



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CAMPUS CURITIBANOS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOSSISTEMAS AGRÍCOLAS  
E NATURAIS - PPGEAN

Ana Paula de Almeida

**POTENCIAL FITO- E CITOGENOTÓXICO DO RESÍDUO SÓLIDO ALCALINO  
DA INDÚSTRIA DE PAPEL E CELULOSE (DREGS) EM *LACTUCA SATIVA* L.**

Curitibanos, SC.  
2023

Ana Paula de Almeida

**POTENCIAL FITO- E CITOGENOTÓXICO DO RESÍDUO SÓLIDO ALCALINO  
DA INDÚSTRIA DE PAPEL E CELULOSE (*DREGS*) EM *LACTUCA SATIVA* L.**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ecossistemas Agrícolas e Naturais da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Manejo e Conservação de Ecossistemas Agrícolas e Naturais.

Orientador(a): Prof.(a) Dr.(a) Júlia Carina Niemeyer

Coorientador(a): Prof.(a) Dr.(a) Patrícia Maria Pierre Castro

Curitibanos, SC  
2023

de Almeida, Ana Paula

Potencial fito- e citogenotóxico do resíduo sólido alcalino da indústria de papel e celulose (DREGS) em *Lactuca sativa* L. / Ana Paula de Almeida ; orientador, Júlia Carina Niemeyer, coorientador, Patrícia Maria O. Pierre Castro, 2023.

63 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Curitibanos, Programa de Pós-Graduação em Ecossistemas Agrícolas e Naturais, Curitibanos, 2023.

Inclui referências.

1. Ecossistemas Agrícolas e Naturais. 2. Anormalidades Cromossômicas. 3. Bioensaios. 4. Germinação. I. Niemeyer, Júlia Carina . II. O. Pierre Castro, Patrícia Maria . III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós Graduação em Ecossistemas Agrícolas e Naturais. IV. Título.

Ana Paula de Almeida

**POTENCIAL FITO- E CITOGENOTÓXICO DO RESÍDUO SÓLIDO ALCALINO DA  
INDÚSTRIA DE PAPEL E CELULOSE (*DREGS*) EM *LACTUCA SATIVA* L.**

O presente trabalho em nível de Mestrado foi avaliado e aprovado, em 30 de setembro de 2022, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Dr.Saulo Marçal de Sousa  
Instituição Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof.(a) Dr.(a) Greicy Michelle Marafiga Conterato  
Instituição Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Mestre em Ecossistemas Agrícolas e Naturais.

---

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

---

Prof.(a) Dr.(a)  
Orientador(a) Júlia Carina Niemeyer

Curitibanos, SC, 2023.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por proporcionar habilidades para desenvolver um trabalho que resultará em grandes conquistas.

As minhas professoras orientadoras: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Júlia Carina Niemeyer e Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Patrícia Maria O. Pierre Castro, por toda paciência, carinho, atenção, preocupação, ensinamentos.

A minha família, por todo o apoio e carinho. Em especial ao meu avô Orlando (*in memoriam*) que sempre me apoiou.

A Universidade Federal de Santa Catarina- UFSC, por me proporcionar esta oportunidade.

A UNIEDU pela bolsa de estudos a mim concedida, esse auxílio foi de fundamental importância para que eu pudesse concluir o mestrado. Muito obrigada pelo apoio financeiro!

## RESUMO

O mercado de papel e celulose proporciona empregos, renda e avanço na arrecadação de tributos, tornando o setor um dos pilares da indústria nacional. No Brasil, o setor adotou o Kraft como processo de produção devido ao clima favorável, solo fértil e matérias primas abundantes. Entretanto, essa atividade tem gerado grandes quantidades de resíduos, que necessitam de uma destinação adequada. Na tentativa de reduzir impactos ambientais, esses têm sido utilizados na agricultura como corretivo de acidez do solo. No entanto, há poucos estudos que avaliem possíveis efeitos desses resíduos sobre organismos vivos. Desse modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da aplicação de resíduo sólido alcalino da indústria de papel e celulose (*dregs*) no solo sobre a germinação e o crescimento inicial de sementes de alface (*Lactuca sativa*) avaliando o seu potencial citogenotóxico. Amostras de *dregs* foram oriundas de uma indústria de papel localizada na Serra Catarinense. Bioensaios de fito- e citogenotoxicidade foram realizados no Laboratório de Biologia Celular da UFSC, Curitibanos, SC, utilizando como organismo-teste a alface (*Lactuca sativa* L), recomendado como organismo-teste por normas de ensaios com plantas. Sementes orgânicas foram submetidas a concentrações de 0%, 25%, 50%, 75% e 100% de *dregs* que foram diluídas em água ultrapura, com diluição (1:4, v:v). Os ensaios foram conduzidos em incubadora BOD e organizados em delineamento experimental inteiramente casualizado. Foram avaliados: percentual de germinação, comprimento de raízes, biomassa fresca e seca, índice mitótico, frequência de anormalidades cromossômicas e conteúdo de DNA. Como resultados, obteve-se que quanto maiores as concentrações durante a exposição do organismo-teste no resíduo *dregs*, menor é o percentual de germinação e maiores são as frequências de anormalidades celulares e alterações cromossômicas. Conclui-se que é necessário conhecer as características físico-químicas dos resíduos a fim de se identificar a presença de possíveis contaminantes causadores desses efeitos. O presente estudo mostrou que estes resíduos, quando aplicados em altas concentrações, possuem efeitos fito- e citogenotóxicos sobre o organismo-teste utilizado, indicando que o mesmo deve ser utilizado de forma segura e não tomando apenas como função o descarte por parte das indústrias.

Palavras-chave: Anormalidades Cromossômicas, Bioensaio, Germinação, Kraft, Resíduos.

## ABSTRACT

The pulp and paper market provides jobs, income and advances in tax collection, making the sector one of the pillars of the national industry. In Brazil, the sector adopted Kraft as a production process due to the favorable climate, fertile soil and abundant raw materials. However, this activity has generated large amounts of waste, which need proper disposal. In an attempt to reduce environmental impacts, these have been used in agriculture as a soil acidity corrector. However, there are few studies that evaluate possible effects of these residues on living organisms. Thus, the objective of this work was to evaluate the effects of the application of alkaline solid residue from the pulp and paper industry (dregs) in the soil on germination and initial growth of plants, and their cytogenotoxic potential. Dreg samples came from a paper industry located in Serra Catarinense. Phyto- and cytogenotoxicity bioassays were performed at the Laboratory of Cell Biology at UFSC, Curitiba, SC, using lettuce (*Lactuca sativa* L) as a test organism, recommended as a test organism by plant assay standards. Organic seeds were submitted to concentrations of 0%, 25%, 50%, 75% and 100% of dregs that were diluted in ultrapure water, with dilution (1:4, v:v). The assays were carried out in a BOD incubator and organized in a completely randomized design. The following were evaluated: germination percentage, root length, fresh and dry biomass, mitotic index, frequency of chromosomal abnormalities and DNA content. As a result, it was found that the higher the concentrations during the exposure of the test organism in the dregs residue, the lower the percentage of germination and the higher the frequencies of cellular abnormalities and chromosomal alterations. It is concluded that it is necessary to know the physicochemical characteristics of the residues in order to identify the presence of possible contaminants causing these effects. The present study showed that these residues, when applied in high concentrations, have phyto- and cytogenotoxic effects on the test-organism used, indicating that it must be used safely and not just taking the function of disposal by the industries.

Keywords: Chromosomal Abnormalities, Bioassay, Germination, Kraft, Residues.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>09</b>
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>11</b>
2.1 A indústria de papel e celulose.....	11
2.2 Problemática da produção de resíduos sólidos alcalinos na indústria de papel e celulose ( <i>dregs</i> ).....	15
2.3 Legislação do resíduo <i>dregs</i> .....	21
2.4 A destinação final de resíduos sólidos no Brasil.....	24
2.5 Biomonitoramento e bioensaios.....	26
2.6 Potencial ecotoxicológico dos resíduos sólidos de papel e celulose ( <i>dregs</i> ).....	27
2.7 Modelo biológico <i>Lactuca sativa</i> L. em análises de citogenotoxicidade.....	28
2.8 Citometria de fluxo.....	30
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>32</b>
3.1 Obtenção do resíduo sólido ( <i>dregs</i> ) e dos indicadores.....	32
3.2 Solubilização do resíduo sólido e preparo dos tratamentos.....	32
3.3 Bioensaios de fitotoxicidade em sementes de alface ( <i>Lactuca sativa</i> L.) .....	34
3.4 Bioensaios de citogenotoxicidade em alface ( <i>L. sativa</i> ).....	34
3.4.1 Montagem e análise de lâminas.....	34
3.5 Citometria de fluxo.....	35
3.5.1 Caracterização das células meristemáticas de <i>L. sativa</i> por citometria de fluxo.....	35
3.6 Análise estatística.....	36
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÕES .....</b>	<b>43</b>
4.1 Bioensaios de fitotoxicidade em sementes de alface ( <i>L. sativa</i> L.).....	43
4.2 4.2 Análises para a avaliação da citogenotoxicidade.....	44
4.3 Análise por citometria de fluxo .....	51
<b>5. Conclusão .....</b>	<b>57</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>58</b>



## 1. INTRODUÇÃO

Uma das atividades mais antigas desenvolvidas pelo homem é a fabricação de papel. Com o passar dos anos, tornou-se uma das indústrias mais desenvolvidas tecnologicamente e sua importância foi reconhecida devido a sua utilidade cotidiana. No ano de 2000, a produção de celulose destacou-se em relação a de papel, aumentando a razão entre a produção de celulose e papel. O Brasil é altamente competitivo na produção de celulose, em especial na etapa florestal, devido ao clima e solo, tornando-o assim um País que exporta cerca de 70% de sua produção. Porém, essa atividade gera resíduos que podem ser tóxicos ao meio, os quais devem ser descartados e utilizados de forma correta para não prejudicar o ambiente (IEA, 2021).

Existem estudos como o de Maeda e Bognola (2013) que abordam a utilização de resíduos gerados nas indústrias de celulose papel como corretivo agrícola e florestal, sendo uma alternativa para o problema de descarte, além de contribuir para a redução do custo da produção agrícola e florestal. Este tipo de resíduo tem sido utilizado por agricultores como uma alternativa para a correção da acidez dos solos (MARQUES; SILVA; VELASCO; FORNARI, 2014).

Muitos usuários que utilizam a técnica de inserir o resíduo no solo como forma de neutralizante não têm ciência sobre a origem do mesmo. É necessário que se tenha conhecimento da composição físico-química dos resíduos para que tal utilização possa ser feita de forma segura e não tomando apenas como função o descarte de um problema para a indústria. É necessária a obtenção de dados de pesquisa e acúmulo de experiências que sirvam de orientação na definição de critérios de aplicação. No que diz respeito aos resíduos *dregs* alcalinos oriundos de indústrias de celulose, suas características químicas incluem o potencial de correção da acidez do solo, devido ao seu alto teor de compostos neutralizantes, também é um potencial poluidor com a presença de metais pesados e sódio e os efeitos sobre o solo (DUARTE, 2017).

Os bioensaios analisam a contaminação do meio ambiente pelos poluentes naturais ou sintéticos que são causados por atividades humanas (ANDRADE-VIEIRA, 2012) e são considerados ferramentas para o monitoramento ambiental, tendo como principal objetivo impedir ou prevenir determinada intoxicação ou saber interrompê-la. Estabeleceu-se o uso de organismos para fins de monitoramento dos efeitos que agentes tóxicos poderiam causar, esse procedimento foi chamado de “monitoramento biológico” ou “biomonitoramento”. À medida que os agentes tóxicos interagem com fatores de estresse naturais como altas temperaturas e limite de nutrientes, se tornam mais prováveis de causar contaminação (ANDRADE; CAMPOS;

DAVIDE, 2008).

A citometria de fluxo é uma técnica inicialmente desenvolvida para contagens de análises de células sanguíneas. Entretanto, o uso desta tecnologia se generalizou para outras áreas e tem se expandido nos estudos com células vegetais. As aplicações da citometria de fluxo estão estabelecidas em plantas, com a determinação do DNA e do genoma, determinação de ploidia, análises do ciclo celular (CARDOSO et al. 2019).

A capacidade de promover alterações metabólicas celulares e indução de alterações no material genético representam, respectivamente, o potencial citotóxico e genotóxico de determinadas substâncias, sendo que estas podem ser de origem natural ou antropogênica (CARDOSO et al. 2019). Dentre as espécies modelos para a realização desses estudos, destaca-se a espécie *L. sativa* (alface).

Nesse contexto, a alface (*Lactuca sativa* L.) é um dos modelo indicado para análises citogenotóxicas e fitotóxicas especialmente por representar um vegetal comumente cultivado, utilizado em grande escala na alimentação humana e vulnerável a contaminações (GIORGETTI et al., 2011; YOUNG et al., 2011). O presente trabalho avaliou os impactos causados pela disposição de resíduos industriais em (*Lactuca sativa* L.), tendo como objetivo a orientação de alternativas de disposição ou tratamento. Os resultados buscaram contribuir para o conhecimento sobre os efeitos fito- e citogenotóxicos destes resíduos em organismo-teste. Como objetivos específicos, buscou-se: a) determinar se há ocorrência de fitotoxicidade sobre sementes de *L. sativa*; b) avaliar o efeito citogenotóxico por meio de avaliações cromossômicas usando *L. sativa* como espécie modelo; c) determinar o conteúdo de DNA e as alterações no ciclo celular por meio da técnica de citometria de fluxo em meristemas radiculares de *L. sativa*.

No desenvolvimento deste estudo, assumimos como hipóteses: (1) o resíduo poderá ocasionar alterações fito e citogenotóxicas, a depender da concentração de aplicação; (2) *L. sativa* servirá como um organismo-teste adequado para estas análises, representando outras espécies de plantas que possam ser receptores ecológicos deste resíduo quando o mesmo for aplicado em solo; (3) as análises citogenéticas apresentarão maior sensibilidade do que os testes utilizados para a avaliação da fitotoxicidade, sendo consideradas marcadores de efeitos adversos em concentrações abaixo das que causam efeitos observáveis na população de plantas.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 A indústria de papel e celulose

A fabricação de papel é uma atividade antiga que ao passar do tempo tornou-se uma das indústrias mais desenvolvidas, ocupando lugar em destaque no setor industrial. O papel gerou vários empregos, teve diversas funções e melhorou a condição financeira de várias cidades. Apesar do avanço da tecnologia estar cada vez mais presente diminuindo a sua utilização, o papel ainda é o principal meio para a transmissão de informação. Segundo a história escrita, foi verificado que o homem necessitava de uma superfície para registro de suas ideias e pensamentos. Historiadores relatam por esse motivo a existência de desenhos encontrados nas paredes das cavernas habitadas pelos povos primitivos (KLOCK; ANDRADE; HERNANDEZ, 2013).

Os romanos e gregos usavam tábuas de madeira para registrarem seus escritos, logo em seguida ocorreu a ideia da utilização de casca de árvores para a obtenção de registro de informações onde levou os egípcios a produzirem há cerca de 6.000 anos atrás, as primeiras folhas de *Papyrus*, onde originou-se o nome papel. Devido ao clima seco da região, os rolos de *Papyrus* possibilitaram manter as informações conservadas ao longo de milênios, a chegada da produção de papel na América foi no fim do século XVII, onde em 1690, em Germantown na Filadélfia, o primeiro moinho de papel americano foi fundado. Em 1798, teve êxito a invenção segundo a qual foi possível fabricar papel em máquina de folha contínua, como até hoje é conhecida esta fabricação (KLOCK; ANDRADE; HERNANDEZ, 2013).

A fabricação de papel foi um marco na revolução industrial, porém a sua produção pode ser responsável por parte da devastação de florestas e poluição das águas. No Brasil, as duas principais fontes de madeira utilizadas para a produção de celulose são as árvores plantadas de pinus e de eucalipto, responsáveis por mais de 98% do volume produzido. As matérias-primas vegetais utilizadas para produção de pasta celulósica são bastante variadas, seriam as plantas anuais e resíduos agrícolas como babaçu, bagaço de cana de açúcar, bambu, linter de algodão, estopa de linho e sisal e como madeiras a de eucalipto, pinus, araucária, acácia e gmelina (Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura, FAO, 2021).

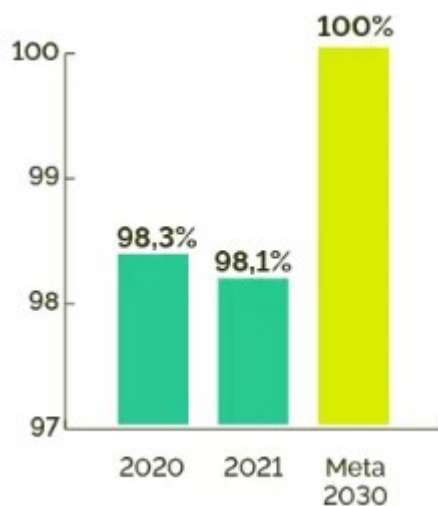
As espécies de madeiras mais utilizadas para fabricação de celulose e papel no Brasil seriam “*Hardwood*” ou folhosas, são árvores de fibra curta como *Eucalyptus* das espécies: *E. saligna*, *E. grandis*, *E. urophylla*, *E. globulus*, *E. teriticornis* e árvores como *Gmelina arborea*, *Acacia mearnsii* e *Mimosa scrabella*. e são utilizadas também as “*softwood*” ou coníferas que

seriam arbóreas de fibras longas como Pinus das espécies: *Pinus elliottii*, *P. taeda*, *P. caribea* e *P. patula*. Cada fábrica possui um produto final como intuito, assim escolhendo árvores de fibra longa ou fibra curta. Para a produção de papelão, escuro e mais espesso utiliza-se árvores de fibra longa e para a produção de papel mais fino, macios e de boa absorção são árvores de fibra curta (FAO, 2021).

