

UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI

Instituto de Ciências Agrárias - ICA

Pedro Augusto Rezende

**ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS E ENZIMÁTICAS EM PLANTAS DE
FEIJOEIRO TRATADAS COM SUBSTÂNCIAS HÚMICAS DE LODO DE ESGOTO**

Unai

2023

Pedro Augusto Rezende

**ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS E ENZIMÁTICAS EM PLANTAS DE
FEIJOEIRO TRATADAS COM SUBSTÂNCIAS HÚMICAS DE LODO DE ESGOTO**

Monografia apresentada ao Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como requisito para obtenção do título de Engenheiro(a) Agrônomo(a).

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Barros Dobbss

Unai
2023

Pedro Augusto Rezende

**ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS E ENZIMÁTICAS EM PLANTAS DE
FEIJOEIRO TRATADAS COM SUBSTÂNCIAS HÚMICAS DE LODO DE ESGOTO**

Monografia apresentada ao Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como requisito para obtenção do título de Engenheiro(a) Agrônomo(a).

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Barros Dobbss

Data de aprovação 24/07/2023.

DSc. Katharine Vinholte de Araújo
Instituto de Ciências Agrárias - UFVJM

MSc. Vitória Costa Pereira Lopes Alves de França
Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal - UFVJM

Prof. Dr. Leonardo Barros Dobbss
Instituto de Ciências Agrárias - UFVJM

Unai

RESUMO

A produção de lodo de esgoto nas estações de tratamento ocorre em ritmo crescente à medida que os centros urbanos expandem, se fazendo necessária a reestruturação da cadeia a fim de garantir a recuperação e reprocessamento destes resíduos. Uma possibilidade para reutilização do lodo, é seu uso na agricultura. Por possuir uma alta concentração de matéria orgânica e nutrientes, é considerado uma alternativa aos fertilizantes químicos, e ainda contribui para redução de custos de produção. Este trabalho tem como objetivo avaliar os efeitos da utilização de substâncias húmicas (SH) extraídas do lodo de esgoto em duas condições experimentais: lodo de esgoto não esterilizado (“*in natura*”) e esterilizado; sob o crescimento e atividades de enzimas relacionadas ao estresse oxidativo de plantas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). O experimento foi desenvolvido no município de Unaí-MG, nas dependências da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. Foram coletadas amostras de lodo depositadas no fundo da lagoa de sedimentação em local apropriado sugerido pelos técnicos do Serviço Autônomo de Água e Esgoto (SAAE). Após a obtenção das melhores doses das SH *in natura* e esterilizada, foi realizada a aplicação da melhor dosagem em estágios fisiológicos importantes do feijoeiro (V2; V4; R6 e R8). Após 60 dias, as seguintes avaliações morfológicas foram realizadas: altura média da parte aérea, área foliar, comprimento médio das raízes, área radicular, massa seca da parte aérea, e massa seca das raízes. Foram determinadas a atividade das enzimas superóxido (SOD), peroxidase do ascorbato (APX), catalase (CAT). As plantas tratadas com substâncias húmicas não esterilizadas (SHNE) apresentaram maior área radicular e massa seca de raiz. Em comparação com o controle, tanto SHE quanto SHNE apresentaram menores teores de CAT, APX e SOD conferindo às plantas tratadas, menor estresse oxidativo. A redução do efeito positivo do lodo quando esterilizado, pode ser explicado pela diminuição dos microrganismos benéficos que podem participar dessa interação. Pode-se concluir que tanto as SHNE quanto as SHE, geram efeitos positivos para crescimento de raiz e minimização do estresse oxidativo, porém, as SHNE trazem resultados melhores para ambas variáveis.

Palavras-chave: substâncias-húmicas, lodo-de-esgoto, poluição.

ABSTRACT

The production of sewage sludge in treatment plants is increasing as urban centers expand, necessitating the restructuring of the chain to ensure the recovery and reprocessing of these residues. One possibility for sludge reuse is its use in agriculture. Due to its high concentration of organic matter and nutrients, it is considered an alternative to chemical fertilizers and also contributes to cost reduction in production. This study aims to evaluate the effects of using humic substances (HS) extracted from sewage sludge under two experimental conditions: untreated sewage sludge ("in natura") and sterilized sewage sludge on the growth and activities of enzymes related to oxidative stress in bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.). The experiment was conducted in Unaí-MG, within the premises of the Federal University of Vales do Jequitinhonha and Mucuri. Samples of sludge deposited at the bottom of the sedimentation pond were collected from a suitable location suggested by the technicians of the Autonomous Water and Sewer Service (SAAE). After obtaining the best doses of both in natura and sterilized HS, the best dosage was applied at important physiological stages of the bean plants (V2; V4; R6 and R8). After 60 days, the following morphological evaluations were performed: average shoot height, leaf area, average root length, root area, shoot dry weight, and root dry weight. The activity of the enzymes superoxide (SOD), ascorbate peroxidase (APX), and catalase (CAT) were also determined. Plants treated with non-sterilized humic substances (SHNE) showed greater root area and root dry weight. Compared to the control, both sterilized humic substances (SHE) and non-sterilized humic substances (SHNE) presented lower levels of CAT, APX, and SOD, indicating less oxidative stress in the treated plants. The reduction in the positive effect of the sterilized sludge can be explained by the decrease in beneficial microorganisms that may participate in this interaction. It can be concluded that both SHNE and SHE have positive effects on root growth and minimization of oxidative stress; however, SHNE yields better results for both variables.

Keywords: Humic substances, sewage sludge, pollution.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	3
2 OBJETIVOS	4
3 REFERENCIAL TEÓRICO	5
3.1 O feijoreiro.....	6
3.2 As substâncias húmicas	6
3.3 O lodo de esgoto	7
3.4 A importância da reutilização de resíduos orgânicos na agricultura	8
3.5 A utilização de esgoto na agricultura.....	9
4 MATERIAIS E MÉTODOS	10
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.	16
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	23
REFERÊNCIAS	24

1 INTRODUÇÃO

O lodo de esgoto tem sido um problema nas áreas urbanas pois sua produção nas estações de tratamento ocorre em ritmo crescente concomitantemente a expansão dos centros urbanos. Mesmo com o risco de poluição ambiental devido a destinação inadequada do biossólido, seu principal destino ainda é o aterro sanitário (Abreu et al., 2017). Cada vez mais, se faz necessário a reestruturação dos centros urbanos, para garantir a recuperação e reutilização destes resíduos. Uma das possibilidades de reprocessamento do lodo, é seu uso na agricultura, contribuindo para o fechamento do ciclo ecológico natural. Para que isso se torne possível, têm-se uma série de critérios exigidos pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) para a realização dos seus usos, visto o potencial contaminante existente na composição deste resíduo. (Montemurro et al., 2004).

A alta concentração de matéria orgânica e nutrientes oriundo desse material tem chamado a atenção de pesquisadores e produtores rurais, podendo contribuir para a redução do uso de fertilizantes químicos de alto custo, que, se usados sem critérios agronômicos específicos, podem apresentar efeitos adversos ao meio ambiente (Riaz et al., 2018; Guo et al., 2019). De uma maneira geral, resíduos orgânicos, como o lodo de esgoto, devido a grande quantidade de matéria orgânica, devem sempre entrar em um plano de tratamento adequado que vislumbre sua reciclagem visando a sustentabilidade dos sistemas agrícolas (Perjessy, 2017). O principal componente da matéria orgânica pertencente aos biossólidos são as substâncias húmicas (SH) cujo sua origem e de seus grupos funcionais são diferenciados de acordo com a fonte orgânica (Canellas et al., 2015). Diversas pesquisas contemplam os benefícios agronômicos da utilização das SH em áreas agrícolas pela sua capacidade de incrementar a captação de nutrientes e o crescimento de raízes laterais, isso principalmente pela indução das H^+ -ATPases tanto de membrana plasmática quanto de vacúolo (Jindo et al., 2020); Elas têm sido relatadas como promotoras do crescimento vegetal, melhorando a qualidade do solo e estimulando o metabolismo das plantas (Caron, et al., 2017). Nesse contexto, substâncias húmicas derivadas de lodo de esgoto têm despertado interesse na agricultura devido ao seu potencial como fonte de nutrientes e estímulo ao crescimento das plantas. Essas substâncias são compostas por uma mistura complexa de compostos orgânicos, incluindo ácidos húmicos, ácidos fúlvicos e huminas (Caron, et al., 2017).

No entanto, apesar do crescente interesse em substâncias húmicas oriundos de lodo de esgoto, há uma lacuna de conhecimento sobre os efeitos específicos dessas substâncias promovendo alterações morfológicas e enzimáticas nas plantas de feijoeiro. Compreender os

mecanismos envolvidos nessas alterações pode fornecer insights importantes para o desenvolvimento de estratégias agrícolas mais eficientes e sustentáveis.

De acordo com o exposto, a hipótese deste trabalho é de que as SH isoladas de lodo de esgoto *in natura* e do esterilizado, podem promover alterações benéficas as características morfológicas, nutricionais e enzimáticas de plantas de feijoeiro.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral:

Avaliar os efeitos da utilização de substâncias húmicas (SH) extraídas do lodo de esgoto não esterilizado (“*in natura*”) e esterilizado; sob o crescimento e atividades de enzimas antioxidantes nas plantas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.).

2.2 Específicos:

Coletar o lodo biológico anaeróbico (estabilizado) na Estação de Tratamento de Esgoto - ETE de Unaí-MG regulada pelo Serviço Autônomo de Água e Esgoto (SAAE) e obtido pelo sistema de lagoas de estabilização.

Extrair e purificar as SH extraídas do lodo nas condições *in natura* e esterilizado. Caracterizar as SHNE e SHE quimicamente e espectroscopicamente.

Realizar ensaio com diferentes concentrações de SH para obter aquela que melhor estimula o crescimento do feijoeiro.

Testar as doses ótimas nas SHNE e SHE obtidas no ensaio preliminar de concentração-resposta avaliando-se mudanças sobre a morfologia de plantas de feijoeiro (altura média da parte aérea, área foliar, área radicular, diâmetro radicular), massa seca da parte aérea e massa seca radicular.

