



Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Unidade Universitária de Dourados
Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE *Alibertia edulis* (RICH) A.
RICH EX DC. (RUBIACEAE) EXPOSTA AO LODO DE ESGOTO E
INOCULAÇÃO BACTERIANA**

Acadêmico: Jaqueline da Silva Santos

Dourados –MS
Fevereiro de 2017





Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Unidade Universitária de Dourados
Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE *Alibertia edulis* (RICH) A.
RICH EX DC. (RUBIACEAE) EXPOSTA AO LODO DE ESGOTO E
INOCULAÇÃO BACTERIANA**

Acadêmico: Jaqueline da Silva Santos

Orientador: Profº Dr. Etenaldo Felipe Santiago

Coorientadora: Margareth Batistote

“Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em Recursos Naturais, área de concentração em Recursos Naturais, da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Recursos Naturais”.

Dourados –MS

Fevereiro de 2017



S235r Santos, Jaqueline da Silva

Respostas fisiológicas de *Alibertia edulis* (Rich) A. Rich ex DC. (Rubiaceae) exposta ao lodo de esgoto e inoculação bacteriana/ Jaqueline da Silva Santos. Dourados, MS: UEMS, 2017.

101p. ; 30cm.

Dissertação (Mestrado) – Recursos Naturais –
Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul. Unidade
Universitária de Dourados, 2017.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE DOURADOS
PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS NATURAIS

Acadêmica: Jaqueline da Silva Santos

Orientador: Etenaldo Felipe Santiago

Coorientadora: Margareth Batistote

APROVADA (21/02/2017)

Prof. Dr. Etenaldo Felipe Santiago
(Orientador)

Silvana de Paula Quintão Scalon
Prof. Dra.

Cláudia Roberta Damiani
Prof. Dra.

DEDICATÓRIA

A Deus, por guiar os meus passos e me permitir chegar até aqui. E a meu pai, que sendo iletrado via as letras como o código dos sábios, que com admiração me olhou desde a primeira frase feita e o primeiro texto lido.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a minha família por me apoiar em toda e qualquer decisão, por entender as minhas justificativas e perdoar as minhas ausências, mãe e irmãos meus melhores amigos e melhor família do mundo!

Agradeço as minhas amigas tão chegadas quanto irmãs, Francilene Silva, Elaine Araújo e Samara Gonçalves, por se fazerem presentes durante toda essa minha jornada.

Meus sinceros agradecimentos ao meu orientador Etenaldo Felipe Santiago, por sempre ser atencioso, pela paciência em me ensinar, e repetir de novo quando necessário, por ter sabido lidar com minhas inquietações e impaciência, pela generosidade e gentileza com que passa seu conhecimento, por estar sempre disposto a contribuir e ajudar, pela presença constante durante toda minha pesquisa, por facilitar sempre o meu trabalho, apresentando solução para toda e qualquer eventualidade, tornando a concretização dessa pesquisa o mais leve possível.

A Margarete Batistote, minha coorientadora, obrigada pela disposição e interesse em contribuir com esse trabalho.

Aos professores Sandro Marcio e Luís Humberto pelas sugestões.

Agradeço à Gabriela Serra, Yzel Suárez, Mônica Bueno, Junior Mundin, Leyzinara Clemente, Lucilene Fionoto e Ana Lenk, pessoas que primeiro me acolheram, que puxaram os primeiros assuntos e me tiraram os primeiros risos, que me fizeram sentir em casa mesmo estando tão distante dos meus, que direta ou indiretamente contribuíram para o meu bem-estar, pois para mim não existe nada mais confortante do que saber que estou entre amigos.

A Montcharles Pontes e Angélica Astolfi por serem meus parceiros acadêmicos, obrigada por tudo, pela amizade, pelo carinho e pelas muitas ajudas.

A Abel Kissi, Michele Nóbrega e Shaline Sefara, pela generosidade e amizade.

Ao Vitor pela contribuição na execução e manutenção dos experimentos.

A meu conterrâneo querido Darlan Alves, por estar por perto tornando meus dias muito mais alegres.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1: Considerações Gerais

1- Lodo de esgoto.....	1
2- Uso de lodo de esgoto para produção de mudas de espécies nativas	2
3- Cerrado: Patrimônio genético ameaçado.....	3
4- Recursos naturais do Cerrado: <i>Alibertia edulis</i>	4
5- Associação entre bactéria, planta e substrato.....	6
6- Bactéria endofítica: <i>Bacillus licheniformis</i>	7
7- Condutância estomática e fluorescência da clorofila- <i>a</i> como métodos avaliativos de estresse em plantas.....	9
8- Referências Bibliográficas.....	11

CAPÍTULO 2: Efeito da inoculação com *Bacillus licheniformis* sobre a germinação de *Alibertia edulis* (Rich) A. Rich ex DC. (Rubiaceae) submetida a lodo de esgoto.

Resumo.....	29
Abstract.....	30
Introdução.....	31
Material e métodos.....	32
Resultados.....	35
Discussão.....	39
Conclusão.....	43
Referências bibliográficas.....	43

CAPÍTULO 3: Condutância estomática e fluorescência da clorofila-*a* e em plantas jovens de *Alibertia edulis* (Rich) A. Rich ex DC. (Rubiaceae) adubadas com lodo de esgoto

Resumo.....	54
Abstract.....	55
Introdução.....	56
Material e métodos.....	57
Resultados.....	59
Discussão.....	65
Conclusão.....	73
Referências bibliográficas.....	74

Resumo

O lodo de esgoto (LE) é o resíduo final proveniente das estações de tratamento de esgoto, é rico em elementos minerais essenciais às plantas, contudo, estão disponíveis em quantidades desbalanceadas para nutrição vegetal, dessa forma, dependendo da proporção utilizada pode afetar a germinação das sementes. Sabendo disso, a utilização de bactérias biorremediadoras pode ser uma alternativa para amenizar sua toxidez. Assim *Bacillus licheniformis* foi testado na biorremediação desse biossólido, utilizando-se *Alibertia edulis* como fornecedora do inóculo e espécie vegetal matriz experimental. Foram avaliadas as respostas germinativas de *A. edulis* nas interações: bactéria-semente-substrato. Para tanto, sementes em caixas gerbox mantidas em BOD foram embebidas com as seguintes soluções de LE: 25, 50, 75 e 100%, obtidas a partir da solução base com a mistura de 500g de LE hidratado em 1 litro de água (concentração 100%), sendo o controle com água destilada autoclavada. Tais tratamentos foram testados nas condições sem inóculo (SI) e com inóculo (CI). Em outro experimento, para averiguar a influência de variadas concentrações de inóculo, foram testados: 0, 20, 30, 80, 100 e 150 μL . Para o experimento conduzido em viveiro, plântulas foram transplantadas para tubetes contendo substrato agrícola comercial incorporado com LE nas proporções: 0, 25, 50, 75 e 100% de resíduo. Os dados de condutância estomática (G_s), temperatura foliar (TF) e fluorescência da clorofila-*a* (FChl-*a*) foram coletados em 10 plantas escolhidas aleatoriamente em cada tratamento. Os resultados mostraram que o LE em solução afetou o percentual germinativo (% G) visto que em 0% LE foi registrado maior germinação para condição SI, ao passo que as sementes inoculadas sugeriram melhor performance germinativa para todas as concentrações de LE, com maior homogeneidade nos parâmetros observados. Para as concentrações de inóculo bacteriano, constatou-se maior % G em 80 μL e menor em 150 μL . Nesse estudo foram observados menores G_s e TF em 100% lodo, contudo para FChl-*a* não foi evidenciada redução da performance fotossintética nessa proporção de LE, sugerindo que ajustes fisiológicos proporcionaram tolerância de *A. edulis* ao LE. A tolerância natural de *A. edulis* ao LE não permitiu maiores inferências sobre o poder biorremediador de *B. licheniformis* quando inoculada nas sementes, no entanto, não se descarta a viabilidade do LE como substrato para a produção de mudas ou a possibilidade de sua aplicação na melhoria da performance das mudas.

Palavras-chave- Resíduo, biorremediação, germinação, fluorescência.

Abstract

Sewage sludge (LE) is the final waste from sewage treatment plants, is rich in organic matter, mineral elements nutrients and non-nutrients for plants, can therefore affect plant development. Due to the nutritional imbalance and presence of heavy metals, depending on the proportion used may be toxic to some plant species. Knowing this, the use of bioremediation bacteria may be an alternative to mitigate the impact of their toxicity. Thus, *Bacillus licheniformis* was tested for bioremediation purposes of this biosolid, using *Alibertia edulis* as supplier of inoculum and experimental plant species. The germination responses of *A. edulis* were evaluated in the interactions: seed-substrate-bacteria. For this purpose, seeds in gerbox boxes maintained in BOD were soaked with the following solutions of LE: 25, 50, 75 and 100%, obtained from the base solution with the mixture of 500g of LE hydrated in 1 liter of water (concentration 100 %), Being the control with autoclaved distilled water. Such treatments were tested in conditions without inoculum (SI) and with inoculum (CI). In another experiment, to investigate the influence of different inoculum concentrations, 0, 20, 30, 80, 100, 150 μL were tested. For the experiment conducted in the vegetation house, seedlings were transplanted into tubes containing commercial agricultural substrate incorporated with LE in proportions: 0, 25, 50, 75 and 100% residue. The stomatal conductance (G_s), foliar temperature (TF) and chlorophyll-*a* fluorescence (FChl-*a*) data were collected from 10 randomly selected plants at each treatment. The results showed that the LE in solution affected the germination percentage (% G) since in 0% LE the germination was registered for the SI condition, while inoculated seeds suggested better germination performance for all LE concentrations, with higher homogeneity in the observed parameters. For concentrations of bacterial inoculum, it was found higher % G in 80 μL and lower in 150 μL . In this study smaller G_s and TF were observed in 100% sludge, however for FChl-*a* no lower photosynthetic performance was observed in this proportion of LE, suggesting that physiological adjustments provided tolerance of *A. edulis* to LE. The natural tolerance of *A. edulis* to LE did not allow greater inferences about the bioremediation power of *B. licheniformis* when inoculated in the seeds, however, the viability of LE as substrate for the production of seedlings or the possibility of its application in the Improvement of seedling performance.

Keywords - biosolids, bioremediation, germination, fluorescence.

CAPÍTULO I: CONSIDERAÇÕES GERAIS

1- Lodo de Esgoto

O lodo de esgoto (LE) é o resíduo sólido derivado do tratamento das águas residuais e esgoto em estações de tratamento ETEs (SIMONETE et al., 2003). Este bio-sólido contém considerável percentual de matéria orgânica e de elementos essenciais para as plantas, apresentando potencial para utilização agrícola, podendo substituir, ainda que parcialmente, os fertilizantes minerais, quando incorporado a substrato de cultivo vegetal (NASCIMENTO et al., 2004).

Quanto à composição química, este resíduo destaca-se pela quantidade de elementos e a toxicidade de alguns, como exemplo, o cádmio e chumbo, que em excesso são prejudiciais à saúde dos organismos, por outro lado, contém nutrientes essenciais ao desenvolvimento das plantas, como nitrogênio, cálcio, entre outros. Devido a diversos fatores como origem, método de tratamento da ETE e fatores externos, os elementos presentes na composição do resíduo apresentam-se desbalanceado do ponto de vista nutricional para as plantas (FERNANDES, 2010), a ponto de interferir na viabilização do seu uso como substrato (VAN RAIJ et al., 1996).

A composição química e nutricional do LE normalmente varia em função da sua origem, podendo ser proveniente de rede residencial ou industrial (OLIVEIRA et al., 2009; LIMA et al., 2011), estando sujeito às ações antrópicas, contendo elevadas concentrações de contaminantes, dentre eles estão substâncias oriundas da rotina diária, tais como, derivados de petróleo, medicamentos, materiais para limpeza, podendo também conter muitos patógenos, ovos de helmintos, cistos de protozoários e bactérias (LOPES et al., 2005; SAITO, 2007). Para tanto são necessárias análises químicas desse resíduo para quantificar a disposição desses elementos.

Para viabilizar sua utilização, é importante que se reduza ao máximo o teor de água no lodo, pois a massa de água favorece o desenvolvimento de organismos patogênicos, além de dificultar o manuseio e sua disposição final, aumentando o custo de transporte (NOGUEIRA et al., 2007).

Sob condições favoráveis, é possível reduzir a umidade do lodo a níveis inferiores a 10%, inviabilizando ou diminuindo a sobrevivência dos organismos patogênicos

(PEDROZA et al., 2010). Para reduzir o teor de água em lodos se distinguem basicamente duas alternativas: desaguamento mecânico ou secagem natural (BEZERRA et al., 2006).

A disposição final do LE é um forte agravante ambiental, visto que diariamente são produzidas grandes quantidades desse resíduo, frente a isso políticas de utilização são necessárias.

2- Uso de lodo de esgoto para produção de mudas de espécies nativas

Para a produção de mudas de espécies nativas para fins de restauração de áreas degradadas ou recomposição de florestas, é preferível a utilização de alternativas sustentáveis e de baixo custo (PERUZZI et al., 2011), uma opção é o emprego de resíduos, que além dos benefícios ambientais e financeiros, quando incorporados a substratos para cultivo vegetal tendem a produzir plantas mais resistentes, com maior probabilidade de sobreviver às adversidades encontradas em campo, minimizando as perdas pós-plantio (TRAZZI et al., 2012).

Muitos substratos podem ser utilizados para produção de mudas de espécies nativas, no entanto, o emprego de resíduos orgânicos sólidos para este fim, consiste em uma prática desejável por ser ambientalmente sustentável (CAVATTE et al., 2009).

Para a produção de mudas é preferível que o substrato atenda às demandas nutricionais das plantas, além de apresentar algumas características básicas como: ser bem drenado, reter água nas condições próximas à capacidade de campo, ser leve e de fácil manuseio além de ser de baixo custo (SCREMIN-DIAS et al., 2006; SILVA et al., 2011). Destaca-se ainda que a viabilidade para a incorporação de resíduos no substrato, além de atender às premissas anteriores, deve estar disponível em grande quantidade e ser de fácil armazenamento.

Nesse sentido o lodo de esgoto apresenta grande potencial como fertilizante, mas por outro lado sua elevada toxidez pode acarretar em estresse vegetal, no entanto, os conhecimentos a respeito de seus efeitos sobre o desenvolvimento de espécies nativas, principalmente do Cerrado são ainda insuficientes, ressaltando a necessidade de estudos que colaborem com o desenvolvimento de metodologias para sua utilização (UGGETTI et al., 2011).

Estudos de Henry et al. (1993) mostraram que a aplicação de lodo tratado, em quantidades ambientalmente aceitáveis, resulta em elevadas taxas de resposta de

crescimento, tanto para plantios jovens, como para áreas já estabelecidas, tal resultado positivo deve-se à sua considerável porcentagem de matéria orgânica e de macro e micronutrientes essenciais para plantas (NASCIMENTO et al., 2004; COSTA & COSTA, 2011)

No entanto, apesar de facilitar o aumento da produtividade e ter muitas vantagens econômicas, pois adubos químicos possuem preços elevados, a aplicação do lodo de esgoto no solo, a longo prazo, pode ocasionar acúmulo de substâncias tóxicas nos vegetais (RANK & NIELSEN, 1994). Quando isto ocorre, estes compostos podem ser translocados para as plantas e, em seguida, transferidos para outros organismos da cadeia alimentar (GROTTO et al., 2013). Consequentemente faz-se necessário uma regulamentação rigorosa para o uso desse resíduo, assim como estudos que determinem riscos ambientais a curto e a longo prazo.

Em vista dos fatos torna-se evidente a necessidade de se verificar para diferentes espécies vegetais, qual proporção deste resíduo é melhor aceita pelas plantas, tanto na germinação quanto no crescimento, de forma a obter mudas de melhor qualidade (SANTOS et al., 2005).

3- Cerrado: Patrimônio genético ameaçado

O Cerrado é o segundo maior bioma brasileiro, com uma área de 2.036.448 milhões de hectares (IBGE, 2006), distribuída nos estados de Goiás, Distrito Federal, e parte dos Estados de Minas Gerais, Rondônia, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Bahia, Tocantins, Maranhão, Piauí e Pará (SANO et al., 2008).

Abriga um terço da biodiversidade brasileira e aproximadamente 5% da flora e fauna mundial, no entanto, suas áreas desmatadas estão superando as da Floresta Amazônica (BEUCHLE, 2015). Muitos dos fragmentos de vegetação neste bioma estão reduzidos a pequenas reservas ocasionando, praticamente, o desaparecimento de fitofisionomias em alguns locais (BOWMAN, 2016).

O Cerrado é responsável por abrigar três das maiores bacias hidrográficas da América do Sul (Amazônia/Tocantins, São Francisco e Prata); também é conhecido pela sua alta capacidade de armazenamento de carbono (OLIVEIRA-FILHO & LIMA, 2002).

É caracterizado por solos ácidos, com baixa disponibilidade de nutrientes, chuvas sazonais e forte irradiância (LESSA et al., 2016). A vegetação apresenta arbustos, árvores esparsas e gramíneas, as árvores têm caules retorcidos e raízes longas, que permitem a

absorção da água, disponível em lençol freático profundo (DANTAS & BATALHA, 2011). Durante a estação seca, o fogo é um fator comum nesse bioma, podendo ocorrer naturalmente ou ter origem antrópica (MARACAHIPES et al., 2014). Tais condições impostas pelo meio são responsáveis pela estrutura e composição da vegetação, além de proporcionar resiliência frente às adversidades.

Este ecossistema é caracterizado por apresentar diferentes fitofisionomias incluindo desde campos limpos até formações arbóreas (ALMEIDA & LOUZADA, 2009), dentre estas destaca-se o cerrado *sensu stricto* que é caracterizado pela presença de árvores baixas, inclinadas, tortuosas, com ramificações irregulares e retorcidas, os troncos das plantas lenhosas em geral possuem cascas com cortiça espessa. Os arbustos e subarbustos encontram-se espalhados, com algumas espécies apresentando órgãos subterrâneos perenes (xilopódios), que permitem a rebrota após a queima ou corte (SILVA et al., 2008a).

Grande parte dos solos sob a vegetação de cerrado *sensu stricto* pertence às classes Latossolo Vermelho e Latossolo Vermelho Amarelo, moderadamente ácidos, com grandes quantidades de alumínio, e carência generalizada de nutrientes essenciais, principalmente fósforo e nitrogênio, com teor de matéria orgânica variando de médio a baixo (SILVEIRA & FELFILI, 2007).

Nesse ambiente, técnicas de correção de solos popularizaram-se tornando áreas de Cerrado propícias a agricultura e pecuária, no entanto, a expansão dessas atividades ocorreram de forma ambientalmente não planejada, resultando em grande degradação dos seus recursos naturais, dessa forma extensas áreas de vegetação nativa foram desmatadas, alterando o ciclo ecossistêmico e desequilibrando habitats naturais (CARVALHO et al., 2010; ROSOLEN et al., 2015).

O uso inadequado dos recursos naturais tem ocasionado degradação dos ecossistemas, de forma que, a cobertura vegetal nativa, que antes ocupava os solos brasileiros, tem cedido lugar para atividades antrópicas (SCALON et al., 2009; SANTOS et al., 2012). A partir disso vem surgindo a preocupação com as questões ambientais, devido a proporção de desgaste ambiental já alcançada (CABETTE et al., 2016), reforçando a necessidade de remediar os danos causados pelas atividades humanas.

4- Recursos naturais do Cerrado: *Alibertia edulis*

A conservação de frutíferas nativas do Cerrado avança lentamente devido à falta de informações referentes a técnicas para cultivo de mudas, frente a isso faz-se necessário conhecer as peculiaridades das espécies desse bioma, gerando conhecimento sobre comportamento germinativo e desenvolvimento inicial (OLIVEIRA et al., 2012).

Aliar a produção de mudas de espécies nativas a utilização de resíduos é desejável pela contribuição ambiental, e também financeira, pelo baixo custo e propriedades fertilizantes, no entanto é importante especular a sensibilidade das espécies do Cerrado a determinados bio-sólidos, procurando-se saber a viabilidade da produção de mudas com resíduos incorporados ao substrato, defendendo dessa forma metodologias ambientalmente corretas (PEREIRA & PASQUALETO, 2011).

Dentre as espécies nativas ocorrentes no cerrado *sensu stricto* destaca-se *Alibertia edulis* Rich. (Rubiaceae), uma árvore de pequeno porte, dioica, com plantas femininas apresentando flores grandes e solitárias, e flores masculinas menores e aglomeradas, os frutos são do tipo baga medindo de 4 a 8 centímetros de diâmetro, de coloração marrom escuro quando maduro, com grande quantidade de sementes recalcitrantes (SOUZA & LORENZI, 2005). Os frutos são apreciados pela fauna nativa, de forma que os animais desempenham forte papel na dispersão das sementes.

Esta espécie está distribuída em toda América do Sul, no Brasil está concentrada principalmente no Cerrado, bioma que nos últimos anos vem sendo devastadoramente desmatado, devido principalmente à expansão da agricultura e pecuária (KLINK & MACHADO, 2005; SILVA et al., 2008b; ARVOR et al., 2012).

Esta espécie tem sido popularmente utilizada na forma de chá para fins diuréticos, antitumorais e para o tratamento de hipertensão (RIEDER, 2013; MARQUES et al., 2013; SANGALLI et al., 2002; BUENO et al., 2005; SANTANA et al., 2016). Seus efeitos farmacológicos foram comprovados por Cronquist (1981) e Brochini et al. (1994) que isolaram triterpênicos de suas folhas. Estudos fitoquímicos mostraram a presença de iridoides, saponinas, bem como a presença de oleanano diterpeno (BROCHINI et al., 1994), alcaloides e taninos (SOTO-SOBENIS et al., 2001; SILVA et al., 2010; COE et al., 2010).

A necessidade de preservação do bioma Cerrado justifica o estudo de suas espécies nativas, visando tanto a preservação de espécies como a restauração de habitats. Os conhecimentos sobre a fisiologia de espécies nativas que apresentam potencial para revegetação, sobretudo de áreas degradadas, é fundamental para implantação de programas

de conservação ambiental (NERI et al.; 2005), sobretudo, quando são incorporadas práticas de reutilização de resíduos.

5- Associação entre bactéria, planta e substrato

Nas amplas interações ecofisiológicas, os microrganismos podem favorecer a absorção de nutrientes promovendo o crescimento e ganho de massa vegetal. Nesse sentido algumas bactérias apresentam importância fundamental no desenvolvimento das plantas, por estabelecerem associações simbióticas, promovendo melhora no desenvolvimento vegetal (JI et al., 2014; ORHAN, 2016; UNGRIA & NOGUEIRA, 2016).

Atualmente a maior popularização do uso de bactérias como inoculante vegetal implica em proporcionar maior fixação de nitrogênio em culturas de leguminosas, usando principalmente bactérias do gênero *Rhizobium*, sendo esta uma prática bastante aceita na agricultura, por seus benefícios ecológicos, reduzindo a utilização de químicos e pelo baixo custo financeiro e prático manuseio (ROESCH et al., 2005; CONCEIÇÃO et al., 2009; SCHULTZ et al., 2012).

No Brasil os trabalhos de inoculação bacteriana tiveram início na década de 1980 em solos do Cerrado, que eram isentos de populações de rizóbios capazes de nodular a soja, atualmente a utilização desses fertilizantes biológicos ainda se restringe principalmente a fixação de nitrogênio em cultura de leguminosas, com bons resultados para o cultivo de soja e feijão. Pesquisas envolvendo o desenvolvimento de inoculantes bacterianos vem sendo desenvolvidas principalmente pela EMBRAPA- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (HUNGRIA, 2011) e universidades, que pesquisam as possibilidades de utilização desses microrganismos além da agricultura.

Os benefícios da associação entre microrganismos e vegetais não estão restritos a fixação de nitrogênio. Nos últimos anos muito tem se especulado a respeito das relações simbióticas entre plantas e microrganismos, constatando-se a eficiência desses métodos por meio de experimentos e pesquisas (DHAWI et al., 2016; SILVEIRA et al., 2016), nesse sentido as principais bactérias promotoras de crescimento nas plantas, empregadas na agricultura atualmente, são espécies de *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Streptomyces*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Acetobacter* e *Herbaspirillum*, *Agrobacterium radiobacter* e *Enterobacter cloacae*, entre outras (MARIANO et al., 2013).

Os benefícios causados às plantas ocorrem por diferentes vias bioquímicas, ligados diretamente às particularidades de cada microrganismo, bactérias ou fungos, atuam promovendo o crescimento pela produção de ácido cianídrico, fitohormônios, enzimas como a ACC-deaminase, mineralização de nutrientes, solubilização de fosfatos, fixação do nitrogênio e aumento da absorção de nutrientes pelas raízes, entre outros (FROMMEL et al., 1991; CONN et al., 1997).

As bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) fazem parte da população residente das plantas como epifíticas ou endofíticas e não são fitopatogênicas. Podem ser utilizadas para tratamento de sementes, explantes e mudas micropropagadas, incorporadas ao substrato de plantio, tratamento de estacas, tubérculos e raízes, pulverizações na parte aérea incluindo folhagem e frutos, e em pós-colheita (CONTI et al., 2012).

A promoção de crescimento pode ocorrer de forma direta, quando os microrganismos colonizam os tecidos vegetais, produzindo substâncias que favorecem o crescimento e qualidade vegetal, ou de forma indireta quando a planta está sendo infectada por um patógeno e as BPCP atuam como agentes de controle biológico por meio da produção de ácido cianídrico, bacteriocinas e antibióticos, competição por espaço, Fe⁺³ e outros nutrientes, parasitismo, indução de resistência e proteção cruzada (MARIANO et al., 2013).

Algumas bactérias têm sido utilizadas também em projetos de restauração de áreas degradadas, devido sua importância para o solo e plantas (RASHID et al., 2016). No caso da reutilização de resíduos, bactérias com potencial para mineralização de nutrientes, solubilização de fosfatos e absorção de metais pesados funcionam como alternativa para remediação, simplificando nutrientes em formas químicas passíveis de serem absorvidas pelas plantas, ou mesmo diminuindo a toxicidade por meio da absorção e/ou acúmulo de metais tóxicos capazes de prejudicar as plantas (GHOSH et al., 2015; KUMAR et al., 2016; LI et al., 2016; LIU et al., 2016; PANDA et al., 2016; WEI et al., 2016;).

Plantas adaptadas a ambientes com baixa disponibilidade de nutrientes, condição comum em solos do Cerrado, são capazes de associar-se a bactérias benéficas ao desenvolvimento vegetal (ROESCH et al., 2005), sendo o uso de fertilizantes biológicos uma alternativa sustentável e economicamente viável para produzir mudas de espécies nativas desse bioma, para fins de restauração ambiental.

6- Bactéria endofítica: *Bacillus licheniformis*

Bacillus licheniformes é uma bactéria gran-positiva, encontrada no meio ambiente, em água, solo e associados às plantas, é apatogênica aos homens e aos vegetais, apresenta motilidade sendo capaz de produzir esporos que lhes fornece resistência às condições ambientais adversas, podendo ser armazenados por longos períodos, até que surjam condições favoráveis a seu desenvolvimento, como por exemplo disponibilidade de matéria orgânica e inorgânica, umidade e temperatura adequada (VEITH et al., 2004; VERMELHO et al., 2008).