O processo de fabricação de celulose e papel consiste em selecionar os troncos de madeira de espécies conforme a finalidade do produto final da empresa. Após serem cortados, os troncos passam por um descascador e picador e saem na forma de cavacos. No digestor, os cavacos são cozidos dentro de um líquido composto por água e alguns agentes químicos e o resultado desse cozimento é a polpa. A polpa passa por um processo de lavagem em tanques e centrífugas e os cavacos que não se dissolveram, além de outras impurezas, são eliminados (MELLO,2018).

Em seguida, a polpa é deixada descansando em outros tanques. Essa etapa é chamada de branqueamento e serve para separar a celulose de outros resíduos. Os restos de madeira não utilizados são queimados em caldeiras e transformados em energia elétrica em turbogeradores a vapor. A energia gerada nesse processo alimenta o próprio processo de fabricação do papel. A polpa de celulose, ainda com alto teor aquoso, passa por uma máquina chamada mesa plana, que transforma essa polpa úmida em uma grande folha contínua e lisa sobre uma esteira rolante. Essa folha passa por rolos de prensagem e secagem com ar quente, que retiram o excesso de água, compactam o papel e alisam a folha. Por fim, a folha passa por um aparelho chamado enroladeira e por rolos de rebobinagem, onde o papel se descola da esteira e forma enormes rolos e está pronto para o corte, empacotamento e distribuição. No final do processo, ocorre a geração de resíduos sólidos. (MELLO, 2018).

Em 2021, a empresa Klabin painel ASG, por exemplo, reaproveitou 98,1% de resíduos sólidos, uma redução de 0,2% em relação ao índice de 2020. Esta redução ocorreu devido à aquisição de cinco novas unidades pela Klabin, que agregaram um total de 16.008 toneladas de resíduos não reaproveitados, sendo em grande parte os resíduos da depuração de aparas para o processo de reciclagem, conforme a figura 1, pode se observar as taxas de reaproveitamento do resíduo *dregs*.

Figura 1: Taxas de reaproveitamento do resíduo *dregs*.

Fonte: Klabin, 2021.

Empresas no ramo vem buscando alternativas de reaproveitamento de resíduos, buscam alternativas como a utilização dos *dregs* na produção de materiais para a construção civil, como pavers, manilhas, piso sextavado, meio-fio e a utilização de resíduos da recuperação química do processo (*dregs*). A indústria de celulose apresenta características diferentes dos demais mercados, devido ao fato de possuir um elevado nível de desenvolvimento tecnológico que utiliza instalações industriais com grande capacidade de produção, uma ampla base de recursos florestais plantados e intenso capital aplicado em tecnologia. Os países destaque nesse segmento (Figura 2) são considerados como principais produtores mundiais de celulose, sendo juntos responsáveis, em 2020, por cerca de 83% da produção mundial (Instituto Brasileiro de Atuária (IBÁ, 2021).

Figura 2: Principais países produtores de celulose.

País	Produção (10 <sup>6</sup> t)	% da produção
EUA	50,9	27,4%
Brasil	21,0	11,3%
Canadá	15,4	8,3%
China	14,9	8,0%
Suécia	12,0	6,5%
Finlândia	10,5	5,7%
Rússia	8,8	4,7%
Indonésia	8,4	4,5%
Japão	7,2	3,9%
Chile	5,2	2,8%

Fonte: IBÁ, 2021.

O Brasil é um grande exportador e produtor de celulose, a de fibra longa é mais resistente, já a de fibra curta possui maior capacidade absorvente e a pasta de alto rendimento, pode ser obtida de ambos os tipos de madeira. O tempo de rotação da plantação de madeira no Brasil é menor, devido ao fato do eucalipto (fibra curta), que é a principal fibra da celulose brasileira, atingir mais rapidamente a idade ideal para corte, em média 7 anos, do que o pinus (fibra longa), que leva em média 15 a 20 anos (FAO, 2021).

Todos esses parâmetros contribuem para que o Brasil seja um grande produtor. Em 2020, o Brasil lidera o ranking mundial, ao exportar mais de 15 milhões de toneladas de celulose, o que o torna um grande fornecedor mundial desse insumo. Em 2020, mais de 70% da produção brasileira foi destinada ao mercado externo. O Canadá ocupa a segunda colocação, ao exportar 9 milhões de toneladas. Os Estados Unidos ficam na terceira posição com 7,8 milhões de toneladas de celulose exportadas conforme a figura 3 (FAO, 2021).

Figura 3 - Ranking dos maiores exportadores de celulose do mundo.



Fonte: IBÁ, 2021.

Em 2020, devido a pandemia do Covid-19, houve uma queda significativa da produção de papel de imprimir e escrever, com recuo superior a 14%. Porém, o avanço de pedidos de entrega em domicílio e o rápido desenvolvimento do e-commerce proporcionaram o aumento de 4,1% do papel-cartão e a manutenção da produção de papel para embalagem, com aumento de 0,3%. Em relação aos itens de higiene pessoal, o papel para fins sanitários registrou alta de 2,2% em 2020 (IBÁ,2021).

## **2.2 Problemática da produção de resíduos sólido alcalino na indústria de papel e celulose (dregs)**

O interesse em reduzir os custos de atividades que não trazem lucros nas empresas sempre foi um fator discutido na literatura. Nesse contexto está inserido os resíduos sólidos como problemática relevante, essa preocupação assume aspectos na parte econômica e em uma responsabilidade ambiental. Em relação à economia, a problemática seria o investimento para a produção de materiais que não obtêm um retorno. Já a respeito do meio ambiente, esses resíduos geram uma deterioração pela necessidade de seu descarte (WALDEMAR; HERRERA, 1986).

Os processos industriais de celulose e papel geram muitos resíduos, podendo ser de origem sólida, líquida ou gasosa. Com o surgimento de alguns tratamentos, que são responsáveis por reduzir o potencial poluidor dos resíduos, pode ser usado em processos agrícolas como fonte de nutrientes para as plantas ou como corretivo da acidez do solo. Essa

alternativa é considerada de custo benefício baixo gerando uma qualidade ambiental. Porém, antes de realizar essas práticas, é importante que seja realizado um estudo das possíveis alterações que possam ocorrer nas propriedades físico-químicas do solo (ALMEIDA et al. 2007).

Os “*dregs*” são resíduos gerados no processo kraft e são materiais inertes ao sistema, fazendo com que o processo tenha uma menor eficiência na fase de caustificação do licor verde. Esses resíduos são sólidos e de cor escura, sendo formados no momento em que ocorre a queima do licor negro no processo de recuperação dos licores residuais gerados no processo kraft. Este sedimento, após a passagem pelo tanque clarificador de licor verde, passa pelo tanque adensador e é enviado para um filtro para um depósito em forma de descarte. Cada fábrica gera uma quantidade diferente de “*dregs*” que determina quantidades aproveitadas. Denomina-se na pesquisa a nomenclatura do resíduo “*dregs*” pela forma como esse resíduo é depositado no pátio da fábrica (RIBEIRO, 2010).

O início da formação do resíduo “*dregs*” ocorre durante o processo de separação da celulose, que é extraída da madeira. Nesta etapa, são utilizados reagentes oxidantes e alcalinos que compõem o chamado licor branco ( $\text{NaOH} + \text{Na}_2\text{S}^-$ ). No período de produção do licor branco com a madeira originam-se dois subprodutos: a polpa celulósica e o licor negro. Após ser evaporado a teor de sólidos, o licor negro é queimado na caldeira de recuperação, logo após a dissolução com o licor branco proveniente da lavagem da lama de cal, forma o chamado licor verde ( $\text{Na}_2\text{CO}_3 + \text{Na}_2\text{SO}_4 + \text{Na}_2\text{S} + \text{Fe}(\text{OH})_2$ ). No processo de caustificação do licor verde, após a adição de óxido de cálcio ( $\text{CaO}$ ), é extraída a lama de cal, um resíduo de coloração branca formado predominantemente por carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ). O “*dregs*”, por sua vez, possui cor acinzentada e é removido durante a clarificação do licor verde, ou seja, por ocasião da remoção de impurezas (TORRES, 2016).

Segundo Modolo (2006) os “*dregs*” são constituídos por carbonatos de cálcio e sódio, carvão da combustão incompleta da caldeira de recuperação, sílica, sulfuretos de metais e outros sais provenientes da caldeira. Em 2020, a produção mundial de celulose foi de aproximadamente 200 milhões de toneladas, sendo o Brasil responsável por 21 milhões de toneladas (Empresa de Pesquisa Energética, 2022). Durante o processo de produção, além dos impactos associados ao uso de madeira, são gerados uma quantidade significativa de resíduos sólidos inorgânicos: lama de cal da clarificação do licor branco, *dregs* da caustificação do licor verde, *grits* da extinção da cal e cinzas de caldeira (QUINA; PINHEIRO, 2020).



Outra problemática ocorre, em relação ao processo de branqueamento que pode afetar diretamente a composição química dos resíduos gerados. O branqueamento é a maior fonte de toxicidade do processo de fabricação. O problema de cor está diretamente associado a moléculas de alto peso molecular gerando a toxicidade associada às moléculas de baixo peso molecular sendo esses compostos responsáveis por 80 a 90% dos efeitos mutagênicos na fauna e flora dos corpos receptores. Essa toxicidade está associada a compostos organoclorados encontrados em efluentes. A grande quantidade desses compostos é diretamente proporcional à quantidade de cloro e dióxido de cloro usado no branqueamento (TORRES, 2016).

Para minimizar os impactos ambientais e atender às exigências legais têm-se buscado alternativas de aproveitamento e reciclagem desses resíduos. De acordo com Medeiros et al. (2009), estudos relacionados à aplicação desses resíduos em solo agrícola analisam as características dos solos por suas características físicas, químicas e biológicas. No entanto, os autores recomendam que a dosagem de resíduo aplicada deve estar relacionada ao tipo e condições do solo, quantidade de matéria orgânica, influência sobre a capacidade de troca de cátions (CTC), capacidade de armazenamento e infiltração de água no solo.

Mais recentemente, trabalhos semelhantes, com o intuito de determinar a influência da aplicação dos *dregs* nos atributos químicos do solo e na lixiviação de compostos fenólicos, foram realizados por Branco et al. (2013). Concluiu-se que a aplicação do *dregs* aumenta o pH, o teor de cálcio e sódio diminui o teor de alumínio e a acidez potencial do solo. Como outra alternativa de uso, Marques et al. (2014) realizaram estudos com o objetivo de verificar a possível integração de resíduos da indústria de celulose, dentre eles o *dregs* na construção civil, através da incorporação deste como agregado miúdo em argamassas. Os resultados indicaram um bom potencial de aproveitamento do resíduo na produção de argamassa de revestimento de paredes, substituindo em até 10% em massa de agregado. Este aproveitamento, além de favorecer a redução da extração da areia nos leitos dos rios, pode contribuir para um gerenciamento adequado para estes resíduos.

No entanto, é importante ressaltar que é nítida a necessidade do conhecimento da composição química e da toxicidade dos resíduos *dregs* para uma correta definição do seu uso. Neto et al. (2019), ao identificar características de solubilização de substâncias em água acima dos níveis de valor máximo permitido (VMP), caracterizando o resíduo como não inerte e não perigoso Classe IIA, reforçam em seu trabalho que é necessária a definição de doses seguras desses resíduos antes de sua aplicação no solo e que estudos adicionais devem avaliar os

efeitos toxicológicos e o seu potencial na agricultura.

Estudos que testaram o potencial ecotóxico dos *dregs* foram realizados por Bandarra et al. (2019). A partir de análises químicas do resíduo e testes em organismos bioindicadores aquáticos verificou-se a presença de componentes químicos com risco potencial e efeitos ecotóxicos elevados em três dos cinco organismos testados.

De acordo com Branco (2011), os *dregs* são resíduos que podem constituir fontes de metais pesados, trazendo grande preocupação quanto a sua utilização na adubação de plantas empregadas diretamente na alimentação humana, assim como na contaminação dos lençóis freáticos. O autor sugere que além de estudos que avaliem o efeito desses resíduos em organismos-teste é também necessária a obtenção de dados sobre macro e micronutrientes, metais, pH e umidade. Assim, ao se recomendar o uso agrícola do *dregs* é necessário estudar possíveis alterações que possam ocorrer nas propriedades físico-químicas do solo, bem como a resposta das plantas a tais produtos. Além disso, ressalta-se a importância de realizar avaliações dos efeitos desses resíduos em nível celular, já que dados a respeito são inexistentes na literatura. É importante ressaltar que o *dregs* tem sido gerado em grande quantidade na região do planalto sul catarinense, que possui uma extensa área de reflorestamento de pinus destinada à manufatura do papel.

A formação do resíduo *dregs* é uma consequência da fase de polpação, os produtos químicos e as substâncias dissolvidas da madeira formam uma solução aquosa denominada de licor preto. O sistema de recuperação processa o licor preto fraco e recupera os produtos químicos utilizados na digestão (MALTZ, et al, 1999).

O processo de produção de celulose pode ser sinteticamente dividido nas seguintes etapas:

- a) produção de cavacos: a madeira (fibra longa ou fibra curta) entra na fábrica, é lavada, descascada e transformada em cavacos nos picadores; os cavacos são armazenados em silos ou a céu aberto, alimentando posteriormente os digestores contínuos ou por bateladas;
- b) digestão: os cavacos de madeira são impregnados com licor branco e reagem em um digestor a cerca de 170 °C, produzindo pasta marrom e licor preto diluído;
- c) lavagem: o licor preto diluído é separado da pasta nos lavadores, a pasta de celulose segue a linha de produção de celulose, com etapas como lavagem, secagem, branqueamento, enfardamento ou conversão em papel; o licor preto diluído pela água de lavagem segue para o ciclo de recuperação dos produtos químicos; processos de polpação modernos normalmente

conseguem recuperar até 98 % dos produtos químicos aplicados no digestor;

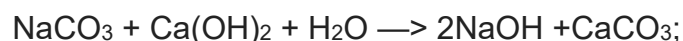
d) evaporação: do licor preto diluído possui cerca de 13-17% de sólidos dissolvidos quando entra na etapa de evaporação; o teor de sólidos é elevado até cerca de 60-70%, antes de ser encaminhado para queima na caldeira de recuperação;

e) combustão: o licor preto concentrado é queimado na caldeira de recuperação para completar a combustão da matéria orgânica do licor e recuperar os produtos químicos; a combustão pode ser representada pela reação:



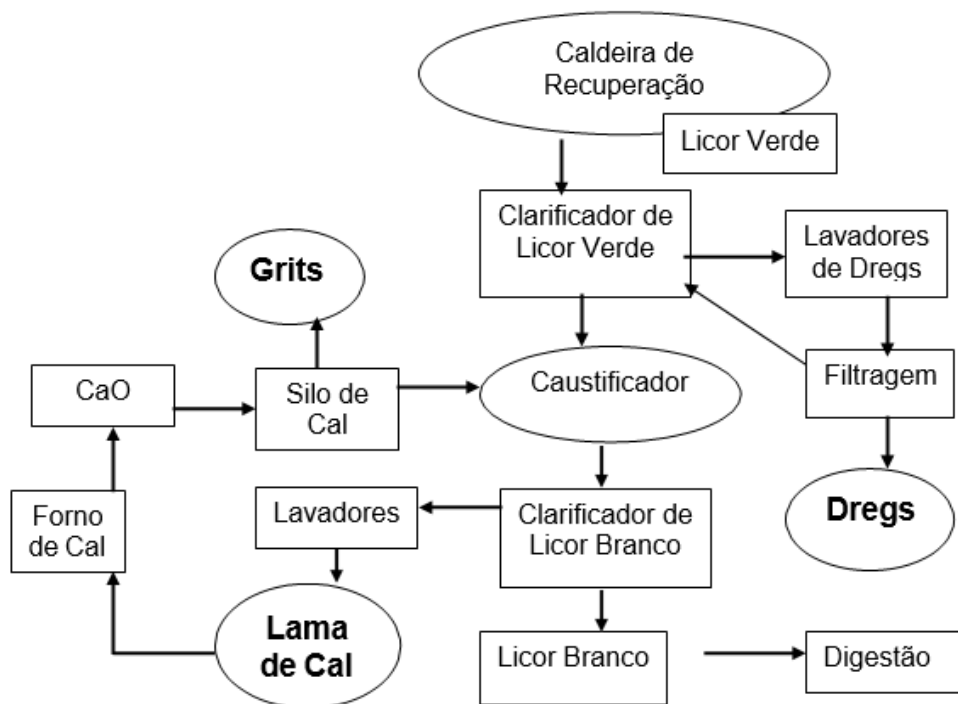
os compostos inorgânicos formam os fundidos da caldeira e são extraídos como uma mistura de sais fundidos chamada de “smelt”;

f) caustificação: o “smelt” originado na caldeira é dissolvido em água, para produzir o chamado licor verde; os principais componentes do licor verde são  $\text{Na}_2\text{S}$  e  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , além de impurezas que necessitam ser removidas, gerando o resíduo denominado “dregs” (figura 4); o licor verde é clarificado e caustificado em uma reação química com cal hidratada ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ), que reagindo com o  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  recupera a soda ( $\text{NaOH}$ ) e gera  $\text{CaCO}_3$  na forma de lama de cal; a caustificação é representada pela reação:



O licor branco fortemente alcalino é então remetido para o digestor para novo ciclo de polpação.