Avaliar o efeito dos diferentes tratamentos (diferentes SH) sobre a atividade da e Catalase, Peroxidase do Ascorbato e superóxido em plantas de feijoeiro.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 O feijoeiro

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma leguminosa de grande importância para os seres humanos e animais, devido seu alto valor nutritivo e propriedades funcionais (carboidratos, vitaminas, fitatos, lectinas, fibras solúveis e fenólicos) (García-Lafuente et al., 2014). Essa cultura, muitas vezes é denominada como o “grão da esperança” pelo fato dos seus compostos fito químicos, como polifenólicos, poderem auxiliar na prevenção de doenças cardiovasculares, glicemia, obesidade, câncer do cólon entre outras doenças (Hayat et al., 2014; Zargar et al., 2017).

O Brasil encontra-se entre os maiores produtores do mundo junto com Myanmar, Índia, Estados Unidos, México e Tanzânia, no qual correspondem a 57% do total produzido ou 15,3 milhões de toneladas (Coêlho, 2019). De acordo com a CONAB (2020), em seu último levantamento, a safra 2019/20 o Brasil obteve área plantada de 2927 mil ha, produção 3230 mil toneladas e produtividade de 1.104 kg ha⁻¹.

Além de suas características nutricionais esta leguminosa contém benefícios agrônômicos através de sua capacidade de fixação de nitrogênio, redução no uso de fertilizantes, assim gerando menor impacto ambiental na agricultura (Reay et al., 2012; Andrews & Andrews, 2017). Na história, a cultura do feijoeiro apresenta baixas produtividades no Brasil, seja por efeitos climáticos ou sanidade da cultura; existem cultivares com alto potencial produtivo, mas em função do alto risco da cultura, os produtores se sentem desencorajados a realizarem grandes investimentos (Rosolem & Marubayashi, 1994).

Devido o seu superficial sistema radicular e menor ciclo, o feijoeiro é considerado uma planta exigente em nutrientes; a quantidade média de nutrientes exportado por 1.000 kg de grãos são: 35,5 kg de N, 4,0 kg de P, 15,3 kg de K, 3,1 kg de Ca, 2,6 kg de Mg e 5,4 kg de S (Rosolem & Marubayashi, 1994). O uso inadequado de fertilizantes químicos no solo podem acarretar em problemas sociais e ambientais, sendo necessário a implementação de práticas agrícolas mais sustentáveis; os bioestimulantes podem promover o equilíbrio fisiológico das plantas, favorecendo o potencial genético e produtividade (Hurtado, et al., 2019) .

3.2 As substâncias húmicas

As substâncias húmicas (SH) são consideradas um indicador de maturação de compostos orgânicos, no qual posteriormente podem vir a ser utilizados como biofertilizante (Zhou et al., 2014). As características da SH, estão relacionadas diretamente a sua matéria-prima, devido a possíveis aditivos incorporados às fontes de matéria orgânica, atividade microbiana, temperatura, pH, relação C/N, teor de umidade, teor de oxigênio e tamanho de partículas, possuindo assim uma formação e estrutura muito complexas (Petric et al., 2012; Silva et al., 2014).

A SH promovem benefícios agrônômicos ao solo, podendo contribuir na formação de agregados, aumento da porosidade do solo, melhoria na capacidade de troca de cátions e aumento da capacidade de retenção de água (Guo et al., 2019). Contém ainda propriedades capazes de atuar como pesticidas naturais atuando em vários fitopatógenos do solo e também minimiza a toxicidade de produtos químicos estando atribuídos estes benefícios a diversos grupos funcionais existentes nas SH, como carboxílico, fenólico, hidroxílico e quinonil (Guo, et al. 2016; Loffredo & Senesi, 2019; Mehta et al., et al., 2014).

Estas substâncias podem aumentar o diâmetro de agregados, promovendo maior aeração e capacidade de retenção de água, podem reduzir a plasticidade de solos argilosos, e amenizam variações de temperatura no solo (Caron, 2015). Em razão da sua alta capacidade de troca de cátions, podem disponibilizar micronutrientes às plantas; alguns estudos provam os efeitos positivos das SH na germinação de sementes, crescimento de raízes, acúmulo de biomassa e defesa da planta contra estresse oxidativo (Caron, 2015). As SH podem interagir com alumínio em solos ácidos, reduzindo a toxidez do alumínio às raízes, e disponibilizando fósforo (Weil & Magdoff, 2004). Em solos alcalinos, formam complexos com cálcio, e diminuem a fixação do fósforo; também formam complexos estáveis com cátions bivalentes como o cobre, manganês e zinco, aumentando a disponibilidade destes microrganismos para as plantas (Chen et al., 2004).

ainda atenuam as variações de temperatura no solo.

3.2.1 Formação e composição das substâncias húmicas

A composição elementar através da ordem de grandeza na SH, trazem a relação de C> O>H> N>S>P, sendo está composição elementar a mais estável e fundamental das SH

(Canellas et al., 2005). Existem duas teorias de formação da SH: a primeira de acordo com Stevenson (1994), é a teoria da lignina, onde as SH são sintetizadas através de precursores originários da lignina, tornado assim a lignina matéria-prima da estruturação dos precursores de SH. Kulikowska (2016), considera que na degradação parcial da lignina pode ter a formação de frações fenólicas e quinina que serviram como precursores das SH. Já a segunda teoria, é a dos polifenóis, onde a formação das SH é originada através de produtos de condensação de inúmeras moléculas, podendo ser polissacarídeos e proteínas. Aparentemente estas vias ocorrem em interação umas com as outras (Kulikowska, 2016).

3.3 O lodo de esgoto

No Brasil 54,1% da população tem atendimento com rede esgoto, apenas 49,1% do coletado é tratado (SNIS, 2021). Mesmo existindo grande potencial de uso do lodo de esgoto na agricultura, a sua principal forma de descarte é através de aterros sanitários (Abreu et al., 2017), também existe a possibilidade de descarte por meio de incineração (Babatunde & Zhao, 2007).

O Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) estabelece critérios através da Resolução nº 375, de 29 de agosto de 2006, para o uso desse biossólido na agricultura, isso porque esses podem apresentar riscos ambientais, uma vez que em sua constituição apresentam altos níveis de sal, concentrações elevadas de metais pesados, presença de e contaminantes orgânicos (Zuloaga et al., 2012). Nos Estados Unidos, para a utilização do lodo de esgoto é exigido a minimização de patógenos humanos e contaminantes inorgânicos, antes de ser utilizado em áreas agrícolas (EPA, 1999).

O lodo de esgoto possui em sua constituição elementos que trazem benefícios ao solo, como macronutrientes e micronutrientes que são essenciais às plantas (Liu, 2016; Riaz et al., 2018), alta concentração de matéria orgânica, redução de suscetibilidade à erosão, aumentando de estabilidade dos agregados do solo, e características hidráulicas (Auerswald et al., 2003; Tejada & Gonzalez, 2007). A disponibilidade de nutrientes e matéria orgânica aumenta a atividade microbiana e de enzimas do solo, além de promover incremento da biomassa vegetal (Singh & Agrawal, 2008).

Segundo Singh & Agrawal (2008), os nutrientes nitrogênio (N) e fósforo inorgânico se apresentam em maiores abundâncias no lodo. Os nutrientes se tornam disponíveis através da mineralização da matéria orgânica, dependendo da cultura cultivada anteriormente, e do tipo de solo no qual o lodo será aplicado (mineralização mais rápida em solos arenosos do que

argilosos). No primeiro ano de utilização do lodo, 50% do nitrogênio é disponibilizado para planta através de sua mineralização, enquanto o fósforo apresenta uma variação entre 40% e 80% (Andreoli et al., 2007).

3.4 A importância da reutilização de resíduos orgânicos na agricultura

O gerenciamento dos resíduos orgânicos produzidos, tornou-se um desafio mundial no qual acomete principalmente os países em desenvolvimento (Guo et al., 2019). A metade da população mundial está residindo em cidades (United Nations, 2014), onde os insumos de alta qualidade tem entrada e resíduos de baixa qualidade saída (Wielemaker et al., 2018). Estima-se que em 2025 terá 4,3 bilhões de pessoas residindo na área urbana e a produção de resíduos alcançará 1,42 kg/dia/pessoa. Os custos para o gerenciamento deste resíduo terão aumento de cinco vezes para países de baixo rendimento e quatro vezes para países de médio-baixo rendimento (Hoornweg & Bhada-Tata, 2012; Hossain et al., 2017).

A tomada de decisão dos procedimentos realizados com os resíduos tende a seguir uma hierarquia, no qual é adotado as seguintes ordens como prioridade operacional: prevenção, reutilização, reciclagem, recuperação e descarte (Sun et al., 2018). Dependendo da operação aplicada aos resíduos, o produto gerado poderá ter potencial de agregação na fertilidade de solos, benefícios ao meio ambiente e aumento em seu valor econômico (Case et al., 2017).

A compostagem aeróbia, é um processo em que microrganismos transformam resíduos orgânicos em um material parcialmente humificado que pode ser utilizado como adubo orgânico ou para a produção de subprodutos, como os bioestimulantes (Bhatia et al., 2013; Jurado et al., 2015).

Portanto, o desenvolvimento de bioestimulantes abre oportunidades de pesquisas que podem contribuir para reciclagem e diminuição da carga orgânica de resíduos, trazendo benefícios para produtores, indústrias, empresas e consumidores (Xu & Geelen, 2018). Com um crescimento anual de 12,5% de 2013 a 2018, os bioestimulantes obtiveram uma movimentação no mercado mundial de US\$ 2.241 milhões em 2018, tendo uma relevância comercial significativa, incluindo uma grande variedade de materiais húmicos, com o objetivo de impulsionar processos biológicos com interação solo/planta (Calvo et al., 2014) em busca de atender demandas e exigências maiores de produção e qualidade de alimentos (Xu, 2018).

3.5 A utilização de lodo de esgoto na agricultura

A utilização do lodo de esgoto na agricultura misturado ou não a adubos químicos, tem sido praticado devido ao seu potencial de atuar melhorando as qualidades físicas, químicas e biológicas dos solos; principalmente pelo seu alto conteúdo de matéria orgânica, nitrogênio, fósforo, cálcio e magnésio (Singh & Agrawal 2008), além da presença de constituintes essenciais para o aumento da atividade de organismos presentes na rizosfera e crescimento microbiano (Rebah et al., 2007).

