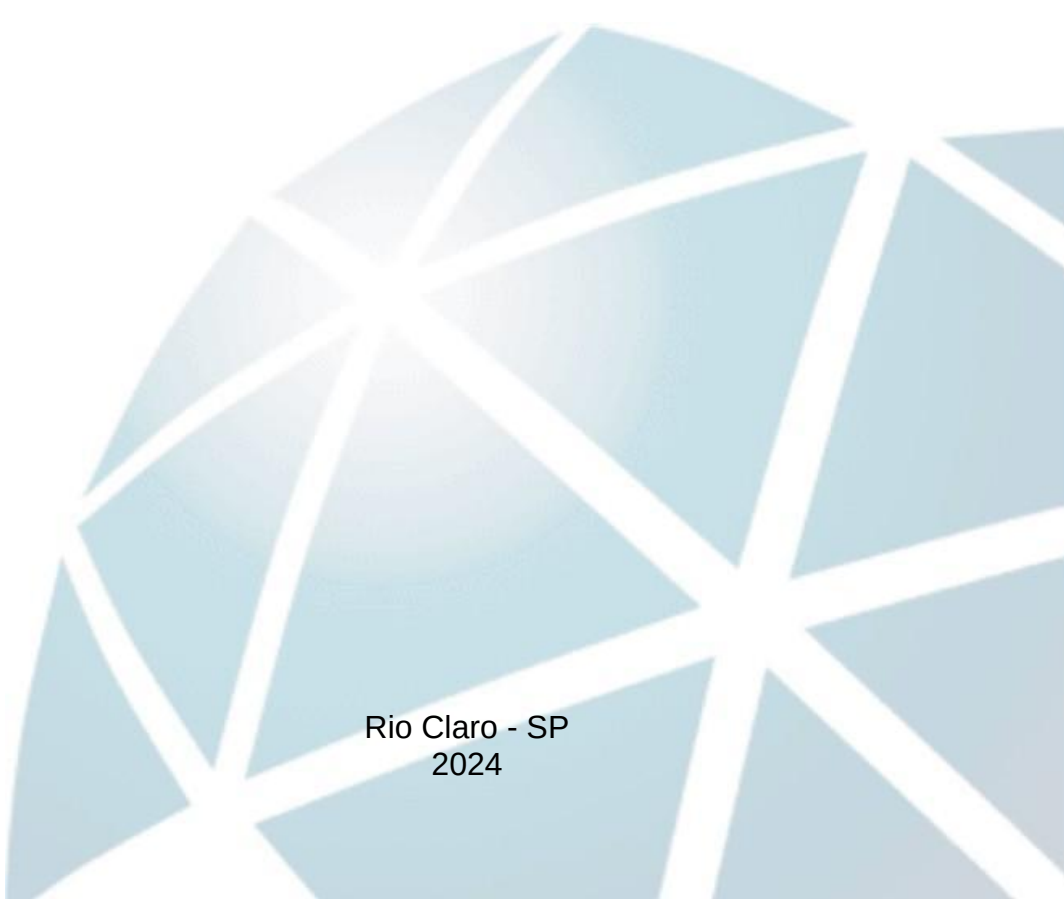

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

GIOVANA FERNANDES DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL
CITOGENOTÓXICO DE CHORUME DE
COMPOSTEIRA DOMÉSTICA, ANTES E
APÓS ATENUAÇÃO NATURAL**



Rio Claro - SP
2024

GIOVANA FERNANDES DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL CITOGENOTÓXICO DE CHORUME DE
COMPOSTEIRA DOMÉSTICA, ANTES E APÓS ATENUAÇÃO
NATURAL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Biociências – Câmpus de Rio Claro, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, para obtenção do grau de Bacharela e Licenciada em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof^a. Dr^a Maria Aparecida Marin Morales

Coorientadora: Ms Letícia de Souza Gigeck

Rio Claro - SP
2024

O48a

Oliveira, Giovana Fernandes de

Avaliação do potencial citogenotóxico de chorume de composteira doméstica, antes e após atenuação natural / Giovana Fernandes de Oliveira. -- Rio Claro, 2024

49 f. : tabs., fotos

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado e licenciatura - Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Rio Claro

Orientadora: Maria Aparecida Marin Morales

Coorientadora: Letícia de Souza Gigeck

1. Resíduos urbanos. 2. Fitotoxicidade. 3. Genotoxicidade. 4. Bioindicadores Vegetais. 5. Biorremediação. I. Título.

GIOVANA FERNANDES DE OLIVEIRA

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL CITOGENOTÓXICO DE CHORUME DE COMPOSTEIRA DOMÉSTICA, ANTES E APÓS ATENUAÇÃO NATURAL

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Biociências – Câmpus de Rio Claro, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, para obtenção do grau de Licenciada e Bacharela em Ciências Biológicas.

BANCA EXAMINADORA:

Profa. Dra. Maria Aparecida Marin Morales (orientadora)

Prof. Dr. Elton Luiz Scudeler

Profa. Dra. Laís Roberta Deroldo Sommaggio

Aprovado em: 4 de junho de 2014

Documento assinado digitalmente
 GIOVANA FERNANDES DE OLIVEIRA
Data: 01/07/2024 17:00:42-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Assinatura do discente

Documento assinado digitalmente
 MARIA APARECIDA MARIN MORALES
Data: 01/07/2024 20:22:54-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Assinatura da orientadora

Documento assinado digitalmente
 LETICIA DE SOUZA GIGECK
Data: 02/07/2024 11:39:19-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Assinatura da coorientadora

*Dedico este trabalho de pesquisa aos meus
pais, cuja dedicação e apoio foram
fundamentais para que eu alcançasse esta
etapa tão importante da minha vida.*

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar minha profunda gratidão a todas as pessoas que contribuíram para a realização deste trabalho. Primeiramente, agradeço a Deus por me permitir ultrapassar todos os obstáculos encontrados ao longo da realização desta pesquisa; aos meus pais, Cleide e Jevanes, por sempre investirem na minha educação e pelo apoio incondicional durante todo o processo; e ao meu irmão, Felipe. Sem o suporte de vocês nada disso seria possível.

Gostaria de expressar minha gratidão ao Instituto de Biociências da UNESP e ao Laboratório de Mutagênese Ambiental (LMA) por fornecer toda a infraestrutura necessária para a realização deste trabalho. Obrigada a todos que estiveram comigo no LMA, onde tive a oportunidade de vivenciar minha primeira experiência científica e a honra de desenvolver este trabalho.

Agradeço especialmente à Profa. Dra. Maria Aparecida Marin Morales por ser uma excelente orientadora e por me acolher tão bem em seu grupo de pesquisa. Sua orientação foi fundamental para moldar este trabalho e aprimorar minhas habilidades de pesquisa. À minha coorientadora, Letícia Gigeck, agradeço por todo conhecimento compartilhado. Sua ajuda e dedicação foram essenciais para essa pesquisa. À Adriana Correa, a melhor técnica do mundo, agradeço a paciência, apoio e ajuda nos experimentos e demais atividades no laboratório. E um agradecimento especial à minha duplinha de laboratório, Júlia Vieira, que esteve ao meu lado em todas as etapas desta pesquisa. Obrigada pela ajuda, pelas risadas e por estar sempre disposta a trabalhar neste projeto. Este trabalho representa não apenas meu esforço individual, mas também o resultado de uma rede de apoio incrível que me cerca. Sou grata por cada contribuição e por fazerem parte desta conquista.

Gostaria de expressar minha gratidão à professora Bernadete Benetti pelo apoio e orientação ao longo dos anos em que participei do PIBID e da Residência Pedagógica. Sua dedicação e orientação foram fundamentais para o meu crescimento acadêmico e profissional, contribuindo para o desenvolvimento do meu amor pela educação.

Aos meus amigos, agradeço pelas risadas, alegrias, tristezas e dores compartilhadas. Bia, Duda, Jheni, Baby, Mari e Lay, obrigada por serem os melhores amigos que eu poderia ter na faculdade. Obrigada por serem tão incríveis e por fazerem desta fase uma das melhores da minha vida. Um agradecimento especial à República Gaia e às suas atuais moradoras (Giba, Duda e Moda) e ex-moradoras. Foi uma experiência incrível compartilhar não apenas o espaço da casa, mas também a vida com todas vocês. Uma vida longa a todas as memórias que vivemos

juntas. Agradeço também a minha melhor amiga, Samara. Sou muito grata pela nossa amizade e pelo seu apoio.

Agradeço ao meu namorado e meu maior incentivador, Matheus, por ser meu confidente, por me apoiar durante todo o processo, por comemorar cada conquista comigo e por ter o abraço mais reconfortante do mundo depois de um dia exaustivo.

Enfim, meus sinceros agradecimentos a todos que de alguma forma contribuíram para a realização desse projeto. Sem vocês nada disso seria possível. Agradeço a todos que passaram pelo meu caminho durante esses seis anos de graduação, que de alguma forma proporcionaram uma risada ou me auxiliaram nessa jornada.

"O mais importante e bonito, do mundo, é isto: que as pessoas não estão sempre iguais, ainda não foram terminadas – mas que elas vão sempre mudando." (João Guimarães Rosa, 1994).

RESUMO

O crescimento exponencial da população global leva a necessidades crescentes de produção de alimentos, de componentes industrializados importantes para a qualidade da vida atual, de água de boa qualidade para consumo e irrigação, de sistemas sanitários eficientes que garantam saúde da população e práticas sustentáveis que garantam a qualidade ambiental. O atendimento a essas necessidades citadas leva a um crescimento também da produção de resíduos, que acaba se acumulando no ambiente. Os resíduos orgânicos, que compõem uma parte significativa desse panorama, apresentam um elevado potencial de contaminação e de dispersão nos diferentes compartimentos ambientais (água, ar e solo). Dentre os resíduos gerados pelas atividades humanas, destacam-se os de origem doméstica, por serem de produção crescente, constante e altamente complexos. Uma alternativa viável para a destinação apropriada e redução do volume de resíduos orgânicos de grandes áreas urbanas é a compostagem. O presente projeto tem como objetivo avaliar, por meio de bioensaios de fitotoxicidade com *Lactuca sativa* e de citogenotoxicidade com *Allium cepa*, o potencial tóxico do chorume de composteira doméstica (fresco e atenuado naturalmente), bem como a eficiência do processo de atenuação natural na detoxificação do chorume produzido nessas composteiras. Os resultados deste estudo não revelaram uma redução significativa na toxicidade do chorume atenuado naturalmente durante 12 meses. No entanto, destacam os elevados níveis de toxicidade do chorume de composteira doméstica em sua concentração de 100%, evidenciando seu potencial fitotóxico e citogenotóxico. Por outro lado, concentrações mais baixas de chorume fresco (20%) não demonstraram citogenotoxicidade nem potencial mutagênico e, ainda, promoveram um maior crescimento do hipocótilo em sementes de *Lactuca sativa*. Assim, é possível inferir que o chorume fresco, quando diluído a 20%, apresenta potencial para estimular o desenvolvimento das plantas, sugerindo sua viabilidade como fertilizante alternativo. Esta descoberta pode representar uma alternativa aos fertilizantes químicos, contribuindo para práticas agrícolas mais sustentáveis. No entanto, é crucial conduzir mais pesquisas científicas para aprimorar essa técnica e garantir sua segurança e eficácia a longo prazo.

Palavras-chave: Resíduos urbanos; fitotoxicidade; genotoxicidade; bioindicadores vegetais; biorremediação.

ABSTRACT

The exponential growth of the global population leads to increasing needs for food production, essential industrial components for current quality of life, good quality water for consumption and irrigation, efficient sanitation systems ensuring public health, and sustainable practices maintaining environmental quality. Addressing these needs results in a parallel increase in waste production, accumulating in the environment. Organic waste, a significant component in this scenario, poses high contamination potential and disperses across environmental compartments (water, air, and soil). Among human-generated wastes, domestic waste stands out due to its increasing, constant, and highly complex production. A viable alternative for appropriate disposal and reduction of organic waste in large urban areas is composting. This project aims to evaluate the toxic potential of domestic compost leachate (fresh and naturally attenuated) using phytotoxicity bioassays with *Lactuca sativa* and cytogenotoxicity assays with *Allium cepa*. Results showed no significant reduction in toxicity of naturally attenuated leachate over 12 months. However, high toxicity levels were evident in undiluted domestic compost leachate, demonstrating its phytotoxic and cytogenotoxic potential. In contrast, lower concentrations of fresh leachate (20%) showed no cytogenotoxicity or mutagenic potential and even promoted greater hypocotyl growth in *Lactuca sativa* seeds. Thus, diluted fresh leachate at 20% has potential to enhance plant growth, suggesting viability as an alternative fertilizer. This discovery could offer an alternative to chemical fertilizers, supporting more sustainable agricultural practices. Nonetheless, further scientific research is crucial to refine this technique and ensure its long-term safety and efficacy.

Keywords: Urban waste; phytotoxicity; genotoxicity; plant bioindicators; bioremediation.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. OBJETIVOS	14
2.1 Objetivo geral	14
2.2 Objetivos específicos	14
3. MATERIAIS E MÉTODOS	15
3.1 Amostra testada	15
3.2 Concentrações e preparação das amostras	17
3.3 Teste de fitotoxicidade com <i>Lactuca sativa</i>	18
3.4 Teste de citogenotoxicidade com <i>Allium cepa</i>	19
4. RESULTADOS	22
4.1. Bioensaios de fitotoxicidade	22
4.2. Bioensaio de citogenotoxicidade e potencial mutagênico	25
5. DISCUSSÃO	30
6. CONCLUSÃO	37
7. REFERÊNCIAS	39

1 INTRODUÇÃO

O aumento da população global está diretamente relacionado com o aumento e diversificação das atividades humanas e, consequentemente, com a produção e acúmulo de resíduos. Dentre os resíduos gerados pelas atividades humanas (domésticas, agrícolas e industriais), se destacam os de característica orgânica. A intensificação na produção desses resíduos pode desencadear impactos negativos ao ambiente, devido à sua dificuldade de auto depuração. Os resíduos urbanos são, particularmente, importantes neste quesito, pois podem estar associados a sérios problemas de saúde pública, pela possibilidade de abrigarem vetores de doenças e serem fontes de poluição química (Cruz et al., 2019).

Conforme apontado no Panorama dos Resíduos Sólidos no Brasil (Associação Brasileira de Empresas de Limpeza Pública e Resíduos Especiais - ABRELPE, 2022), a maior parte dos Resíduos Sólidos Urbanos (RSU) coletados no país (61%) é encaminhada para aterros sanitários. Os demais (39%) são destinados a aterros controlados e lixões. A decomposição da parcela orgânica dos RSU, confinada nesses locais, apresenta um elevado potencial de contaminação, devido ao fato de liberarem gases de efeito estufa e chorume (Bersan et al., 2022). Esse último é um resíduo líquido de coloração escura e odor forte, que é derivado da decomposição físico-química e microbiológica dos RSU (Renou et al., 2008).

O chorume é composto por uma variedade de compostos orgânicos e inorgânicos, muitos deles com característica tóxica (Christensen et al., 2001). Além das substâncias tóxicas, o chorume carrega também organismos patogênicos, que podem causar danos ambientais que comprometem as comunidades microbiológicas, vegetais e animais endêmicas do local, assim como à saúde humana (Almeida, 2017). Os danos ambientais provocados pelo chorume podem ainda se estender para outros compartimentos ambientais, como corpos d'água superficiais e subterrâneos, solo e atmosfera, sendo, neste último, comprovado pelo odor desagradável, conferido pelas substâncias tóxicas. Devido a esse potencial poluidor, a comunidade científica vem buscando estratégias viáveis e sustentáveis para minimizar os impactos desse percolato, tanto no contexto ambiental como no de saúde pública.