Bactérias do gênero *Bacillus* produzem compostos de interesse industrial pelo consumo de substrato, paralelamente ao processo de crescimento e produção de material celular, apresentam versatilidade em utilizarem diversos tipos de substratos, tais como os resíduos da agroindústria, bagaço de cana, farelo de arroz e farelo de trigo. Recentemente têm sido conduzidas pesquisas que utilizam o melaço como meio alternativo para o cultivo de *Bacillus licheniformis*, esses resíduos industriais são metabolizados por essas bactérias, resultando na geração de substâncias de interesse comercial (ZHUANG et al., 2012; GOMAA, 2014; YOUNIS et al., 2010).

Há várias décadas o *B. licheniformis* vem sendo utilizado na produção industrial de alfa-amilase (AFRISHAM, et al., 2016; ASHRAF et al., 2003; LUO et al., 2016; MARTÍNEZ et al., 2014; TRAN et al., 2014) e várias proteases (AFIFAH et al., 2015; LIN et al., 2015), muitas das atividades das proteases extracelulares produzidas por esta bactéria consistem em duas enzimas proteolíticas: proteases serina alcalina e proteases naturais (ÇALIK et al., 1997; ÇALIK et al., 1998; ÇALIK et al., 2002).

Bactérias pertencentes ao gênero *Bacillus* geralmente crescem bem em meios definidos contendo várias fontes de carbono, suas enzimas hidrolíticas extracelulares podem degradar polímeros complexos, como polissacarídeos, ácidos nucléicos e lipídeos, permitindo aos organismos utilizarem esses produtos como fontes de carbono e doadores de elétrons. Vários *Bacillus* também produzem antibióticos como, por exemplo, a bacitracina, poliximina, tirocidina, gramicidina e circulina, na maioria dos casos, a produção de antibióticos está relacionada ao processo de esporulação (JEONG et al., 2017).

Existe ampla diversidade na fisiologia deste gênero, no entanto características coletivas são compartilhadas, incluindo a degradação de muitos substratos que são fontes de carbono, celulose, amido, pectina, proteínas, hidrocarbonetos entre outros (UENOJO & PASTORE, 2007).

Espécies de *Bacillus* incluindo *B. licheniformis* e *Bacillus oceanisediminis* absorvem, por meio de atividades metabólicas, metais pesados como Cr, Cu, Pb e Zn, atribuindo a este gênero a capacidade de sua utilização para remediação de ambientes contaminados, viabilizando a utilização de resíduos tratados com inóculos biológicos feitos a partir desses microrganismos (ARAÚJO, 2008; BRUNETTI et al., 2012; KAVITHA et al., 2014; TIWARY & DUBEY, 2016; JUNG et al., 2016).

7- Condutância estomática e fluorescência da clorofila-*a* como métodos avaliativos de estresse em plantas

Determinadas condições naturais ou impostas pelo meio podem expor as plantas ao estresse (PINTO et al., 2008), que significa um desvio nas condições ótimas para a vida, induzindo mudanças nos níveis funcionais dos organismos, os quais podem ser reversíveis, acionando respostas de ajuste fisiológico, ou permanentes, quando as respostas vegetais não são suficientes para contornar as injúrias sofridas (CALBO & MORAES, 2000; CHAVES FILHO & STACCIARINI-SERAPHIN, 2001).

Estes transtornos ocasionados aos vegetais podem ser detectados a nível fisiológico, antes mesmo de modificações morfológicas serem expressas, isto é possível por meio da utilização de métodos capazes de detectar estresse vegetal (RAMÍREZ et al., 2016; FENG et al., 2016), sendo nesse estudo empregado dois desses métodos: a condutância estomática e fluorescência da clorofila-*a*.

A abertura e fechamento estomático controlam a perda de água e a captação de CO₂ pelas plantas, importantes elementos da fotossíntese (MEDINA et al., 1999). O porômetro, por sua vez, é o equipamento utilizado para mensurar a condutância estomática, mede a taxa de difusão de água através da superfície da folha e fornece os valores de condutância estomática, auxiliando na análise das condições fisiológicas das plantas frente aos condicionantes ambientais, esse método tem se mostrado eficiente para avaliar estresse hídrico nas plantas, seja este causado por restrição hídrica, excesso de água (MACHADO et al., 2002) ou alta disponibilidade de sais, responsáveis por afetar a permeabilidade da membrana celular (NEVES et al., 2009).

De acordo com Kerbaui (2008) a condutância estomática tem efeito sobre a fotossíntese e conseqüentemente sobre a produção de matéria seca. Costa et al. (2007) afirmam que em situações de baixa disponibilidade hídrica é esperado que as plantas reduzam a perda de água, diminuindo a condutância estomática a níveis não críticos,

mantendo dessa forma a estabilidade do sistema de uso da água, caso esse equilíbrio frente as condições impostas não ocorram é um indicativo de mau funcionamento fisiológico na planta.

A fluorescência da clorofila-*a* (FChl-*a*) tem sido outro método utilizado para detecção de estresse em plantas, consiste na avaliação da energia dissipada em forma de fluorescência, sendo possível com a utilização de fluorímetro, equipamento que emite um feixe de luz, geralmente com o comprimento de onda em torno de 680 nm, captando informações relevantes sobre o funcionamento do fotossistema II (ZHANG et al., 2016).

A conversão de energia luminosa em energia química ocorrente no processo fotossintético não é um evento perfeito, como todo e qualquer evento que envolve troca de energia, não acontece 100% de aproveitamento, nem todos os elétrons que estão num nível energético elevado (molécula de clorofila excitada) é passado para os aceptores, estes elétrons retornam ao estado inicial (estado antes das moléculas receberem a energia dos fótons), sem a produção de ATP e NADPH, ao retornar para o estado inicial, essa energia é então dissipada em forma de calor ou luz (fluorescência) (CAMPOSTRINI, 1998), podendo ser captada por um fluorímetro, fornecendo dessa forma dados sobre o funcionamento do aparato fotossintético.

A análise dos parâmetros da fluorescência da clorofila tem sido difundida no estudo da fotossíntese principalmente por ser um método que, além de não destrutivo, permite análise qualitativa e quantitativa da absorção e aproveitamento da energia luminosa através do FSII (ALLAHVERDIEV et al., 1998; KRAUSE & WEIS, 1991; MOUGET & TREMBLIN, 2002; NETTO et al., 2005). Esta técnica tem permitido um aumento no conhecimento dos processos fotoquímicos e não fotoquímicos que ocorrem na membrana dos tilacóides dos cloroplastos (ROHÁCEK, 2002), além de possibilitar o estudo de características relacionadas à capacidade de absorção e transferência da energia luminosa na cadeia de transporte de elétrons (KRAUSE & WEIS, 1991).

No caso de plantas adubadas com lodo de esgoto ou sementes irrigadas com solução feita a partir desse resíduo, o estudo da condutância estomática e fluorescência da clorofila-*a* são importantes técnicas para averiguar os efeitos da aplicação desse biossólido, pois é sabido que o lodo apresenta potencial como fertilizante, no entanto seus nutrientes são desbalanceados, podendo ocasionar a competição entre os nutrientes, além da alta toxicidade

oriunda de altos índices de Cu e Zn entre outros elementos (CIARKOWSKA et al., 2017; LI et al., 2016).

Estudar as respostas sobre a germinação de sementes e crescimento inicial de espécies vegetais nativas submetidas ao lodo é fundamental para avaliar a tolerância das plantas aos compostos disponíveis nesse resíduo, passíveis de promover danos osmóticos e/ou fitotóxicos aos vegetais. Nesse sentido parâmetros fisiológicos podem ser utilizados para estimar de modo não destrutivo o comportamento de espécies vegetais expostas a fatores estressantes. A condutância estomática é uma importante ferramenta na identificação de estresse, uma vez que o fechamento estomático é uma resposta rápida e comum sob condições sub ótimas (OLIVEIRA et al., 2005), assim como estudos relacionados a fotossíntese estão intimamente relacionados com a demanda de nutrientes disponíveis (LEE et al, 2016).

8- Referências

AFIFAH, D. N.; SULCHAN, M.; SYAH, D.; SUHARTONO, M. T. The Use of Red Oncom Powder as Potential Production Media for Fibrinolytic Protease Derived from *Bacillus Licheniformis* RO3. **Procedia Food Science**, v. 3, p. 453-464, 2015.

AFRISHAM, S.; BADOEI, D. A.; NAMAKI, S. A.; KARAMI, Z. Characterization of a thermostable, CaCl₂-activated and raw-starch hydrolyzing alpha-amylase from *Bacillus licheniformis* AT70: Production under solid state fermentation by utilizing agricultural wastes. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 132, p. 98-106, 2016.

ALLAHVERDIEV, S.R.; MAVITUNA, M.; GANIEVA, R.; NAFISI, S. Effects of salt stress and synthetic hormone polystimuline K on photosynthetic activity of *Trianea bogotensis* Karst. **Journal of Botany**, London, v.22, p.19-23, 1998.

ALMEIDA, S. D. S.; LOUZADA, J. N. da comunidade de *Scarabaeinae* (*Scarabaeidae*: *Coleoptera*) em fitofisionomias do Cerrado e sua importância para a conservação. **Neotrop. entomol.**, v. 38, n. 1, p. 32-43, 2009.

ARAÚJO, F. F. D. Inoculação de sementes com *Bacillus subtilis*, formulado com farinha de ostras e desenvolvimento de milho, soja e algodão. **Ciênc. Agrotec. (Impr.)**, v. 32, n. 2, p. 456-462, 2008.

ARVOR, D.; MEIRELLES, M.; DUBREUIL, V.; BEGUE, A.; SHIMABUKURO, Y. E. Analyzing the agricultural transition in Mato Grosso, Brazil, using satellite-derived indices. **Applied Geography**, v. 32, n. 2, p. 702-713, 2012.

ASHRAF, H.; IQBAL, J.; QADEER, M. A. Production of alpha amylase by *Bacillus licheniformis* using an economical medium. **Bioresource technology**, v. 87, n. 1, p. 57-61, 2003.

BEUCHLE, R.; GRECCHI, R. C.; SHIMABUKURO, Y. E.; SELIGER, R.; EVA, H. D.; SANO, E.; ACHARD, F. Land cover changes in the Brazilian Cerrado and Caatinga biomes from 1990 to 2010 based on a systematic remote sensing sampling approach. **Applied Geography**, v. 58, p. 116-127, 2015.

BEZERRA, F. B.; OLIVEIRA, M. A. C. L.; PEREZ, D. V.; ANDRADE, A. D.; MENEGUELLI, N. D. A. Lodo de esgoto em revegetação de área degradada. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 41, n. 3, p. 469-476, 2006.

BOWMAN, M. S. Impact of foot-and-mouth disease status on deforestation in Brazilian Amazon and Cerrado municipalities between 2000 and 2010. **Journal of Environmental Economics and Management**, v. 75, p. 25-40, 2016.

BROCHINI, C. B.; MARTINS, D.; ROQUE, N. F.; BOLZANI, V. D. S. An oleanane acid from *Alibertia edulis*. **Phytochemistry**, v. 36, n. 5, p. 1293-1295, 1994.

BRUNETTI, G.; FARRAG, K.; SOLER-ROVIRA, P.; FERRARA, M.; NIGRO, F.; SENESI, N. The effect of compost and *Bacillus licheniformis* on the phytoextraction of Cr, Cu, Pb and Zn by three brassicaceae species from contaminated soils in the Apulia region, Southern Italy. **Geoderma**, v. 170, p. 322-330, 2012.

BUENO, N. R.; CASTILHO, R. O.; COSTA, R. B. D.; POTT, A.; POTT, V. J.; SCHEIDT, G. N.; BATISTA, M. D. S. Medicinal plants used by the Kaiowá and Guarani indigenous populations in the Caarapó Reserve, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Acta Botanica Brasílica**, v. 19, n. 1, p. 39-44, 2005.

CABETTE, H. S.; SOUZA, J. R.; SHIMANO, Y.; JUEN, L. Effects of changes in the riparian forest on the butterfly community (Insecta: Lepidoptera) in Cerrado areas. **Revista Brasileira de Entomologia**, 2016.

CALBO, M. E. R.; MORAES, J. A. P. V. Efeitos da deficiência de água em plantas de *Euterpe oleracea* (açai). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 23, n. 3, p. 225-230, 2000.

ÇALIK, P.; ÇALIK, G.; OZDAMAR, T.H. Effect of oxygen transfer strategy on product distribution of serine alkaline protease fermentation. **Proceeding European Congress on Biotechnology**. v. 1, p. 289, 1997.

ÇALIK, P.; ÇALIK, G.; OZDAMAR, T.H. Oxygen transfer effects in serine alkaline protease fermentation by *Bacillus licheniformis*: Use of citric acid as the carbon source. **Enzyme and Microbiol Technology**, v. 23, p. 451-461, 1998.

ÇALIK, P.; BILIR, E.; ÇALIK, G.; ÖZDAMAR, T. H. Influence of pH conditions on metabolic regulations in serine alkaline protease production by *Bacillus licheniformis*. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 31, n. 5, p. 685-697, 2002.

CAMPOSTRINI, E. **Fluorescência da clorofila a: considerações teóricas e aplicações práticas**. UENF, 198f, 1998.

CARVALHO, J. L. N.; RAUCCI, G. S.; CERRI, C. E. P.; BERNOUX, M.; FEIGL, B. J.; WRUCK, F. J.; CERRI, C. C. Impact of pasture, agriculture and crop-livestock systems on soil C stocks in Brazil. **Soil and Tillage Research**, v. 110, n. 1, p. 175-186, 2010.

CAVATTE, P. C.; ZONTA, J. B.; LOPES, J. C.; SOUZA, L. T.; ZONTA, J. H.; CAVATTE, R. P. Q. Germinação e vigor de sementes de cenoura em solo de mineração de calcário sob diferentes intensidades luminosas e adubações. **IDESIA**, v. 27, n. 2, 2009.

CHAVES FILHO, J. T.; STACCIARINI-SERAPHIN, E. Alteração no potencial osmótico e teor de carboidratos solúveis em plantas jovens de lobeira (*Solanum lycocarpum* St.-Hil.) em resposta ao estresse hídrico. **Revista brasileira de Botânica**, v. 24, n. 2, p. 199-204, 2001.

CIARKOWSKA, K.; HANUS-FAJERSKA, E.; GAMBUS, F.; MUSZYŃSKA, E.; CZECH, T. Phytostabilization of Zn-Pb ore flotation tailings with *Dianthus carthusianorum* and *Biscutella laevigata* after amending with mineral fertilizers or sewage sludge. **Journal of Environmental Management**, v. 189, p. 75-83, 2017.

COE, F. G.; PARIKH, D. M.; JOHNSON, C. A. Alkaloid presence and brine shrimp (*Artemia salina*) bioassay of medicinal species of eastern Nicaragua. **Pharmaceutical biology**, v. 48, n. 4, p. 439-445, 2010.

CONCEIÇÃO, P. M.; VIEIRA, H. D.; CANELLAS, L. P.; OLIVARES, F. L.; DA CONCEIÇÃO, P. S. Efeito dos ácidos húmicos na inoculação de bactérias diazotróficas endofíticas em sementes de milho. **Ciência Rural**, v. 39, n. 6, p. 1880-1883, 2009.

CONN, K. L.; LAZAROVITS, G.; NOWAK, J. A gnotobiotic bioassay for studying interactions between potatoes and plant growth-promoting rhizobacteria. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 43, n. 9, p. 801-808, 1997.

CONTI, R.; GUIMARÃES, D. O.; PUPO, M. T. Aprendendo com as interações da natureza: microrganismos simbiotes como fontes de produtos naturais bioativos. **Ciência e Cultura**, v. 64, n. 2, p. 43-47, 2012.

COSTA, G.F.; MARENCO, R.A. Fotossíntese, condutância estomática e potencial hídrico foliar em árvores jovens de andiroba (*Carapa guianensis*). **Acta Amazônica**, v.37, n.2, p.229-234, 2007.

COSTA, A. N.; COSTA, A. F. S. Manual de uso agrícola e disposição do lodo de esgoto para o estado do Espírito Santo, **first edition. Incaper**, Vitória. 2011.

CRONQUIST, A. **An Integrated System of Flowering Plants. Columbia University Press**, New York, 1262, (il), 1981.

DANTAS, V. L.; BATALHA, M. A. Vegetation structure: fine scale relationships with soil in a Cerrado site. Flora-Morphology, **Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 206, n. 4, p. 341-346, 2011.

DHAWI, F.; DATTA, R.; RAMAKRISHNA, W. Proteomics provides insights into biological pathways altered by plant growth promoting bacteria and arbuscular mycorrhiza in sorghum grown in marginal soil. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics**, 2016.

FENG, Z.; WANG, L.; PLEIJEL, H.; ZHU, J.; KOBAYASHI, K. Differential effects of ozone on photosynthesis of winter wheat among cultivars depend on antioxidative enzymes

rather than stomatal conductance. **Science of The Total Environment**, v. 572, p. 404-411, 2016.

FERNANDES, J. O. **Estudos de melhorias do processo de aproveitamento de resíduos do tratamento de esgotos sanitários para geração de biocombustíveis**. Monografia (Graduação em Engenharia Química), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 50, 2010.

FROMMEL, M. I.; NOWAK, J.; LAZAROVITS, G. Growth enhancement and developmental modifications of in vitro grown potato (*Solanum tuberosum* spp. *tuberosum*) as affected by a nonfluorescent *Pseudomonas* sp. **Plant Physiology**, v. 96, n. 3, p. 928-936, 1991.

GHOSH, P.; RATHINASABAPATHI, B.; MA, L. Q. Phosphorus solubilization and plant growth enhancement by arsenic-resistant bacteria. **Chemosphere**, v. 134, p. 1-6, 2015.

GOMAA, E. Z. Production of polyhydroxyalkanoates (PHAs) by *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* grown on cane molasses fortified with ethanol. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 57, n. 1, p. 145-154, 2014.

GROTTO, D.; CARNEIRO, M. F. H.; SAUER, E.; GARCIA, S. C.; DE MELO, W. J.; BARBOSA, F. Evaluation of biochemical and redox parameters in rats fed with corn grown in soil amended with urban sewage sludge. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 95, p. 188-194, 2013.

HENRY, C. L.; COLE, D. W.; HINCKLEY, T. E.; HARRISON, R. B. The use of municipal and pulp and paper sludges to increase production in forestry. **Journal of Sustainable Forestry**, v. 1, n. 3, p. 41-55, 1993.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo.** Embrapa Soja. Documentos, 2011.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Inoculation of *Brachiaria* spp. with the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*: An environment-friendly component in the reclamation of degraded pastures in the tropics. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 221, n. 3, p. 125-131, 2016.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Mapas de Biomas.** Ministério de Planejamento, Orçamento e Gestão, 2006.

JEONG, D. W.; JEONG, M.; LEE, J. H. Antibiotic susceptibilities and characteristics of *Bacillus licheniformis* isolates from traditional Korean fermented soybean foods. **LWT-Food Science and Technology**, v. 75, p. 565-568, 2017.

JI, S.; GURURANI, M. A.; CHUN, S. C. Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic diazotrophic bacteria from Korean rice cultivars. **Microbiological research**, v. 169, n. 1, p. 83-98, 2014.

JUNG, J.; JEONG, H.; KIM, H. J.; LEE, D. W.; LEE, S. J. Complete genome sequence of *Bacillus oceanisediminis* 2691, a reservoir of heavy-metal resistance genes. **Marine Genomics**, 2016.

KAVITHA, V.; MANDAL, A. B.; GNANAMANI, A. biosurfactant mediated removal and/or solubilization of crude oil contamination from soil and aqueous phase: An approach with *Bacillus licheniformis* MTCC 5514. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 94, p. 24-30, 2014.

KERBAUY, G.B. **Fisiologia vegetal.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 431p.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. A conservação do Cerrado brasileiro. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, p. 147-155, 2005.

KRAUSE, G.H.; WEIS, E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basic. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 42, p.313-349, 1991.

KUMAR, P.; PANDEY, P.; DUBEY, R. C.; MAHESHWARI, D. K. Bacteria consortium optimization improves nutrient uptake, nodulation, disease suppression and growth of the common bean (*Phaseolus vulgaris*) in both pot and field studies. **Rhizosphere**, v. 2, p. 13-23, 2016.

LEE, K.; MATSUNO, T.; ENDOH, T.; ISHIZAKA, J.; ZHU, Y.; TAKEDA, S.; SUKIGARA, C. A role of vertical mixing on nutrient supply into the subsurface chlorophyll maximum in the shelf region of the East China Sea. **Continental Shelf Research**, 2016.

LESSA, J. H. L.; ARAUJO, A. M.; SILVA, G. N. T.; GUILHERME, L. R. G.; LOPES, G. ADSORPTION. Desorption reactions of selenium (VI) in tropical cultivated and uncultivated soils under Cerrado biome. **Chemosphere**, v. 164, p. 271-277, 2016.

LI, J.; GAN, J.; HU, Y. Characteristics of Heavy Metal Species Transformation of Pb, Cu, Zn from Municipal Sewage Sludge by Thermal Drying. **Procedia Environmental Sciences**, v. 31, p. 961-969, 2016.

LIMA, M.F.; MATTOS, C.N.; VIEIRA, P.L.C.; ALMEIDA, L.F. Geração de lodo de esgoto e seu potencial como fonte de matéria orgânica para a agricultura. In: Costa, L. F., Costa, A.F.S. (Eds.), Manual de uso agrícola e disposição do lodo de esgoto para o estado do Espírito Santo. **Incaper**, p. 11–18. 2011.

LIN, S.; ZHANG, M.; LIU, J.; JONES, G. S. Construction and application of recombinant strain for the production of an alkaline protease from *Bacillus licheniformis*. **Journal of bioscience and bioengineering**, v. 119, n. 3, p. 284-288, 2015.

LI, X.; DAI, L.; ZHANG, C.; ZENG, G.; LIU, Y.; ZHOU, C.; LAN, S. Enhanced biological stabilization of heavy metals in sediment using immobilized sulfate reducing bacteria beads with inner cohesive nutrient. **Journal of Hazardous Materials**, 2016.

LIU, S. H.; ZENG, G. M.; NIU, Q. Y.; LIU, Y., ZHOU, L.; JIANG, L. H.; CHENG, M. Bioremediation mechanisms of combined pollution of PAHs and heavy metals by bacteria and fungi: A mini review. **Bioresource Technology**, 2016.

LOPES, J. C.; RIBEIRO, L. G.; ARAÚJO, M. G.; BERALDO, M. R. B. S. Produção de alface com doses de lodo de esgoto. **Horticultura Brasileira**, v.23, p.143-147, 2005.

LUO, Z.; TUCKER, G.; BROWN, H. Empirical manipulation of the thermoinactivation kinetics of *Bacillus amyloliquefaciens* and *Bacillus licheniformis* α -amylases for thermal process evaluations. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 38, p. 272-280, 2016.

MACHADO, E. C.; MEDINA, C. L.; GOMES, M. D. M. D. A.; HABERMANN, G. VARIAÇÃO sazonal da fotossíntese, condutância estomática e potencial da água na folha de laranja'Valência'. **Scientia Agricola**, p. 53-58, 2002.

MARACAHIPES, L.; MARIMON, B. S.; LENZA, E.; MARIMON-JUNIOR, B. H.; DE OLIVEIRA, E. A.; MEWS, H. A.; FELDPAUSCH, T. R. Post-fire dynamics of woody vegetation in seasonally flooded forests (impucas) in the Cerrado-Amazonian Forest transition zone. Flora-Morphology, Distribution, **Functional Ecology of Plants**, v. 209, n. 5, p. 260-270, 2014.

MARIANO, R. D. L. R.; SILVEIRA, E. B.; ASSIS, S. M. P.; GOMES, A. M. A.; NASCIMENTO, A. R. P.; DONATO, V. M. T. S. Importância de bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para uma agricultura sustentável. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, v. 1, n. 1, p.89-111, 2013.

MARQUES, M. C. S.; HAMERSKI, L.; GARCEZ, F. R.; TIEPPO, C.; VASCONCELOS, M.; SANTOS, E. C. T.; GARCEZ, W. S. In vitro biological screening and evaluation of free radical scavenging activities of medicinal plants from the Brazilian Cerrado. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 7, n. 15, p. 957–962, 2013.

MARTÍNEZ, G. J. F.; JURADO, A. E.; CARRASQUILLA, C. J. L.; JIMÉNEZ, P, J. L.; ROMERO, P. P. M. Characterization of the ozone effect over an α -amylase from *Bacillus licheniformis*. **Biochemical Engineering Journal**, v. 85, p. 119-124, 2014.

MEDINA, C. L.; MACHADO, E. C.; GOMES, M. D. M. D. A. Condutância estomática, transpiração e fotossíntese em laranja'Valência'sob deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 11, n. 1, p. 29-34, 1999.

MOUGET, J.; TREMBLIN, G. Suitability of the fluorescence monitoring system (FM, Hansatech) for measurement of photosynthetic characteristics in algae. **Aquatic Botany, Amsterdam**, v.74, p.219-231, 2002.

NASCIMENTO, C. W. A.; BARROS, D. A. S.; MELO, E. E. C.; OLIVEIRA, A. B. Alterações químicas em solos e crescimento de milho e feijoeiro após aplicação de lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, n. 2, p. 385-392, 2004.

Neri, A. V.; CAMPOS, E. D.; Duarte, T. G.; Meira Neto, J. A. A.; SILVA, A. D.; Valente, G. E. Regeneração de espécies nativas lenhosas sob plantio de Eucalyptus em área de

Cerrado na Floresta Nacional de Paraopeba, MG, Brasil. **Acta botanica brasílica**, v. 19, n. 2, p. 369-376, 2005.

NETTO, A.T.; CAMPOSTRINI, E.; OLIVEIRA, G.J.; BRESSAN-SMITH, R.E. Photosynthetic pigments, nitrogen, chlorophyll *a* fluorescence and SPAD-502 readings in coffee leaves. **Scientia Horticulturae, Amsterdam**, v.104, p.199-209, 2005.

NEVES, A. L.; LACERDA, C. D.; GUIMARÃES, F. V.; GOMES FILHO, E.; FEITOSA, D. R. Trocas gasosas e teores de minerais no feijão-de-corda irrigado com água salina em diferentes estádios. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 13, p. 873-881, 2009.

NOGUEIRA, T. A.; SAMPAIO, R. A.; FONSECA, I. M.; FERREIRA, C. S.; SANTOS, S. E.; FERREIRA, L. C.; FERNANDES, L. A. Metais pesados e patógenos em milho e feijão caupi consorciados, adubados com lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 11, p. 331-338, 2007.

OLIVEIRA, A. D. D.; FERNANDES, E. J.; RODRIGUES, T. J. D. Condutância estomática como indicador de estresse hídrico em feijão. **Eng. Agríc**, v. 25, n. 1, p: 86-95, 2005.

