

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E AMBIENTE



MATHEUS GONZALEZ FERNANDES

**PARÂMETROS QUÍMICOS, MICROBIOLÓGICOS E DE TOXICIDADE  
OTIMIZADOS PARA A APLICAÇÃO DA VINHAÇA EM SOLO**

ARARAS  
2023

MATHEUS GONZALEZ FERNANDES

**PARÂMETROS QUÍMICOS, MICROBIOLÓGICOS E DE TOXICIDADE  
OTIMIZADOS PARA A APLICAÇÃO DA VINHAÇA EM SOLO**

Dissertação apresentada como exigência para obtenção do Título de Mestre em Agricultura e Ambiente ao Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Ambiente do Universidade Federal de São Carlos.

Orientador: Renato Nallin Montagnolli

Fernandes, Matheus Gonzalez

Parâmetros químicos, microbiológicos e de toxicidade  
otimizados para a aplicação da vinhaça em solo /  
Matheus Gonzalez Fernandes -- 2023.  
85f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São  
Carlos, campus Araras, Araras  
Orientador (a): Renato Nallin Montagnolli  
Banca Examinadora: Bárbara Estêvão Clasen, Anna  
Hoffmann Oliveira  
Bibliografia

1. Resíduo agroindustrial. 2. Toxicidade ambiental. 3.  
Biofertilização. I. Fernandes, Matheus Gonzalez. II.  
Título.

Ficha catalográfica desenvolvida pela Secretaria Geral de Informática  
(SIn)

DADOS FORNECIDOS PELO AUTOR

Bibliotecário responsável: Maria Helena Sachi do Amaral - CRB/8  
7083



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**

Centro de Ciências Agrárias  
Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Ambiente

---

**Folha de Aprovação**

---

Defesa de Dissertação de Mestrado do candidato Matheus Gonzalez Fernandes, realizada em 18/05/2023.

**Comissão Julgadora:**

Prof. Dr. Renato Nallin Montagnolli (UFSCar)

Profa. Dra. Bárbara Estêvão Clasen (UERGS)

Profa. Dra. Anna Hoffmann Oliveira (UFScar)

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Ambiente.

Aos meus pais Reina e Ponciano a minha irmã Lídia Karina e minhas sobrinhas Ana  
Karolina, Lis Eduarda e Maitê por todo incentivo, amor e apoio.

DEDICO

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente à Deus por me dar forças diariamente para seguir em frente.

Ao Prof. Dr. Renato Nallin Montagnolli pela orientação, dedicação e suporte dado durante esse período.

Ao Programa de Pós-graduação em Agricultura e Ambiente, coordenação, corpo docente, funcionários e colegas de turma.

Ao Laboratório de Microbiologia Agrícola e Molecular (LAMAM), por me oferecer estruturas para que esse trabalho fosse desenvolvido e a todos os integrantes que conviveram comigo durante esses anos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo financiamento desta pesquisa (código de financiamento 001).

À minha família e amigos, por todo apoio, incentivo e compreensão.

## RESUMO

O Brasil ganha cada vez mais destaque global na geração de bioenergia, principalmente na produção de etanol, alguns resíduos resultam deste processo, como a vinhaça. Por conter altos teores de matéria orgânica a vinhaça vem sendo utilizada como fertirrigação para o cultivo de plantas. Contudo sua aplicação apresenta elevado potencial poluidor quando manuseadas de forma incorreta e pode contaminar o solo, as águas superficial e subterrânea. Este estudo realizou um estudo comparativo do impacto ambiental da aplicação de vinhaças no solo. O estudo analisou a evolução da biodegradação da vinhaça usando respirometria e os níveis de toxicidade ambiental da vinhaça *in natura* e concentrada para a *L. sativa*. Também verificou as alterações químicas do solo influenciadas pela biofertirrigação e utilizou da Análise de Componentes Principais nas estatísticas. Foram observadas evidências de que a biodegradação da vinhaça funciona bem com vinhaça *in natura* e concentrada. Além disso, como resultado da ecotoxicidade, as vinhaças, quando aplicadas corretamente no solo, não prejudicam a *L. sativa* e melhoram o crescimento inicial das plantas.

**Palavras-chave:** microbiota do solo, biofertirrigação, resíduo agroindustrial, toxicidade ambiental.

## **ABSTRACT**

Brazil is increasingly gaining global prominence in the generation of bioenergy, mainly in the production of ethanol, some residues result from this process, such as vinasse. Because it contains high levels of organic matter, vinasse has been used as fertigation for plant cultivation. However, its application has a high polluting potential when handled incorrectly and can contaminate the soil, surface and groundwater. This study carried out a comparative study of the environmental impact of the application of vinasse in the soil. The study analyzed the evolution of vinasse biodegradation using respirometry and the environmental toxicity levels of *in natura* and concentrated vinasse to *L. sativa*. It also verified the soil chemical changes influenced by biofertilization and used Principal Component Analysis in the statistics. Evidence was observed that vinasse biodegradation works well with both raw and concentrated vinasse. In addition, as a result of ecotoxicity, vinasse, when properly applied to the soil, does not harm *L. sativa* and improves initial plant growth.

**Key words:** soil microbial, biofertilization, agro-industrial residue, environmental toxicity.



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Localização das áreas de coleta de solos. ....	7
<b>Figura 2:</b> Frasco de respirometria. ....	15
<b>Figura 3:</b> Produção semanal de CO <sub>2</sub> nos ensaios respirométrico do tratamento controle do solo 2 (C <sub>2</sub> : representada por a), solo 2 com aplicação de vinhaça in natura (SVI <sub>2</sub> : representada por b) e solo 2 com aplicação de vinhaça concentrada (SVC <sub>2</sub> :representada por c). Uma regressão polinomial foi traçada a fim de facilitar a visualização da biodegradação semanal. Os valores individuais estão contidos no Apêndice 8.1.....	24
<b>Figura 4:</b> Produção acumulada de CO <sub>2</sub> dos ensaios respirométrico com Latossolo Vermelho Eutroférico típico: Sendo dados do tratamento controle do solo 2 (C <sub>2</sub> :representada por a), solo 2 com aplicação de vinhaça in natura (SVI <sub>2</sub> :representada por b) e solo 2 com aplicação de vinhaça concentrada (SVC <sub>2</sub> :representada por c). Uma regressão polinomial foi traçada a fim de facilitar a visualização da biodegradação semanal. Os valores individuais estão contidos no Apêndice 8.1. ....	26
<b>Figura 5:</b> Produção semanal de CO <sub>2</sub> nos ensaios respirométrico do tratamento controle do solo 1 (C <sub>1</sub> : representada por a), solo 1 com aplicação de vinhaça in natura (SVI <sub>1</sub> : representada por b) e solo 1 com aplicação de vinhaça concentrada (SVC <sub>1</sub> :representada por c). Uma regressão polinomial foi traçada a fim de facilitar a visualização da biodegradação semanal. Os valores individuais estão contidos no Apêndice 8.1.....	30
<b>Figura 6:</b> Produção acumulada de CO <sub>2</sub> dos ensaios respirométrico com Latossolo Vermelho Distroférico típico: Sendo dados do tratamento controle do solo 1 (C <sub>1</sub> :representada por a), solo 1 com aplicação de vinhaça in natura (SVI <sub>1</sub> :representada por b) e solo 1 com aplicação de vinhaça concentrada (SVC <sub>1</sub> : representada por c). Uma regressão polinomial foi traçada a fim de facilitar a visualização da biodegradação semanal. Os valores individuais estão contidos no Apêndice 8.1. ....	32
<b>Figura 7:</b> Taxa de germinação (%G) de sementes <i>Lactuca sativa</i> .....	35
<b>Figura 8:</b> Comprimento médio da raiz e hipocótilo de <i>Lactuca sativa</i> obtido em ensaios de ecotoxicidade ao longo da biodegradação. ....	37
<b>Figura 9:</b> Comprimento médio da raiz e hipocótilo de <i>Lactuca sativa</i> obtido em ensaios de ecotoxicidade antes e após a biodegradação.....	38

<b>Figura 10:</b> Diagrama de dispersão dos primeiros eixos de Análise de Componentes Principais (PCA) dos dados encontrados nos testes de respirometria, ecotoxicidade e análises químicas do solo 1. ....	40
<b>Figura 11:</b> Análise de componentes principais dos ensaios aplicados ao Latossolo Vermelho Distrófico típico. ....	41
<b>Figura 12:</b> Análise estatísticas realizada no software Sigmaplot da produção semanal de CO <sub>2</sub> dos respirômetros do tratamento controle solo 2 (C <sub>2</sub> ). ....	49
<b>Figura 13:</b> Análise estatísticas realizada no software Sigmaplot da produção semanal de CO <sub>2</sub> dos respirômetros da amostra contendo o solo 2 com aplicação da vinhaça in natura (SVI <sub>2</sub> ). ....	50
<b>Figura 14:</b> Análise estatísticas realizada no software Sigmaplot da produção semanal de CO <sub>2</sub> dos respirômetros contendo da amostra do solo 2 com a aplicação da vinhaça concentrada (SVC <sub>2</sub> ). ....	51
<b>Figura 15:</b> Análise de variância (ANOVA) da evolução semanal de CO <sub>2</sub> das amostras dos respirômetros analisados do solo 2. Sendo o tratamento controle (C <sub>2</sub> ) representada por Col 2; tratamento com aplicação de vinhaça in natura (SVI <sub>2</sub> ), representada por Col 3 e tratamento com aplicação de vinhaça concentrada (SVC <sub>2</sub> ), representado por Col 4. .	52
<b>Figura 16:</b> Análise da curva sigmoidal da evolução acumulada de CO <sub>2</sub> dos respirômetros incubados por 120 dias do tratamento controle do solo 2 (C <sub>2</sub> ). ....	53
<b>Figura 17:</b> Análise da curva sigmoidal da evolução acumulada de CO <sub>2</sub> dos respirômetros incubados por 120 dias do tratamento com aplicação da vinhaça in natura no solo 2 (SVI <sub>2</sub> ). ....	54
<b>Figura 18:</b> Análise da curva sigmoidal da evolução acumulada de CO <sub>2</sub> dos respirômetros incubados por 120 dias do tratamento com aplicação da vinhaça concentrada no solo 2 (SVC <sub>2</sub> ). ....	55
<b>Figura 19:</b> Análise estatísticas realizada no software Sigmaplot da produção semanal de CO <sub>2</sub> dos respirômetros incubados por 90 dias do tratamento controle solo 1 (C <sub>1</sub> ). ....	57
<b>Figura 20:</b> Análise estatísticas realizada no software Sigmaplot da produção semanal de CO <sub>2</sub> dos respirômetros incubados por 90 dias do tratamento do solo 1 com adição de vinhaça in natura (SVI <sub>1</sub> ). ....	58
<b>Figura 21:</b> Análise estatísticas realizada no software Sigmaplot da produção semanal de CO <sub>2</sub> dos respirômetros incubados por 90 dias do tratamento do solo 1 com adição de vinhaça concentrada (SVC <sub>1</sub> ). ....	59

**Figura 22:** Análise de variância (ANOVA) da evolução semanal de CO<sub>2</sub> das amostras dos respirômetros analisados do solo 1. Sendo o tratamento controle (C<sub>1</sub>) representada por Col 2; tratamento com aplicação de vinhaça in natura (SVI<sub>1</sub>), representada por Col 3 e tratamento com aplicação de vinhaça concentrada (SVC<sub>1</sub>), representado por Col 4. . 60

**Figura 23:** Análise da curva sigmoidal da evolução acumulada de CO<sub>2</sub> dos respirômetros incubados por 90 dias do tratamento controle do solo 1 (C<sub>1</sub>)..... 61

**Figura 24:** Análise da curva sigmoidal da evolução acumulada de CO<sub>2</sub> dos respirômetros incubados por 90 dias do tratamento com aplicação da vinhaça in natura no solo 1 (SVI<sub>1</sub>).  
..... 62

**Figura 25:** Análise da curva sigmoidal da evolução acumulada de CO<sub>2</sub> dos respirômetros incubados por 90 dias do tratamento com aplicação da vinhaça concentrada no solo 1 (SVC<sub>1</sub>). ..... 63

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Atributos químicos dos Latossolos analisados antes de serem submetidos aos ensaios de respirometria. ....	8
<b>Tabela 2:</b> Análise granulométrica das amostras de solos. ....	9
<b>Tabela 3:</b> Características da Vinhaça in natura e concentrada. ....	11
<b>Tabela 4:</b> Delineamento dos ensaios de respirometria. ....	15
<b>Tabela 5:</b> Delineamento dos ensaios de Ecotoxicidade com <i>Lactuca sativa</i> . ....	19
<b>Tabela 6:</b> Delineamento para montagem dos inócuos utilizados nos ensaios de ecotoxicidade das vinhaças in natura e concentrada aplicadas no solo ao longo do tempo. ....	20
<b>Tabela 7:</b> Delineamento dos ensaios de ecotoxicidade das vinhaças in natura e concentrada ao longo do tempo. ....	20
<b>Tabela 8:</b> Quantificação de colônias de bactérias e fungos presentes no solo, em Unidades Formadoras de Colônia por grama de solo seco (UFC/g). ....	22
<b>Tabela 9:</b> Comparação múltipla em pares pelo método de Ducan dos respirômetros contendo Solo 2. ....	27
<b>Tabela 10:</b> Caracterização química do solo controle e tratado com vinhaças in natura e concentrada após o ensaio de respirometria. ....	28
<b>Tabela 11:</b> Comparação de classes pelo método de Dunn's dos respirômetros contendo Solo 1. ....	34
<b>Tabela 12:</b> Caracterização química do solo controle e tratado com vinhaças in natura e concentrada após o ensaio de respirometria. ....	34
<b>Tabela 13:</b> Volume de HCl titulado para Branco, C <sub>2</sub> , SVI <sub>2</sub> e SVC <sub>2</sub> , em mL e a evolução de CO <sub>2</sub> durante o período de 120 dias de incubação, em mg. ....	47
<b>Tabela 14:</b> Volume de HCl titulado para Branco, C <sub>1</sub> , SVI <sub>1</sub> e SVC <sub>1</sub> , em mL e a evolução de CO <sub>2</sub> durante o período de 90 dias de incubação, em mg. ....	56
<b>Tabela 15:</b> Comprimento de raiz e hipocótilo de teste de germinação com <i>L. sativa</i> em papel filtro para o controle positivo (CP). ....	64
<b>Tabela 16:</b> Comprimento de raiz e hipocótilo de teste de germinação com <i>L. sativa</i> em papel filtro para a análise ao longo do tempo para o tratamento controle no tempo inicial (T <sub>1</sub> ). ....	64

<b>Tabela 17:</b> Comprimento de raiz e hipocótilo de teste de germinação com L. sativa em papel filtro para a análise ao longo do tempo para o tratamento com adição de vinhaça in natura no tempo inicial de incubação (I <sub>1</sub> ). .....	64
<b>Tabela 18:</b> Comprimento de raiz e hipocótilo de teste de germinação com L. sativa em papel filtro para a análise ao longo do tempo para o tratamento com adição de vinhaça concentrada no tempo inicial de incubação (V <sub>1</sub> ). .....	65
<b>Tabela 19:</b> Comprimento de raiz e hipocótilo de teste de germinação com L. sativa em papel filtro para a análise ao longo do tempo para o tratamento controle no 30º dia de incubação (T <sub>30</sub> ). .....	65
<b>Tabela 20:</b> Comprimento de raiz e hipocótilo de teste de germinação com L. sativa em papel filtro para a análise ao longo do tempo para o tratamento com adição de vinhaça in natura em seu 30º dia de incubação (I <sub>30</sub> ). .....	66
<b>Tabela 21:</b> Comprimento de raiz e hipocótilo de teste de germinação com L. sativa em papel filtro para a análise ao longo do tempo para o tratamento com adição de vinhaça concentrada no seu 30º dia de incubação (V <sub>30</sub> ). .....	66
<b>Tabela 22:</b> Comprimento de raiz e hipocótilo de teste de germinação com L. sativa em papel filtro para a análise ao longo do tempo para o tratamento controle no 60º dia de incubação (T <sub>60</sub> ). .....	67
<b>Tabela 23:</b> Comprimento de raiz e hipocótilo de teste de germinação com L. sativa em papel filtro para a análise ao longo do tempo para o tratamento com adição de vinhaça in natura em seu 60º dia de incubação (I <sub>60</sub> ). .....	67
<b>Tabela 24:</b> Comprimento de raiz e hipocótilo de teste de germinação com L. sativa em papel filtro para a análise ao longo do tempo para o tratamento com adição de vinhaça concentrada no seu 60º dia de incubação (V <sub>60</sub> ). .....	67
<b>Tabela 25:</b> Comprimento de raiz e hipocótilo de teste de germinação com L. sativa em papel filtro para a análise ao longo do tempo para o tratamento controle no 90º dia de incubação (T <sub>90</sub> ). .....	68
<b>Tabela 26:</b> Comprimento de raiz e hipocótilo de teste de germinação com L. sativa em papel filtro para a análise ao longo do tempo para o tratamento com adição de vinhaça in natura em seu 90º dia de incubação (I <sub>90</sub> ). .....	68
<b>Tabela 27:</b> Comprimento de raiz e hipocótilo de teste de germinação com L. sativa em papel filtro para a análise ao longo do tempo para o tratamento com adição de vinhaça concentrada no seu 90º dia de incubação (V <sub>90</sub> ). .....	69

<b>Tabela 28:</b> Comprimento de raiz e hipocótilo de teste de germinação de L. sativa em papel filtro no tratamento controle analisado antes do teste de respirometria (C). .....	69
<b>Tabela 29:</b> Comprimento de raiz e hipocótilo de teste de germinação de L. sativa em papel filtro no tratamento controle após período de incubação de 120 dias nos respirômetros (CB). .....	70
<b>Tabela 30:</b> Comprimento de raiz e hipocótilo de teste de germinação de L. sativa em papel filtro no tratamento com aplicação de vinhaça in natura após período de 120 dias de incubação nos respirômetros (CI). .....	70
<b>Tabela 31:</b> Comprimento de raiz e hipocótilo de teste de germinação de L. sativa em papel filtro no tratamento com aplicação de vinhaça concentrada após período de 120 dias de incubação nos respirômetros (CC). .....	70

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	2
2	OBJETIVOS.....	4
2.1	Objetivo Geral.....	4
2.2	Objetivos Específicos .....	4
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	5
3.1	Caracterização das Amostras de Solo e Vinhaças.....	5
3.1.1	Coleta de Solo.....	5
3.1.2	Caracterização do Solo .....	6
3.1.3	Coleta das Vinhaças.....	8
3.1.4	Caracterização das Vinhaças .....	10
3.2	Biodegradação Analisada por Respirimetria.....	11
3.2.1	Preparo dos Reagentes.....	13
3.2.2	Montagem dos Ensaios.....	13
3.2.3	Acompanhamento da Biodegradação .....	15
3.2.4	Quantificação Microbiológica .....	16
3.3	Avaliação da Ecotoxicidade com <i>Lactuca sativa</i> .....	17
3.3.1	Ecotoxicidade Antes e Após a Biodegradação no Solo 2.....	17
3.3.2	Ecotoxicidade Após Aplicação de Vinhaça ao Longo do Tempo.....	18
3.3.3	Análise de Germinação e Inibição.....	20
3.4	Análise Estatística .....	20
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	21
4.1	Estimativa de Colônias Microbianas .....	21
4.2	Estimativa de Biodegradação por Respirimetria.....	22
4.2.1	Análise em Latossolo Vermelho Eutroférico típico (Solo 2).....	22
4.2.2	Análise em Latossolo Vermelho Distroférico típico (Solo 1).....	29

4.3	Teste de Ecotoxicidade com Sementes <i>Lactuca sativa</i> .....	34
4.3.1	Análise ao Longo do Tempo .....	34
4.3.2	Análise Antes e Após a Biodegradação da Vinhaça.....	37
4.4	Análise de Componentes Principais. ....	38
5.	CONCLUSÕES .....	41
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	42
7	APÊNDICE .....	46
7.1	Dados de Respirometria.....	46
7.2	Dados de Ecotoxicidade.....	63



## 1 INTRODUÇÃO

As principais fontes de energia utilizadas no mundo são as provenientes dos derivados do petróleo, contudo fontes alternativas vêm sendo desenvolvidas visando substituí-las. Dentre elas se destacam as formas de energia por biomassa. Na produção do etanol utiliza-se plantas com alto teor de açúcar, amido ou celulósica (SILVA, 2010).

A produção de etanol é realizada pelos processos de fermentação de carboidratos, hidratação do etileno e redução do acetaldeído (SILVA, 2010). No Brasil a técnica mais empregada é a fermentação de carboidratos, utilizando principalmente a cana de açúcar. Durante a safra de 2020/2021 produziu-se no país mais de 654 milhões de ton. de cana de açúcar e mais de 32 milhões de m<sup>3</sup> de etanol, sendo para o estado de São Paulo valores de 357 milhões de ton e 9 milhões de m<sup>3</sup> respectivamente (BRASIL, 2021).

Um dos subprodutos gerados no processo produtivo do etanol é a vinhaça, que, de acordo com Almança (1994), é “uma suspensão aquosa de sólidos orgânicos e minerais, contendo os componentes do vinho não arrastados na etapa de destilação, além de quantidades residuais de açúcar, álcool e componentes voláteis mais pesados”. Estes resíduos possuem alto poder de corrosão, baixo pH, alta DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio), alta temperatura e grande quantidade de matéria orgânica, por ser rica em nutrientes (principalmente o potássio) e água.

A vinhaça quando liberada inadequadamente, gera contaminação e passivos ambientais devido ao seu alto potencial poluidor. Em torno de 12 litros de vinhaça são gerados para cada litro de etanol produzido (CORAZZA, 2001; UNICA, 2021). Entretanto, por ser rica em água e nutrientes quando introduzida em quantidade adequada, este efluente promove a melhoria da fertilidade do solo. Além disso, a aplicação da vinhaça promove economia de água para irrigação, o que é relevante, pois em torno de 70% da água utilizada no mundo é destinada à irrigação de áreas agrícolas (BRAGA et al., 2005).