Dentre as tecnologias que apresentam grande potencialidade de serem usadas para a descontaminação de ambientes poluídos ou para minimizar toxicidade de resíduos, está a de biorremediação. Esta técnica oferece vantagens, como menor custo e maior eficiência na remoção de contaminantes, em comparação às tecnologias que usam processos físicos e químicos, além de ser uma técnica considerada ecologicamente sustentável. A técnica da

biorremediação é aplicada em escala comercial, no tratamento de diversos resíduos e em recuperação de áreas contaminadas (Bamforth; Singleton, 2005; Chen et al., 2015).

A biodegradação pode ser classificada, quanto ao local onde ela é aplicada, em *in situ*, quando aplicada no local da contaminação, e *ex situ*, quando se dá fora do local contaminado. Ela também pode ser classificada, quanto ao tipo de processo de degradação utilizado, em atenuação natural, bioestimulação e bioaugmentação (EPA, 2006).

A atenuação natural é um processo passivo, em que os próprios mecanismos físicos, químicos e biológicos, presentes no ambiente contaminado, degradam naturalmente o resíduo, levando a uma diminuição da concentração dos contaminantes (Sanchez et al., 2000; Hamby, 1996). Este método é bastante vantajoso, por ser realizado no próprio local da contaminação, o que evita transferência de contaminação para outros ambientes; por requerer pouca ou nenhuma intervenção no ambiente; ser de baixo custo, quando comparado às demais técnicas; ter uma maior eficiência para ser aplicado em contaminações de baixa toxicidade; e poder ser usado quando a remediação completa não é viável (Sanchez et al., 2000; Sarkar et al., 2005). Contudo, a atenuação natural não é aplicável para todos os tipos de contaminações, pois nem sempre se consegue eliminar, com ela, todos os compostos tóxicos presentes no local contaminado (Ventura et al., 2023).

A técnica denominada de bioestimulação (ou atenuação natural acelerada - ANA) é uma opção de biorremediação, onde se acelera o processo de atenuação natural, por meio de adição de nutrientes e energia no sistema (EPA, 2004), ou ainda pela introdução de enzimas específicas que auxiliarem o processo de degradação (Cunha et al. 2008). A adição de nutrientes ou de oxigênio estimula, de forma controlada, o processo natural de degradação dos contaminantes, por suprir as necessidades dos microrganismos endêmicos (autóctones/indígenas) do local impactado, levando a um aumento populacional dos mesmos (Mazzeo, 2013). A bioestimulação é uma forma simples e de custo mais baixo, em relação às demais técnicas de biorremediação, eficaz para acelerar os processos de degradação de contaminantes (EPA. 2004).

A bioaugmentação é uma metodologia que visa aumentar a microbiota de um ecossistema, pela introdução de microrganismos exógenos (não nativos) que possuam um potencial de persistir no ambiente, se reproduzir, degradar e/ou acelerar o processo de biodegradação, ou pela introdução de enzimas específicas que auxiliam no processo de degradação (EPA, 2004; Cunha et al. 2008). Esse processo é particularmente importante nos casos de necessidade de biodegradação rápida de contaminantes em um dado ecossistema.

As técnicas de atenuação natural e biorremediação têm se mostrado eficazes na remediação de águas e solos contaminados, mas cada situação apresenta desafios singulares. Assim, é crucial adaptar as estratégias de remediação, de acordo com circunstâncias específicas, que levem em consideração elementos como a natureza dos contaminantes, as condições específicas dos ambientais degradados e as características da disseminação dos poluentes (Hamby, 1996; Scow; A Hicks, 2005).

Uma alternativa viável de biorremediação destinada a redução do volume de resíduos orgânicos nas grandes áreas urbanas é a compostagem. De acordo com Cruz et al. (2019), a compostagem é um processo de degradação natural que acontece, predominantemente, por via microbiológica, e cuja eficiência depende das ações e interações entre os microrganismos presentes no meio. É ainda um processo economicamente viável para reciclar matéria orgânica. Esse processo de decomposição leva a estabilização biológica de substratos orgânicos, resultando em um produto final estável, livre de patógenos e com características nutricionais relevantes, tornando-o adequado para uso como fertilizante de solos.

O processo de compostagem pode, ainda, ser implementado localmente, seja pelo método de leiras, recomendado para propriedades ou estabelecimentos com grande geração de resíduos; ou pelo método de caixas, como utilizado de forma doméstica, em residências ou apartamentos (Bersan et al., 2020). A compostagem doméstica de matéria orgânica proporciona diversos benefícios socioambientais, quando realizada de forma adequada, e é considerada uma alternativa ambiental segura e duradoura, que contribui para descentralizar a responsabilidade na gestão de resíduos, alinhada com as diretrizes da Política Nacional de Resíduos Sólidos (Brasil, 2010; Wangen & Freitas, 2010; Monteiro, 2016).

No entanto, as informações sobre a qualidade dos produtos da compostagem ainda são escassas e incongruentes. Os dados disponíveis geralmente se limitam a alguns parâmetros, como teor de umidade, sólidos voláteis, carbono e nitrogênio, enquanto outras características são raramente relatadas (Vázquez; Soto, 2015). Além disso, a maioria dos estudos foi conduzida em condições experimentais pouco controladas, usando recipientes de compostagem em escala piloto, com alguns estudos realizados em ambientes de campo com sistemas de compostagem doméstica ou em pequena escala (Smith; Jasim, 2009; Faverial; Sierra, 2014; Tatàno et al., 2015). Conforme destacado por Butler et al. (2001), a compostagem, embora seja uma estratégia sustentável, o uso de seus produtos dependerá da qualidade do produto final. Se o composto não for estabilizado adequadamente, pode causar fitotoxicidade e impactar, adversamente, o ambiente.

Uma maneira de avaliar a toxicidade de resíduos é submetê-lo a testes ecotoxicológicos. A ecotoxicologia pressupõe o uso de bioensaios que sejam capazes de avaliar, de forma mais realista, os impactos dos xenobiontes à biota e à saúde humana, e não somente o tipo de agente envolvido na contaminação (Pandard et al., 2006; Wilke et al., 2008; Cesar et al., 2013). Neste contexto, produtos finais de compostagem também devem passar por avaliação ecotoxicológica, antes de serem destinados para qualquer fim.

Os testes biológicos são indispensáveis para a avaliação das reações dos organismos vivos à poluição ambiental e para indicar os efeitos potenciais de vários poluentes. Os bioensaios, especialmente os de curta duração com plantas superiores, são uma das melhores formas de detectar e estimar a carga poluidora de um sistema (Gana et al., 2008).

Muitas espécies de plantas são amplamente utilizadas como indicadores de citogenotoxicidade de poluentes ambientais, tanto de origem física como química (Juchimiuk; Maluszynska, 2005). De acordo com Iqbal et al. (2019), as bioensaios desenvolvidos com plantas são muito usados em monitoramento ambiental, por serem testes relativamente baratos, de rápida execução, fácil manuseio, alta sensibilidade e por ter boa correlação com outros sistemas testes, inclusive com mamíferos.

Diversos estudos têm considerado o teste de *Allium cepa* como uma técnica eficaz para determinar a toxicidade e os níveis da poluição ambiental (Mazzeo et al., 2011; Nunes et al., 2011; Herrero et al., 2012). De acordo com Leme e Marin-Morales (2009), essa espécie apresenta vantagens de uso para estes fins, devido às suas características cromossômicas, como cromossomos grandes e em baixo número ($2n=16$), bem como facilidade de coloração, características estas que permitem uma melhor avaliação dos danos cromossômicos e alterações no ciclo mitótico. Além disso, os ensaios com essa espécie são de fácil desenvolvimento, altamente reprodutíveis e de baixo custo.

De acordo com Leme e Marin-Morales (2009), o uso de *A. cepa* não se deve apenas a sua sensibilidade para detectar compostos tóxicos, mas pela possibilidade de avaliar diversos *endpoints* genéticos de citotoxicidade, como alterações no índice mitótico; de genotoxicidade, como alterações cromossômicas, anormalidades nucleares e presença de micronúcleos. Alguns pesquisadores ainda utilizam características macroscópicas dessas plantas, como o comprimento e aspectos morfológicos das raízes, para avaliar toxicidade (Iqbal et al., 2019). Além disso, esses mesmos autores afirmam que *A. cepa* vem sendo frequentemente utilizada para identificar substâncias de ação clastogênica e ou aneugênica (Iqbal et al., 2019).

Bioensaios com a espécie *Lactuca sativa* também são mundialmente utilizados em avaliações de compostos químicos e de amostras ambientais, devido à sua sensibilidade a

agentes tóxicos. Os bioensaios de germinação e de alteração no desenvolvimento do hipocótilo e da radícula, realizados com essa espécie, são ferramentas importantes para diagnosticar a presença de agentes fitotóxicos. O crescimento da radícula e do hipocótilo são aspectos vitais para a sobrevivência de uma planta, pois estão relacionados à capacidade da planta de se estabelecer e se desenvolver no ambiente circundante. Assim, modificações nesses parâmetros podem sugerir a presença de substâncias que interferem no desenvolvimento vegetal (Sobrero & Ronco, 2004). Esses parâmetros de avaliação podem também inferir diminuição da divisão celular, o que pode indicar a potencialidade citotóxica do agente avaliado (Marcano et al, 2004). Além disso, esses ensaios se caracterizam por serem técnicas simples, rápidas, confiáveis e econômicas (Palmieri et al., 2014). O uso dessa espécie é recomendado por diversas agências ambientais reconhecidas internacionalmente, como a OECD (2003).

A compostagem é uma importante metodologia de degradação de resíduo, devido ao seu potencial degradador e sustentável. Contudo, essa técnica ainda demanda de mais estudos que certifiquem a sua eficiência no processo degradativo, bem como a isenção de toxicidade dos produtos derivados da sua degradação.

Um outro aspecto pouco investigado, com relação à compostagem, é a sua eficiência na degradação e a toxicidade dos resíduos gerados na compostagem (chorume). Também faltam pesquisas que busquem aprimorar e ampliar essa prática de reciclagem de resíduos. Frente ao exposto, o presente estudo visa avaliar o potencial fitotóxico e citogenotóxico de amostras de chorume de compostagem doméstica (frescas e atenuadas naturalmente em ambiente anaeróbico), por meio de ensaios de fitotoxicidade, realizados com os bioindicadores *L. sativa* e *A. cepa*, e de citogenotoxicidade, realizado com o bioindicador *A. cepa*. Neste estudo foi também avaliado se a atenuação natural promoveu detoxificação do chorume.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O presente estudo visou avaliar o potencial tóxico e citogenotóxico de amostras de chorume de composteira doméstica, por meio de ensaios com os bioindicadores vegetais *L. sativa* e *A. cepa*, antes e após um período de atenuação natural de, aproximadamente, 12 meses.

2.2 Objetivos específicos

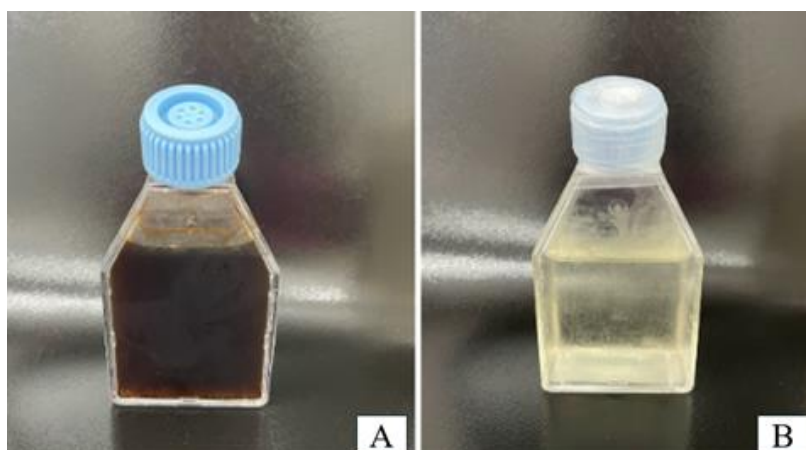
- Avaliar o efeito fitotóxico de amostras frescas de chorume coletadas em composteira doméstica e de chorume bioatenuado por cerca de 12 meses, por meio de ensaios de Germinação e de Alongamento da Raiz, com os bioindicadores *L. sativa* e *A. cepa*;
- Avaliar o potencial citotóxico de amostras frescas de chorume de composteira doméstica e de chorume bioatenuado por cerca de 12 meses, por meio de ensaios de Índices Mitótico, com o bioindicador *A. cepa*;
- Avaliar o potencial genotóxico de amostra fresca de chorume coletadas em composteira doméstica e de chorume bioatenuado por cerca de 12 meses, por meio de ensaios de Alterações Cromossômicas e do Micronúcleo, com células meristemáticas de *A. cepa*;
- Verificar, por estudo comparativo dos resultados obtidos nos dois tratamentos, a eficácia do processo de atenuação natural, quanto a detoxificação do lodo gerado no processo de compostagem doméstica;
- Contribuir para o melhor conhecimento das características de chorume gerado em compostagem de resíduos orgânicos domésticos, para estimar possíveis aplicações sustentáveis.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Amostra testada

Neste trabalho foram avaliadas diferentes concentrações de duas amostras de chorume, coletados em compostagem doméstica. A primeira amostra, denominada de “chorume fresco”, tratava-se de chorume recém coletado na composteira. Esse chorume tinha como característica a coloração escura (marrom escuro) e aspecto ligeiramente turvo (Figura 1A), bem como odor fétido convencional. Já a segunda amostra, denominado de “chorume atenuado”, foi de chorume coletado na mesma composteira, porém, que passou por um processo de atenuação natural, por cerca de 12 meses, em uma garrafa plástica fechada, submetida a variações de luz, calor e fotoperíodos específicos da sazonalidade anual. Este chorume atenuado, diferente do fresco, apresentava coloração amarela tênue, transparência (Figura 1B) e ausência do odor característico de chorumes.

Figura 1 – Chorume fresco e atenuado naturalmente



Legenda: **A:** chorume fresco; **B:** chorume atenuado naturalmente. Fonte: elaborado pela autora.

A composteira doméstica, utilizada para a obtenção das amostras de chorume, foi constituída com três caixas plásticas, que ficam empilhadas em três níveis (Figura 2A.1 - 3,). A caixa da base da composteira (Figura 2A.1) se destina à coleta do resíduo líquido orgânico - chorume produzido na compostagem. Esta caixa não apresenta furos na sua estrutura, para evitar a saída de odores e entrada de insetos. As duas caixas superiores da composteira (Figuras 2A. 2,3) foram furadas no fundo, com furos de cerca de 6 mm de diâmetro, para permitir a comunicação entre as caixas e o escoamento do chorume no sistema (Figura 2B). Também foram feitos furos de 2 mm na lateral superior das caixas de compostagem (Figuras 2A. 2,3),

para garantir uma adequada ventilação e circulação de ar no processo de compostagem (Figuras 2C e 2D).