Figura 4 - Fluxograma do ciclo de recuperação do licor e geração de resíduos sólidos.



Fonte: MALTZ et al., 1999.

### 2.3 Legislação dos resíduos *dregs*

Soluções para a correta destinação final de resíduos sólidos *dregs* vem aumentando nos últimos tempos devido a contaminação ambiental e manejo inadequado de resíduos. O tratamento de resíduos é considerado uma das tecnologias mais seguras utilizando o confinamento de aterros (MALTZ, 2008). A primeira etapa para a destinação dos resíduos é a definição do seu destino, posteriormente é necessário averiguar se o resíduo pode causar algum dano ambiental, é neste sentido que a legislação trabalha.

Atualmente, não existe uma legislação específica para a utilização de resíduos *dregs* na produção agrícola e florestal, porém o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA, permite a produção de insumos agrícolas a partir de matérias primas de origem agrícola e industrial desde que o produtor tenha autorização para exercer tal atividade e siga as normas de uso, conforme disposto na Instrução Normativa - IN do MAPA Nº6 de 2016 e no Decreto Nº 8.384 de 2014.

Para fazer o uso de um resíduo industrial como corretivo de solo é preciso ter o registro e uso autorizado pelo MAPA, respeitando os parâmetros de qualidade referentes à presença de contaminantes e à garantia do benefício agrônômico. Segundo o Decreto Nº 8.384 de 2014 art, 2º, parágrafo IV, corretivo é o produto de natureza inorgânica ou orgânica, usado para melhorar as propriedades físicas, químicas e biológicas do solo, não tendo em conta seu valor como fertilizante, além de não produzir característica prejudicial ao solo e aos vegetais.

Os corretivos de solo, independentemente da origem, devem respeitar os limites máximos de Cd e Pb, estabelecidos pela IN da Secretaria de Defesa Agropecuária - SDA, Nº 24 de 2006. A mesma norma deve ser respeitada para os fertilizantes minerais, considerando-se limites máximos para os metais (As, Cd, Pb, Cr, Hg). No caso do uso como fertilizantes orgânicos e condicionantes de solo devem respeitar os limites máximos de metais pesados (As, Cd, Pb, Cr, Hg, Ni e Se) e organismos patogênicos, estabelecido pela IN SDA Nº 7 de 2016 (SILVA, 2010).

No Brasil, a Deliberação CONAMA Nº 375 de 2006, define os critérios e procedimentos, como limites de aplicação e monitoramento dos locais de aplicação, do uso agrícola de lodos de esgotos gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados, porém esta norma não se aplica aos resíduos de origem industrial. A aplicação agrícola de resíduos industriais é usualmente tratada com a mesma norma desenvolvida para lodo de esgoto urbano.

O Decreto 99.274, de 6 de junho de 1990, no seu Artigo 34, Inciso III, se previa multa por ação em desacordo com o que fosse estabelecido em lei, como se pode ler na transcrição deste dispositivo feita a seguir:

“Art. 34 - Serão impostas multas diárias de 61,70 a 6.170 Bônus do Tesouro Nacional - BTN, proporcionalmente à degradação ambiental causada, nas seguintes infrações:

.....

III - emitir ou despejar efluentes ou resíduos sólidos, líquidos ou gasosos causadores de degradação ambiental, em desacordo com o estabelecido em resolução ou licença especial;” (BRASIL, op.cit.)

A gestão dos resíduos sólidos, que envolve todo o processo desde a sua geração, manuseio, transporte, disposição final, manutenção, segundo o **Conama – Conselho Nacional do Meio Ambiente**, órgão consultivo e legislativo do Sistema Nacional do Meio Ambiente, instituído através da Política Nacional do Meio Ambiente criada através da Lei 6938/1981 (BRASIL, 1981), através da Resolução Conama nº 237 de 1997 (BRASIL, 1997), artigo 2º, passou a ser atividade passível de licenciamento ambiental.

Em 1998 com a promulgação da Lei nº 9.605, conhecida como Lei de Crimes Ambientais (BRASIL, 1998), ficou estabelecido que o lançamento de resíduos sólidos em desacordo com o que estiver previsto em lei e regulamentos caracteriza-se como crime ambiental com pena prevista de 1 a 5 anos, como consta no Inciso V, Parágrafo 2º, do seu Artigo nº 54. Na Resolução Conama nº 307/2002 (BRASIL, 2002), mais especificamente no seu Artigo 2º, Inciso V, lê-se que o **gerenciamento de resíduos** é:

“o sistema de gestão que visa reduzir, reutilizar ou reciclar resíduos, incluindo planejamento, responsabilidades, práticas, procedimentos e recursos para desenvolver e implementar as ações necessárias ao cumprimento das etapas previstas em programas e planos.” (BRASIL. Resolução Conama nº 307/02).

Na mesma Resolução 307/2002, o Conama define formas de ação na gestão de resíduos como a reutilização (Inciso VI) que vem a ser “o processo de reaplicação de um resíduo, sem transformação do mesmo”; como a reciclagem, está um “processo de reaproveitamento de um resíduo, após ter sido submetido a transformação.”

No mesmo dispositivo legal, o Conama define ainda, no Inciso VIII, beneficiamento, como

sendo “o ato de submeter um resíduo a operações ou processos que tenham por objetivo dotá-los de condições que permitam que sejam utilizados como matéria-prima ou produto.” Ainda em 2002, o Conama, através da sua Resolução nº 313 (BRASIL, 2002b), institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos - PNRS, instrumento que se justificava pois, havia ausência de informações precisas sobre a quantidade, os tipos e os destinos dos resíduos sólidos gerados no parque industrial do país, os resíduos podem apresentar características prejudiciais à saúde humana e ao meio ambiente, os volumes dos resíduos tem geração crescente nos cenários onde são gerados e a também crescentes áreas que ocupam no meio ambiente.

Através da PNRS, o Conama instituiu o Inventário Nacional de Resíduos Sólidos que deveria ser conduzido pelos órgãos ambientais estaduais e encaminhado ao IBAMA em dois anos e, posteriormente, atualizado na mesma frequência, isto é, em 24 meses. O Inventário Nacional de Resíduos Sólidos, de acordo com o previsto no Inciso II do Art. 2º (BRASIL, op.cit.), “é o conjunto de informações sobre a geração, características, armazenamento, transporte, tratamento, reutilização, reciclagem, recuperação e disposição final dos resíduos sólidos gerados pelas indústrias do país.”

No art. 29 da Resolução Conama nº357 de 2005 (BRASIL, 2005), lê-se que:

“A disposição de efluentes no solo, mesmo tratados, não poderá causar poluição ou contaminação das águas.”

A legislação brasileira exige das empresas que o gerem uma clareza nas informações sobre a natureza, qualidade e quantidade dos mesmos, para o devido licenciamento de suas atividades e operações.

## 2.4 A destinação final de resíduos sólidos no Brasil

Resíduos sólidos industriais são considerados os resíduos em estado sólido e semi-sólido que resultam da atividade industrial, incluindo-se todos os materiais orgânicos e inorgânicos gerados em equipamentos ou em processos de controle de poluição ou descartes e perdas diretas no processo produtivo. No Brasil, da mesma forma que em outros países do mundo, as definições em relação ao tratamento dos resíduos industriais têm como base a classificação de resíduos, que procura estabelecer parâmetros para definição dos procedimentos e medidas de proteção necessárias para o manuseio, acondicionamento, armazenagem, coleta, transporte e disposição final (MATTIAZZO; ANDRADE, 2000).

A ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas) elaborou um conjunto de normas com o objetivo de padronizar nacionalmente a classificação de resíduos. A norma NBR 10.004 “Resíduos Sólidos Classificação” é a base do sistema e classifica os resíduos quanto aos seus riscos potenciais ao meio ambiente e à saúde pública, indicando quais os resíduos que devem ter manuseio e destinação mais rigidamente controlados (Mattiazzo & Andrade, 2000). A classificação proposta por esta norma é fundamentada nas características dos resíduos reconhecidamente perigosos e de padrões de concentração de poluentes e em alguns testes e ensaios de apoio. De acordo com a norma NBR 10.004 (ABNT, 1987), os resíduos são agrupados em três classes:

### a) Resíduos Classe I – Perigosos

Agrupam os resíduos sólidos ou mistura de resíduos que, em função de suas características de inflamabilidade, corrosividade, reatividade, patogenicidade e toxicidade, podem apresentar riscos à saúde pública.

### b) Resíduos Classe II – Não Inertes

São os resíduos sólidos ou mistura de resíduos que não se enquadram na Classe I – perigosos ou Classe III – inertes, podendo ter propriedades como combustibilidade, biodegradabilidade ou solubilidade em água. Agrupa a maioria dos resíduos existentes e, principalmente, aqueles que podem ter o solo como destinação final.

### c) Resíduos Classe III – Inertes

Abriga os resíduos que, submetidos ao ensaio de solubilização (NBR 10.006), não tenham nenhum de seus compostos solubilizados em concentrações superiores aos padrões definidos



(ABNT, 1987). Esta classificação agrega, numa mesma classe, resíduos com características distintas, que podem proporcionar diferentes reações quando sofrem algum tipo de manejo.

As alternativas mais correntes de disposição final de resíduos sólidos, particularmente os industriais, têm sido as seguintes:

- a) destruição térmica: incineração ou co-processamento;
- b) aterros industriais – resíduos classe I e classe II;
- c) reciclagem;
- d) utilização ou descarte em solos agrícolas ou de floresta.

Os autores Mattiazzo e Glória (2000) consideram que a classificação de um resíduo em classe I ou classe II não inviabiliza o seu uso agrícola, uma vez que os testes realizados para a sua classificação consideraram apenas a característica de solubilidade em água ou ácido de elementos presentes no resíduo.

## 2.5 Biomonitoramento e bioensaios

A necessidade de levantamento de dados sobre os resíduos ambientais para assegurar a qualidade e saúde ambiental, são de suma importância. O conhecimento sobre os efeitos que eles podem ter nos organismos vivos contribuem em estudos com intuito de diminuir os danos (ANDRADE-VIEIRA, 2012). Esse contexto em explicar os efeitos tóxicos de determinado complexo químico, ou de uma substância simples qualquer através de bioensaios em modelos biológicos tem sido apontada como excelente ferramenta para complementar os dados físico-químicos conhecidos dos compostos (BADERNA et al. 2011).

Os bioensaios são considerados a melhor forma de analisar as respostas a uma exposição tóxica. O uso de parâmetros biológicos para medir a qualidade do ambiente se baseia nas respostas dos organismos em relação ao meio em que vivem. Bioensaios são testes feitos em laboratórios que determinam o grau ou o efeito biológico de uma substância desconhecida ou de uma substância-teste. O teste é feito através de uma comparação experimental do efeito da substância testada com efeitos causados por uma substância conhecida em um organismos-teste. Esses bioensaios se diferem quanto ao tempo de exposição do organismo-teste ao agente ou substância a ser testada. A definição de biomonitoramento mais aceita é o uso sistemático das respostas de organismos vivos para avaliar as mudanças ocorridas no ambiente, geralmente causadas por ações antropogênicas. Algumas espécies podem ser utilizadas para indicar certas condições ambientais, essa prática tem sido verificada com frequência ao longo da história (BUSS; BATISTA; NESSIMIAN, 2003).

A utilização de respostas dos organismos é a base dos índices biológicos. Bioindicadores são espécies escolhidas por sua sensibilidade ou tolerância a vários parâmetros, como poluição orgânica ou outros tipos de poluentes. O termo "resposta biológica" se refere ao conjunto de reações de um indivíduo ou uma comunidade em relação a um estímulo ou a um conjunto de estímulos, ou seja, processos que induzem uma reação do indivíduo que possa ser percebida e medida na população ou na comunidade. Os indicadores biológicos são muito úteis por sua especificidade em relação a certos tipos de impacto, já que inúmeras espécies são comprovadamente sensíveis a diferentes tipos de poluentes (ANDRADE-VIEIRA, 2012). As avaliações ecotoxicológicas que objetivam estudar a ação biológica de compostos químicos são realizadas por meio de bioensaios *in situ* ou *ex situ*, com uso de diferentes organismos-teste. Os bioensaios permitem avaliar o potencial tóxico do agente poluidor, em diferentes aspectos e níveis de organização, tais como: fisiologia, anatomia, propriedades da célula e DNA. Essas

avaliações são de suma importância quando se trata de análises dos riscos de *dregs* em ecossistemas (BADERNA et al. 2011).

## **2.7 Potencial ecotoxicológico dos resíduos sólidos de papel e celulose (*dregs*)**

Várias são as alternativas para a avaliação do risco da utilização do *dregs* em solos. Neste contexto, destacam-se trabalhos que estudam organismos capazes de reduzir as incertezas de riscos ecológicos. A ciência que estuda esses efeitos, chama-se ecotoxicologia, ela proporciona obter análises sobre as causas tóxicas das substâncias em organismos vivos e as características de seu desenvolvimento utilizando-se ensaios laboratoriais. A ecotoxicologia deve ser tratada como multidisciplinar, unindo a ecologia e a toxicologia com a química, farmacologia e epidemiologia, com a compreensão das origens e destinos dos produtos químicos no ambiente e suas interações com os organismos vivos (BIANCHI, 2013).

Com a utilização de ensaios, é possível conhecer as consequências da liberação de resíduos no solo e compreender as substâncias químicas nocivas a sistemas vivos e como os efeitos se manifestam. Os *dregs* necessitam de um descarte adequado, pois transportados em local indevido podem ser prejudiciais ao meio (CARVALHO; PIVOTO, 2011). Devido a essa preocupação, foram elaborados trabalhos como o de Biasi (2017), que avaliaram o potencial ecotoxicológico da adição de resíduos industriais de papel e celulose (*dregs*) em solos de Santa Catarina. No trabalho foram analisadas as concentrações de resíduos de indústria de papel e celulose (*dregs*) em dois solos (Cambissolo Háplico distrófico e Neossolo Quartzarênicos Órtico típico).

A deposição de quantidades excessivas de *dregs* afeta negativamente a qualidade dos solos, percebida pela alta toxicidade nas plantas quando submetidas em concentrações elevadas do resíduo, bem como as características específicas de cada solo influenciam nos efeitos deletérios que o resíduo pode causar aos ecossistemas terrestres. Tais análises reforçam a necessidade da avaliação dos possíveis efeitos desses resíduos em nível celular em organismos vivos. O mais preocupante é a aplicação desses resíduos na agricultura visto que muitas vezes são comercializados para a correção da acidez do solo ou como fonte de micro e macronutrientes para as plantas. O aproveitamento desses resíduos na agricultura depende de suas características químicas relacionadas aos processos industriais de produção e aos atributos do solo, como pH, quantidade de argila, teores de C orgânico e CTC, entre outros (BIASI, 2017).

## 2.8 Modelo biológico *Lactuca sativa* L. em análises de citogenotoxicidade

Plantas superiores são reconhecidas como excelentes modelos genéticos para detectar mutágenos ambientais e são frequentemente utilizadas em estudos de monitoramento (Leme & Marín-Morales, 2009). Diferentes espécies de plantas, incluindo *L. sativa*, têm sido utilizadas para avaliar danos ao DNA, como aberrações cromossômicas e distúrbios no ciclo mitótico.

De acordo com Monteiro et al. (2012), as plantas constituem um dos sistemas ideais para a indicação dos efeitos genotóxicos de misturas complexas proporcionando vantagens únicas no monitoramento *in situ* e na detecção de danos genéticos resultantes da exposição a produtos químicos em seu ambiente. O sistema de teste usando plantas possui muitas vantagens, sendo uma das principais o seu baixo custo, as plantas por serem eucariotos apresentam mecanismos que processam moléculas complexas, tendo boa correlação com outros organismos modelos.

A alface (*L. sativa*) é uma eudicotiledônea pertencente à família Asteraceae, é um modelo vegetal geralmente utilizado em análises macroscópicas dos efeitos tóxicos de compostos químicos e resíduos ambientais. A eficiência na utilização da *L. sativa*, para avaliar a genotoxicidade de compostos, vem sendo comprovada em grupos de pesquisa que começaram a utilizar a avaliação do ciclo celular e de suas alterações para complementar a análise de germinação e crescimento da plântula, tanto em estudos sobre a alelopatia como em estudos envolvendo resíduos industriais. Essa espécie está entre os organismos-teste mais utilizados para avaliar a fitotoxicidade e a citogenotoxicidade de efluentes domésticos e industriais (MONTEIRO, et al. 2012).

No trabalho de Brito et. al (2010), os autores observaram técnicas de filtração lenta seguida de fotocatalise heterogênea no tratamento de chorume proveniente de aterro sanitário. Neste trabalho foram utilizados ensaios toxicológicos usando como organismos testes a *L. sativa*. Com os resultados obtidos pôde-se comprovar que o chorume tratado por processo de filtração lenta seguido de fotocatalise heterogênea apresentou melhora significativa na germinação da espécie, podendo concluir que esse organismo-teste apresenta um ótimo desempenho quando se trata de análises em laboratórios de diversas substâncias.