OLIVEIRA-FILHO, E. C.; LIMA, J. E. F. W. **Impacto da agricultura sobre os recursos hídricos na região do Cerrado**. Planaltina – DF: Embrapa Cerrados, 50, 2002.

OLIVEIRA GARCIA, G.; GONÇALVES, I. Z.; MADALÃO, J. C.; NAZÁRIO, A. A.; BRAGANÇA, H. N. Características químicas de um solo degradado após aplicação de lodo de esgoto doméstico. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 4, n. 2, p. 01-12, 2009.

OLIVEIRA, M. C.; FAGG, C. W.; CAMAPUM, C. J.; CORREIA, C. R. M. A. Queimadas, práticas agrícolas, recuperação de áreas degradadas e a infiltração no Cerrado. **Livro Tópicos sobre infiltração: teoria e prática aplicadas a solos tropicais**, v. 11, p. 207-234, 2012.

ORHAN, F. Alleviation of salt stress by halotolerant and halophilic plant growth-promoting bacteria in wheat (*Triticum aestivum*). **Brazilian Journal of Microbiology**, 2016.

PANDA, B.; RAHMAN, H.; PANDA, J. Phosphate solubilizing bacteria from the acidic soils of Eastern Himalayan region and their antagonistic effect on fungal pathogens. **Rhizosphere**, v. 2, p. 62-71, 2016.

PEDROZA, M. M.; VIEIRA, G. E. G.; SOUSA, J. F.; PICKLER, A. C.; LEAL, E. R. M.; MILHOMEN, C. C. Produção e tratamento de lodo de esgoto – uma revisão. **Rev. Liberato**, v. 11, n.16, p. 89-188, 2010.

PEREIRA, M. E.; PASQUALETO, A. Desenvolvimento sustentável com ênfase em Frutíferas do Cerrado. **Estudos**, v. 38, n. 2, p. 333-363, 2011.

PERUZZI, E.; MASCIANDARO, G.; MACCI, C.; DONI, S.; RAVELO, S. G. M.; PERUZZI, P.; CECCANTI, B. Heavy metal fractionation and organic matter stabilization in sewage sludge treatment wetlands. **Ecological Engineering**, v. 37, p. 771–778, 2011.

PINTO, C.M.; TÁVORA, F.J.F.A.; BEZERRA, M.A.; CORRÊA, M.C.M. Crescimento, distribuição do sistema radicular em amendoim, gergelim e mamona a ciclos de deficiência hídrica. **Rev. Ciên. Agron**, v.39, n.3, p.429-439, 2008.

RAMÍREZ, D. A.; YACTAYO, W.; RENS, L. R.; ROLANDO, J. L.; PALACIOS, S.; DE MENDIBURU, F.; ZOTARELLI, L. Defining biological thresholds associated to plant

water status for monitoring water restriction effects: Stomatal conductance and photosynthesis recovery as key indicators in potato. **Agricultural Water Management**, v. 177, p. 369-378, 2016.

RANK, J.; NIELSEN, M. H. Evaluation of the Allium anaphase-telophase test in relation to genotoxicity screening of industrial wastewater. **Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects**, v. 312, n. 1, p. 17-24, 1994.

RASHID, M. I.; MUJAWAR, L. H.; SHAHZAD, T.; ALMEELBI, T.; ISMAIL, I. M.; OVES, M. Bacteria and fungi can contribute to nutrients bioavailability and aggregate formation in degraded soils. **Microbiological research**, v. 183, p. 26-41, 2016.

RIEDER, A. Plants used for diabetes in the transition zone of Platinum and Amazon Hydrographic Basins, southwest portion of Mato Grosso, Brazil. **Planta Medica**, v. 79, n. 13, p. 8, 2013.

ROESCH, L. F. W.; CAMARGO, F. A. D. O.; SELBACH, P. A.; SA, E. L. S. D.; PASSAGLIA, L. M. P. Identificação de cultivares de milho eficientes na absorção de nitrogênio e na associação com bactérias diazotróficas. **Ciência Rural. Santa Maria**, v. 35, n. 4, p. 924-927, 2005.

ROHÁČEK, K. Chlorophyll fluorescence parameters: the definitions, photosynthetic meaning, and mutual relationships. **Photosynthetica, Prague**, v.40, p.13-29. 2002.

ROSOLEN, V.; DE-CAMPOS, A. B.; GOVONE, J. S.; ROCHA, C. Contamination of wetland soils and floodplain sediments from agricultural activities in the Cerrado Biome (State of Minas Gerais, Brazil). **Catena**, v. 128, p. 203-210, 2015.

SAITO, M. L. **O uso do lodo de esgoto na agricultura: precauções com os contaminantes orgânicos**, Embrapa Meio Ambiente - Documentos, p. 35, 2007.

SANGALLI, A.; VIEIRA, M.C.; ZARATE, N.A.H. Levantamento e caracterização de plantas nativas com propriedades medicinais em fragmentos florestais e de cerrado de Dourados-MS, numa visão etnobotânica. **Acta Hort.** V. 19, p. 173-184, 2002.

SANO, E. E.; ROSA, R.; BRITO, J. L. S.; FERREIRA, L. G. Notas Científicas Mapeamento semidetalhado do uso da terra do Bioma Cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 1, p. 153-156, 2008.

SANTANA A, D. F.; TIRLONI, C. A. S.; MENEGATI, S. E. L. T.; CARDOSO, C. A. L.; VIEIRA, S. C. H.; DO CARMO, V, M.; JUNIOR, A. G. *Alibertia edulis* (LC Rich.) AC Rich-a potent diuretic arising from Brazilian indigenous species. **Journal of Ethnopharmacology**, 2016.

SANTOS, A. C. P.; BALDOTTO, P. V.; MARQUES, P. A. A.; DOMINGUES, W. L.; PEREIRA, H. L. Utilização de torta de filtro como substrato para a produção de mudas de hortaliças. **Colloquium Agrarie**, v. 1, n. 2, 2005.

SANTOS, P. L.; FERREIRA, R. A.; ARAGÃO, A. G. D.; AMARAL, L. A.; OLIVEIRA, A. S. Estabelecimento de espécies florestais nativas por meio de semeadura direta para recuperação de áreas degradadas. **Rev. Árvore**, v.36, n.2. 2012 .

SCALON, S.P.Q.; LIMA, A.A.; FILHO, H.S.; VIEIRA, M.C. Germinação de sementes e crescimento inicial de mudas de *Campomanesia adamantium* camb: efeito da lavagem, temperatura e de bioestimulantes. **Rev. Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 2, p: 96-103, 2009.

SCHULTZ, N.; DE MORAIS, R. F.; SILVA, J. A.; BAPTISTA, R. B.; OLIVEIRA, R. P.; LEITE, J. M.; BODDEY, R. M. Avaliação agrônômica de variedades de cana-de-açúcar inoculadas com bactérias diazotróficas e adubadas com nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 2, p. 261-268, 2012.

SCREMIN-DIAS, E.; KALIFE, C.; MENEGUCCI, Z. R. H.; SOUZA, P. R. S. **Manual: Produção de mudas de espécies florestais nativas**, Série – Rede de Sementes do Pantanal, Editora UFMS, p. 59, 2006.

SILVA, E. A.; OLIVEIRA, A. C.; MENDONÇA, V.; SOARES, F. M. Substratos na produção de mudas de mangabeira em tubetes. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.41, n.2, p. 279-285, 2011.

SILVA, E. F.; FERNANDES-BULHÃO, C.; DOS SANTOS, T. R. R. Levantamento florístico das lianas lenhosas, arbustos e subarbustos do Cerrado do Parque do Bacaba, Nova Xavantina–MT. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. S2, p. pg. 948-950, 2008.

SILVA, F. A. B.; PEREIRA, L. A. R.; SILVEIRA, Conceição Eneida dos Santos. Micropropagation of *Alibertia edulis* Rich. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 51, n. 6, p. 1103-1114, 2008.

SILVA, N.L.A.; MIRANDA, F.A.A.; CONCEIÇÃO, G.M. Triagem fitoquímica de plantas de Cerrado, da área de proteção ambiental municipal do Inhamum, Caxias, Maranhão. **Scientia Plena**, v. 6, n. 2, 2010.

SILVEIRA, A. P. D.; SALA, V. M. R.; CARDOSO, E. J. B. N.; LABANCA, E. G.; CIPRIANO, M. A. P. Nitrogen metabolism and growth of wheat plant under diazotrophic endophytic bacteria inoculation. **Applied Soil Ecology**, v. 107, p. 313-319, 2016.

SILVEIRA, L. G.; FELFILI, J. M. Características florísticas e estruturais de Cerrado *sensu stricto* em Neossolo Quartzarênico. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. S2, p. pg. 102-104, 2007.

SIMONETE, M. A.; KIEHL, J. D. C.; ANDRADE, C. A.; TEIXEIRA, C. F. A. Efeito do lodo de esgoto em um Argissolo e no crescimento e nutrição de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 10, p. 1187-1195, 2003.

SOTO-SOBENIS, A.; CASTILLO, B.; DELGADO, A.; GONZÁLEZ, A.; MONTENEGRO, R. Alkaloid screening of herbarium samples of Rubiaceae from Panamá. **Pharm. Biol.** v. 39 n. 3, p.161-169, 2001.

SOUZA, V. C.; LORENZI, HARRI. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira**, baseado em APG II. Instituto Plantarum, 2005.

TIWARY, M.; DUBEY, A. K. Cypermethrin bioremediation in presence of heavy metals by a novel heavy metal tolerant strain, *Bacillus* sp. AKD1. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 108, p. 42-47, 2016.

TRAN, P. L.; CHA, H. J.; LEE, J. S.; PARK, S. H.; WOO, E. J.; PARK, K. H. Introducing transglycosylation activity in *Bacillus licheniformis* α -amylase by replacement of His235 with Glu. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 451, n. 4, p. 541-547, 2014.

TRAZZI, P. A.; CALDEIRA, M. V. W.; COLOMBI, R.; GONÇALVES, E. O. Qualidade de mudas de *Murraya paniculata* produzidas em diferentes substratos. **Floresta**, v. 42, n. 3, p. 621-630, 2012.

UENOJO, M.; PASTORE, G. M. Pectinases: aplicações industriais e perspectivas. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 388, 2007.

UGGETTI, E.; FERRER, I.; MOLIST, J.; GARCÍA, J. Technical, economic and environmental assessment of sludge treatment wetlands. **Water Research**, v. 45, n. 2, p. 573-582, 2011.

WEI, Y.; ZHAO, Y.; WANG, H.; LU, Q.; CAO, Z.; CUI, H.; WEI, Z. An optimized regulating method for composting phosphorus fractions transformation based on biochar addition and phosphate-solubilizing bacteria inoculation. **Bioresource Technology**, v. 221, p. 139-146, 2016.

VAN RAIJ, CANTARELA, B. H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo. 2. ed. Campinas: IAC, **Boletim Técnico**, 100, 285, 1996.

VEITH, B.; HERZBERG, C.; STECKEL, S.; FEESCHE, J. O. R.; MAURER, K. H.; EHRENREICH, P.; EHRENREICH, A. The complete genome sequence of *Bacillus licheniformis* DSM13, an organism with great industrial potential. **Journal of molecular microbiology and biotechnology**, v. 7, n. 4, p. 204-211, 2004.

VERMELHO, A. B.; MELO, A. C. N.; SÁ, M. H. B.; SANTOS, A. L. S.; D'AVILA-LEVY, C. M.; COURI, S.; BON, E. P. Enzimas proteolíticas: Aplicações biotecnológicas. **Enzimas em biotecnologia-Produção, aplicações e mercado**, p. 273-287, 2008.

YOUNIS, M. A.; HEZAYEN, F. F.; NOUR-ELDEIN, M. A.; SHABEB, M. S. Optimization of cultivation medium and growth conditions for *Bacillus subtilis* KO strain isolated from sugar cane molasses. **American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science**, v. 7, n. 1, p. 31-37, 2010.

ZHANG, D.; ZHANG, Q. S.; YANG, X. Q.; SHENG, Z. T.; NAN, G. N. The alternation between PSII and PSI in ivy (*Hedera nepalensis*) demonstrated by in vivo chlorophyll a fluorescence and modulated 820 nm reflection. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 108, p. 499-506, 2016.

ZHUANG, X.; WANG, Y.; LI, Q.; YAN, S.; HE, N. The production of bioflocculants by *Bacillus licheniformis* using molasses and its application in the sugarcane industry. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 17, n. 5, p. 1041-1047, 2012.

CAPITULO 2

Efeito da inoculação com *Bacillus licheniformis* sobre a germinação de *Alibertia edulis* (Rich) A. Rich ex DC. (Rubiaceae) submetida a lodo de esgoto

¹Jaqueline da Silva Santos, ¹Montcharles da Silva Pontes, ¹Aline Lazzaretti Cassol, ²Etenaldo Felipe Santiago, ²Margareth Batistote

Resumo

O lodo de esgoto (LE) é o resíduo final proveniente das estações de tratamento de esgoto, é rico em nutrientes, podendo proporcionar benefícios às plantas, no entanto, dependendo da concentração utilizada pode causar danos osmóticos e/ou fitotóxicos, interferindo na germinação das sementes. Nesse estudo objetivou-se avaliar o potencial biorremediador de *Bacillus licheniformis* sobre o lodo de esgoto, para tanto, foram estudadas as respostas germinativas de *Alibertia edulis*, uma espécie nativa do Cerrado. Colônias de *B. licheniformis* foram isoladas a partir do macerado de plantas jovens de *A. edulis*, coletadas em um fragmento de cerrado *sensu stricto*, e reinoculado posteriormente nas sementes dessa mesma espécie, sendo submetidas à embebição em diferentes concentrações de lodo: 0, 25, 50, 75 e 100%, nas condições com inóculo e sem inóculo, cada tratamento contendo 100 sementes. Também avaliou-se os efeitos das concentrações de inóculo (0, 20, 30, 80, 100 e 150 µL), sobre o %G de sementes tratadas com 50% LE. Para as concentrações de LE, verificou-se diferença estatística para 0% LE sem inóculo, com maior percentual germinativo (%G), no entanto, em todas as concentrações de LE o %G das sementes inoculadas sugeriram melhor performance, mesmo frente a isso o tratamento 100% LE foi fitotóxico para *A. edulis* independente do uso do inóculo. Quanto às concentrações do inóculo, constatou-se maior %G em 80 µL e o menor em 150 µL. Mediante os dados obtidos conclui-se que a inoculação com *B. licheniformis* exerce influência sobre o %G de sementes de *A. edulis*.

Palavras-chave- bioossólido, biorremediação, bactéria, Cerrado.

Abstract

Sewage sludge (LE) is the final residue from wastewater treatment plants. It is rich in nutrients, and can provide benefits to plants, however, depending on the concentration used may cause osmotic and/or phytotoxic damage, interfering with seed germination. The objective of this study was to evaluate the potential bioremediation of *Bacillus licheniformis* on sewage sludge, for that, the germination responses of *Alibertia edulis*, a native species of the Cerrado, were studied. Colonies of *B. licheniformis* were isolated from the maceration of young plants of *A. edulis*, collected in a fragment of cerrado *sensu stricto*, and later reinoculated in the seeds of this same species, being submitted to soaking in different concentrations of sludge: 0, 25, 50, 75 and 100%, under conditions: with inoculum and without inoculum, each treatment containing 100 seeds. The effects of inoculum concentrations (0, 20, 30, 80, 100 and 150 μL) were also evaluated, on the %G of seeds treated with 50% LE. For the concentrations of LE, a statistically significant difference was found for 0% LE without inoculum, with higher germination percentage (%G), however, in all concentrations of LE, %G of inoculated seeds suggested better performance, Even against this the 100% LE treatment was phytotoxic to *A. edulis* regardless of inoculum use. Regarding the concentrations of the inoculum, it was found higher %G in 80 μL and lowest in 150 μL . From the data obtained it is concluded that inoculation with *B. licheniformis* exerts influence on the %G of *A. edulis* seeds.

Keywords-biosolids, bioremediation, bacteria, Cerrado.

Introdução

O tratamento de efluentes urbanos gera, diariamente, uma quantidade cada vez maior de lodo de esgoto, diante disso sua disposição final tem se tornado um grave problema ambiental, causando aumento visível dos níveis de poluição, devido sua superacumulação nos aterros sanitários.

O armazenamento do lodo de esgoto requer grandes áreas, o que além de envolver riscos ambientais, torna-se dispendioso, fazendo-se necessário encontrar possibilidades viáveis para o seu uso (SCHEER et al., 2012). A sua utilização como insumo para culturas florestais é uma boa opção de destinação e aproveitamento, sendo seu uso como componente de substratos destinados à produção de mudas de espécies nativas uma das alternativas viáveis para a disposição desse bio sólido (SCHEER et al., 2010; SCHEER et al., 2011), tendo em vista a economia de fertilizantes que esse resíduo proporciona para diversas culturas (MENG et al., 2016), além dos benefícios ambientais (ZHEN et al., 2017).

O lodo de esgoto apresenta grande quantidade de minerais fundamentais para as plantas, dos quais se destacam o fósforo (P), nitrogênio (N), magnésio (Mg), potássio (K), cálcio (Ca), entre outros, bem como constituintes orgânicos necessários para o desenvolvimento vegetal (CAICEDO et al., 2014). Por outro lado, o lodo contém elevadas concentrações de contaminantes, dentre estes estão substâncias oriundas da rotina diária, como os derivados de petróleo, medicamentos, materiais para limpeza, etc. (GUEDES et al., 2015; GUEDES et al., 2016) podendo causar fitotoxicidade (HE et al., 2016; TURNAU et al., 2012) ou danos osmóticos aos vegetais (CITEAU et al., 2011), contudo isso depende das proporções de lodo utilizadas, bem como da sensibilidade da espécie vegetal.

Sabendo da toxicidade do lodo de esgoto para algumas espécies vegetais, a biorremediação consiste em alternativa para a viabilização do uso deste resíduo (LIANG et al., 2014), uma vez que os tratamentos químicos, são em geral de alto custo, justificando a preferência por tratamentos biológicos, que vem se mostrando eficazes para a remoção de diferentes tipos de contaminantes (NAIK & DUBEY, 2013).

A biorremediação pode ser feita por meio de bactérias (SIRIPORNADULSIL & SIRIPORNADULSIL, 2013; ZHOU et al., 2013), fungos (STELLA et al., 2016; WINQUIST et al., 2014), plantas, ou ambos em parceria (LIU et al., 2016; SOBARIU et al., 2016). Algumas bactérias são capazes de reduzir os poluentes presentes em resíduos ou solos contaminados, degradando-os por meio de suas atividades metabólicas (KANG et al., 2015).

Os microrganismos podem também aumentar a capacidade de absorção de nutrientes pelas plantas, dando-lhes maior resistência em situações de estresse ambiental (AHMADI-RAD et al., 2016). Nesse sentido espécies do gênero *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Streptomyces*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Acetobacter*, *Herbaspirillum* entre outras têm sido usadas na agricultura por melhorar o ganho de massa e crescimento vegetal (MARIANO et al., 2013).

Diante da drástica redução da cobertura vegetal nativa, em especial no Cerrado são necessárias alternativas para amenizar danos ambientais, reforçando a necessidade de estudos envolvendo estratégias de produção de mudas de espécies nativas para fins de restauração de áreas degradadas (FERNANDES et al., 2016; LAMB et al., 2005) sobretudo que impliquem na utilização de resíduos (ROJAS-VALENCIA et al., 2011). Assim, torna-se de grande valor conhecer as peculiaridades e comportamento das espécies desse bioma, ressaltando a importância de estudos a respeito da germinação de sementes (PEREIRA & PASQUALETO, 2011).

Dentre as espécies nativas ocorrentes no cerrado *sensu stricto* destaca-se *Alibertia edulis* Rich. (Rubiaceae), uma árvore de pequeno porte, dioica, com plantas femininas apresentando flores grandes e solitárias, e masculinas menores e aglomeradas, os frutos são do tipo baga medindo 4 a 8 centímetros de diâmetro, de coloração marrom escuro quando maduro, as sementes são recalcitrantes (SOUZA & LORENZI, 2005). É uma planta que apresenta potencial farmacológico e etnobotânico (BROCHINI et al., 1994; SANTANA et al., 2016; MENEGATI et al., 2016), os frutos são bastante apreciados pela fauna nativa, que exerce papel de dispersores dessas sementes, facilitando o processo de restauração de áreas degradadas (NERI et al., 2005).

Neste estudo foram avaliadas as respostas germinativas das sementes de *Alibertia edulis* inoculadas com *Bacillus licheniformis*, e submetidas à embebição com diferentes concentrações de lodo de esgoto, com o objetivo de saber se há efeito biorremediador dessa bactéria sobre o bio sólido empregado.

Material e métodos

Coleta e preparo da solução de lodo de esgoto

O lodo de esgoto (LE) utilizado foi procedente da estação de tratamento de esgoto Guaxinim, vinculada à Empresa de Saneamento Básico do Estado de Mato Grosso do Sul

(SANESUL), Dourados, MS, Brasil. Foi maturado e tratado segundo a metodologia proposta por Scheer et al. (2012). As soluções foram preparadas a partir da diluição de 500g/L de LE nas concentrações de 0, 25, 50, 75 e 100%.

No Laboratório de Solos, Plantas e Corretivos da Embrapa Agropecuária Oeste, Dourados/MS, foi realizada a análise da composição físico-química do LE, por meio de espectrofotômetro de absorção atômica (EAA) e espectrofotômetro de absorção molecular (EAM), como apresenta a tabela 1.

Tabela 1 – Principais características físico-químicas do lodo de esgoto proveniente da Estação de Tratamento Guaxinim - SANESUL

Análise de elementos químicos-físicos Presentes no lodo	Valores	Unidades
N	2,93 ± 0.03	%
P	0,90 ± 0.02	%
K	0,07 ± 0	%
Ca	1,55 ± 0.05	%
Mg	0,21 ± 0.007	%
Na	0,07 ± 0	%
Cu	325,44 ± 17.69	mg/Kg
Fe	12524,53 ± 221.11	mg/Kg
Mn	271,23 ± 7.99	mg/Kg
Zn	769,38 ± 20.78	mg/Kg
C _{TOTAL}	22,57	%
Umidade	53,44	%
pH	7,39	-

± = média de vinte leituras, seguida, do desvio padrão das amostras. Embrapa/Dourados.

Coleta e tratamento do material vegetal

Os frutos e plantas jovens de *Alibertia edulis* foram coletados no início do mês de agosto de 2015, a partir de diversas matrizes localizadas num fragmento de cerrado *sensu stricto* na Fazenda Santa Madalena S 22° 08' 25" W 55° 08' 17" próximo à rodovia BR 270, km 45, que liga Dourados a Itahum, em Mato Grosso do Sul, as plantas jovens mediam entre 5 a 15 centímetros, retiradas do solo por inteiro, preservando raiz, caule e folha.

O material botânico foi levado para o Laboratório de Ecologia do Centro de Estudos Ambientais (LE-CERNA), na Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, no Campus de Dourados, processado no período de até 24 horas após a coleta, os frutos foram beneficiados em peneira com água corrente para retirada das sementes, após secas em papel toalha foram acondicionadas sob refrigeração. As plantas foram lavadas com detergente neutro em água corrente abundante para retirar o excesso de microrganismos epifíticos, em seguida, em câmara asséptica, foram imersas em álcool 70% por um minuto, depois em hipoclorito 3% por 4 minutos e novamente em álcool 70% por 30 segundos, ao final do processo para retirar

o excesso de hipoclorito lavou-se o material vegetal em água destilada estéril, segundo a metodologia de (PEREIRA et al., 1993).

Isolamento e crescimento da bactéria

Para o isolamento da bactéria, foram selecionados seis indivíduos, dos quais foram cortados três pequenos fragmentos de 8 x 8 mm da raiz, caule e folha de cada espécime. Em uma cápsula de porcelana, devidamente esterilizada, os fragmentos vegetais foram macerados com auxílio de um pistilo, o material foi homogeneizado em 10 mL de solução salina autoclavada (NaCl, 0,85%), a partir dessa solução foram realizadas diluições seriadas de 1×10^{-1} a 1×10^{-6} .

O plaqueamento foi realizado em triplicata, sendo usado o meio de cultura Ágar Mueller Hinton, autoclavado a 120°C por 20 minutos, em cada placa de Petri foram distribuídos 100 µL da diluição vegetal, em seguida incubadas em estufa a 37°C por 24 horas. Após o crescimento das unidades formadoras de colônia (UFC), foram feitos repiques sucessivos até obter-se colônias puras. Aleatoriamente foi escolhida uma única espécie de bactéria para ser testada na germinação das sementes de *Alibertia edulis*.

A identificação da bactéria isolada foi feita no Hospital da Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD, por meio do equipamento Phoenix: 6.01A, com 99% de confiabilidade, sendo identificada como *Bacillus licheniformis*.

Obtenção da biomassa bacteriana

Para inoculação em meio líquido foram utilizados 3 erlenmeyers, com 50 mL de meio Brain Heart Infusion (BHI), aproximadamente 20 colônias foram inoculadas em cada erlenmeyers, logo depois, foram levados para Shaker (180 rpm), a 37°C por 24 horas.

Após esse período, o meio de cultura foi transferido para tubos falcons, em seguida centrifugado por cinco minutos, com o auxílio de uma pipeta o sobrenadante era retirado e o precipitado ressuspensionado três vezes em solução salina autoclavada (NaCl a 0,85%), sendo que, a cada vez ressuspensionado, o precipitado era novamente centrifugado, esse procedimento foi repetido até que todo o meio de cultura passasse pelo mesmo processo, dessa forma toda a massa bacteriana foi isolada, totalizando uma alíquota de 1mL, esse isolado foi homogeneizado em 4 mL de solução salina, sendo denominada nesse estudo como inóculo.

Montagem do experimento e delineamento experimental

Em câmara asséptica 500 das 1000 sementes devidamente higienizadas, segundo a metodologia de Pereira et al. (1993) receberam o inóculo, depois foram transferidas para placas de petri revestidas com duas folhas de papel Germitest®, ambos previamente esterilizados, feito isso, as diferentes concentrações de LE foram dispostas sobre as placas, sendo esse último procedimento repetido a cada 2 dias, durante a condução do experimento.

Os tratamentos considerados nesse estudo foram: 0%, 25%, 50%, 75%, e 100% lodo de esgoto, nas condições, com inóculo (CI) e sem inóculo (SI). Cada tratamento constituído por quatro repetições com 25 sementes, o delineamento experimental empregado foi inteiramente casualizado. O experimento foi conduzido por 30 dias em câmara de germinação do tipo BOD a 25°C, no (LE- CERNA), foram avaliados os parâmetros germinativos: T : tempo médio de germinação, vi : velocidade média de germinação, CVt : coeficiente de variação do tempo, U : incerteza e Z : índice de sincronia.

Analisado os dados observou-se a necessidade de realizar um segundo experimento, com a finalidade de testar o efeito de diferentes concentrações de inóculo, para tanto os seguintes tratamentos foram considerados: 0, 20, 30, 80, 100 e 150 µl, padronizados em 50% LE, em delineamento inteiramente casualizado, com 4 repetições de 25 sementes, conduzido por 30 dias.