Nas caixas superiores (Figuras 2A. 2,3), foram dispostas, alternadamente, camadas de terra, matéria orgânica (resíduos domésticos) e serragem, proporcionando um ambiente propício e fundamental para a atividade da microbiota e das minhocas adicionadas no sistema e, conseqüentemente, para a efetivação da decomposição dos resíduos. Os resíduos orgânicos depositados nas caixas limitaram-se a vegetais e legumes e, esporadicamente, cascas de ovos. A composteira recebeu resíduos continuamente, conforme produção doméstica, até atingir o seu limite de espaço. A serragem introduzida ao processo de compostagem, foi adquirida em serrarias ou marcenarias da cidade de Rio Claro. A introdução de serragem na compostagem é importante para ativar o processo de decomposição, evitar odores desagradáveis e proliferação de insetos. Quando a caixa destinada ao recebimento da matéria orgânica ficou totalmente preenchida com resíduos, foi adicionada, sobre ela, uma nova caixa, para receber os resíduos e a caixa de baixo permaneceu no sistema, por cerca de mais 2 meses, para continuidade do processo de biodegradação. Assim, a cada 2 ou 3 meses, aproximadamente, a caixa de maior tempo de decomposição foi retirada do sistema e seu conteúdo usado como fertilizante de solos. Quando a caixa 1 (recebimento do chorume) fica preenchida até a metade com o chorume, ela é esvaziada e o conteúdo diluído, na proporção de 1L de chorume para 10 L de água, para também ser usado como fertilizante. O sistema é dinâmico, o que assegura um ritmo adequado e contínuo de adição de novos resíduos ao sistema. Dependendo da quantidade de resíduos produzido, pode-se aumentar também o número de sobreposição de caixas (4, 5...).

Figura 2 – Estrutura da composteira doméstica, onde o chorume foi coletado

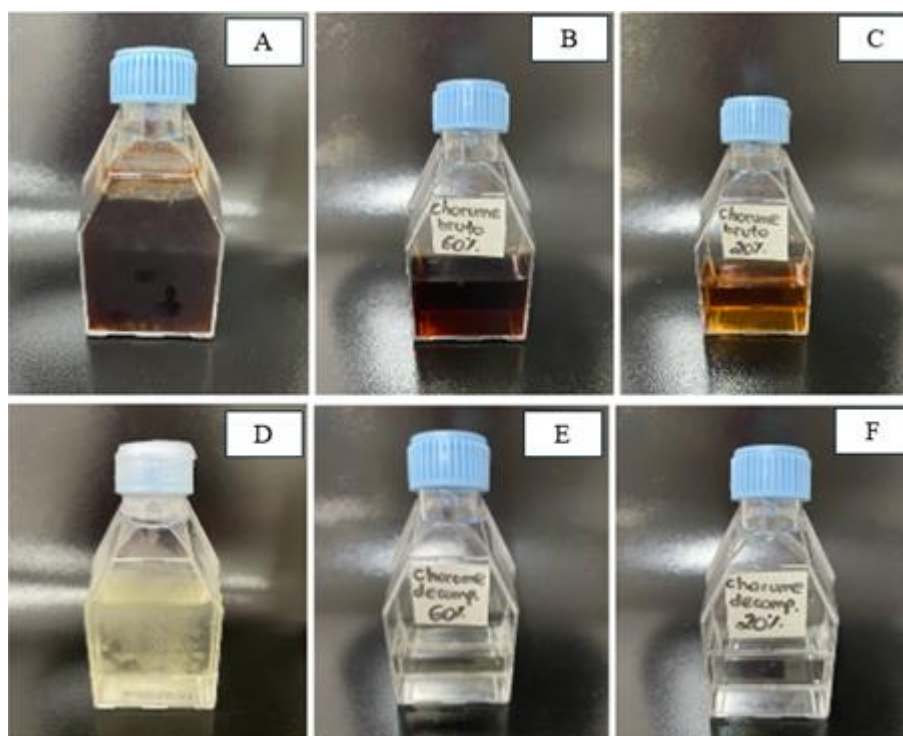


Legenda: **A:** Organização das caixas da composteira. 1- Caixa de recebimento do chorume derivado da decomposição de matéria orgânica de origem doméstica, 2 e 3- Caixas de depósito de resíduos domésticos (matéria orgânica) destinado a compostagem; **B:** Furos no fundo (caixas 2 e 3), para escoamento do chorume gerado pela decomposição da matéria orgânica; **C e D:** Furos laterais (caixas 2 e 3), para ventilação da compostagem. Fonte: elaborado pela autora.

3.2 Concentrações das amostras utilizadas nos ensaios de citogenotoxicidade com os bioindicadores *Lactuca sativa* e *Allium cepa*

Para os ensaios com os bioindicadores vegetais, foram utilizadas as concentrações de 100%, 60% e 20%, tanto do chorume fresco como do chorume atenuado (Figura 3A-F). As diluições foram realizadas com água Milli-Q autoclavada, para assegurar a fidelidade da avaliação. Além disso, foi realizada a filtragem do chorume atenuado, com filtro de seringa de 0,22 μm , para a retirada de microrganismos, que pudessem alterar os resultados do estudo.

Figura 3 – Concentrações do chorume fresco e atenuado



Legenda: **A:** 100% do chorume fresco; **B:** 60% do chorume fresco; **C:** 20% do chorume fresco; **D:** 100% do chorume atenuado; **E:** 60% do chorume atenuado; **F:** 20% do chorume atenuado. Fonte: elaborado pela autora.

3.3 Teste de fitotoxicidade com *Lactuca sativa*

A fitotoxicidade das amostras dos chorumes foi avaliada por meio dos ensaios de germinação e de alongamento radicular e de hipocótilo, realizados com o bioindicador *L. sativa*, conforme descrito por Sobrero e Ronco (2004). Os ensaios foram realizados, expondo 20 sementes de *L. sativa* em placas de Petri, forradas com papel de filtro. As placas foram umedecidas com 5 mL de cada uma das concentrações (100, 60 e 20%) dos chorumes testados (fresco e atenuado). O controle negativo (CN) foi realizado com água de osmose reversa e o controle positivo (CP) com sulfato de zinco heptaidratado (0,005M - $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$). Todos os ensaios foram realizados em triplicata. As placas de Petri contendo as sementes foram incubadas em BOD (sem fotoperíodo) a 22 °C, por 120 horas.

Após o período de incubação, foram contabilizadas as sementes germinadas, para a obtenção da porcentagem de germinação (relação entre o número de sementes germinadas/total de sementes dispostas por placa x 100). Em seguida, foram mensurados, com auxílio de um paquímetro digital, os comprimentos das radículas e dos hipocótilos de todas as sementes germinadas. Posteriormente, foram comparados os resultados das mensurações.

Os resultados dos ensaios foram submetidos às análises estatísticas, realizadas no software GraphPad Prism 8.0. Primeiramente, foi realizado o teste de normalidade de Shapiro-Wilk ($n < 50$), seguido pelo teste de homogeneidade de variância de Brown-Forsythe. Como os resultados dos testes apresentaram distribuição normal ($p > 0,05$), foi utilizado o teste estatístico paramétrico ANOVA.

3.4 Teste de citogenotoxicidade com *Allium cepa*

A avaliação da fitotoxicidade dos chorumes para *A. cepa*, seguiu os mesmos procedimentos citados anteriormente para *L. sativa* (item 3.3). Os testes também foram realizados em triplicata e as placas de Petri incubadas em BOD, com fotoperíodo de 120 horas. O controle negativo foi realizado com água de osmose reversa e o positivo com o herbicida Trifluralina. Após o período de incubação, foram contabilizadas as sementes germinadas, para a obtenção da porcentagem de germinação (relação entre o número de sementes germinadas/total de sementes dispostas por placa x 100). Em seguida, foram mensurados, com auxílio de um paquímetro digital, o comprimento da radícula e do hipocótilo de todas as sementes germinadas. Posteriormente, foram comparados os resultados das mensurações.

Os resultados dos ensaios foram submetidos às análises estatísticas, realizadas no software GraphPad Prism 8.0. Primeiramente, foi realizado o teste de normalidade de Shapiro-Wilk ($n < 50$), seguido pelo teste de homogeneidade de variância de Brown-Forsythe. Como os resultados dos testes apresentaram distribuição normal ($p > 0,05$), foi utilizado o teste estatístico paramétrico ANOVA.

A citogenotoxicidade das amostras dos chorumes (fresco e atenuado) foi avaliada pelo ensaio do Índice Mitótico (IM), de Alterações Cromossômicas (AC) e do Micronúcleo (MN), com células meristemáticas do bioindicador *A. cepa*, seguindo as descrições de Grant (1982), com modificações. Com sementes de *A. cepa* foram dispostas em placas de Petri, forradas com papel de filtro e umedecido com 5 mL das mesmas concentrações descritas no item 3.2. O tratamento controle negativo (CN) foi realizado com água de osmose reversa e o controle positivo (CP) com o herbicida Trifluralina (0,84 ppm). Os ensaios com esse organismo foram realizados em triplicata.

As placas com as sementes (Figura 4) foram acondicionadas em BOD, com fotoperíodo de 12 horas claro/escuro, por um período de 5 dias, em temperatura de 22 °C (± 2 °C). Após a germinação, as radículas foram coletadas e fixadas em Carnoy (etanol e ácido acético na proporção 3:1; v/v) e armazenadas a 4 °C, até a sua utilização na confecção das lâminas.

Para a confecção das lâminas, as radículas passaram por três banhos em água de osmose reversa, de 5 minutos cada, para a retirada do excesso do fixador. Na sequência, as raízes foram hidrolisadas em HCl 1N, em banho Maria a 60 °C, por um período de 10 minutos. Após a hidrólise, as raízes passaram novamente por três banhos de água, para interromper o processo de hidrólise e retirar o excesso do ácido das raízes. As raízes foram transferidas para vidros âmbar contendo Reativo de Schiff, para coloração pela reação de Feulgen (MELLO; VIDAL, 2017), onde permaneceram por 2 horas em local escuro. Após esse tempo, as raízes foram lavadas em água, até a retirada do excesso de corante.

As regiões meristemáticas das radículas foram seccionadas e dispostas em lâminas contendo uma gota de carmim acético (2%), coloração esta utilizada para contra corar o citoplasma e melhorar a visualização dos limites celulares nas análises microscópicas. Em seguida, o material foi recoberto com lamínula e, suavemente, esmagado. As lamínulas foram extraídas em nitrogênio líquido e as lâminas montadas com resina sintética, para conferir maior durabilidade às mesmas. Após a secagem, as lâminas foram analisadas em microscopia de luz.

A citotoxicidade das amostras foi avaliada pela análise de alteração no índice mitótico (IM). O índice mitótico é obtido pela relação entre as células em divisão celular e o total de células observadas, seguindo a fórmula:

$$\text{Índice mitótico} = \frac{\text{Número de células em divisão}}{\text{Total de células observadas}}$$

O potencial genotóxico das amostras foi avaliado pela análise das AC nas diferentes fases do ciclo celular. Foram considerados diferentes tipos de alterações, ou seja, lesões no material genético, como quebras, pontes, perdas, aderências cromossômicas, dentre outros,. O índice de genotoxicidade (IG) foi obtido pela relação entre o número de células com alterações cromossômicas e o total de células observadas, seguindo a fórmula:

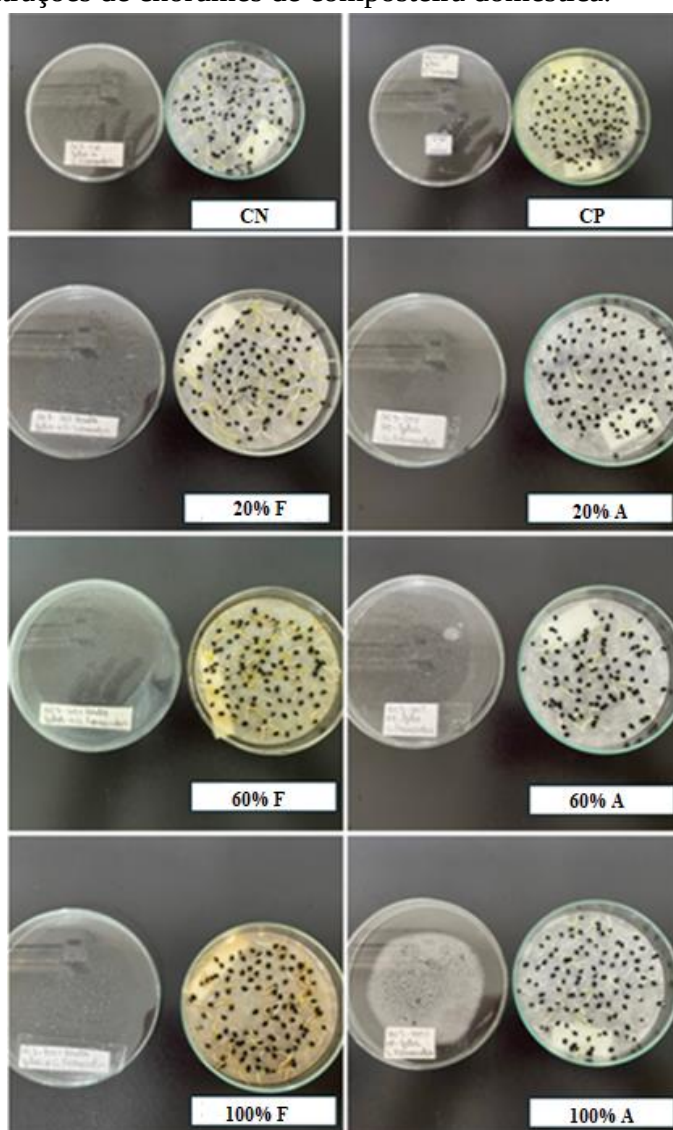
$$\text{Genotoxicidade} = \frac{\text{Número de células com alterações cromossômicas}}{\text{Total de células observadas}}$$

Já o potencial mutagênico das amostras foi avaliado pela análise da presença de micronúcleos (MN), durante as diferentes fases do ciclo celular. Este parâmetro de avaliação foi obtido pela relação entre o número de células com MN e o total de células observadas, seguindo a fórmula:

$$\text{Potencial Mutagênico} = \frac{\text{Número de células com MN}}{\text{Total de células observadas}}$$

A análise do nível de significância dos resultados obtidos foi realizada pelo software GraphPad Prisma 8.0. Primeiramente, foi realizado o teste de normalidade Shapiro-Wilk ($n < 50$), seguido pelo teste de homogeneidade de variância de Brown-Forsythe. Os resultados do índice mitótico apresentaram distribuição normal ($p > 0,05$), portanto foi utilizado o teste estatístico paramétrico ANOVA. Os índices de genotoxicidade e potencial mutagênico não apresentaram distribuição normal ($p < 0,05$), portanto aplicado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis.

Figura 4 - Placa de Petri contendo sementes de *A. cepa* expostas à germinação em diferentes concentrações de chorumes de composteira doméstica.



Legenda: **CN**: Controle Negativo (água de osmose reversa); **CP**: Controle Positivo (herbicida Trifluralina); **20% F**: tratamento com chorume fresco na concentração de 20%; **60% F**: tratamento com chorume fresco na concentração de 60%; **100% F**: tratamento com chorume fresco na concentração de 100%; **20% A**: tratamento com chorume atenuado na concentração de 20%; **60% A**: tratamento com chorume atenuado na concentração de 60%; **100% A**: tratamento com chorume atenuado na concentração de 100%. Fonte: elaborado pela autora.