Na agricultura convencional e orgânica têm-se aumentado o uso de fertilizantes orgânicos (Quintern, 2006), onde estes podem agir restaurando a qualidade de solos degradados através da adição de material orgânico provenientes de resíduos reciclados (Zhang et al., 2014). Estados da região sudeste e do semiárido têm comprovado os benefícios na utilização do lodo de esgoto, mas mostraram ser indispensável o tratamento prévio do biossólido para diminuição de sua elevada carga orgânica (Bastida et al., 2019).

Weber et al. (2014), descreve os benefícios do lodo de esgoto nas propriedades do solo, aumentando a produção de culturas; EID et al. (2017) considera o fornecimento de fertilizante a base de lodo de esgoto apreciável, após seu processamento para redução nos níveis de poluentes. Os processos de tratamento de resíduos, tem o objetivo de remover contaminantes orgânicos, mas estão propensos a alterar padrões temporais dos nutrientes (Kätterer et al., 2014), tornando difícil o controle de liberação conforme a necessidade das culturas, quando aplicados em áreas agrícolas, devendo considerar uma liberação lenta e por longo prazo, reduzindo problemas associados ao excesso de nutrientes disponíveis no solo (Gómez-Muñoz et al., 2017). O valor comercial e qualidade agrônômica do composto final irá depender da quantidade e qualidade da matéria orgânica em termos de estabilidade e ausência de toxicidade (Brunetti et al., 2019).

Em 2013 na União Europeia 42% do lodo produzido foi utilizado em áreas agrícolas (Buckwell & Nadeu, 2016), na Dinamarca também se tem realizado o processamento de águas residuárias e, após estabilização, aplica-se em áreas agrícolas (Case et al., 2017). A utilização de lodo de esgoto resultou no aumento de produção do tomate cereja (Hossain et al., 2010) e couve chinesa (Liu et al., 2014), sendo os resultados atribuídos ao fornecimento de N, P e a redução da acidez no solo. A aplicação de lodo de esgoto na dose de 12 t/ha⁻¹ proporcionou produção de madeira igual à obtida nas plantas de *Eucalyptus grandis* que receberam adubação mineral (Rocha et al., 2004).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Local de estudo

O experimento foi desenvolvido no município de Unaí, no estado de Minas Gerais, nas dependências da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), em estufa agrícola parcialmente climatizada, localizada em latitude 16°26'28.0" sul e longitude 46°54'08.1 oeste, altitude de 575 metros.

4.2 Extração do lodo e preparação

Foram coletadas amostras de lodo depositadas no fundo da lagoa de sedimentação em local apropriado sugerido pelos técnicos do Serviço Autônomo de Água e Esgoto (SAAE), na estação de tratamento de esgoto localizada em Latitude 16°21'44.8" sul e Longitude 46°52'27.4 oeste.

Para a amostragem foi utilizado um cano de PVC 70 mm, com aproximadamente 3 metros de comprimento, para alcançar o fundo da lagoa onde fica concentrado o lodo. O material foi transportado em baldes de plástico com capacidade para 20 litros até a estufa agrícola onde foi preparado.

Após a coleta o material foi transportado para as dependências da UFVJM Campus Unaí-MG, onde foi despejado em lona impermeável para secagem ao ar livre, e posterior moagem em moinho de facas. O material passou por peneira metálica de 2 mm, constituindo o tratamento que será utilizado no trabalho. Parte do lodo foi esterilizado em autoclave a 121° C durante 60 minutos.

Extração dos ácidos húmicos de lodo de esgoto

Foi realizada uma extração bruta das SH com a utilização da razão solo: solvente de 1:10 (m:v) (100 gramas de lodo: 1000 ml de NaOH 0,5 mol L⁻¹), seguido de agitação e separação. Nessa primeira etapa o sobrenadante é conhecido como SH e o precipitado como humina (fração insolúvel da MO).

Após o processo de extração bruta da SH, foi aguardado a sedimentação por 24 horas para realizar sifonagem da SH e ajustado o valor do pH para 7 com o auxílio de uma solução de HCl 6,0 mol L⁻¹ e imediatamente transferidos para sacolas de papel celofane tipo PT 35 gr e submetidos à diálise com água destilada em bandeja de 7 litros. A água foi trocada duas vezes por dia até que a condutividade elétrica fique próxima a 0 µs cm⁻¹. Posteriormente as SH foram congeladas em congelador e secas em liofilizador modelo L101, marca Liotop.

A composição elementar foi realizada em analisador elementar automático Perkin Elmer 2400 com amostras de 4 mg das diferentes SH. O teor de oxigênio foi obtido por diferença e o de cinzas pela incineração de 50 mg dos materiais húmicos por 700° C durante 8 h.

As SH foram caracterizadas pelo quimicamente por intermédio de parametros químicos: acidez total, acidez carboxílica e acidez fenólica, que foram quantificadas de acordo com método de Schnitzer & Gupta (1965):

1. Acidez total - determinação pelo método do hidróxido de bário ($\text{Ba}(\text{OH})_2$), com titulação do excesso com hcl;
2. Acidez carboxílica - tratamento com $\text{Ca}(\text{oac})_2$ e determinação do Ac liberado com naoh;
3. Acidez fenólica - diferença, i.e., acidez total – carboxílica.

As SH foram caracterizadas por meio dos métodos espectroscópicos a seguir:

1. Intensidade de fluorescência – foi obtida utilizando-se um espectrofotômetro Hitachi F-4500 em soluções aquosas da SH na concentração de 50 mg L^{-1} equilibrada a 25°c e pH = 8. As condições experimentais para excitação da fluorescência até 465 nm foram as mesmas indicadas por Milori et al. (2002).
2. Os valores da relação E_4/E_6 na região do ultravioleta e visível – foram feitas as leituras de absorbância nos comprimentos de onda de 465 nm a 665 nm e após feita a divisão dentre as absorbâncias.

4.3 Preparação dos meios de cultivo

Sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*), foram desinfestadas por meio de imersão em uma solução de NaCl (1,0%), por 30 minutos e pré-germinadas em bandejas contendo areia por sete dias. Após este período, plântulas com o mesmo padrão de crescimento foram transplantadas para para vasos de Leonard.

Foram utilizados os seguintes tratamentos: SH: $12,5 \text{ mg SH L}^{-1}$; 25 mg SH L^{-1} ; 50 mg SH L^{-1} ; 100 mg SH L^{-1} ; 200 mg SH L^{-1} e 400 mg SH L^{-1} . As plântulas foram mantidas por 15 dias em vasos de Leonard confeccionados com garrafas pet de 1500 ml contendo substrato numa proporção 1:1 de areia e vermiculita. Foram transplantadas três plântulas de feijoeiro e posteriormente feito desbastes para que cada unidade experimental (1 vaso) permaneça com duas plantas. Cada unidade recebeu um tratamento, sendo soluções de meio mínimo (CaCl_2 2 mm) contendo as seis concentrações supracitadas e um controle (contendo somente CaCl_2 2 mm), com cinco repetições por tratamento.

Após a obtenção das melhores doses das SH *in natura* e esterilizada, foi conduzido um novo experimento onde foram utilizados vasos de 10 litros preenchidos com solo

devidamente adubado contendo duas plântulas de feijoeiro que cresceram em três diferentes tratamentos (SH *in natura*, SH esterilizada e Controle) por 90 dias. A aplicação das SH (em um volume de 250 ml) foi realizada em estágios fisiológicos importantes do feijoeiro (V2; V4; R6 e R8). Após 60 dias, as seguintes avaliações morfológicas foram realizadas:

- 1) Altura média da parte aérea com auxílio de uma trena,
- 2) Área foliar por intermédio de imagem fotográfica pelo programa Delta T Scan;
- 3) Comprimento médio das raízes com auxílio de uma trena;
- 4) Área radicular por intermédio de imagem fotográfica pelo programa Delta T Scan;
- 5) Massa seca da parte aérea por meio de secagem em estufa à 75°C por 48 horas;
- 6) Massa seca das raízes por meio de secagem em estufa à 75°C por 48 horas.

4.4 Análises bioquímicas

4.5 Obtenção do extrato enzimático

Os extratos enzimáticos foram obtidos pela maceração de aproximadamente 0,2 g de tecido foliar em N₂ líquido e, então, adicionado 2 ml de meio de homogeneização, constituído de tampão fosfato de potássio 0,1 M, pH 6,8, ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) 0,1 mM, fluoreto de fenilmetilsulfônico (PMSF) 1 mM e polivinilpolipirrolidona (PVPP) 1% (p/v) (Peixoto, 1999). O homogeneizado, depois de filtrado através de quatro camadas de gaze, foi centrifugado a 12.000 g por 15 min, a 4°C, e o sobrenadante utilizado como extrato enzimático bruto.

4.5.1 Catalase

A atividade da catalase foi determinada pela adição de 0,1 ml do extrato enzimático bruto a 2,9 ml de um meio de reação constituído de tampão de fosfato de potássio 50 mM, pH 7,0 e H₂O₂ 12,5 mM (Havir & Mchale, 1987). O decréscimo na absorbância, no primeiro minuto de reação, foi medido a 240 nm a 25°C. A atividade enzimática foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de 36 M⁻¹ cm⁻¹ (Anderson *et al.*, 1995) e expressa em μmoles de peróxido de hidrogênio min⁻¹ mg⁻¹ proteína.

4.5.2 Peroxidase do ascorbato

A atividade da peroxidase do ascorbato foi determinada de acordo com o método de Nakano & Asada (1981), modificado por Koshiba (1993). Alíquotas de 100 μl do extrato enzimático foliar diluído 1:5, foram adicionados a 2,9 ml de um meio de reação constituído de tampão de fosfato de potássio 50 mM, pH 6,0, ácido ascórbico 0,8 mM e H₂O₂ 1 mM. O decréscimo na absorbância a 290 nm, à temperatura de 25°C foi medido durante o primeiro minuto de reação, sendo, a atividade da APX determinada com base na inclinação da reta nos

primeiros segundos, após o início da reação. A atividade enzimática foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de $2,8 \text{ mm}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (Nakano & Asada, 1981) e o resultado expresso em $\mu\text{mol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ proteína.