Diversos autores utilizaram a alface como organismo teste para a avaliação de citogenotoxicidade, como por exemplo Rodrigues et. al (2013), analisaram a influência espacial e temporal da fitotoxicidade e da citogenotoxicidade da água e do sedimento de córrego urbano

quanto às características germinativas e de crescimento inicial e alterações no ciclo celular de *L. sativa*. Constataram-se reduções na taxa de germinação e produção de biomassa além da redução do índice mitótico (proliferação celular) devido à presença de cádmio e chumbo nas amostras de água e sedimentos.

Outros trabalhos evidenciam a eficiência do emprego da espécie *L. sativa* L. como organismo-teste para avaliar a fitotoxicidade de composto atrazina, um herbicida do grupo das triazinas utilizada no controle de ervas daninhas e outras culturas (MACENA et al. 2017). A partir de análises de germinação de sementes, foi observado o potencial fitotóxico do herbicida sobre a germinação das sementes da alface. Estudos que abordam o potencial citogenotóxico dos resíduos *dregs* oriundos da indústria de papel e celulose são inexistentes na literatura, evidenciando a necessidade desse tipo de estudo.

## 2.9 Citometria de fluxo

A citometria de fluxo foi desenvolvida no final dos anos 50, o principal intuito era a contagem e análise de células sanguíneas. A hematologia e a imunologia celular foram as duas áreas da Biologia que impulsionaram o desenvolvimento da tecnologia da citometria de fluxo (CÔRTE-REAL et al. 2002). A citometria de fluxo é uma técnica que envolve a análise das propriedades ópticas (dispersão da luz e fluorescência) de partículas que permanecem em uma suspensão líquida. A citometria de fluxo tornou-se uma ferramenta poderosa para o estudo de genomas vegetais e apresenta aplicações que envolvem a investigação básica até à indústria (OLIVEIRA, 2015)

Várias aplicações da citometria de fluxo estão concretizadas em plantas, como a determinação da quantidade de DNA, tamanho de genoma, determinação de ploidia e estudos envolvendo híbridos. Essa técnica permite análises com muita rapidez e grande número de amostras e garante que as partículas analisadas sejam lidas aleatoriamente(OLIVEIRA, 2015).

As partículas a serem analisadas contêm a suspensão líquida com um fluorocromo e submetida a um aparelho denominado citômetro de fluxo, onde nela tem um líquido com o nome de "*sheath fluid*". Essa substância apresenta uma velocidade de fluidez maior que a suspensão líquida, logo ocorre o fenômeno físico denominado focagem hidrodinâmica, as partículas se movem uma a uma no centro do fluxo. No momento em que as partículas movem-se uma a uma elas formam um feixe de luz e a dispersão de luz ou intensidade de fluorescência de cada partícula é captada por receptores. Os fótons dispersos frontalmente são analisados por uma detector de dispersão frontal (FSC) e os que são dispersos ortogonalmente (90°) são analisados pelos detectores de dispersão SSC (CÔRTE-REAL et al. 2002).

No trabalho de Oliveira (2015), a autora utilizou a técnica de citometria de fluxo em seu estudo, realizando análises de citogenotoxicidade em *A. cepa*, utilizando como agente mutagênico o cloreto de sódio. Os bulbos de *A. cepa* foram expostos em água destilada por um período mínimo de 24 horas e em seguida submetidos às concentrações de cloreto de sódio. Os parâmetros considerados na citometria de fluxo foram: intensidade de fluorescência, FSC (tamanho nuclear) e SSC (complexidade nuclear). Já na análise citogenética, os parâmetros avaliados foram índice mitótico (IM) e alterações cromossômicas. Foi realizado ensaio cometa nos tratamentos expostos por 24 horas para a averiguação de fragmentação do DNA. Células controle foram caracterizadas quanto ao tamanho nuclear, por meio de técnicas citogenéticas e pela citometria de fluxo. Houve redução no IM com o aumento da concentração e tempo de

exposição aos tratamentos. Da mesma forma, os resultados de citometria de fluxo indicaram uma diminuição gradual significativa no percentual de células em G1, S e S + G2. Nos tratamentos com índice mitótico próximo ou igual a zero foram observadas características de morte celular. Diante dos resultados, pode-se identificar que estes parâmetros de citometria de fluxo podem ser utilizados com segurança na avaliação de morte celular em *A. cepa*, considerando as características de condensação do núcleo e fragmentação do DNA.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Obtenção do resíduo sólido (*dregs*) e do bioindicador

Os resíduos (*dregs*) foram fornecidos por uma indústria de papel e celulose, localizada na Serra Catarinense. Os *dregs* foram coletados após a finalização do processo final Kraft e posteriormente armazenados em recipientes de vidro previamente higienizados e armazenados em temperatura ambiente. O resíduo proveniente da indústria de papelão foi coletado em montes destes depositados na própria indústria, essa coleta foi realizada conforme a NBR 10007 (ABNT, 2004a). Logo em seguida, o material foi transportado até o laboratório de Biologia Celular da Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC, Campus de Curitibanos, onde foi deixado em luz e temperatura ambiente até o momento do uso para não modificar sua composição e logo em seguida foi utilizado para as análises.

As sementes de *Lactuca sativa* (Carolus Linnaeus) alface-variedade *ELISA* foram adquiridas a partir de uma empresa responsável por vendas *online* de sementes orgânicas. (site:<https://www.agromania.com.br/semente-organica-de-alface-elisa-korin-005g>).

#### 3.2 Solubilização do resíduo sólido e preparo dos tratamentos

Para o preparo dos tratamentos, o resíduo sólido dos *dregs* foi solubilizado. Para isso, a solubilização foi realizada de acordo com os procedimentos da ABNT (2004a), no qual 250 g da amostra sólida foi solubilizada sob agitação em 1000 mL de água ultrapura (1:4) por sete dias à temperatura de  $23 \pm 2^\circ\text{C}$  (Neto et al. 2019). A partir da solução solubilizada inicial foram realizadas diluições em diferentes percentuais (tabela 1), para a obtenção dos tratamentos que foram utilizados nos bioensaios. Como controle negativo foi utilizada água ultrapura e controle positivo o Peróxido de Hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ).



Tabela 1 - Tratamentos, percentuais de diluição e concentrações do resíduo *dregs* obtidos a partir da solução solubilizada final utilizados nos bioensaios.

Tratamentos	Percentuais de diluição (%)	Concentrações finais equivalentes (g/L)
CN	0	Água ultrapura
CP	10	25 g/L
T1	25	50 g/L
T2	50	100 g/L
T3	75	150 g/L
T4	100	200 g/L

Fonte: Autora, 2022.

### 3.3 Bioensaios de fitotoxicidade em sementes de alface (*L. sativa*)

Para a avaliação dos efeitos fitotóxicos dos resíduos *dregs*, vinte sementes de alface foram colocadas em cada placa de Petri com duas folhas de papel *germitest*, umedecido com duas vezes e meia o volume do tratamento em relação à massa do papel, cada tratamento teve quatro repetições totalizando quatrocentas e oitenta sementes utilizadas e um total de seis tratamentos, incluindo o controle negativo e controle positivo. As placas foram mantidas em câmara climática do tipo BOD a 23±2°C por um período de 192 horas. Foram avaliados os seguintes parâmetros:

- Porcentagem de germinação.** Consistiu na contagem do número de sementes germinadas a cada 24 horas, sendo consideradas germinadas as sementes com protrusão da radícula.
- Índice de velocidade de germinação (IVG).** Foi calculado a partir da fórmula proposta por Maguire (1962):  $IVG = G1/N1 + G2/N2 + \dots + Gn/Nn$  onde G1, G2, Gn=número de sementes germinadas desde a primeira, segunda, até a última contagem.
- Tempo médio de germinação (t).** Foi calculado a partir da contagem diária de sementes germinadas, conforme a equação proposta por Maguire 1962:  $t = \sum ni / \sum Sni$  em que: ni=número de sementes germinadas por dia e ti=tempo de incubação em dias.
- Comprimento da radícula (CR), comprimento da parte aérea (CPA) e comprimento total da plântula (CT).** Foram medidas ao final das 192 horas, com o auxílio de um paquímetro.
- Peso médio de matéria fresca das plântulas (PMF)-** Foi obtida a média do peso fresco

das subamostras expresso em gramas.

- f) **Peso médio da matéria seca das plântulas (PMS).** Foi determinado o peso médio das subamostras após a secagem das plântulas em estufa à 70°C por 12 horas.

### 3.4 Bioensaios de citogenotoxicidade em alface (*L. sativa*)

Para a avaliação dos efeitos citogenotóxicos dos resíduos *dregs*, vinte sementes de alface foram colocadas em placas de Petri com duas folhas de papel germtest umedecido com duas vezes e meia o volume de água ultrapura em relação à massa do papel. Após 24 horas, as radículas foram expostas aos diferentes tratamentos por 48 horas. Foram utilizadas quatro placas/tratamentos, totalizando vinte e quatro tratamentos estatísticos. As placas foram mantidas em câmara climática do tipo BOD a 24°C. Após o tempo de exposição aos tratamentos, as radículas foram coletadas, imediatamente fixadas em solução de etanol: ácido acético (3:1) e armazenadas a 4°C por, no mínimo, 24 horas.

#### 3.4.1 Montagem e análise das lâminas

Para o preparo das lâminas, as radículas foram maceradas enzimaticamente em Pectinase/Celulase a 37°C por 60 minutos. As lâminas foram montadas por meio da técnica de dissociação celular (Carvalho- Saraiva, 1993) sendo coradas com corante Giemsa 5%. Foram preparadas três lâminas por placa (repetição), totalizando doze lâminas/tratamento.

As análises das lâminas foram realizadas em microscópio de luz de campo claro Olympus CX-31, na objetiva de 40X. Foram contabilizadas 500 células/lâminas, totalizando 10.000 células/tratamento. Foram considerados dois parâmetros: o Índice Mitótico (IM) e o Índice de Alterações Cromossômicas (IAC).

Para a avaliação dos efeitos citogenotóxicos, o IAC foi calculado pela média da razão entre o número de alterações cromossômicas observadas (C-metáfases, aderências cromossômicas, anáfases multipolares, pontes cromossômicas, poliploidia, quebras e perdas cromossômicas e micronúcleos nas diferentes fases da mitose) e o número total de células analisadas multiplicado por 100.

Imagens representativas das diferentes fases do ciclo celular e das alterações cromossômicas foram digitalizadas no microscópio de epifluorescência Olympus BX-53 acoplado com câmera digital Olympus DP73.

### 3.5 Citometria de fluxo

Para cada tratamento investigado por citometria de fluxo foram utilizadas sementes de alface (*Lactuca sativa*). Primeiramente, as sementes de alface foram colocadas para germinar em câmara BOD, foram colocadas vinte sementes em cada placa de Petri. Quando as radículas atingiram aproximadamente 2 a 3 cm, os meristemas de cada amostra foram selecionados. Foram coletados vinte meristemas de cada placa, sendo estas utilizadas para o preparo de uma amostra. Ou seja, para cada amostra de citometria foram avaliadas vinte raízes provenientes das sementes de alface (*Lactuca sativa*) foram selecionadas as cinco melhores raízes que tiveram um meristema bem desenvolvido. Destas cinco, foram selecionadas as três melhores, montando assim a placa e analisadas três amostras por tratamento (delineamento inteiramente ao acaso composto por três repetições).

As suspensões nucleares foram obtidas segundo o método descrito por Galbraith et al.,(1983). Resumidamente, os vinte meristemas de cada amostra foram seccionados, com o auxílio de uma lâmina, em uma placa de Petri contendo 1mL do tampão de lise LB01, sobre o gelo. Após o isolamento dos núcleos, a suspensão nuclear foi filtrada por uma rede de nylon com cerca de 45µm, de forma a eliminar a maior parte dos resíduos obtidos. Esta suspensão foi então corada com 50µL de iodeto de propídeo (1mg/mL) e analisada no citômetro de fluxo BD FACSCanto II.

As análises citométricas foram realizadas no Laboratório de Genética da Universidade Federal de Juiz de Fora- MG.

#### 3.5.1 Caracterização das células meristemáticas de *L. sativa* por citometria de fluxo

Foi analisado os mesmos tratamentos dos experimentos anteriores. Nesta análise, foram considerados os seguintes parâmetros:

- ✓ G1 é a fase da intérfase na qual os núcleos possuem conteúdo 2C de DNA;
- ✓ S é a fase de síntese do DNA;
- ✓ G2 é a fase que os núcleos possuem conteúdo 4C (dobro da quantidade de DNA presente na célula diplóide original (2C), sendo o intervalo antes e depois da produção do material genético. O intervalo G2 ocorre após a duplicação do DNA e antes da divisão celular. Assim como em G1, ocorre síntese de proteínas e de moléculas que participarão da divisão, além de um crescimento adicional. A fase G1 e G2 apresentam pontos de checagem, feitos por moléculas de controle, ocorre a verificação do que foi

produzido na célula. Se, por exemplo, o DNA apresentar algum dano ou erro, o ciclo celular age para corrigir o problema ou ocorre a morte celular.

- ✓ Sub-G1 são partículas com quantidade de DNA inferior a 2C (da quantidade de DNA presente na célula diplóide original);
- ✓ FSC é a dispersão da luz frontal; SSC é a granulosidade e/ou densidade celular/nuclear; IFa é a intensidade de fluorescência dos núcleos em G1. O FSC dos núcleos analisados foi determinado por comparação com *beads* (CaliBRITE Beads, Becton Dickinson, tamanho de 6 $\mu$ M).
- ✓ CV é o desvio padrão dividido pela média.

### 3.6 Análise estatística

Os dados foram avaliados inicialmente quanto à normalidade e homogeneidade das variâncias (teste de Shapiro-wilk e Bartlett, respectivamente), e posteriormente pela análise de variância (ANOVA) e pelo teste de Dunnett ( $p < 0,05$ ) para verificar a existência de diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do software de criação de planilhas e análise de dados (Microsoft Excel) e usando o programa R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2014).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Bioensaios de fitotoxicidade em sementes de alface (*L. sativa*)

Análises com bioensaios de fitotoxicidade são importantes ferramentas no estudo da relação entre os seres vivos e os componentes químicos do meio ambiente em que estão inseridos. A caracterização de um composto tóxico e a compreensão de sua ação nos sistemas orgânicos é de extrema importância para estudos de poluição ambiental (NOLDIN et al., 2003). De acordo com Beckett e Davis (1977) o termo fitotoxicidade está normalmente associado ao fenômeno de acumulação, nos tecidos das plantas, de substâncias potencialmente nocivas, em níveis que podem afetar o seu crescimento e desenvolvimento.

O descarte inadequado de resíduos industriais como *dregs*, pode influenciar na contaminação de solos, contribuindo para o aumento da poluição ambiental, comprometendo a saúde de humanos e animais que entram em contato com esses dejetos. Desta forma, faz-se necessário uma avaliação minuciosa dos tipos de rejeitos que são descartados, para determinar as concentrações destes possíveis agentes poluidores incorporados ao solo. Devido a esses eventos, existem parâmetros de técnicas laboratoriais que são utilizados para a verificação de possíveis efeitos tóxicos nas plantas modelos, podendo ser a taxa de germinação de sementes ou crescimento de raízes e a inibição ou crescimento acelerado do comprimento médio das raízes como foi analisado no capítulo de bioensaios de fitotoxicidade e também alterações citotóxicas que avaliam as alterações celulares conforme foi avaliado neste capítulo (BIANCHI et al., 2016).

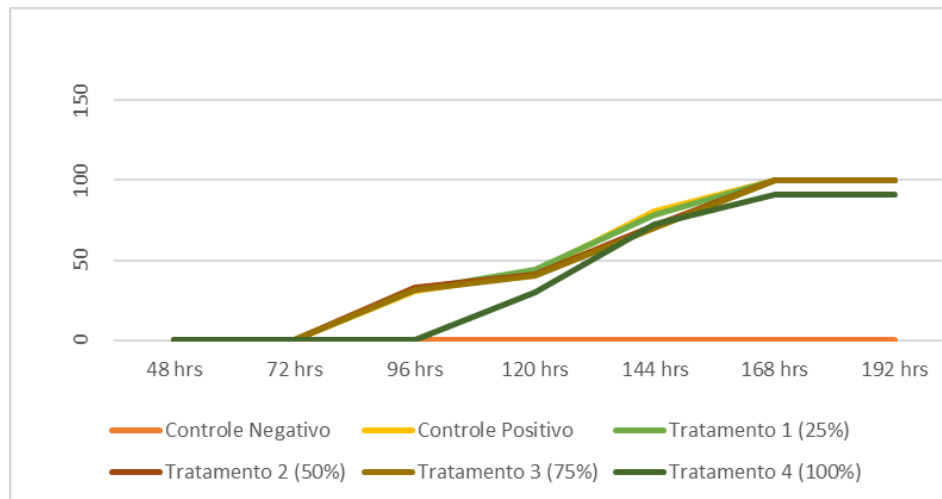
Geralmente os bioensaios tem como principal objetivo relatar e identificar se agentes específicos podem afetar ou não características fisiológicas e moleculares do organismo exposto a tais agentes. Quando esses compostos causam danos ao DNA, podem apresentar um potencial genotóxico nas células, tornando-se uma estratégia de avaliação de risco ao ambiente (SILVA et al., 2003).