4 RESULTADOS

4.1 Bioensaios de fitotoxicidade

O bioindicador *L. sativa* foi utilizado para avaliar a ação fitotóxica das amostras de chorume. Nos ensaios de germinação com esta espécie vegetal, não foram registradas diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos com os chorumes e o CN, demonstrando que nenhuma das amostras dos chorumes estudados foi tóxica para a espécie. Na Tabela 1, estão apresentados os resultados referentes aos índices de germinação das sementes de *L. sativa*, expostas às diferentes concentrações (20%, 60% e 100%) dos chorumes fresco e atenuado.

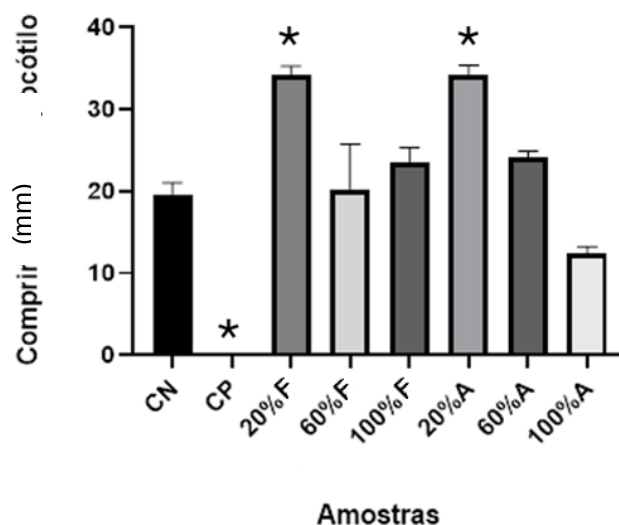
Tabela 1 – Índice (em porcentagem) de germinação de sementes de *Lactuca sativa* expostas a diferentes concentrações de amostras dos chorumes fresco e atenuado, coletados em composteira doméstica.

Tratamento	Germinação <i>Lactuca sativa</i>
CN	93,33% $\pm$ 2,89%
CP	0% $\pm$ 0% *
20% F	93,33% $\pm$ 7,64%
60% F	91,67% $\pm$ 5,77%
100% F	96,67% $\pm$ 2,89%
20% A	96,67% $\pm$ 5,77%
60% A	91,67% $\pm$ 10,41%
100% A	85% $\pm$ 8,66%

Legenda: **CN**: Controle Negativo (água osmose reversa); **CP**: Controle Positivo (sulfato de zinco heptahidratado); **20% F**: tratamento com 20% de chorume fresco; **60% F**: tratamento com 60% de chorume fresco; **100% F**: tratamento com 100% de chorume fresco; **20% A**: tratamento com 20% de chorume atenuado; **60% A**: tratamento com 60% de chorume atenuado; **100% A**: tratamento com 100% de chorume atenuado. Os resultados com * foram estatisticamente significativos ($p < 0,05$). Fonte: elaborado pela autora.

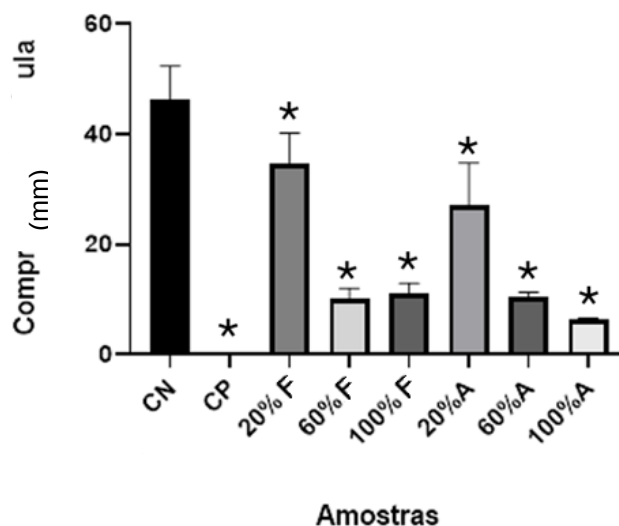
Em relação aos índices de alongamento do hipocótilo de *L. sativa*, foi observado aumento significativo no comprimento desta estrutura, para as sementes expostas a concentração de 20% dos chorumes fresco e atenuado, em comparação com o CN. No entanto, o tratamento com 100% de chorume atenuado apresentou uma diminuição significativa no comprimento do hipocótilo, como pode ser evidenciado na Figura 5. Quanto aos índices de crescimento da radícula de *L. sativa*, foram verificadas diferenças significativas entre o CN e todos os tratamentos realizafos, conforme detalhado na Figura 6.

Figura 5 - Alongamento do hipocótilo de *L. sativa* após a exposição das sementes a diferentes concentrações dos chorumes fresco ou atenuado, coletados em composteira doméstica.



Legenda: **CN**: Controle Negativo (água osmose reversa); **CP**: Controle Positivo (sulfato de zinco heptahidratado); **20% F**: tratamento com 20% de chorume fresco; **60% F**: tratamento com 60% de chorume fresco; **100% F**: tratamento com 100% de chorume fresco; **20% A**: tratamento com 20% de chorume atenuado; **60% A**: tratamento com 60% de chorume atenuado; **100% A**: tratamento com 100% de chorume atenuado. Os resultados com * foram estatisticamente significativos ($p < 0,05$). Fonte: elaborado pela autora.

Figura 6 - Alongamento da radícula de *L. sativa* após a exposição das sementes a diferentes concentrações dos chorumes fresco ou atenuado, coletados em composteira doméstica.



Legenda: **CN**: Controle Negativo (água osmose reversa); **CP**: Controle Positivo (sulfato de zinco heptahidratado); **20% F**: tratamento com 20% de chorume fresco; **60% F**: tratamento com 60% de chorume fresco; **100% F**: tratamento com 100% de chorume fresco; **20% A**: tratamento com 20% de chorume atenuado; **60% A**: tratamento com 60% de chorume atenuado; **100% A**: tratamento com 100% de chorume atenuado. Os resultados com * foram estatisticamente significativos ($p < 0,05$). Fonte: elaborado pela autora.

O bioindicador *Allium cepa* também foi utilizado para avaliar a fitotoxicidade das amostras dos chorumes. Nos ensaios de germinação realizado com *A. cepa*, também não foram

registradas diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos com os chorumes e o CN.

Na Tabela 2, estão apresentados os resultados referentes as porcentagens de germinação das sementes de *A. cepa* expostas às diferentes concentrações (20%, 60% e 100%) do chorume fresco e do chorume atenuado.

Tabela 2– Índice (em porcentagem) de germinação de sementes de *Allium cepa* expostas a diferentes concentrações de amostras de chorumes fresco ou atenuado, coletados em composteira doméstica.

Tratamento	Germinação <i>Allium cepa</i>
CN	80% $\pm$ 10%
CP	0% $\pm$ 0% *
20% F	88,33% $\pm$ 5,77%
60% F	91,67% $\pm$ 7,64%
100% F	85% $\pm$ 5%
20% A	85% $\pm$ 5%
60% A	75% $\pm$ 8,66%
100% A	80% $\pm$ 5%

Legenda: **CN**: Controle Negativo (água osmose reversa); **CP**: Controle Positivo (sulfato de zinco heptahidratado); **20% F**: tratamento com 20% de chorume fresco; **60% F**: tratamento com 60% de chorume fresco; **100% F**: tratamento com 100% de chorume fresco; **20% A**: tratamento com 20% de chorume atenuado; **60% A**: tratamento com 60% de chorume atenuado; **100% A**: tratamento com 100% de chorume atenuado. Os resultados com * foram estatisticamente significativos ($p < 0,05$). Fonte: elaborado pela autora.

Os resultados dos ensaios de índice de alongamento de hipocótilo, realizados com *A. cepa*, mostraram que houve uma diminuição significativa, em relação aos dados do CN, no comprimento do hipocótilo de sementes tratadas com chorume fresco puro (100%) (Tabela 3). Já os resultados dos índices de alongamento da radícula de *A. cepa*, mostraram que houve diminuições significativas no crescimento dessas estruturas em sementes tratadas com as duas concentrações mais altas do chorume atenuado (100% e 60%). Dentre os resultados testes de alongamento (hipocótilo e radícula), o que de maior efeito na redução do comprimento, foi a concentração de 100% do chorume atenuado (Tabela 3).

Tabela 3- Crescimento de hipocótilo e radícula após a exposição de sementes a diferentes concentrações dos chorumes fresco ou atenuado, coletados em composteira doméstica.

Tratamento	Hipocótilo (mm)	Radícula (mm)
CN	12,87% ± 0,56%	10,37% ± 1,07%
CP	0% ± 0% *	0% ± 0% *
20% F	14,94% ± 2,14%	9,71% ± 1,38%
60% F	15,01% ± 1,15%	7,13% ± 0,48%
100% F	9,95% ± 0,63%	4,30% ± 0,42% *
20% A	13,90% ± 3,44%	8,37% ± 3,45%
60% A	10,28% ± 1,29%	4,13% ± 0,39% *
100% A	7,40% ± 0,89% *	3,10% ± 0,33% *

Legenda: **CN**: Controle Negativo (água osmose reversa); **CP**: Controle Positivo (sulfato de zinco heptahidratado); **20% F**: tratamento com 20% de chorume fresco; **60% F**: tratamento com 60% de chorume fresco; **100% F**: tratamento com 100% de chorume fresco; **20% A**: tratamento com 20% de chorume atenuado; **60% A**: tratamento com 60% de chorume atenuado; **100% A**: tratamento com 100% de chorume atenuado. Os resultados com * foram estatisticamente significativos ($p < 0,05$). Fonte: elaborado pela autora.

4.2 Bioensaios de citogenotoxicidade e potencial mutagênico

Foram conduzidos, com o bioindicador *A. cepa*, ensaios citogenotóxicos e de potencial mutagênico, com diferentes concentrações de chorumes fresco e atenuado (100, 60 e 20%), coletados em composteira doméstica. Foram avaliadas alterações no índice mitótico e cromossômicas, como presença de quebras, pontes, perdas e aderências cromossômicas, c-metáfases, poliploidizações do material genético, multipolaridade; e alterações nucleares, como presença de células multinucleadas, micronúcleos, brotos nucleares e núcleos disformes.

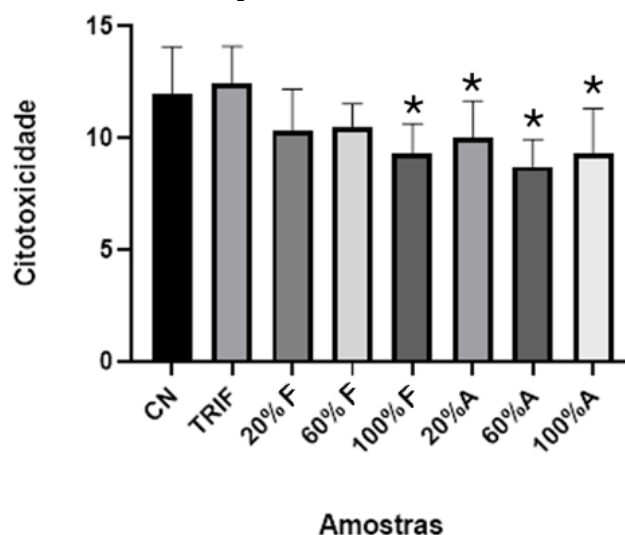
Foram quantificados os índices de citotoxicidade (índice mitótico), genotoxicidade e potencial mutagênico, para cada um dos tratamentos, e os resultados comparados aos índices observados no CN (Tabela 4). Pelos resultados obtidos, foi possível observar que houve redução significativa nos índices mitóticos das células expostas aos tratamentos com 100% de chorume fresco e em todas as concentrações do chorume atenuado (Tabela 4, Figura 7). Já pelos ensaios de alterações cromossômicas, foi observado que somente o tratamento com 100% do chorume fresco induziu alteração no índice de genotoxicidade (Tabela 4, Figura 8). No entanto, por este mesmo ensaio, foi observado que nenhum dos tratamentos apresentou potencial mutagênico (Tabela 4).

Tabela 4 - Resultados dos ensaios de citotoxicidade, potencial mutagênico e genotoxicidade, realizadas com o bioindicador *Allium cepa* expostos em diferentes concentrações dos chorumes fresco e atenuado, coletados em composteira doméstica.

Tratamento	Índice Mitótico (citotoxicidade)	Índice de Genotoxicidade	Índice de Mutagenicidade
CN	59,83% ± 10,64%	2,51% ± 2,07%	1,86% ± 1,96%
TRIF	62,35% ± 8,19%	28,37% ± 14,00% *	5,43% ± 3,47%
20% F	51,77% ± 9,18%	1,76% ± 1,95%	0,40% ± 0,49%
60% F	52,57% ± 5,18%	4,67% ± 3,19%	0,95% ± 1,66%
100% F	46,69% ± 6,54% *	6,10% ± 2,82% *	2,19% ± 2,11%
20% A	50,14% ± 8,17% *	2,58% ± 2,79%	1,13% ± 1,29%
60% A	43,66% ± 6,04% *	2,88% ± 2,18%	0,74% ± 0,85%
100% A	46,68% ± 9,93% *	4,56% ± 3,68%	0,89% ± 1,26%

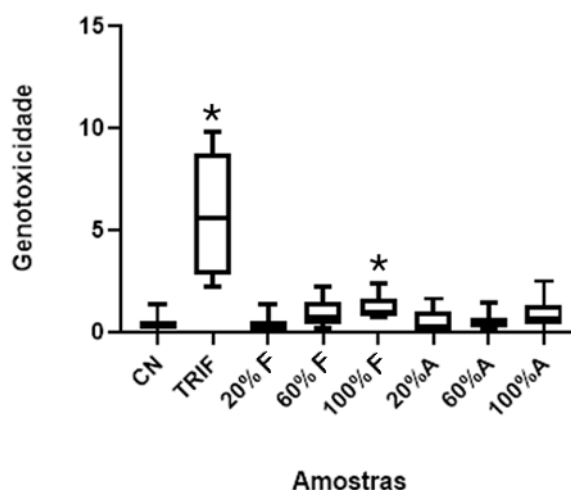
Legenda: **CN**: Controle Negativo (água deionizada); **TRIF**: Controle Positivo (herbicida Trifluralina); **20% F**: tratamento com 20% de chorume fresco; **60% F**: tratamento com 60% de chorume fresco; **100% F**: tratamento com 100% de chorume fresco; **20% A**: tratamento com 20% de chorume atenuado; **60% A**: tratamento com 60% de chorume atenuado; **100% A**: tratamento com 100% de chorume atenuado. Os resultados com * foram estatisticamente significativos ($p < 0,05$). Fonte: elaborado pela autora.

Figura 7 - Índices mitóticos observados nos ensaios realizados com o bioindicador *Allium cepa*, após exposição das sementes em diferentes concentrações dos chorumes fresco e atenuado, coletados em composteira doméstica.



Legenda: **CN**: Controle Negativo (água deionizada); **TRIF**: Controle Positivo (herbicida Trifluralina); **20% F**: tratamento com 20% de chorume fresco; **60% F**: tratamento com 60% de chorume fresco; **100% F**: tratamento com 100% de chorume fresco; **20% A**: tratamento com 20% de chorume atenuado; **60% A**: tratamento com 60% de chorume atenuado; **100% A**: tratamento com 100% de chorume atenuado. Os resultados com * foram estatisticamente significativos ($p < 0,05$). Fonte: elaborado pela autora.