4.5.3 Superóxido dismutase

Para a atividade da superóxido dismutase foi preparado um coquetel do meio de reação da enzima, composto de tampão fosfato de sódio 100 mM (pH 7,5), metionina 50 mM, riboflavina 0,1 mM, EDTA 5 mM e cloreto de tetrazólio-nitrozul (NBT) 1 mM. A metionina e a riboflavina foram preparadas no escuro e mantidas em recipientes envolvidos em papel alumínio para evitar fotoxidação. O NBT foi o último reagente a ser preparado, na hora da reação, com os mesmos cuidados para evitar fotoxidação. Em cada tubo de ensaio foram adicionados: 1,5 mL de tampão fosfato de sódio, 780 μL de metionina, 60 μl de riboflavina, 60 μl de EDTA, 320 μl de água e 225 μl de NBT. Tubos foram identificados como branco do claro nos quais foram adicionados 50 μl de água em cada, e branco do escuro nos quais foram adicionados 50 μl da amostra em cada. Nos demais tubos, todos em duplicata, foram adicionados 50 μl da amostra em cada. Os tubos do branco do escuro ficaram protegidos da luz (envolvidos com papel alumínio) por 10 minutos. Os tubos do branco do claro e os demais tubos contendo as amostras foram levados a uma câmara de fotorredução (uma caixa fechada, contendo uma lâmpada) onde permaneceram por 10 minutos, até a identificação da reação. Os tubos foram, então, levados para leitura espectrofotométrica a 560 nm.

A partir dos dados de absorbância obtidos, a atividade da enzima foi dada em unidades de SOD, ou seja, a quantidade de enzima capaz de inibir em 50% a fotorredução do NBT. O cálculo foi feito da seguinte maneira: $\text{SOD} = (A/(a-b)) - 1$, onde: A = média das absorbâncias dos tubos sem amostra (branco do claro); a = médias das absorbâncias dos tubos contendo as amostras; e b = média das absorbâncias dos tubos contendo amostras, mantidos no escuro (branco e escuro).

4.6 Delineamento experimental e análise estatística

Os dados foram analisados utilizando-se o delineamento em blocos casualizados. Para o experimento de obtenção das melhores concentrações das SH foi realizada a análise de regressão onde suas significâncias, e de seus coeficientes, foram verificadas pelo teste F ($p < 0,05$) e pelo teste t ($p < 0,05$), respectivamente. O ajuste de regressão foi efetuado pelo coeficiente ajustado (R^2). Todos os dados serão analisados com o emprego do programa

estatístico “R”, as diferenças entre as médias dos tratamentos serão comparadas pelo teste de Duncan a 5%.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.

5.1. Caracterização das substâncias húmicas

Com relação a composição elementar (Tabela 1) das SH extraídas do lodo de esgoto estelizado e não esterilizado observa-se que a concentração de todos os elementos (C, H, N e O), além da umidade e teor de cinzas foram maiores na SH oriunda o lodo de esgoto não esterilizado. Esses maiores teores, por exemplo, podem contribuir para o aumento da capacidade de troca catiônica associada às substâncias húmicas do lodo não esterilizado em relação ao esterilizado (Allison, 1965).

Tabela 1. Composição elementar das substâncias húmicas esterilizadas e não esterilizadas (Unaí, MG, 2023).

SH	C	H	N	O	Umidade	Cinzas
	%					
SHNE	24,38±1,06 (A)	5,06±0,10 (A)	3,97±0,24 (A)	64,14±1,02 (A)	8,27±0,60 (A)	10,03±0,51 (A)
SHE	20,25±0,54 (B)	3,63±0,73 (B)	4,20±0,51 (A)	70,35±0,54 (B)	7,13±0,15 (B)	10,31±1,20 (A)

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste Duncan ($p > 0,05$).

Tanto SHNE e SHE apresentaram razão menor que 15 (Tabela 2), portanto, não possuem potencial de alterar o equilíbrio microbiológico e não e não imobilizam nitrogênio (Bernal et al, 1988). Para razão O/C, a SHNE apresentou menor valor, indicando material humificado menos oxidado e com maior grau de condensação (Miranda et al., 2007).

Tabela 2. Relações atômicas, acidez e avaliação espectroscópica das substâncias húmicas esterilizadas e não esterilizadas (Unaí, MG, 2023).

SH	C/N	H/C	O/C	IF	E ₄ /E ₆	Acidez total	Acidez Carboxilica	Acidez Fenólica	Relação COOH/Fenólica
	Razões atômicas			U.a.		(mmol H ⁺ g ⁻¹)	(mmol H ⁺ g ⁻¹)	(mmol H ⁺ g ⁻¹)	
SHNE	7,17±0,14 (A)	2,49±0,06 (A)	1,97±0,05 (A)	396,17±2,03 (A)	4,46±0,29 (A)	21,46±1,41 (A)	2,23±0,24 (A)	19,74±1,04 (A)	0,11±0,01 (A)
SHE	5,68±0,66 (B)	2,14±0,39 (A)	2,61±0,05 (B)	367,68±1,68 (B)	4,47±0,14 (A)	23,23±0,88 (A)	2,25±0,49 (A)	21,88±1,03 (A)	0,10±0,02 (A)

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste Duncan ($p > 0,05$).

Não houve diferenças significativas para as acidez total, carboxílica e fenólica avaliadas indicando que tanto as SHNE quanto a SHE possuem o mesmo nível de reatividade (tendência de uma reação química acontecer) (Mendonça & Rowell, 1996). Com relação aos parâmetros espectroscópicos, observa-se que houve somente diferença significativa o índice de fluorescência (IF), onde as SHNE mostraram-se mais humificadas que as SHE (Milori et al., 2002). Não foi encontrada diferença significativa para a relação E4/E6, geralmente esse parâmetro decresce com o aumento da complexidade e heterogeneidade das amostras de SH, indicando que tanto a SHNE quanto a SHE possuem o mesmo grau de complexidade química (Kononova, 1982).

5.2. Ensaios de concentração resposta

A quantidade de raízes laterais é influenciada por uma diversidade de estímulos hormonais e ambientais muito complexos (Sorin et al., 2005). Tanto as SHNE quanto a SHE induziram mudanças ao número de raízes laterais, área radicular diâmetro e comprimento das raízes quando comparadas com o tratamento controle dependentemente de uma concentração específica (curvas de regressão quadráticas) (Tabelas 3 e 4). Para a SHE ainda se observou efeitos dependentes de concentração quando se avaliou a massa fresca e seca das raízes (Tabela 4). Estes resultados podem ser explicados pela estimulação da síntese de auxina, que promovem os crescimento e aumento das ramificações laterais (Baldotto et al., 2009).

Tabela 3. Equações de regressão; coeficientes de determinação da regressão (R^2); desvios padrão da regressão (DP), níveis de significância da regressão (valores-p) e concentrações ótimas em plântulas de feijoeiro após tratamento com diferentes concentrações de substâncias húmicas oriundas do lodo não esterilizado (SHNE) (Unaí, MG, 2023).

CARACTERÍSTICAS AVALIADAS NAS RAÍZES	Equações de regressão ($y = b_2x^2 + b_1x + b_0$)	R^2	DP	P	Doses ótimas (dx/dy): $b_1 + 2(b_2)x = 0$
Área	$Y = -0,0016x^2 + 0,4949x + 261,65$	0,92	1,92	$<0,0001$	154,65
Número	$Y = -0,0025x^2 + 0,8117x + 230,45$	0,87	2,03	$<0,0001$	162,34
Diâmetro	$Y = -3E-06x^2 + 0,0009x + 0,7647$	0,99	0,76	$<0,0001$	150,00
Comprimento	$Y = -0,0065x^2 + 1,6278x + 1217,6$	0,92	1,93	$<0,0001$	125,21
				MÉDIA	148,05

A concentração ótima obtida para as frações a SHNE foi de 148,05 mg de SH (Tabela 3). Enquanto para a SHE, a melhor concentração encontrada foi de 235,9 mg de SH (Tabela 4).

Tabela 4. Equações de regressão; coeficientes de determinação da regressão (R^2); desvios padrão da regressão (DP), níveis de significância da regressão (valores-p) e concentrações ótimas em plântulas de feijoeiro após tratamento com diferentes concentrações de substâncias húmicas oriundas do lodo esterilizado (SHE) (Unaí, MG, 2023).

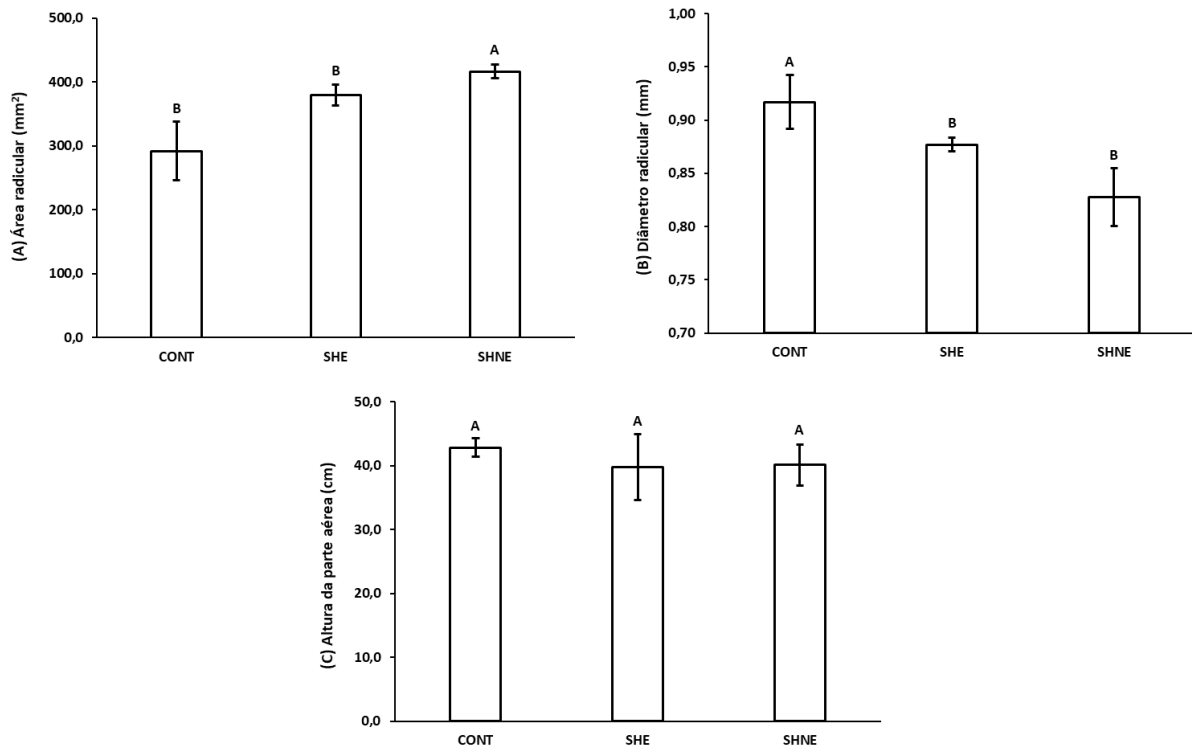
CARACTERÍSTICAS AVALIADAS	Equações de regressão ($y = b_2x^2 + b_1x + b_0$)	R^2	DP	P	Doses ótimas (dx/dy): $b_1 + 2(b_2)x = 0$
Área	$Y = -0,0044x^2 + 1,8048x + 312,83$	0,81	2,52	$<0,0001$	205,09
Número	$Y = -0,0057x^2 + 2,2775x + 291,74$	0,81	2,54	$<0,0001$	199,78
Diâmetro	$Y = -3E-06x^2 + 0,0014x + 0,8112$	0,81	2,55	$<0,0001$	233,33
Comprimento	$Y = -0,029x^2 + 11,438x + 1646,4$	0,74	2,83	$<0,0001$	197,20
MFR	$Y = -1E-05x^2 + 0,0056x + 1,8317$	0,81	2,57	$<0,0001$	280,00
MSR	$Y = -2E-06x^2 + 0,0006x + 0,1603$	0,94	1,97	$<0,0001$	300,00
				MÉDIA	235,9