Essas avaliações tornam-se interessantes pois, se mostram vantajosas devido a sua sensibilidade a diversos compostos químicos, tais como amostras de solo e substâncias orgânicas. Outra vantagem dessa técnica é que pode ser apresentada sensibilidade para mutagenicidade dos organismos (NOLDIN et al., 2003). Esse método foi escolhido devido a sua facilidade de armazenamento e manipulação das plantas, metodologias relativamente simples e com custos baixos.

A exposição de sementes de *L. sativa* aos diferentes tratamentos possibilitou a observação de diferentes respostas. No controle negativo (água ultrapura) ocorreu a germinação

normalmente. Entretanto, a germinação de sementes no controle positivo, com concentrações de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) apresentou taxas de germinação superiores aos demais tratamentos (tratamento 1: 25% de *dregs*, tratamento 2: 50% de *dregs*, tratamento 3: 75% de *dregs*, tratamento 4: 100% de *dregs*). A porcentagem de germinação das sementes dos tratamentos 1 (25% de *dregs*) e 2 (50% de *dregs*) foram maiores quando comparadas aos tratamentos 3 (75% de *dregs*) e 4 (100% de *dregs*). Foram analisadas os percentuais médios do crescimento radicular após os sete tempos de exposição, 48, 72, 96, 120, 144, 168 e 192 horas (Figura 5).

Figura 5- Linhas representando o percentual de germinação do crescimento radicular dos seis tratamentos. Eixo Y representa o tamanho em milímetros e o eixo X o tempo em horas.



Fonte: A autora, 2022.

Pode-se observar que no controle negativo (tratamento com água ultrapura) as sementes de *Lactuca sativa* não germinaram. Acredita-se que não se desenvolveram por algum fator externo/ambientais como temperatura ambiente desfavorável ao processo de germinação ou devido a características do lote de sementes.

Já no controle positivo ( $H_2O_2$ , concentração 10%) foi observada a germinação de sementes. De acordo com Oliveira (2019), em trabalho realizado com sementes de soja (*Glycine max*), o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ , concentração 10%) elevou a taxa fotossintética e a condutância estomática. No mesmo trabalho, o autor analisou que a germinação das sementes de soja sob estresse osmótico induzido por PEG e NaCl foi controlada pelo pré-tratamento de semente com  $H_2O_2$  ou água, dessa forma, em alguns casos o  $H_2O_2$  pode induzir a germinação

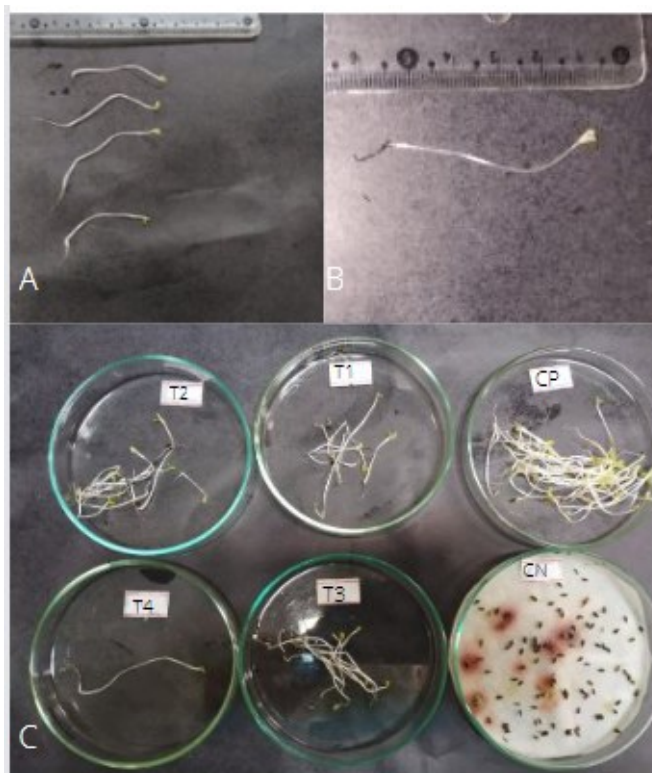
de sementes, não sendo um bom controle positivo para bioensaios de fitotoxicidade.

No tratamento 1 (25 % de *dregs*), iniciou a germinação após as sementes permanecerem 72 horas de exposição ao resíduo, foi observado que 40% das sementes germinaram, valor superior ao observado no controle negativo (sementes expostas à água ultrapura) que foi de 20%. Pode-se observar o ocorrido devido à exposição ao resíduo *dregs*. No tratamento 2 (50% de *dregs*) obteve-se similaridade ao resultado encontrado no tratamento 1 (25% de *dregs*), ocorrendo também a germinação das sementes. Desta forma, pôde-se verificar que os efeitos dos *dregs* causados nas sementes de alface com concentrações de 25 e 50% de resíduo foram semelhantes.

Analisando o tratamento 3 (75% de *dregs*), o percentual de germinação foi de 18%, sendo menor que os tratamentos 1 (25% de *dregs*) e 2 (50% de *dregs*). Isso ocorreu devido à maior concentração do resíduo em relação aos tratamentos anteriores. No tratamento 4 (100 % de *dregs*), foi observado 3 % de germinação, sendo o menor percentual. Além disso, pode-se observar que as plântulas apresentaram um desenvolvimento inferior, originando plântulas com coloração amarelada, crescimento radicular pouco expressivo e tamanho radícula inferior conforme mostrado na figura 6.

Segundo Pálacio (2012), as sementes de alface mostram-se capazes de desenvolver-se em meio potencialmente tóxico, entretanto apresentaram efeitos letais (inibição da germinação) e sub-letais (inibição do desenvolvimento das raízes e das radículas). De acordo com PELEGRINI et al. (2009), as sementes de alface constituem excelentes organismos para bioensaios de toxicidade de efluentes tratados pelos mais diversos processos pois, apresentam alta sensibilidade ao estresse químico, bem como rápidas germinação e reidratação, garantindo a reprodutibilidade do ensaio. No presente trabalho os resultados mostraram que nenhum dos tratamentos estimulou significativamente o alongamento das raízes, embora tenha sido observado um alto percentual de germinação nas sementes submetidas ao peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) no controle positivo.

Figura 6 - Sementes de *Lactuca Sativa* L. germinadas após a exposição dos tratamentos. T1- Tratamento 1 (25 % de *dregs*), T2 - Tratamento 2 (50% de *dregs*), T3- Tratamento 3 (50% de *dregs*), T4- Tratamento 4 (100% de *dregs*), CN- Controle negativo (exposição água ultrapura), CP- Controle positivo (exposição a Peróxido de Hidrogênio H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).



Fonte: A autora, 2022.

Sementes submetidas ao controle positivo (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), apresentaram maior velocidade e potencial de germinação em relação aos demais tratamentos conforme é observado na tabela 2. Para uma observação completa, o período de análise da germinação das sementes foi de oito dias.



Tabela 2 - Efeito das diferentes concentrações de *dregs* aplicados em sementes de *Lactuca sativa* L. após 192 horas. Sendo eles: índice de velocidade de germinação (IVG), potencial de germinação (PG). \* significa o controle negativo, onde não houve germinação. Valores na coluna representam a média  $\pm$  erro padrão. Médias seguidas de letras diferentes na mesma condição de estresse indicam que houve diferença significativa, pelo teste de Tukey, a 5% ( $p \leq 0,05$ )

Tratamento	PG	IGV
Controle Negativo	*	*
Controle Positivo	13,97 a	9,81 a
Tratamento 1 (25%)	10,86 b	7,63 b
Tratamento 2 (50%)	10,10 b	6,78 b
Tratamento 3 (75%)	9,01 c	4,09 c
Tratamento 4 (100%)	6,06 c	3,06 c

Fonte: A autora, 2022.

Diferentemente dos resultados obtidos por Ribeiro (2012), as radículas das plântulas de alface não apresentaram necrose ou oxidação com a adição das substâncias testadas. Já no trabalho de Vareschi Recio et al (2019), foi possível verificar uma possível inibição na germinação de sementes de *Lactuca sativa* L. quanto maiores as concentrações de lixiviado de aterro industrial, menor o índice de germinação. Resultados semelhantes foram encontrados no presente trabalho conforme demonstra a tabela 3.

Tabela 3 - Percentual do índice de germinação em relação ao tempo de exposição ao resíduo *dregs* e controles.

Tratamento	48hrs	72 hrs	96 hrs	120 hrs	144 hrs	168 hrs	192 hrs
CN	0	0	0	0	0	0	0
CP	0	20,40 %	30,4 %	42,3 %	80,2 %	100 %	100 %
T1	0	21,30 %	31,4 %	44,2 %	78,3 %	100 %	100 %
T2	0	23,10 %	32,6 %	41,2 %	71,3 %	100 %	100 %
T3	0	21%	31,5 %	40,3 %	70,1 %	100 %	100 %
T4	0	0	0	30,1 %	72,3 %	91,3 %	91 %

Fonte: A autora, 2022.

Houve incremento de massa seca de raízes em concentrações de *dregs* de 25% e 50%, respectivamente, comparado ao 75% e 100% (tabela 3) que obteve um crescimento radicular inferior. Todavia, com o aumento das concentrações do resíduo (50% e 100%) ocorreu a redução no crescimento e, conseqüentemente, diminuição do acúmulo de massa seca de raízes e de hipocótilos conforme demonstra tabela 4.

Tabela 4 - Médias de comprimento total das plântulas, peso total massa fresca e peso total massa seca.

Tratamento	Comprimento total da plântula (CT) (cm)	Peso total massa fresca (PMF) (gramas)	Peso total massa seca (PMS)
CN	0	0	0
CP	4,1 a	1,2 a	0,9 a
T1	3,8 b	1,1 a	0,9 a
T2	3,9 c	1,2 a	0,9 a
T3	3,1 c	1,0 c	0,5 b
T5	2,9 d	0,8 d	0,4 c

Fonte: Autora, 2022

Legenda: CN (controle negativo); CP (controle positivo); T1 (tratamento 1); T2 (tratamento 2); T3 (tratamento 3); T4 (tratamento 4). Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem significativamente entre si pelo Teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Foi observado que o comprimento das raízes de plântulas oriundas de sementes submetidas a concentrações mais elevadas do resíduo, foi menor em comparação às concentrações mais baixas de *dregs*. O acúmulo de massa seca das raízes e do hipocótilo foi maior nas plântulas com concentrações menores. As concentrações maiores de *dregs* (tratamento 3 - 50% e 4 -100%) resultaram em menor acúmulo de massa seca e menor crescimento.

## 4.2 Análises para a avaliação da citogenotoxicidade

Existem diversos testes para verificar o potencial tóxico de uma determinada substância, podendo utilizar agentes biológicos como organismos-testes que indicam possíveis danos como morte e alteração celular (MORAES, 2012). As análises para a avaliação da citogenotoxicidade do resíduo avaliam o Índice Mitótico (IM), que tem sido usado como parâmetro para avaliar a citotoxicidade de diversos agentes para análises microscópicas. Esse é utilizado como indicador de uma proliferação celular adequada, o aumento ou diminuição desse parâmetro, representa indícios de efeitos citotóxicos. Os níveis de citotoxicidade podem ser determinados pelo aumento ou pela redução neste índice (LEME & MORALES, 2009).

Pode-se observar que houve redução do Índice Mitótico que comprova o efeito citotóxico (RIBEIRO, et al, 2018). Os resultados demonstraram uma redução do Índice Mitótico quando comparado ao controle negativo, independente da concentração utilizada, na qual a maior concentração de *dregs* apresentou o menor índice. O presente estudo mostrou que os resíduos *dregs* inibiu a germinação e o crescimento médio das raízes do modelo *L. sativa*. Foi possível analisar o índice de células em divisão, índice mitótico, índice de células com anormalidade e o índice total de células (tabela 5).

Tabela 5 - Índices celulares

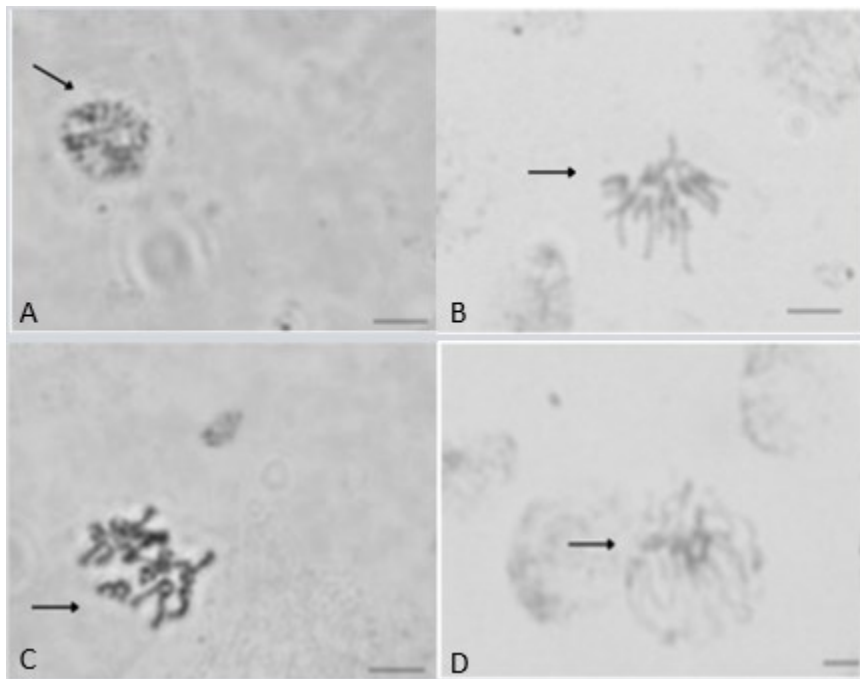
Controles e Tratamentos	Índice total de células	Índice de células em divisão	Índice Mitótico	Índice de anormalidades
CN	4,04	5,60	0,81	0,05
CP	2,11	2,31	0,60	4,40
T1	2,37	2,91	0,52	3,49
T2	2,62	2,91	0,49	3,93
T3	1,95	1,90	0,32	4,10
T4	1,90	0,90	0,23	5,20

Fonte: Autora, 2022

Legenda: CN (controle negativo); CP (controle positivo); T1 (tratamento 1); T2 (tratamento 2); T3 (tratamento 3); T4 (tratamento 4). Valores obtidos na avaliação das lâminas de cada tratamento. Percentual de cada índice em cada coluna. Médias foram submetidas a análises estatísticas pelo teste de Dunnett.

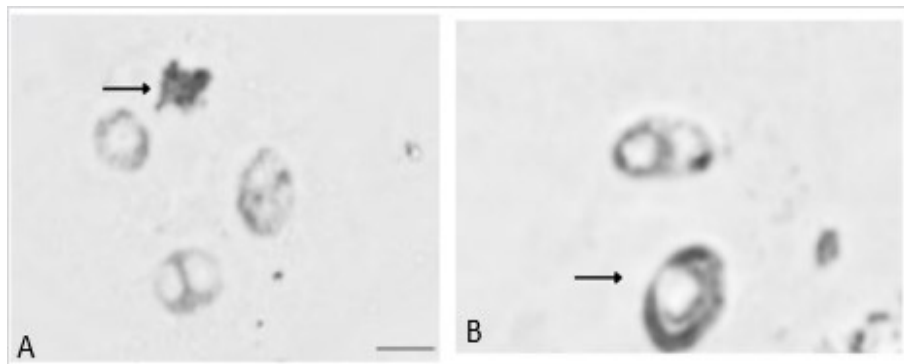
As anormalidades cromossômicas são caracterizadas por modificações estruturais ou numéricas dos cromossomos que podem ocorrer como resultado da exposição à substância química (figura 7). Essas aberrações podem ser observadas pela quebra, inibição da síntese ou replicação do DNA (RIBEIRO, et al, 2018).

Figura 7-Células meristemáticas de *L. sativa* submetidas ao Controle Negativo (água ultrapura). A- Intérfase; B- Prófase; C- Metáfase; D- Anáfase. Barra = 10µm.



Fonte: Autora, 2022.

Figura 8 - Células meristemáticas de *L. sativa* submetidas ao Controle Positivo (Peróxido de Hidrogênio -H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) A- *Stckinees* cromossômico; B- Vacuolização. Barra = 10µm.



Fonte: Autora, 2022.

Figura 9 - Células meristemáticas de *L. sativa* submetidas ao Tratamento 1 (25% de *dregs*).

A- Interfase com descondensação; B- Metáfase com fuso normal; C- Metáfase com migração cromossômica precoce; D- Metáfase com alteração na condensação. Barra = 10 $\mu$ m.