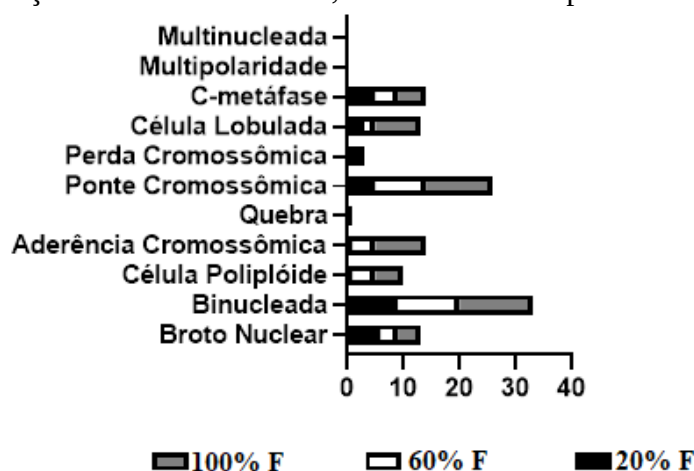
Figura 8 - Índices de genotoxicidade observados nos ensaios realizados com o bioindicador *Allium cepa*, após exposição das sementes em diferentes concentrações dos chorumes fresco e atenuado, coletados em composteira doméstica.



Legenda: **CN**: Controle Negativo (água deionizada); **TRIF**: Controle Positivo (herbicida Trifluralina); **20% F**: tratamento com 20% de chorume fresco; **60% F**: tratamento com 60% de chorume fresco; **100% F**: tratamento com 100% de chorume fresco; **20% A**: tratamento com 20% de chorume atenuado; **60% A**: tratamento com 60% de chorume atenuado; **100% A**: tratamento com 100% de chorume atenuado. Os resultados com * foram estatisticamente significativos ($p < 0,05$). Fonte: elaborado pela autora.

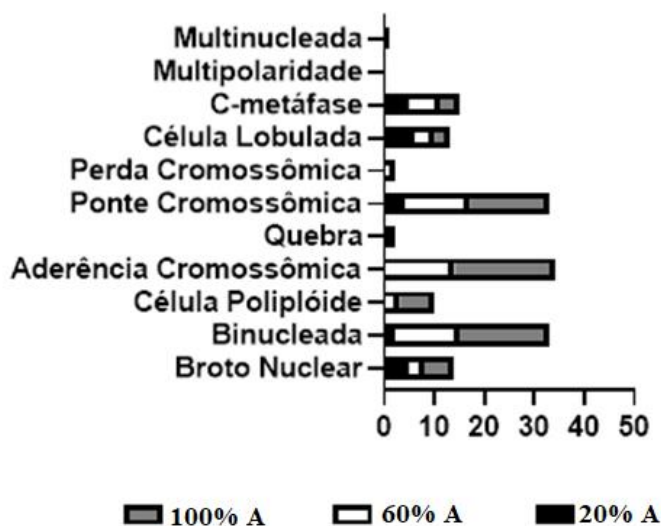
O número e as alterações cromossômicas observadas nas contagem das lâminas confeccionadas com meristemas radiculares de *Allium cepa*, expostos a diferentes concentrações de chorumes fresco e atenuado de composteira doméstica, estão registradas nas Figuras 9,10,11 e 12.

Figura 9 - Número de alterações cromossômicas e nucleares observadas nos ensaios realizados com o bioindicador *Allium cepa*, após exposição das sementes em diferentes concentrações do chorume fresco, coletado em composteira doméstica.



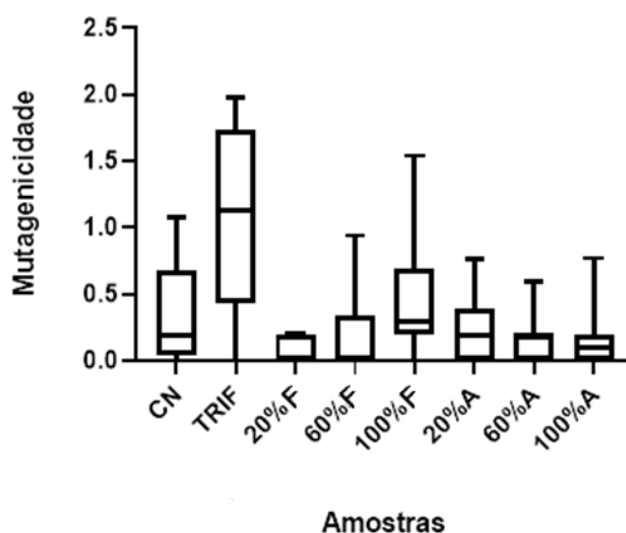
Legenda: **20% F**: tratamento com 20% de chorume fresco; **60% F**: tratamento com 60% de chorume fresco; **100% F**: tratamento com 100% de chorume fresco. Fonte: elaborado pela autora.

Figura 10 - Número de alterações cromossômicas e nucleares observadas nos ensaios realizados com o bioindicador *Allium cepa*, após exposição das sementes em diferentes concentrações de chorume atenuado, coletado em composteira doméstica.



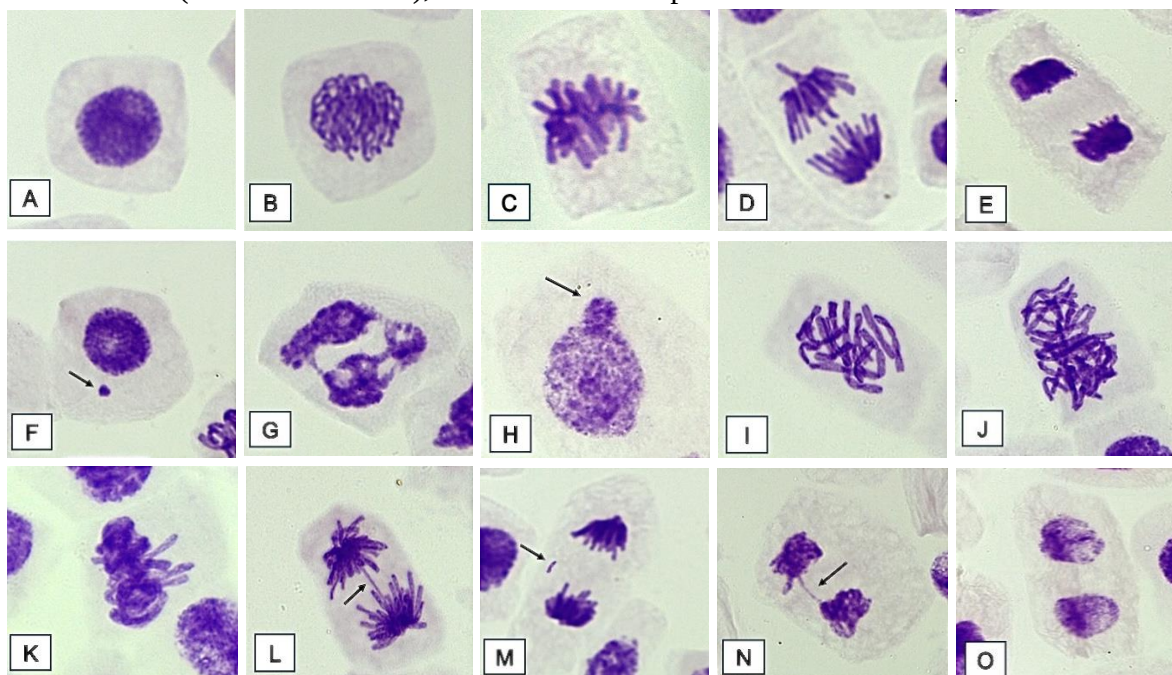
Legenda: **20% A**: tratamento com 20% de chorume atenuado; **60% A**: tratamento com 60% de chorume atenuado; **100% A**: tratamento com 100% de chorume atenuado. Fonte: elaborado pela autora.

Figura 11 – Potencial mutagênico observado nos ensaios realizados com o bioindicador *Allium cepa*, após exposição das sementes em diferentes concentrações de chorumes fresco e atenuado, coletados em composteira doméstica.



Legenda: **CN**: Controle Negativo (água deionizada); **TRIF**: Controle Positivo (herbicida Trifluralina); **20% F**: tratamento com 20% de chorume fresco; **60% F**: tratamento com 60% de chorume fresco; **100% F**: tratamento com 100% de chorume fresco; **20% A**: tratamento com 20% de chorume atenuado; **60% A**: tratamento com 60% de chorume atenuado; **100% A**: tratamento com 100% de chorume atenuado. Os resultados com * foram estatisticamente significativos ($p < 0,05$). Fonte: elaborado pela autora.

Figura 12 - Alterações cromossômicas observadas nos ensaios de genotoxicidade e do potencial mutagênico, realizados com diferentes concentrações de chorumes (fresco e atenuado), coletados em composteira doméstica.



Fonte: elaborado pela autora.

Legenda: **A:** intérfase normal; **B:** prófase normal; **C:** metáfase normal; **D:** anáfase normal; **E:** telófase normal; **F:** intérfase com micronúcleo (seta); **G:** intérfase com núcleo lobulado; **H:** intérfase com broto nuclear (seta); **I:** C-metáfase; **J:** metáfase poliplóide; **K:** metáfase com aderência cromossômica; **L:** anáfase com ponte cromossômica (seta); **M:** telófase com perda cromossômica; **N:** telófase com ponte cromossômica; **O:** célula binucleada.

A tabela 5, traz um resumo dos ensaios realizados neste estudo, bem como das toxicidades de cada concentração, para cada um dos parâmetros avaliados.

Tabela 5 – Resumo dos dados obtidos

Bioindicador	Bioensaios	Chorume fresco			Chorume atenuado		
		20%	60%	100%	20%	60%	100%
<i>Lactuca sativa</i>	Porcentagem de germinação						
	Comprimento do hipocótilo	X			X		X
	Comprimento da radícula	X	X	X	X	X	X
<i>Allium cepa</i>	Porcentagem de germinação						
	Comprimento do hipocótilo						X
	Comprimento da radícula			X		X	X
	Citotoxicidade			X	X	X	X
	Genotoxicidade			X			
	Potencial mutagênico						

Legenda: Os resultados com X foram estatisticamente significativos ($p < 0,05$). Fonte: elaborado pela autora.

5 DISCUSSÃO

A compostagem doméstica representa um potencial de gestão sustentável de resíduos orgânicos oriundos de residências, jardins e hortas. Uma gestão adequada desses resíduos pode gerar importantes benefícios econômicos e ambientais (Andersen et al., 2012; Faverial; Sierra, 2014; Vázquez et al., 2015).

Diversos estudos científicos têm avaliado a sustentabilidade ambiental da compostagem doméstica, comparando-a com outras opções de tratamento de resíduos, como a compostagem industrial, incineração, disposição em aterro ou co- evacuação com águas residuais (Martínez-blanco et al., 2010; Chan et al., 2011; Andersen et al., 2012; Lleó et al., 2013; Adhikari et al., 2013). Esses estudos, baseados no monitoramento de emissões de gases, concluem que a compostagem doméstica é tão ou mais sustentável que outras opções de tratamento de biorresíduos, principalmente considerando o fator emissões de gases de efeito estufa. No entanto, informações sobre a qualidade do composto final e do resíduo (chorume) da própria compostagem doméstica ainda são escassas.

Um aspecto crucial a ser avaliado na qualidade do chorume, é sua composição química e os níveis de contaminação por metais, os quais devem atender a legislação para compostos vegetais comerciais, corretivos orgânicos e uso de compostos em atividades agrícolas. Outros aspectos de avaliação incluem a estabilidade, a capacidade fertilizante do composto, bem como a presença de contaminantes físicos, decorrentes da triagem inadequada de resíduos domésticos (Vázquez et al., 2015). A literatura científica, atualmente disponível, sugere que as propriedades do composto doméstico estão dentro dos limites de qualidade aceitáveis (Martínez-blanco et al., 2010; Andersen et al., 2012; Karnchanawong; Suriyanon, 2011). No entanto, os dados geralmente se limitam a alguns parâmetros, como teor de umidade, sólidos voláteis, carbono e nitrogênio, enquanto outras características também de importância raramente são relatadas (Smith; Jasim, 2009; Faverial; Sierra, 2014; Tatàno et al., 2015).

Frente a essa escassez de dados sobre a qualidade do composto final da compostagem doméstica, torna-se importante que mais pesquisas científicas sejam realizadas, para aprimorar e expandir a prática dessa reciclagem de resíduos. Nesse contexto, o presente estudo pode trazer informações relevantes sobre a ecotoxicidade do composto final da composteira doméstica e contribuir, significativamente, para o aprimoramento do conhecimento sobre essa prática de biodegradação de resíduos.

Os estudos ecotoxicológicos têm como objetivo avaliar os efeitos e influências de agentes tóxicos sobre os organismos (Truhaut, 1974). Entre esses efeitos, os citogenotóxicos e

mutagênicos são especialmente preocupantes, devido à sua capacidade de induzir danos celulares e genéticos, que podem desencadear uma série de problemas de saúde, bem como afetar as futuras gerações, uma vez que podem ser hereditárias. Desta forma, é essencial identificar e conhecer o modo de ação de compostos que possam interagir com o DNA, para garantir a qualidade ambiental, bem como a saúde humana. Dentre os métodos empregados para este fim, estão os que utilizam bioindicadores vegetais, pois as plantas superiores são reconhecidas como excelentes modelos genéticos para detectar mutágenos. Por isso, frequentemente os vegetais também são empregados em monitoramentos ambientais e em avaliações de toxicidade de compostos químicos em geral (Leme e Marin-Morales, 2009).

No presente estudo, foram utilizados os bioindicadores vegetais *L. sativa* e *A. cepa*, para avaliar fitotoxicidade, citogenotoxicidade e o potencial mutagênico de diferentes concentrações de chorumes fresco e atenuado naturalmente, coletados em composteira doméstica.

O primeiro parâmetro analisado foi a porcentagem de inibição da germinação, uma medida interessante para avaliar o primeiro contato entre o bioindicador e a substância ou amostra ambiental (Sobrero e Ronco, 2004). Como não foi observada nenhuma variação estatisticamente significativa nos testes de germinação realizados com sementes de *L. sativa* e de *A. cepa* expostas aos chorumes fresco e atenuado, em comparação com o CN, pode-se inferir que as amostras ambientais avaliadas não continham compostos com tóxicos para esses bioindicadores. Os tratamentos não exerceram influência sobre a taxa de germinação, provavelmente devido à proteção conferida pelo tegumento das sementes e pelo endosperma, que agem como barreiras contra substâncias potencialmente tóxicas (Li et al., 2005), ou por não ter afetado genes e ou reações envolvidas com os estímulos necessários para o início do processo de desenvolvimento (germinação).

Outro ensaio de fitotoxicidade conduzido, foi o teste de crescimento das partes do vegetal. Este método avalia os índices de alongamento do hipocótilo e da radícula, obtidos por medições dessas estruturas. Esse teste é particularmente sensível, pois possibilita avaliar efeitos sub-letais de substâncias e compostos em geral (Sobrero e Ronco, 2004). Os testes de alongação dos hipocótilos conduzidos neste estudo, mostram que as raízes de *L. sativa* expostas às amostras de 20% do chorume fresco e 20% e 100% do chorume atenuado divergiram estatisticamente dos resultados do CN.