5.3. Efeitos das melhores concentrações sobre o crescimento das plantas de feijoeiro

A área radicular das plantas tratadas com SHNE se diferenciou estatisticamente dos demais tratamentos (Figura 1), apresentando área de 416,5 mm², enquanto as plantas tratadas com SH e controle, apresentaram área de 379,1 e 291,9, respectivamente. Martins et al. (2018) encontrou resultado semelhante no cultivo de milho, onde a adição de compostagem de lodo de esgoto e resíduos de poda urbana favoreceu o desenvolvimento radicular. Souza (2016), verificou que a diferença no desenvolvimento das plantas tratadas com SHNE e SH se deve pelo aumento do pH do substrato após a adição de SHE; Klockmoore (1999) observou um aumento linear nas alturas das plantas begônia e impatiens cultivadas em vaso, e tratadas com substratos contendo composto de SHE, resíduos de poda e calcário. Para Souza (2016), o efeito positivo do lodo quando não esterilizado, pode sugerir a participação de microrganismos neste efeito.

Estes resultados podem ser explicados pela indução da síntese de auxina, ocorrendo surgimento de raízes laterais (Colodete, 2013; Baldotto et al., 2009). Canellas & Santos (2005), comprovou que a utilização de SH elevam a atividade das bombas de H⁺ contribuindo para o aumento na produção de raízes, proporcionando maior capacidade de absorção de nutrientes e água no solo.

Figura 1. Aspectos morfológicos de plantas de feijoeiro tratadas com Substâncias Húmicas esterilizadas e não esterilizadas (Unaí, MG, 2023).



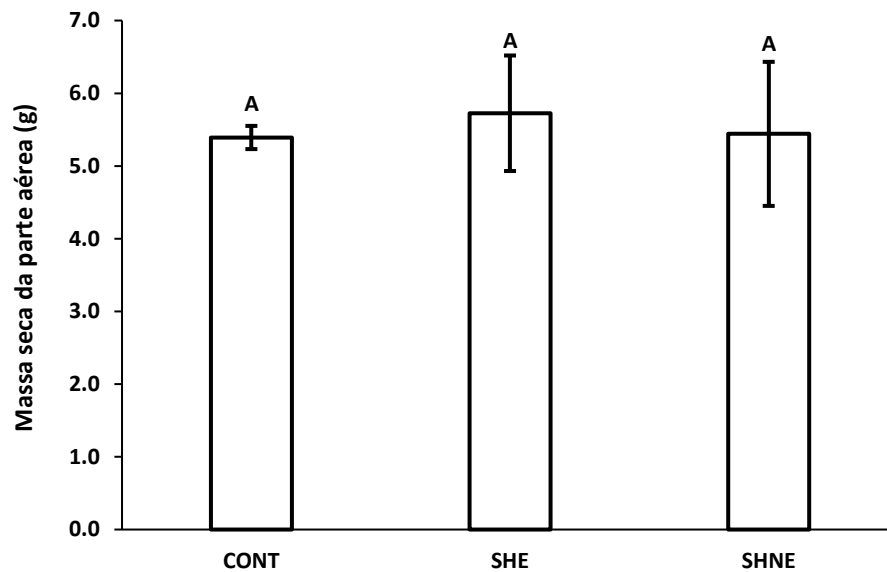
Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste Duncan ($p > 0,05$).

O diâmetro radicular das plantas tratadas com SHNE e SH apresentaram menor valor quando comparadas com o controle (Figura 1). Este resultado corrobora com o trabalho de Tigueiro & Guerrini (2014), onde após 180 dias da semeadura de aroeira-pimenteira, os tratamentos com lodo esterilizado não superaram a testemunha em diâmetro do colo. O mesmo se repete para altura de planta (Figura 1), onde nenhum dos tratamentos superou a testemunha. Souza (2020), mostrou que a utilização do fertilizante organomineral a base de lodo de esgoto na cana-de-açúcar, sob diferentes percentuais de recomendação de adubação 0, 60, 80, 100 e 120 % não diferiu da fonte mineral.

As plantas controle e tratadas apresentaram valor estatisticamente igual para massa seca da parte aérea (Figura 2). Caldeira et al. (2013), encontrou resultado diferente ao do presente estudo, onde verificou-se que a utilização de 20%, 40%, 60% e 80% de lodo de esgoto em associação com vermiculita no substrato proporcionou incremento em massa seca da parte aérea para mudas de *Eucaliptus grandis*. Mesmo as médias não se diferenciando estatisticamente, as plantas tratadas com SHE, apresentaram maior peso de matéria seca da raiz (Figura 2). Caldeira et al. (2013), observou que a produção de massa seca da raiz de *Eucaliptus grandis*

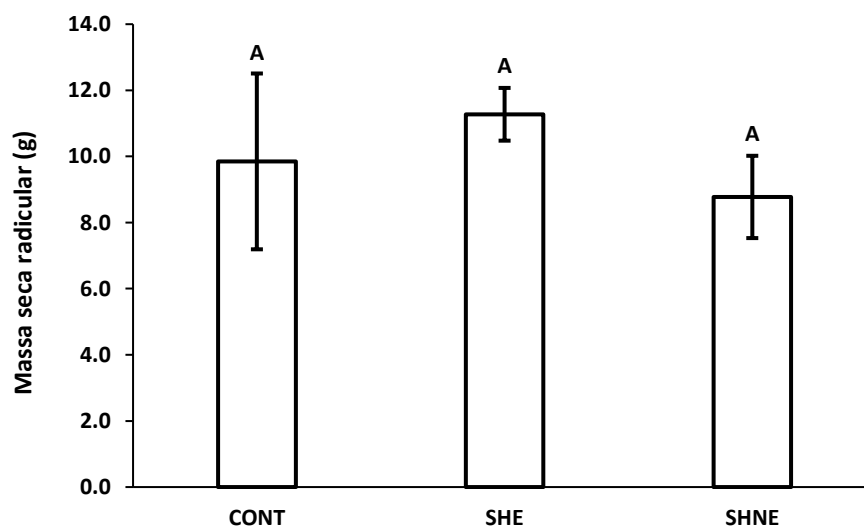
aumentou com a utilização de apenas 20% de lodo de esgoto em associação com vermiculita no substrato. Para Trigueiro & Guerrini (2003), à medida em que se diminui a proporção de lodo de esgoto no substrato, se produz um efeito positivo no acúmulo de massa seca da raiz.

Figura 2. Massa seca da parte aérea (g) de plantas de feijoeiro tratadas com Substâncias Húmicas esterilizadas e não esterilizadas (Unaí, MG, 2023).



Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste Duncan ($p > 0,05$).

Figura 3. Massa seca da raiz (g) de plantas de feijoeiro tratadas com Substâncias Húmicas esterilizadas e não esterilizadas (Unaí, MG, 2023).



Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste Duncan ($p > 0,05$).