Apesar disso, quando utilizada de maneira indevida, ou seja, em quantidades maiores do que o solo consegue adsorver e as plantas conseguem absorver, este resíduo pode percolar no solo, atingir e contaminar as águas subterrâneas, resultando em alto potencial tóxico para organismos aquáticos (MARINHO et al., 2014). Para evitar alta contaminação do lençol freático, a CETESB, órgão ambiental do estado de São Paulo exige poços de monitoramento em áreas de fertirrigação (MELLISSA, 2000; REGO, 2006).

As formas de utilização da vinhaça podem ser *in natura*, concentrada ou em pó. A técnica de concentração da vinhaça visa menores custos no transporte e a redução da captação de água para lavagem da cana e maquinários. Os primeiros registros do uso de evaporadores são de 1954 na Áustria, sendo apenas em 1978 as primeiras instalações no Brasil (CARVALHO, SILVA, 2010).

Na literatura há várias descrições visando a concentração da vinhaça e técnicas para aumentar a capacidade de evaporação, assim como a viabilidade econômica do custo do transporte e da sua aplicação no cenário agrícola. (NICOLAIEWSKY, 1981; NAVARRO, 2000; NATARAJ et al., ZAYAS et al., 2007; GOMES et al., 2011; LARSSON; ZORZENONI et al. 2014). A utilização da vinhaça no uso agrícola é denominada como biofertilização e traz os mesmos benefícios da vinhaça *in natura*, contudo pouco se conhece sobre os efeitos no solo e sua eficiência (DALRI et al., 2014). A vinhaça concentrada é utilizada por algumas usinas como alternativa no uso de resíduos orgânicos, e sua aplicação ocorre na linha de plantio, e não na área total como é comum quando se utiliza a vinhaça *in natura* (SILVA, 2012).

A cada ano a adoção de métodos ambientalmente sustentáveis na produção agrícola aumenta. O uso da vinhaça como fertilizante é considerada uma excelente alternativa, com isso a necessidade de estudos sobre a segurança ambiental é necessária. Uma maneira de determinar o grau de toxicidade é a análise qualitativa da adaptação funcional quando expostos a contaminantes (FONTANETTI et al., 2011).

O monitoramento ambiental da aplicação de vinhaça ajuda a medir a magnitude dos impactos ambientais e tomar decisões sobre quais são os ajustes necessários. O objetivo deste trabalho foi analisar a atividade microbiana em solo biofertilizado em área com plantio de cana-de-açúcar no estado de São Paulo, bem como identificar as alterações dos parâmetros químicos e microbiológicos do solo após biodegradação da vinhaça.

Para a agricultura, saber sobre a concentração de vinhaça e como ela afeta o comportamento ambiental é essencial, pois existe uma correlação quantitativa entre os parâmetros ambientais e como a vinhaça deve ser aplicada de forma mais eficiente no campo. Com isso, foi realizado um estudo comparativo entre as vinhaças *in natura* e concentrada sobre os aspectos de biodegradação e toxicidade, destacando para as influências na atividade microbiana do solo e correlacionou-se os parâmetros químicos do solo e a atividade microbiana associada à vinhaça. Análises de ecotoxicidade da vinhaça ao longo do tempo foram testadas para ambas as vinhaças.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Realizar um estudo comparativo dos parâmetros químicos e microbiológicos da vinhaça *in natura* e vinhaça concentrada depois da aplicação em solo ao longo do tempo, com base em atributos químicos e microbiológicos do solo, além da ecotoxicidade e biodegradabilidade das vinhaças.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Caracterizar os parâmetros químicos do solo e da vinhaça *in natura* e concentrada e comparar com os valores encontrados após biofertilização;
- Verificar a influência da aplicação de vinhaça na atividade microbiana do solo;
- Analisar a toxicidade da vinhaça *in natura* e vinhaça concentrada para a *Lactuca sativa*.;
- Quantificar a biodegradação das vinhaças ao longo do tempo;
- Aplicar os dados obtidos na caracterização química do solo, de toxicidade das vinhaças e atividade microbiana para a Análise de Componentes Principais (PCA).

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Caracterização das Amostras de Solo e Vinhaças**

##### **3.1.1 Coleta de Solo**

As amostras de solo foram coletadas em duas áreas diferentes no município de Araras (Figura 1). Uma delas localizada no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de São Carlos, UFSCar-Ar (Solo 1), latitude 22°19'00'' sul e longitude 47°22'53'' oeste. Além disso, a outra área está localizada próximo a uma usina sucroenergética e distante cerca de 10 km do CCA (Solo 2).

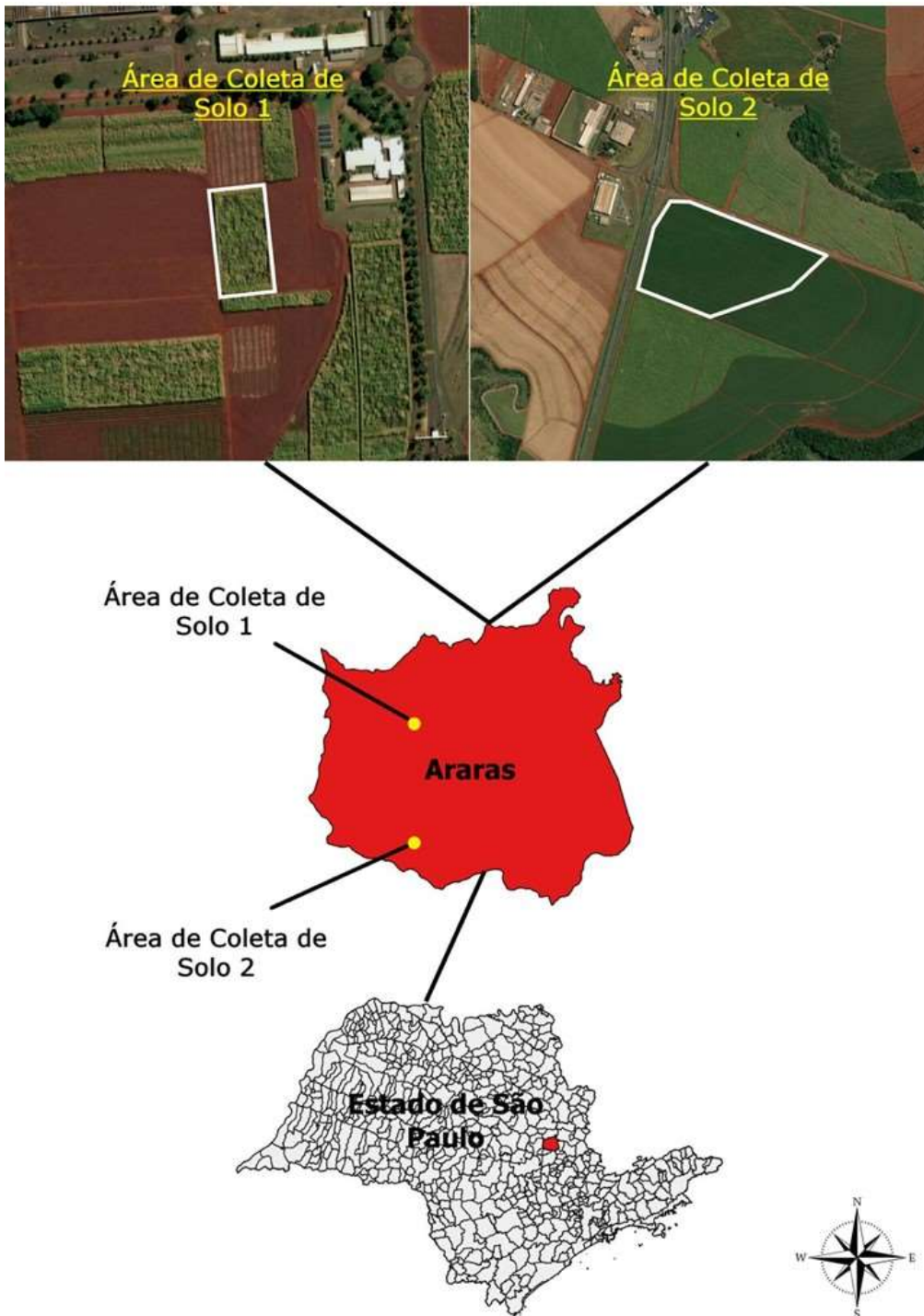
O município de Araras possui o clima do tipo Cwa de acordo com a classificação climática de Köppen (ALVARES et al., 2014), apresentando uma estação seca no inverno (maio a outubro) e outra chuvosa no verão (novembro a abril). A temperatura média é de aproximadamente 20 °C, com pluviosidade média anual de cerca de 1400 mm.

As amostras foram retiradas da camada superficial do solo (0 - 20 cm), coletando-o utilizando um trado do tipo holandês, em 15 pontos diferentes em uma área de amostragem definida por 1 hectare, os quais foram homogeneizados em balde, a fim de se obter uma amostra única.

A amostra composta de cada solo foi transferida para o Laboratório de Microbiologia Agrícola e Molecular (LAMAM), em que foi peneirada em malha de 2,0 mm e o material retido foi descartado. Parte da amostra peneirada do Solo 1 e do Solo 2 foram enviadas ao Laboratório de Análises Químicas de Solo e Planta da UFSCar-Ar para a caracterização química e granulométrica, o restante da amostra foi acondicionada em saco plástico e armazenado em geladeira a 4° C até a utilização nos ensaios de respirometria e ecotoxicidade.

Os parâmetros analisados foram: teor de matéria orgânica, pH, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, boro, cobre, ferro, manganês, zinco, alumínio, acidez total, soma de bases, capacidade de troca catiônica, percentagem de saturação por bases.

**Figura 1:** Localização das áreas de coleta de solos.



Fonte: O autor (2023).

### 3.1.2 Caracterização do Solo

As análises químicas dos perfis de solos foram realizadas no Laboratório de Química de Solo e Planta (UFSCar-Ar), os parâmetros analisados foram: fósforo, pH, teor de matéria orgânica, potássio, cálcio, magnésio, acidez potencial, soma de bases, capacidade de troca catiônica, saturação por bases.

De acordo com o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos da EMBRAPA (2018), foram identificadas duas classes de solos nesse estudo. O coletado na UFSCar, aqui denominado de Solo 1 é classificado como Latossolo Vermelho Distroférico típico, de textura argilosa ou muito argilosa, fase relevo ondulado e suave ondulado. O solo coletado nas proximidades da usina, neste estudo descrito como Solo 2, é classificado como Latossolo Vermelho Eutroférico típico, de textura argilosa ou muito argilosa, fase relevo suave ondulado (ROSSI, 2017).

Os resultados das análises químicas do solo 1 para os parâmetros citados na profundidade (0–20 cm) estão indicados na Tabela 1.

**Tabela 1:** Atributos químicos dos Latossolos analisados antes de serem submetidos aos ensaios de respirometria.

<b>Solo1: Latossolo Vermelho Distroférico típico</b>																	
pH	M.O	P resina	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn	K	Ca	Mg	H+Al	Al	SB	CTC	V	m
Ca Cl <sub>2</sub>	g/dm <sup>3</sup>	----- mg / dm <sup>3</sup> -----					----- mmol <sub>c</sub> / dm <sup>3</sup> -----							%			
5,0	17,0	22,0	47,0	0,08	3,2	14,0	51,3	1,5	1,4	17,0	9,0	31,0	0,5	27,4	58,4	47	1,8

<b>Solo 2: Latossolo Vermelho Eutroférico típico</b>																	
pH	M.O	P resina	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn	K	Ca	Mg	H+Al	Al	SB	CTC	V	m
Ca Cl <sub>2</sub>	g/dm <sup>3</sup>	----- mg / dm <sup>3</sup> -----					----- mmol <sub>c</sub> / dm <sup>3</sup> -----							%			
5,5	18,0	14,0	58,0	0,09	3,6	10,0	14,9	2,6	2,3	51,0	13,0	29,0	0,4	66,3	95,3	70	0,6

**Legenda:** P – fósforo; S – enxofre; B – boro; Cu – cobre; Fe – ferro; Mn – manganês; Zn – zinco; M.O – matéria orgânica; K – potássio; Ca – cálcio; Mg – magnésio; H+Al – acidez total; Al – alumínio; SB – soma das bases; V – saturação por bases; m - saturação por alumínio.

De acordo com os resultados se observa que ambos os solos apresentam média acidez, com o pH de 5,0 e 5,5. Os maiores teores de matéria orgânica (MO), K e capacidade de troca de cátions (CTC), encontrados no solo 2 refletem a maior fertilidade em comparação ao solo 1. A saturação por bases é variada, o solo 2 apresentou alta saturação com valor de 70%, em relação a baixa saturação do solo 1 que apresentou um valor de 47%.

Esses valores já são esperados porque o solo 1 é classificado como Eutroférico, o que significa que a saturação por bases (V) é igual ou superior a 50%, com pH 7, significando que as concentrações de nutrientes são ideais para o crescimento das plantas,

ou quase ideais. O solo 2 é distrófico, o que resulta em uma baixa fertilidade e uma baixa saturação por bases. Essa saturação é menor que 50% quando a determinação da CTC é feita a pH 7.

Os valores de K foram diferentes, o solo 1 apresentou o valor de 1,4 mmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup>, e o solo 2 apresentou o valor de 2,3 mmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup>. Apesar de ambos serem classificados como Latossolos o que explica a diferença nos valores deve se ao material de origem.

De acordo com Martin e Sparks (1985), a água atua no solo como regulador da concentração de k<sup>+</sup> na solução do solo e pode ser facilmente lixiviável, principalmente em solos com baixa capacidade de troca de cátions (CTC). Neste estudo o solo 1 apresentou menor valor de CTC. De acordo com a Tabela 1 o solo 2 apresentou CTC superior ao solo 1.

Sendo assim estimar o valor de potássio no solo é fundamental para determinar a dosagem de vinhaça a ser aplicada na cultura sob fertirrigação (CETESB, 2015). Brito et al. (2007b) relataram que os valores das concentrações de potássio do lixiviado independem da dose aplicada e sim das características do solo.

Conforme observado na Tabela 2 de acordo com a composição granulométrica ambos os solos analisados possuem teor de argila superior a 600 g<sup>kg</sup>-1, sendo assim classificados como textura muito argilosa.

**Tabela 2:** Análise granulométrica das amostras de solos.

Amostra	Argila	Areia			Silte
		Fina	Grossa	Total	
----- g/kg -----					
Solo 1	648	115	72	187	165
Solo 2	646	122	79	201	153

### 3.1.3 Coleta das Vinhaças

As vinhaças *in natura* e concentrada foram coletadas em galões plástico de 5L, seguindo as recomendações da Norma P4.231 da CETESB (2015). A coleta ocorreu uma única vez em usina na região de Araras – SP.

Após a coleta, foram enviadas uma amostra de cada uma das vinhaças até o Laboratório de Fertilidade Corretivos e Subprodutos do Departamento de Ciências de Solo da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – Universidade de São Paulo, ESALQ-USP, para a caracterização química. Outra parte das amostras de vinhaças foram transportados até o Laboratório de Microbiologia Agrícola e Molecular (LAMAM) da

Universidade Federal de São Carlos, onde foram dispostas em geladeira e armazenado a 4°C até sua utilização nos ensaios.

Ambas as vinhaças foram caracterizadas quanto aos seguintes parâmetros: pH, densidade, matéria orgânica, carbono orgânico, resíduo mineral total (RMT), resíduo mineral insolúvel (RMI), resíduo mineral solúvel (RMS), resíduo mineral + orgânico (RMO), nitrogênio, fósforo, potássio, sódio, cálcio, magnésio, enxofre, cobre, ferro, manganês e zinco, seguindo a recomendação da Norma P4.231 da CETESB (2015).

Os experimentos utilizados para a caracterização das vinhaças seguiram as metodologias dispostas no Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes (2009), Manual de Métodos Analíticos Oficiais para Fertilizantes e Corretivos (2017) e Manual de Análises de Fertilizantes (2009).

Minhoni e Cerri (1987) estudaram a decomposição da vinhaça sob diferentes níveis de umidade do solo (40, 60 e 80% da capacidade de campo). Em seus estudos concluíram que, apesar das diferenças iniciais nas taxas médias diárias de liberação de C, no final do período de incubação, a quantidade total de C liberada foi similar.

O cálculo de dosagem de aplicação das vinhaças nos ensaios de respirometria e ecotoxicidade seguiram as recomendações contida na norma técnica P. 4.231 da CETESB (2015), determinada pela Equação 1:

**Equação 1:** Cálculo de dosagem de aplicação de vinhaça.

$$\frac{m^3 \text{ de vinhaça}}{ha} = \frac{(0,05 \times CTC - ks) \times 3744 + 185}{kvi} \quad (1)$$

**Fonte:** CETESB (2015).

onde:

0,05 = 5% da CTC.

CTC = Capacidade de Troca Catiônica, expressa em cmolc/dm<sup>3</sup>.

ks = concentração de potássio no solo, expresso em cmolc/dm<sup>3</sup>, à profundidade de 0 a 0,80 metros.

3744 = constante para transformar os resultados da análise de fertilidade, expressos em cmolc/dm<sup>3</sup> ou meq/100cm<sup>3</sup>, para kg de potássio em um volume de 1 (um) hectare por 0,80 metros de profundidade.

185 = massa, em kg, de K<sub>2</sub>O extraído pela cultura por hectare, por corte.

Kvi = concentração de potássio na vinhaça, expressa em kg de K<sub>2</sub>O/m<sup>3</sup>.



### 3.1.4 Caracterização das Vinhaças

A Tabela 3 apresenta os valores dos parâmetros químicos das vinhaças *in natura* e concentrada que foram estudados.

**Tabela 3:** Características da Vinhaça *in natura* e concentrada.

<b>Vinhaça <i>in natura</i></b>									
pH	M.O	d	K <sub>2</sub> O	TOC	RMO	RMT	RMI	RMS	
	g/L	--- g / mL ---			----- g / L -----				
4,80	11,15	1,01	3,14	6,19	17,05	5,90	0,19	5,71	
N	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	Na	Ca	Mg	SO <sub>4</sub>	Cu	Fe	Mn	Zn
--- g/L ---		mg / L		---- g / L ----		----- mg / L -----			
0,35	0,02	102,50	0,31	0,35	0,47	0,75	10,75	1,50	1,50
<b>Vinhaça concentrada</b>									
pH	M.O	d	K <sub>2</sub> O	TOC	RMO	RMT	RMI	RMS	
	g/L	--- g / mL ---			----- g / L -----				
5,00	123,49	1,10	15,53	68,61	191,92	68,43	0,89	67,54	
N	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	Na	Ca	Mg	SO <sub>4</sub>	Cu	Fe	Mn	Zn
--- g/L ---		mg / L		---- g / L ----		----- mg / L -----			
4,26	0,78	230,00	3,56	4,17	5,65	1,75	60,75	25,50	5,75

**Fonte:** O autor (2023).

**Legenda:** d – Densidade; M.O – matéria orgânica; TOC – Carbono Orgânico Total; K<sub>2</sub>O – Potássio total; RMO – Resíduo Mineral + Orgânico (Resíduo 110°C); RMT – Resíduo Mineral Total (Sólidos Totais); RMI – Resíduo Mineral Insolúvel (Sólidos Totais Fixos Insolúveis); RMS – Resíduo Mineral Solúvel (Sólidos Totais Voláteis); N – nitrogênio; P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> – fósforo total; Na – Sódio; Ca – Cálcio; Mg – Magnésio; SO<sub>4</sub> – Enxofre; Cu – Cobre; Fe – Ferro; Mn – Manganês; Zn – Zinco.

As vinhaças *in natura* e concentrada utilizadas no experimento apresentaram a composição descrita na Tabela 3. A vinhaça *in natura* apresentou teor de K, expresso em K<sub>2</sub>O, de 3,14 g/ml e de matéria orgânica de 11,15 g/L. A vinhaça concentrada apresentou valores cinco vezes maior de K<sub>2</sub>O e onze vezes maior em matéria orgânica.

Em comparação a vinhaça concentrada apresentou valores muito superior ao da vinhaça *in natura*, onze vezes maior para o carbono orgânico, cálcio e magnésio; doze

vezes para o Nitrogênio e enxofre (na forma de íon sulfato); trinta e nove vezes maior para o fósforo na forma de  $P_2O_5$ , o dobro de sódio, cobre; cinco vezes maior para ferro. Dezesete vezes maior para magnésio e o triplo para valores de zinco.

Esses valores são esperados porque o processo de concentração de vinhaças altera as características químicas da vinhaça, resultando em uma maior concentração de nutrientes.

Em se tratando de resíduos orgânicos produzidos pela geração do álcool a vinhaça é a que mais contém nutrientes em sua composição, predominando o potássio seguido de cálcio, magnésio, fósforo, manganês e nitrogênio orgânico (WADT, 2008). Ao contrário dos valores encontrados por WADT (2018), neste estudo, o potássio teve os valores mais altos, seguido de nitrogênio, magnésio, cálcio, fósforo e manganês.

O volume de aplicação das vinhaças nos bioensaios foi definido em função das quantidades de  $K_2O$  fornecidas pela análise físico-química, e não em função da quantidade de C, visto que, a legislação ambiental estadual de São Paulo estabelece essa condição (CETESB, 2015).

Para cada amostra de vinhaça, uma dosagem de aplicação foi determinada. Os valores de aplicação da vinhaça no solo para os bioensaios de respirometria foram calculados dentro dessa taxa de aplicação permitida.