Análise estatística

Para verificação da normalidade de distribuição os dados foram submetidos ao teste Kolmogorov-Smirnov, o teste de Levene foi utilizado para verificação da homogeneidade entre as variâncias, ambos a 0.05 de significância. Atendidas as pressuposições de normalidade e homogeneidade entre as variâncias, aplicou-se aos dados uma Anova two way, acompanhada pelo teste de Tukey a 0.05 de significância, para a comparação das médias. Para os dados das diferentes concentrações de inóculo aplicou-se uma análise de regressão polinomial. Todos os procedimentos estatísticos foram realizados por meio da utilização dos softwares R e BioEstat 5.0.

Resultados

Os dados apresentaram diferença estatística para os parâmetros germinativos avaliados, nas diferentes concentrações de LE, independentemente da utilização do inóculo.

Na condição sem inóculo (SI) os tratamentos com lodo de esgoto tiveram a %G afetada negativamente, sendo verificado nenhuma germinação na maior concentração de LE, e diminuição nas demais, por outro lado o controle (0% LE) mostrou maior %G, com 69% de sementes germinadas.

Para os tratamentos com inóculo (CI) não houve diferença estatística para a %G da maioria das concentrações de lodo, exceto para 100% LE, que exibiu apenas 7% de germinação.

Avaliando os parâmetros germinativos: (\underline{T} , V_i , CV_t , U e Z), na condição sem inóculo verificou-se aumento para \underline{T} e redução de V_i em 0% e 25% LE. Para CV_t , U e Z a concentração 50% LE diferiu estatisticamente das demais, sendo verificado redução em CV_t e U , respectivamente (19,18 e -1,44) e aumento de Z (0,25). Ao passo que em CI estas variáveis não diferiram até a concentração 100% LE, apresentando menor \underline{T} : 8,55, V_i : 0.02, CV_t : 0.69 e maior Z : 0.4, conforme mostrado na tabela 2.

Tabela 2 – Avaliação da influência do inóculo (formulado com *Bacillus licheniformis*) sobre a germinação de sementes de *Alibertia edulis* (Rubiaceae), embebidas nas concentrações: 0, 25, 50, 75 e 100% lodo de esgoto.

	Dinâmica de germinação					
	%G	\underline{T}	V_i	CV_t	U	Z
SI						
0% LE	69 ± 1,43a	18,22 ± 0,07a	0,05 ± 0,0002b	31,85 ± 0,33a	-0,99 ± 0,01a	0,08 ± 0,002b
25% LE	37 ± 1,10b	20,05 ± 0,08a	0,04 ± 0,0002b	26,73 ± 0,57a	-0,73 ± 0,03a	0,10 ± 0,003b
50% LE	45 ± 1,32b	16,19 ± 0,10b	0,06 ± 0,0004a	19,18 ± 0,42b	-1,44 ± 0,03b	0,25 ± 0,01a
75% LE	36 ± 1,60b	16,47 ± 0,29b	0,06 ± 0,001a	26,00 ± 0,13a	-0,72 ± 0,05a	0,10 ± 0,008b
100% LE	0c	0c	0b	0c	0a	0c
CI						
0% LE	48 ± 0,73a	17,45 ± 0,08a	0,05 ± 0,0002a	28,02 ± 0,23a	-0,88 ± 0,01a	0,10 ± 0,003b
25% LE	49 ± 1,57a	16,21 ± 0,10a	0,06 ± 0,0004a	19,57 ± 0,27a	-0,93 ± 0,04a	0,12 ± 0,004b
50% LE	56 ± 2,42a	16,40 ± 0,07a	0,06 ± 0,0002a	30,05 ± 0,59a	-0,88 ± 0,03a	0,08 ± 0,001b
75% LE	49 ± 1,99a	15,44 ± 0,08a	0,06 ± 0,0003a	21,88 ± 0,50a	-0,78 ± 0,06a	0,08 ± 0,005b
100%LE	7 ± 0,94b	8,55 ± 0,99b	0,02 ± 0,0033b	0,69 ± 0,138b	-0,65 ± 0,07a	0,4 ± 0,048a

SI: sem inóculo; CI: com inóculo; %G: porcentagem de germinação; \underline{T} : tempo médio de germinação; V_i : velocidade média de germinação; CV_t : coeficiente de variação do tempo; U : incerteza; Z : índice de sincronia; ± erro padrão. Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

A germinação cumulativa mostra que, as sementes iniciaram a germinação entre 8-10 dias em todos os tratamentos, sendo que a curva germinativa acumulada no 0% LE- SI foi sempre superior aos demais tratamentos ao longo de todo o período experimental, atingindo a maior porcentagem de germinação. As curvas dos demais tratamentos não se sobrepuseram ao longo de todo o período experimental (Figura 1 A).

Na condição SI as curvas dos percentuais germinativos foram heterogêneas, em contrapartida, na condição CI foram homogêneas em quase todos os tratamentos, com exceção da concentração 100% LE (Figura 1).

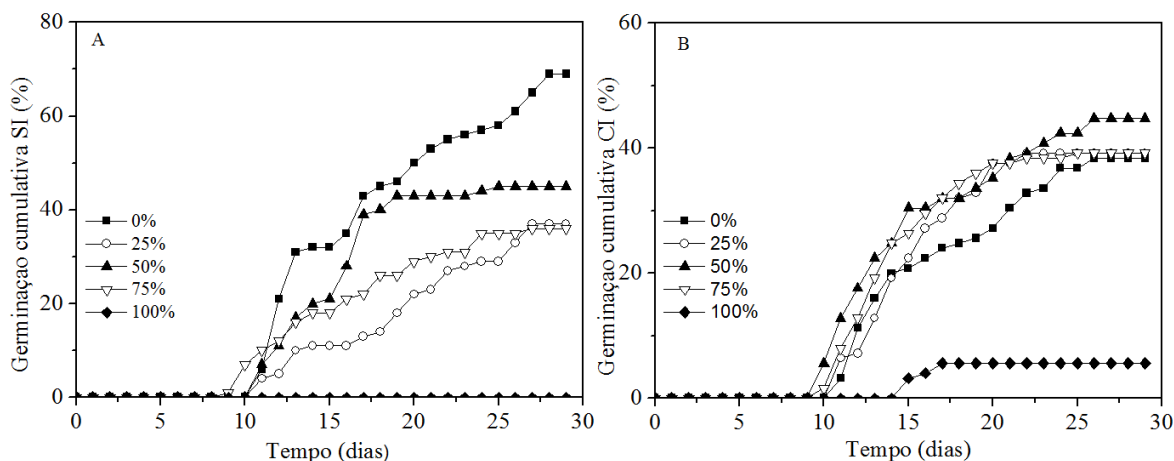


Figura 1. Germinação cumulativa de sementes de *Alibertia edulis* (Rubiaceae) embebidas nas concentrações: 0, 25, 50, 75 e 100% lodo de esgoto, testadas nas condições, (A) sem inóculo (SI) e (B) com inóculo (CI), (formulado com *Bacillus licheniformis*).

Para a frequência relativa observou-se que todos os tratamentos apresentaram distribuição multimodal independente da presença de inóculo. A germinação em ambos os tratamentos esteve distribuída ao longo de 08-29 dias.

As sementes de *Alibertia edulis* sem inóculo apresentaram os maiores picos de germinação entre o 10º e o 20º dia, sendo a maior intensidade de frequência observada no tratamento 75% LE (Figura 2 A).

Para as sementes inoculadas com *B. licheniformis* as maiores intensidades de frequência estão entre o 10º e 18º dias, sendo que o controle e o tratamento 50% apresentaram os maiores picos de germinação. Podendo-se observar que a inoculação aumentou a intensidade de frequência no controle. Evidenciando-a em relação as demais concentrações de LE, com maior frequência germinativa no 13º dia (Figura 2B).

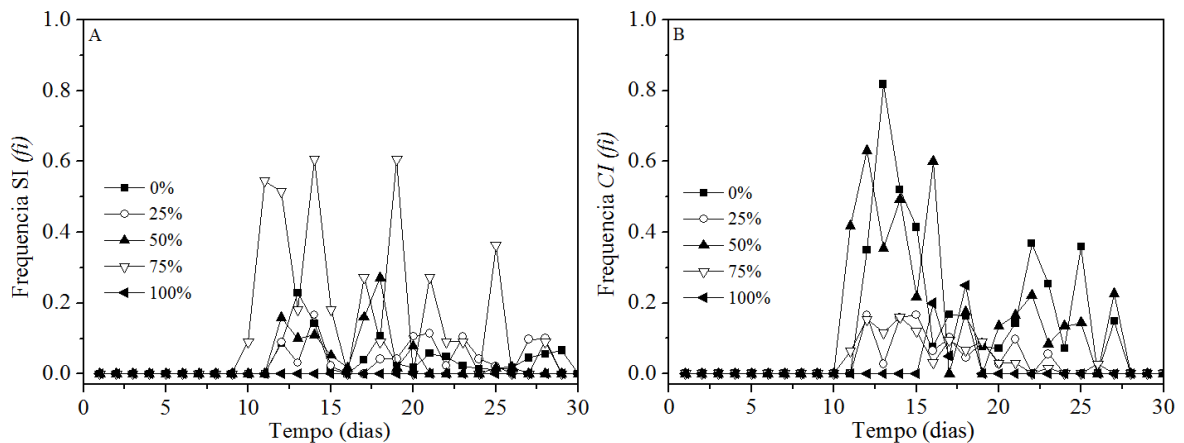


Figura 2. Frequência relativa da germinação (f_i) de sementes de *Alibertia edulis* (Rubiaceae) embebidas nas concentrações: 0, 25, 50, 75 e 100% lodo de esgoto, testadas nas condições, (A) sem inóculo (SI) e (B) com inóculo (CI), (formulado a base de *Bacillus licheniformis*).

Por meio da análise comparativa da porcentagem germinativa, observou-se maior germinação em 0% LE sem inóculo com $P < 0.05$, distinguindo-o estatisticamente de todos os outros tratamentos, por outro lado, 100% lodo teve a mais baixa germinação, independentemente de ser inoculado com *B. licheniformis*. Contudo avaliando as diferentes concentrações de LE a %G sugeriu melhora para condição CI, sempre se sobrepondo à germinação em SI, como mostra a figura 3.

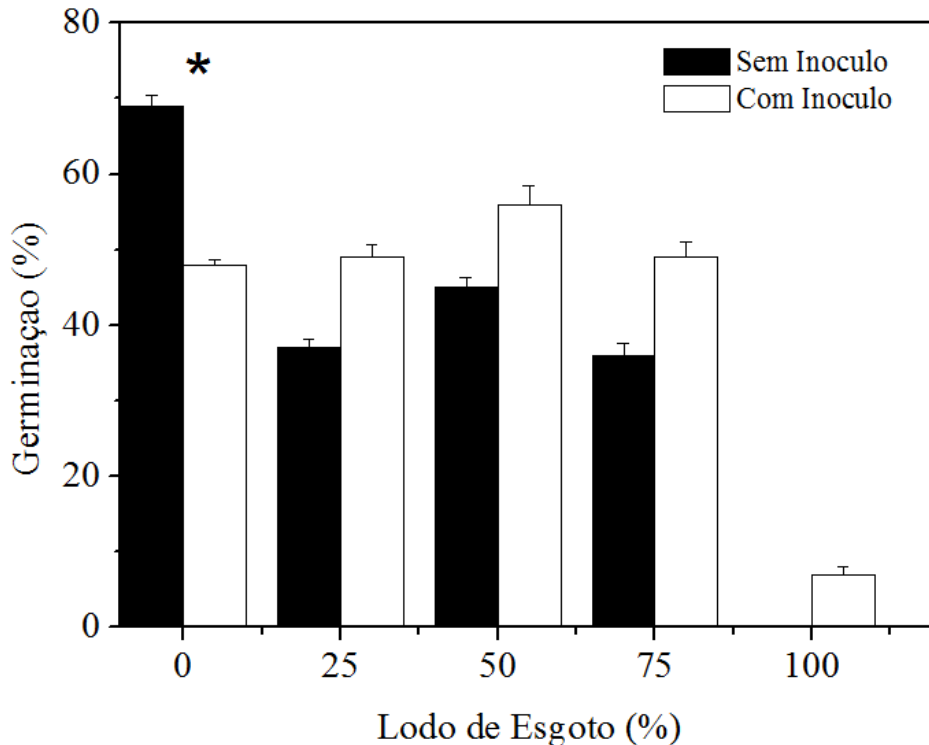


Figura 3. Comparação das médias das porcentagens germinativas (%G) de sementes de *Alibertia edulis* (Rubiaceae), embebidas nas concentrações: 0, 25, 50, 75 e 100% lodo de esgoto, testadas nas condições: sem inóculo e com inóculo (formulado com *Bacillus licheniformis*). O *representa diferença estatística em relação aos demais tratamentos.

Avaliando a influência das concentrações de inóculo sobre a %G das sementes de *A. edulis* (Figura 4), a concentração 80 µL se sobressaiu em relação as demais, com 77 sementes germinadas, ao passo que a menor porcentagem germinativa foi observada na concentração 150 µL, com 39 sementes germinadas. Foi registrado ajuste de regressão ($R^2=0,99$) com ponto de máxima de 81% de germinação a uma concentração de 71 µL de inoculante.

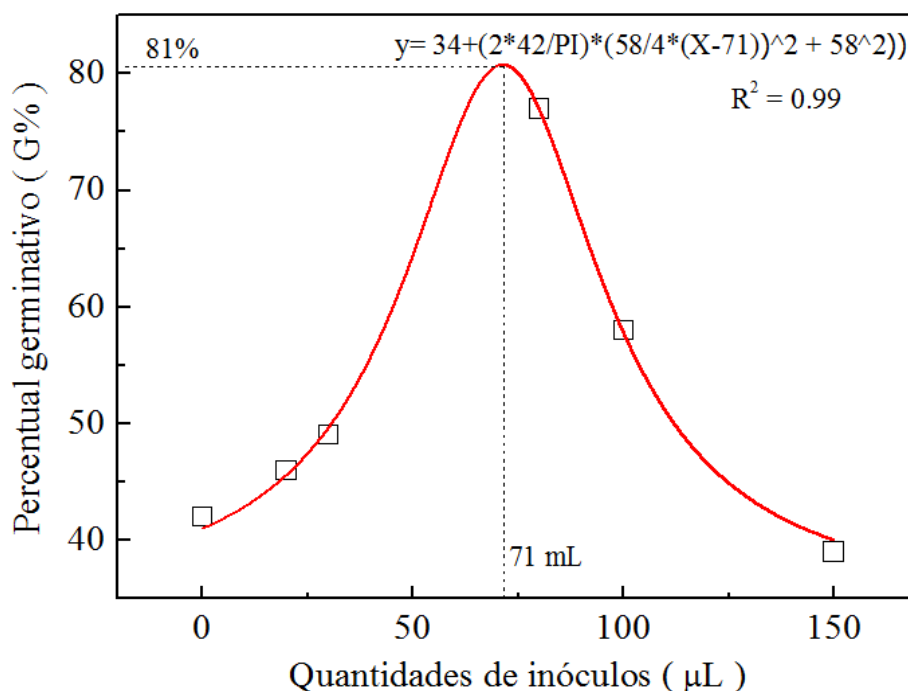


Figura 4. Germinação de sementes de *Alibertia edulis* embebidas com 50% de solução de lodo de esgoto, submetidas a inóculo bacteriano formulado com *Bacillus licheniformis*, nas seguintes concentrações: 0, 20, 30, 80, 100 e 150 µL.

Discussão

Avaliando a influência das diferentes concentrações das soluções de LE, sem analisar o efeito do inóculo, foi observado redução no percentual germinativo para as sementes embebidas com lodo. Resultados similares foram vistos por Pontes et al. (2015) ao estudar a germinação de sementes de *Maclura tinctoria* expostas a esse resíduo. Essa resposta pode estar relacionada ao efeito osmótico das soluções de LE afetando a absorção de água durante a fase II da germinação e conseqüentemente, o balanço hídrico do eixo embrionário (BARROSO et al., 2011; CAI et al., 2010).

De maneira geral, quando sementes são colocadas em soluções salinas, mesmo quando muito concentradas, observa-se a embebição, que neste caso ocorre por conta dos fortes potenciais matriciais presentes nas sementes (ÁVILA et al., 2007). Os potenciais

matriciais, no entanto, tendem a zero com a entrada de água na fase I da germinação (VILLELA et al., 2003), dessa forma, os prováveis efeitos osmóticos das concentrações de LE estariam restritos à fase II, uma vez que nesta fase, a entrada de água é dependente da relação entre os potenciais osmóticos celulares e o potencial da solução de embebição (FONSECA & PEREZ, 2003).

Para as concentrações de LE testadas, a evidente redução dos percentuais germinativos (sobretudo a 100% LE) foi mais eficiente para atestar seu efeito sobre sementes de *A. edulis*, relacionando-os ao efeito osmótico (embora não se descarte os prováveis efeitos fitotóxicos do LE, que serão discutidos em seguida). Já em relação aos resultados observados para os demais parâmetros da dinâmica de germinação não foi possível estabelecer uma correlação entre estas variáveis e as concentrações de LE testadas.

Sementes embebidas em soluções salinas podem apresentar alterações no tempo e velocidade (OLIVEIRA & GOMES-FILHO, 2009) ou no sincronismo da germinação (LAVEZO et al., 2015), em geral efeitos no atraso da germinação refletem aumento no tempo médio de germinação e redução na velocidade (DANTAS et al., 2014).

Manter condições que proporcione germinação rápida e uniforme é preferível na produção de mudas para fins de restauração ambiental (PACHECO et al., 2006), contudo a heterogeneidade na germinação pode ser característica da própria espécie vegetal ou mesmo ser imposta por fatores externos (LONE et al., 2007; SILVA & AGUIAR, 2004), como exemplo, pode ocorrer aumento no tempo médio de germinação em decorrência de problemas na absorção de água pela semente, conseqüentemente afetando a sincronia de germinação (TEIXEIRA et al., 2011), isto pode estar relacionado ao tempo que a semente leva para adaptar-se as condições impostas (BRANCALION & MARCOS FILHO, 2008).

Além do efeito osmótico, sementes imersas em solução de LE podem apresentar problemas relacionados à fitotoxicidade de compostos presentes no resíduo (RAMÍREZ et al., 2008), ou mesmo ocasionados pelo desbalanço nutricional, influenciando na sobrevivência das espécies (ANTOLÍN et al., 2010).

Durante a germinação, sementes em contato com lodo de esgoto podem apresentar danos em suas membranas celulares, em decorrência da sensibilidade de algumas espécies vegetais à elementos como o alumínio, cádmio, cobre, entre outros, que estão disponíveis no lodo em quantidades representativas (LI et al., 2016; FANG et al., 2016; FANG et al., 2017).

Em 100% LE foi visto a menor %G, sendo que as sementes sem inóculo não germinaram, e as inoculadas germinaram apenas 7%, isso pode ser explicado pela maior quantidade de íons solúveis nessa concentrada solução de lodo, estando isso relacionado à diminuição da absorção de água pelas sementes, como resultado do nível elevado de salinidade, gerando a toxicidade pela maior eletronegatividade no potencial osmótico da solução de lodo de esgoto (DASH, 2012).

Embora o lodo de esgoto tenha potencial biofertilizante, devido a sua carga nutricional (MAZZEO et al., 2016; SUCIU et al., 2015; TURNAU et al., 2012), apresenta também alta toxidez (LIU & SUM, 2013; HE et al., 2016), assim, uma alternativa para viabilizar o uso desse resíduo como componente de substrato para espécies vegetais, seria o uso de bactérias biorremediadoras (NAIK et al., 2013; SIRIPORNADULSIL & SIRIPORNADULSI, 2013), como *Bacillus licheniformis*. Essa bactéria, por meio de suas atividades metabólicas absorve metais como: Cu, Fe, Mn, nutrientes estes encontrados em grande quantidade no LE (POLONIO et al., 2015).

Brunetti et al. (2012) testaram a capacidade de fitoextração de Cr, Cu, Pb e Zn por três espécies de Brassicaceae cultivadas em substrato inoculado com *Bacillus licheniformis*, obtiveram nessa pesquisa resultados positivos. Esses dados corroboram com os resultados observados no presente trabalho, visto que, na presença do lodo notou-se tendência a melhor germinação e maior homogeneidade dos parâmetros germinativos avaliados. Isto deve ter ocorrido devido à afinidade desse microrganismo a elementos presentes no lodo.

Resultados de melhora germinativa frente a inoculação com espécies de *Bacillus* foram observados também por Radhakrishnan et al. (2016), que em sua pesquisa registraram aumento da germinação de sementes de alface inoculadas com *Bacillus methylotrophicus*. Em outro estudo Chávez et al. (2016) analisando *Bacillus* isolados da rizosfera de *Mammillaria coryphantha* (Cactaceae) e reinoculados posteriormente nas sementes da mesma espécie notaram efeitos positivos na germinação. Na mesma vertente Shahzad et al. (2016) examinando isolados de *B. amyloliquefaciens* obtiveram melhora germinativa em sementes de arroz.

No presente estudo o uso do inóculo com *B. licheniformis* parece ter agido minimizando efeitos do desajuste fisiológico causado pelo lodo à germinação de *A. edulis*, visto que, de acordo com Brunetti et al. 2012 e Polonio et al. 2015 essa bactéria auxilia no processo de absorção de alguns nutrientes, disponíveis no lodo em grandes quantidades,

diante disso esse *Bacillus* possivelmente agiu amenizando efeitos negativos promovidos pelo desbalanço nutricional desse resíduo, absorvendo ou metabolizando metais pesados, diminuindo seu teor tóxico, abrandando dessa forma o efeito de uma eventual condição de estresse na qual o vegetal estava exposto.

A interação entre microrganismos e hospedeiro pode ser positiva, negativa ou neutra, dependendo da afinidade da relação entre ambos, um microrganismo pode estabelecer relação simbiótica com uma espécie vegetal específica, e comportar-se de maneira distinta em contato com outras plantas (CONTI et al., 2012). Esta interação depende de um equilíbrio antagônico, pois microrganismos considerados endofíticos podem ser fitopatogênicos em seu estado latente (SELOSSE et al., 2004). Isso provavelmente explica a redução no percentual germinativo das sementes inoculadas e não tratadas com lodo, visto que, no Cerrado essa bactéria estava presente nos tecidos de *Alibertia edulis* e conviviam harmoniosamente, no entanto em laboratório a dinâmica ambiental é diferente da encontrada em campo, pois tanto as sementes passaram por assepsia quanto a água destilada, na qual estas foram embebidas, foi autoclavada.

Bactérias do gênero *Bacillus* são citadas na literatura científica como produtoras de giberelina (RADHAKRISHNAN & LEE, 2016; SHAHZAD et al., 2016), considerando a importância desse hormônio para o sucesso germinativo de sementes, os resultados obtidos no presente trabalho parecem não apontar *B. licheniformis* como produtor do referido hormônio, visto que, na ausência do lodo o inóculo dessa bactéria parece ter provido diminuição do percentual germinativo.

No presente estudo quando testada a influência de diferentes concentrações de inóculo sobre sementes tratadas com 50% de lodo, observou-se comportamento quadrático, com maior germinação na concentração 80 µl. Sabendo que *B. licheniformis* sintetiza amilase (AFRISHAM et al., 2016; HALIM et al., 2014; HU et al., 2012; LUO et al., 2016; MARTÍNEZ et al., 2014; TRAN et al., 2014), o que possivelmente justifica essa maior %G seria que, ao hidrolisar o amido presente na semente para uso em suas atividades metabólicas, ocasionalmente a bactéria pode ter favorecido a assimilação das reservas pelo eixo embrionário em desenvolvimento.

Por outro lado, a não manutenção do rendimento germinativo nas maiores concentrações do inóculo pode estar associado à maior quantidade de produtos liberados pelas bactérias durante suas atividades metabólicas, podendo estes se ligarem a receptores

presentes nas membranas celulares do embrião, interferindo no sucesso germinativo (SANSINENA & ORTIZ, 2011).

Conclusão

O tratamento 0% lodo sem inóculo mostrou diferença estatística em relação aos demais, apresentando maior germinação.

Nos tratamentos com lodo de esgoto as sementes inoculadas com *Bacillus licheniformis* sugerem aumento na performance germinativa de *Alibertia edulis*, com maior uniformidade para todos os parâmetros avaliados nessa pesquisa.

A concentração 100% lodo foi fitotóxica as sementes de *Alibertia edulis*, com 7% de germinação para as sementes com inóculo e 0% para as sem inóculo.

Para as diferentes concentrações de inóculo testadas nesse estudo: 0, 20, 30, 80, 100 e 150 µl obteve-se melhor germinação nas sementes submetidas à 80 µL de inóculo, com 77% de germinação, ao passo que o menor percentual germinativo foi observado na concentração 150 µL, com 39 de %G.

Referências

AFRISHAM, S.; BADOEI-DALFARD, A.; NAMAKI-SHOUSHTARI, A.; KARAMI, Z. Characterization of a thermostable, CaCl₂-activated and raw-starch hydrolyzing alpha-amylase from *Bacillus licheniformis* AT70: Production under solid-state fermentation by utilizing agricultural wastes. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 132, p. 98-106, 2016.

AHMADI-RAD, S.; GHOLAMHOSEINI, M.; GHALAVAND, A.; ASGHARZADEH, A.; DOLATABADIAN, A. Foliar application of nitrogen fixing bacteria increases growth and yield of canola grown under different nitrogen regimes. **Rhizosphere**, v. 2, p. 34-37, 2016.

ANTOLÍN, M. C.; MURO, I.; SÁNCHEZ-DÍAZ, M. Application of sewage sludge improves growth, photosynthesis and antioxidant activities of nodulated alfalfa plants under drought conditions. **Environmental and Experimental Botany**, v. 68, p. 75–82, 2010.

ÁVILA, M. R.; BRACCINI, A. D. L.; SCAPIM, C. A.; FAGLIARI, J. R.; SANTOS, J. D. Influência do estresse hídrico simulado com manitol na germinação de sementes e crescimento de plântulas de canola. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 1, p. 98-106, 2007.

BARROSO, L. B.; WOLFF, D. B. Reúso de esgoto sanitário na irrigação de culturas agrícolas. **Engenharia Ambiental: Pesquisa e Tecnologia**, v. 8, n. 3, p. 225-236, 2011.

BRANCALION, P. H. S.; MARCOS FILHO, J. Distribuição da germinação no tempo: causas e importância para a sobrevivência das plantas em ambientes naturais. **Informativo Abrates**, v. 18, p. 11-17, 2008.

BROCHINI, C. B.; MARTINS, D.; ROQUE, N. F.; BOLZANI, V. D. S. An oleanane acid from *Alibertia edulis*. **Phytochemistry**, v. 36, p. 1293-1295, 1994.

CAI, H.; CHEN, T.; LIU, H.; GAO, D.; ZHENG, G.; ZHANG, J. The effect of salinity and porosity of sewage sludge compost on the growth of vegetable seedlings. **Scientia Horticulturae**, v. 124, p. 381-386, 2010.