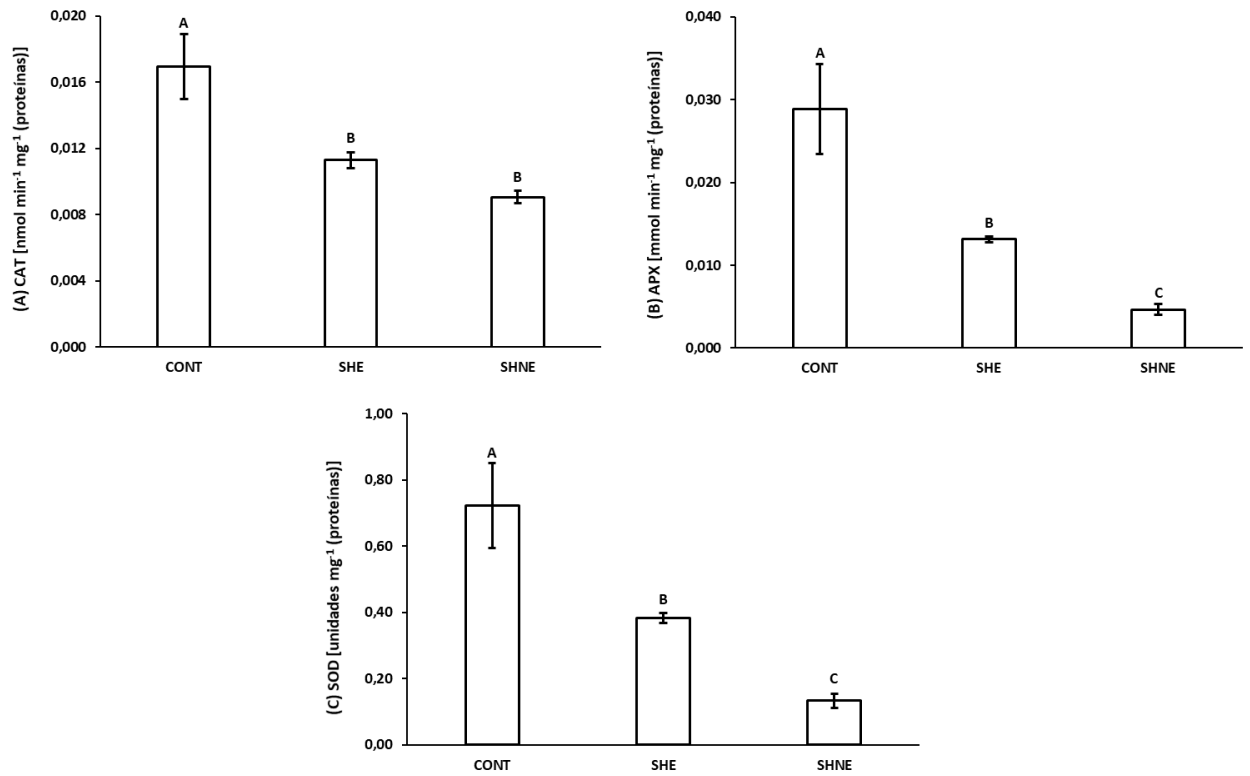
5.4. Efeitos das melhores concentrações sobre a atividade de enzimas antioxidantes em plantas de feijoeiro

Condições-de estresse os quais as plantas são expostas podem promover o aumento da produção de ERO's (espécies reativas de oxigênio), essas substâncias em altas quantidades interferem no ciclo de Calvin (inibindo a fixação de C) não permitindo a realização da fotossíntese, devido à oxidação do aparato fotossintético (Scandalios, 2000). A ação conjunta das enzimas: superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), tem o poder de inativar este complexo; CAT também desempenha o papel de transformar moléculas de H₂O₂ em água e oxigênio enquanto SOD podem dismutar radicais superóxido em moléculas de hidrogênio e oxigênio (ROSSI, 2008).

Em comparação com o controle, tanto SHE quanto SHNE apresentaram menores teores de CAT (Figura 4). Para APX, as plantas tratadas com SHNE apresentaram menores teores da enzima, mas em ambos os tratamentos foi notado menores teores quando comparados com o controle (Figura 4), o mesmo acontece para SOD (Figura 8). Rocha (2014), obteve resultado semelhante quando aplicado ácido húmico em folhas e raízes de arroz, há evidências a respeito do ácido húmico promover a atividade da SOD (Zhang et al.,2004), e outros estudos mostraram estimulação da produção da SOD por substâncias húmicas (Cordeiro et al., 2011), conferindo as plantas tratadas, menor estresse oxidativo.

A redução do efeito positivo do lodo quando esterilizado, pode ser explicado pela diminuição dos microrganismos benéficos que podem participar deste efeito. Bonacina (2020), verificou que a inoculação por fungos micorrízicos arbusculares estimulam a atividade da CAT e APX em mais de 50% e 20%, respectivamente, o que conferem menor potencial de dano oxidativo. Evelin & Kapoor (2014) encontraram resultados semelhantes para atividade da SOD.

Figura 4. Atividade das enzimas antioxidantes (CAT, APX, SOD) em plantas de feijoeiro tratadas com Substâncias Húmicas esterilizadas e não esterilizadas (Unai, MG, 2023).



Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste Duncan ($p > 0,05$).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os resultados obtidos nesse trabalho, foi possível aceitar a hipótese anteriormente delimitada, tanto as SH isoladas de lodo de esgoto *in natura*, quanto do lodo esterilizado, são capazes de promover benefícios as características morfológicas e enzimáticas de plantas de feijoeiro.

A partir dos resultados as principais conclusões obtidas foram:

1. Não há diferenças nas características químicas e espectroscópicas das SH entre o lodo esterilizado e não esterilizado.;
2. A substância húmica não esterilizada apresentou melhores resultados de incrementos na área radicular de plantas de feijoeiro;
3. As fração húmica extraída do lodo esgoto *in natura* e esterilizado atuaram minimizando o estresse oxidativo das plantas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, A. H. M.; LELES, P. S. S.; ALONSO, J. M.; ABEL, E. L. S.; OLIVEIRA, R. R. Characterization of sewage sludge generated in Rio de Janeiro, Brazil, and perspectives for agricultural recycling. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 38, n. 4, p. 2433-2447, 2017.

AGUDELO-VERA, C. M.; MELS, A.; RIJNAARS, H. The urban harvest approach as an aid for sustainable urban resource planning. **Journal of Industrial Ecology**, EUA, v. 16, n. 6, p. 839-850, 2012.

ALLISON, L.E. Organic carbon. In: BLACK, C.A. Methods of soil analysis. Madison: **American Society of Agronomy**, 1965. Pt. 2: Chemical and microbiological properties. p.1367-1378.

ANDERSON, M. D.; PRASAD, T. K.; STEWART, C. R. Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase, and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotyls of maize seedlings. **Plant physiology**, Inglaterra, v. 109, n. 4, p. 1247-1257, 1995.

ANDREOLI, C. V. Land application of sewage sludge. **Sludge treatment and disposal**, Inglaterra, p. 162-206, 2007.

ANDREWS, M.; ANDREWS, M. E. Specificity in legume-rhizobia symbioses. **International journal of molecular sciences**, Itália, v. 18, n. 4, p. 705, 2017.

AUERSWALD, K.; KAINZ, M.; FIENER, P. Soil erosion potential of organic versus conventional farming evaluated by USLE modelling of cropping statistics for agricultural districts in Bavaria. **Soil use and Management**, Reino Unido, v. 19, n. 4, p. 305-311, 2003.

BABATUNDE, A. O.; ZHAO, Y. Q. Constructive approaches toward water treatment works sludge management: an international review of beneficial reuses. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, Inglaterra, v. 37, n. 2, p. 129-164, 2007.

BALDOTTO, L.E.B.; BALDOTTO, M.A.; GIRO, V.B.; CANELLAS, L.P.; OLIVARES, F.L.; & BRESSAN-SMITH, R. Desempenho do abacaxizeiro 'Vitória' em resposta à aplicação

de ácidos húmicos durante a aclimação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, n. 33, p. 979-990, 2009.

BASTIDA, F.; JEHLICH, N.; NAVARRO-MARTÍNEZ, J.; BYONA, V.; GARCÍA, C.; MORENO, J. L. The effects of struvite and sewage sludge on plant yield and the microbial community of a semiarid Mediterranean soil. **Geoderma**, Holanda, v. 337, p. 1051-1057, 2019.

BERNAL, M. P.; PAREDES, C.; SÁNCHEZ –MONEDERO, M. A.; CEGARRA, J. Maturity and stability parameters of composts prepared with a wide range of organic wastes. **Bioresource Technology**, New York, v. 63, n. 1, p. 91-99, 1998.

BHATIA, A.; MADAN, S.; SAHOO, J.; ALI, M.; PATHANIA, R.; KAZMI, A. S. A. Diversity of bacterial isolates during full scale rotary drum composting. **Waste management**, Reino Unido, v. 33, n. 7, p. 1595-1601, 2013.

BONACINA, C. .; CRUZ, R. M. S. da .; ZAINA, I. C. .; ALBERTON, O. .; SOUZA, S. G. H. de . Arbuscular mycorrhizal fungi in drought tolerance: response in the antioxidant metabolism of *Ocimum basilicum* L. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 9, n. 12, 2020.

BRUNETTI, G.; TRAVERSA, A.; MASTRO, F. D.; COCOZZA, C. Short term effects of synergistic inorganic and organic fertilization on soil properties and yield and quality of plum tomato. **Scientia Horticulturae**, Holanda, v. 252, p. 342-347, 2019.

BUCKWELL, A.; NADEU, E. Nutrient recovery and reuse (NRR) in European agriculture. A review of the issues, opportunities, and actions. **RISE Foundation**, Brussels, 2016.

BURNETT, G. W.; PELCZAR JR, M. J.; CONN, H. J. **Preparation of media. Manual of microbiological methods**, p. 37-63, 1957.

PAMELA, C.; NELSON, L.; KLOPPER, J. W. Agricultural uses of plant biostimulants. **Plant and soil**, Holanda, v. 383, n. 1, p. 3-41, 2014.

CALDEIRA, M. V.; DELARMELINA, W. M.; PERONI, L.; GONÇALVES, E. de O.; SILVA, A. G. Lodo de esgoto e vermiculita na produção de mudas de eucalipto. *Pesq. Agropec. Trop.*, Goiânia, v. 43, n. 2, p. 155-163, 2013.

CANELLAS, L. S.; HUMOSFERA, G. A. tratado preliminar sobre a química das substâncias húmicas. **UENF**, Rio de Janeiro, 2005.

CANELLAS, L. P. *et al.* Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture. **Scientia horticulturae**, Holanda, v. 196, p. 15-27, 2015.

CANELLAS, L. P.; OLIVARES, FÁBIO L. Physiological responses to humic substances as plant growth promoter. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, Suíça, v. 1, n. 1, p. 1-11, 2014.

CANELLAS, L.P; SANTOS, G.A. Humosfera: tratado preliminar sobre a química das substâncias húmicas. **CCTA/UENF**, 2005.

CASE, S. D. C.; OELOFSE, M.; HOU, Y.; OENEMA, O.; JENSEN, L. S. Farmer perceptions and use of organic waste products as fertilisers—A survey study of potential benefits and barriers. **Agricultural systems**, Reino Unido, v. 151, p. 84-95, 2017.

CHANCE, B.; MAEHLY A. C. Assay of catalase and peroxidases. **Methods in Enzymology**. Academic Press, New York, p. 764-775, 1955.

CHEN, Y.; CLAPP, C. E.; MAGGEN, H. Mechanisms of plant growth stimulation by humic substances: the role of organo-iron complexes. **Soil Science Plant Nutrition**, v.50, n.6, p.1089-1095, 2004.