O acompanhamento do pH do solo é fundamental no curso da biodegradação e por isso o pH foi verificado desde a vinhaça coletada até a influência no pH do solo ao longo da biodegradação. Há diversos artigos publicados na literatura sobre a caracterização físico-química da vinhaça para variadas aplicações: Lyra (2008) observou os valores de pH de 4,5 para vinhaça *in natura*; Potentini e Malaver (2006) verificaram nas características da vinhaça o pH de 4,4; Malaver (2006) relatou o pH 4,4 de vinhaça; Quitério (2013), relatou pH 4,7 para vinhaça *in natura*.

### **3.2 Biodegradação Analisada por Respirometria**

Foram realizados testes de respirometria de Bartha e Pramer (1965) adaptada, visando determinar informações a respeito das concentrações de  $CO_2$  da atmosfera criada no interior do respirômetro como evidência indireta de biodegradação das vinhaças *in natura* e concentrada nos Solos 1 e 2.

A respiração microbiana é um dado válido para perceber a atividade biodegradante causada pela microbiota de solo em um ambiente. Em suma o  $CO_2$  gerado na respiração

é o produto da descarboxilação de um substrato orgânico, podendo ser uma glicose ou um substrato poluente.

O respirômetro de Bartha e Pramer (1965) consiste em um sistema fechado, apresentando duas câmaras conectadas, onde ocorre a biodegradação do efluente em análise e outra que possui a solução alcalina capaz de identificar o CO<sub>2</sub> liberado pela respiração microbiana. A amostra de solo coletada foi considerada neste estudo como um meio favorável a seleção de microrganismos capazes de biodegradar as vinhaças.

De acordo com Graves et al., (1991), a respirometria aplicada à biodegradação dispõe de uma série de vantagens por obter dados da evolução de CO<sub>2</sub> difíceis de serem conseguidos de outras maneiras. Com isso, através da metodologia foi possível determinar as informações a respeito das concentrações de CO<sub>2</sub> da atmosfera criada no interior do respirômetro influenciadas pela vinhaça.

A evolução da biodegradação foi quantificada semanalmente durante um período de tempo. Durante esse período, ocorreram várias fases da biodegradação, incluindo adaptação, degradação ativa e encerramento da biodegradação. Após o final do período, foi realizada uma análise da relação entre a biodegradação e os parâmetros químicos do solo e das vinhaças.

O experimento visou avaliar o potencial de biodegradação dos microrganismos já presentes em uma determinada amostra de solo, logo a correção da capacidade de campo não afetaria os resultados. A capacidade de campo é uma característica geral do solo e não espera que ocorra uma variação significativamente dentro de uma amostra de solo homogênea. Portanto, mesmo que não tenha sido corrigida, é possível que a variação dentro da amostra seja pequena o suficiente para não afetar o resultado do experimento. É importante salientar que a correção da capacidade de campo pode ser importante para estudos que visam avaliar a distribuição vertical dos microrganismos no solo.

Os níveis de CO<sub>2</sub> evoluído foram calculados e representados em função do tempo de incubação (BALBA et al., 1998). O CO<sub>2</sub> evoluído durante o processo de respiração pode ser capturado em uma solução de hidróxido de potássio (KOH) localizada no braço lateral ligado ao frasco respirométrico. O processo pode ser esquematizado pelas Equações 2 a 6 abaixo:

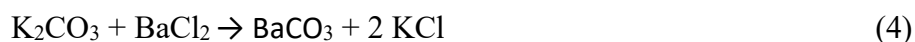
Biodegradação da matéria orgânica (MA):



Absorção do CO<sub>2</sub> gerado:



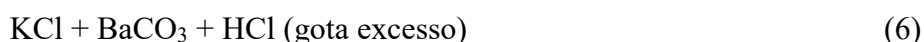
Cloreto de bário reage com o carbonato de potássio:



Titulação do excesso de KOH com HCl:



Substâncias resultantes:



### 3.2.1 Preparo dos Reagentes

Para obtenção de uma solução 0,2 M de KOH (Synth PA) dissolveram-se 11,2 g de KOH em 1000 mL de água isenta de CO<sub>2</sub>. Guardou-se a solução em recipiente plástico.

Para obtenção de uma solução 0,1 M de HCl (Vetec PA) transferiu-se 8,5 mL de HCl concentrado para um balão volumétrico de 1000 mL e completou-se o volume com água destilada.

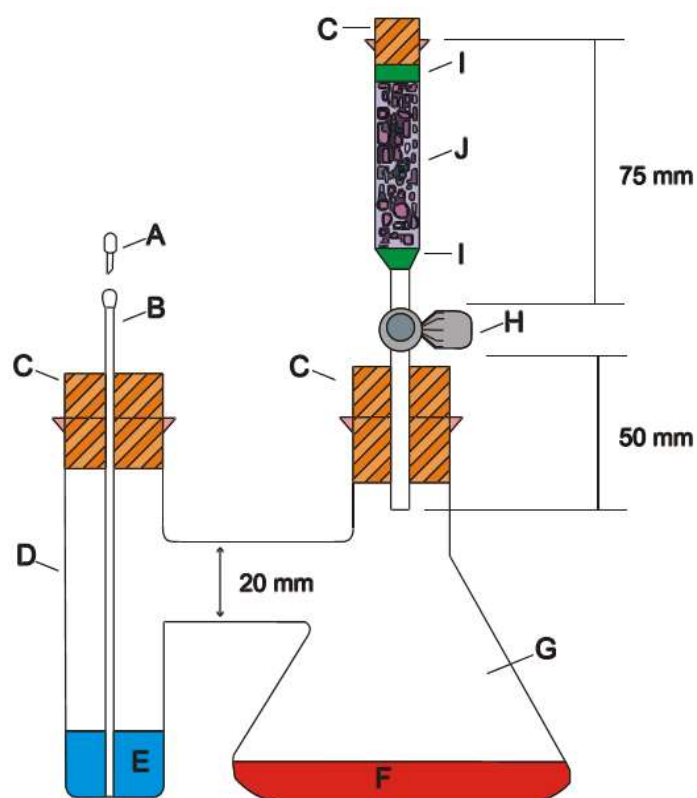
No preparo da solução 0,1 M de BaCl<sub>2</sub> (Synth PA), dissolveram-se 6,1 g de cloreto de bário e completou-se o volume para 500 mL com água destilada isenta de CO<sub>2</sub> e guardou-se em recipiente de plástico.

Para a solução indicadora de fenolftaleína, dissolveram-se 0,2 g de fenolftaleína em 60 mL de etanol e completou-se com água destilada para 100 mL, sob agitação constante. A solução foi filtrada em algodão, quando houve formação de precipitado conforme Norma técnica L6.350 da CETESB (1990).

### 3.2.2 Montagem dos Ensaios

O experimento foi conduzido em frascos de respirometria (Figura 2). O respirômetro de Bartha e Pramer (1965) consiste em um sistema fechado, apresentando duas câmaras conectadas, onde ocorre a biodegradação do efluente em análise (Figura 2, indicada por G), e outra que possui a solução alcalina capaz de identificar o CO<sub>2</sub> liberado pela respiração microbiana (Figura 2, indicada por D).

**Figura 2:** Frasco de respirometria.



Fonte: Montagnolli (2015).

Cada respirômetro contém um braço lateral, ao qual foi adicionado 10 mL de solução de KOH 0,2 N, para capturar o CO<sub>2</sub> liberado durante a biodegradação. Todos os respirômetros foram fechados e incubados em triplicata a 30°C. Para cada solo analisado o estudo foi constituído pelo delineamento de 3 sistemas em triplicata, totalizando 9 respirômetros para cada amostra de solo, conforme Tabela 4.

**Tabela 4:** Delineamento dos ensaios de respirometria.

Ensaio	Solo	Água	Vinhaça <i>in natura</i>	Vinhaça concentrada
C <sub>1</sub>	50,00g	5mL	-	-
SVI <sub>1</sub>	50,00g	-	5mL	-
SVC <sub>1</sub>	50,00g	-	-	5mL
C <sub>2</sub>	50,00g	5mL	-	-
SVI <sub>2</sub>	50,00g	-	5mL	-
SVC <sub>2</sub>	50,00g	-	-	5mL

**Legenda:** C<sub>1</sub>: tratamento controle amostra de solo 1; SVI<sub>1</sub>: Solo 1 + vinhaça *in natura*; SVC<sub>1</sub>: Solo 1 + vinhaça concentrada; C<sub>2</sub>: tratamento controle da amostra de solo 2; SVI<sub>2</sub>: Solo 2 + vinhaça *in natura*; SVC<sub>2</sub>: Solo 2 + vinhaça concentrada.

O solo controle com água destilada, solo com adição de vinhaça concentrada e solo com adição de vinhaça *in natura* foram as substâncias examinadas para cada solo. Para cada frasco de respirometria o solo foi regado com 5 mL das soluções analisadas.

### 3.2.3 Acompanhamento da Biodegradação

Semanalmente foram registradas a quantificação de CO<sub>2</sub> através de titulações anotando seus resultados, o período definido para cada registro foi de 7 dias. O acompanhamento para os respirômetros contendo o Solo 1 se deu até 90 dias transcorrido o início do experimento. Já os respirômetros contendo o Solo 2 foi de 120 dias de incubação nos respirômetros.

A evolução semanal de CO<sub>2</sub> para cada respirômetro foi quantificada através do método titulométrico segundo norma da ABNT (1999). A quantificação se deu pelas seguintes etapas: Primeiramente para cada frasco de respirometria, foi preparado um erlenmeyer de 125 mL com duas gotas de fenolftaleína e 1 mL da solução de cloreto de bário (BaCl<sub>2</sub> 0,1 M).

O procedimento da quantificação inicia retirando-se a rolha de borracha, abriu-se a válvula do filtro de cal sodada para remoção de CO<sub>2</sub> do ar. Removeu a vedação da cânula do braço lateral do respirômetro e, com uma pipeta de 10 mL, transferiu-se à solução de KOH 0,2 N do braço lateral para o erlenmeyer. Foi realizado a lavagem do braço lateral com 10 mL de água destilada isenta de CO<sub>2</sub>, injetando no braço lateral do respirômetro e com a pipeta transferindo para o erlenmeyer. Repetiu-se essa lavagem por mais duas vezes, completando-se até 30 mL de água.

O conteúdo retirado do braço lateral do frasco de respirometria foi titulado imediatamente com o conteúdo do erlenmeyer e HCl 0,1 M. Com a cânula aberta injetou-se ar comprimido com uma bomba de ar, de forma a garantir a reoxigenação do sistema.

Para determinar o CO<sub>2</sub> para a próxima amostragem, adicionou 10 mL de uma solução de KOH 0,2 M no braço lateral e realizou a vedação da cânula, fechando-se a válvula e recolocando-se a rolha de borracha no filtro de cal sodada. Após esses procedimentos, cada respirômetro foi colocado na incubação, por mais 7 dias até a próxima determinação do CO<sub>2</sub>.

Como base de cálculo para a determinação do CO<sub>2</sub> incorporado, foi preparada uma prova em branco contendo 10 mL de solução KOH 0,2 M, com a pipeta, e 2 gotas de fenolftaleína, 1 mL de solução de BaCl<sub>2</sub> 0,1 M e 30 mL de água destilada isenta de CO<sub>2</sub>. A solução foi titulada com HCl 0,1 M, anotando-se a quantidade de ácido necessária

para a viragem da fenolftaleína. O cálculo do CO<sub>2</sub> gerado foi feito de acordo com o volume gasto de HCl na titulação do KOH na Equação 7:

$$GCO_2 = (A - B) * 50 * \theta_{HCl} * 0,044 \quad (7)$$

onde:

GCO<sub>2</sub> = geração de gás carbônico;

A = volume de HCl 0,1 N gasto, em mL, na titulação do branco;

B = volume de HCl 0,1 N gasto, em mL, na titulação da amostra;

50 = fator para transformar equivalente em μmol de CO<sub>2</sub>;

f(HCl) = fator do HCl 0,1 N;

0,044 = fator para transformar μmol em mg de CO<sub>2</sub>.

Após a incubação dos respirômetros e a ação da biodegradação, para cada solo estudado foram realizados uma nova análise química do solo visando avaliar as alterações ocorridas durante o processo de biodegradação e também a influência das vinhaças *in natura* e concentrada no solo

### 3.2.4 Quantificação Microbiológica

Após o período de incubação dos respirômetros e a ação da biodegradação, para cada solo estudado foram realizados a contagem das bactérias e fungos heterotróficos de acordo com a Norma L5. 201 (CETESB,1996).

Para obter uma suspensão de microrganismos foi realizada uma solução de 25 g da amostra de solo com 225 mL de água estéril, agitou até obter uma mistura homogênea.

Após foram feitas diluições em tubos de ensaio, sendo as inoculações na diluição de 10<sup>-1</sup> a 10<sup>-8</sup>. A partir de cada diluição foram transferidos 1 mL para uma placa de Petri esterilizada, espalhou a amostra com alça de Drigalski e adicionou-se aproximadamente 15 mL de meio de Agar-glicosado (GA). Após solidificação foram incubadas em estufa a 35°C durante 48 h, período em que fora realizada a contagem dos microrganismos, os ensaios seguiram em duplicatas.

Para a contagem dos fungos heterotróficos o meio de cultura foi substituído por Batata Dextrose Agar (BDA) com a adição de antibiótico para inibir o crescimento das bactérias. Foram incubadas em estufa a 30°C durante 120 h até a contagem das colônias.

O cálculo considerou o número de colônias, a diluição e volume da amostra adicionando a placa, avaliando as Unidades Formadoras de Colônias por grama de solo (UFC/g).

### **3.3 Avaliação da Ecotoxicidade com *Lactuca sativa***

Ambos os solos foram submetidos a testes de toxicidade com *Lactuca sativa*. No entanto, no solo 1 o foco das análises foi descobrir como as vinhaças afetavam o solo ao longo do tempo sem a biodegradação das vinhaças, portanto, um inoculo foi preparado separadamente. Para o solo 2, que teve o maior tempo de biodegradação das vinhaças, os testes foram realizados com o solo dos respirômetros. O objetivo desta análise era determinar como a biodegradação afetava os resultados.

#### **3.3.1 Ecotoxicidade Antes e Após a Biodegradação no Solo 2**

Foram realizados teste de ecotoxicidade visando determinar a intensidade de efeito adversos observados e estabelecer uma comparação de ecotoxicidade no solo provocado pelas vinhaças *in natura* e a vinhaça concentrada, antes e após a biodegradação para o solo 2.

Para as análises após a biodegradação, foram utilizados os solos contidos nos respirômetros após o período de incubação de 120 dias de biodegradação. Os ensaios de ecotoxicidade foram avaliados pela germinação de sementes e alongação do tecido vegetal (raiz e hipocótilo).

As sementes foram adquiridas de um mesmo fornecedor (ISLA), livre de agrotóxicos e não transgênica. A espécie vegetal submetida nos testes foi a alface (*Lactuca sativa*) da variedade Alface Crespa Grand Rapids TBR, lote 151456-002, safra 21/21, com 98% de taxa de germinação e 100% de pureza.

Para os testes de germinação, foi utilizado papel filtro cortados em discos de 9 centímetros de diâmetro esterilizados em autoclave a 120°C durante 30 minutos conforme a Regra para Análise de Sementes (2009).

Em cada placa de Petri foi colocado dois papeis filtro. Sobre o papel filtro foi adicionado 1,5 mL da solução testada e certificou-se a inexistência de bolhas de ar durante o preparo das placas. Para a realização dos testes de ecotoxicidade foi utilizada a fração solúvel em água, segundo CETESB (1990).

As soluções foram a porção sobrenadante dos lixiviados das amostras de solo contidas no erlenmeyer, mantidas sob agitação a 210 rpm em mesa agitadora TE-4200 da



marca Tecnal, por 24 horas. Os frascos incubados continham 10,0 g de solo e 200,0 mL de água desionizada.

As sementes foram colocadas em seguida sobre o papel de filtro com a solução testada, foram colocadas 20 sementes de alface em cada placa. Em seguida, as placas foram cobertas com filme de PVC a fim de evitar a perda de umidade, dispostas em bandeja e envoltas por saco plástico preto para não sofrerem interferência de luminosidade. As placas foram incubadas em câmara climática (incubadora BOD) a  $23 \pm 2^\circ\text{C}$  por 120 h.

Os grupos analisados foram: controle positivo (CP) com água; controle negativo (CN) com  $\text{ZnSO}_4$ ; solo 2 antes da biorremediação (C); tratamento controle do solo 2 após incubação de 120 dias nos respirômetros (CB); tratamento do solo 2 com adição da vinhaça *in natura* após 120 dias de incubação nos respirômetros (CI); tratamento do solo 2 com adição da vinhaça concentrada após 120 dias de incubação nos respirômetros (CC). Para cada grupo analisado os ensaios ocorreram em quintuplicada. O delineamento dos ensaios está descrito na Tabela 5.

**Tabela 5:** Delineamento dos ensaios de Ecotoxicidade com *Lactuca sativa*.

Ensaio	H <sub>2</sub> O	ZnSO <sub>4</sub>	Sobrenadante da Solução do Solo			
			antes da biorremediação	após 120 dias	+ vinhaça <i>in natura</i> após 120 dias	+ vinhaça concentrada após 120 dias
<i>Lactuca sativa</i>	CP	1,5 mL	-	-	-	-
	CN	-	1,5 mL	-	-	-
	C	-	-	1,5 mL	-	-
	CB	-	-	-	1,5 mL	-
	CI	-	-	-	-	1,5 mL
	CC	-	-	-	-	-

**Legenda:** CP: Controle positivo contendo água; CN: Controle negativo contendo sulfato de zinco; C: Solo 2 antes da biorremediação; CB: Solo 2 após biorremediação; CI: Solo 2 + vinhaça *in natura* após biorremediação; CC: Solo 2 + vinhaça concentrada após biorremediação.

### 3.3.2 Ecotoxicidade Após Aplicação de Vinhaça ao Longo do Tempo

Foram realizados ensaios de ecotoxicidade ao longo do tempo após a aplicação da vinhaça no solo 1, visando determinar o efeito observado em um período definido de 90 dias, com o espaço entre as análises de 30 dias.

Para os ensaios, foram montados erlenmeyer contendo o solo e as vinhaças, de acordo com o delineamento descrito na Tabela 6, em que serviram como inóculo para os bioensaios. Após a montagem, os erlenmeyer foram mantidos em incubadora a  $30^\circ\text{C}$  até a sua utilização nos ensaios.

**Tabela 6:** Delineamento para montagem dos inócuos utilizados nos ensaios de ecotoxicidade das vinhaças *in natura* e concentrada aplicadas no solo ao longo do tempo.

Ensaio	Solo	Água	Vinhaça <i>in natura</i>	Vinhaça concentrada
ET	50,00g	5 mL	-	-
EI	50,00g	-	5 mL	-
EV	50,00g	-	-	5 mL

**Legenda:** ET: Solo 1 controle; EI: Solo 1 + vinhaça *in natura*; EV: Solo 1 + vinhaça concentrada.

**Fonte:** O autor (2023).

Para cada grupo analisado os ensaios ocorreram em quintuplicada. Os testes seguiram o delineamento descrito na Tabela 7. Os grupos analisados foram: controle positivo (CP) com água; controle negativo (CN) com ZnSO<sub>4</sub>; amostras de ET nos tempos de incubação de: inicial de 1 dia (T<sub>1</sub>), 30 dias (T<sub>30</sub>), 60 dias (T<sub>60</sub>) e 90 dias (T<sub>90</sub>); amostras de EI nos tempos de incubação de: inicial de 1 dia (I<sub>1</sub>), 30 dias (I<sub>30</sub>), 60 dias (I<sub>60</sub>) e 90 dias (I<sub>90</sub>); amostras de EV nos tempos de incubação de: inicial de 1 dia (C<sub>1</sub>), 30 dias (C<sub>30</sub>), 60 dias (C<sub>60</sub>) e 90 dias (C<sub>90</sub>).

**Tabela 7:** Delineamento dos ensaios de ecotoxicidade das vinhaças *in natura* e concentrada ao longo do tempo.

Ensaio	Tempo de incubação	H <sub>2</sub> O	ZnSO <sub>4</sub>	Solução do C <sub>1</sub>	Solução do SVI <sub>1</sub>	Solução do SVC <sub>1</sub>	
<i>Lactuca sativa</i>	CN	-	-	1,5 mL	-	-	
	CP	-	1,5 mL	-	-	-	
	T <sub>1</sub>	Inicial	-	-	1,5 mL	-	
	I <sub>1</sub>	Inicial	-	-	-	1,5 mL	
	V <sub>1</sub>	Inicial	-	-	-	-	1,5 mL
	T <sub>30</sub>	30 dias	-	-	1,5 mL	-	-
	I <sub>30</sub>	30 dias	-	-	-	1,5 mL	-
	V <sub>30</sub>	30 dias	-	-	-	-	1,5 mL
	T <sub>60</sub>	60 dias	-	-	1,5 mL	-	-
	I <sub>60</sub>	60 dias	-	-	-	1,5 mL	-
	V <sub>60</sub>	60 dias	-	-	-	-	1,5 mL
	T <sub>90</sub>	90 dias	-	-	1,5 mL	-	-
	I <sub>90</sub>	90 dias	-	-	-	1,5 mL	-
	V <sub>90</sub>	90 dias	-	-	-	-	1,5 mL

**Fonte:** O autor (2023).

**Legenda:** CP - controle positivo com água; CN - controle negativo com sulfato de zinco (ZnSO<sub>4</sub>); ET – Inóculo em erlenmeyer contendo solo controle; EI - Inóculo em erlenmeyer contendo solo fertirrigado com vinhaça *in natura*; EV - Inóculo em erlenmeyer contendo solo fertirrigado com vinhaça concentrada; T<sub>1</sub> – amostra de ET no tempo inicial de 1 dia; T<sub>30</sub> – amostra de ET no tempo de 30 dias; T<sub>60</sub> – amostra de ET no tempo de 60 dias; T<sub>90</sub> - amostra de ET no tempo de 90 dias; V<sub>1</sub> – amostra de EV no tempo inicial de 1 dia; V<sub>30</sub> – amostra de EV no tempo de 30 dias; V<sub>60</sub> – amostra de EV no tempo de 60 dias; V<sub>90</sub> -

amostra de EV no tempo de 90 dias;  $I_1$  – amostra de EI no tempo inicial de 1 dia;  $I_{30}$  – amostra de EI no tempo de 30 dias;  $I_{60}$  – amostra de EI no tempo de 60 dias;  $I_{90}$  - amostra de EI no tempo de 90 dias.