Os resultados observados para os tratamentos realizados com 20% dos chorumes fresco e atenuado, mostraram um aumento médio significativo no crescimento dos hipocótilos, em comparação ao CN. Nesse sentido, esses aumentos podem ter ocorrido, devido a possível presença de compostos com potencial de estimular o desenvolvimento das raízes, como, por

exemplo, nutrientes presentes nas amostras de chorume, dada à sua composição complexa. Esta afirmação é corroborada por Solaiman et al. (2012), que citam que a presença de nutrientes no substrato de crescimento das plantas exerce um efeito estimulante sobre a elongação das raízes.

Em contraste, o chorume atenuado na concentração de 100% induziu um menor crescimento médio dos hipocótilos, quando comparado ao CN. Nos testes de elongação dos hipocótilos, utilizando o bioindicador *A. cepa*, os resultados foram semelhantes, pois também foi observado-se que as raízes expostas ao chorume atenuado, na concentração de 100%, apresentaram um menor crescimento médio dos hipocótilos. Pelos resultados, podemos inferir que o chorume puro, tanto fresco como atenuado, podem conter substâncias tóxicas capazes de inibir o crescimento dos hipocótilos, não sendo, assim, indicado o seu direto como fertilizante. Contudo, por esses ensaios de alongamento das raízes, é possível inferir que os chorumes diluídos apresentam um bom potencial para serem usados como fertilizantes, com destaque para a concentração de 20%.

Silva et al. (2011) enfatizam a importância dos métodos de tratamento de resíduos que visam aproveitar o chorume, devido ao seu alto potencial como fertilizante, por conter uma quantidade significativa de matéria orgânica e nutrientes minerais, desde que empregado em proporções apropriadas. A aplicação do chorume no solo pode promover melhorias em sua estrutura e fertilidade, pois adicionam nutrientes e matéria orgânica que facilitam a infiltração da água da chuva, a capacidade de retenção de umidade, a troca de cátions e a atividade microbiana. Além disso, o chorume pode solubilizar metais tóxicos e complexar metais essenciais para as plantas, como Zn, Cu, Mn, Co e Fe (Basso et al., 2008). Portanto, o uso da correta dosagem do líquido final da compostagem pode trazer benefícios significativos, embora exista uma escassez de pesquisas e informações sobre a concentração ideal para sua utilização.

Em relação aos testes de alongação das radículas, foram observadas alterações estatisticamente significativas para as raízes de *A. cepa*, expostas às amostras de 100% do chorume fresco e de 60% e 100% de chorume atenuado. Essas raízes apresentaram um menor crescimento médio das radículas, quando comparado ao grupo controle. Já nos testes realizados com *L. sativa*, todas as concentrações avaliadas induziram um crescimento médio menor dessa estrutura, em relação aos do CN. Portanto, é possível inferir que todas as amostras de chorume continham substâncias fitotóxicas, que inibiram o crescimento das radículas em *L. sativa*.

Os bioindicadores mais adequados e eficazes para uso em avaliações de toxicidade são os mais sensíveis à detecção de mudanças. Neste estudo, observou-se que a espécie *L. sativa* foi mais sensível, como bioindicador de fitotoxicidade, que a espécie *A. cepa*. Conforme destacado por Kohatsu et al. (2018), testes com *L. sativa* possibilitam um diagnóstico rápido e

eficaz de fitotoxicidade, devido à sua elevada sensibilidade a uma variedade de contaminantes. Ademais, a utilização do alongamento da radícula, como parâmetro de avaliação de fitotoxicidade de misturas complexas, demonstrou ser mais sensível no presente estudo, dentre os parâmetros de germinação das sementes. Dessa forma, é importante a avaliação de diferentes biomarcadores em um mesmo organismo, pois podemos obter diferentes respostas.

Quando se compara os resultados dos dois parâmetros de crescimento (hipocótilo e radícula), pode-se inferir que existe um potencial fertilizante nos chorumes de composteira, por isso, novos estudos devem ser realizados com concentrações menores de chorume, para buscar a sua melhor utilização para fins fertilizantes.

Neste estudo, também foi realizada, por meio de ensaios com o bioindicador *A. cepa*, a avaliação do potencial citotóxico de amostras de chorume provenientes de composteira doméstica. O índice mitótico (IM) é um parâmetro frequentemente utilizado para avaliar a citotoxicidade de diversos agentes. A avaliação desse índice é feita pela contagem de células de meristemas radiculares que se encontram nas diferentes fases do ciclo celular. Tanto a diminuição como o aumento do IM, em relação aos dados do CN, são indicadores de citotoxicidade (Leme e Marin-Morales, 2009).

As amostras de chorume fresco 100% e das concentrações de 20%, 60% e 100% do chorume atenuado apresentam efeito citotóxico para o bioindicador *A. cepa*, visto que o número total de células em divisão celular diminuiu, significativamente, comparado ao CN. De acordo com Leme e Marin-Morales (2009), índices mitóticos mais baixos que os observados no CN indicam a presença de contaminantes que inibem o crescimento do organismo. Estas observações corroboram os resultados obtidos nos ensaios de comprimento total da radícula de *A. cepa*, como demonstrado na tabela 2. As raízes expostas às amostras de chorume fresco 100% e 60% e 100% do chorume atenuado mostraram um menor crescimento médio, quando comparado ao grupo controle. Assim, é possível inferir que esses resultados estão relacionados às reduções das divisões das células meristemáticas, induzidas pelos tratamentos.

A avaliação da genotoxicidade das amostras de chorume foi feita por meio do ensaio de alterações cromossômicas com o bioindicador *A. cepa*. Foram contabilizadas as alterações cromossômicas de células das diferentes fases do ciclo celular (intérfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase). As alterações cromossômicas (estruturais ou numéricas) podem ocorrer espontaneamente ou devido à exposição das células a agentes físicos ou químicos. As alterações cromossômicas estruturais podem ser decorrentes de diversos fatores, tais como quebras de DNA, inibição da síntese de DNA e replicação de DNA alterado. As alterações numéricas, já

são decorrentes de problemas no fuso mitótico, que levam à segregação anormal dos cromossomos (aneuploidias), no momento da divisão celular, ou também de eventos que paralisam o ciclo mitótico, antes da segregação, que promovem poliploidização do material genético (poliploidias). As alterações cromossômicas, como pontes e quebras cromossômicas, são indicativas de ação clastogênica, e as perdas, adesão e atrasos cromossômicas, C-metáfases, multipolaridade e poliploidizações são indicativas de efeitos aneugênicos (Leme; Marin-Morales, 2009).

As alterações cromossômicas observadas no presente estudo foram: brotos nucleares, células binucleadas, células poliplóides, aderências cromossômicas, pontes cromossômicas, perdas cromossômicas, quebras cromossômicas, células com núcleos lobulados, C-metáfases e células multinucleadas.

Os resultados dos ensaios de genotoxicidade, realizados com as amostras dos chorumes estudados, mostraram que apenas o chorume fresco, na concentração de 100%, apresentou um índice de genotoxicidade significativo, quando comparado com os resultados do CN. Nesse tratamento, dentre as alterações observadas, as mais frequentes foram células binucleadas, aderências e pontes cromossômicas e células lobuladas.

As células binucleadas ocorrem quando existem falhas na etapa de citocinese. Nessas situações, ocorrem interferências ou falhas na polimerização dos microtúbulos e dos microfilamentos envolvidos com o processo de citocinese, estruturas estas essenciais para a separação das células filhas (Türkoğlu, 2008).

As aderências cromossômicas sinalizam a presença de agentes tóxicos no citoplasma celular, que interferem na polimerização dos fusos mitóticos. Essas alterações, quando irreversíveis, podem desencadear processos de morte celular (Fiskesjo, 1993; Turkoglu, 2007). Além disso, as aderências também podem estar associadas à formação de pontes cromossômicas e, eventualmente, quebras dos cromossômicas (Marcano et al., 2004). As pontes cromossômicas são formadas por fibras de cromatina que unem as cromátides irmãs na metáfase e as mantêm unidas até o final da anáfase ou telófase. Se essas conexões se tornam muito fortes, as cromátides podem quebrar nos pontos de conexão ou perto deles, na anáfase (Türkoğlu, 2008).

Núcleos lobulados podem se originar de anáfase multipolares com pontes cromossômicas. O envoltório nuclear segue a distribuição desigual do material genético dentro da célula, resultando no núcleo lobulado. A presença de núcleos lobulados inviabiliza as atividades vitais da célula e, em consequência disso, leva a célula à morte. De acordo com Leme

et al. (2008), a inexistência deste tipo de anormalidade em células F1 das raízes de *A. cepa* comprovam a inviabilidade das células com núcleos lobulados.

O potencial mutagênico também foi avaliado neste estudo, por meio de ensaios com *A. cepa*. Neste teste, foram contabilizadas células portadoras de micronúcleos (MN). Os MN são estruturas constituídas de pequena massa de cromatina, delimitada por membranas e separada do núcleo principal, cuja aparência é de um pequeno núcleo. A presença de MN em uma célula, significa que o núcleo perdeu parte da sua cromatina, devido a quebras cromossômicas ou a perdas de cromossomos inteiros (Fenech, 2000; Fenech et al., 2003b; Fernandes; Mazzeo; Marin-Morales, 2009). Embora os micronúcleos possam surgir espontaneamente, a sua presença em uma célula é, frequentemente, associada à presença de agentes mutagênicos (Fernandes; Mazzeo; Marin-Morales, 2007). Os MN são resultantes de danos celulares que não foram reparados ou reparados erradamente (Leme e Marin-Morales, 2009). O teste de micronúcleo é considerado um dos testes mais promissores para avaliação do potencial mutagênico, por serem eficientes, de simples execução, rápidos e de baixo custo (Fernandes; Mazzeo; Marin-Morales, 2007).

Os micronúcleos podem ter diversos destinos: permanência dentro da célula; reincorporação ao núcleo; degradação, que ocorre por meio de processos enzimáticos; e extrusão, derivando, por exemplo, micro células (Hintzsche, et al. 2017; Fernandes; Mazzeo; Marin-Morales, 2007). Os MN podem se apresentar na mesma fase de divisão do núcleo celular principal da célula ou em fase distinta, geralmente em interfase. Quando o MN acompanha a fase de divisão do núcleo da célula, ele pode se reincorporar novamente ao núcleo principal, entretanto, quando não acompanha a fase nuclear, ele pode tanto ser expulso quando permanecer na célula (Fernandes; Mazzeo; Marin-Morales, 2007; Hintzsche, et al. 2017).

No presente estudo, não foram observados índices de potencial mutagênico estatisticamente significativos, em relação ao CN, para nenhuma das concentrações estudadas (20%, 60% e 100%) dos chorumes fresco e atenuado. Por estes resultados, pode-se inferir que os chorumes avaliados não são potencialmente mutagênicos.

Os resultados obtidos no presente estudo demonstraram que os chorumes puros (concentração de 100%) apresentam contaminantes tóxicos que podem comprometer a qualidade biológica do solo, das águas subterrâneas e, conseqüentemente, da saúde humana, portanto não devem ser aplicados como fertilizante nesta concentração. Entretanto, foi observado que as diluições do chorume diminuíram proporcionalmente a sua toxicidade, sendo que a concentração de 20% foi a de maior viabilidade para uso como fertilizante. Os resultados observados sugerem ainda que devem ser realizados mais estudos com este resíduo, como

avaliações de toxicidade de concentrações inferiores à de 20%, para aprimorar e expandir essa prática, tanto pelo seu potencial sustentável como nutricional.

6 CONCLUSÃO

Em relação ao chorume fresco, as amostras não apresentaram, pelos testes de germinação, efeitos de tóxicos para os organismos *Lactuca sativa* e *Allium cepa*. No entanto, todas as concentrações apresentaram potencial fitotóxico, pelos testes de elongação da radícula para *L. sativa* e as 100% do fresco e 60 e 100% do atenuado foram também fitotóxica para *A. cepa*, para este mesmo parâmetro. Além disso, a concentração de 20% induziu um aumento médio significativo no crescimento do hipocótilo de *L. sativa*, sugerindo um potencial nutricional do chorume. O chorume fresco, na concentração de 100%, apresentou os maiores níveis de toxicidade, sendo tanto fitotóxico, quanto citotóxico e genotóxico.

O chorume atenuado também não foi tóxico para os bioindicadores *L. sativa* e *A. cepa*. No entanto, assim como nos testes com o chorume fresco, todas as concentrações apresentaram potencial fitotóxico, pelo parâmetro elongação da radícula de *L. sativa*. As amostras com 20% não apresentaram genotoxicidade, potencial mutagênico e fitotoxicidade para *A. cepa*, embora tenham apresentado potencial citotóxico. Já a concentração de 60% do chorume atenuado foi fitotóxica para ambos os chorumes avaliados e citotóxica para *Allium cepa*. A concentração de 100% de chorume atenuado apresentou os níveis mais elevados de toxicidade, indicando ação fitotóxica, tanto para o hipocótilo como para a radícula de *L. sativa* e *A. cepa*, além de potencial citotóxico para *A. cepa*.

Apesar da coloração clara e alteração no odor do chorume atenuado, não foram observadas reduções significativas na toxicidade dessa amostra, em comparação com o chorume fresco. É possível inferir que os processos de atenuação natural foram totalmente eficazes para eliminar ou reduzir a toxicidade dos componentes presentes no chorume.

Os resultados obtidos neste estudo apontam certa toxicidade para chorume de composteira doméstica, na sua maior concentração (100%). Por outro lado, é possível inferir que o chorume fresco, quando diluído a 20%, apresenta potencial nutricional sugestivo para ser usado como fertilizante alternativo, contribuindo para práticas agrícolas mais sustentáveis. No entanto, é imprescindível conduzir mais pesquisas científicas com chorumes de compostagem doméstica, tais como a avaliação de concentração mais diluídas, para investigar a possibilidade de diminuir a toxicidade e manter o potencial nutricional observado na menor concentração avaliada neste estudo. Assim, a continuidade de estudos neste material compostado pode servir para um aprimoramento da técnica de compostagem e, conseqüentemente, para desenvolvimento de metodologias que permitam a melhor gestão no tratamento deste resíduos

urbanos, cumprindo assim com as propostas da Agenda 2030 da ONU, no que tange a sustentabilidade ambiental.

Os bioindicadores *L. sativa* e *A. cepa* se mostraram alta sensibilidade na avaliação de amostras ambientais complexas, como o chorume de composteira doméstica. Essa abordagem permitiu identificar respostas específicas de diferentes concentrações de chorume fresco e atenuado, proporcionando uma compreensão mais abrangente dos possíveis efeitos biológicos deste resíduo urbano.

7. REFERÊNCIAS

ABRELPE – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EMPRESAS DE LIMPEZA PÚBLICA E RESÍDUOS ESPECIAIS. **Panorama dos resíduos sólidos urbanos no Brasil**. 2022. Disponível em: <https://abrelpe.org.br/panorama/>. Acesso em: 5 out. 2023.

ADHIKARI, B. K.; TRÉMIER, A.; BARRINGTON, S.; MARTINEZ, J.; DAUMOIN, M. Gas emissions as influenced by home composting system configuration. **Journal of Environmental Management**, Rennes, França, v. 116, p. 163-171, 15 fev. 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0301479712006366>. Acesso em: 23 mar. 2024.