BRUNETTI, G.; FARRAG, K.; SOLER-ROVIRA, P.; FERRARA, M.; NIGRO, F.; SENESI, N. The effect of compost and *Bacillus licheniformis* on the phytoextraction of Cr, Cu, Pb and Zn by three brassicaceae species from contaminated soils in the Apulia region, Southern Italy. **Geoderma**, v. 170, p. 322-330, 2012.

CAICEDO, P. V.; RAHMAN, K. Z.; KUSCHK, P.; BLUMBERG, M.; PASCHKE, A.; JANZEN, W.; SCHÜÜRMAN, G. Comparison of heavy metal content in two sludge drying reed beds of different age. **Ecological Engineering**, v. 74, p. 48-55, 2014.

CHÁVEZ, A. L. A.; HERNÁNDEZ, M. A.; CABRERA, L. J. A.; LUNA, M. L.; PACHECO, A. J. R. Aislados de *Bacillus* provenientes de la rizósfera de cactus incrementan la germinación y la floración en *Mammillaria* spp. (Cactaceae). **Revista Argentina de Microbiología**, 2016.

CITEAU, M.; LARUE, O.; VOROBIEV, E. Influence of salt, pH and polyelectrolyte on the pressure electro-dewatering of sewage sludge. **Water research**, v. 45, p. 2167-2180, 2011.

CONTI, R.; GUIMARÃES, D. O.; PUPO, M. T. Aprendendo com as interações da natureza: microrganismos simbiotes como fontes de produtos naturais bioativos. **Ciência e Cultura**, v. 64, p. 43-47, 2012.

DANTAS, B. F.; RIBEIRO, R. C.; MATIAS, J. R.; ARAÚJO, G. G. L. Germinative metabolism of Caatinga forest species in biosaline agriculture. **Journal of Seed Science**, v. 36, n. 2, p. 194-203, 2014.

DASH, A. K. Impact of domestic waste water on seed germination and physiological parameters of rice and wheat. **IJRRAS**, v.12, p. 280-286, 2012.

FANG, W.; DELAPP, R. C.; KOSSON, D. S.; VAN DER SLOOT, H. A.; LIU, J. Release of heavy metals during long-term land application of sewage sludge compost: Percolation leaching tests with repeated additions of compost. **Chemosphere**, v. 169, p. 271-280, 2017.

FANG, W.; WEI, Y.; LIU, J.; KOSSON, D. S.; VAN DER SLOOT, H. A.; ZHANG, P. Effects of aerobic and anaerobic biological processes on leaching of heavy metals from soil amended with sewage sludge compost. **Waste Management**, v. 58, p. 324-334, 2016.

FERNANDES, G. W.; COELHO, M. S.; MACHADO, R. B.; FERREIRA, M. E.; DE SOUZA AGUIAR, L. M.; DIRZO, R.; LOPES, C. R. Afforestation of savannas: an impending ecological disaster. **Natureza & Conservação**, v. 14, p. 146-151, 2016.

FONSECA, S. C. L.; PEREZ, S. C. J. G. D. Germination of *Adenanthera pavonina* L. seeds: PEG and polyamines effects under different temperatures. **Revista Brasileira de sementes**, v. 25, n. 1, p. 1-6, 2003.

GUEDES, P.; MAGRO, C.; COUTO, N.; MOSCA, A.; MATEUS, E. P.; RIBEIRO, A. B. Potential of the electro-dialytic process for emerging organic contaminants remediation and phosphorus separation from sewage sludge. **Electrochimica Acta**, v. 181, p. 109-117, 2015.

GUEDES, P.; MATEUS, E. P.; ALMEIDA, J.; FERREIRA, A. R.; COUTO, N.; RIBEIRO, A. B. Electro-dialytic treatment of sewage sludge: Current intensity influence on phosphorus recovery and organic contaminants removal. **Chemical Engineering Journal**, v. 306, p. 1058-1066, 2016.

HALIM, A. A. A.; ZAROOG, M. S.; KADIR, H. A.; TAYYAB, S. Alcohol-induced structural transitions in the acid-denatured *Bacillus licheniformis* α -amylase. **Journal of Saudi Chemical Society**, 2014.

HE, X.; ZHANG, Y.; SHEN, M.; ZENG, G.; ZHOU, M.; LI, M. Effect of vermicomposting on concentration and speciation of heavy metals in sewage sludge with additive materials. **Bioresource Technology**, v. 218, p. 867-873, 2016.

HU, H. Y.; YANG, J. C.; CHEN, J. H.; CHI, M. C.; LIN, L. L. Enzymatic characterization of *Bacillus licheniformis* γ -glutamyltranspeptidase fused with N-terminally truncated forms of *Bacillus* sp. TS-23 α -amylase. **Enzyme and microbial technology**, v. 51, p. 86-94, 2012.

JOE, M. M.; DEVARAJ, S.; BENSON, A.; SA, T. Isolation of phosphate solubilizing endophytic bacteria from *Phyllanthus amarus Schum & Thonn*: Evaluation of plant growth promotion and antioxidant activity under salt stress. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 3, n. 2, p. 71-77, 2016.

KANG, C. H.; OH, S. J.; SHIN, Y.; HAN, S. H.; NAM, I. H.; SO, J. S. Bioremediation of lead by ureolytic bacteria isolated from soil at abandoned metal mines in South Korea. **Ecological Engineering**, v. 74, p. 402-407, 2015.

LAMB, D.; ERSKINE, P. D.; PARROTTA, J. A. Restoration of degraded tropical forest landscapes. **Science**, v. 310, p. 1628-1632, 2005.

LAVEZO, A.; BRAGA, L.; BATISTÃO, A.; BONFANTE, L. Estresse osmótico na germinação de sementes de *Petiveria alliacea* L. **Rev. bras. plantas med**, v. 17, n. 4, p. 622-630, 2015.

LIANG, Q.; LEI, M.; CHEN, T.; YANG, J.; WAN, X.; YANG, S. Application of sewage sludge and intermittent aeration strategy to the bioremediation of DDT-and HCH-contaminated soil. **Journal of Environmental Sciences**, v. 26, p. 1673-1680, 2014.

LI, J.; GAN, J.; HU, Y. Characteristics of Heavy Metal Species Transformation of Pb, Cu, Zn from Municipal Sewage Sludge by Thermal Drying. **Procedia Environmental Sciences**, v. 31, p. 961-969, 2016.

LIU, J. Y.; SUN, S. Y. Total concentrations and different fractions of heavy metals in sewage sludge from Guangzhou, China. **Transactions of Nonferrous Metals Society of China**, v. 23, p. 2397-2407, 2013.

LIU, S. H.; ZENG, G. M.; NIU, Q. Y.; LIU, Y.; ZHOU, L.; JIANG, L. H.; CHENG, M. Bioremediation mechanisms of combined pollution of PAHs and heavy metals by bacteria and fungi: A mini review. **Bioresource Technology**, 2016.

LONE, A. B.; TAKAHASHI, L. S. A.; DE FARIA, R. T.; UNEMOTO, L. K. Germinação de *Melocactus bahiensis* (Cactaceae) em diferentes substratos e temperaturas. **Scientia Agraria**, v. 8, n. 4, p. 365-369, 2007.

LUO, Z.; TUCKER, G.; BROWN, H. Empirical manipulation of the thermoinactivation kinetics of *Bacillus amyloliquefaciens* and *Bacillus licheniformis* α -amylases for thermal process evaluations. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 38, p. 272-280, 2016.

MARIANO, R. D. L. R.; SILVEIRA, E. B.; ASSIS, S. M. P.; GOMES, A. M. A.; NASCIMENTO, A. R. P.; DONATO, V. M. T. S. Importância de bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para uma agricultura sustentável. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, v. 1, p.89-111, 2013.

MARTÍNEZ, G. J. F.; JURADO, A. E.; CARRASQUILLA, C. J. L.; JIMÉNEZ, P, J. L.; ROMERO, P. P. M. Characterization of the ozone effect over an α -amylase from *Bacillus licheniformis*. **Biochemical Engineering Journal**, v. 85, p. 119-124, 2014.

MAZZEO, D. E. C.; CASADO, M.; PIÑA, B.; MARIN-MORALES, M. A. Detoxification of sewage sludge by natural attenuation and implications for its use as a fertilizer on agricultural soils. **Science of The Total Environment**, v. 572, p. 978-985, 2016.

MENEGATI, S. E. L. T.; DE LIMA, F. F.; TRAESEL, G. K.; SOUZA, R. I. C.; DOS SANTOS, A. C.; DE SANTANA, A, D. F.; OESTERREICH, S. A. Acute and subacute

toxicity of the aqueous extract of *Alibertia edulis* (Rich.) A. Rich. ex DC. in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, 2016.

MENG, L.; LI, W.; ZHANG, S.; WU, C.; LV, L. Feasibility of co-composting of sewage sludge, spent mushroom substrate and wheat straw. **Bioresource Technology**, 2016.

NAIK, M. M.; DUBEY, S. K. Lead resistant bacteria: lead resistance mechanisms, their applications in lead bioremediation and biomonitoring. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 98, p. 1-7, 2013.

NERI, A. V.; CAMPOS, E. D.; DUARTE, T. G.; MEIRA NETO, J. A. A.; SILVA, A. D.; VALENTE, G. E. Regeneração de espécies nativas lenhosas sob plantio de *Eucalyptus* em área de Cerrado na Floresta Nacional de Paraopeba, MG, Brasil. **Acta botanica brasílica**, v. 19, p. 369-376, 2005.

OLIVEIRA, A. B. D.; GOMES-FILHO, E. Germination and vigor of sorghum seeds under water and salt stress. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 3, p. 48-56, 2009.

PACHECO, M. V.; MATOS, V. P.; FERREIRA, R. L. C.; FELICIANO, A. L. P.; PINTO, K. M. S. Efeito de temperaturas e substratos na germinação de sementes de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All.(Anacardiaceae). **Revista Árvore**, v. 30, n. 3, p. 359-367, 2006.

PEREIRA, J. O.; AZEVEDO, J. L.; PETRINI, O. Endophytic fungi of *Stylosanthes*: a first report. **Mycologia**, v. 85, p. 362-364, 1993.

PEREIRA, M. E.; PASQUALETO, A. Desenvolvimento sustentável com ênfase em Frutíferas do Cerrado. **Estudos**, v. 38, n. 2, p. 333-363, 2011.

POLONIO, J. C.; POLLI, A. D.; BULLA, L. M. C.; Rosseto, P; SANTOS, C. M.; RHODEN, S. A.; CONTE, H. Potencial biorremediador de microrganismos: Levantamento de resíduos industriais e urbanos tratáveis no município de Maringá-PR. **BBR-Biochemistry and Biotechnology Reports**, v. 3, p. 31-45, 2015.

PONTES, M. S.; SANTIAGO, E. F.; NOBREGA, M. A. S.; BARBOSA, V. M., MOTTA, I. S. Germinação de Sementes de *Maclura tinctoria* (L.) D. Dom ex Steud. (Moraceae) Embebidas em Lodo de Esgoto. **Cadernos de Agroecologia**, v. 9, n. 4, 2015.

RADHAKRISHNAN, R.; LEE, I. J. Gibberellins producing *Bacillus methylotrophicus* KE2 supports plant growth and enhances nutritional metabolites and food values of lettuce. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 109, p. 181-189, 2016.

RAMÍREZ, W. A.; DOMENE, X.; ALCANIZ, J. M. Phytotoxic effects of sewage sludge extracts on the germination of three plant species. *Ecotoxicology*, v. 17, p. 834-844, 2008.

ROJAS-VALENCIA, M. N.; DE VELASQUEZ, M. O.; FRANCO, V. Urban agriculture, using sustainable practices that involve the reuse of wastewater and solid waste. **Agricultural Water Management**, v. 98, p. 1388-1394, 2011.

SANSINENEA, E.; ORTIZ, A. Secondary metabolites of soil *Bacillus* spp. **Biotechnology letters**, v. 33, n. 8, p. 1523-1538, 2011.

SANTANA A, D. F.; TIRLONI, C. A. S.; MENEGATI, S. E. L. T.; CARDOSO, C. A. L.; VIEIRA, S. C. H.; DO CARMO, V, M.; JUNIOR, A. G. *Alibertia edulis* (LC Rich.) AC Rich-a potent diuretic arising from Brazilian indigenous species. **Journal of Ethnopharmacology**, 2016.

SCHEER, M. B.; CARNEIRO, C.; BRESSAN, O. A.; SANTOS, K. G. Compostos de lodo de esgoto para a produção de mudas de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan. **Cerne**, Lavras, v.18, p. 613-621, 2012.

SCHEER, M. B.; CARNEIRO, C.; SANTOS, K. G.; BRESSAN, O. A.; HOROKOSKI, G. Produção de mudas de *Calophyllum brasiliense* Cambess com substratos comercial e à base de lodo de esgoto compostado. **Revista DAE**, São Paulo, v. 185, p. 55-61, 2011.

SCHEER, M. B.; CARNEIRO, C.; SANTOS, K. G. Substratos à base de lodo de esgoto compostado na produção de mudas de *Paraptadenia rigida* (Benth.) Brenan. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 38, p. 637-644, 2010.

SELOSSE, M. A.; BAUDOIN, E.; VANDENKOORNHUYSE, P. Symbiotic microorganisms, a key for ecological success and protection of plants. **Comptes rendus biologiques**, v. 327, n. 7, p. 639-648, 2004.

SHAH, G.; JAN, M.; AFREEN, M.; ANEES, M.; REHMAN, S.; DAUD, M. K.; JAMIL, M. Halophilic bacteria mediated phytoremediation of salt-affected soils cultivated with rice. **Journal of Geochemical Exploration**, 2016.

SHAHZAD, R.; WAQAS, M.; KHAN, A. L.; ASAF, S.; KHAN, M. A.; KANG, S. M.; LEE, I. J. Seed-borne endophytic *Bacillus amyloliquefaciens* RWL-1 produces gibberellins and regulates endogenous phytohormones of *Oryza sativa*. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 106, p. 236-243, 2016.

SILVA, L. M. M.; AGUIAR, I. B. Effect of substrates and temperatures on germination of *Cnidoscopus phyllacanthus* Pax & K. Hoffm seeds. **Revista Brasileira de sementes**, v. 26, n. 1, p. 9-14, 2004.

SIRIPORNADULSIL, S.; SIRIPORNADULSIL, W. Cadmium-tolerant bacteria reduce the uptake of cadmium in rice: potential for microbial bioremediation. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 94, p. 94-103, 2013.

SOBARIU, D. L.; FERTU, D. I. T.; DIACONU, M.; PAVEL, L. V.; HLIHOR, R. M.; DRĂGOI, E. N.; GAVRILESCU, M. Rhizobacteria and plant symbiosis in heavy metal uptake and its implications for soil bioremediation. **New Biotechnology**, 2016.

SOUZA, V. CASTRO.; LORENZI, HARRI. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira**, baseado em APG II. Instituto Plantarum, 2005.

STELLA, T.; COVINO, S.; ČVANČAROVÁ, M.; FILIPOVÁ, A.; PETRUCCIOLI, M.; D'ANNIBALE, A.; CAJTHAML, T. Bioremediation of long-term PCB-contaminated soil by white-rot fungi. **Journal of Hazardous Materials**, 2016.

SUCIU, N. A.; LAMASTRA, L.; TREVISAN, M. PAHs content of sewage sludge in Europe and its use as soil fertilizer. **Waste Management**, v. 41, p. 119-127, 2015.

TEIXEIRA, R. N.; TOLEDO, M. Z.; FERREIRA, G.; CAVARIANI, C.; JASPER, S. P. Germinação e vigor de sementes de crambe sob estresse hídrico. **Irriga**, v. 16, n. 1, p. 42, 2011.

TRAN, P. L.; CHA, H. J.; LEE, J. S.; PARK, S. H.; WOO, E. J.; PARK, K. H. Introducing transglycosylation activity in *Bacillus licheniformis* α -amylase by replacement of His235 with Glu. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 451, p. 541-547, 2014.

TURNAU, K.; GAWROŃSKI, S.; RYSZKA, P.; ZOOK, D. Mycorrhizal-based phytostabilization of Zn–Pb tailings: lessons from the Trzebionka mining works (Southern Poland). In: **Bio-Geo Interactions in Metal-Contaminated Soils**. Springer Berlin Heidelberg, p. 327-348, 2012.

VILLELA, F. A.; MARCOS FILHO, J.; NOVENBRE, A. D. L. C. Estado energético da água na semente de milho no processo de germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 25, n. 1, p. 95-100, 2003.

WANI, P. A., KHAN, M. S. species enhance growth parameters of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in chromium stressed soils. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 11, p. 3262-3267, 2010.

WINQUIST, E.; BJÖRKLÖF, K.; SCHULTZ, E.; RÄSÄNEN, M.; SALONEN, K.; ANASONYE, F.; TUOMELA, M. Bioremediation of PAH-contaminated soil with fungi—From laboratory to field scale. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 86, p. 238-247, 2014

ZHEN, G.; LU, X.; KATO, H.; ZHAO, Y.; LI, Y. Y. Overview of pretreatment strategies for enhancing sewage sludge disintegration and subsequent anaerobic digestion: Current advances, full-scale application and future perspectives. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 69, p. 559-577, 2017.

ZHOU, Q.; CHEN, Y.; YANG, M.; LI, W.; DENG, L. Enhanced bioremediation of heavy metal from effluent by sulfate-reducing bacteria with copper–iron bimetallic particles support. **Bioresource technology**, v. 136, p. 413-417, 2013.

CAPITULO 3

Condutância estomática e fluorescência da clorofila-*a* em plantas jovens de *Alibertia edulis* (Rich) A. Rich ex DC. (Rubiaceae) adubadas com lodo de esgoto

¹Jaqueline da Silva Santos, ¹Montcharles da Silva Pontes, ¹Yoavi Abel Kissi, ¹Daniela Espanguer Graciano, ²Etenaldo Felipe Santiago

Resumo

O lodo de esgoto (LE) é o resíduo sólido formado nas Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs), rico em matéria orgânica e nutrientes, possui grande quantidade de metais, que dependendo da sensibilidade das plantas e porcentagem de lodo utilizada, tanto pode favorecer o desenvolvimento e crescimento vegetal, como pode causar danos osmóticos e/ou fitotóxicos. Nesse sentido diferentes proporções de LE foram testadas em plantas jovens de *Alibertia edulis*, com o objetivo de gerar conhecimento sobre respostas fisiológicas de plantas nativas do Cerrado adubadas com esse resíduo. Para isso foram analisados dados da fluorescência da clorofila-*a* (FChl-*a*), condutância estomática (*G_s*) e temperatura foliar (TF), métodos práticos e não destrutivos de avaliação de estresse em plantas. Na maioria dos parâmetros avaliados nessa pesquisa o desempenho fisiológico de *Alibertia edulis* não diferiu significativamente entre os tratamentos com e sem lodo, no entanto o tratamento 75% LE destacou-se em relação aos demais por mostrar melhor fluxo específico de absorção por centro de reação (ABS/RC), e fluxo específico de captura por centro de reação (TRo/RC). Nesse estudo foi observado menor *G_s* e TF em 100% lodo, contudo pela fluorescência da clorofila-*a* não foram observados indícios de menor performance fotossintética nessa proporção de lodo, indicando que ajustes fisiológicos proporcionaram tolerância de *Alibertia edulis* ao lodo de esgoto.

Palavras-chave- Cerrado, bio-sólido, reutilização, tolerância.

Abstract

Sewage sludge (LE) is the solid residue formed in the sewage treatment station (ETEs), rich in organic matter and nutrients, On the other hand has a large amount of metals, which depending on the sensitivity of plants can both favor plant development and growth as it can cause osmotic or phytotoxic damage. In this sense, different proportions of LE were tested in young plants of *Alibertia edulis*, aiming to generate knowledge about physiological responses of native plants fertilized with this residue. For that, data on the fluorescence of chlorophyll-a (FChl-*a*), stomatal conductance (*G*_s) and leaf temperature (TF), practical and non-destructive methods of stress evaluation in plants were analyzed. In most of the parameters evaluated in this research the physiological performance of *Alibertia edulis* did not differ significantly between treatments with and without sludge, However, the 75% LE treatment was better than the others because it showed a better specific flow of absorption by reaction center (ABS / RC), and specific flow of capture by reaction center (TRo / RC). In this study smaller *G*_s and TF were observed in 100% sludge, However, due to the chlorophyll-*a* fluorescence, no evidence of photosynthetic performance in this proportion of sludge was observed, indicating that physiological adjustments provided tolerance of *Alibertia edulis* to sewage sludge.

Keywords- Closed, biosolid, reuse, tolerance.

Introdução

A necessidade de remediar os problemas ocasionados pelas ações antrópicas, aumenta a busca por metodologias ambientalmente corretas, que visam minimizar os impactos gerados pela expansão das cidades e pela crescente produção de resíduos domésticos e industriais, nesse sentido, a utilização de resíduos é uma prática desejável por reduzir custos e impactos ao meio ambiente.

O lodo de esgoto é o resíduo obtido ao final do tratamento das águas residuais, com a finalidade de torná-las adequadas para disposição em corpos hídricos receptores (BERTHOD et al., 2016; OLSSON et al., 2014). Com o grande volume de águas dispostas tratadas nas estações de tratamento de esgoto, grande quantidade de lodo pode ser acumulada, dessa forma a sua disposição final torna-se um grave problema ambiental exigindo estratégias ambientalmente adequadas de reutilização (VILLEGAS & HUILIÑIR, 2014; ZHAO et al., 2012).

O lodo de esgoto, em consequência de sua riqueza em nutrientes, principalmente nitrogênio, tem sido utilizado em muitos países como fertilizante para plantas (BINDER et al., 2002), porém, o uso de doses excessivas, devido às altas porcentagens de metais pesados (JIN et al., 2016; OLSSON et al., 2014; PASCUAL et al., 2004; PAULA et al., 2011;), pode causar fitoxidez em vegetais adubadas com esse biossólido, e contaminar o lençol freático quando usado em campo (DAS et al., 1997; GONDEK et al., 2014; SINHG & AGRAWAL, 2008).

Contudo, em virtude do seu potencial nutricional, a incorporação do lodo de esgoto à substratos para produção de mudas surge como uma alternativa de aproveitamento, podendo propiciar melhoria na qualidade das plantas, e retorno econômico, devido à diminuição do uso de fertilizantes minerais (LEILA et al., 2016; WANG et al., 2010), por outro lado, em decorrência do seu poder tóxico pode causar estresse nas plantas limitando seu uso (GUEDES et al., 2016), nesse sentido são necessários meios avaliativos de estresse em plantas adubadas com esse resíduo.

Diante disso a condutância estomática (G_s), temperatura foliar (TF) e fluorescência da clorofila-*a* (FChl-*a*) são ferramentas de avaliação de estresse em plantas, técnicas simples, rápidas e não destrutivas, utilizadas para averiguar danos ou reparos fisiológicos vegetais (FENG et al., 2016; ISMAIL et al., 2014). A G_s e TF consistem em eficientes métodos para avaliação da eficiência hídrica em plantas (VICO et al., 2013; MOTZO et al., 2013), por outro

lado a FChl-*a* fornece dados a respeito da integridade fotossintética, por meio da avaliação do fotossistema II (FSII) (SCHMIDT et al., 2016; VAN RENSEN & VREDENBERG, 2009).

Dentre as espécies nativas ocorrentes no Cerrado, *Alibertia edulis* destaca-se por ser uma frutífera de grande importância para a fauna nativa (NERI et al., 2005), e por apresentar potencial farmacológico (BROCHINI et al., 1994; MENEGATI et al., 2016). Esta espécie está distribuída em toda América do Sul, no Brasil está concentrada principalmente no Cerrado (SILVA et al., 2008). Sendo que este bioma nos últimos anos vem sendo devastadoramente desmatado, devido principalmente à expansão da agricultura e pecuária (KLINK & MACHADO, 2005; ARVOR et al., 2012).

O interesse em preservar espécies vegetais do Cerrado pode ser justificado pela importância deste bioma, visto que esse ecossistema abriga fauna e flora riquíssimas, sendo também berço de importantes nascentes hídricas (ALBERNAZ et al., 2010), diante disso, produzir informação sobre a fisiologia de espécies nativas é relevante para construção de projetos de restauração de áreas degradadas.

O uso de resíduos incorporados a substrato para plantas consiste em uma forma de aproveitamento ambientalmente sustentável (MELLO et al., 2006). No entanto estudos sobre respostas fisiológicas de plantas tratadas com esse biofóssido ainda são insuficientes.

Sendo assim, objetivou-se analisar por meio da condutância estomática e fluorescência da clorofila-*a* as respostas fisiológicas de plantas jovens de *Alibertia edulis*, adubadas com diferentes proporções de lodo de esgoto, a fim de conhecer a tolerância dessa espécie a esse resíduo, visando gerar conhecimento sobre a viabilidade da produção de mudas de plantas nativas cultivadas com esse biofóssido.

Materiais e métodos

O experimento foi conduzido durante os meses de abril a agosto de 2016, em viveiro coberto com PVC transparente, com irrigação diária por aspersão. Sementes de *Alibertia edulis* foram semeadas em bandejas de isopor, 3 meses após a semeadura as plantas de altura similar foram transferidas para tubetes de polietileno preenchido com 5 diferentes tratamentos, preparados a partir da mistura de lodo de esgoto e substrato agrícola (Plantmax®), sendo denominados de acordo com o percentual de lodo de esgoto (LE): 0%, 25%, 50%, 75% e 100%. Após a implantação do experimento esperou-se o período de um mês para o início das leituras, para não se obter dados referentes ao estresse ocasionado pelo transplante das mudas.

As mudas foram distribuídas em delineamento experimental em blocos casualizados, com 5 repetições, contendo 20 indivíduos em cada, contabilizando 100 plantas para cada tratamento. As leituras foram feitas em 10 plantas escolhidas aleatoriamente em cada tratamento, em folhas do segundo nó, na região central, próximo a nervura foliar.

O LE utilizado foi coletado na estação de Tratamento de Esgoto Guaxinim, vinculada à SANESUL- Empresa de Saneamento Básico de Mato Grosso do Sul, localizada no município de Dourados. A análise físico-química do resíduo (Tabela 1) foi realizada no Laboratório de Solos, Plantas e Corretivos da Embrapa Agropecuária Oeste, Dourados/MS, por meio de espectrofotômetro de absorção atômica (EAA) e espectrofotômetro de absorção molecular (EAM).

Tabela 1 – Principais características físico-químicas do lodo de esgoto proveniente da Estação de Tratamento Guaxinim - SANESUL

Análise de elementos químicos-físicos Presentes no lodo	Valores	Units
N	2,93 ± 0.03	%
P	0,90 ± 0.02	%
K	0,07 ± 0	%
Ca	1,55 ± 0.05	%
Mg	0,21 ± 0.007	%
Na	0,07 ± 0	%
Cu	325,44 ± 17.69	mg/Kg
Fe	12524,53 ± 221.11	mg/Kg
Mn	271,23 ± 7.99	mg/Kg
Zn	769,38 ± 20.78	mg/Kg
C _{TOTAL}	22,57	%
Umidade	53,44	%
pH	7,39	-

± = média de vinte leituras, seguida do desvio padrão das amostras. Embrapa/CPAO. Dourados, MS.