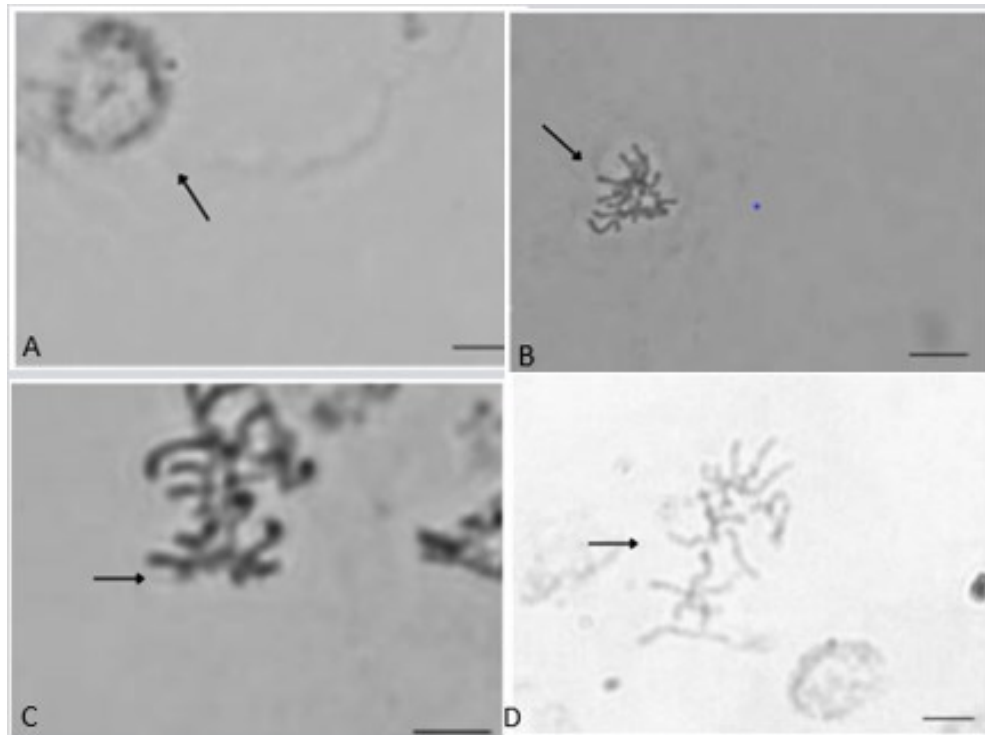


Figura 10- Células meristemáticas de *L. sativa* submetidas ao Tratamento 2 (50% de *dregs*).

A- Prófase anormal; B- Anáfase com pontes cromossômicas. Barra = 10 $\mu$ m.

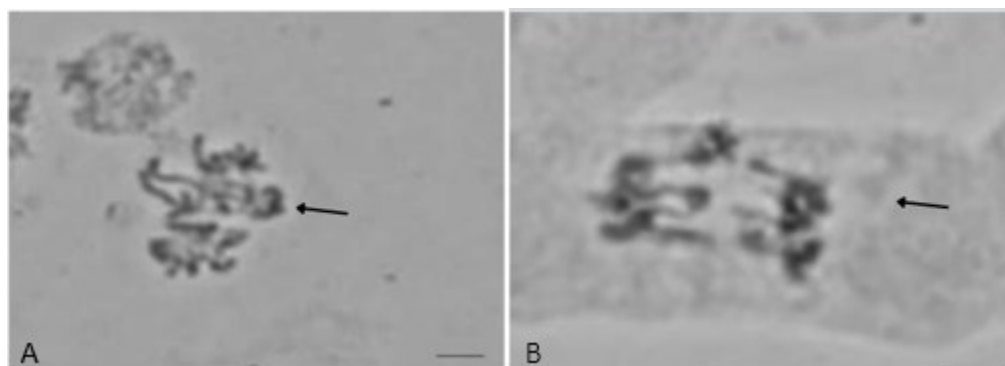


Figura 11- Células meristemáticas de *L. sativa* submetidas ao Tratamento 3 (75% de *dregs*). A- Prófase com descondensação; B- Metáfase com cromossomo desordenado; C- Anáfase com ponte e fragmento cromossômico; D- Anáfase com fragmento. Barra = 10 $\mu$ m.

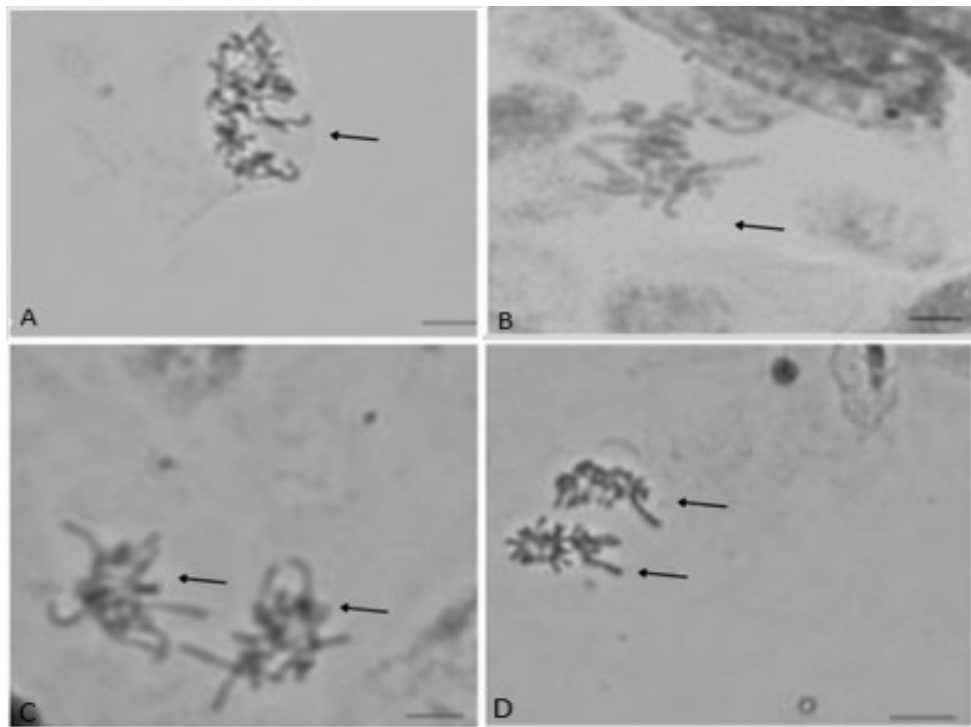
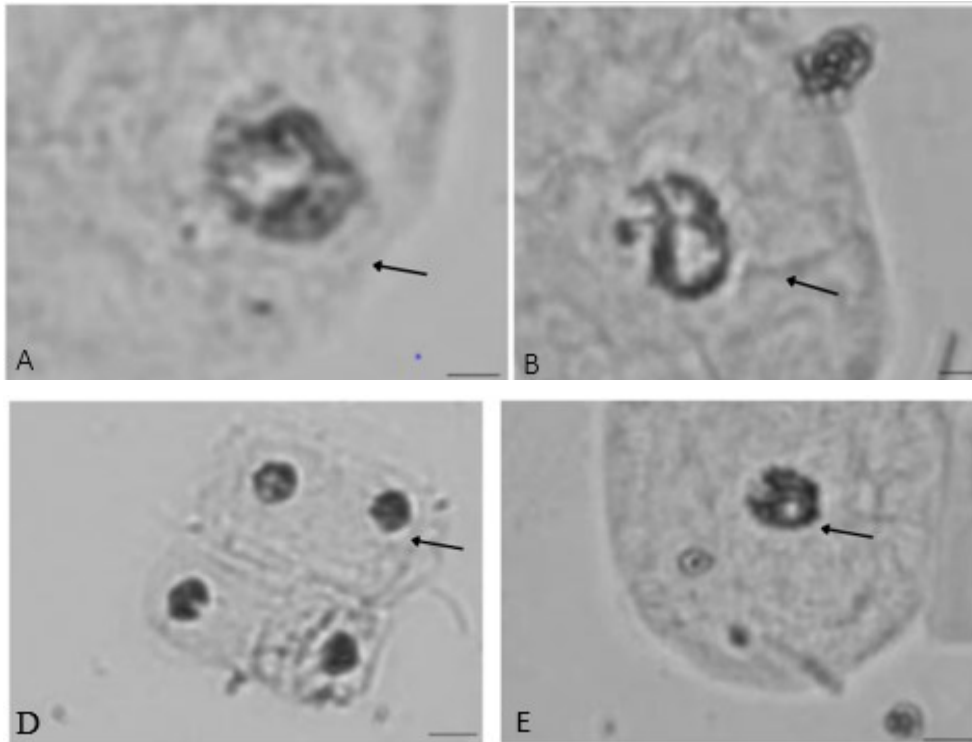


Figura 12 - Células meristemáticas de *L. sativa* submetidas ao Tratamento 4 (100% de *dregs*).



Fonte: Autora, 2022.

Legenda: A e B- Morte celular com vacuolização; D- Morte celular com núcleo heteroploide; E- Vacuolização. Barra = 10µm.

No controle negativo (exposição a água ultrapura), as células apresentaram um ciclo celular normal, sem alterações cromossômicas. Foi observado que 5% das células estavam em processo de morte celular, quantidade baixa considerada normal no momento de divisão celular. Já no controle positivo onde o organismo-teste foi submetido a Peróxido de Hidrogênio ( $H_2O_2$ ), houve alterações cromossômicas, pôde-se observar metáfases com aderências cromossômicas “stickiness” e morte celular. Essa substância provoca alterações cromossômicas.

Alterações cromossômicas foram observadas no tratamento 1 (25% de *dregs*). Foi observado metáfases com aderências cromossômicas “stickiness”, anáfase com fragmentos cromossômicos, metáfase com fuso anormal e vários cromossomos perdidos. Observou-se que o resíduo *dregs* causou alterações cromossômicas nas células mesmo em concentrações mais baixas do resíduo. No tratamento 2, foram avaliadas células normais, mas também observou-se células anormais como prófase anormal, cromossomos perdidos e, anáfase com ponte.

Como no tratamento 3, encontrou-se células com desenvolvimento normal e várias células anormais, pôde-se observar maior quantidade de anormalidades que os tratamentos anteriores. Foram observadas anormalidades como cromossomos desordenados, prófase anormal, metáfase com migração precoce, fuso tripolar e anáfase com anormalidade de pontes.

Já no tratamento 4, a quantidade de células normais encontradas foi menor em relação aos tratamentos anteriores (T1-25%, T2-50%, T3-75% e T4-100%). Nesta análise, obteve-se muitas células anormais, observou-se somente neste tratamento a presença de núcleos interfásicos vacuolizados, característicos de processo de morte celular. Foram observadas células em morte celular com núcleo heteropicnótico, levando à diminuição do volume nuclear.

A morte celular pode indicar que ocorreu a remoção de células desnecessárias ou prejudicadas e também é uma resposta a uma lesão irreversível ou um grave dano (Ribeiro et al, 2018). Verificou-se que conforme ocorre o aumento de concentrações de *dregs* no organismo-teste (alface), maiores os percentuais de morte celular, consequentemente maior danos nas células.



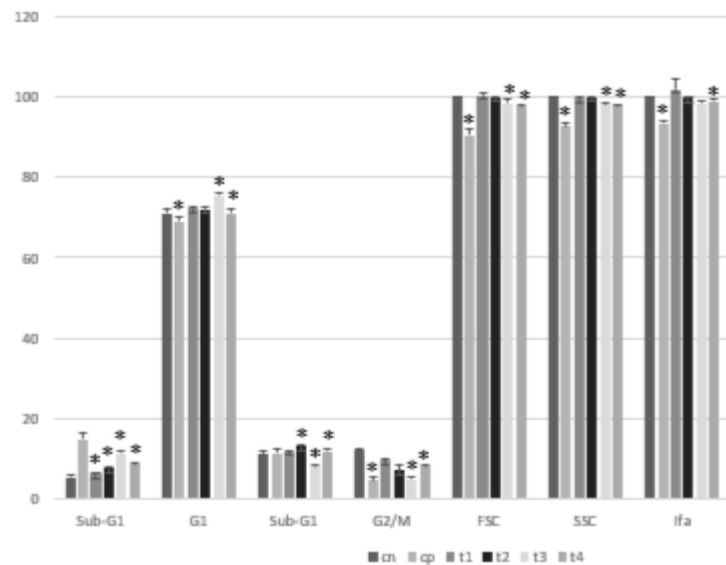
Em síntese, as características observadas em relação à exposição ao resíduo *dregs* às células meristemáticas de alface foram a morte celular, vacuolização nuclear, núcleos heteropicnóticos, condensação nuclear, *sticknees* cromossômico, anáfase com ponte, cromossomos desordenados, prófase anormal, metáfase com cromossomos perdidos e fuso tripolar. Sendo assim, tais alterações indicam que o resíduo *dregs*, em diferentes concentrações, apresentam efeitos clastogênicos e aneugênicos, induzindo quebras cromossômicas e alterações no fuso mitótico.

### 4.3 Análise por citometria de fluxo

A citometria de fluxo é uma ferramenta útil em estudos do ciclo celular, permitindo a análise de parâmetros como: diâmetro nuclear; sub-partículas G1; FSC que é a dispersão da luz frontal; SSC é a granulosidade e/ou densidade celular/nuclear; IFa é a intensidade de fluorescência dos núcleos em G1. A caracterização das células meristemáticas por citometria de fluxo, permitiu estimar o diâmetro dos núcleos em diferentes fases do ciclo celular (LEME et al., 2012).

Neste estudo, foi possível observar que quanto maior o contato do organismo-teste com concentrações altas de *dregs*, maiores foram as alterações em nível celular. Encontrou-se partículas na fase Sub-G1 confirmando a presença de quebras cromossômicas nas células submetidas a concentrações altas do resíduo observado nas análises citogenéticas. Na figura 8 são apresentados os percentuais de células nas diferentes fases do ciclo celular e de subpartículas-G1 após exposição a diferentes concentrações de *dregs* (0, 25, 50, 75 e 100%).

Figura 8 – Médias que representam as variações da citometria de fluxo.



Fonte: Autora, 2022.

Legenda: Valores na coluna representam a média  $\pm$  desvio padrão. Médias seguidas de letras diferentes na mesma condição de estresse indicam que houve diferença significativa, pelo teste de dunnet, a 5% ( $p \leq 0,05$ ).

Dados resultantes da análise de Citometria de fluxo. CN- Controle negativo (água ultrapura); CP- Controle positivo ( $H_2O_2$ ); T1 - Tratamento 25% *dregs*; T2 - Tratamento 50% *dregs*; T3- Tratamento 75% *dregs*; T4- Tratamento 100% *dregs*.

Para todos os tratamentos, obteve-se o valor de  $p < 0,05$  indicando que houve diferença significativa entre os tratamentos. Pode-se verificar que a partir da concentração de 25% de *dregs* houve uma redução significativa nos percentuais de células que estavam entrando em divisão, indicado pelos núcleos em S e G2 ou pelo somatório (S+G2). O percentual de sub-G1 reduz significativamente a partir do tratamento 2 (50% *dregs*) em 5,43%. De modo geral, este efeito é observado à medida que se aumenta a concentração de *dregs* aplicado ao organismo-teste, ocorrendo assim a redução de células entrando em divisão e aumento de sub-G1. Foi possível verificar semelhança entre os diferentes testes, quanto maior a concentração de resíduo nas sementes de alface, menor o percentual de germinação, maior o índice de anormalidade cromossômica e diminuição no percentual de células em divisão.

O tratamento 3 (75%) e tratamento 4 (100%) o resíduo induziu uma queda significativa no percentual de núcleos na fase S, já nos tratamentos 1 (25%) e tratamento 2 (50%) obteve-se um aumento. O tratamento controle positivo ( $H_2O_2$ ) apresentou em média um alto percentual de sub-G1 e baixo percentual de células entrando em divisão (S + G2). Percebe-se uma queda nas frequências de núcleos na fase S e G2 a partir da concentração de 50%. Já o controle negativo (água ultrapura) resultou em baixos valores das subpartículas-G1, indicando quebras cromossômicas e aumento dos núcleos entrando divisão (S e G2). No tratamento 4 (100 % *dregs*), foi possível visualizar uma redução no tamanho nuclear.

Foi possível visualizar que as células expostas a concentrações superiores a 50% (tabela 6) do resíduo apresentaram maior frequência de células na fase Sub-G1 (partículas de DNA, inferiores a 2C), indicando a presença de quebras cromossômicas evidenciando as análises citogenéticas.

Tabela 6 - Comparação do Controle Negativo (água ultrapura) com o Controle Positivo (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e os demais tratamentos nos parâmetros avaliados pela técnica de citometria de fluxo.

Tratamentos	Sub-G1	G1	S	G2/M	FSC	SSC	Ifa	CV
CN x CP	9,40	2,08	0,03	14*	9,64	7,32	6,58	3,490
CN x T1	0,70	1,13	0,58	4*	0,35	0,47	1,72	0,49
CN x T2	2,27	0,79	1,87	8*	0,16	0,20	0,48	0,61
CN x T3	5,92	4,43	3,21	13,73*	1,73	1,69	1,77	1,27
CN x T4	8,33	4,79	3,91	20*	2,76	2,88	2,88	1,57

**Fonte:** A autora, 2022.

Legenda: Parâmetros analisados na citometria de fluxo. O símbolo de asterisco representa valores que não passaram nas premissas da ANOVA (homogeneidade das variâncias no teste de Bartlett). Dessa forma, foi rodado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis seguido do teste de comparações múltiplas de Dunn.

O princípio do método de citometria de fluxo se baseia na detecção da dispersão da luz ou fluorescência de partículas que fluem numa suspensão líquida. Por analisar partículas suspensas, a técnica permite análises com muita rapidez e grande número amostral e garante que as partículas analisadas (núcleos ou organelas) sejam lidas aleatoriamente. Quando as partículas movem-se uma a uma elas interceptam um feixe de luz e a dispersão de luz ou intensidade de fluorescência de cada partícula é captada por receptores. Os fótons dispersos frontalmente são analisados por um detector da dispersão frontal (FSC) e os que são dispersos ortogonalmente (90°) são analisados pelos detectores de dispersão lateral (SSC) (Côrte-Real et al., 2002).