ALMEIDA, N.C. **Estudo de possibilidades de tratamentos microbiológico e com adsorventes para chorume e influências ecotóxicas do seu descarte no ambiente**. 2017. 112 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências Biológicas (Microbiologia Aplicada), Universidade Estadual Paulista (Unesp), Rio Claro, 2017. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/items/080516ca-e432-4a41-b6d6-c79edfa54bff>. Acesso em: 5 out. 2023.

BAMFORTH, S.; SINGLETON, I. Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons: current knowledge and future directions. **Journal Of Chemical Technology And Biotechnology**, Sussex, v. 80, n. 7, p. 723-736, 2005. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jctb.1276>. Acesso em: 7 out. 2023.

BERSAN, J. L. M.; KELMER, G. A. R.; RIGHI, J. A. Avaliação da qualidade nutricional de composto orgânico produzido com resíduos provenientes de composteiras domésticas. **Revista Brasileira de Meio Ambiente**, v. 10, n. 2, p. 240-258, 15 nov. 2022. Disponível em: <https://zenodo.org/records/7321739>. Acesso em: 7 out. 2023.

BRASIL. Lei nº 12.305, de 2 de agosto de 2010. Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos; altera a Lei no 9.605, de 12 de fevereiro de 1998; e dá outras providências. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 2 ago. 2010. Disponível em http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2010/lei/l12305.htm. Acesso em: 3 de out. 2023.

BUTLER, T.A.; SIKORA, L.J.; STEINHILBER, P.M.; DOUGLASS, L.W. Compost age and sample storage effects on maturity indicators of biosolids compost. **Journal Of Environmental Quality**, v. 30, n. 6, p. 2141-2148, 1 nov. 2001. Disponível em: <https://acsess.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2134/jeq2001.2141>. Acesso em: 3 out. 2023.

CHAN, Y.C.; SINHA, R.K.; WANG, W. Emission of greenhouse gases from home aerobic composting, anaerobic digestion and vermicomposting of household wastes in Brisbane (Australia). **Waste Manage Res.**, Brisbane, Australia, v. 29, n. 5, p. 540-548, maio 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20601402/>. Acesso em: 23 mar. 2024.

CHRISTENSEN, T. H; K., P.; BJERG, P. L; JENSEN, D. L.; CHRISTENSEN, J. B; BAUN, A.; ALBRECHTSEN, H.; HERON, G. Biogeochemistry of landfill leachate plumes. **Applied Geochemistry**, Dinamarca, v. 16, n. 7-8, p. 659-718, jun. 2001. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0883292700000822>. Acesso em: 23 jun. 2024.

CRUZ, R. F.; GERUDE NETO, O.J.A.; FREITAS, S.J.N.; RODRIGUES, J. B.; SILVA, D.L.L. A aplicabilidade do chorume oriundo do processo de compostagem biofertilizante orgânico para agricultura sustentável. **Nature and Conservation**, v. 12, n. 3, p. 37-48, 12 nov. 2019. Disponível em: <https://www.sustenere.co/index.php/nature/article/view/CBPC2318-2881.2019.003.0005>. Acesso em: 7 out. 2023.

CUNHA, C. D.; LEITE, S. G. F.; ROSADO, A. S.; ROSÁRIO, M. Biorremediação de Água Subterrânea Contaminada com Gasolina e Análise Molecular da Comunidade Bacteriana Presente. **Série Tecnologia Ambiental: CETEM/MCT**, Rio de Janeiro, 2008. Disponível em: <http://mineralis.cetem.gov.br/bitstream/cetem/322/1/sta-47.pdf>. Acesso em: 13 mar. 2024.

EPA: ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, UNITED STATES. How to Evaluate Alternative Cleanup Technologies for Underground Storage Tank Sites: A Guide for Corrective Action Plan Reviewers. Chapter XII - Enhanced Aerobic Bioremediation, EPA 510-B-94-003; EPA 510-B-95-007 and EPA 510-R-04-002, 2004. 73p.

EPA - U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **In Situ and Ex Situ Biodegradation Technologies for Remediation of Contaminated Sites. Office Of Research And Development National Risk Management Research Laboratory**, Cincinnati, p. 1-22, 2006. Disponível em: <https://nepis.epa.gov/Exe/ZyPDF.cgi/600003SE.PDF?Dockey=600003SE.PDF>. Acesso em: 5 out. 2023.

FAVERIAL, J.; SIERRA, J. Home composting of household biodegradable wastes under the tropical conditions of Guadeloupe (French Antilles). **Journal Of Cleaner Production**, Guadeloupe, France, v. 83, p. 238-244, 15 nov. 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0959652614007963>. Acesso em: 23 mar. 2024.

FENECH, M. The in vitro micronucleus technique. **Mutation Research/Fundamental And Molecular Mechanisms Of Mutagenesis**, Australia, v. 455, n. 1-2, p. 81-95, 20 nov. 2000. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0027510700000658?via%3Dihub>. Acesso em: 23 mar. 2024.

FENECH, M.; CHANG, W. P.; KIRSCH-VOLDERS, M.; HOLLAND, N.; BONASSI, S.; ZEIGER, E.; HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. **Mutation Research/Genetic Toxicology And Environmental Mutagenesis**, [s. l], v. 534, n. 1-2, p. 65-75, 10 jan. 2003. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1383571802002498?via%3Dihub>. Acesso em: 23 mar. 2024.

FERNANDES, T. C.C.; MAZZEO, D. E. C.; MARIN-MORALES, M. A. Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to triXuralin herbicide. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 88, p. 252-259, 2007. Disponível em:

file:///C:/Users/Ferna/Downloads/Fernandes%20et%20al%202007.pdf. Acesso em: 23 mar. 2024.

FERNANDES, T.C.C.; MAZZEO, D.E.C.; MARIN-MORALES, M.A. Origin of nuclear and chromosomal alterations derived from the action of an aneugenic agent - trifluralin herbicide. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 72 (2009) 1680–1686 doi:10.1016/j.ecoenv.2009.03.014.

FISKESJÖ, G. The allium test in wastewater monitoring. **Environmental Toxicology And Water Quality**, [s. l], v. 8, n. 3, p. 291-298, ago. 1993. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/tox.2530080306>. Acesso em: 23 mar. 2024.

GANÁ, J. M.; ORDÓÑEZ, R.; ZAMPINI, C.; HIDALGO, M.; MEON, S.; ISLA, M. I. Natural attenuation and enhanced bioremediation of organic contaminants in groundwater. **Journal of Hazardous Materials**, San Miguel de Tucumán, v. 155, n. 3, p. 403-406, 15 jul. 2008. Disponível em: Catiana Zampini a, Margarita Hidalgo b, Susana Meoni b, María Inés Isla a 1. Acesso em: 13 mar. 2024.

HAMBY, D.M. Site remediation techniques supporting environmental restoration activities—a review. **Science Of The Total Environment**, Ann Arbor, v. 191, n. 3, p. 203-224, 22 nov. 1996. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969796052643>. Acesso em: 13 mar. 2024.

HERRERO, O.; MARTINS, J.M.P.; FREIRE, P.F.; LÓPEZ, L.C.; PEROPADRE, A.; HAZEN, M.J. Toxicological evaluation of three contaminants of emerging concern by use of the *Allium cepa* test. **Mutation Research**, v. 743, p. 20–24, 18 mar. 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1383571812000071?via%3Dihub>. Acesso em: 5 out. 2023.

HINTZSCHE, H.; HEMMANN, U.; POTH, A.; UTESCH, D.; LOTT, J.; STOPPER, Helga. Fate of microHelga Stopper anuclei and micronucleated cells. **Mutation Research/Reviews In Mutation Research**, Alemanha, v. 771, n. 00, p. 85-98, 2017. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383574216301132?casa_token=FJcJV6PLDAcAAAAA:YUKgoCVAL6YR_UVypL2yZzQHgLA4aiuXHCVu0hOJ5P9iSLv55sdLUJ2QildkfuYD9nvgZr1lFDg. Acesso em: 23 mar. 2024.

IQBAL, M.; ABBAS, M.; NISAR, J.; NAZIR, A.; QAMAR, A. Z. Bioassays based on higher plants as excellent dosimeters for ecotoxicity monitoring: A review. **Chemistry International**, v. 5, n. 1, p. 1-80, jan. 2019. Disponível em: <https://bosajournals.com/chemint/article/view/137>. Acesso em: 13 mar. 2024.

JUCHIMIUK, J.; MALUSZYNSKA, J. Transformed roots of *Crepis capillaris*--a [corrected] sensitive system for the evaluation of the clastogenicity of abiotic agents. **Mutation Research/Genetic Toxicology And Environmental Mutagenesis**, Katowice, v. 565, n. 2, p. 129-138, 03 jan. 2005. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1383571804002815?via%3Dihub>. Acesso em: 13 mar. 2024.

KARNCHANAWONG, S.; SURIYANON, N. Household organic waste composting using bins with different types of passive aeration. **Resources, Conservation And Recycling**, Tailândia, v. 55, n. 5, p. 548-553, mar. 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0921344911000085>. Acesso em: 23 mar. 2024.

KOHATSU, M. Y.; JESUS, T. A. de; COELHO, L. H. G.; PEIXOTO, D. C.; POCCIA, G. T.; HUNTER, C. Fitotoxicidade de água superficial da Região Metropolitana de São Paulo utilizando bioensaio com *Sinapis alba*. **Acta Brasiliensis**, [s. l], v. 2, n. 2, p. 58-62, 28 maio 2018. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/325406205_Fitotoxicidade_de_agua_superficial_da_Regiao_Metropolitana_de_Sao_Paulo_utilizando_bioensaio_com_Sinapis_alba. Acesso em: 21 mar. 2024.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. **Mutation Research/Reviews In Mutation Research**, v. 682, p. 71-81, 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383574209000404>. Acesso em: 5 out. 2023.

LEME, D.; ANGELIS, D. de F. de; MARIN-MORALES, M. A. Action mechanisms of petroleum hydrocarbons present in waters impacted by an oil spill on the genetic material of *Allium cepa* root cells. **Aquatic Toxicology**, Rio Claro, Sp, v. 88, n. 4, p. 214-219, 30 jun. 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0166445X08001343?via%3Dihub>. Acesso em: 23 mar. 2024.

LI, W.; KHAN, M. A.; YAMAGUCHI, S.; KAMIYA, Y. Effects of heavy metals on seed germination and early seedling growth of *Arabidopsis thaliana*. **Plant Growth Regulation**, [s. l], v. 46, p. 45-50, maio 2005. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10725-005-6324-2>. Acesso em: 23 mar. 2024.

LLÉO, T.; ALBACETE, E.; BARRENA, R.; FONT, X.; ARTOLA, A.; SÁNCHEZ, A. Home and vermicomposting as sustainable options for biowaste management. **Journal of Cleaner Production**, Barcelona, Espanha, v. 47, p. 70-76, maio 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0959652612004180?via%3Dihub>. Acesso em: 23 mar. 2024.

MARCANO, L.; CARRUYO, I.; CAMPO, A.; MONTIEL, X. Cytotoxicity and mode of action of maleic hydrazide in root tips of *Allium cepa* L. **Environ Res.**, Estado Zulia, Venezuela, v. 94, n. 2, p. 221-226, fev. 2004. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S001393510300121X?via%3Dihub>. Acesso em: 5 out. 2023.

MARTÍNEZ-BLANCO, J.; COLÓN, J.; GABARRELL, X.; FONT, X.; SÁNCHEZ, A.; ARTOLA, A.; RIERADEVALL, J. The use of life cycle assessment for the comparison of biowaste composting at home and full scale. **Waste Management**, Barcelona, Espanha, v. 30, n. 6, p. 983-994, jun. 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956053X10001091>. Acesso em: 23 mar. 2024.

MAZZEO, D.E.C.; CAMARGO, B. V.; SOMMAGGIO, L. R. D.; MARIN-MORALES, M. A. Endpoints and Bioassays to Assess Bioremediation Efficiency of Contaminated Soils. In: Jesús Bernardino Velázquez-Fernández; Saé Muñiz-Hernández (Eds). **Bioremediation: Processes, Challenges and Future Prospects**. New York: Nova Science Publishers, v.1, 2013.

MAZZEO, D. E. C.; FERNANDES, T. C. C.; MARIN-MORALES, M. A. Cellular damages in the *Allium cepa* test system, caused by BTEX mixture prior and after biodegradation process. **Chemosphere**, v. 85, p. 13–18, set. 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653511007132?via%3Dihub>. Acesso em: 5 out. 2023.

MELLO, L. S.; VIDAL, B. C. The Feulgen reaction: A brief review and new perspectives. **Acta Histochemica**, v. 119, n. 6, p. 603-609, jul. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0065128117301617?via%3Dihub>. Acesso em: 5 out. 2023.

MONTEIRO, J.A.V. Benefícios da compostagem doméstica de resíduos orgânicos. **Educação ambiental em ação**, Novo Hamburgo, v. 15, n.56, p. 1-7, 2016. Disponível em: <http://revistaea.org/artigo.php?idartigo=2310>. Acesso em: 5 out. 2023.

NUNES, E.A.; LEMOS, L.G.; MOREIRA, T.N.; OLIVEIRA, N.C.D.; SILVA, J. Genotoxic assessment on river water using different biological systems. **Chemosphere**, v. 84, n.1, p. 47–53, jun. 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045653511002505?via%3Dihub>. Acesso em: 5 out. 2023.

OECD, ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. **208**: OECD Guidelines for the testing of chemicals: proposals for updating guideline 208 Terrestrial plant test: seedling emergence and seedling growth test. Paris: Oecd Publishing, 2003. 19 p. Disponível em: <https://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/33653757.pdf>. Acesso em: 5 out. 2023.

PALMIERI, M. J.; LUBER, J.; ANDRADE-VIEIRA, L. F.; DAVIDE L. C. Cytotoxic and phytotoxic effects of the main chemical components of spent pot-liner: A comparative approach. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 763, p.30-35, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24561381>. Acesso em: 13 mar. 2024.

PANDARD, P.; DEVILLERS, D.; CHARISSOU, A-M.; POULSEN, V.; JOURDAIN, M-J.; FÉRARD, J-F.; GRAND, C.; BISPO, A. Selecting a battery of bioassays for ecotoxicological characterization of wastes. **Science of the Total Environment**, v. 363, p. 114-125, jun. 2006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969705009216?via%3Dihub>. Acesso em: 7 out. 2023.

RENOU, S.; GIVAUDAN, J. G.; POULAIN, S.; DIRASSOUYAN, F.; P. MOULIN, P. Landfill leachate treatment: review and opportunity. **Journal of Hazardous Materials**, v. 150, n. 3, p. 468-493, 11 fev. 2008. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304389407013593>. Acesso em: 7 out. 2023.

SCOW, K. M.; A HICKS, K. Natural attenuation and enhanced bioremediation of organic contaminants in groundwater. **Current Opinion In Biotechnology**, California, v. 16, n. 3, p. 246-253, jun. 2005. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0958166905000534>. Acesso em: 13 mar. 2024.

SANCHEZ, M.A.; CAMPBELL, L.M.; BRINKER, F.A.; OWENS, D. Attenuation the natural way. A former wood-preserving site offers a case study for evaluating the potential of monitored natural attenuation. **Industrial Wastewater**, v.5, p.37-42, 2000.

SARKAR, D.; FERGUSON, M.; DATTA, R.; BIRNBAUM, S. Bioremediation of petroleum hydrocarbons in contaminated soils: Comparison of biosolids addition, carbon supplementation, and monitored natural attenuation. **Environmental Pollution**, v.136, p.187-195, 2005.