A condutância estomática, temperatura foliar e radiação fotossinteticamente ativa foram registradas com um Porômetro Delta-T AP4 a partir das 8 horas da manhã, após o término desta, seguia a coleta de dados da fluorescência da clorofila-*a* com a utilização de FluorPen FP 100-Max, em folhas mantidas no escuro por 30 minutos; os parâmetros de fluorescência foram obtidos por meio da curva OJIP. A fluorescência por imagem foi registrada por um FluorCam FC 800-C, a análise das imagens (Figura 4 e 7) coletadas com este equipamento foi realizada pelo software do mesmo. A temperatura ambiente e umidade relativa do ar foram coletadas com auxílio de um termoigrômetro.

As curvas de condutância estomática e emissão de fluorescência da clorofila-*a* foram feitas com média de 20 leituras ao longo de 4 meses de experimento, sendo que para a curva da cinética de emissão foram utilizadas médias de 5 conjuntos de leituras, para possibilitar a

observação separada do comportamento da emissão de fluorescência em cada mês, ao longo do tempo experimental.

Procurou-se o entendimento da cinética entre F_0 e F_j por meio da fórmula: $W_t = (F_t - F_0) / (F_j - F_0)$, do mesmo modo, para melhor comparar o comportamento das curvas OJIP, foi feita a normalização em relação aos valores de fluorescência entre F_0 e F_m , expressa como fluorescência variável relativa, $V_t = (F_t - F_0) / (F_m - F_0)$. Esta normalização permite visualizar com clareza as diferenças das fases O-J, J-I e I-P entre os respectivos tratamentos (STRASSER et al., 2004).

As análises estatísticas foram realizadas com o software R e Biostat 5.0, aplicando aos dados de condutância estomática e temperatura foliar os testes de Kruskal-Wallis e Dunnett, para os dados de fluorescência aplicou-se ANOVA one-way e teste de Tukey para comparação das médias.

Resultados

A condutância estomática (G_s) e temperatura foliar (TF) de plantas jovens de *Alibertia edulis* submetidas à adubação com lodo de esgoto (LE) indicam que de forma geral as curvas de G_s e TF da maioria dos tratamentos exibem comportamentos semelhantes, com aumento nas primeiras semanas e tendência de queda a partir da sexta semana para G_s , o oposto foi observado na TF, com valores mais baixos nas semanas iniciais e aumento a partir da sétima semana, exceto para G_s de 100% LE que mostrou maior homogeneidade de valores, sem alcançar os valores máximos observados nas demais concentrações (Figura 1).

Ao longo do período experimental houve similaridade nos valores de G_s e TF para a maioria dos tratamentos, no entanto foi verificada diminuição significativa para o tratamento 100% LE, com menor G_s de $150 \text{ molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ e TF de 5°C , e maior G_s de $400 \text{ molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ e TF de 23°C , enquanto os demais tratamentos mostraram valores próximos e mais altos, com menor G_s variando entre 150 a $300 \text{ molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ e maior entre 500 e $660 \text{ molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ e menor TF entre 8 e 10 e maior entre 19 e 24°C .

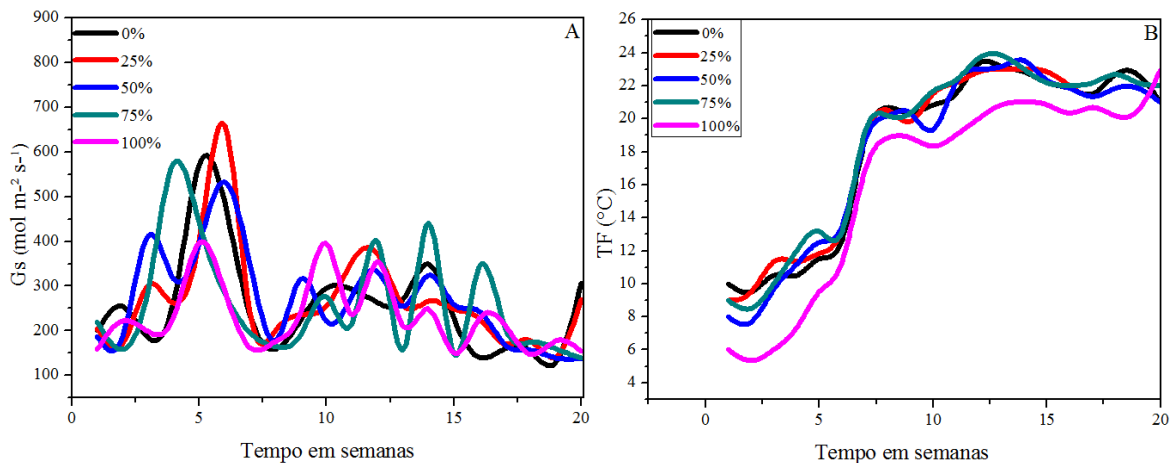


Figura 1- (A) Condutância estomática (G_s) e (B) temperatura foliar (TF), em plantas jovens de *Alibertia edulis* submetidas a adubação com lodo de esgoto pôr um período de quatro meses.

As respostas de condutância estomática estão diretamente relacionadas às variáveis ambientais, com valores maiores em resposta às baixas temperaturas do ambiente, alta umidade relativa do ar e baixa radiação fotossinteticamente ativa, neste experimento observou-se que a redução da G_s esteve associada à elevação da TA, redução da URA e alta RFA (Figura 2), todavia apenas o tratamento 100% LE parece não ter sido influenciado pelos condicionantes ambientais.

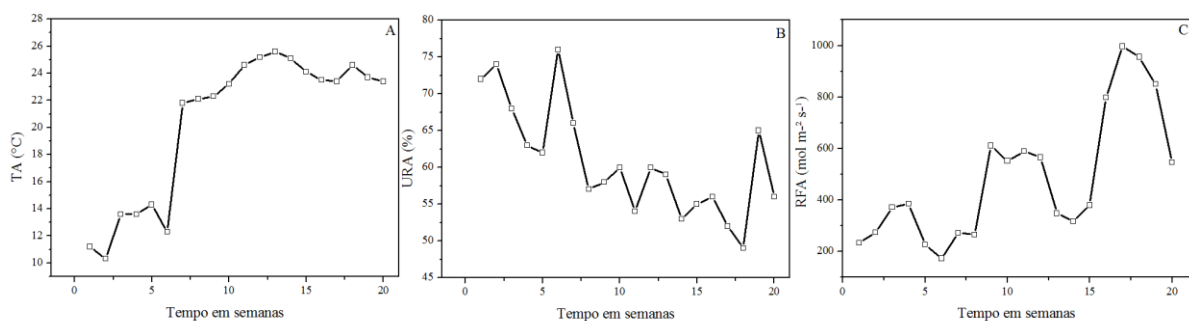


Figura 2- Temperatura ambiente (TA), umidade relativa do ar (URA) radiação fotossinteticamente ativa (RFA) em plantas jovens de *Alibertia edulis* submetidas a adubação com lodo de esgoto por um período de quatro meses, dados obtidos por meio da média por dia de leitura.

O comportamento da cinética de emissão da fluorescência da clorofila-*a* (FChl-*a*), apresentado na figura 3 foi similar entre os diferentes tratamentos, durante todo o tempo experimental, apresentando curvas com o típico comportamento sigmoide ao longo do tempo de emissão, com fluorescência inicial (F_0) em torno de 400 (a.u.: unidade arbitrária), e fluorescência máxima (F_m) variando entre 1000 e 1400 (a.u.).

Por outro lado, as diferenças entre a intensidade de emissão de FChl-*a* variaram entre as concentrações de LE, ao longo da condução do experimento, podendo ser observado maior distanciamento entre as curvas no primeiro mês de leitura com tendência à aproximação ao

passar dos meses, notando-se maior uniformidade entre os tratamentos no quarto mês de experimento, não sendo caracterizado comportamento de estresse em nenhuma das curvas, mesmo na maior concentração de LE.

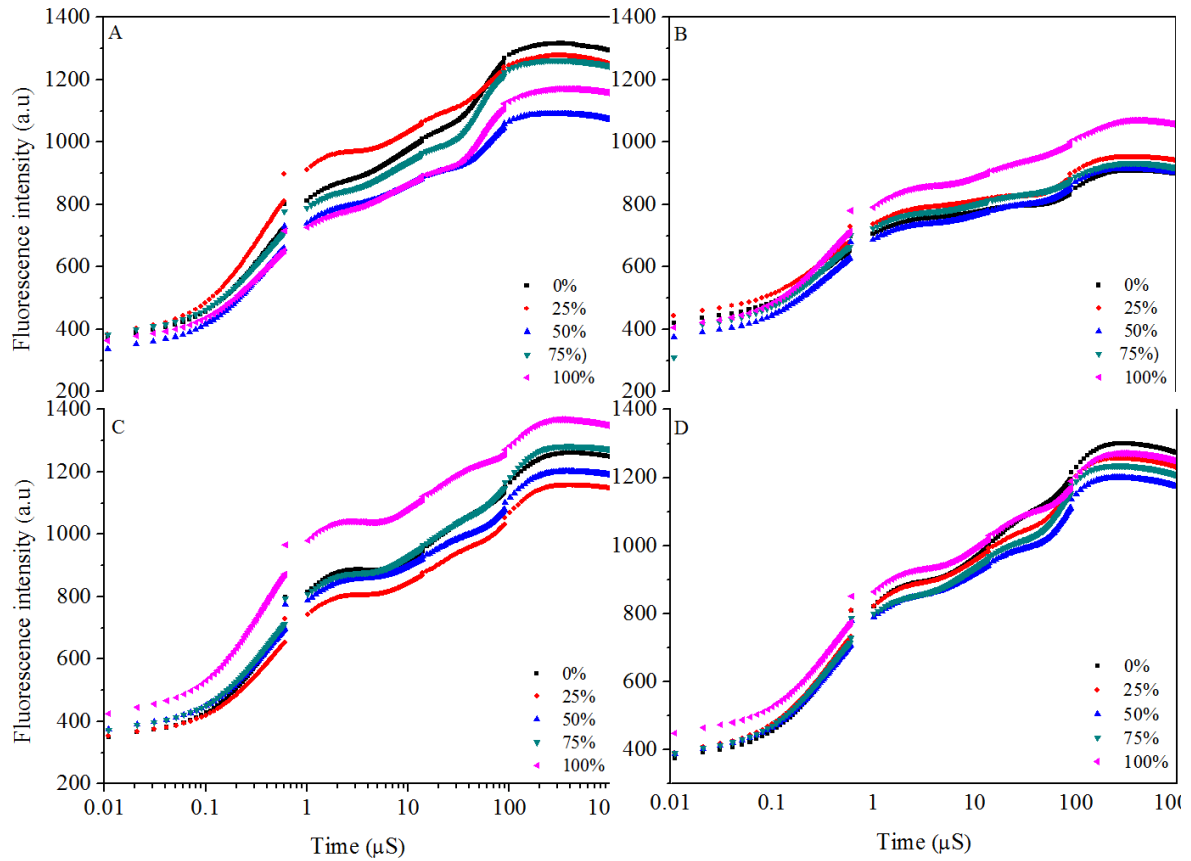


Figura 3- Cinética de emissão de fluorescência da clorofila- *a* em plantas jovens de *Alibertia edulis* submetidas a adubação em diferentes concentrações de lodo de esgoto ao longo de quatro meses.

Avaliando a distribuição da emissão de FChl-*a* pôr imagem (Figura 4) observa-se que a dissipação de energia nas folhas não é uniforme em nenhum dos tratamentos, sendo que está distribuída em maior intensidade na região central (700-750) e a menor emissão de fluorescência está concentrada nas porções apicais das folhas (200-325), este comportamento mostrou-se semelhante para todos os tratamentos.

A maior intensidade de emissão de fluorescência na região central, possivelmente indica atividade metabólica fotossintética concentrada nessa região, sendo que, durante o experimento foi observado em *Alibertia edulis* necrose foliar ocorrendo sempre das pontas e margens em direção ao centro, isso pode estar relacionado ao fato da maior intensidade de emissão de fluorescência ocorrer nessa região.

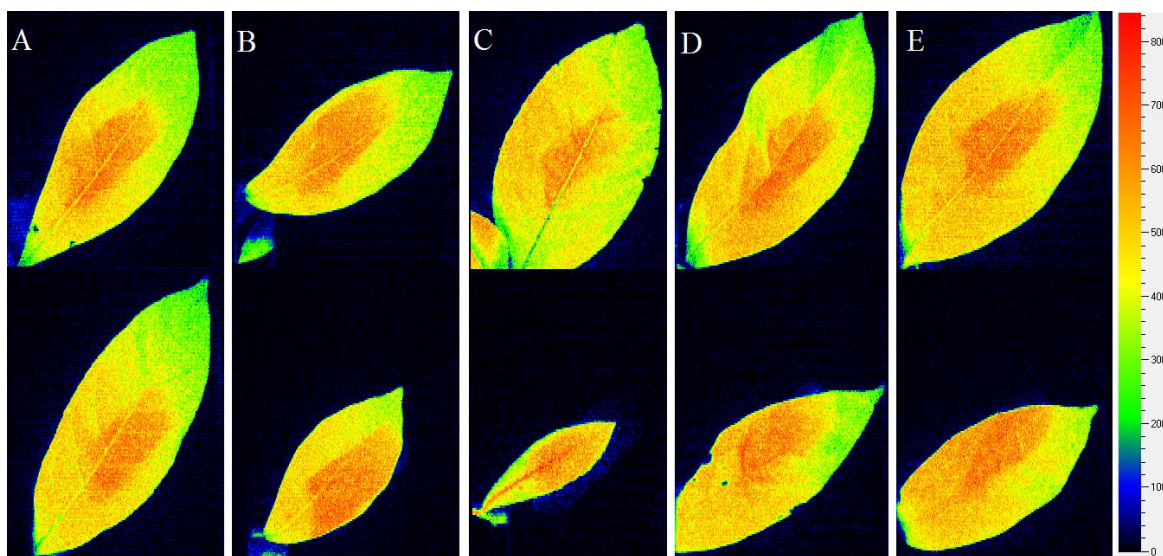


Figura 4- Fluorescência por imagem em folhas de plantas jovens de *Alibertia edulis* adubadas nas seguintes concentrações de lodo de esgoto: A-0%, B-25%, C-50%, D-75%, E-100%.

A análise da dinâmica de emissão da fluorescência da clorofila-*a* por meio do JIP *test* e a análise individual dos *steps*, sugerem o mesmo comportamento das curvas para todos os tratamentos (**Figura 5**). Embora a maior distinção entre as curvas tenha sido observada em I-P não foram observadas mudanças na posição das curvas em nenhum dos *steps* (O-J, J-I, I-P) ou mesmo diferença estatística em nenhuma das sessões.

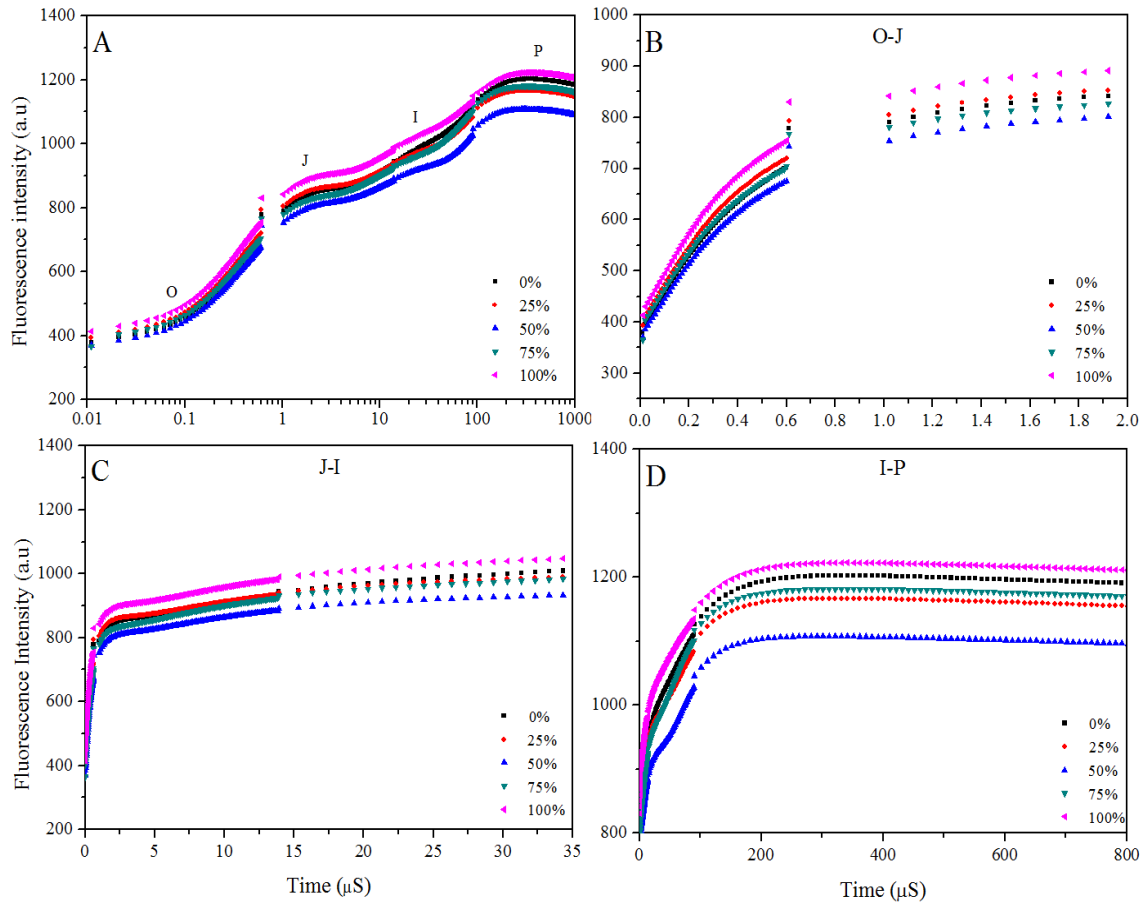


Figura 5- Cinética de emissão de fluorescência da clorofila-*a* (O-J, J-I, I-P), em plantas jovens de *Alibertia edulis* submetidas a adubação com lodo de esgoto, média de todas as leituras realizadas durante quatro meses.

Em relação à cinética de emissão entre F_0 e F_j (W_t), e a cinética de fluorescência relativa (V_t), o comportamento das curvas não sugeriu variação no centro de evolução de oxigênio ou mesmo durante a cinética de emissão.

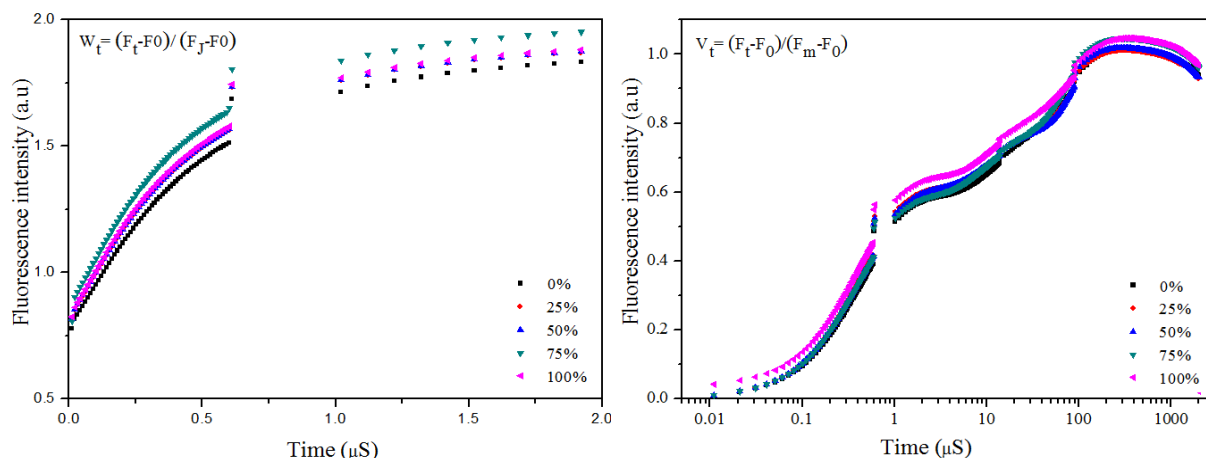


Figura 6- A cinética entre F0 e Fj (Wt) e a cinética de fluorescência relativa (Vt) em plantas jovens de *Alibertia edulis* submetidas a adubação com lodo de esgoto, média de todas as leituras realizadas durante quatro meses.

Analisando os dados apresentados na Tabela 1 observa-se que não houve diferença significativa para a intensidade da fluorescência no passo-J (2 µs) (Fj), Fluorescência máxima (Fm), Eficiência quântico potencial do FS II (Fv /Fm) e Eficiência máxima do processo fotoquímico no FSII (Fv/Fo), no entanto, observou-se diferença estatística para Fluorescência inicial (F0), com maiores valores para 25% e 75% LE, e Fluorescência variável (Fv), com menor valor para 50% LE.

Tabela 1. Fluorescência inicial (F0), Intensidade da fluorescência no passo-J (2 µs) (Fj), Fluorescência máxima (Fm), Fluorescência variável (Fv), Eficiência quântica potencial do FSII (Fv/Fm), Eficiência máxima do processo fotoquímico no FSII (Fv/Fo).

LE (%)	Parâmetros técnicos da fluorescência da clorofila					
	F0	Fj	Fm	Fv	Fv/Fm	Fv/F0
0	387,72 b	825, 84 a	1190,68 a	802, 95 a	0,67 a	2,07 a
25	403,37 a	837, 62 a	1158,77 a	755, 40 b	0,65 a	1,87 a
50	378,08 b	784,70 a	1094,54 a	716, 46 c	0,65 a	1,89 a
75	412,94 a	798, 31 a	1146,11 a	755, 00 b	0,65 a	1,90 a
100	396,67 b	849, 64 a	1185,88 a	788, 98 a	0,66 a	1,98 a
CV (%)	3,36	3,31	3,35	4,42	1,36	4,27

Médias acompanhadas pela mesma letra, dentro da mesma coluna, não diferem a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Avaliando os dados apresentados na tabela 2 nota-se que com exceção de Phi_Eo e Phi_Do foram verificadas diferenças para os demais parâmetros de eficiência e índice de fluxo, sendo que ABS/Rc e TRO/RC mostra maior desempenho para 75% LE, este tratamento também exibe juntamente com o controle valores maiores para PIAbs e ETo/RC.

Tabela 2. Rendimento quântico de transporte de elétrons (Phi_Eo), Rendimento quântico da energia de dissipação (Phi_Do), índice de desempenho fotossintético (PIAbs), Fluxo específico de absorção por centro de reação (ABS/RC), fluxo específico de captura por centro de reação (TRo/RC), fluxo específico de transporte de elétrons por centro de reação (ETo/ RC).

LE (%)	Relações de eficiência e índices de fluxos					
	Phi_Eo	Phi_Do	PiAbs	ABS/RC	TRo/RC	ETo/RC
0%	0,29 a	0,35 a	0,88 a	2,61 b	1,61 b	0,69 a
25%	0,26 a	0,37 a	0,73 b	1,89 c	1,61 b	0,65 b
50%	0,26 a	0,37 a	0,66 c	2,37 b	1,66 b	0,68 b
75%	0,29 a	0,37 a	0,83 a	3,58 a	1,73 a	0,70 a
100%	0,27 a	0,35 a	0,73 b	2,63 b	1,65 b	0,66 b
CV (%)	5,57	3,03	11,48	23,54	2,98	2,22

Médias acompanhadas pela mesma letra, dentro da mesma coluna, não diferem a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

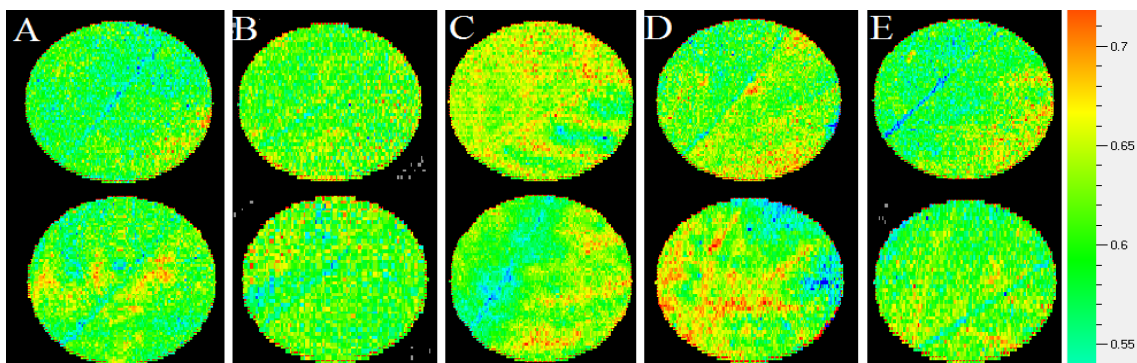


Figura 7- Fluorescência por imagem do parâmetro rendimento quântico potencial do fotossistema II (F_v/F_m) em folhas de plantas jovens adubadas com diferentes proporções percentuais de lodo de esgoto- LE (A – 0, B – 25, C – 50, D – 75, E – 100%)

Avaliando o rendimento quântico potencial do fotossistema II, é perceptível que dentro da região central foliar, onde a emissão de fluorescência da clorofila-*a* é mais intensa, próximo a nervura central se mostra como ponto específico de maior eficiência quântica (Figura 7).

A eficiência quântica como parâmetro básico não apresentou diferença estatística significativa (Tabela 1), no entanto com base na figura de falsa cor (Figura 7), foi observado rendimento quântico distinto para 50% e 75% LE, sugerindo melhor performance de eficiência quântica nessas proporções de lodo de esgoto.

Discussão

Oscilações nas curvas de condutância estomática (G_s) são esperadas, visto que as plantas respondem a influência de condicionantes ambientais, tais como radiação fotossinteticamente ativa (RFA) temperatura ambiente (TA) e umidade relativa do ar (URA) (CONESA., et al, 2016). Espera-se normalmente, que diante de alta TA, RFA e baixa URA ocorra diminuição de G_s , o oposto é esperado em condições inversas a estas (HUANG et al.,

2011; STRUTHERS et al., 2015). O controle estomático é uma estratégia evolutiva vegetal, que resulta em alta eficiência do uso da água (WANG et al., 2013). Nesse sentido, a heterogeneidade notada nas curvas de condutância estomática e temperatura foliar (TF), na maioria dos tratamentos, parecem ser justificadas pelas variações ambientais.

A maioria dos tratamentos testados no presente trabalho apresentaram desempenhos parecidos para *G_s* e TF, sugerindo que as variáveis ambientais pouco contribuíram para o entendimento das respostas de ajuste fisiológico, relacionado às diferentes proporções de LE, exceto para as plantas adubadas com 100% LE que exibiram comportamento diferenciado em relação aos demais tratamentos, sugerindo uma resposta de ajuste diretamente relacionada à alta quantidade de lodo de esgoto (ANTOLÍN et al., 2010).