Em FSC (detector de dispersão da luz frontal), obteve um aumento nos tratamentos, o mesmo ocorreu em SSC (detector de dispersão lateral da luz). A análise por citometria de fluxo do conteúdo de DNA nuclear baseia-se na intensidade de fluorescência relativa de núcleos corados com um fluorocromo específico para o DNA, onde a intensidade de fluorescência é proporcional à quantidade de DNA, dessa forma pode concluir que quanto maior é exposição do organismo-teste no resíduo *dregs*, maior a quantidade de DNA esse organismo desenvolve.

No tratamento 4 (100% *dregs*), foi possível observar uma redução no tamanho nuclear, ou seja, quanto menor o tamanho nuclear, maior a intensidade nuclear e maior a intensidade de fluorescência emitida pelo núcleo, alterações nesses parâmetros são indicativos de ocorrência de morte celular. A morte celular ocasiona a diminuição do volume nuclear, heteropiconose (aumento na coloração e condensação), diminuindo seu diâmetro e

sua complexidade. Aumentos em porcentagens de partículas em Sub-G1 e no CV correlaciona-se com a presença de fragmentação do material genético evidenciando a presença de fragmentos nucleares com quantidades de DNA inferiores a 2C, aumentando assim, o coeficiente de variação (LEME et al., 2012).

Os parâmetros citogenéticos são eficazes quando se trata de avaliações de efeitos citotóxicos que substâncias causam em organismos, como neste presente estudo o resíduo utilizado foi o *dregs*. Porém, na literatura ainda não foram realizadas análises sobre o uso da citometria de fluxo para o resíduo *dregs* no organismo-teste *L. sativa*. Ainda é um aspecto pouco explorado, mesmo que a técnica já tenha sido utilizada em alguns trabalhos, atualmente a sua utilização ainda se encontra bastante restrita.

Alguns autores, como Andrade-Vieira et al. (2012) demonstraram o uso da citometria na avaliação de resíduos. Estes autores avaliaram os efeitos de um resíduo sólido, gerado na fabricação do alumínio, sobre células meristemáticas de *A. cepa*, usando a citometria de fluxo para avaliar o efeito sobre o ciclo celular.

Mesmo com estudos sobre a técnica de citometria de fluxo, os dados ainda são incipientes na pesquisa com plantas. Portanto, o aprofundamento dessa abordagem representa a introdução de uma ferramenta rápida e confiável na detecção de irregularidades cromossômicas e de ciclo celular no ensaio de *L. sativa*, além de contribuir na elucidação dos mecanismos de morte celular associados à exposição a substâncias biológicas ou agentes físico-químicos neste modelo de estudo.

Os dados apresentados no presente estudo são relevantes, pois trazem indicativos sobre a adequabilidade do destino que as empresas de papel e celulose enviam e incorporam em seus resíduos *dregs*. Algumas indústrias relatam que a utilização segura de resíduos sólidos como corretivo da acidez do solo ou fertilizante, deve ter caracterização adequada tanto dos aspectos físico quanto a influência de contaminantes ou compostos com efeitos negativos sobre determinadas características do solo e de corpos hídricos (PIRES; MARTINAZZO, 2008).

Sob o ponto de vista agrícola, existem algumas vantagens do uso de resíduos nos solos como por exemplo, o fornecimento de nutrientes neles contidos, benefícios ligados ao seu conteúdo orgânico, que eleva o teor de matéria orgânica do solo. Porém, geralmente os nutrientes presentes nos resíduos estão em proporções desbalanceadas para a nutrição vegetal, existem elementos ou substâncias potencialmente tóxicas, orgânicas ou inorgânicas, que estão presentes nos resíduos (PIRES; MARTINAZZO, 2008). Neste presente estudo, foi possível observar que os resíduos podem trazer danos às células das plantas, causando

anormalidades cromossômicas e alterações no material genético.

O trabalho de Paiva (2007), relatou que a construção civil é um dos setores com maior potencial para aproveitamento de resíduos industriais em função de características como: ampla atuação em todo território nacional; grande diversidade e quantidade de matérias-primas utilizadas; escassez de matérias-primas tradicionais; diferentes níveis tecnológicos para a produção de materiais; além do alto custo associado aos mesmos e crescimento urbano acelerado, com grande déficit habitacional.

Autores como Souza et al., (2001) citam que a compostagem também surge como destino para os resíduos, sendo a compostagem um processo biológico de transformação de resíduos orgânicos em substâncias húmicas. Em outras palavras, a partir da mistura de resíduos obtêm-se, no final do processo, um adubo orgânico homogêneo. Estes materiais residuais se tornam um inconveniente para as fábricas de papel e celulose, pois precisam ser destinados de forma correta e por isso o setor é constantemente associado a problemas ambientais, sociais e econômicos, uma vez que o manejo e a disposição incorreta dos mesmos podem comprometer a qualidade do ecossistema (PAIVA, 2007).

Para Foelkel (2008), os resíduos sólidos são matérias-primas perdidas por um processo produtivo, mas que podem vir a se tornar um material útil em outros processos. O autor verificou que os resíduos *dregs* podem ser uma forma de corretivo de solo e fertilizante agrícola. Os resultados encontrados pelo autor confirmaram o potencial de utilização como corretivos de acidez do solo e fertilizante agrícola, uma vez que os *dregs* possuem quantidades suficientes de compostos como cálcio, magnésio, enxofre, cobre, zinco e de matéria orgânica.

Já, os autores Medeiros et al. (2009), relataram que o uso resíduo *dregs* como corretivo de acidez de solo, pode ser tão vantajoso ou mais do que os corretivos convencionais, como o calcário. Os autores Lunardi Neto et al. (2008), avaliaram o efeito da aplicação de corretivos, da adubação e da revegetação nas propriedades físicas de um solo reconstruído após mineração a céu aberto. Marques et al. (2014), estudou a utilização dos resíduos *dregs* como agregados na produção de argamassa. Já Silva (2010), realizou uma pesquisa cujo o objetivo principal foi a avaliação em laboratório, das propriedades físicas e mecânicas de misturas constituídas de solo, cal e resíduos da fabricação de papel, incluindo-se os *dregs* visando a utilização na construção rodoviária

Torres (2016), estudou a viabilidade técnica da utilização dos *dregs* em proporções variadas como matéria prima, em substituição ao clínquer, na indústria de cimento. Todos

estes estudos apresentaram potencial para agregar valor ao resíduo *dregs*, favorecendo o seu gerenciamento e contribuindo com a conservação dos recursos naturais, em vista da redução da extração de novos recursos e das taxas de aterramento de forma a preservar grandes áreas, necessárias, para o funcionamento de um aterro industrial.

O autor Foelkel (2008), confirmou em sua pesquisa que os resíduos alcalinos como os *dregs* possuem capacidade de serem utilizados como corretivos de acidez de solo, substituindo o calcário, sendo que o uso combinado dos *dregs* proporcionando a neutralização da acidez do solo de forma mais rápida do que o calcário. De acordo com Lunardi Neto et al. (2008), o *dregs* difere-se do calcário, por ser composto principalmente por cálcio e em quantidades menores por magnésio e pode apresentar altas quantidades de sódio. Utiliza-se também como estabilizador de áreas degradadas, na aplicação em obras rodoviárias, utilização na indústria de cerâmica e de cimento e na utilização como agregados em argamassas.

Portanto, o uso dos resíduos alcalinos *dregs* da indústria de papel e celulose, como corretivo de acidez de solo, pode ser uma alternativa viável para minimizar as quantidades de resíduos a serem aterrados e aumentar a fertilidade do solo, desde que respeitada a frequência de aplicação e os limites para a relação Ca/Mg e para a quantidade de sódio adicionada ao solo. Além de conhecer muito bem a origem e as características dos resíduos e também estar ciente que estes resíduos, aplicados em quantidades altas, podem alterar o desenvolvimento celular em plantas, causando anormalidades cromossômicas, alterações genéticas e alterando seu crescimento.

Diante disso, o principal requisito que vai garantir o sucesso de um empreendimento que visa a agricultura como local de destinação é a fabricação de bons produtos e para uma segurança ambiental, deve ser considerado que essa destinação não é um local de descarte de resíduos e sim um potencial para agricultores, que procuram um resíduo de qualidade comprovada.

## 5 CONCLUSÃO

Foi possível verificar que houve sucesso na escolha do organismo-teste *L. sativa* (alface), o qual serviu como um organismo-teste adequado para estas análises, representando outras espécies de plantas que possam ser receptores ecológicos deste resíduo quando o mesmo for aplicado em solo.

Contudo, verificou-se que as análises de citogenotoxicidade apresentaram maior sensibilidade do que as análises de fitotoxicidade sendo consideradas biomarcadores de efeitos adversos em concentrações abaixo das que causam efeitos observáveis na população de plantas, podendo ter uma análise mais precisa. Observou-se que o resíduo *dregs* aplicado em determinadas concentrações, é um contaminante para o meio em que for inserido. A partir da observação dos efeitos citogenotóxicos pôde-se verificar que estes podem ter ocorrido devido a composição química que o *dregs* possui, porém, neste trabalho não foi possível realizar análises químicas do resíduo, não obteve-se permissão pela empresa que disponibilizou o resíduo.

Estes resultados corroboram com a hipótese que as anormalidades são uma resposta comum em plantas expostas ao resíduos *dregs* e nos fazem entender que esse resíduo age afetando o funcionamento do fuso mitótico podendo resultar no aparecimento de células com deformidades em seu desenvolvimento e processo de divisão celular. Verificou-se nas análises citogenotóxicas que conforme ocorre o aumento de concentrações de *dregs* no organismo-teste, maiores os percentuais de morte celular e maiores os danos nas células. Pode-se comparar esses resultados com a citometria de fluxo que representou uma ferramenta útil na avaliação de citogenotoxicidade no modelo de *L. sativa*.

Como recomendação para agricultores, pode-se avaliar que a aplicação do *dregs* em quantidades altas, pode modificar os atributos celulares das plantas, podendo ocasionar alterações celulares e causar anormalidades cromossômicas, diminuir a divisão celular como também reduzir o índice de germinação. Para cada lote de resíduo adquirido, deve-se realizar análises químicas, ter conhecimento da qualidade do resíduo, distribuir o mesmo em quantidades baixas a fim de evitar qualquer prejuízo e dano nas plantações futuras, bem como danificar e poluir o solo. Os resultados encontrados no presente trabalho indicaram que resíduo *dregs* causa anormalidades nas plantas e conseqüentemente pode prejudicar o solo que elas se encontram, a saúde humana e os animais que podem consumir alimentos contaminados ao entrar em contato com o resíduo.



## REFERÊNCIAS

ABNT. **NBR 10.004**: Resíduos Sólidos, classificação de resíduos. Rio de Janeiro. p.63. 1987.

ABNT. Associação brasileira de normas técnicas. **NBR 10005** : Procedimento para obtenção de extrato lixiviado de resíduos sólidos. Rio de Janeiro (Brasil): ABNT, 2004.

ABNT. Associação brasileira de normas técnicas. **NBR 10006** : Procedimento para obtenção de extrato solubilizado de resíduos sólidos. Rio de Janeiro (Brasil): ABNT, 2004.

ALMEIDA, H.C. Propriedades e atributos químicos de um de um cambissolo afetados pela adição de resíduo alcalino da indústria de papel e celulose (*Dregs*). **Dissertação de mestrado**. Universidade do Estado de Santa Catarina. Lages, SC. 2007. Disponível em: [https://www.udesc.br/arquivos/cav/id\\_cpmenu/1458/dissertacao\\_henrique\\_cesar\\_almeida\\_1568\\_8932451465\\_1458.pdf](https://www.udesc.br/arquivos/cav/id_cpmenu/1458/dissertacao_henrique_cesar_almeida_1568_8932451465_1458.pdf)> Acesso em 12 de dez de 2020.

ALMEIDA, H.C; ERNANI, P.R; MARIN, H.H; ESCAPINI, E.H; JUNIOR MECABÔ, J. Influência da adição de um resíduo industrial alcalino na velocidade de neutralização da acidez do solo, adsorção de sódio e disponibilidade de magnésio para o trigo. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v.6, n.2, p. 104-113, 2007. Disponível em: <file:/D:/usuario/Downloads/3%20Dregs%20corre%C3%A7%C3%A3o%20acid ez%20solo%205364-Full%20Manuscript%20(Mandatory)-14888-1-10-20140928.pdf> Acesso 01 dez de 2020.

ANDRADE-VIEIRA, L. F; CABRAL, G. B. C.; BOTELHO, B. A. E. Toxicity of Landfills Assessed by Plant Cytogenetic Approaches. (Org.). Landfills: Waste Management, **Regional Practices and Environmental Impact**. v. 1, p. 319-330. New York: Nova Publishers, 2012.

ANDRADE, L. F.; CAMPOS, J. M. S.; DAVIDE, L. C. Cytogenetic alterations induced by SPL (*spent potliners*) in meristematic cells of plant bioassays. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. San Diego, v. 71, n. 3, p. 706–710, 2008.

ANDRADE-VIEIRA, L. F.; CAMPOS, J. M. S.; DAVIDE, L. C. Effects of Spent Pot Liner on mitotic activity and nuclear DNA content in meristematic cells of *Allium cepa*. **Journal of Environmental Management**. Sint-Katelijne-Waver, v. 107, p. 140-146, 2012.

AQUINO, M. H. G; GUTIERREZ, R. H. Aspectos relevantes das normas de gestão ambiental e responsabilidade social para a tomada de decisão. **VIII Congresso Nacional de Excelência em Gestão**, Rio de Janeiro, 2012. Disponível em: <<https://www.inovarse.org/filebrowser/download/15826>> Acesso 22 de nov de 2020.

BADERNA, D. et al. A combined approach to investigate the toxicity of an industrial landfill's leachate: chemical analyses, risk assessment and *in vitro* assays. **Environ. Res. San Diego**, v. 111, n. 4, p. 603–613, 2011.

BANDARRA, B.S; GOMES, L.A; PEREIRA, J.L; GONÇALVES, F.J.M; MARTINS, R.M; QUINA, M.J.Characterization of Ecotoxicological Effects of Green Liquor Dregs from the Pulp and Paper Industry. **ACS Sustainable Chem**. Coimbra, Portugal.. 2019. Disponível em: <<file:///D:/usuario/Downloads/7%20Efeitos%20ecotoxicol%C3%B3gicos%20res%C3%ADuos%20dregs%20bandarra2019.pdf>> Acesso em 12 de dez de 2020.

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

BIANCHI, M. de O. Ensaio ecotoxicológicos como ferramenta para avaliação do impacto ambiental de resíduos de mineração sobre o solo. Tese (Doutorado em Ciência do solo) Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, 2013.

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

BIASI, J.P. Avaliação Ecotoxicológica da adição de resíduo industrial de papel e celulose (*dregs*) em solos de Santa Catarina. Dissertação. Universidade Federal de Santa Catarina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-graduação em Ciência do Solo. Lages, SC. p.140. 2017.

BRASIL 2006a Resolução 375 **CONAMA** 29 Aug 2006. Disponível em: <http://www.siam.mg.gov.br/sla/download.pdf?idNorma=5956>. Acesso: 15 de agosto de 2022.

BRASIL 2006b **Ministério da Agricultura**. Disponível em: file:///D:/usuario/Downloads/in-35-de-4-7-2006-corretivos.pdf. Acesso 15 de agosto de 2022.

BRASIL. **Resolução Conama** nº 313 de 29 de outubro de 2002. Dispõe sobre o Inventário Nacional de Resíduos Sólidos Industriais. Brasília, Conama, 2002.

BRANCO, S.B; Influência da adição de resíduo sólido alcalino da indústria de papel e celulose (*dregs*) nos atributos químicos do solo e na lixiviação de compostos fenólicos. **Dissertação**, Universidade do Estado de Santa Catarina. Lages, SC. 2011.

BRANCO, S.B; SILVEIRA, C.B; CAMPOS, M.L; GATIBONI, L.C; MIQUELUTTI, D.J. Atributos químicos do solo e lixiviação de compostos fenólicos após adição de resíduo sólido alcalino. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* v.17, n.5, p.543–550, 2013. Disponível em: <<https://www.scielo.br/pdf/rbeaa/v17n5/a12v17n5.pdf>> Acesso em 12 de dez de 2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: **Mapa/ACS**. 365p. 2014.

BRITO, N.N; BROTA, G.A; SANTOS, E.M; SILVA, N.B; PELEGRINI, R.T; PATERNIANI, J.E.S. Ensaio toxicológico com sementes para avaliação de tratamento do chorume por filtração lenta e fotocatalise. **Holos environment**. Campinas, SP.v 10. n 2. p.139. 2010.

BUSS, D.F; BATISTA, D.F. NESSIMIAN, J.L. Bases conceituais para a aplicação de biomonitoramento em programas de avaliação da qualidade da água de rios. Cad. Saúde Pública vol.19 n.2 Rio de Janeiro, 2003.

CARDOSO, S.C; ROSSI, A.A.B; PEDRIL, E.C.M; ROCHA, A.S; FAGUNDES, P.A.S. Avaliação do potencial citogenotóxico de *Zingiber officinale* Roscoe (gengibre), Zingiberaceae. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**. Viçosa, MG. v.24, n.1, p.1-13, 2019.