### 3.3.3 Análise de Germinação e Inibição

As sementes germinadas contabilizadas após 120h transcorrido o início do experimento, foram consideradas germinadas as que obtiverem 2 mm de protrusão da radícula, Labouriau e Agudo (1987), conforme a Equação 8 e a porcentagem de inibição (%I) dada por Santos e Rezende (2008) conforme a Equação 9.

$$\%G = \frac{SGa}{SGt} \times 100 \quad (8).$$

$$\%I = \left[ 1 - \left( \frac{SGc - SGa}{SGc} \right) \right] \times 100 \quad (9).$$

onde:

$SGa$  = o número total de sementes germinadas;

$SGt$  = número total de sementes na placa de petri;

$SGc$  = número total de sementes germinadas no controle negativo.

### 3.4 Análise Estatística

Os ensaios propostos de biodegradação, atividade microbiana, ecotoxicidade, e parâmetros físico-químicos de solo resultou em vários parâmetros quantitativos que foram processados pela Análise de Componentes Principais (PCA), buscando identificar interações entre eles. Foram produzidos gráficos utilizando o software R (R CORE TEAM, 2020).

A correlação entre os parâmetros na PCA permitiu determinar a influência dos fatores ambientais e microbianos e a aplicação de vinhaça. Em outras palavras, foram analisado o efeito individual e sinérgico de cada parâmetro para otimizar a aplicação de vinhaça em campo e prever quais fatores ambientais podem interferir na biodegradabilidade ou toxicidade do composto.

Os resultados obtidos dos parâmetros físicos do solo foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade (SOKAL; ROHFL, 1995). A significância da interação entre os fatores de manejo e profundidades de solo foi verificada pelo teste F.

Foram realizados ajustes de curvas e regressão linear de primeira ordem nos dados de respirometria. Essa modelagem matemática teve como objetivo o acompanhamento

cinético da biodegradação para verificar previsibilidade do processo e extrapolar para o potencial completo dos microrganismos na biodegradação de uma massa específica do composto adicionado, neste estudo a vinhaça.

A modelagem auxiliou na obtenção de informações importantes sobre o processo de biodegradação, como o máximo de CO<sub>2</sub> esperado a partir do substrato e o tipo de resposta da comunidade microbiana frente ao substrato. Além disso, a modelagem matemática permite que seja feita uma previsão sobre o comportamento do sistema em condições futuras, como em diferentes concentrações de vinhaça, facilitando a identificação de possíveis limitações ao processo de biodegradação quando aplicado em campo.

Nesse estudo foi utilizado o limiar de Bmax em 0,99 de forma arbitrária no estudo, uma vez, que o Bmax teórico acontecer no tempo infinito. Sendo assim, o 0,99\*Bmax estaria próximo ao termino real do processo de biodegradação do efluente, em que a produção de CO<sub>2</sub> praticamente se estabiliza e não é gerado mais CO<sub>2</sub> pela biodegradação da vinhaça.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Estimativa de Colônias Microbianas

Foi realizado a quantificação microbiana do solo 1, antes dos bioensaios de respirometria, identificando Unidades Formadoras de Colônia por grama de solo (UFC/g) das bactérias heterotróficas e fungos no solo sem e com a fertirrigação, visando verificar a existência espécies de micro-organismos no solo capazes de consumir a matéria orgânica das vinhaças, aumentando o processo de biodegradação.

Na Tabela 8 estão descritos os resultados da quantificação de bactérias e fungos.

**Tabela 8:** Quantificação de colônias de bactérias e fungos presentes no solo, em Unidades Formadoras de Colônia por grama de solo seco (UFC/g).

Amostras	Bactérias (UFC/g)	Fungos (UFC/g)
C <sub>1</sub>	1,5 x 10 <sup>4</sup>	1,3 x 10 <sup>4</sup>
SVI <sub>1</sub>	2,4 x 10 <sup>4</sup>	1,8 x 10 <sup>5</sup>
SVC <sub>1</sub>	1,2 x 10 <sup>6</sup>	1,5 x 10 <sup>6</sup>

**Legenda:** C<sub>1</sub>: Solo 1 controle; SVI<sub>1</sub>: Solo 1 + vinhaça *in natura*; SVC<sub>1</sub>: Solo 1 + vinhaça concentrada.

A amostra solo com vinhaça concentrada apresentou a maior quantidade de unidades formadoras de colônias, contendo  $1,2 \times 10^6$  UFC/g de bactérias heterotróficas e  $1,5 \times 10^6$  de fungos.

Somente na amostra que não adicionou vinhaça ao solo, as bactérias predominaram sobre os fungos, com colônias de bactérias aumentando 14% na UFC/g. A predominância de fungos em amostras onde a vinhaça foi adicionada ao solo demonstrou o impacto da vinhaça nas colônias fúngicas. As colônias de fungos das amostras com vinhaça concentrada foram 196,6 % maiores do que as amostras sem vinhaça. O aumento da quantidade de colônias de fungos no solo com a adição da vinhaça também foi notado em pesquisa realizada por Quitério (2013).

Outros trabalhos analisaram a quantificação microbiana para diversas finalidades. Lyra (2008), estimou a quantidade de microbiota heterotrófica em amostras contendo solo com vinhaça *in natura* e verificou um crescimento elevado em comparação a solo sem a adição da vinhaça *in natura*. Esse aumento de colônias (Tabela 8) causado pela adição de vinhaça também foi observado neste trabalho utilizando vinhaça concentrada e *in natura*.

Os micro-organismos podem variar em diferentes tipos de solos. Na literatura sabe-se que colônias de *Bacillus subtilis* foram identificados com valor superior em solo fertirrigado com vinhaça, assim como espécies bacterianas do gênero *Streptomyces* (LYRA, 2008). Em relação aos fungos foram identificados *Aspergillus niveus*, *Aspergillus niger* e *Aspergillus terreus*. Casarini (1989) relatou que este gênero pode apresentar dominância em solos incorporados de compostos orgânicos carbonáceos.

O aumento na população microbiana em ensaios de biodegradação em solos tratados com vinhaça foi constatado por diversos autores em condições experimentais semelhantes (PRATA et al. 2001; MARIANO, 2006; CRIVELARO, 2005; RODELLA et al. 1983; MINHONI e CERRI, 1987). A taxa de biodegradabilidade está acoplada a quantidade de microrganismos presente no solo.

É importante salientar que a identificação das linhagens microbianas para além das características morfológicas de colônia e microscopia estão fora do escopo desse trabalho e poderão ser investigadas em estudos futuros.

## **4.2 Estimativa de Biodegradação por Respirimetria**

### **4.2.1 Análise em Latossolo Vermelho Eutroférico típico (Solo 2)**

Utilizando o teste respirométrico para avaliar a decomposição da matéria orgânica presente nas vinhaças *in natura* e concentrada foi realizada a estimativa da evolução

semanal da quantidade de CO<sub>2</sub> evoluído a partir de amostras de solo controle e com a adição de vinhaças (Figura 3).

Foi obtida a curva de crescimento da biodegradação da vinhaça *in natura* e concentrada por meio do acompanhamento da taxa de CO<sub>2</sub> semanal durante 120 dias de incubação. Os dados foram analisados e processados na ferramenta SIGMAPLOT 14.0 em que foi realizado um ajuste polinomial dos dados para as curvas visando facilitar a visualização dos dados.

De acordo com a Figura 3, é observado uma diferença na evolução semanal entre os grupos de respirômetros analisados. Constatou que no solo sem a adição de vinhaça (Figura 3a) a evolução semanal foi de maior liberação de CO<sub>2</sub> na fase inicial e ao longo dos dias tendeu a estabilizar o CO<sub>2</sub> evoluído. O maior pico de liberação ocorreu no nono dia após o início do experimento apontando para a liberação de 38,47 mg de CO<sub>2</sub>. Já os dias de menor pico ocorreram no vigésimo oitavo, septuagésimo sétimo e nonagésimo dia apontando para a liberação de 11,02 mg de CO<sub>2</sub>.

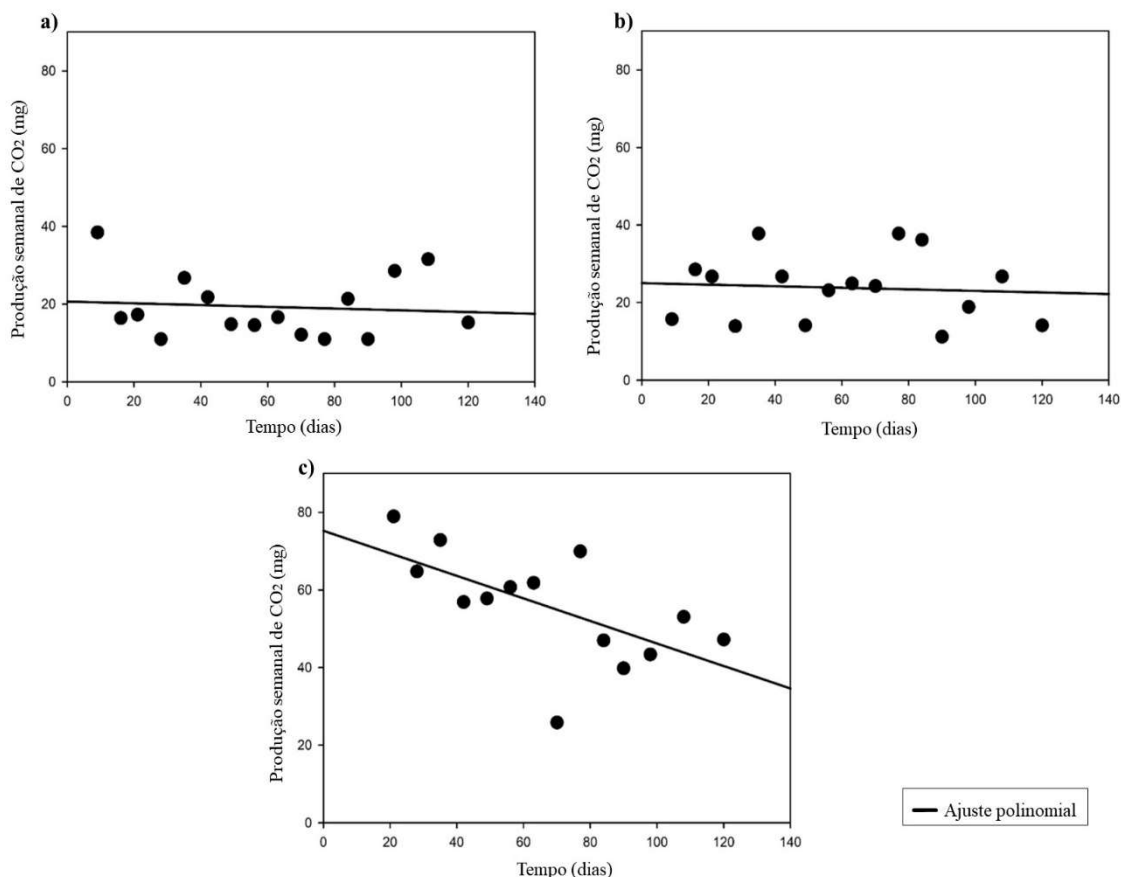
A maior velocidade de degradação de matéria orgânica presente no solo argiloso após a adição de água no início do processo de decomposição e a diminuição da liberação de C ao longo do período de incubação, pode ser explicado pelo mecanismo de proteção da matéria orgânica a partir da presença de partículas minerais, em que ocorre a concentração de estruturas recalcitrantes durante a decomposição, uma vez que os componentes lábeis são preferencialmente utilizados (BALDOCK; SKJEMSTAD, 2000).

As mesmas tendências foram observadas nos respirômetros contendo a adição da vinhaça *in natura* (Figura 3b), em que apresentou uma curvatura semelhante apenas diferindo nos valores evoluídos de CO<sub>2</sub>. A evolução semanal de CO<sub>2</sub> iniciou na primeira semana com 15,75 mg de CO<sub>2</sub> e no decorrer dos dias a evolução de CO<sub>2</sub> tendeu a estabilizar. O maior pico ocorreu no trigésimo quinto e septuagésimo sétimo dia apontando para a liberação de 37,80 mg de CO<sub>2</sub> e a menor liberação ocorreu no nonagésimo dia de incubação apontando para a liberação de 11,25 mg de CO<sub>2</sub>.

Lyra (2008) ao avaliar a biodegradação da vinhaça *in natura* em relação a diferentes tipos de solos, verificou que em solo argiloso ocorreu uma acentuada elevação na produção de CO<sub>2</sub> até o décimo dia após início da biodegradação.

**Figura 3:** Produção semanal de CO<sub>2</sub> nos ensaios respirométrico do tratamento controle do solo 2 (C<sub>2</sub>: representada por a), solo 2 com aplicação de vinhaça *in natura* (SVI<sub>2</sub>: representada por b) e solo 2 com aplicação de vinhaça concentrada (SVC<sub>2</sub>: representada por c). Uma regressão polinomial foi traçada a fim

de facilitar a visualização da biodegradação semanal. Os valores individuais estão contidos no Apêndice 8.1.



Fonte: Autoria própria (2023).

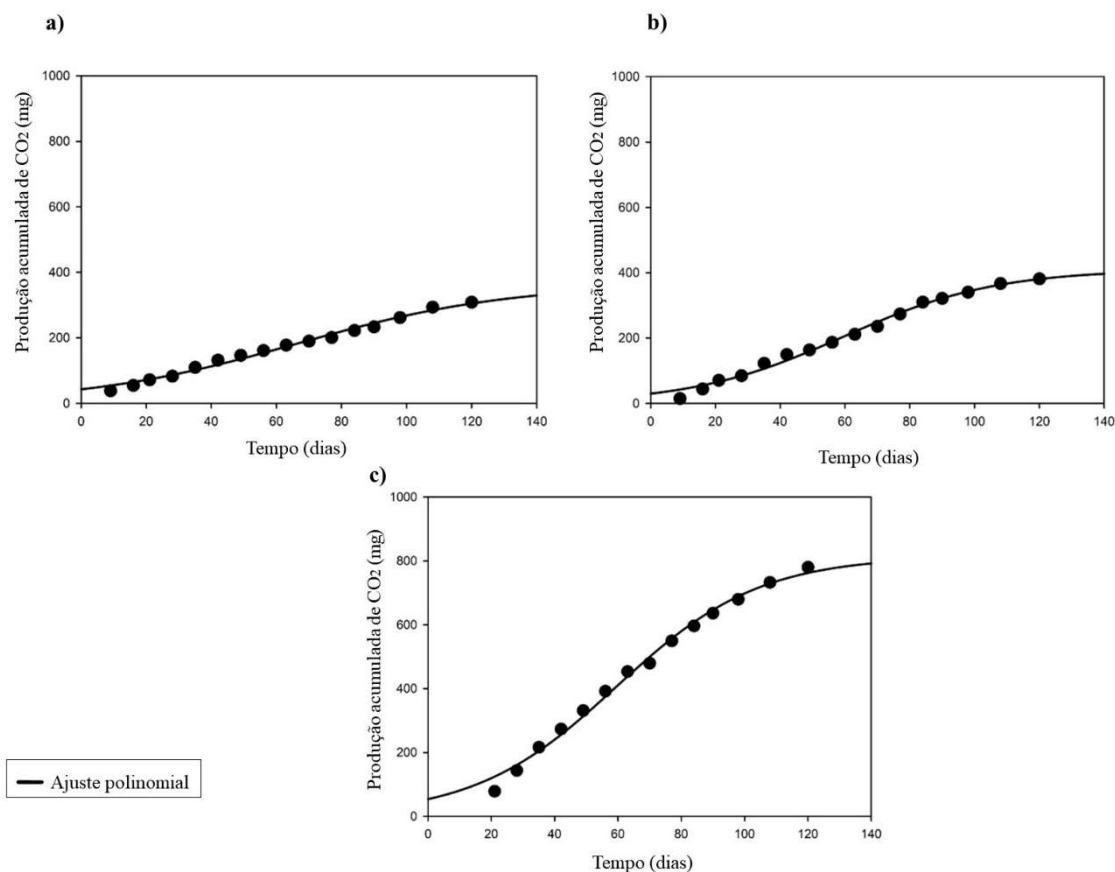
Com relação aos respirômetros com a adição da vinhaça concentrada (Figura 3c), apresentou uma evolução superior de CO<sub>2</sub> em comparação a amostras de solo controle e solo com vinhaça *in natura*. Observou que a liberação de CO<sub>2</sub> foi maior nos primeiros dias de incubação dos respirômetros. Essa tendência também foi observada por Vitti (2020) em que verificou na fase inicial de incubação a maior liberação de CO<sub>2</sub> e estabilização após 30 dias, contudo não confirmou os resultados uma vez que conduziu seu experimento apenas no período de 41 dias, em seu estudo buscou analisar a viabilização do uso da vinhaça concentrada com fertilizantes nitrogenados.

Conforme a Figura 3c, o maior pico de liberação de CO<sub>2</sub> foi observado no vigésimo primeiro dia de análise, apontando para a liberação de 78,97 mg de CO<sub>2</sub>, triplo do valor apontado no mesmo dia para as amostras com vinhaça *in natura*. Já o menor pico ocorreu no septuagésimo dia apontando para a liberação de 25,87 mg de CO<sub>2</sub>.

A decomposição da matéria orgânica foi estimada pela evolução total da quantidade de CO<sub>2</sub> evoluído a partir de amostras de solo controle e com a adição de vinhaças (Figura 4).

Os ensaios de maior liberação total de CO<sub>2</sub> foram aqueles que receberam a adição de vinhaça, comparado ao tratamento controle, conforme observado na Figura 4. A adição da vinhaça concentrada no solo permitiu valores maiores na produção ao longo do experimento, enquanto o grupo solo controle e o grupo com adição da vinhaça *in natura*, menores esse aumento também é descrito por Quitério (2013) que observou aumento de 38% na produção de CO<sub>2</sub> durante sua análise testando a vinhaça *in natura*.

**Figura 4:** Produção acumulada de CO<sub>2</sub> dos ensaios respirométrico com Latossolo Vermelho Eutroférico típico: Sendo dados do tratamento controle do solo 2 (C<sub>2</sub> :representada por a), solo 2 com aplicação de vinhaça *in natura* (SVI<sub>2</sub> :representada por b) e solo 2 com aplicação de vinhaça concentrada (SVC<sub>2</sub> :representada por c). Uma regressão polinomial foi traçada a fim de facilitar a visualização da biodegradação semanal. Os valores individuais estão contidos no Apêndice 8.1.



**Fonte:** Autoria própria (2023).

O solo controle evoluiu 308,98 mg de C ao longo do período de incubação de 120 dias. A evolução total para os tratamentos com a vinhaça *in natura* durante o mesmo período foi de 381,35 mg de C e para os tratamentos com vinhaça concentrada de 780,48



mg de C. Com isso, verifica-se o maior efeito da presença de decomposição da matéria orgânica da vinhaça concentrada.

Cabe ressaltar que durante o processo de concentração da vinhaça, para reduzir o volume de água pode atingir valores de temperatura acima de 80°C, ocasionando na liberação de álcoois e possibilitando a formação de moléculas aromáticas complexas, como ácidos orgânicos insolúveis e fenóis, mudando a estrutura da matéria orgânica presente na vinhaça concentrada (PARNAUDEU et al., 2008).

#### 4.2.1.1 Análise Estatística da Biodegradação

Foram realizados o teste de normalidade para os dados obtidos nos ensaios de respirometria e observou uma distribuição normal, também foi feito a análise de variância (ANOVA) dos resultados, visando melhorar a interpretação dos dados coletados. As diferenças nos valores das medianas entre os grupos de tratamento são maiores do que seria esperado por acaso; há diferença estatisticamente significativa ( $P = <0,001$ ). O Apêndice 8.1 deste trabalho contém os valores encontrados.

Foi realizado os procedimentos de comparação múltipla em pares pelo Método de Duncan, os resultados estão descritos na Tabela 9. Os resultados dos tratamentos com adição de vinhaça concentrada versus os tratamentos com adição de vinhaça *in natura* e controle diferiram. Além disso, os estudos comparando o tratamento controle com o tratamento com adição de vinhaça *in natura* não mostraram diferenças entre eles.

**Tabela 9:** Comparação múltipla em pares pelo método de Duncan dos respirômetros contendo Solo 2.

Comparação	Diferenças de Meios	p	q	P	P<0,050
SVC <sub>2</sub> x C <sub>2</sub>	36,440	3	13,370	<0,001	Sim
SVC <sub>2</sub> x SVI <sub>2</sub>	31,915	2	11,710	<0,001	Sim
SVI <sub>2</sub> x C <sub>2</sub>	4,524	2	1,718	0,231	Não

**Legenda:** C<sub>2</sub>: Tratamento controle da amostra de solo 2; SVI<sub>2</sub>: Solo 2 com adição de vinhaça *in natura*; SVC<sub>2</sub>: Solo 2 com adição de vinhaça concentrada.

#### 4.2.1.2 Análise do Solo 2 Após a Biodegradação

Visando observar as possíveis alterações na composição química do solo influenciadas pela biorremediação e aplicação de vinhaças foram realizadas as análises após o período incubação nos respirômetros. Os parâmetros analisados foram: fósforo, pH, teor de matéria orgânica, potássio, cálcio, magnésio, acidez potencial, soma de bases,

capacidade de troca catiônica, saturação por bases. Os valores encontrados estão descritos na Tabela 10.

**Tabela 10:** Caracterização química do solo controle e tratado com vinhaças *in natura* e concentrada após o ensaio de respirometria.