As respostas vegetais ao lodo de esgoto podem ser expressas por modificações do estado fisiológico (SINGH & AGRAWAL, 2007), associadas normalmente à efeito fitotóxico (EL FELS et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2009; RAMÍREZ et al., 2008), osmótico (LOCATELLI et al., 2007; MELLONI et al., 2000), ou por ambos (CAI et al., 2010), podendo resultar em eletronegatividade do potencial osmótico, dificultando a absorção de água pela planta (ABBRUZZESE et al., 2009).

Respostas vegetais a condições pouco comum imposta pelo meio, podem caracterizar ajuste fisiológico, que manifesta-se como um desvio significativo das condições ótimas, induzindo mudanças e respostas nos níveis funcionais dos organismos, as quais podem ser reversíveis a princípio (SAENEN et al., 2015), no entanto, podem se tornar permanente, exercendo influência desvantajosa sobre a planta, caracterizando resposta de estresse (YANG et al., 2015).

Para sobrevivência em condições limitantes, esses vegetais desenvolvem mecanismos de resposta contra danos que, quando acionados, reconhecem a agressão. Diante disso algumas plantas conseguem modular a produção de compostos moleculares afim de contornar determinadas situações, muitas dessas alterações podem estar diretamente relacionadas com defesa e proteção (DE WIT, 2007).

Estas mudanças no ambiente são decisivas para o crescimento e sobrevivência da planta, nesse sentido podem ser citadas as espécies reativas de oxigênio (EROs), que podem agir causando danos ou como moléculas sinalizadoras que ativam múltiplas respostas de defesa. Essa dualidade pode ser obtida apenas quando os níveis celulares de EROs são bem

controlados tanto na produção quanto no consumo (SHENGRONG et al., 2007; SILVA et al., 2013).

Em baixas concentrações, as espécies EROs induzem genes de defesa e resposta adaptativa que podem acionar moléculas sinalizadoras em plantas sob condições de estresse biótico e abiótico, estando envolvidas no fechamento e abertura estomática, fotossíntese, gravitropismo radicular, tolerância à deficiência de oxigênio, fortalecimento da parede celular, e senescência. É importante saber que a função de ser um sinalizador de estresse ou uma molécula prejudicial à célula depende de um equilíbrio entre a produção de EROs e a produção de substâncias antioxidantes (SHENGRONG et al., 2007).

O decréscimo na *Gs* da maior concentração de lodo de esgoto, mesmo quando em condições climáticas favoráveis à alta condutância, está indicando fechamento estomático frente a situação imposta, este comportamento sugere resposta de ajuste fisiológico, devido a exposição ao resíduo, caracterizando uma estratégia de sobrevivência da planta, que implica em redução da perda de água excessiva das folhas (INMAN-BAMBER & SMITH, 2005).

O lodo de esgoto utilizado nessa pesquisa, possui grande quantidade de matéria orgânica e nutrientes (Tabela 1), no entanto apresenta desbalanço nutricional, com alta quantidade de micronutrientes, como Cu, Fe, Mn e Zn, que podem competir com os macronutrientes: N, P, K, Mg, Ca, limitando a absorção desses pelas plantas (CIEŚLIK & KONIECZKA, 2016; HORTTANAINEN et al., 2016). De modo que, se absorvido em quantidade exagerada esses elementos podem se ligar aos receptores da membrana plasmática das células-guarda e subsidiárias, acarretando diminuição da entrada de potássio e solutos essenciais ao bom funcionamento das células estomáticas (EL FELLS et al., 2014; SIMONETE & KIEHL, 2002; WILLIAMS & NASCIMENTO, 2006). Esse efeito pode causar desajuste osmótico, ocasionando diminuição da entrada de água nas células (KATERJI et al., 1997), o que pode explicar a redução na *Gs* de 100% LE.

O efeito tóxico de um resíduo pode estar associado à sua função bioquímica na planta (CHIANG et al., 2016), bem como sua proporção testada, (MENG et al., 2016). Plantas adubadas com LE, dependendo de sua sensibilidade, podem ser afetadas negativamente por determinadas proporções de lodo (DEDE & OZDEMIR, 2016; MARTINS et al., 2016) ou positivamente (BAI et al., 2016).

Todo processo que envolve troca de energia não é absolutamente perfeito, com total aproveitamento energético, dessa forma, na conversão da energia luminosa em energia química durante a fotossíntese, nem todos os elétrons que estão excitados se ligam a seus receptores, nesse caso, retornam ao estado inicial, sem produzir ATP e NADPH₂ (BOUREIMA et al., 2012; ZUSHI & MATSUZOE, 2012), sendo essa energia dissipada na forma de calor ou fluorescência (KALAJI et al., 2014, SHARMA et al., 2014).

Essa dissipação de energia é comum e aceitável, de forma que a quantidade de energia emitida pode fornecer dados sobre o estado do aparato fotossintético, uma vez que em tecidos vegetais íntegros, a emissão de fluorescência oscila em virtude da luz ou do estado fisiológico dos componentes supramoleculares dos fotossistemas, consistindo em uma importante ferramenta para detecção de estresse (MEHTA et al., 2010; LOTFI et al., 2015).

A redução em *G_s* pode representar uma vantagem imediata para prevenir a desidratação dos tecidos vegetais (MAGGARD et al., 2016), por outro lado, pode indicar estresse e afetar diretamente a absorção de CO₂ pelos cloroplastos e conseqüentemente afetar a taxa fotossintética (ENGINEER et al., 2016), podendo ser identificados pelos parâmetros de absorção, captura e transporte de elétrons do teste JIP, que segundo Campos et al. (2014) são bons indicadores de danos ao aparato fotossintético.

Em relação a cinética de emissão de fluorescência da clorofila-*a* (Figura 3A) foi observado comportamento semelhante para as plantas de todas as concentrações de lodo, embora nos primeiros meses de experimento tenha sido notado maior distanciamento na emissão de fluorescência, nos diferentes tratamentos, provavelmente isso está ligado à desestabilização inicial da planta às condições experimentais (GOMES et al., 2012), no entanto, com o passar dos meses, as intensidades foram aproximando-se, até que no quarto e último mês todas as concentrações de lodo exibiram maior uniformidade de emissão, indicando ajuste fisiológico, independentemente do tratamento (MLINARIĆ et al., 2017).

Alterações na atividade fotossintética induzida por metais pesados e excesso de nutrientes, têm sido observadas em plantas (JIANRONG & QIRAN, 2009), porém diante da composição do LE utilizado nesse estudo não há indícios fortes que apontem prejuízos no FSII em decorrência do LE.

Por meio do estudo da fluorescência da Chl-*a* Cherif et al. (2010) observaram que o estresse por Zn aumentou a intensidade de fluorescência, segundo esses autores trata-se de

um indicativo de menor teor de clorofila. Em outra pesquisa Kalaji et al. (2014) estudando a influência de altas doses de macronutrientes (N, P, K, Mg, S e Ca) e micronutriente (Fe) em funções do PSII e PSI observaram respostas negativas em plantas de milho e tomate.

Jianrong & Qiran (2009) constataram em *Chlorella pyrenoidosa* que o excesso de Cu induziu a diminuição na eficiência da fotossíntese, sugerindo inativação dos centros de reação do PSII e a inibição do transporte de elétrons no lado aceitador. Estudos nessa vertente indicam que a fluorescência da Chl-*a* é uma ferramenta não destrutiva e adequada para investigar o desenvolvimento e vigor das plantas, bem como para detectar eventos de estresse.

Em nosso estudo, o comportamento observado nas curvas de emissão de Chl-*a* não caracteriza resposta de estresse, uma vez que não houve perda de sigmoicidade das curvas de Chl-*a*, característico em plantas sob estresse (MOISE & MOYA, 2004; GUO & TAN, 2014). Nota-se que ao longo do período experimental, *Alibertia edulis* respondeu a adubação com lodo de esgoto de forma positiva, indicando que as plantas de todos os tratamentos se mantiveram fotossinteticamente ativas (STRASSER et al., 2004). Tais resultados corroboram com os de Antolin et al. (2010) que ao avaliarem mudas de *Medicago sativa*, adubadas com lodo de esgoto observaram resposta positiva, com maior crescimento e melhora na fotossíntese líquida.

Nas curvas OJIP da cinética de emissão da fluorescência da clorofila-*a* foram visualizadas as três fases distintas: fase O-J, caracterizada pela redução fotoquímica do acceptor primário de elétrons, Quinona A (QA), dos centros de reação do FSII (JOLIOT & JOLIOT, 2002; LAZAR, 2004); a fase J-I, correspondente à excitação do FSII até a redução da plastoquinona (TÓTH et al., 2007), e a fase I-P, a qual reflete a transferência dos elétrons até o lado acceptor do FSI (YUSUF et al., 2010; REDILLAS et al., 2012).

Em plantas sobre estresse, os valores do transiente OJIP, apresentados na forma de fluorescência variável relativa (Figura 6B), normalmente exibem um desvio positivo, com aparecimento da banda K (OUKARROUM et al., 2007), fato que não foi observado no presente estudo.

A banda-K aparece quando há inibição no complexo de evolução do oxigênio (OEC) e coincide com a limitação do lado doador do fotossistema II (POSPÍŠIL & DAU, 2000; TOMEK et al., 2001). Assim, qualquer condição de estresse que afeta a capacidade do lado doador do FSII implicará no surgimento da banda-K (STRASSER, 1997).

As curvas de emissão em todos os tratamentos demonstraram variação característica de cada fase, com sinais de aumento na intensidade da fluorescência desde um nível 0 (F0) até um nível máximo (Fm), com níveis intermediários O-J, J- I e I-P bem definidos (Figuras 5), demonstrando que todos os tratamentos estavam fotossinteticamente viáveis, corroborando com PETKOVA et al. 2007.

Para entender melhor o efeito do LE sobre a fluorescência da clorofila-*a* foram avaliadas informações sobre os parâmetros funcionais e estruturais que quantificam a atividade do aparato fotossintético.

Maiores valores de F0 foram registrados para 25% e 75% LE, todavia a emissão da fluorescência inicial ocorre no estágio rápido da fluorescência, representando a energia liberada pelas moléculas de clorofila-*a* do complexo antena do FSII, antes mesmo dos elétrons migrarem para o centro de reação (CORREIA et al., 2009), tratando-se de um parâmetro pouco ou não influenciável, representando o mínimo do sinal da fluorescência, portanto, esta é uma perda fotoquímica que se espera (VIEIRA & PORTES, 2010). No entanto alguns autores acreditam que aumentos de F0 podem acontecer quando há dano no centro de reação do FSII, ou por uma redução na transferência de energia de excitação do sistema coletor de luz para o centro de reação (BAKER & ROSENQVIST, 2004).

A fluorescência máxima (Fm), cujos valores não diferiram entre os tratamentos (Tabela 1), também ocorre dentro do estágio rápido da fluorescência (SHAO et al., 2010). Acontece mais lentamente que F0 e representa a energia liberada ou perdida pelos elétrons que, expelidos dos seus átomos, podem alcançar a QA (Quinona, receptora primária estável de elétrons do PSII), porém, pela presença de algum bloqueador do fluxo eletrônico, ou falta de demanda na produção de NADPH ou ATP, regressam às suas moléculas de origem (BAKER, 2008).

Por meio da análise de Fj pode-se verificar a fluorescência variável transiente no tempo de 2 μ , no passo J, o qual reflete o acúmulo de plastoquinona A reduzida (QA) (PERBONI et al., 2015; CHEN & CHENG, 2010), contudo, nesse estudo não foi contemplado decréscimo desse parâmetro para nenhum tratamento.

Para a fluorescência variável (Fv), houve diferença estatística entre os tratamentos (Tabela 1), com valores de F0 variando e Fm com valores similares, diante disso é natural encontrar diferença para Fv, visto que, este parâmetro é resultado da diferença entre Fm e F0 ($Fv = Fm - F0$) (SONG et al., 2016).

Quanto maior for F_v maior será a capacidade da planta em transferir a energia dos elétrons liberados das moléculas dos pigmentos para a formação do redutor NADPH e ATP, conseqüentemente, maior a capacidade de assimilação do CO_2 na fase bioquímica da fotossíntese (BAKER, 2008). Sendo nesse experimento registrado o maior desempenho de F_v para o 0% LE e 75% LE.

A razão F_v/F_m é uma estimativa da eficiência quântica máxima da atividade fotoquímica do PSII, quando todos os centros de reação estão abertos (BAKER, 2008; BAKER & ROSENQVST, 2004). Essa relação tem sido amplamente utilizada para detectar perturbações no sistema fotossintético causada por estresse, caracterizando-se como um forte parâmetro de estudo da fluorescência da clorofila-*a*, visto que sua diminuição indica um declínio na eficiência fotoquímica do PSII, sugerindo distúrbio ou danos no aparato fotossintético (SCHANSKER et al., 2011).

A razão F_v/F_0 também tem sido recomendada para detectar mudanças induzidas por estresse (LICHTENTHALER et al., 2005), pois embora contenha a mesma informação básica de F_v/F_m , amplia as pequenas variações detectadas neste parâmetro (AZEVEDO et al., 2011).

A eficiência quântica potencial do FS II (F_v/F_m) e eficiência máxima do processo fotoquímico no FSII (F_v/F_0) exibiram valores próximos, sendo que F_v/F_m variou entre 0,65 a 0,67 para todos os tratamentos, incluindo o sem lodo de esgoto (Tabela 1, figura 7), segundo BJÖRKMAN & DEMMIG-ADAMS (1987) valores nessa média indicam estresse em muitas plantas, no entanto em *Alibertia edulis* esta variável reforçou a hipótese desta espécie apresenta tolerância ao LE, visto que independente da presença do lodo o valor não diferenciou entre os tratamentos.

Assim como para a maior parte dos parâmetros da fluorescência da clorofila-*a* avaliados no presente estudo, também não foram identificadas diferenças para os parâmetros que descrevem o rendimento de fluxo, isto é, o rendimento quântico de transporte de elétrons (Φ_{E_0}) e o rendimento quântico da energia de dissipação (Φ_{D_0}). Esses parâmetros refletem respectivamente, a eficiência no transporte de elétrons de QA para o intersistema de aceptores de elétrons e rendimento quântico em $t = 0$ para a dissipação de energia (NISHIYAMA et al., 2011).

Pode-se afirmar que *Alibertia edulis* cultivada em lodo de esgoto apresentou eficiência no transporte de elétrons e dissipação de energia, para reforçar essa afirmação é

importante ressaltar que também não houve redução no rendimento quântico dos processos fotoquímicos e não fotoquímicos (FV/F0), sabendo-se que este parâmetro é resultante da relação entre energia capturada e energia dissipada, ambas essas variáveis se complementam (LICHTENTHALER et al., 2005).

O aumento no fluxo de absorção (ABS/RC) e captura (TRo/RC), observado no tratamento 75% LE, demonstra que, o estado de excitação das moléculas do complexo antena, que canaliza a transferência de energia, até os centros de reação, foi capaz de reduzir a feoftina, iniciando a cadeia de oxirredução da fase fotoquímica da fotossíntese (DEMETRIOU et al., 2007; MATHUR et al., 2011). Ao passo que, o transporte de energia por centro de reação (ETo/RC) apresentou melhor performance tanto para 75% quanto para o tratamento sem LE.

No presente estudo, respostas em relação ao índice de desempenho fotossintético (PIAbs) foram semelhantes em 0% LE e 75% LE, apresentando melhor desempenho em relação aos demais tratamentos. O PIAbs refere-se à conservação de energia de fótons absorvidos pelo FS II (ABS), captura da energia de excitação (TR) e conversão da excitação de energia para o transporte de elétrons (ET) do intersistema (STRASSER et al., 2000, STRASSER et al., 2004).

O índice de desempenho fotossintético (PIAbs) por ser um parâmetro que incorpora vários indicadores da fluorescência da clorofila-*a*, é altamente representativo para o comportamento do fluxo energético na cadeia de transporte de elétrons da fotossíntese (YUSUF et al., 2010). Assim alterações nestes parâmetros são excelentes indicadores da atividade fotossintética ou mesmo de estresse.

O parâmetro citado acima permite informações completas e quantitativas do estado da planta e sua vitalidade, sendo que em vários estudos tem-se demonstrado que é um parâmetro que estima com confiabilidade a vitalidade da planta frente as condições impostas pelo meio (STRASSER et al., 2004).

Alibertia edulis é uma planta do Cerrado, bioma que possui solos ácidos com pH variando de menos de 4 a pouco mais de 5, rico em alumínio, com disponibilidade de água intermitente e baixa disponibilidade de nutrientes, forte irradiância e alta temperatura, com incêndios frequentes durante a estação seca (ARANTES et al., 2016; PEÑA-PEÑA & IRMLER, 2016), esse ambiente exige das plantas alta desenvoltura fotossintética, forte

controle estomático e de temperatura, proporcionando-lhes capacidade de sobrevivência em condições adversas (CHRISTOFFERSEN et al., 2014; HABERMANN et al., 2011; RODRIGUES et al., 2016).

A redução em G_s pode representar uma vantagem imediata para prevenir a desidratação dos tecidos vegetais (EGEA et al., 2011), por outro lado pode indicar estresse e afetar diretamente assimilação de CO_2 pelos cloroplastos e conseqüentemente afetar a taxa fotossintética (MAK et al., 2014), podendo ser identificados pelos parâmetros de absorção, captura e transporte de elétrons do teste OJIP, que segundo Campos et al. (2014) são bons indicadores de danos ao aparato fotossintético, no presente estudo a redução de G_s parece estar relacionada a um ajuste fisiológico, visto que o tratamento 100% LE apresentou menor G_s no entanto não sofreu redução na fotossíntese.

Os resultados observados nesse estudo evidenciam a plasticidade comum à plantas do cerrado *stricto sensu* que as habilitam a responder aos diferentes condicionantes ambientais (LIBANO & FELFILI, 2006). Respostas plásticas com valor adaptativo dependem de genes ou conjuntos de genes adaptados ou coadaptados (SILVA et al., 2011), considerando que nem toda resposta plástica é necessariamente adaptativa (DALOSO et al., 2009; TAÏBI et al., 2015), respostas adaptativas são frequentes em populações sujeitas às intempéries ambientais cujos genes são selecionados por pressão de estresse (SANTIAGO & PAOLI, 2007; MISHRA et al., 2017).

Dessa forma, espera-se que plantas do cerrado *sensu stricto* ao longo das gerações adquiram patrimônio gênico que as possibilitem responder de maneira eficiente a uma gama de fatores limitantes, considerando que este ambiente naturalmente possui condições que exigem das plantas alta eficiência estomática, fotoquímica, capacidade de absorção de água, nutrientes e manutenção do balanço hídrico, mesmo sob condições de pouca disponibilidade de água, baixo pH e altas concentrações de alumínio na forma trocável (ASSUNÇÃO & FELFILI, 2004; HARIDASAN & ARAÚJO, 1988; RUGGIERO et al., 2006). Estas características possivelmente explicam a tolerância de *A. edulis* às diferentes concentrações de LE.

Conclusão

Em nosso estudo, o fato da G_s e TF em 100% LE exporem comportamento distinto aos demais tratamentos, possivelmente, está associado ao potencial fitotóxico e efeitos osmóticos do lodo de esgoto em altas proporções.

A redução de *Gs* e TF em 100% lodo parece estar relacionada à ajustes fisiológicos e não a uma resposta de estresse, visto que respostas negativas não persistiram a ponto de comprometer o desempenho fotossintético.

Para a maioria dos parâmetros da fluorescência da clorofila-*a* avaliados nessa pesquisa o desempenho fisiológico de *Alibertia edulis* não diferiu entre os tratamentos com lodo de esgoto e o controle.

Os resultados obtidos neste estudo sugerem tolerância de *Alibertia edulis* ao resíduo empregado, ressaltando a possibilidade de incorporação desse biossólido a substrato para cultivo de espécies vegetais nativas do Cerrado.

Referências

ABBRUZZESE, G.; BERITOGNOLO, I.; MULEO, R.; PIAZZAI, M.; SABATTI, M.; MUGNOZZA, G. S.; KUZMINSKY, E. Leaf morphological plasticity and stomatal conductance in three *Populus alba* L. genotypes subjected to salt stress. **Environmental and experimental Botany**, v. 66, n. 3, p. 381-388, 2009.

ALBERNAZ, L. C.; DE PAULA, J. E.; ROMERO, G. A. S.; SILVA, M. D. R. R.; GRELLIER, P.; MAMBU, L.; ESPINDOLA, L. S. Investigation of plant extracts in traditional medicine of the Brazilian Cerrado against protozoans and yeasts. **Journal of ethnopharmacology**, v. 131, n. 1, p. 116-121, 2010.

ANTOLÍN, M. C.; MURO, I.; SÁNCHEZ-DÍAZ, M. Application of sewage sludge improves growth, photosynthesis and antioxidant activities of nodulated alfalfa plants under drought conditions. **Environmental and Experimental Botany**, v. 68, n. 1, p. 75-82, 2010.

ARANTES, A. E.; FERREIRA, L. G.; COE, M. T. The seasonal carbon and water balances of the Cerrado environment of Brazil: Past, present, and future influences of land cover and land use. **ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing**, v. 117, p. 66-78, 2016.

ARVOR, D.; MEIRELLES, M.; DUBREUIL, V.; BEGUE, A.; SHIMABUKURO, Y. E. Analyzing the agricultural transition in Mato Grosso, Brazil, using satellite-derived indices. **Applied Geography**, v. 32, n. 2, p. 702-713, 2012.

ASSUNÇÃO, S. L.; FELFILI, J. M. Fitossociologia de um fragmento de cerrado *sensu stricto* na APA do Paranoá, DF, Brasil. **Acta botanica brasílica**, v. 18, n. 4, p. 903-909, 2004.

AZEVEDO, N, A. D.; PEREIRA, P. P. A.; COSTA, D. P.; DOS SANTOS, A. C. C. Fluorescência da clorofila como uma ferramenta possível para seleção de tolerância à salinidade em girassol. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 4, p. 893-897, 2011.

BAI, Y.; ZANG, C.; GU, M.; GU, C.; SHAO, H.; GUAN, Y.; FENG, K. Sewage sludge as an initial fertility driver for rapid improvement of mudflat salt-soils. **Science of The Total Environment**, 2016.

BAKER, B. Chlorophyll Fluorescence: A Probe of Photosynthesis in vivo. **Annual Review of Plant Biology**, Boca Raton, v.59, p.89-113, 2008.

BAKER, N. R.; ROSENQVIST, E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. **Journal of experimental botany**, v. 55, n. 403, p. 1607-1621, 2004.

BERTHOD, L.; WHITLEY, D. C.; ROBERTS, G.; SHARPE, A.; GREENWOOD, R.; MILLS, G. A. Quantitative structure-property relationships for predicting sorption of pharmaceuticals to sewage sludge during waste water treatment processes. **Science of The Total Environment**, 2016.

BINDER, D. L.; DOBERMANN, A.; SANDER, D. H.; CASSMAN, K. G. Biosolids as nitrogen source for irrigated maize and rainfed sorghum. **Soil Science Society of America Journal**, v. 66, n. 2, p. 531-543, 2002.

BJÖRKMAN, O.; DEMMIG, B. Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. **Planta**, v. 170, n. 4, p. 489-504, 1987.

BOUREIMA, S.; OUKARROUM, A.; DIOUF, M.; CISSE, N.; VAN DAMME, P. Screening for drought tolerance in mutant germplasm of sesame (*Sesamum indicum*) probing by chlorophyll a fluorescence. **Environmental and Experimental Botany**, v. 81, p. 37-43, 2012.

BROCHINI, C. B.; MARTINS, D.; ROQUE, N. F.; BOLZANI, V. D. S. An oleanane acid from *Alibertia edulis*. **Phytochemistry**, v. 36, n. 5, p. 1293-1295, 1994.

CAI, H.; CHEN, T.; LIU, H.; GAO, D.; ZHENG, G.; ZHANG, J. The effect of salinity and porosity of sewage sludge compost on the growth of vegetable seedlings. **Scientia Horticulturae**, v. 124, n. 3, p. 381-386, 2010.

CAMPOS, H.; TREJO, C.; PEÑA-VALDIVIA, C. B.; GARCÍA-NAVA, R.; CONDE-MARTÍNEZ, F. V.; CRUZ-ORTEGA, M. R. Stomatal and non-stomatal limitations of bell pepper (*Capsicum annuum* L.) plants under water stress and re-watering: Delayed restoration of photosynthesis during recovery. **Environmental and Experimental Botany**, v. 98, p. 56-64, 2014.

CHEN, LI-SONG.; CHENG, LAILIANG. The acceptor side of photosystem II is damaged more severely than the donor side of photosystem II in 'Honeycrisp' apple leaves with zonal chlorosis. **Acta physiologiae plantarum**, v. 32, n. 2, p. 253-261, 2010.

CHERIF, J.; DERBEL, N.; NAKKACH, M.; VON BERGMANN, H.; JEMAL, F.; LAKHDAR, Z. B. Analysis of in vivo chlorophyll fluorescence spectra to monitor physiological state of tomato plants growing under zinc stress. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 101, n. 3, p. 332-339, 2010.

CHIANG, K. Y.; LU, C. H.; LIAO, C. K.; GER, R. H. R. Characteristics of hydrogen energy yield by co-gasified of sewage sludge and paper-mill sludge in a commercial scale plant. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 41, n. 46, p. 21641-21648, 2016.

CHRISTOFFERSEN, B. O.; COUPE, N. R.; ARAIND, M. A.; BAKER, I. T.; CESTARO, B. P.; CIAIS, P.; FISHER, J. B.; GALBRAITHI, D.; GUAN, XIAODAN.; GULDEN, L.; HURK.; B. V. D.; ICHII, K.; IMBUZEIRO, H.; JAIN, ATUL.; LEVINE, N.; MACHO, G. M.; POULTER, B.; ROBERTI, D. R.; SAKAGUCHI, K.; SAHOO, A.; SCHAEFER, K.; SHI, M.; VERBEECK, H.; YANG, Z. L.; K, ARAÚJO, A. C.; KRUIJT, B; MANZI, A. O.; ROCHA, H. R.; RANDOWA, C. V.; MUZA, M. N.; BORAK, J.; COSTA, M. H.; GONÇALVES, L. G. G.; ZENG, X.; SALESKA, S. R. Mechanisms of water supply and vegetation demand govern the seasonality and magnitude of evapotranspiration in Amazonia and Cerrado. **Agricultural and Forest meteorology**, v. 191, p. 33-50, 2014.

CIEŚLIK, B.; KONIECZKA, P. A review of phosphorus recovery methods at various steps of wastewater treatment and sewage sludge management. The concept of “no solid waste generation” and analytical methods. **Journal of Cleaner Production**, 2016.

CONESA, M. R.; DE LA ROSA, J. M.; DOMINGO, R.; BAÑON, S.; PÉREZ-PASTOR, A. Changes induced by water stress on water relations, stomatal behaviour and morphology of table grapes (cv. Crimson Seedless) grown in pots. **Scientia Horticulturae**, v. 202, p. 9-16, 2016.