SILVA, D. de F.; MATOS, A. T. de; PEREIRA, O. G.; CECON, P. R.; BATISTA, R. de Oliveira; MOREIRA, D. A. Alteração química de solo cultivado com capim Tifton 85 (*Cynodon spp.*) e fertirrigado com percolato de resíduo sólido urbano. **Acta Scientiarum. Technology**, Maringá, Pr, v. 33, n. 3, p. 243-251, 2011. Disponível em: <https://www.locus.ufv.br/bitstream/123456789/23842/1/artigo.pdf>. Acesso em: 21 mar. 2024.

SMITH, S. R; JASIM, S. Small-scale home composting of biodegradable household waste: overview of key results from a 3-year research programme in West London. **Waste Manag Res.**, Londres, Uk, v. 27, n. 10, p. 941-950, 01 dez. 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19487317/>. Acesso em: 23 mar. 2024.

SOBRERO, M. C.; RONCO, A. Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L). In: MORALES, G. C. **ENSAYOS TOXICOLÓGICOS Y MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE CALIDAD DE AGUAS: estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones**. México: Instituto Mexicano de Tecnología del Agua, 2004. p. 55-67. Disponível em: https://www.academia.edu/27791545/Ensayos_de_toxicidad_aguda_con_semillas_de_lechuga. Acesso em: 7 out. 2023.

SOLAIMAN, Z. M.; MURPHY, D. V.; ABBOTT, L. K. Biochars influence seed germination and early growth of seedlings. **Plant and Soil**, v. 353, n. 1, p. 273-287, 2012. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11104-011-1031-4>. Acesso em: 21 mar. 2024.

TATÀNÒ, F.; PAGLIARO, G.; GIOVANNI, P.; FLORIANI, E.; MANGANI, F. Biowaste home composting: Experimental process monitoring and quality control. **Waste Management**, Urbino, Itália, v. 38, n. 111, p. 72-85, abr. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956053X14005881>. Acesso em: 23 mar. 2024.

TRUHAUT, R. Ecotoxicology: Objectives, principles and perspectives. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, Paris, França, v. 1, n. 2, p. 151-173, set. 1977. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0147651377900331>. Acesso em: 23 mar. 2024.

TÜRKÖĞLU, Ş. Evaluation of genotoxic effects of sodium propionate, calcium propionate and potassium propionate on the root meristem cells of *Allium cepa*. **Food And Chemical Toxicology**, Sivas, Turquia, v. 46, n. 6, p. 2035-2041, jun. 2008. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0278691508000665?fr=RR-2&ref=pdf_download&rr=86908c2d1acb27ff. Acesso em: 23 mar. 2024.

TÜRKÖĞLU, Ş. Genotoxicity of five food preservatives tested on root tips of *Allium cepa* L. **Mutation Research/Genetic Toxicology And Environmental Mutagenesis**, Sivas, Turquia, v. 656, n. 1-2, p. 4-14, 10 jan. 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1383571806003032?via%3Dihub>. Acesso em: 23 mar. 2024.

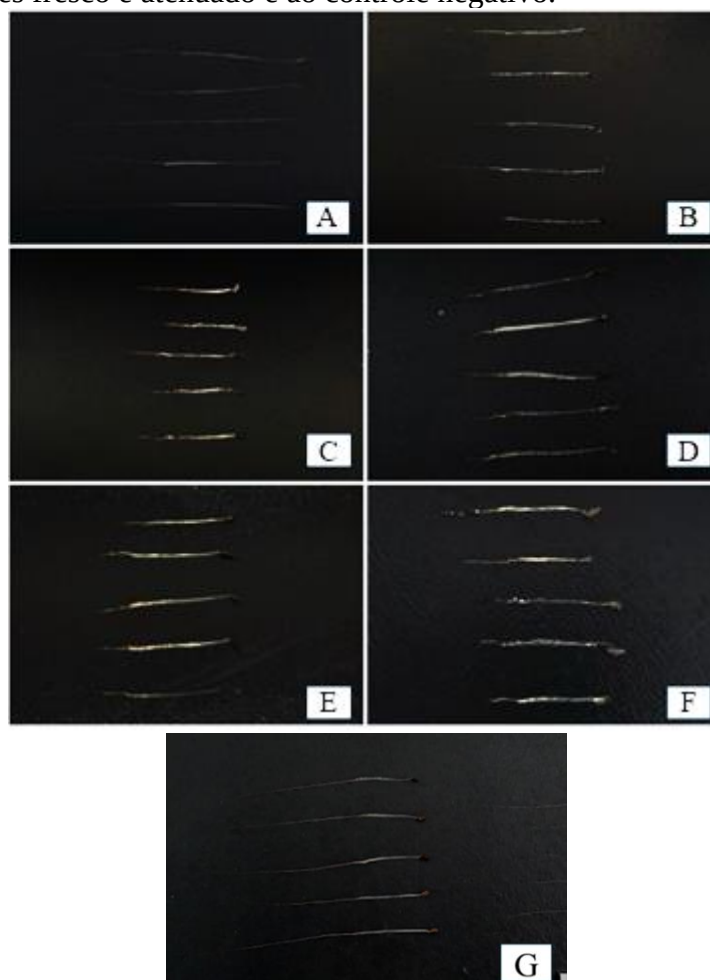
VALENTIN-SEVERIN, I.; HEGARAT, L.L.; LHUGUENOT, J-C.; LE BON, A-M.; CHAGNON, M-C. Use of HepG2 cell line for direct or indirect mutagens screening: comparative investigation between comet and micronucleus assays. **Mutation Research**, v.536, p.79-90, 20 abr. 2003. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1383571803000317?via%3Dihub>. Acesso em: 5 out. 2023.

VÁZQUEZ, M.A.; SEN, R.; SOTO, M. Physico-chemical and biological characteristics of compost from decentralised composting programmes. **Bioresource Technology**, Galiza, Espanha, v. 198, p. 520-532, dez. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S096085241501305X>. Acesso em: 23 mar. 2024.

WANGEN, D.R.B.;FREITAS, I.C.V. Compostagem doméstica: alternativa de aproveitamento de resíduos sólidos orgânicos. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 5, n. 2, p. 81-88. 2010. Disponível em: <https://revistas.aba-agroecologia.org.br/rbagroecologia/article/view/7601/pdf>. Acesso em: 7 out. 2023.

WILKE, B. M.; RIEPERT, F.; KOCH, C.; KÜHNE, T. Ecotoxicological characterization of hazardous wastes. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 70, n.2, p. 283-293, jun. 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0147651307002382>. Acesso em: 7 out. 2023.

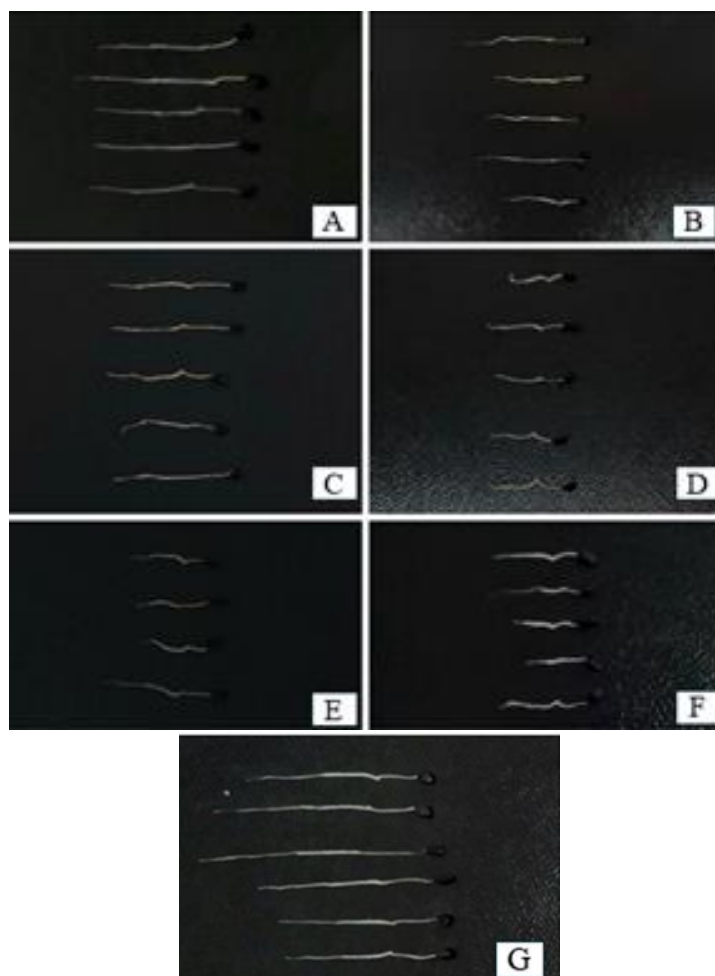
ANEXO A - O aspecto do desenvolvimento das raízes de *Lactuca sativa* expostas às amostras dos chorumes fresco e atenuado e ao controle negativo.



Fonte: elaborado pela autora.

Legenda: Aspecto do desenvolvimento das raízes, teste de alongamento. **A:** exposição das sementes em 20% de chorume fresco; **B:** exposição das sementes em 60% de chorume fresco; **C:** exposição das sementes em 100% de chorume fresco; **D:** exposição das sementes em 20% de chorume atenuado; **E:** exposição das sementes em 60% de chorume atenuado; **F:** exposição das sementes em 100% de chorume atenuado; **G:** exposição das sementes em água osmose reversa (controle negativo).

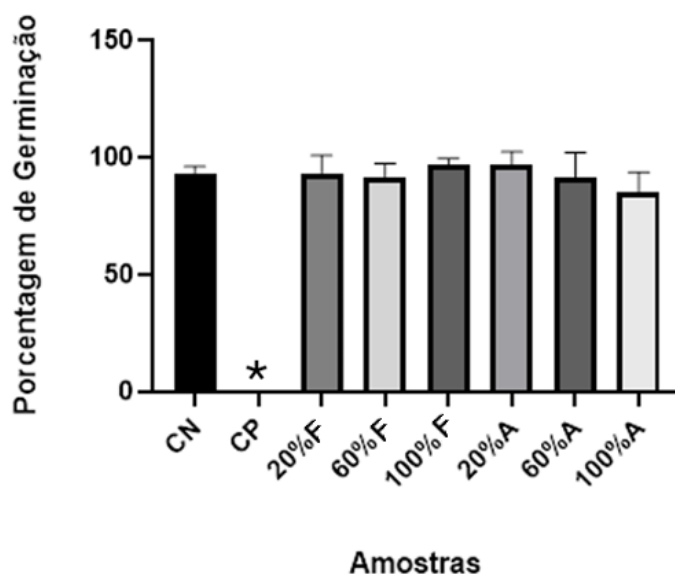
ANEXO B - O aspecto de desenvolvimento das raízes de *Allium cepa* expostas as amostras de chorume e ao controle negativo.



Fonte: elaborado pela autora.

Legenda: Aspecto do desenvolvimento das raízes, teste de alongamento. **A:** exposição das sementes em 20% de chorume fresco; **B:** exposição das sementes em 60% de chorume fresco; **C:** exposição das sementes em 100% de chorume fresco; **D:** exposição das sementes em 20% de chorume atenuado; **E:** exposição das sementes em 60% de chorume atenuado; **F:** exposição das sementes em 100% de chorume atenuado; **G:** exposição das sementes em água de osmose reversa (controle negativo).

ANEXO C - Porcentagem de germinação de sementes de *Lactuca sativa* expostas a diferentes concentrações de amostras de chorumes fresco e atenuado, coletados em composteira doméstica.



Fonte: elaborado pela autora.

Legenda: **CN**: Controle Negativo (água osmose reversa); **CP**: Controle Positivo (sulfato de zinco heptahidratado); **20% F**: tratamento com 20% de chorume fresco; **60% F**: tratamento com 60% de chorume fresco; **100% F**: tratamento com 100% de chorume fresco; **20% A**: tratamento com 20% de chorume atenuado; **60% A**: tratamento com 60% de chorume atenuado; **100% A**: tratamento com 100% de chorume atenuado. Os resultados com * foram estatisticamente significativos ($p < 0,05$).

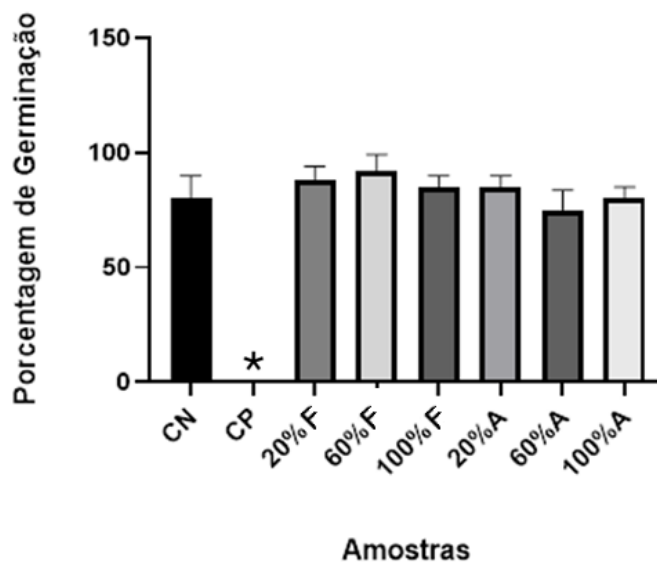
ANEXO D - Alongamento de raízes de *L. sativa* (hipocótilo e radícula), após a exposição das sementes a diferentes concentrações dos chorumes fresco ou atenuado, coletados em composteira doméstica.

Tratamento	Hipocótilo (mm)	Radícula (mm)
CN	19,43 ± 1,62	46,26 ± 6,10
CP	0 ± 0 *	0 ± 0 *
20% F	34,23 ± 1,06 *	34,60 ± 5,57 *
60% F	20,26 ± 5,50	10,15 ± 1,88 *
100% F	23,47 ± 1,90	11,07 ± 1,85 *
20% A	34,14 ± 1,24 *	27,05 ± 7,73 *
60% A	24,10 ± 0,81	10,48 ± 0,80 *
100% A	12,34 ± 0,88 *	6,31 ± 0,28 *

Fonte: elaborado pela autora.

Legenda: **CN**: Controle Negativo (água osmose reversa); **CP**: Controle Positivo (sulfato de zinco heptahidratado); **20% F**: tratamento com 20% de chorume fresco; **60% F**: tratamento com 60% de chorume fresco; **100% F**: tratamento com 100% de chorume fresco; **20% A**: tratamento com 20% de chorume atenuado; **60% A**: tratamento com 60% de chorume atenuado; **100% A**: tratamento com 100% de chorume atenuado. Os resultados com * foram estatisticamente significativos ($p < 0,05$).

ANEXO E - Porcentagem de germinação de sementes de *Allium cepa* expostas a diferentes concentrações de amostras de chorumes fresco e atenuado, coletados em composteira doméstica



Fonte: elaborado pela autora.

Legenda: **CN**: Controle Negativo (água osmose reversa); **CP**: Controle Positivo (sulfato de zinco heptahidratado); **20% F**: tratamento com 20% de chorume fresco; **60% F**: tratamento com 60% de chorume fresco; **100% F**: tratamento com 100% de chorume fresco; **20% A**: tratamento com 20% de chorume atenuado; **60% A**: tratamento com 60% de chorume atenuado; **100% A**: tratamento com 100% de chorume atenuado. Os resultados com * foram estatisticamente significativos ($p < 0,05$).