Parâmetros	Latossolo Vermelho Eutroférico típico			
	Solo 2	C <sub>2</sub>	SVI <sub>2</sub>	SVC <sub>2</sub>
<b>P Resina</b> (mg/dm <sup>3</sup> )	<b>14,0</b>	12,0	20,0	9,0
<b>S</b> (mg/dm <sup>3</sup> )	<b>58,0</b>	79,0	78,0	100
<b>B</b> (mg/dm <sup>3</sup> )	<b>0,09</b>	0,18	0,13	0,38
<b>Cu</b> (mg/dm <sup>3</sup> )	<b>3,6</b>	2,7	2,3	2,9
<b>Fe</b> (mg/dm <sup>3</sup> )	<b>10,0</b>	8,0	8,0	9,0
<b>Mn</b> (mg/dm <sup>3</sup> )	<b>14,9</b>	15,7	19,0	51,2
<b>Zn</b> (mg/dm <sup>3</sup> )	<b>2,6</b>	1,6	1,1	1,7
<b>M.O</b> (g/dm <sup>3</sup> )	<b>18,0</b>	21,0	20,0	23,0
<b>pH</b> (Ca Cl <sub>2</sub> )	<b>5,5</b>	6,1	6,2	7,2
<b>K</b> (mmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	<b>2,3</b>	11,4	8,5	61,3
<b>Ca</b> (mmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	<b>51,0</b>	44,0	47,0	49,0
<b>Mg</b> (mmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	<b>13,0</b>	13,0	15,0	33,0
<b>H + Al</b> (mmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	<b>29,0</b>	22,0	22,0	12,0
<b>Al</b> (mmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	<b>0,4</b>	0,3	0,2	0,1
<b>SB</b> (mmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	<b>66,3</b>	68,4	70,5	143,3
<b>CTC</b> (mmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	<b>95,3</b>	90,4	92,5	155,3
<b>V</b> %	<b>70</b>	76	76	92
<b>m</b> %	<b>0,6</b>	0,4	0,3	0,1

**Legenda:** Solo 2 – parâmetros químicos obtidos do solo logo após a coleta e antes da biodegradação; C<sub>2</sub>: Tratamento controle da amostra de solo 2; SVI<sub>2</sub>: Solo 2 com adição de vinhaça *in natura*; SVC<sub>2</sub>: Solo 2 com adição de vinhaça concentrada.

**Fonte:** O autor (2023).

Em relação ao K<sub>2</sub>O em ambos os solos as aplicações das vinhaças proporcionaram um aumento na contribuição líquida de K<sub>2</sub>O no solo, sendo de 6,2 mmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup> para o tratamento com vinhaça *in natura* e 59 mmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup> para o tratamento com a vinhaça concentrada. Esse valor já era esperado, pois em sua forma solúvel esse elemento estava disponível para o solo. Com a decomposição da matéria orgânica da vinhaça promovido pela respirometria influenciou na liberação de K solúvel.

Cabe ressaltar que o valor de K<sub>2</sub>O definido pela CETESB (2015) considera as necessidades da cana-de-açúcar em um ciclo agrícola. Sendo assim, especula-se sobre a capacidade da cana-de-açúcar absorver todo esse K liberado, ou ainda, se ficaria na solução do solo sujeito a lixiviação e contaminação das águas (Vitti, 2020).

Em relação ao pH do solo, observou que houve um aumento para os tratamentos com a aplicação das vinhaças, em comparação o pH no solo com o efluente *in natura* obteve uma elevação de 0,7 e para o efluente concentrado o aumento foi de 1,7 no pH do solo. Valsechi e Gomes (1954), citados por Casarini (1989) e Lyra (2008), constataram que aumentando a taxa de aplicação de vinhaça ocorre aumento no teor de bases do solo e a tendência de estabilização da elevação do pH com doses de vinhaça elevada.

Ambas as vinhaças em estudo podem ser consideradas ácidas (pH na faixa de 5,0 e 5,5), entretanto, esse comportamento não foi transferido aos solos após 120 dias de incubação. A acidificação dos solos em decorrência da aplicação de vinhaça é temporária, pois a vinhaça é composta por ácidos fracos, facilmente decomponíveis. Os íons  $H^+$  liberados são prontamente complexados pela matéria orgânica do solo, e há também um aumento na liberação de bases como  $K^+$ , que proporcionam pequena elevação no pH dos solos tratados com vinhaça (REIS; RODELLA, 2002).

A alta concentração de matéria orgânica (DBO e DQO) na vinhaça atua neutralizando a acidez do solo, diminuindo os teores de prótons  $H^+$  e de alumínio trocável ( $Al^{+3}$ ), por meio de reações de oxirredução da matéria orgânica, ocasionadas pela atividade microbológica, o que resulta no aumento do pH do solo (CAMBUIM; CORDEIRO, 1986; CAMARGO et al., 1987; MATTIAZZO; GLORIA, 1987).

A elevação dos valores de pH em solos tratados com vinhaça é passageira, com tendência a retornar aos valores originais, em decorrência da liberação de íons  $H^+$  de ácidos carboxílicos, fenólicos, álcoois terciários e sulfatos resultantes da decomposição da MO, e liberação de prótons do processo de nitrificação (CAMARGO et al., 1983).

Outros trabalhos relatam a modificação em alguns atributos químicos e biológicos do solo, tais como CTC, pH, saturação por bases e carbono orgânico pela adição de vinhaça (FONTES, 1987; REIS, 1998). Neste estudo também foram observadas modificações em alguns atributos.

A capacidade de troca catiônica (CTC) nos solos tratados com vinhaça concentrada aumentou 60% em relação ao valor observado inicialmente antes dos ensaios de respirometria. De acordo com Gillman (1979), a melhor forma de expressar as cargas elétricas em solos recém fertilizados com resíduos orgânicos é pela determinação da CTC.

De maneira geral, vários estudos afirmam que elevadas doses de vinhaça aplicadas aos solos contribuem para o aumento da capacidade de troca catiônica, da porcentagem

de saturação de bases e para a elevação do índice de pH do solo, promovendo melhoria em sua fertilidade (SANTOS et al., 1981; BIANCHI et al., 2008; BARROS et al., 2010).

Os teores de matéria orgânica (MO) observados nos solos após o período de incubação (Tabela 10) foram superiores para os tratamentos com a aplicação da vinhaça. O teor de MO foi superior para o solo com o tratamento da vinhaça concentrada em comparação ao tratamento com a vinhaça *in natura*.

A matéria orgânica contida na vinhaça aplicada ao solo exerce grande influência sobre suas propriedades químicas, físicas e biológicas. A alta quantidade de matéria orgânica presente na vinhaça, quando incorporada ao solo, altera suas características químicas: aumento de pH; diminuição do potencial de oxirredução causada pelas reações de redução; aumento da capacidade de troca catiônica pela elevação de cargas negativas; e concentração de nitrogênio no solo.

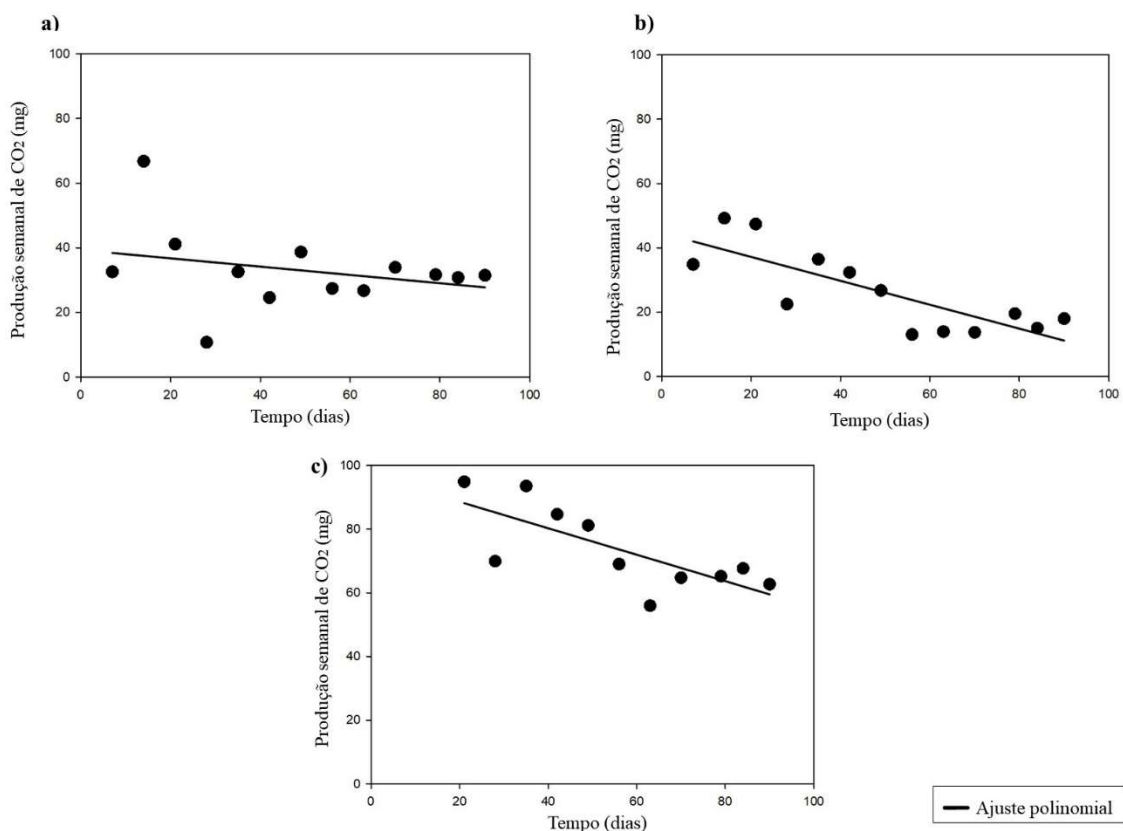
É importante mencionar que as análises foram realizadas em solo homogeneizados após o período de incubação, o que pode influenciar nos resultados, visto que o processo de decomposição ocorreu na camada atingida pela aplicação das vinhaças e a análise foi realizada no solo contido nos respirômetros. Em condições de campo, é possível que tais processos aconteçam de forma localizada no perfil do solo.

#### 4.2.2 Análise em Latossolo Vermelho Distroférico típico (Solo 1)

Também foi realizado a estimativa da evolução semanal da quantidade de CO<sub>2</sub> evoluído a partir de amostras de solo controle e com a adição de vinhaças para o solo 1 incubado durante o período de 90 dias nos respirômetros (Figura 5). Os dados foram analisados e processados na ferramenta SIGMAPLOT 14.0 em que foi obtido uma curva da biodegradação por meio do acompanhamento da taxa liberada de CO<sub>2</sub> semanal nesse período. Visando facilitar a visualização os dados foram ajustados polinomial para curvas.

**Figura 5:** Produção semanal de CO<sub>2</sub> nos ensaios respirométrico do tratamento controle do solo 1 (C<sub>1</sub>: representada por a), solo 1 com aplicação de vinhaça *in natura* (SVI<sub>1</sub>: representada por b) e solo 1 com aplicação de vinhaça concentrada (SVC<sub>1</sub>: representada por c). Uma regressão polinomial foi traçada a fim

de facilitar a visualização da biodegradação semanal. Os valores individuais estão contidos no Apêndice 8.1.



**Fonte:** O autor (2023).

A evolução semanal se apresentou diferente entre os tratamentos analisados no respirômetros, também observado nos dados do solo 2. Observou que a evolução semanal foi a fase mais inicial no tratamento controle sem a adição de vinhaça (Figura 5a) e que a biodegradação tendeu a estabilizar ao longo dos dias, indicando uma evolução menor de CO<sub>2</sub>.

No tratamento controle, o dia de maior pico de liberação de CO<sub>2</sub> foi na segunda semana no décimo quarto dia de incubação nos respirômetros; o valor de liberação foi de 66,82 mg de CO<sub>2</sub>, quase o dobro do que foi registrado no tratamento controle do solo 2. O vigésimo oitavo dia apresentou a liberação de 10,80 mg de CO<sub>2</sub>, o menor pico do dia de incubação, comparável ao solo 2.

Em relação ao tratamento com adição de vinhaça *in natura* (Figura 5b), a evolução semanal ocorreu de forma semelhante ao observado no tratamento controle. O maior pico assim como no controle ocorreu na segunda semana, sendo observado a liberação de 49,27 mg de CO<sub>2</sub> e a menor liberação ocorreu no quinquagésimo sexto dia de incubação registrando 13,05 mg de CO<sub>2</sub>.

A Figura 5c mostra os dados dos respirômetros dos tratamentos com adição de vinhaça concentrada. Em comparação com outros tratamentos das amostras controle e com adição de vinhaça *in natura*, a evolução do CO<sub>2</sub> foi maior. No solo 2, essa tendência também foi observada. Ao longo dos primeiros dias de incubação dos respirômetros, a liberação de CO<sub>2</sub> começou a ocorrer, e ao longo dos dias tendeu a diminuir e se estabilizar.

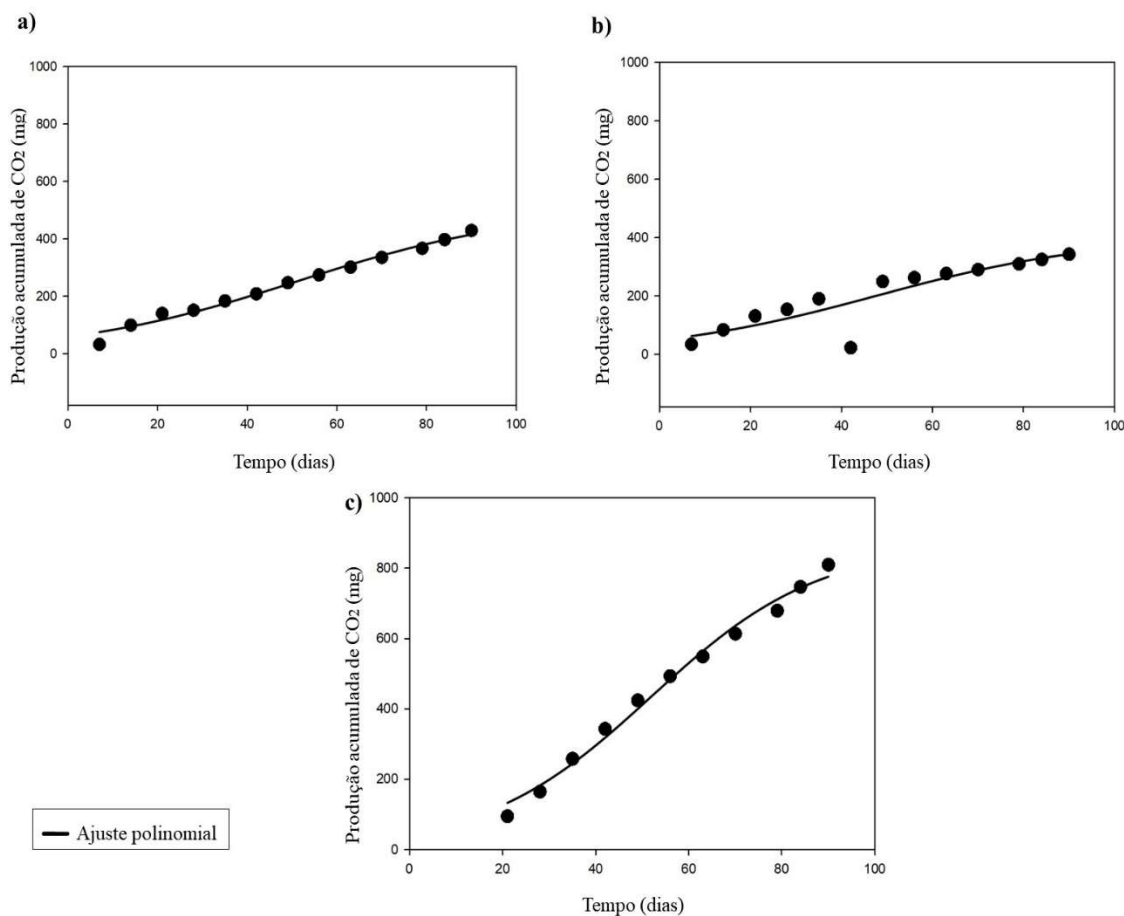
É observado que o maior pico de liberação de CO<sub>2</sub> para o tratamento com vinhaça concentrada ocorreu no dia vigésimo primeiro dia de incubação, apresentado o valor de 94,94 mg de CO<sub>2</sub> evoluído, o dobro observado em comparação ao maior pico do tratamento com a vinhaça *in natura*. Esse alto valor pode ser explicado devido a composição da vinhaça concentrada apresentar valor superior de carbono orgânico.

Ainda sobre o tratamento com a adição do efluente concentrado o menor pico de ocorreu no sexagésimo terceiro dia de incubação, sendo observado o valor de 56,02 mg de CO<sub>2</sub> liberado. Ainda que esse valor seja apresentado como menor valor para esse tratamento, em comparação ao tratamento com vinhaça *in natura* é maior que o valor de maior liberação de CO<sub>2</sub>.

Também foram analisados os valores de CO<sub>2</sub> acumulado dos respirômetros dos tratamentos com e sem a adição de vinhaça e os resultados podem ser observados na Figura 6.

**Figura 6:** Produção acumulada de CO<sub>2</sub> dos ensaios respirométrico com Latossolo Vermelho Distroférrico típico: Sendo dados do tratamento controle do solo 1 (C<sub>1</sub> :representada por a), solo 1 com aplicação de vinhaça *in natura* (SVI<sub>1</sub> :representada por b) e solo 1 com aplicação de vinhaça concentrada (SVC<sub>1</sub>:

representada por c). Uma regressão polinomial foi traçada a fim de facilitar a visualização da biodegradação semanal. Os valores individuais estão contidos no Apêndice 8.1.



Fonte: O autor (2023).

Assim como observado no solo 2, os ensaios de maior liberação total de CO<sub>2</sub> ocorreram nos tratamentos que receberam vinhaça, com destaque para o tratamento com vinhaça concentrada que apresentou uma evolução total de 810,06 mg de CO<sub>2</sub> no período de 90 dias de incubação dos respirômetros, conforme observado na Figura 6c.

A evolução total no período de incubação para o tratamento controle foi de 429,61 mg de CO<sub>2</sub>, valor superior ao tratamento com a adição de vinhaça *in natura* que no mesmo período apresentou uma evolução de 343,10 mg de CO<sub>2</sub>.

#### 4.2.2.1 Análise Estatística de Biodegradação

Para os dados obtidos da evolução total foi realizado o teste de normalidade de Shapiro-Wilk, e observou uma distribuição normal com  $P = 0,991$ . Também foi feito a análise de variância (ANOVA) e os dados se encontram no Apêndice 8.1 deste trabalho.

As diferenças nos valores medianos entre os grupos de tratamento são maiores do que seria esperado por chance; há diferença estatisticamente significativa ( $P = 0,012$ ). Para

análise isolada dos grupos ou grupos que diferem dos outros foi usado o procedimento de comparação múltipla por pelo método Dunn's

**Tabela 11:** Comparação de classes pelo método de Dunn's dos respirômetros contendo Solo 1.

<b>Comparação</b>	<b>Diferenças de Classes</b>	<b>Q</b>	<b>P</b>	<b>P&lt;0,050</b>
SVC <sub>1</sub> x C <sub>1</sub>	10,077	2,272	0,069	Não
SVC <sub>1</sub> x SVI <sub>1</sub>	12,692	2,862	0,013	Sim
SVI <sub>1</sub> x C <sub>1</sub>	2,615	0,616	1,000	Não

Fonte: O autor (2023).

#### 4.2.2.2 Análise de Solo Após a Biodegradação do Solo

Objetivando identificar as possíveis alterações na composição química do solo influenciadas pela biodegradação e também pela composição química das vinhaças aplicadas foram realizadas as análises após o período incubação de 90 dias nos respirômetros. Os parâmetros analisados foram: fósforo, pH, teor de matéria orgânica, potássio, cálcio, magnésio, acidez potencial, soma de bases, capacidade de troca catiônica, saturação por bases. Os valores encontrados estão descritos na Tabela 12.

**Tabela 12:** Caracterização química do solo controle e tratado com vinhaças *in natura* e concentrada após o ensaio de respirometria.

<b>Parâmetros</b>	<b>Solo 1 (90 dias de biorremediação)</b>			
	<b>Solo 1</b>	<b>C<sub>1</sub></b>	<b>SVI<sub>1</sub></b>	<b>SVC<sub>1</sub></b>
<b>P Resina (mg/dm<sup>3</sup>)</b>	<b>22,0</b>	22,0	14,0	13,0
<b>S (mg/dm<sup>3</sup>)</b>	<b>47,0</b>	48,0	64,0	99,0
<b>B (mg/dm<sup>3</sup>)</b>	<b>0,08</b>	0,10	0,11	0,29
<b>Cu (mg/dm<sup>3</sup>)</b>	<b>3,2</b>	3,2	3,2	3,6
<b>Fe (mg/dm<sup>3</sup>)</b>	<b>14,0</b>	10,0	9,0	8,0
<b>Mn (mg/dm<sup>3</sup>)</b>	<b>51,3</b>	26,5	26,1	58,4
<b>Zn (mg/dm<sup>3</sup>)</b>	<b>1,5</b>	1,7	1,9	2,7
<b>M.O (g/dm<sup>3</sup>)</b>	<b>17,0</b>	18,0	17,0	21,0
<b>pH (Ca Cl<sub>2</sub>)</b>	<b>5,0</b>	5,9	6,2	6,6
<b>K (mmol/dm<sup>3</sup>)</b>	<b>1,4</b>	1,7	0,8	67,9
<b>Ca (mmol/dm<sup>3</sup>)</b>	<b>17,0</b>	24,0	25,0	32,0
<b>Mg (mmol/dm<sup>3</sup>)</b>	<b>9,0</b>	12,0	14,0	38,0
<b>H + Al (mmol/dm<sup>3</sup>)</b>	<b>31,0</b>	25,0	22,0	17,0
<b>Al (mmol/dm<sup>3</sup>)</b>	<b>0,5</b>	0,3	0,3	0,1
<b>SB (mmol/dm<sup>3</sup>)</b>	<b>27,4</b>	37,7	39,8	137,9
<b>CTC (mmol/dm<sup>3</sup>)</b>	<b>58,4</b>	62,7	61,8	154,9
<b>V %</b>	<b>47</b>	60	64	89
<b>m %</b>	<b>1,8</b>	0,8	0,7	0,1



Após a aplicação das vinhaças e do período de incubação os tratamentos com a aplicação da vinhaça concentrada aumentaram suas cargas dos seguintes elementos: S passou de 47 mg/dm<sup>3</sup> para 99 mg/dm<sup>3</sup>; Ca passando de 17 mg/dm<sup>3</sup> para 32 mg/dm<sup>3</sup> em apenas 90 dias.