COÊLHO, J. D. Produção de grãos: feijão, milho e soja. **Escritório Técnico de Estudos Econômicos do Nordeste - ETENE**, Ceará, ed. 3, n. 33, 2019.

CONAB. **Acomp. safra bras. grãos**, v. 7 Safra 2019/20. Décimo segundo levantamento, Brasília, p. 1-68, setembro 2020.

CONAMA (2006). Conselho Nacional do Meio Ambiente - Resolução n° 375 de 29 de agosto de 2006. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. 167:141-146.

CORDEIRO F.C.; SANTA-CATARINA C.; SILVEIRA V.; DE SOUZA S.R. Humic acids Effects on catalase activity and the generation of reactive oxygen species in corn (*Zea mays*). **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v.75, p.70-74, 2011.

CALVO, P.; NELSON, L.; KLOEPPER, J. W. Agricultural uses of plant bioestimulants. **Plant Soil**, v. 383, n. 1, p. 3-41, 2014.

EID, E. M.; EL-BEBANY, A. F.; ALRUMMAN, S. A.; HESHAM, A. E.; TAHER, M. A.; FAWY, K. F. Effects of different sewage sludge applications on heavy metal accumulation, growth and yield of spinach (*Spinacia oleracea* L.). **International journal of phytoremediation**, Estados Unidos, v. 19, n. 4, p. 340-347, 2017.

Environmental Protection Agency (EPA), 1999. Biosolids Generation, Use and Disposal in the United States. **Office of Solid Waste and Emergency Response**, Washington D.C EPA530-R-9-099.

EVELIN , H; KAPOOR, R. Arbuscular mycorrhizal symbiosis modulates antioxidant response in salt-stressed *Trigonella foenum-graecum* plants. **Springer**, Berlim, v. 24, p. 197-208, 2014.

FRANCESCO, M.; MICHELE, M.. Organic fertilization as resource for a sustainable Agriculture. **FERTILIZERS: PROPERTIES, APPLICATIONS AND EFFECTS**, Nova Science Publishers, Nova York, p. 123, 2009.

GARCÍA-LAFUENTE, A.; MORO, C.; MANCHÓN, N.; GONZALO-RUIZ, A.; VILLARES, A.; GUILLAMÓN, E.; ROSTAGNO, M.; MATEO-VIVARACHO, L. In vitro anti-inflammatory activity of phenolic rich extracts from white and red common beans. **Food Chemistry**, Reino Unido, v. 161, p. 216-223, 2014.

GARCÍA, A. C.; SANTOS, L. A.; IZQUIERDO, F. G.; RUMJANEK, V. M.; CASTRO, R. N.; DOS SANTOS, F. S.; BERBARA, R. L. L. Potentialities of vermicompost humic acids to

alleviate water stress in rice plants (*Oryza sativa* L.). **Journal of Geochemical Exploration**, n. 48, 2014.

GÓMEZ-MUÑOZ, B.; MAGID, J.; JENSEN, L. S. Nitrogen turnover, crop use efficiency and soil fertility in a long-term field experiment amended with different qualities of urban and agricultural waste. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Holanda, v. 240, p. 300-313, 2017.

GUO, X.; HUANG, J.; LU, Y.; SHAN, G.; LI, Q. The influence of flue gas desulphurization gypsum additive on characteristics and evolution of humic substance during co-composting of dairy manure and sugarcane pressmud. **Bioresource technology**, Reino Unido, v. 219, p. 169-174, 2016.

GUO, X.; LIU, H.; WU, S.. Humic substances developed during organic waste composting: Formation mechanisms, structural properties, and agronomic functions. **Science of the total environment**, Reino Unido. 662, p. 501-510, 2019.

HAYAT, I; AHMAD, A.; MASUD, T.; AHMED, A.; BASHIR, S. Nutritional and health perspectives of beans (*Phaseolus vulgaris* L.): an overview. **Critical reviews in food science and nutrition**, Estados Unidos, v. 54, n. 5, p. 580-592, 2014.

HOORNWEG, D.; BHADA-TATA, P. What a waste: a global review of solid waste management. **Banco Mundial**, Washington, DC, 2012.

HOSSAIN, M. Z. *et al.* Effect of different organic wastes on soil properties and plant growth and yield: a review. **Scientia agriculturae bohemica**, República Tcheca, v. 48, n. 4, p. 224-237, 2017.

HOSSAIN, M. K. *et al.* Agronomic properties of wastewater sludge biochar and bioavailability of metals in production of cherry tomato (*Lycopersicon esculentum*). **Chemosphere**, Reino Unido, v. 78, n. 9, p. 1167-1171, 2010.

HUDCOVÁ, H.; VYMAZAL, J.; ROZKOŠNÝ, M. Present restrictions of sewage sludge application in agriculture within the European Union. **Soil and Water Research**, EUA, v. 14, n. 2, p. 104-120, 2019.

HURTADO, A. C.; RODRÍGUEZ, E. Q.; DÍAZ, E. A. P.; VICIEDO, D. O.; CALZADA, K. P.; HERNÁNDEZ, J. J. Efecto entre microorganismos eficientes y fitomas-e en el incremento agroproductivo del frijol. **Biotecnología en el sector agropecuario e agroindustrial**, Colombia, v. 17, n. 1, 2019.

JAHNEL, M. C.; CARDOSO, E. J. B. N.; DIAS, C. T. S. Determinação do número mais provável de microrganismos do solo pelo método de plaqueamento por gotas. **Revista brasileira de ciência do solo**, Minas Gerais, v. 23, n. 3, p. 553-559, 1999.

JINDO, K.; OLIVARES, F. L.; MALCHER, D. J. P.; MONEDERO, M. A. S.; KEMPENAAR, C.; CANELLAS, L. P. From lab to field: role of humic substances under open-field and greenhouse conditions as biostimulant and biocontrol agent. **Frontiers in Plant Science**, EUA, v. 11, p. 426, 2020.

JURADO, M. M.; SUÁREZ-ESTRELLA, F.; LÓPEZ, M. J.; VARGAS-GARCÍA, M. C.; LÓPEZ-GONZÁLES, J. A.; MORENO, J. Enhanced turnover of organic matter fractions by microbial stimulation during lignocellulosic waste composting. **Bioresource Technology**, Reino Unido, v. 186, p. 15-24, 2015.

KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. **Plant physiology**, Reino Unido, v. 57, n. 2, p. 315-319, 1976.

KÄTTERER, T.; BÖRJESSON, G.; KIRCHMANN, H. Changes in organic carbon in topsoil and subsoil and microbial community composition caused by repeated additions of organic amendments and N fertilisation in a long-term field experiment in Sweden. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Holanda, v. 189, p. 110-118, 2014.

KOSHIBA, T. Cytosolic ascorbate peroxidase in seedlings and leaves of maize (*Zea mays*). **Plant and Cell Physiology**, Reino Unido, v. 34, n. 5, p. 713-721, 1993.

KONONOVA, M.M. *Materia orgánica del suelo: su naturaleza, propiedades y métodos de investigación*. **Oikos-tau**, Barcelona, p. 364, 1982.

KLOCK-MOORE, K.A. Bedding plant growth in greenhouse waste and biosolid compost. **HortTechnology**, Alexandria, v.9, n.2, p.210-213, 1999.

KULIKOWSKA, D. Kinetics of organic matter removal and humification progress during sewage sludge composting. **Waste Management**, Reino Unido, v. 49, p. 196-203, 2016.

LEÓN, A. M. *et al.* Antioxidative enzymes in cultivars of pepper plants with different sensitivity to cadmium. **Plant Physiology and Biochemistry**, França, v. 40, n. 10, p. 813-820, 2002.

LIU, H. Achilles heel of environmental risk from recycling of sludge to soil as amendment: a summary in recent ten years (2007–2016). **Waste management**, Reino Unido, v. 56, p. 575-583, 2016.

LIU, T. *et al.* Nutrients and heavy metals in biochar produced by sewage sludge pyrolysis: its application in soil amendment. **Polish Journal of Environmental Studies**, Polonia, v. 23, n. 1, p. 271-275, 2014.

LOFFREDO, E.; SENESI, N. In vitro and in vivo assessment of the potential of compost and its humic acid fraction to protect ornamental plants from soil-borne pathogenic fungi. **Scientia horticultrae**, Holanda, v. 122, n. 3, p. 432-439, 2009.

KAZEMI, M. Effect of foliar application of humic acid and calcium chloride on tomato growth. **Bulletin of Environment Pharmacology and Life Sciences**, vol. 3, n. 3, p. 41-46, 2014.

MARTIN, J. P. Use of acid, rose bengal, and streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. **Soil science**, Reino Unido, v. 69, n. 3, p. 215-232, 1950.

MARTINS, C. A. da C.; DOS SANTOS, F. S.; PORTZ, A.; DOS SANTOS, A. M. INITIAL DEVELOPMENT OF MAIZE (ZEA MAYS L.) IN SUBSTRATE WITH COMPOSTED SEWAGE SLUDGE. **Brazilian Journal of Environmental Sciences (RBCIAMB)**, Rio de

Janeiro, n. 48, p. 69–79, 2018. DOI: 10.5327/Z2176-947820180305. Disponível em: https://www.rbciamb.com.br/Publicacoes_RBCIAMB/article/view/56. Acesso em: 21 jun. 2023.

MEHTA, C. M.; PALNI, U.; FRANKE-WHITTLE, I. H.; SHARMA, A. K. Compost: its role, mechanism and impact on reducing soil-borne plant diseases. **Waste management**, Reino Unido, v. 34, n. 3, p. 607-622, 2014.

MÉNDEZ, A.; CÁRDENAS-AGUIAR, E.; PAZ-FERREIRO, J.; PLAZA, C.; GASCÓ, G. The effect of sewage sludge biochar on peat-based growing media. **Biological Agriculture & Horticulture**, Reino Unido, v. 33, n. 1, p. 40-51, 2016.

MENDONÇA, E.S; ROWELL, D.L. Mineral and organic fractions of two oxisols and their influence on effective cation-exchange capacity. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, n.60, p. 1888- 1892, 1996.