CARVALHO, N.L.; PIVOTO, T.S. Ecotoxicologia: conceitos, abrangência e importância agrônômica. **Revista eletrônica do PPGEAmb-CCR/UFSM**, Santa Maria, RS, v.2, n.2, p.176-192, 2011.

CARVALHO, C.R.; SARAIVA, L.S. An air drying technique for maize chromosomes without enzymatic maceration. **Biothecnic & Histochemistry** v.68, n.3, p. 142-145. 1993.

CÔRTE-REAL, M.; SANSONETTY, F.; LUDOVICO, P.; PRUDÊNCIO, C.; RODRIGUES, F.; FORTUNA, M.; SOUSA, M.; SILVA, M.; LEÃO, C. Contributos da citologia analítica para estudos de biologia de leveduras. **Boletim de Biotecnologia**, **71**: 19-33. 2002.

DUARTE, C.C. Reutilização do papel. **FAEMA**, Faculdade de educação e meio ambiente. Trabalho de conclusão de curso. Ariquemes, RO. 2017.

EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA. A indústria de papel e celulose no brasil e no mundo: Panorama geral, 2022. Disponível em: [https://www.epe.gov.br/sites-pt/publicacoesdados-abertos/publicacoes/PublicacoesArquivos/publicacao-650/Pulp%20and%20paper\\_EPE+IEA\\_Portugu%C3%AAs.pdf](https://www.epe.gov.br/sites-pt/publicacoesdados-abertos/publicacoes/PublicacoesArquivos/publicacao-650/Pulp%20and%20paper_EPE+IEA_Portugu%C3%AAs.pdf).

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. Online data FAOSTAT. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/data/FO> . Acesso em Setembro de 2022.

FOELKEL, C. Eucalyptus online book: Resíduos sólidos indústrias do processo de fabricação de celulose kraft. Parte 02: fatores de sucesso para seu gerenciamento. 2008.

FRITOLI, C.L.; KRUGER, E.; CARVALHO, S.K.P. História do papel: panorama evolutivo das técnicas de produção e implicações para sua preservação. **Revista RICI**. Brasília, v. 9, n. 2, p. 475- 502, 2016. Disponível em <https://brapci.inf.br/index.php/res/download/89291>

GIORGETTI, L.; TALOUIZTE, H.; MERZOUKI, M.; CALTAVUTURO, L.; GERI, C.; FRASSINETTI, S. Genotoxicity evaluation of effluents from textile industries of the region Fez-Boulmane, Morocco: A case study. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, n.74, p. 2275–2283, 2011.

GUAGLIANONI, L.Z; PIRES, E.C. Compostos organoclorados em em efluentes em indústria de papel e celulose degradam anaerobiamente? ABES - Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental.1998.

IBÁ. Indústria Brasileira de Árvores. cenários IBÁ. 2018. Disponível em <<http://iba.org/pt/dados-e-estatisticas/cenarios-iba> >

IBÁ – Indústria Brasileira de Árvores. Relatório Anual IBÁ 2021. Disponível em:<https://www.iba.org/publicacoes/relatorios>. Acesso em setembro de 2022. IBÁ, 2021.

IEA - International Energy Agency. Energy Technology Perspectives 2017. Disponível em: <https://www.iea.org/reports/energy-technology-perspectives-2022>. Acesso em setembro de 2022.

KLABIN PAINEL ASG. Empresa de celulose e papel. Gestão de resíduos. Disponível em: <<https://esg.klabin.com.br/gestao-de-residuos/>> Acesso: setembro, 2022.

KLOCK. U; ANDRADE, A.S; HERNANDEZ, J.A. Polpa e papel. Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias, Departamento de engenharia e tecnologia florestal. **3ª edição**. Curitiba, PR. 2013.

LEME, D.M.; GRUMMT, T.; HEINZE, R.; SEHR, A.; RENZ, S.; REINEL, S.; OLIVEIRA, D.P.; FERRAZ, E.R.A.; MARCHI, M.R.R.; MACHADO, M.C.; ZOCCOLO, G.J.; MARIN-MORALES, M.A. An overview of biodiesel soil pollution: Data based on cytotoxicity and genotoxicity assessments. **Journal of Hazardous Materials**, 199– 200: 343– 349. 2012.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A.. Chromosome aberration and micronucleus frequencies in *Allium cepa* cells exposed to petroleum polluted water - a case study. Mutation Research. **Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 650, p. 80-86, 2009.

LUNARDI NETO, A.; ALBUQUERQUE, J. A.; ALMEIDA, J. A.; MAFRA, A. L.; MEDEIROS, J. C. & ALBERTON, A. Atributos físicos do solo em área de mineração de carvão influenciados pela correção da acidez, adubação orgânica e revegetação. Revista Brasileira de Ciência do Solo. Viçosa, n. 32, p. 1379-1388, 2008.

MAEDA, S; BOGNOLA, A. Propriedades químicas de solo tratado com resíduos da indústria de celulose e papel. Embrapa florestas. Colombo, PR. 2013.

MACENA, D.A; DE AGOSTINI, E.A.T; COSTA, T.T; DE AGOSTINI, R.T. Teste de fitotoxicidade do composto Atrazina: Bioensaio utilizando como organismo-teste a *Latuca Sativa*. Universidade do Oeste Paulista. **UNOESTE**. Presidente Prudente, SP. v.9. p.07-13, 2017.

MAGUIRE. J.D.Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling and vigour. **Crop Science 2**: 176-177.1962.

MATTIAZZO, M. E.; ANDRADE, C.E. Aplicabilidade do biosólido em plantações florestais: IV. Lixiviação de N inorgânico e toxicidade de metais pesados. In: BETTIOL, W.; CAMARGO, O.A. **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto**. Jaguariúna: Embrapa. p. 203–208. 2000.

MATTIAZZO-PREZOTTO, M.E.; GLÒRIA, N. A. **LCE-502**: Uso de resíduos na agricultura. Piracicaba: ESALQ, p.35. 2000.

MALTZ,R.; TEIXEIRA, J.R.; MORAES, S.P. **Destinação final dos resíduos sólidos da Riocell S.A**. Guaíba: Vida Desenvolvimento Ecológico, 1999. 85 p.

MALTZ, R. **Comparação do uso agrícola dos resíduos da celulose e a legislação internacional**. 2008. Disponível em: <[http://www.celsofoelkel.com.br/artigos/outros/Comparacao\\_uso\\_agricola.pdf](http://www.celsofoelkel.com.br/artigos/outros/Comparacao_uso_agricola.pdf)>. Acesso: 15 de agosto de 2022.

MARQUES, M.L; SILVA, E.J; VELASCO, F.G; JUNIOR FORNARI, C.C.M. Potencialidades o uso de resíduos de celulose (dregs/grits) como agregado em argamassa. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.16, n.4, p.423-431, 2014. Disponível em: <file:///D:/usuario/Downloads/6%20potencial%20uso%20dregs%20Art16410.pdf>. Acesso 01 dez de 2020.

MAURO, M. O. et al. Evaluation of the antimutagenic activity and mode of action of the fructooligosaccharide inulin in the meristematic cells of *Allium cepa* culture. **Genetics and Molecular Research. Ribeirão Preto**, p. 4808-4819, 2014.

MEDEIROS, J. C.; ALBUQUERQUE, J. A.; MAFRA, A. L.; BATISTELLA, F.; GRAH, J. Calagem superficial com resíduo alcalino da indústria de papel e celulose em um solo altamente tamponado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 33, p. 1657-1665, 2009.

MELLO, G. Produção de celulose no Brasil cresce 3,8% em 2017 e atingiu volume recorde, diz Iba, 2018.

MODOLO, R. C. E. **Valorização de resíduos do sector de pasta e papel em produtos da construção civil**. Dissertação (Mestre em Gestão Ambiental e Valorização de Resíduos) – Departamento de Engenharia Civil, Universidade de Aveiro, Aveiro. Portugal. p.119, 2006.

MONTEIRO, C. et al. Cadmium-induced cyto-and genotoxicity are organ dependent in lettuce. **Chemical Research in Toxicology**. Washington, v. 25, n.7, p. 1423-1434, 2012

MORAES, S.C.G. Avaliação do tratamento de efluente de uma unidade de refino de petróleo por processo de oxidativos avançados utilizando redes neurais artificiais. **Dissertação (Mestrado em Engenharia Química)**. Pós-Graduação em Engenharia Química (PPEQ), Universidade Federal de Pernambuco, 2012.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa **Nº 6 de 14 de março de 2016**. Altera a Instrução Normativa nº 53 de 2013. Disponível em: <<https://www.legisweb.com.br/legislacao/?id=317445>>. Acesso em 15 de agosto de 2022.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa **Nº 7 de 12 de abril**

**de 2016.** Altera os Anexos IV e V da Instrução Normativa nº 27, de 5 de junho de 2006. Disponível em:

<[https://www.lex.com.br/legis\\_27129277\\_INSTRUCAO\\_NORMATIVA\\_N\\_7\\_DE\\_12\\_DE\\_ABRIL\\_DE\\_2016.aspx](https://www.lex.com.br/legis_27129277_INSTRUCAO_NORMATIVA_N_7_DE_12_DE_ABRIL_DE_2016.aspx)>. Acesso em 15 de agosto de 2022.

NOLDIN, V.F.; MONACHE, F.D.; YUNES, R.A. Composição química e atividade biológica de *Cynara scolymus* L. cultivada no Brasil. **Química Nova**, São Paulo. v.26, n.3, p.331-334, 2003.

NETO, A.J.Z; OLIVEIRA, M.G; SKORONSKI, E; ALVES, M.V. Characterization and evaluation of potential impacts in the environment of residual fiber from cellulose. **REGET**, Santa Maria v.23, Ed. Especial, e7, 2019.

**NBR 10004** Resíduos sólidos. Rio de Janeiro, 2004. 77 p.

**NBR 10005** Lixiviação de resíduos. Rio de Janeiro, 2004. 7 p.

**NBR 10006** Solubilização de resíduos. Rio de Janeiro, 2004. 7 p.

**NBR 10007** Amostragem de resíduos sólidos. Rio de Janeiro, 2004. 7 p.

OLIVEIRA, R. Pré- tratamento com Peróxido de Hidrogênio em sementes de soja conduz a tolerância ao estresse por déficit hídrico. **Dissertação**. UNESP. p.65. 2019.

OLIVEIRA, C.E. Citometria de fluxo como metodologia para análise de Citogenotoxicidade em *Allium cepa* L.: uma abordagem comparativa com a citogenética. Universidade Federal de Juiz de Fora. Programa de pós-graduação em Ciências Biológicas. **Dissertação**. Juiz de Fora, MG. 2015.

PALÁCIO, S. M., NOGUEIRA D. A., MANENTI, D. R., MÓDENES, A. N., QUIÑONES, F. R. E., BORBA, F. H. Estudo da toxicidade de efluente têxtil tratado por foto-fenton artificial utilizando as espécies de *Lactuca sativa* L. e *Artemia salina*. **ENGEVISTA**, v. 14, n. 2. p. 127-134, 2012.

PAIVA, S. N. Composto cimento-lodo de ETE de indústria de papel para aplicação na construção civil. 2007. 111 f. **Dissertação** - Curso de Recursos Florestais, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.



PELEGRINI, R.T.; BRITO-PELEGRINI, N.N. de; PATERNIANI, J.E.S.; BROTA, G.A.; SANTOS, E.M.; SILVA, N.B. Ensaio biológicos com sementes para avaliar a redução da toxicidade do chorume tratado por processo fotoquímico. **Minerva**. 2009. Disponível em: [http://www.fipai.org.br/Minerva%2006\(03\)%2001.pdf](http://www.fipai.org.br/Minerva%2006(03)%2001.pdf). Acesso junho de 2022.

PIRES, A. M. M.; MATTIAZZO, M. E. Avaliação da Viabilidade do Uso de Resíduos na Agricultura. Jaguariúna, SP: **Embrapa**, p. 9.2008.

POTTI, C.M; ESTRELA, C.C.Histórico ambiental: desastres ambientais e o despertar de um novo pensamento.**Estudos avançados**, 31 (89). Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Rio Grande do Sul. 2017. DOI: 10.1590/s0103-40142017.31890021

Disponível em: <<https://www.scielo.br/pdf/ea/v31n89/0103-4014-ea-31-89-0271.pdf>> Acesso 22 de nov de 2020.

QUINA, M. J; PINHEIRO, C. T. Inorganic Waste Generated in Kraft Pulp Mills: The Transition from Landfill to Industrial Applications. *Applied Sciences*, v. 10, n. 7, p. 2317, 2020. PII: app10072317. DOI: 10.3390/app10072317.

R Development Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna: **R Foundation for Statistical Computing**. 2014.

RIBEIRO, L.R; BELO, G.A; MONTEIRO, A.B. Avaliação da atividade citogenotóxica e antimutagênica do extrato aquoso de *Bidens pilosa*. Centro Universitário de Formiga- **UNIFOR**. Minas Gerais, MG. 2018.

RIBEIRO, O.L. et al. Fitotoxicidade de extratos foliares de barbatimão *Stryphnodendron Adstringens* (Mart.) Coville] em bioensaio com alface. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 10, n. 2, p. 220, 2012.

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

RIBEIRO, A. P. Avaliação do uso de resíduos sólidos inorgânicos da produção de celulose em materiais cerâmicos. **Tese de doutorado**, Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Metais, São Paulo, 2010.

RHYNER, C.R.; SCHWARTZ L.J; WENGER, R.B.; KOHRELL, M.G. **Waste mangement and resource recovery**. Green Bay: University of Wisconsin, p.524, 1995.

SCHNEIDER, A., GRA Sustentabilidade e Oportunidades para a Indústria de Papel na América Latina. **Revista FAE**, Curitiba, Edição Especial, v.1, p.47-59. 2016.

Disponível em: <file:///D:/Users/Usuario/Downloads/404-1079-1-SM.pdf> Acesso 24 de nov de 2020.

SILVA, J.; ERDTMANN, B.; HENRIQUES, J.A.P. Genética Toxicologia. **Alcance**.Porto Alegre, p. 422. 2003.

SILVA JR., W. S. Estudo para a utilização de resíduos da fabricação de papel na construção rodoviária. **Dissertação de Mestrado** (mestre em Ciências). **Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo**. p.210. 2010.

SILVA, V. G. Meio Ambiente, a urgência da proteção e da sustentabilidade. **Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento**. Ano 05, Ed. 03, Vol. 04, pp. 2020. Disponível em: <file:///D:/Users/Usuario/Downloads/Meio\_Ambiente\_a\_urgencia\_da\_protecao\_e\_da\_sustent a.p df>. Acesso 22 de nov de 2020.

SOUZA, V.G; MARTINS, J.N.M; PINTO, T.L.Q.R; FINK, A; NASCIMENTO, S.C. Panorama setorial: indústria de celulose, papel, embalagens e artefatos de papel. Federação das Indústrias do Estado do Paraná e Sindicato das Indústrias de Papel, Celulose e Pasta de Madeira para Papel, Papelão e de Artefatos de Papel e Papelão do Estado do Paraná. Curitiba: **FIEP**. p.236. 2016. Disponível em<[http://www.fiepr.org.br/para-sindicatos/estudos-economicos/uploadAddress/papel\\_digital\[75083\].pdf](http://www.fiepr.org.br/para-sindicatos/estudos-economicos/uploadAddress/papel_digital[75083].pdf)> Acesso em Agosto de 2022.

SOUZA, F. A.; AQUINO, A. M.; RICCI, M. S. F.; FEIDEN, A. Compostagem. **Seropédica RJ**: Embrapa, Rio de Janeiro, RJ. p.11, 2001.

TEIXEIRA, J.B. Utilização de resíduos sólidos alcalinos de indústrias de celulose na correção

da acidez do solo. **Dissertação (Mestrado)**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS. p.101. 2003.

TORRES, C. M. M. E. Incorporação de *dregs* e *grits* de fábricas de polpa celulósica kraft ao clínquer para a produção de cimento Portland. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal de Viçosa. p.108, 2016.

VARESCHI RECIO, .L; PEREIRA, R.N; ARANTES, E.J; GOMES, S.D; CASTRO, T.M. Fitotoxicidade em sementes de alface na codigestão anaeróbia de lixiviado de aterro industrial e glicerina. **Universidade Tecnológica Federal do Paraná**. Curitiba, PR. v.2, n.3, p.982-989.2019.

WALDEMAR, C.C; HERRERA, J. Avaliação do potencial de utilização do “*dregs*” e do “*grits*” como corretivo de acidez e fertilizante na agricultura. **Congresso anual da ABCP**, 19. n.19.1986. Disponível em [file:///D:/usuario/Downloads/1%20Uso%20dregs%2014\\_1986\\_dregs%20e%20grits%20corretivos%20acidez%20solos%20\(1\).pdf](file:///D:/usuario/Downloads/1%20Uso%20dregs%2014_1986_dregs%20e%20grits%20corretivos%20acidez%20solos%20(1).pdf). Acesso 01 dez de 2020.

YOUNG, B., J.; RIERA, N., I.; BEILY, M., E.; BRES, P. A.; CRESPO, D., C.; RONCO, A., E. Toxicity of the effluent from an anaerobic bioreactor treating cereal residues on *Lactuca sativa*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. n. 76 p. 182–186. 2011.

YOUNG, B.,J. Toxicity of the effluent from an anaerobic bioreactor treating cereal residues on *Lactuca sativa* L. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 76, p. 182-186, fev. 2012.