Em relação ao pH do solo, observou que houve um aumento para os tratamentos com a aplicação das vinhaças. Em comparação o pH no solo com o efluente *in natura* observou uma elevação de 1,2 e para o efluente concentrado o aumento foi de 1,6 no pH do solo. Esse aumento também foi observado no solo 2.

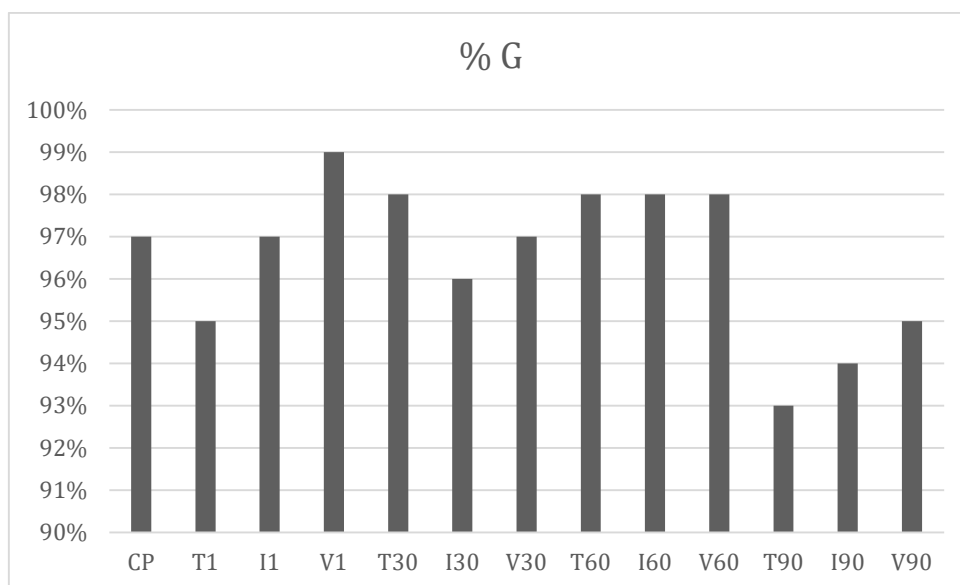
O destaque vai para a capacidade de troca de cátions, CTC que aumentou consideravelmente no tratamento com o resíduo concentrado, em que após a aplicação no solo os valores aumentaram 58,4 para 154,9. Ainda sobre o tratamento do efluente concentrado é possível observar que houve uma diminuição no m% passando de 1,8 % para 0,1 % em 90 dias de incubação.

### 4.3 Teste de Ecotoxicidade com Sementes *Lactuca sativa*

#### 4.3.1 Análise ao Longo do Tempo

Foram realizados ensaios de ecotoxicidade ao longo do tempo visando identificar os efeitos da vinhaça no solo, para os ensaios foram utilizados os inóculos montados em erlenmeyer, descrito na Tabela 6. Foi possível observar que a germinação das sementes de *L. sativa* ocorreu em todos os tratamentos em percentagens diferentes (Figura 7).

**Figura 7:** Taxa de germinação (%G) de sementes *Lactuca sativa*.



**Fonte:** Autoria própria (2023).

**Legenda:** CP - controle positivo com água; T<sub>1</sub> – amostra do solo controle no tempo inicial de 1 dia de incubação; T<sub>30</sub> – amostra do solo controle no tempo de 30 dias de incubação; T<sub>60</sub> – amostra do solo controle no tempo de 60 dias de incubação; T<sub>90</sub> - amostra do solo controle no tempo de 90 dias de incubação; V<sub>1</sub> – amostra de solo com adição de vinhaça concentrada no tempo inicial de 1 dia; V<sub>30</sub> – amostra de solo com adição de vinhaça concentrada no tempo de 30 dias; V<sub>60</sub> – amostra de solo com adição de vinhaça concentrada no tempo de 60 dias; V<sub>90</sub> - amostra de solo com adição de vinhaça concentrada no tempo de 90 dias; I<sub>1</sub> – amostra de solo com adição de vinhaça *in natura* no tempo inicial de 1 dia; I<sub>30</sub> – amostra de solo com adição de vinhaça *in natura* no tempo de 30 dias; I<sub>60</sub> – amostra de solo com adição de vinhaça *in natura* no tempo de 60 dias; I<sub>90</sub> - amostra de solo com adição de vinhaça *in natura* no tempo de 90 dias.

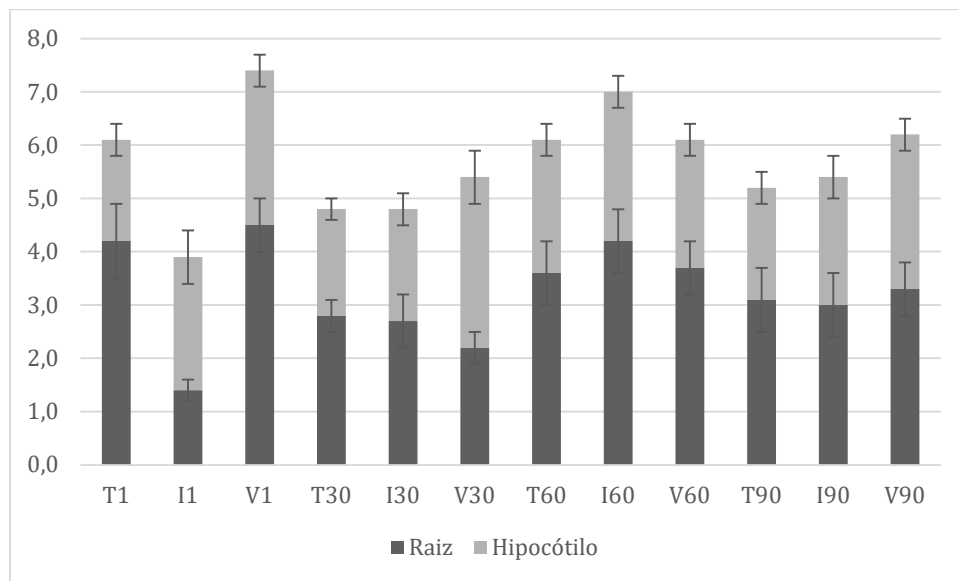
Neste trabalho foi observado que nos tratamentos com a aplicação da vinhaça o índice de germinação foi acima de 90% em todas as amostras, indicando a não toxicidade das vinhaças para este solo. Cabe ressaltar que as doses aplicadas no solo estão de acordo com as doses permitidas pela legislação estadual (CETESB, 2015), o que pode ter influenciado nos resultados.

Na literatura são encontrados valores semelhantes utilizando espécie de *Lactuca sativa* em ensaios de ecotoxicidade utilizando vinhaças. Quitério (2013) relatou mais de 50% na taxa de germinação de sementes em testes utilizando vinhaça.

Em contrapartida a adição da vinhaça no solo reduz a alcalinidade do solo e a disponibilidade de manganês, com isso inibe a germinação de sementes (KUMAR *et al.*, 1997), assim como foi relatado por Kannan e Upreti (2008) o seu efeito altamente tóxico sobre o crescimento e germinação de sementes de *Vigna radiata* em baixas concentrações de vinhaça (5% v/v). Com isso, é indiscutível que a disposição da vinhaça no solo pode ser danosa para a vegetação, desde que não tenha um estudo da sua dosagem, provocando assim o efeito inibidor frente as espécies vegetais.

Na Figura 8, é observado a diferença do comprimento médio da raiz e hipocótilo das sementes germinadas para cada grupo de tratamento analisado ao longo do período de 90 dias de incubação nos erlenmeyer.

**Figura 8:** Comprimento médio da raiz e hipocótilo de *Lactuca sativa* obtido em ensaios de ecotoxicidade ao longo da biodegradação.



**Fonte:** Autoria própria (2023).

**Legenda:** T<sub>1</sub> – amostra do solo controle no tempo inicial de 1 dia de incubação; T<sub>30</sub> – amostra do solo controle no tempo de 30 dias de incubação; T<sub>60</sub> – amostra do solo controle no tempo de 60 dias de incubação; T<sub>90</sub> – amostra do solo controle no tempo de 90 dias de incubação; V<sub>1</sub> – amostra de solo com adição de vinhaça concentrada no tempo inicial de 1 dia; V<sub>30</sub> – amostra de solo com adição de vinhaça concentrada no tempo de 30 dias; V<sub>60</sub> – amostra de solo com adição de vinhaça concentrada no tempo de 60 dias; V<sub>90</sub> – amostra de solo com adição de vinhaça concentrada no tempo de 90 dias; I<sub>1</sub> – amostra de solo com adição de vinhaça *in natura* no tempo inicial de 1 dia; I<sub>30</sub> – amostra de solo com adição de vinhaça *in natura* no tempo de 30 dias; I<sub>60</sub> – amostra de solo com adição de vinhaça *in natura* no tempo de 60 dias; I<sub>90</sub> – amostra de solo com adição de vinhaça *in natura* no tempo de 90 dias.

No tempo inicial observou-se que o grupo contendo o tratamento com a aplicação da vinhaça concentrada se demonstrou mais satisfatório para o crescimento da *L. sativa*, sendo observado um maior alongamento do tecido vegetal em relação ao tratamento controle. Esse resultado pode ser explicado devido à alta quantidade nutricional fornecida pela vinhaça para o solo.

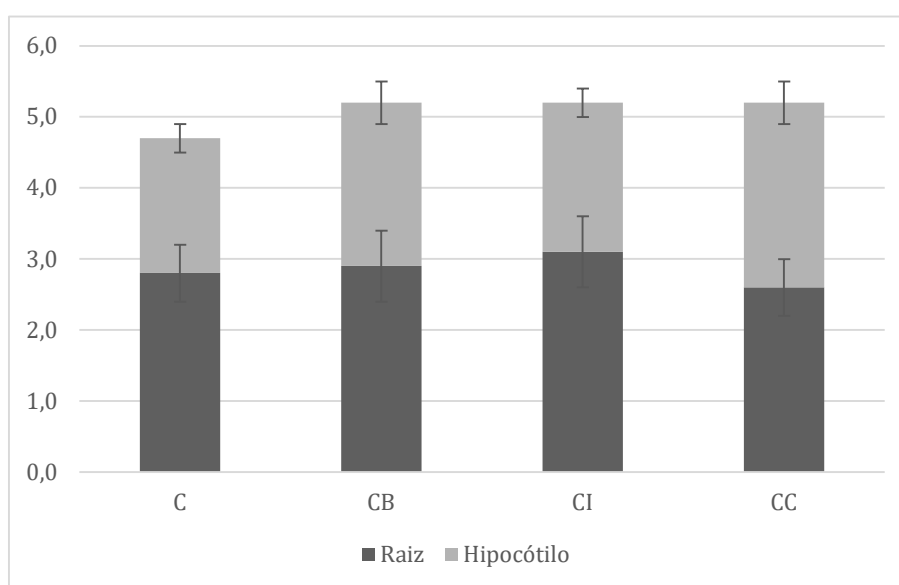
Já referente a vinhaça *in natura* no primeiro momento a aplicação se demonstrou inibitória para as plantas, provocando um menor comprimento das raízes em relação ao tratamento controle. Sendo assim, não seria recomendado a semeadura da *L. sativa* logo após a aplicação de vinhaça *in natura* no solo.

O período em que as sementes melhores se desenvolveram nos tratamentos analisados foi no de 60 dias de incubação, em que ocorreram a maior alongação do tecido vegetal estudado para o tratamento controle e tratamento com vinhaça *in natura*.

#### 4.3.2 Análise Antes e Após a Biodegradação da Vinhaça

Foram realizados ensaios de ecotoxicidade antes e após o teste de respirometria, visando identificar os efeitos da vinhaça no solo após a biodegradação da vinhaça. Os resultados encontrados podem ser observados na (Figura 9).

**Figura 9:** Comprimento médio da raiz e hipocótilo de *Lactuca sativa* obtido em ensaios de ecotoxicidade antes e após a biodegradação.



**Fonte:** O autor (2023).

**Legenda:** C: Solo 2 antes da biorremediação; CB: Solo 2 após biorremediação; CI: Solo 2 + vinhaça *in natura* após biorremediação; CC: Solo 2 + vinhaça concentrada após biorremediação.

O desenvolvimento das sementes de alface é afetado pela biodegradação da vinhaça; todos os grupos estudados apresentaram índices de crescimento de raiz e hipocótilo maiores após a biodegradação da vinhaça, confirmando que a biodegradação da vinhaça afeta positivamente o crescimento vegetativo.

Observou que as sementes germinadas sob o efeito da vinhaça concentrada tiveram o hipocótilo e o comprimento das raízes mais longos do que as sementes de outros grupos estudados. Após a biodegradação, a qualidade das sementes melhorou em comparação com a análise de ecotoxicidade realizada no início da biodegradação. Assim,

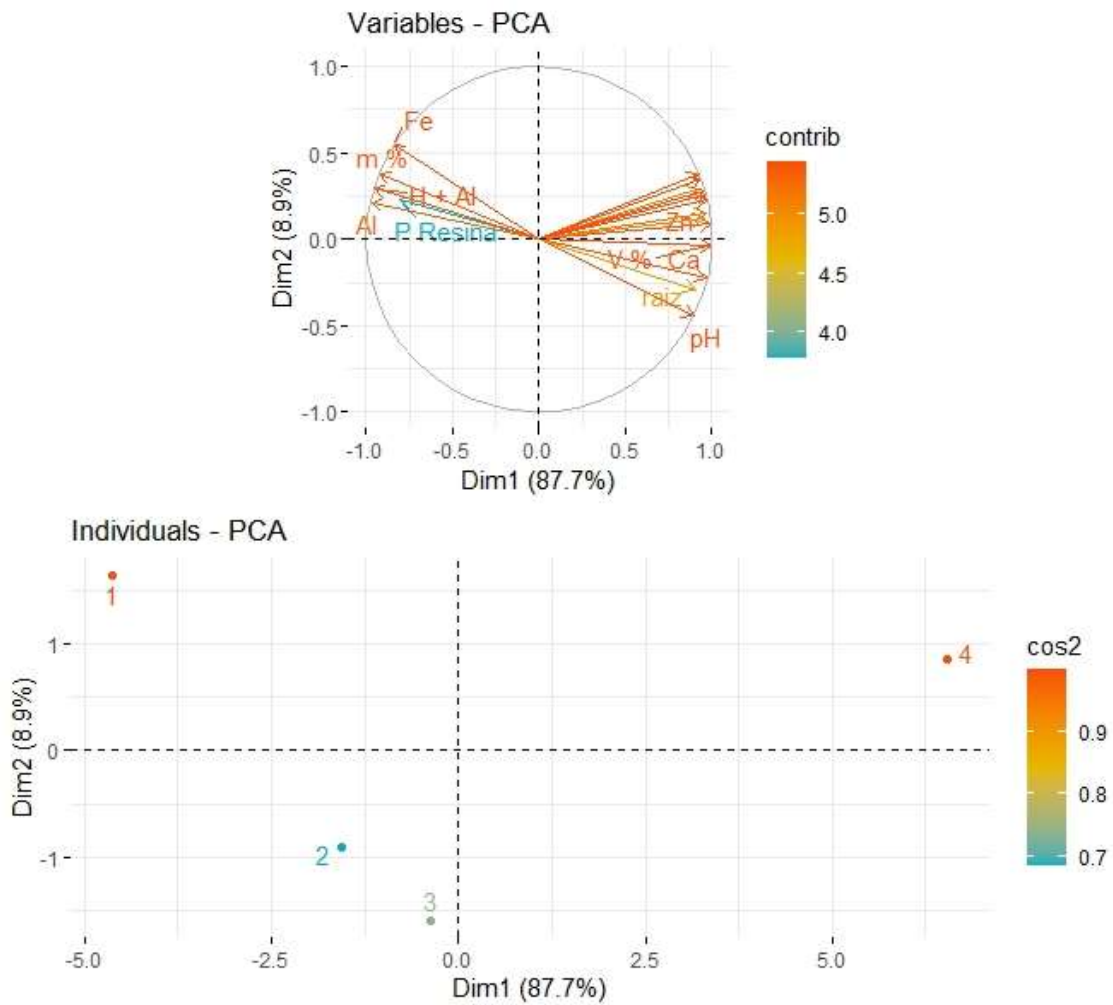
observou que a microbiota presente na vinhaça aumentou a biodisponibilidade dos nutrientes.

#### **4.4 Análise de Componentes Principais.**

Após os testes de respirometria, ecotoxicidade e análises químicas do solo após a biodegradação, os dados foram processados e analisados pela Análise de Componentes Principais (PCA), os resultados são observados nas Figuras 10 e 11.

Na análise de componentes principais (PCA) do solo 1 observada na Figura 10, é possível verificar a existência de dois grupos de componentes principais, sendo o primeiro grupo explicou 87,7% das variações ocorridas nos ensaios de biodegradação e ecotoxicidade das vinhaças. Já o outro grupo de componentes principais explicaria 8,9% das variações, indicando assim uma influência baixa em comparação ao primeiro grupo de componentes. Juntos os dois componentes principais explicam 96,6 das variações ocorridas nos testes.

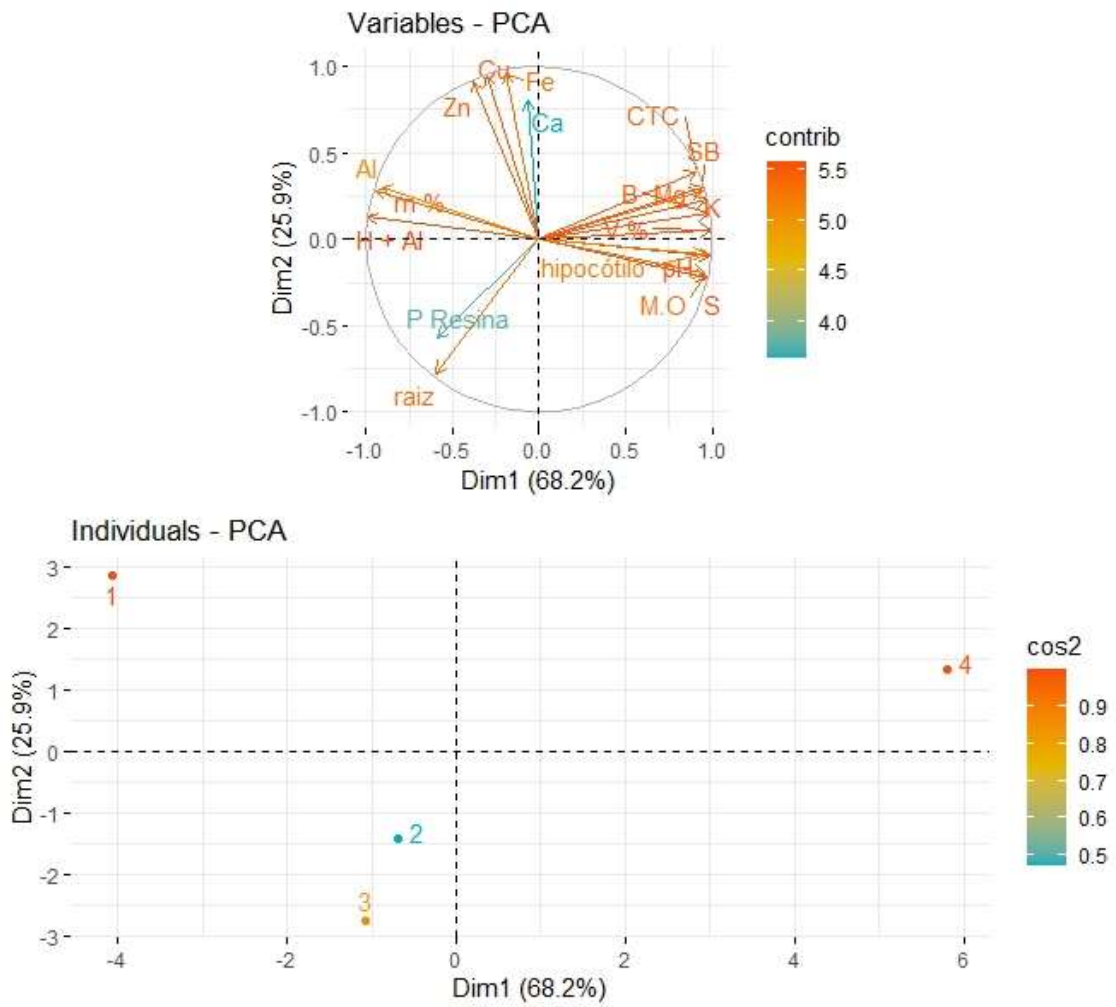
**Figura 10:** Diagrama de dispersão dos primeiros eixos de Análise de Componentes Principais (PCA) dos dados encontrados nos testes de respirometria, ecotoxicidade e análises químicas do solo 1.