MIRANDA, C. D. C.; CANELLAS, L. P.; NASCIMENTO, M. T. Caracterização da matéria orgânica do solo em Fragmentos de mata atlântica e em plantios abandonados de eucalipto. **R. Bras. Ci. Solo**, Viçosa, v. 31, p. 905-916, 2007.

MILORI, D. M.; LADISLAU, M. N.; CIMÉLIO, B.; MIELNICZUK, J.; BAGNATO, V. S. Humification degree of soil humic acids determined by fluorescence spectroscopy. **Soil Science**, Reino Unido, v. 167, n. 11, p. 739-749, 2002.

MONTEMURRO, F.; CONVERTINI, G.; FERRI, D.. Mill wastewater and olive pomace compost as amendments for rye-grass. **Agronomie**, França, v. 24, n. 8, p. 481-486, 2004.

MOSS, L. H. *et al.* Evaluating risks and benefits of soil amendments used in agriculture. **Water Environment Research Foundation**, Egito, 2002.

MORA, V.; BAIGORRI, R.; BACAICOA, E.; ZAMARREÑOB, A. M.; GARCÍA-MINA, J. M. The humic acid-induced changes in the root concentration of nitric oxide, IAA and ethylene do not explain the changes in root architecture caused by humic acid in cucumber. **Environmental and Experimental Botany**, n. 76, p. 24-32, 2012.

NATIONS, United. World's population increasingly urban with more than half living in urban areas. United Nations, 2014.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and cell physiology**, Reino Unido, v. 22, n. 5, p. 867-880, 1981.

PEIXOTO, P. H. P. Aluminum effects on lipid peroxidation and on the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, São Paulo, v. 11, n. 3, p. 137-143, 1999.

PETRIC, I.; HELIĆ, A.; AVDIĆ, E. A. Evolution of process parameters and determination of kinetics for co-composting of organic fraction of municipal solid waste with poultry manure. **Bioresource Technology**, Holanda, v. 117, p. 107-116, 2012.

QUINTERN, M.; LEIN, M.; JOERGENSEN, R. G. Changes in soil–biological quality indices after long-term addition of shredded shrubs and biogenic waste compost. **Journal of plant nutrition and soil science**, Alemanha, v. 169, n. 4, p. 488-493, 2006.

REAY, D. S.; DAVIDSON, E. A.; SMITH, K. A.; SMITH, P.; MELILLO, J. M.; DENTENER, F.; CRUTZEN, P. J. Global agriculture and nitrous oxide emissions. **Nature climate change**, Reino Unido, v. 2, n. 6, p. 410-416, 2012.

REBAH, F. B.; PRÉVOST, D.; YEZZA, A.; TYAGI, R. D. Agro-industrial waste materials and wastewater sludge for rhizobial inoculant production: a review. **Bioresource technology**, Reino Unido, v. 98, n. 18, p. 3535-3546, 2007.

RIAZ, U.; MURTAZA, G.; FAROOQ, M.. Influence of different sewage sludges and composts on growth, yield, and trace elements accumulation in rice and wheat. **Land degradation & development**, EUA, v. 29, n. 5, p. 1343-1352, 2018.

ROCHA, L. D. Ácido húmico extraído do lodo de esgoto sanitário e seus efeitos em plantas. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal). Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal do Espírito Santo, Espírito Santo, 2014.

ROCHA, G. N.; GONÇALVES, J.L.M.; MOURA, I.M. Mudanças da fertilidade do solo e crescimento de um povoamento de *Eucalyptus grandis* fertilizado com biosólido. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.28, p.623-639, 2004.

ROOMI, S. *et al.* Protein profiling of arabidopsis roots treated with humic substances: insights into the metabolic and interactome networks. **Frontiers in plant science**, Suíça, v. 9, p. 1812, 2018.

ROSE, M. T.; PATTI, A. F.; LITTLE, K. R.; BROWN, A. L.; JACKSON, W. R.; AND CAVAGNARO, T. R. A meta-analysis and review of plant-growth response to humic substances: Practical implications for agriculture. **Adv. Agron**, n. 124, p. 37–89, 2014.

ROSOLEM, C. A.; MARUBAYASHI, O. M. Seja o doutor do seu feijoeiro. Informações agronômicas, UNISAGRO, Mato Grosso, 1994.

SCANDALIOS, J.G.; ACEVEDO, A.; RUZSA, S. Catalase gene expression in response to chronic high temperature stress in maize. **Plant Science**, v.156, p.103-110, 2000.

SCHNITZER, M.; GUPTA, U.C. Determination of acidity in soil organic matter. **Soil Science Society of America Proceedings**, EUA, v. 27, p. 274-277, 1965.

SILVA, M. E. F.; LEMOS, L. T.; NUNES, O. C.; CUNHA-QUEDA, A. C. Influence of the composition of the initial mixtures on the chemical composition, physicochemical properties and humic-like substances content of composts. **Waste management**, Reino Unido, v. 34, n. 1, p. 21-27, 2014.

SINGH, R. P.; AGRAWAL, Manindra. Potential benefits and risks of land application of sewage sludge. **Waste management**, Reino Unido, v. 28, n. 2, p. 347-358, 2008.

SNIS (2021). Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento. Esgoto Sanitário – 2019. Disponível em: < <http://snis.gov.br/painel-informacoes-saneamento-brasil/web/painel-esgotamento-sanitario>>. Acesso: março. 2021.

SOUZA, M. T.; FERREIRA, S. R.; MENEZES, F. G.; RIBEIRO, L. S.; SOUSA, I. M.; PEIXOTO, J. V. M.; SILVA, R. V. da; MORAES, E. R. Altura de planta e diâmetro de colmo em cana-de-açúcar de segundo corte fertilizada com organomineral de lodo de esgoto e bioestimulante. **Brazilian Journal of Development**, [S. l.], v. 6, n. 1, p. 1988–1994, 2020. DOI: 10.34117/bjdv6n1-141. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/6103>. Acesso em: 22 jun. 2023.

SOUZA, M. M. Efeito do lodo de esgoto no crescimento e acumulação de nutrientes em plantas de girassol (*Helianthus annuus* L.). Universidade Vila Velha, dissertação (mestrado em Ecologia), Vila Velha, 2016.

ROSSI, M.F. **Mecanismo antioxidante em plantas**.10º mostra acadêmica UNIMEP.10º Simpósio de ensino de graduação.23-25/10/2012.

SORIN, C., BUSSELL, J.D., CAMUS, I., LJUNG, K., KOWALCZYK, M., GEISS, G., MCKHANN, H., GARCION, C., VAUCHERET, H., SANDBERG, G., AND BELLINI, C. Auxin and light control of adventitious rooting in *Arabidopsis* require ARGONAUTE1. **Plant Cell**, n. 17, p. 1343–1359, 2005.

STEVENSON, F. J. Humus chemistry: genesis, composition, reactions. **John Wiley & Sons**, EUA, 1994.

SUN, D.; HALE, L.; KAR, G.; SOOLANAYAKANAHALLY, R.; ADL, S. Phosphorus recovery and reuse by pyrolysis: Applications for agriculture and environment. **Chemosphere**, Reino Unido, v. 194, p. 682-691, 2018.

TRIGUEIRO, R. M.; GUERRINI, I. A. Utilização de lodo de esgoto na produção de mudas de aroeira-pimenteira. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.38, n.4, p.657-665, 2014

TEJADA, M.; GONZALEZ, J. L. Influence of organic amendments on soil structure and soil loss under simulated rain. **Soil and Tillage Research**, Holanda, v. 93, n. 1, p. 197-205, 2007.

USEPA – UNITED STATES ENVIRONMENTAL AGENCY. Standards for the use and disposal of sewage sludge. Washington: **USEPA**, 1986. EPA, 1986. (Code of Federal Regulations 40 CFR Part 503).

WEBER, J.; KOCOWICZ, A.; BEKIER, J.; JAMROZ, ELZBIETA, J.; TYSZKA, R.; DEBICKA, M. E.; PARYLAK, D.; KORDAS, L. The effect of a sandy soil amendment with municipal solid waste (MSW) compost on nitrogen uptake efficiency by plants. **European journal of Agronomy**, EUA, v. 54, p. 54-60, 2014.

WEIL, R.R.; MAGDOFF, F. **Significance of soil organic matter to soil quality and health**. In: MAGDOFF, F.; WEIL, R.R. Soil organic matter in sustainable agriculture. Boca Raton, CRC Press, p.1-43, 2004.

WIELEMAKER, R. C.; WEIJMA, J.; ZEEMAN, G. Harvest to harvest: Recovering nutrients with New Sanitation systems for reuse in Urban Agriculture. **Resources, Conservation and Recycling**, Holanda, v. 128, p. 426-437, 2018.

XU, L.; GEELEN, D. Developing biostimulants from agro-food and industrial by-products. **Frontiers in plant science**, EUA, v. 9, p. 1567, 2018.

ZARGAR, S. M.; MAHAJAN, R.; NAZIR, M.; NAGAR, P.; KIM, S. T.; MASI, A.; AHMAD, S. M.; SHAH, R. A.; GANAI, N. A.; AGRAWAL, G. K.; RAKWAL, R. Common bean proteomics: Present status and future strategies. **Journal of proteomics**, Holanda, v. 169, p. 239-248, 2017.

ZHANG, X.; WU, X.; ZHANG, S.; XING, Y.; WANG, R.; LIANG, W. Organic amendment effects on aggregate-associated organic C, microbial biomass C and glomalin in agricultural soils. **Catena**, Holanda, v. 123, p. 188-194, 2014.

ZHANG, X.; ERVIN, E.H. Cytokinin-containing seaweed and humic acid extracts associated with creeping bentgrass leaf cytokinins and drought resistance. **Crop Science**, v.44, p.1737-1745, 2004.

ZHOU, Y.; SELVAM, A.; WONG, J. W. Evaluation of humic substances during co-composting of food waste, sawdust and Chinese medicinal herbal residues. **Bioresource technology**, Reino Unido, v. 168, p. 229-234, 2014.

ZULOAGA, O.; NAVARRO, P.; BIZKARGUENAGA, E.; IPARRAGUIRRE, A.; VALLEJO, A.; OLIVARES, M.; PRIETO, A. Overview of extraction, clean-up and detection techniques for the determination of organic pollutants in sewage sludge: a review. **Analytica chimica acta**, Holanda, v. 736, p. 7-29, 2012.