CORREIA, K. G.; FERNANDES, P. D.; GHEYI, H. R.; NOBRE, R. G.; DA SILVA SANTOS, T. Crescimento, produção e características de fluorescência da clorofila a em

amendoim sob condições de salinidade. **Revista Ciência Agronômica**, v. 40, n. 4, p. 514-521, 2009.

DALOSO, D. M.; HOLSBACK-MENEGUCCI, Z.R.; SANTIAGO, E. F. Efeito da radiação ultravioleta- Efeitos da radiação ultravioleta-C sobre a simetria e morfoanatomia C sobre a simetria e morfoanatomia foliar de *Rapanea ferruginea* (Ruiz et. Pav) Mez. (Myrsinaceae). Acta Scientiarum. **Biological Sciences**, v. 31, n. 2, p. 165-172, 2009.

DAS, P.; SAMANTARAY, S.; ROUT, G. R. Studies on cadmium toxicity in plants: a review. **Environmental pollution**, v. 98, n. 1, p. 29-36, 1997.

DEDE, G.; OZDEMIR, S. Effects of elemental sulphur on heavy metal uptake by plants growing on municipal sewage sludge. **Journal of environmental management**, v. 166, p. 103-108, 2016.

DEMETRIOU, G.; NEONAKI, C.; NAVAKOUDIS, E.; KOTZABASIS, K. Salt stress impact on the molecular structure and function of the photosynthetic apparatus—the protective role of polyamines. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics**, v. 1767, n. 4, p. 272-280, 2007.

DE WIT, P. J. How plants recognize pathogens and defend themselves. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 64, n. 21, p. 2726-2732, 2007.

EL FELS, L.; ZAMAMA, M.; EL ASLI, A.; HAFIDI, M. Assessment of biotransformation of organic matter during co-composting of sewage sludge-lignocelulosic waste by chemical, FTIR analyses, and phytotoxicity tests. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 87, p. 128-137, 2014.

EGEA, G.; VERHOEF, A.; VIDALE, P. L. Towards an improved and more flexible representation of water stress in coupled photosynthesis–stomatal conductance models. **Agricultural and Forest Meteorology**, v. 151, n. 10, p. 1370-1384, 2011.

ENGINEER, C. B.; HASHIMOTO-SUGIMOTO, M.; NEGI, J.; ISRAELSSON-NORDSTRÖM, M.; AZOULAY-SHEMER, T.; RAPPEL, W. J.; SCHROEDER, J. I. CO₂ sensing and CO₂ regulation of stomatal conductance: Advances and open questions. **Trends in plant science**, v. 21, n. 1, p. 16-30, 2016.

FENG, Z.; WANG, L.; PLEIJEL, H.; ZHU, J.; KOBAYASHI, K. Differential effects of ozone on photosynthesis of winter wheat among cultivars depend on antioxidative enzymes rather than stomatal conductance. **Science of The Total Environment**, v. 572, p. 404-411, 2016.

GOMES, M. T. G.; DA LUZ, A. C.; DOS SANTOS, M. R.; BATITUCCI, M. D. C. P.; SILVA, D. M.; FALQUETO, A. R. Drought tolerance of passion fruit plants assessed by the OJIP chlorophyll a fluorescence transient. **Scientia horticultrae**, v. 142, p. 49-56, 2012.

GONDEK, K.; BARAN, A.; KOPEĆ, M. The effect of low-temperature transformation of mixtures of sewage sludge and plant materials on content, leachability and toxicity of heavy metals. **Chemosphere**, v. 117, p. 33-39, 2014.

GUEDES, P.; MATEUS, E. P.; ALMEIDA, J.; FERREIRA, A. R.; COUTO, N.; RIBEIRO, A. B. Current intensity influence on phosphorus recovery and organic contaminants removal. **Chemical Engineering Journal**, v. 306, p. 1058-1066, 2016.

GUO, Y.; TAN, J. Kinetic Monte Carlo simulation of the initial phases of chlorophyll fluorescence from Photosystem II. **Biosystems**, v. 115, p. 1-4, 2014.

HABERMANN, G.; ELLSWORTH, P. F.; CAZOTO, J. L.; SIMÃO, E.; BIERAS, A. C. Comparative gas exchange performance during the wet season of three Brazilian *Styrax* species under habitat conditions of Cerrado vegetation types differing in soil water availability and crown density. **Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 206, n. 4, p. 351-359, 2011.

HARIDASAN, M.; DE ARAÚJO, G. M. Aluminium-accumulating species in two forest communities in the Cerrado region of central Brazil. **Forest ecology and management**, v. 24, n. 1, p. 15-26, 1988.

HORTTANAINEN, M.; DEVIATKIN, I.; HAVUKAINEN, JI. Nitrogen release from mechanically dewatered sewage sludge during thermal drying and potential for recovery. **Journal of Cleaner Production**, 2016.

HUANG, Y.; LI, X.; ZHANG, Z.; HE, C.; ZHAO, P.; YOU, Y.; MO, L. Seasonal changes in *Cyclobalanopsis glauca* transpiration and canopy stomatal conductance and their dependence on subterranean water and climatic factors in rocky karst terrain. **Journal of Hydrology**, v. 402, n. 1, p. 135-143, 2011.

INMAN-BAMBER, N.G.; SMITH, D.M. Water relations in sugarcane and response to water deficits. **Field Crops Research**, v.92, p.185-202, 2005.

ISMAIL, I. M.; BASAHI, J. M.; HASSAN, I. A. Gas exchange and chlorophyll fluorescence of pea (*Pisum sativum* L.) plants in response to ambient ozone at a rural site in Egypt. **Science of the Total Environment**, v. 497, p. 585-593, 2014.

KALAJI, H. M.; OUKARROUM, A.; ALEXANDROV, V.; KOUZMANOVA, M.; BRESTIC, M.; ZIVCAK, M.; GOLTSEV, V. Identification of nutrient deficiency in maize

and tomato plants by in vivo chlorophyll *a* fluorescence measurements. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 81, p. 16-25, 2014.

KATERJI, N.; VAN HOORN, J. W.; HAMDY, A.; MASTRORILLI, M.; KARZEL, E. M. Osmotic adjustment of sugar beets in response to soil salinity and its influence on stomatal conductance, growth and yield. **Agricultural Water Management**, v. 34, n. 1, p. 57-69, 1997.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. A conservação do Cerrado brasileiro. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, p. 147-155, 2005.

LAZÁR, D. THE O-K-J-I-P chlorophyll *a* fluorescence transient: Theory and experiments. **Habilitation Thesis**, p. 62, 2004.

LIBANO, A. M.; FELFILI, M. J. Mudanças temporais na composição florística e na diversidade de um cerrado *sensu stricto* do Brasil Central em um período de 18 anos. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, p. 927-936, 2006.

JIANRONG, X.; QIRAN, T. Early stage toxicity of excess copper to photosystem II of *Chlorella pyrenoidosa*—OJIP chlorophyll *a* fluorescence analysis. **Journal of Environmental Sciences**, v.21, p.1569-1574, 2009.

JIANRONG, X.; QIRAN, T. Early stage toxicity of excess copper to photosystem II of *Chlorella pyrenoidosa*—OJIP chlorophyll *a* fluorescence analysis. **Journal of Environmental Sciences**, v.21, p.1569-1574, 2009.

JIN, J.; LI, Y.; ZHANG, J.; WU, S.; CAO, Y.; LIANG, P.; CHRISTIE, P. Influence of pyrolysis temperature on properties and environmental safety of heavy metals in biochars

derived from municipal sewage sludge. **Journal of Hazardous Materials**, v. 320, p. 417-426, 2016.

JOLIOT, P.; JOLIOT, A. Cyclic electron transport in plant leaf. **Proceedings of the National Academy of sciences of United States of America**, New York, v.99, p.10209-10214, 2002.

LEILA, S.; MHAMED, M.; HEILMEIER, H.; KHARYTONOV, M.; WICHE, O.; MOSCHNER, C.; NADIA, B. Fertilization value of municipal sewage sludge for *Eucalyptus camaldulensis* plants. **Biotechnology Reports**, 2016.

LICHTENTHALER, H. K.; BUSCHMANN, C.; KNAPP, M. How to correctly determine the different chlorophyll fluorescence parameters and the chlorophyll fluorescence decrease ratio RFD of leaves with the PAM fluorometer. **Photosynthetica**, v. 43, n. 03, p. 379-393, 2005.

LOCATELLI, M.; MELO, A. S.; LIMA, L. M. L.; VIEIRA, A. H. Deficiências nutricionais em mudas de *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum*. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, suplemento 2, p. 648-650, 2007.

LOTFI, R.; PESSARAKLI, M.; GHARAVI-KOUCHEBAGH, P.; KHOSHVAGHTI, H. Physiological responses of *Brassica napus* to fulvic acid under water stress: Chlorophyll a fluorescence and antioxidant enzyme activity. **The Crop Journal**, v. 3, n. 5, p. 434-439, 2015.

MAGGARD, A. O.; WILL, R. E.; WILSON, D. S.; MEEK, C. R.; VOGEL, J. G. Fertilization reduced stomatal conductance but not photosynthesis of *Pinus taeda* which compensated for lower water availability in regards to growth. **Forest Ecology and Management**, v. 381, p. 37-47, 2016.

MAK, M.; BABLA, M.; XU, S. C.; O’CARRIGAN, A.; LIU, X. H.; GONG, Y. M.; CHEN, Z. H. Leaf mesophyll K⁺, H⁺ and Ca²⁺ fluxes are involved in drought-induced decrease in photosynthesis and stomatal closure in soybean. **Environmental and Experimental Botany**, v. 98, p. 1-12, 2014.

MARTINS, M. N. C.; SOUZA, V. V.; SILVA, S. T. Genotoxic and mutagenic effects of sewage sludge on higher plants. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 124, p. 489-496, 2016.

MATHUR, S.; ALLAKHVERDIEV, S. I.; JAJOO, A. Analysis of high temperature stress on the dynamics of antenna size and reducing side heterogeneity of Photosystem II in wheat leaves (*Triticum aestivum*). **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics**, v. 1807, n. 1, p. 22-29, 2011.

MEHTA, P.; JAJOO, A.; MATHUR, S.; BHARTI, S. Chlorophyll a fluorescence study revealing effects of high salt stress on photosystem II in wheat leaves. **Plant physiology and biochemistry**, v. 48, n. 1, p. 16-20, 2010.

MELLO, C. A.; MELLO, C. G.; ALMEIDA, S. R.; MELLO, G. Efeito de diferentes substratos sobre o desenvolvimento de mudas de *Acacia* sp. **Revista Árvore**, v. 30, n. 2, p. 207-214, 2006.

MELLONI, R.; SILVA, F. A. M.; CARVALHO, J. G. Cálcio, magnésio e potássio como amenizadores dos efeitos da salinidade sobre a nutrição mineral e o crescimento de mudas de aroeira (*Miracrodruon urundeuva*). **Revista Cerne**, Lavras, v. 6, n. 2, p. 035-040, 2000.

MENG, L.; LI, W.; ZHANG, S.; WU, C.; LV, L. Feasibility of co-composting of sewage sludge, spent mushroom substrate and wheat straw. **Bioresource Technology**, 2016.

MENEGATI, S. E. L. T.; LIMA, F. F.; TRAESEL, G. K.; SOUZA, R. I. C.; SANTOS, A. C.; SANTANA, A. D. F.; OLIVEIRA, V. S.; VIEIRA, S. C. H.; CARDOSO, C. A. L.; VIEIRA, M. C.; OESTERREICH, S. A. Acute and subacute toxicity of the aqueous extract of *Alibertia edulis* (Rich.) A. Rich. ex DC. in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, 2016.

MISHRA, D.; SHEKHAR, S.; AGRAWAL, L.; CHAKRABORTY, S.; CHAKRABORTY, N. Cultivar-specific high temperature stress responses in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) associated with physicochemical traits and defense pathways. **Food Chemistry**, v. 221, p. 1077-1087, 2017.

MLINARIĆ, S.; DUNIĆ, J. A.; BABOJELIĆ, M. S; CESAR, V; LEPEDUŠ, H. Differential accumulation of photosynthetic proteins regulates diurnal photochemical adjustments of PSII in common fig (*Ficus carica* L.) leaves. **Journal of Plant Physiology**, v. 209, p. 1-10, 2017.

MOISE, N.; MOYA, I. Correlation between lifetime heterogeneity and kinetics heterogeneity during chlorophyll fluorescence induction in leaves: 2. Multi-frequency phase and modulation analysis evidences a loosely connected PSII pigment–protein complex. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics**, v. 1657, n. 1, p. 47-60, 2004.

MOTZO, R.; PRUNEDDU, G.; GIUNTA, F. The role of stomatal conductance for water and radiation use efficiency of durum wheat and triticale in a Mediterranean environment. **European Journal of Agronomy**, v. 44, p. 87-97, 2013.

NERI, A. V.; CAMPOS, E. D.; DUARTE, T. G.; MEIRA NETO, J. A. A.; SILVA, A. D.; VALENTE, G. E. **Acta botanica brasílica**, v. 19, n. 2, p. 369-376, 2005.

NISHIYAMA, Y.; SULEYMAN I. A.; MURATA N.; Protein synthesis is the primary target of reactive oxygen species in the photoinhibition of photosystem II. **Physiologia Plantarum**, v.142, p 35–46, 2011.

OLIVEIRA, J. P. B.; LOPES, J. C.; SANTOS, L. D. S.; OLIVEIRA, L. B. Concentração de metais pesados em plantas de maracujá doce cultivadas em dois solos tratados com lodo de esgoto. **Engenharia Ambiental: Pesquisa e Tecnologia**, v. 6, n. 2, 2009.

OLSSON, J.; FENG, X. M.; ASCUE, J.; GENTILI, F. G.; SHABIIMAM, M. A.; NEHRENHEIM, E.; THORIN, E. Co-digestion of cultivated microalgae and sewage sludge from municipal waste water treatment. **Bioresource technology**, v. 171, p. 203-210, 2014.

OUKARROUM, A.; EL MADIDI, S.; SCHANSKER, G.; STRASSER, R. J. Probing the responses of barley cultivars (*Hordeum vulgare* L.) by chlorophyll a fluorescence OLKJIP under drought stress and re-watering. **Environmental and Experimental Botany**, v. 60, n. 3, p. 438-446, 2007.

PASCUAL, I.; ANTOLÍN, M. C.; GARCÍA, C.; POLO, A.; SÁNCHEZ, D. M. Plant availability of heavy metals in a soil amended with a high dose of sewage sludge under drought conditions. **Biology and fertility of soils**, v. 40, n. 5, p. 291-299, 2004.

PAULA, R. Á. D.; CORRÊA, R. S.; COTTA, T. P. Lixiviação de nitrato de um substrato minerado tratado com lodo de esgoto doméstico. 2011.

PEÑA-PEÑA, K.; IRMLER, U. Moisture seasonality, soil fauna, litter quality and land use as drivers of decomposition in Cerrado soils in SE-Mato Grosso, Brazil. **Applied Soil Ecology**, v. 107, p. 124-133, 2016.

PERBONI, A. T.; MARTINAZZO, E. G.; SILVA, D. M.; BACARIN, M. A. Baixas temperaturas sobre a fluorescência da clorofila a em plantas de diferentes híbridos de canola. **Ciência Rural**, v. 45, n. 2, p. 215-222, 2015.

PETKOVA, V.; DENEV, I. D.; CHOLAKOV, D.; PORJAZOV, I. Field screening for heat tolerant common bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.) by measuring of chlorophyll fluorescence induction parameters. **Scientia Horticulturae**, v. 111, n. 2, p. 101-106, 2007.

POSPÍŠIL, P.; DAU, H. Chlorophyll fluorescence transients of photosystem II membrane particles as a tool for studying photosynthetic oxygen evolution. **Photosynthesis Research**, v. 65, n. 1, p. 41-52, 2000.

RAMÍREZ, W. A.; DOMENE, X.; ORTIZ, O.; ALCANIZ, J. M. Toxic effects of digested, composted and thermally-dried sewage sludge on three plants. **Bioresource technology**, v. 99, n. 15, p. 7168-7175, 2008.

REDILLAS, M. C.; JEONG, J. S.; KIM, Y. S.; JUNG, H.; BANG, S. W.; CHOI, Y. D.; KIM, J. K. The overexpression of OsNAC9 alters the root architecture of rice plants enhancing drought resistance and grain yield under field conditions. **Plant biotechnology journal**, v. 10, n. 7, p. 792-805, 2012.

RODRIGUES, T. R.; VOURLITIS, G. L.; LOBO, F. D. A.; SANTANNA, F. B.; DE ARRUDA, P. H., NOGUEIRA, J. D. S. Modeling canopy conductance under contrasting seasonal conditions for a tropical savanna ecosystem of south central Mato Grosso, Brazil. **Agricultural and Forest Meteorology**, v. 218, p. 218-229, 2016.

RUGGIERO, P. G. C.; PIVELLO, V. R.; SPAROVEK, G.; TERAMOTO, E.; PIRES NETO, A. G. Relação entre solo, vegetação e topografia em área de cerrado (Parque Estadual de

Vassununga, SP): como se expressa em mapeamentos. **Acta Botanica Brasílica**, v. 20, n. 2, p. 383-394, 2006.

SAENEN, E.; HOREMANS, N.; VANHOUDT, N.; VANDENHOVE, H.; BIERMANS, G.; VAN HEES, M.; CUYPERS, A. Oxidative stress responses induced by uranium exposure at low pH in leaves of *Arabidopsis thaliana* plants. **Journal of environmental radioactivity**, v. 150, p. 36-43, 2015.

SANTIAGO, E. F.; LARENTIS, T. C.; BARBOSA, V. M.; CAIRES, A. R. L.; MORAIS, G. A.; SÚAREZ, Y. R. Can the chlorophyll-*a* fluorescence be useful in identifying acclimated young plants from two populations of *Cecropia pachystachya* Trec.(Urticaceae), under elevated CO₂ concentrations?. **Journal of fluorescence**, v. 25, n. 1, p. 49-57, 2015.

SANTIAGO, E. F.; PAOLI, A. A.S. Respostas morfológicas em *Guibourtia hymenifolia* (Moric.) J. Leonard (Fabaceae) e *Genipa americana* L. (Rubiaceae), submetidas ao estresse por deficiência nutricional e alagamento do substrato. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 30, n. 1, p. 131-140, 2007.

SCHANSKER, G.; TÓTH, S. Z.; KOVÁCS, L.; HOLZWARATH, A. R.; GARAB, G. Evidence for a fluorescence yield change driven by a light-induced conformational change within photosystem II during the fast chlorophyll *a* fluorescence rise. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics**, v. 1807, n. 9, p. 1032-1043, 2011.

SCHMIDT, S. B.; JENSEN, P. E.; HUSTED, S. Manganese Deficiency in Plants: The Impact on Photosystem II. **Trends in plant science**, 2016.

SHAO, R.; WANG, K.; SHANGGUAN, Z. Cytokinin-induced photosynthetic adaptability of *Zea mays* L. to drought stress associated with nitric oxide signal: probed by ESR

spectroscopy and fast OJIP fluorescence rise. **Journal of plant physiology**, v. 167, n. 6, p. 472-479, 2010.

SHARMA, D. K.; FERNÁNDEZ, J. O.; ROSENQVIST, E.; OTTOSEN, C. O.; ANDERSEN, S. B. Genotypic response of detached leaves versus intact plants for chlorophyll fluorescence parameters under high temperature stress in wheat. **Journal of plant physiology**, v. 171, n. 8, p. 576-586, 2014.

SHENGRONG, Y.; XIAOHUA, H.; QING, Z. Effect of lanthanum (III) on reactive oxygen metabolism of soybean seedlings under supplemental UV-B irradiation. **Journal of Rare Earths**, v. 25, n. 3, p. 352-358, 2007.

SILVA, J. K.; CAZARIN, C. B. B.; COLOMEU, T. C.; BATISTA, Â. G.; MELETTI, L. M.; PASCHOAL, J. A. R.; JÚNIOR, M. R. M. Antioxidant activity of aqueous extract of passion fruit (*Passiflora edulis*) leaves: in vitro and in vivo study. **Food Research International**, v. 53, n. 2, p. 882-890, 2013.

SILVA, F. A. B.; PEREIRA, L. A. R.; SILVEIRA, C. E. S. Micropropagation of *Alibertia edulis* Rich. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 51, n. 6, p. 1103-1114, 2008.

SILVA, P. E. M.; SANTIAGO, E. F.; SILVA, E. M.; SÚAREZ, Y. R.; DALOSO, D. M. Fluorescência da clorofila-*a* e variação da simetria como ferramentas de investigação de plantas sob estresse. **Idesia (Arica)**, v. 29, n. 3, p. 45-52, 2011.

SIMONETE, M. A.; KIEHL, J. D. C. Extração e fitodisponibilidade de metais em resposta à adição de lodo de esgoto no solo. **Scientia Agricola**, v. 59, n. 3, p. 555-563, 2002.

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

SINGH, R. P.; AGRAWAL, M. Effects of sewage sludge amendment on heavy metal accumulation and consequent responses of *Beta vulgaris* plants. *Chemosphere*, v. 67, n. 11, p. 2229-2240, 2007.

SONG, X.; LI, H. SONG, X.; LI, H. Effects of building shade on photosynthesis and chlorophyll fluorescence of *Euonymus fortunei*. **Acta Ecologica Sinica**, v. 36, n. 5, p. 350-355, 2016.

STRASSER, B. J. Donor side capacity of photosystem II probed by chlorophyll fluorescence transients. **Photosynthesis Research**, v. 52, n. 2, p. 147-155, 1997.

STRASSER, R. J.; SRIVASTAVA, A.; TSIMILLI-MICHAEL, M. The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. In: YUNUS, M.; PATHRE, U.; MOHANTY, P., (Eds.), **Probing photosynthesis: Mechanism, Regulation and Adaptation**. Taylor e Francis, London, p. 443-480, 2000.

STRASSER, R. J.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; SRIVASTAVA, A. Analysis of the fluorescence transient In: PAPAGEORGIOU, G. C; GOVINDJEE, (Eds.), **Chlorophyll fluorescence: A signature of photosynthesis**. Advances in Photosynthesis and Respiration Series. Springer: Dordrecht, p. 321-362, 2004.

STRUTHERS, R., IVANOVA, A., TITS, L., SWENNEN, R., COPPIN, P. Thermal infrared imaging of the temporal variability in stomatal conductance for fruit trees. **International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation**, v. 39, p. 9-17, 2015.

YANG, J.; FLEISHER, D. H.; SICHER, R. C.; KIM, J.; BALIGAR, V. C.; REDDY, V. R. Effects of CO₂ enrichment and drought pretreatment on metabolite responses to water stress and subsequent rehydration using potato tubers from plants grown in sunlit chambers. **Journal of plant physiology**, v. 189, p. 126-136, 2015.

YUSUF, M. A.; KUMAR, D.; RAJWANSHI, R.; STRASSER, R. J.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; SARIN, N. B. Overexpression of γ -tocopherol methyl transferase gene in transgenic *Brassica juncea* plants alleviates abiotic stress: physiological and chlorophyll a fluorescence measurements. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics**, v. 1797, n. 8, p. 1428-1438, 2010.

TAÏBI, K.; DEL CAMPO, A. D.; AGUADO, A.; MULET, J. M. The effect of genotype by environment interaction, phenotypic plasticity and adaptation on *Pinus halepensis* reforestation establishment under expected climate drifts. **Ecological Engineering**, v. 84, p. 218-228, 2015.

TÓTH, S. Z.; SCHANSKER, G.; GARAB, G.; STRASSER, R. J. Photosynthetic electrontransport activity in heat-treated barley leaves: the role of internal alternative electron donor to photosystem II. **Biochimica Acta**, Amsterdam, v.1767, p. 295-305, 2007.

TSIMILLI-MICHAEL, M.; STRASSER, R. J. In vivo assessment of stress impact on plants' vitality: applications in detecting and evaluating the beneficial role of Mycorrhization on host plants. **Mycorrhiza**. v. 3, p. 679-703, 2008.

TOMEK, P.; LAZÁR, D.; ILÍK, P.; NAUS, J. Research note: On the intermediate steps between the O and P steps in chlorophyll a fluorescence rise measured at different intensities of exciting light. **Functional Plant Biology**, v. 28, n. 11, p. 1151-1160, 2001.

WANG, R.; KORBOULEWSKY, N.; PRUDENT, P.; DOMEIZEL, M.; ROLANDO, C.; BONIN, G. Feasibility of using an organic substrate in a wetland system treating sewage sludge: Impact of plant species. **Bioresource technology**, v. 101, n. 1, p. 51-57, 2010.

WANG, C.; YANG, P.; LI, Y.; REN, S. Characteristics of *E. japonicus* stomatal conductance under water-deficit stress using a nonlinear Jarvis modified model. **Mathematical and Computer Modelling**, v. 58, n. 3, p. 799-806, 2013.

WILLIAMS, S. B. V. G. C.; NASCIMENTO, A. Distribuição de metais pesados em plantas de milho cultivadas em Argissolo tratado com lodo de esgoto. **Ciência Rural**, v. 36, n. 6, 2006.

VAN RENSEN, J. J.; VREDENBERG, W. J. Higher concentration of Q B-nonreducing photosystem II centers in triazine-resistant *Chenopodium album* plants as revealed by analysis of chlorophyll fluorescence kinetics. **Journal of plant physiology**, v. 166, n. 15, p. 1616-1623, 2009.

VERMA, N.; SHUKLA, S. Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 2, n. 4, p. 105-113, 2015.

VICO, G.; MANZONI, S.; PALMROTH, S.; WEIH, M.; KATUL, G. A perspective on optimal leaf stomatal conductance under CO₂ and light co-limitations. **Agricultural and forest meteorology**, v. 182, p. 191-199, 2013.

VILLEGAS, M.; HUILIÑIR, C. Biodrying of sewage sludge: kinetics of volatile solids degradation under different initial moisture contents and air-flow rates. **Bioresource technology**, v. 174, p. 33-41, 2014.

VIEIRA, D. D. P.; PORTES, T. D. A.; STACCIARINI-SERAPHIN, E.; TEIXEIRA, J. B. Fluorescência e teores de clorofilas em abacaxizeiro cv. pérola submetido a diferentes concentrações de sulfato de amônio. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 2, p. 360-368, 2010.

ZHAO, L.; GU, W.; SHAO, L.; HE, P. Sludge bio-drying process at low ambient temperature: effect of bulking agent particle size and controlled temperature. **Drying Technology**, v. 30, n. 10, p. 1037-1044, 2012.

ZHAO, Y. H.; JIA, X.; WANG, W. K.; LIU, T.; HUANG, S. P.; YANG, M. Y. Growth under elevated air temperature alters secondary metabolites in *Robinia pseudoacacia* L. seedlings in Cd-and Pb-contaminated soils. **Science of The Total Environment**, v. 565, p. 586-594, 2016.

ZUSHI, K.; KAJIWARA, S.; MATSUZOE, N. Chlorophyll a fluorescence OJIP transient as a tool to characterize and evaluate response to heat and chilling stress in tomato leaf and fruit. **Scientia Horticulturae**, v. 148, p. 39-46, 2011.