**Fonte:** O autor (2023).

Em relação ao solo 2, a Análise de Componentes Principais PCA pode ser observada na Figura 11. O primeiro grupo de componentes principais encontrado explica 68,2% das variações ocorridas nos ensaios. O segundo grupo de componentes principais explica 25,9 das variações, juntos o grupo de componentes principais 1 e 2 explicam 94,1% das variações ocorridas nos testes de biodegradação e ecotoxicidade.

**Figura 11:** Análise de componentes principais dos ensaios aplicados ao Latossolo Vermelho Distrófico típico.



Fonte: O autor (2023).

## 5. CONCLUSÕES

A decomposição da matéria orgânica da vinhaça foi eficaz em ambos os solos estudados, conforme demonstrado pelo teste de respirometria. Em relação ao comparativo dos parâmetros químicos do solo antes e após a biodegradação da vinhaça, foi demonstrado que, em comparação com a amostra de solo controle sem a adição de vinhaças, os tratamentos com vinhaça *in natura* e concentrada melhoraram os componentes químicos do solo, melhoraram a qualidade do solo e aumentaram a fertilidade.

As características químicas das vinhaças, que contêm nutrientes que podem ser usados para fertilizar o solo e posteriormente liberados para as plantas, podem explicar essas variações notáveis nos efeitos observados. O aumento da matéria orgânica, a redução da acidez do solo e a promoção do crescimento das plantas observadas no teste de toxicidade com a alface são alguns dos efeitos observados.

Conforme demonstrado pelo aumento exponencial das Unidades Formadoras de Colônias a atividade microbiana do solo é diretamente influenciada pelas vinhaças. Foi observado que as colônias de fungos foram as que cresceram mais rapidamente após a aplicação de vinhaças eram as amostras que receberam vinhaça concentrada. Por isso a estimativa de colônias microbianas é uma ferramenta importante para estudos sobre a biodegradação da vinhaça em solos fertirrigado e são necessários maiores estudos visando a identificação das colônias.

A pesquisa mostrou que as vinhaças não eram tóxicas para as sementes de *Lactuca sativa*. Isso pode ser atribuído ao fato de que as taxas de aplicação das vinhaças no solo estavam dentro dos padrões recomendados pela lei estadual de São Paulo. Um estudo futuro envolvendo outros tipos de plantas é necessário para determinar seu impacto no ciclo de cultivo completo, e não apenas na germinação, como foi o objetivo deste estudo.

Conclui que a modelagem matemática é uma ferramenta útil para a interpretação dos resultados e para o planejamento de experimentos futuros, pois fornece uma melhor compreensão dos processos de biodegradação nos ensaios. Sendo assim, é necessário monitorar a atividade de fertirrigação devido à variedade de elementos envolvidos na operação, incluindo o tipo de solo, o lençol freático e os métodos de manejo de efluentes.



## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. Resíduos em solo - **Determinação da biodegradação pelo método respirométrico. NBR 14283**. São Paulo, 1999.
- ALCARDE, J. C. **Manual de Análise de Fertilidade**. Piracicaba: FEALQ, 2009.
- ALMANÇA, Reinaldo. “**Avaliação do uso da vinhaça da cana-de-açúcar na geração de energia Elétrica (Estudo de caso)**”. Dissertação de Mestrado PIPGE USP. 1994
- ANDERSON, T.H.; DOMSCH, K.H. **The metabolic quotient for CO<sub>2</sub> (qCO<sub>2</sub>) as specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soil**. Soil Biol. Biochem., 25: 393-395, 1993.
- AOAC, G. W. 2016. **Official methods of analysis of AOAC International**. 20th ed., Rockville, MD: AOAC International, ISBN: 978-0-935584-87-5, Disponível em: <<http://www.directtextbook.com/isbn/9780935584875>>. Acesso em: 16 abr 2022.
- APHA. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 19th ed. AWWA: Washington. 1998.
- BALBA, M. T.; AL. AWADHI, N.; AL. DAHER, R. **Biorremediation of Oil – Contaminated Soil: Microbiologicals Methods for Feasibility, Assessment and Field, Evaluation**. Journal of Microbiological Methods, v. 3, p. 155-164, 1998.
- BARTHA, R.; PRAMER, D. **Features of flask and method for measurement of the persistence and biological effects of pesticides in soil**. Soil Science, v. 68-70, p. 100, 1965.
- BRAGA, B. et al. **Introdução à Engenharia Ambiental**. 2. ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2005
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Departamento Nacional de Defesa Vegetal. **RAS - Regras para análise de sementes**. 365p, 2009.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Comercialização e Abastecimento. **Produção Brasileira de Etanol**. 2021.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de métodos analíticos oficiais para fertilizantes e corretivos**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília: MAPA, 2017.
- BRASIL. **Resolução Conama nº01, de 23 de janeiro de 1986**. Dispõe sobre definições, responsabilidades, critérios básicos e as diretrizes gerais para uso e implementação da Avaliação de Impacto Ambiental como um dos instrumentos da Política Nacional do Meio Ambiente.
- BRITO, F. L.; ROLIM, M. M.; PEDROSA, E. M. R. **Concentração de cátions presentes no lixiviado de solos tratados com vinhaça**, Jaboticabal, Eng. Agric. V.27, n.9, p.773-781, set/dez, 2007b.
- CASARINI, D. C. P. **Efeito da fertirrigação com vinhaça nas propriedades químicas e microbiológicas do solo em um sistema de disposição de efluente industrial**. 1989, 180f., Tese (Escola de Engenharia de São Carlos), Universidade de São Paulo.
- CETESB - Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. **Qualidade do Solo**. São Paulo, 2011.
- CETESB - Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental. **Norma Técnica P4.231: Vinhaça – Critérios e procedimentos para aplicação no solo agrícola**. 3ª. Ed. 2º. Versão. São Paulo: CETESB, 2015. 15 p.

- CETESB. Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental. **Padrões de qualidade de solos e águas subterrâneas**. Relatório Técnico, São Paulo, 1996, 8p.
- CETESB. Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental. Solos – **Determinação da Biodegradação de Resíduos** – Método Respirométrico de Bartha. Método de Ensaio, Norma técnica L6.350 São Paulo, 15p 1990.
- CORAZZA, R. I. **Políticas públicas para tecnologias mais limpas: uma análise das contribuições da economia do meio ambiente**. 2001. Tese (Pós-graduação em Política Científica e Tecnológica) – Instituto de Geociências, Universidade de Campinas, Campinas.
- CRIVELARO, S. H. R. **Associação de borra oleosa de refinaria de petróleo e vinhaça visando a biodegradação**, Monografia (Ciências Biológicas) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2005.
- DALRI, A. B.; CARVALHO NETO, O. F.; MAZZONETTO, F.; CORBANI, R. Z. **Fertirrigação com vinhaça concentrada no desenvolvimento da alface**. Revista Agrogeoambiental, v. 6, n. 2, p. 93-100, 2014.
- FIGUEIREDO FILHO, C. P. **Gestão e manejo ambiental em sistemas agrícolas**, Lavras, 52f, 2005, Monografia (Curso de Especialização em Gerenciamento Ambiental), Universidade Federal de Lavras.
- FIÚZA, A. M. A.; VILA, M. C. C. **An insight into soil bioremediation through respirometry**. Environment International, v. 31, p. 179-183, 2004.
- FONTANETTI, C.S.; NOGAROL, L. R.; SOUZA, R. B.; PEREZ, D. G.; MAZIVIERO, G. **Bioindicators and Biomarkers in the Assessment of Soil Toxicity**. In: PASCUCCI, S. (Org.). Soil Contamination. Rijeka, Croácia: InTech, 2011, p.143-168.
- FONTES, L. E. F. **Propriedades físicas e químicas de um latossolo vermelho-escuro de Goianésia (GO), cultivado com cana-de-açúcar, irrigado com vinhaça**. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Viçosa, 1987.
- GRAVES A.; LANG C.; LEAVITT M. **Respirometric analysis of the biodegradation of organic contaminants in soil and water**. Applied Biochemistry and Biotechnology, v. 28-29, p. 813–26, 1991.
- KANNAN, A.; UPRETI, R. K. Influence of distillery effluente on germination and growth of mung bean (*Vigna radiata*) seeds. Journal of Hazardous Materials, Amsterdam, v. 153, p. 609-615, 2008.
- KANNAN, K.; CORSOLINI, S.; FALANDYSZ, J.; FILLMANN, G.; KUMAR, K.S.; LOGANATHAN, B.G.; MOHD, M.A.; OLIVERO, J.; WOUWE, N.V.; YANG, J.H.; ALDOUS, K.M. Perfluorooctanesulfonate and related fluorochemicals in human blood from several countries. Environmental Science and Technology, v. 38, n. 17, p. 4489–4495, 2004.
- LABOURIAU, L. G.; AGUDO, M. **On the physiology of seed germination in *Salvia hispanica* L. I. Temperature effects**. Anais da Academia Brasileira de Ciências, v. 59, p. 37-56, 1987.
- LARSSON, E.; TENGBERG, T. **Evaporation of Vinasse**. Göteborg, Sweden: Chalmers University of Technology, 2014. Dissertação (Innovative and Sustainable Chemical Engineering).
- LYRA, M. R. C. C. **Estudo Comparativo da aplicação de vinhaça tratada e in natura em solos sob cultivo de cana-de-açúcar**. Recife, 2008. Tese (Doutorado), Programa de Pós Graduação em Engenharia Civil, Universidade Federal de Pernambuco.

- MARIANO, A. P. **Avaliação do potencial de biorremediação de solos e de águas subterrâneas contaminadas com óleo diesel**, Rio Claro, 2006, 162f. Tese (Instituto de Geociências e Ciências Exatas), Universidade Estadual Paulista.
- MARINHO, J. F. U.; CORREIA, J. E.; MARCATO, A. C. C.; PEDRO-ESCHER, J.; FONTANETTI, C. S. **Sugar cane vinasse in water bodies: Impact assessed by liver histopathology in tilapia**. *Ecotoxicology and Environmental Safety*.p. 239-245, 2014.
- MELLISSA, A. S. da Silva et al. citando FREIRE e CORTEZ, 2000, **Uso de vinhaça e impactos nas propriedades do solo e lençol freático**. Disponível em <<https://www.scielo.br/pdf/rbeaa/v11n1/v11n1a14>>. Acesso em: 30 de mar de 2022.
- MINHONI, M. T. A.; CERRI, C. C. **Decomposição de vinhaça em solo sob diferentes níveis de umidade: liberação de CO<sub>2</sub>, formação de biomassa microbiana e imobilização do nitrogênio adicionado**. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 11, 25-30, 1987.
- MONTAGNOLLI, R. N. **Incêndios de petróleo e pretoquímicos: biorremediação de áreas afetadas**. 2015. 267 f. Tese - (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro, 2015.
- MONTAGNOLLI, R. N.; LOPES, P. R. M.; BIDOIA, E. D. **Applied models to biodegradation kinetics of lubricant and vegetable oils in wastewater**. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 63, p.297–305, 2009.
- NATARAJ, S. K.; HOSAMANI, K. M.; AMINABHAVI, T. M. **Distillery wastewater treatment by the membrane based nanofiltration and reverse osmosis processes**. *Water Research*, v. 40, p. 2349-2356, 2006.
- NAVARRO, A.R.; SEPÚLVEDA, M. Del C.; RUBIO, M.C. **Bio-concentration of vinasse from the alcoholic fermentation of sugar cane molasses**. *Waste Management*, v.20, p.581-585, 2000.
- NICOLAIEWSKY, E. **Tratamento físico-químico do vinhoto: floculação, sedimentação e filtração**. *Brasil Açucareiro*, v.98, p.23-30, 1981.
- PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. Nobel, São Paulo, 1987.
- POTENTINI, M.F. e A.J. RODRIGUEZ-MALAYER: **Vinasse biodegradation by Phanerochaete chrysosporium**. *J. Environ. Biol.*, 27, 661-665. 2006.
- PRATA, F., Lavorenti, A., Regitano, J. B. and Tornisielo, V. L. **Degradação e sorção de ametrina em dois solos com aplicação de vinhaça**. *Pesq. agropec*, 2006.
- Q. Lin, I. A. Mendelsohn, C. B. Henry, P. O. Roberts, M. M. Walsh, E. B. Overton & R. J. Portier (1999) **Effects of Bioremediation Agents on Oil Degradation in Mineral and Sandy Salt Marsh Sediments**, *Environmental Technology*, 20:8, 825-837
- QUITERIO, Gabriela Mercuri. **“Avaliação do Processo de Biodegradação da Vinhaça no Solo Mediante Adição do Biofertilizante”**. Dissertação de mestrado PPGT da Universidade Estadual de Campinas, 2013.
- R CORE TEAM (2020). **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- REGO, E.E.; HERNANDÉZ, F.M. **Eletricidade por digestão anaeróbia da vinhaça de cana-de-açúcar**. *Contornos técnicos, econômicos e ambientais de uma opção*. Encontro de Energia no Meio Rural, na. 06, 2006. Disponível em: <[http://www.proceedings.scielo.br/scielo.php?pid=MSC0000000022006000100053&script=sci\\_arttext](http://www.proceedings.scielo.br/scielo.php?pid=MSC0000000022006000100053&script=sci_arttext)>. Acesso em: 7 abr 2022.

- REIS, T. C. **Varição da acidez do solo em resposta à adição de materiais orgânicos.** Piracicaba 1998. Dissertação (Mestrado), Escola Superior de Agricultura Luís de Queiroz, Universidade de São Paulo.
- RODELLA, A. A., Zambello Júnior, E. and Orlando Filho, J. **Effects of vinasse added to soil on pH and exchangeable aluminum content.** Paper presented at Congress Of The International Society Of Sugar Cane Technologists. Havana, 1983. Proceedings. Havana: Universidad de La Habana, p. 189-214, 1983.
- ROSSETO et. Al, Calagem para cana-de-açúcar e sua interação com doses de potássio. Campinas, **Bragantina**, v.63, n.1, p. 105-119, 2004.
- ROSSI, M. 2017. Mapa pedológico do Estado de São Paulo: revisado e ampliado. São Paulo: Instituto Florestal, 2017. V.1. 118p.
- RUAS, D. G. LEME, E. J. **Utilização da vinhaça como fertilizante na região Centro-Sul safra 1986/87.** Alcool e açúcar. São Paulo, v.8, n.42. p. 26-32, 1988.
- SANCHEZ, L. E. **Avaliação de impacto ambiental: conceitos e métodos.** São Paulo: Oficina de textos, 2006.
- SANTOS, S.; REZENDE, M. O. O. **Avaliação do potencial herbicida de compostos secundários na germinação de sementes de plantas daninhas encontradas em pastagens.** Revista Analytica, n. 32, p. 72-79, 2008.
- SILVA, F. C. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes.** Brasília, DF; Embrapa, 2009.
- SILVA, J. A. S. **Concentrado de vinhaça biodigerida como fertilizante: efeito no substrato, no crescimento e nutrição da cana-de-açúcar.** 2012. 67f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias e Veterinárias) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2012.
- SILVA, N. L. C. **Produção de Bioetanol de Segunda Geração a Partir de Biomassa Residual da Indústria de Celulose,** Dissertação M.Sc., Escola de Química/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 2010.
- SNEDECOR, G.W. **Statistical methods.** Iowa State Univ., Iowa, 1962.
- SOKAL, R. R.; ROHLF, F. J. **Biometry: the principles and practice of statistics in biological research.** 3ª edição, W. H. Freeman and Co, New York, 1995.
- UNICA - União da Agroindústria Canavieira do Estado de São Paulo. **Bioenergy From Sugarcane.** 2021. Disponível em: <<http://www.unica.com.br>>. Acesso em: 15 maio 2022.
- VAN RAIJ, B.; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais.** Campinas: Instituto Agrônômico, 2001. 285 p.
- WU, Y.; CHIANG, C.; LU, C. **Respirometric Evaluation by Graphical Analysis for Microbial Systems.** Environmental Monitoring and Assessment, p. 137–152, 2004.
- ZAYAS, T.; RÓMERO, V.; SALGADO, L.; MERAZ, M.; MORALES, U. **Applicability of coagulation/ flocculation and electrochemical processes to the purification of biologically treated vinasse effluent.** Separation and Purification Technology, v. 57, p. 270-276, 2007.
- ZORZENONI, T.O.; FREITAS, E. G.; MELETTI, A. P.; MARIANO, D. C.; OKUMURA, R. S.; ZACCHEO, P. V. C. **Análise da viabilidade econômica de uma instalação de concentração de vinhaça.** REVISTA TRÓPICA: Ciências Agrárias e Biológicas, v. 8, n. 2, p. 14-27, 2014.

## 7 APÊNDICE

Nos apêndices estão descritos em Tabelas e Figuras todos os dados coletados ao longo dos experimentos realizados nesse trabalho.

### 7.1 Dados de Respirimetria

**Tabela 13:** Volume de HCl titulado para Branco, C<sub>2</sub>, SVI<sub>2</sub> e SVC<sub>2</sub>, em mL e a evolução de CO<sub>2</sub> durante o período de 120 dias de incubação, em mg.

Dias	Tratamento Controle (C <sub>2</sub> )						
	HCl (mL)					CO <sub>2</sub> (mg)	
	Branco	Respirômetro 1	Respirômetro 2	Respirômetro 3	Média	semanal	acumulado
9	17,9	14,2	14,3	10,5	13,0	38,47	38,47
16	16,5	15,2	15,1	11,9	14,1	16,42	54,89
21	17,0	15,2	15,4	12,7	14,4	17,32	72,22
28	15,7	15,4	15,0	11,8	14,1	11,02	83,24
35	17,9	15,4	14,9	11,5	13,9	26,77	110,02
42	17,8	15,5	15,9	12,3	14,6	21,82	131,82
49	18,3	16,5	16,0	15,8	16,1	14,85	146,67
56	18,4	16,4	16,2	16,1	16,2	14,62	161,29
63	18,1	15,7	15,5	15,7	15,6	16,65	177,94
70	17,6	16,5	14,8	16,1	15,8	12,15	190,11
77	16,4	15,1	14,5	14,7	14,8	11,02	201,14
84	16,7	13,5	13,1	14,0	13,5	21,37	222,51
90	16,8	15,2	14,8	15,5	15,2	11,02	233,53
98	15,8	6,3	13,5	14,9	11,6	28,57	262,11
108	17,8	11,7	13,5	14,2	13,1	31,57	293,68
120	17,0	14,1	14,8	15,3	14,7	15,30	308,98
Dias	Tratamento do solo 2 com adição de vinhaça <i>in natura</i> (SVI <sub>2</sub> )						
	HCl (mL)					CO <sub>2</sub> (mg)	
	Branco	Respirômetro 1	Respirômetro 2	Respirômetro 3	Média	semanal	acumulado
9	17,9	13,9	15,6	14,5	14,7	15,75	15,75
16	16,5	11,4	12,3	13,1	12,3	28,57	44,32
21	17,0	14,0	9,6	15,5	13,0	26,77	71,10
28	15,7	14,3	11,6	15,0	13,6	13,95	85,05
35	17,9	14,3	7,5	15,1	12,3	37,80	122,84
42	17,8	14,6	11,5	15,4	13,8	26,77	149,62
49	18,3	15,7	16,5	16,4	16,2	14,17	163,79
56	18,4	15,3	13,5	16,1	15,0	23,17	186,96
63	18,1	15,5	11,5	16,2	14,4	24,97	211,94
70	17,6	17,0	8,0	17,0	14,0	24,30	236,24
77	16,4	14,7	6,0	11,7	10,8	37,80	274,03
84	16,7	13,5	6,9	13,6	11,3	36,22	310,26
90	16,8	15,9	14,9	14,6	15,1	11,25	321,51
98	15,8	15,5	8,1	15,4	13,0	18,90	340,41
108	17,8	14,7	12,4	14,4	13,8	26,77	367,18
120	17,0	15,5	14,9	14,3	14,9	14,17	381,35

Dias	Tratamento do solo 2 com adição de vinhaça concentrada (SVC <sub>2</sub> )						
	HCl (mL)				CO <sub>2</sub> (mg)		
	Branco	Respirômetro 1	Respirômetro 2	Respirômetro 3	Média	semanal	acumulado
9	17,9	-	-	-	-	-	-
16	16,5	-	-	-	-	-	-
21	17,0	6,3	4,3	5,3	5,3	78,97	78,97
28	15,7	6,9	6,1	5,3	6,1	64,80	143,77
35	17,9	8,2	5,2	7,9	7,1	72,90	216,66
42	17,8	12,6	5,2	10,3	9,4	56,92	273,58
49	18,3	12,5	5,0	11,7	9,7	57,82	331,41
56	18,4	5,0	11,2	12,0	9,4	60,75	392,16
63	18,1	3,5	11,6	11,7	8,9	61,87	454,02
70	17,6	11,9	14,9	14,5	13,8	25,87	479,90
77	16,4	7,2	10,9	0,0	6,0	69,97	549,87
84	16,7	8,1	12,3	8,8	9,7	47,02	596,89
90	16,8	11,2	11,0	10,5	10,9	39,82	639,71
98	15,8	7,0	11,4	9,7	9,4	43,42	680,13
108	17,8	8,6	11,4	9,8	9,9	53,10	733,23
120	17,0	8,7	11,3	10,0	10,0	47,25	780,48

**Figura 12:** Análise estatísticas realizada no software Sigmaplot da produção semanal de CO<sub>2</sub> dos respirômetros do tratamento controle solo 2 (C<sub>2</sub>).

**Equation: Polynomial; Linear**

$$f = y_0 + a * x$$

R	Rsqr	Adj Rsqr	Standard Error of Estimate
0,0936	0,0088	-0,0620	8,4319

	Coefficient	Std. Error	t	P
y0	20,6663	4,3987	4,6983	0,0003
a	-0,0225	0,0639	-0,3516	0,7303

**Analysis of Variance:**

	DF	SS	MS
Regression	2	5974,0364	2987,0182
Residual	14	995,3584	71,0970
Total	16	6969,3948	435,5872

Corrected for the mean of the observations:

	DF	SS	MS
Regression	1	8,7912	8,7912
Residual	14	995,3584	71,0970
Total	15	1004,1496	66,9433

**Statistical Tests:**

**Normality Test (Shapiro-Wilk)** Passed (P = 0,0424)  
W Statistic= 0,8825 Significance Level = <0,0001

**Constant Variance Test (Spearman Rank Correlation)** Passed (P = 0,8737)

**Fit Equation Description:**

[Variables]  
x = col(1)  
y = col(2)  
reciprocal\_y = 1/abs(y)  
reciprocal\_ysquare = 1/y^2  
reciprocal\_x = 1/abs(x)  
reciprocal\_xsquare = 1/x^2  
reciprocal\_pred = 1/abs(f)  
reciprocal\_predsqr = 1/f^2  
weight\_Cauchy = 1/(1+4\*(y-f)^2)  
'Automatic Initial Parameter Estimate Functions  
F(q) = ape(x;y;1;0;1)  
[Parameters]  
y0 = F(0)[1] "Auto {{previous: 20,6663}} {{MinRange: -12.3}} {{MaxRange: 36.9}}  
a = F(0)[2] "Auto {{previous: -0,0224855}} {{MinRange: -4.5}} {{MaxRange: 1.5}}  
[Equation]  
f = y0+a\*x  
fit f to y  
"fit f to y with weight reciprocal\_y  
"fit f to y with weight reciprocal\_ysquare  
"fit f to y with weight reciprocal\_x  
"fit f to y with weight reciprocal\_xsquare  
"fit f to y with weight reciprocal\_pred  
"fit f to y with weight reciprocal\_predsqr  
"fit f to y with weight weight\_Cauchy  
[Constraints]  
[Options]  
tolerance=1e-10  
stepsize=10  
iterations=200

Number of Iterations Performed = 1

**Fonte:** O autor (2023).

**Figura 13:** Análise estatísticas realizada no software Sigmaplot da produção semanal de CO<sub>2</sub> dos respirômetros da amostra contendo o solo 2 com aplicação da vinhaça *in natura* (SVI<sub>2</sub>).

**Equation: Polynomial; Linear**

$$f = y_0 + a * x$$

R	Rsqr	Adj Rsqr	Standard Error of Estimate
0,0788	0,0062	-0,0648	8,9415

	Coefficient	Std. Error	t	P
y0	25,0433	4,6645	5,3689	<0,0001
a	-0,0200	0,0678	-0,2956	0,7719

**Analysis of Variance:**

	DF	SS	MS
Regression	2	9095,2712	4547,6356
Residual	14	1119,2959	79,9497
Total	16	10214,5671	638,4104

Corrected for the mean of the observations:

	DF	SS	MS
Regression	1	6,9857	6,9857
Residual	14	1119,2959	79,9497
Total	15	1126,2815	75,0854

**Statistical Tests:**

**Normality Test (Shapiro-Wilk)** Passed (P = 0,1663)  
W Statistic= 0,9196 Significance Level = <0,0001

**Constant Variance Test (Spearman Rank Correlation)** Passed (P = 0,6966)

**Fit Equation Description:**

```
[Variables]
x = col(1)
y = col(3)
reciprocal_y = 1/abs(y)
reciprocal_ysquare = 1/y^2
reciprocal_x = 1/abs(x)
reciprocal_xsquare = 1/x^2
reciprocal_pred = 1/abs(f)
reciprocal_predsqr = 1/f^2
weight_Cauchy = 1/(1+4*(y-f)^2)
'Automatic Initial Parameter Estimate Functions
F(q) = ape(x;y;1;0;1)
[Parameters]
y0 = F(0)[1] "Auto" {{previous: 25,0433}} {{MinRange: -12.3}} {{MaxRange: 36.9}}
a = F(0)[2] "Auto" {{previous: -0,0200439}} {{MinRange: -4.5}} {{MaxRange: 1.5}}
[Equation]
f = y0+a*x
fit f to y

"fit f to y with weight reciprocal_y
"fit f to y with weight reciprocal_ysquare
"fit f to y with weight reciprocal_x
"fit f to y with weight reciprocal_xsquare
"fit f to y with weight reciprocal_pred
"fit f to y with weight reciprocal_predsqr
"fit f to y with weight weight_Cauchy
[Constraints]
[Options]
tolerance=1e-10
stepsize=10
iterations=200
```

Number of Iterations Performed = 1

**Fonte:** O autor (2023).



**Figura 14:** Análise estatísticas realizada no software Sigmaplot da produção semanal de CO<sub>2</sub> dos respirômetros contendo da amostra do solo 2 com a aplicação da vinhaça concentrada (SVC<sub>2</sub>).

```

Equation: Polynomial; Linear
f = y0+a*x

R    Rsqr  Adj Rsqr    Standard Error of Estimate
0,6221 0,3870  0,3360        11,6117

      Coefficient Std. Error    t          P
y0    75,2596      7,7376        9,7264      <0,0001
a     -0,2903      0,1055       -2,7527      0,0175

Analysis of Variance:

      DF      SS      MS
Regression 2    44532,2835  22266,1417
Residual 12    1617,9651  134,8304
Total 14      46150,2486  3296,4463

Corrected for the mean of the observations:

      DF      SS      MS
Regression 1    1021,6384  1021,6384
Residual 12    1617,9651  134,8304
Total 13      2639,6036  203,0464

Statistical Tests:

Normality Test (Shapiro-Wilk) Passed (P = 0,1636)
W Statistic= 0,9111      Significance Level = <0,0001

Constant Variance Test (Spearman Rank Correlation) Passed (P = 0,5729)

Fit Equation Description:
[Variables]
x = col(1)
y = col(4)
reciprocal_y = 1/abs(y)
reciprocal_ysquare = 1/y^2
reciprocal_x = 1/abs(x)
reciprocal_xsquare = 1/x^2
reciprocal_pred = 1/abs(f)
reciprocal_predsqr = 1/f^2
weight_Cauchy = 1/(1+4*(y-f)^2)
'Automatic Initial Parameter Estimate Functions
F(q) = ape(x;y;1;0;1)
[Parameters]
y0 = F(0)[1] "Auto {{previous: 75,2596}} {{MinRange: -12.3}} {{MaxRange: 36.9}}
a = F(0)[2] "Auto {{previous: -0,290281}} {{MinRange: -4.5}} {{MaxRange: 1.5}}
[Equation]
f = y0+a*x
fit f to y

"fit f to y with weight reciprocal_y
"fit f to y with weight reciprocal_ysquare
"fit f to y with weight reciprocal_x
"fit f to y with weight reciprocal_xsquare
"fit f to y with weight reciprocal_pred
"fit f to y with weight reciprocal_predsqr
"fit f to y with weight weight_Cauchy
[Constraints]
[Options]
tolerance=1e-10
stepsize=10
iterations=200

Number of Iterations Performed = 1

```

Fonte: O autor (2023).

**Figura 15:** Análise de variância (ANOVA) da evolução semanal de CO<sub>2</sub> das amostras dos respirômetros analisados do solo 2. Sendo o tratamento controle (C<sub>2</sub>) representada por Col 2; tratamento com aplicação de vinhaça *in natura* (SVI<sub>2</sub>), representada por Col 3 e tratamento com aplicação de vinhaça concentrada (SVC<sub>2</sub>), representado por Col 4.

**One Way Analysis of Variance** sexta-feira, fevereiro 10, 2023, 17:52:25

**Data source:** Data 1 in Biodegradação Semanal (Solo 1)

**Normality Test (Shapiro-Wilk):** Passed (P = 0,491)

**Equal Variance Test (Brown-Forsythe):** Passed (P = 0,111)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
Col 2	17	1	19,309	8,182	2,045
Col 3	17	1	23,833	8,665	2,166
Col 4	17	3	55,749	14,249	3,808

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Groups	2	11540,142	5770,071	52,015	<0,001
Residual	43	4770,035	110,931		
Total	45	16310,177			

The differences in the mean values among the treatment groups are greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference (P = <0,001).

Power of performed test with alpha = 0,050: 1,000

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Duncan's Method) :

Comparisons for factor:

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,050
Col 4 vs. Col 2	36,440	3	13,370	<0,001	Yes
Col 4 vs. Col 3	31,915	2	11,710	<0,001	Yes
Col 3 vs. Col 2	4,524	2	1,718	0,231	No

**Fonte:** O autor (2023).

**Figura 16:** Análise da curva sigmoidal da evolução acumulada de CO<sub>2</sub> dos respirômetros incubados por 120 dias do tratamento controle do solo 2 (C<sub>2</sub>).

**Data Source:** Data 1 in Estatística Respirometria Solo 1 (120 dias) Usina  
**Equation:** Sigmoidal; Sigmoid, 3 Parameter  
 $f = a/(1+\exp(-(x-x_0)/b))$

R	Rsqr	Adj Rsqr	Standard Error of Estimate	
0,9940	0,9880	0,9862	9,8207	
	Coefficient	Std. Error	t	P
a	364,6998	25,9422	14,0582	<0,0001
b	32,9686	3,0313	10,8759	<0,0001
x0	66,2943	5,6539	11,7254	<0,0001

**Analysis of Variance:**

	DF	SS	MS
Regression	3	555142,8060	185047,6020
Residual	13	1253,8004	96,4462
Total	16	556396,6064	34774,7879

Corrected for the mean of the observations:

	DF	SS	MS
Regression	2	103323,5754	51661,7877
Residual	13	1253,8004	96,4462
Total	15	104577,3758	6971,8251

**Statistical Tests:**

**Normality Test (Shapiro-Wilk)** Passed (P = 0,5951)  
 W Statistic= 0,9563 Significance Level = <0,0001

**Constant Variance Test (Spearman Rank Correlation)** Passed (P = 0,4694)

**Fit Equation Description:**

[Variables]  
 x = col(1)  
 y = col(5)  
 reciprocal\_y = 1/abs(y)  
 reciprocal\_ysquare = 1/y^2  
 reciprocal\_x = 1/abs(x)  
 reciprocal\_xsquare = 1/x^2  
 reciprocal\_pred = 1/abs(f)  
 reciprocal\_predsqr = 1/f^2  
 weight\_Cauchy = 1/(1+4\*(y-f)^2)  
 'Automatic Initial Parameter Estimate Functions  
 sup(q) = if(mean(q)>=0; max(q); min(q))  
 b1(q;r) = if(sup(r)>0; xwtr(q;r,5)/4; -xwtr(q;r,5)/4)  
 [Parameters]  
 a = sup(y) "Auto" {{previous: 364,7}}  
 b = if(b1(x;y)=0; 1; b1(x;y)) "Auto" {{previous: 32,9686}}  
 x0 = x50(x;y,5) "Auto" {{previous: 66,2943}}

[Equation]  
 $f = a/(1+\exp(-(x-x_0)/b))$   
 fit f to y  
 "fit f to y with weight reciprocal\_y  
 "fit f to y with weight reciprocal\_ysquare  
 "fit f to y with weight reciprocal\_x  
 "fit f to y with weight reciprocal\_xsquare  
 "fit f to y with weight reciprocal\_pred  
 "fit f to y with weight reciprocal\_predsqr  
 "fit f to y with weight weight\_Cauchy  
 [Constraints]  
 [Options]  
 tolerance=1e-10  
 stepsize=1  
 iterations=200

Number of Iterations Performed = 11

**Fonte:** O autor (2023).

**Figura 17:** Análise da curva sigmoidal da evolução acumulada de CO<sub>2</sub> dos respirômetros incubados por 120 dias do tratamento com aplicação da vinhaça *in natura* no solo 2 (SVI<sub>2</sub>).

**Data Source:** Data 1 in Estatística Respirometria Solo 1 (120 dias) Usina  
**Equation:** Sigmoidal; Sigmoid, 3 Parameter  
 $f = a/(1+\exp(-(x-x_0)/b))$

R	Rsqr	Adj Rsqr	Standard Error of Estimate	
0,9956	0,9913	0,9899	11,9383	
	Coefficient	Std. Error	t	P
a	409,9615	15,9808	25,6533	<0,0001
b	23,5317	1,6828	13,9833	<0,0001
x <sub>0</sub>	59,6194	2,5619	23,2715	<0,0001

**Analysis of Variance:**

	DF	SS	MS
Regression	3	883460,4392	294486,8131
Residual	13	1852,7842	142,5219
Total	16	885313,2234	55332,0765

Corrected for the mean of the observations:

	DF	SS	MS
Regression	2	210404,2792	105202,1396
Residual	13	1852,7842	142,5219
Total	15	212257,0634	14150,4709

**Statistical Tests:**

**Normality Test (Shapiro-Wilk)** Passed (P = 0,5164)  
 W Statistic= 0,9517 Significance Level = <0,0001

**Constant Variance Test (Spearman Rank Correlation)** Passed (P = 0,0317)

**Fit Equation Description:**

[Variables]  
 x = col(1)  
 y = col(6)  
 reciprocal\_y = 1/abs(y)  
 reciprocal\_ysquare = 1/y^2  
 reciprocal\_x = 1/abs(x)  
 reciprocal\_xsquare = 1/x^2  
 reciprocal\_pred = 1/abs(f)  
 reciprocal\_predsqr = 1/f^2  
 weight\_Cauchy = 1/(1+4\*(y-f)^2)  
 'Automatic Initial Parameter Estimate Functions  
 sup(q) = if(mean(q)>=0; max(q); min(q))  
 b1(q;r) = if(sup(r)>0; xwtr(q;r;,5)/4; -xwtr(q;r;,5)/4)  
 [Parameters]  
 a = sup(y) "Auto" {{previous: 409,961}}  
 b = if(b1(x;y)=0; 1; b1(x;y)) "Auto" {{previous: 23,5317}}  
 x<sub>0</sub> = x50(x;y;,5) "Auto" {{previous: 59,6194}}

[Equation]  
 $f = a/(1+\exp(-(x-x_0)/b))$   
 fit f to y  
 "fit f to y with weight reciprocal\_y  
 "fit f to y with weight reciprocal\_ysquare  
 "fit f to y with weight reciprocal\_x  
 "fit f to y with weight reciprocal\_xsquare  
 "fit f to y with weight reciprocal\_pred  
 "fit f to y with weight reciprocal\_predsqr  
 "fit f to y with weight weight\_Cauchy

[Constraints]  
 [Options]  
 tolerance=1e-10  
 stepsize=1  
 iterations=200

Number of Iterations Performed = 9

**Fonte:** O autor (2023).

**Figura 18:** Análise da curva sigmoidal da evolução acumulada de CO<sub>2</sub> dos respirômetros incubados por 120 dias do tratamento com aplicação da vinhaça concentrada no solo 2 (SVC<sub>2</sub>).

**Data Source:** Data 1 in Estatística Respirometria Solo 1 (120 dias) Usina  
**Equation:** Sigmoidal; Sigmoid, 3 Parameter  
 $f = a/(1+\exp(-(x-x_0)/b))$

R	Rsqr	Adj Rsqr	Standard Error of Estimate	
0,9963	0,9925	0,9912	20,9136	
	Coefficient	Std. Error	t	P
a	814,8481	27,9146	29,1908	<0,0001
b	22,5457	1,5827	14,2448	<0,0001
x0	59,6060	2,1356	27,9112	<0,0001

**Analysis of Variance:**

	DF	SS	MS
Regression	3	3517285,4277	1172428,4759
Residual	11	4811,1799	437,3800
Total	14	3522096,6076	251578,3291

Corrected for the mean of the observations:

	DF	SS	MS
Regression	2	639156,6343	319578,3172
Residual	11	4811,1799	437,3800
Total	13	643967,8142	49535,9857

**Statistical Tests:**

**Normality Test (Shapiro-Wilk)** Passed (P = 0,0523)  
W Statistic= 0,8768 Significance Level = <0,0001

**Constant Variance Test (Spearman Rank Correlation)** Passed (P = 0,0560)

**Fit Equation Description:**

[Variables]  
x = col(1)  
y = col(7)  
reciprocal\_y = 1/abs(y)  
reciprocal\_ysquare = 1/y^2  
reciprocal\_x = 1/abs(x)  
reciprocal\_xsquare = 1/x^2  
reciprocal\_pred = 1/abs(f)  
reciprocal\_predsqr = 1/f^2  
weight\_Cauchy = 1/(1+4\*(y-f)^2)  
'Automatic Initial Parameter Estimate Functions  
sup(q) = if(mean(q)>=0; max(q); min(q))  
bl(q;r) = if(sup(r)>0; xwtr(q;r;,5)/4; -xwtr(q;r;,5)/4)  
[Parameters]  
a = sup(y) "Auto" {{previous: 814,848}}  
b = if(bl(x;y)=0; 1; bl(x;y)) "Auto" {{previous: 22,5457}}  
x0 = x50(x;y;,5) "Auto" {{previous: 59,606}}

[Equation]  
 $f = a/(1+\exp(-(x-x_0)/b))$   
fit f to y  
"fit f to y with weight reciprocal\_y  
"fit f to y with weight reciprocal\_ysquare  
"fit f to y with weight reciprocal\_x  
"fit f to y with weight reciprocal\_xsquare  
"fit f to y with weight reciprocal\_pred  
"fit f to y with weight reciprocal\_predsqr  
"fit f to y with weight weight\_Cauchy

[Constraints]

[Options]

tolerance=1e-10

stepsize=1

iterations=200

Number of Iterations Performed = 10

Fonte: O autor (2023).

**Tabela 14:** Volume de HCl titulado para Branco, C<sub>1</sub>, SVI<sub>1</sub> e SVC<sub>1</sub>, em mL e a evolução de CO<sub>2</sub> durante o período de 90 dias de incubação, em mg.

Dias	Tratamento Controle do solo 1 (C <sub>1</sub> )						
	HCl (mL)					CO <sub>2</sub> (mg)	
	Branco	Respirômetro 1	Respirômetro 2	Respirômetro 3	Média	semanal	acumulado
7	17,00	3,20	16,10	17,20	12,20	32,62	32,62
14	17,20	2,30	9,60	10,00	7,30	66,82	99,44
21	18,10	8,30	13,60	14,10	12,00	41,17	140,62
28	15,80	14,10	13,90	14,60	14,20	10,80	151,42
35	17,80	11,80	12,80	14,30	13,00	32,62	184,04
42	17,20	13,00	13,40	14,50	13,60	24,64	208,68
49	17,00	14,20	14,10	5,5	11,30	38,70	247,37
56	16,70	13,50	13,70	10,7	12,60	27,45	274,82
63	17,00	8,20	15,00	15,90	13,00	26,77	301,59
70	17,20	4,70	15,40	16,40	12,20	33,97	335,57
79	16,80	5,40	15,20	15,70	12,10	31,72	367,29
84	17,00	6,10	15,20	16,00	12,40	30,82	398,11
90	16,90	5,40	15,30	16,00	12,20	31,50	429,61
Dias	Tratamento do solo 1 com adição de vinhaça <i>in natura</i> (SVI <sub>1</sub> )						
	HCl (mL)					CO <sub>2</sub> (mg)	
	Branco	Respirômetro 1	Respirômetro 2	Respirômetro 3	Média	semanal	acumulado
7	17,00	10,30	12,50	12,70	11,80	34,87	34,87
14	17,20	9,60	14,60	5,50	9,90	49,27	84,15
21	18,10	9,90	10,90	12,40	11,10	47,47	131,62
28	15,80	12,30	12,40	12,70	12,50	22,50	154,12
35	17,80	11,50	12,60	13,10	12,40	36,45	190,56
42	17,20	11,90	12,50	12,90	12,40	32,40	222,96
49	17,00	13,20	12,40	13,50	13,00	26,77	249,74
56	16,70	15,00	14,20	15,10	14,80	13,05	262,78
63	17,00	15,50	14,80	14,50	14,90	13,95	276,73
70	17,20	14,90	15,20	15,40	15,20	13,72	290,46
79	16,80	14,70	13,80	13,20	13,90	19,57	310,03
84	17,00	15,30	14,60	14,40	14,80	15,07	325,11
90	16,90	14,80	14,50	13,40	14,20	18,00	343,10
Dias	Tratamento do solo 1 com adição de vinhaça concentrada (SVC <sub>1</sub> )						
	HCl (mL)					CO <sub>2</sub> (mg)	
	Branco	Respirômetro 1	Respirômetro 2	Respirômetro 3	Média	semanal	acumulado
7	17,00	-	-	-	-	-	-
14	17,20	-	-	-	-	-	-
21	18,10	3,50	5,00	3,60	4,00	94,94	94,94
28	15,80	4,30	6,20	5,80	5,40	69,97	164,92
35	17,80	2,70	3,80	5,30	3,90	93,59	258,51
42	17,20	3,50	5,00	5,60	4,70	84,71	343,22
49	17,00	3,10	6,40	5,40	5,00	81,22	424,44
56	16,70	2,70	11,90	4,80	6,50	69,07	493,51
63	17,00	11,80	11,80	2,50	8,70	59,02	549,53
70	17,20	7,20	12,90	2,70	7,60	64,80	614,33
79	16,80	7,00	12,30	2,10	7,10	65,25	679,57
84	17,00	5,40	12,30	3,20	7,00	67,72	747,29
90	16,90	8,10	12,10	2,60	7,60	62,77	810,06

**Figura 19:** Análise estatísticas realizada no software Sigmaplot da produção semanal de CO<sub>2</sub> dos respirômetros incubados por 90 dias do tratamento controle solo 1 (C<sub>1</sub>).

**Equation: Polynomial; Linear**  
 $f = y_0 + a * x$

R	Rsqr	Adj Rsqr	Standard Error of Estimate	
0,2796	0,0782	-0,0056	12,5694	

	Coefficient	Std. Error	t	P
y0	39,3427	7,3936	5,3212	0,0002
a	-0,1283	0,1329	-0,9657	0,3549

**Analysis of Variance:**

	DF	SS	MS
Regression	2	14343,9686	7171,9843
Residual	11	1737,8782	157,9889
Total	13	16081,8468	1237,0651

Corrected for the mean of the observations:

	DF	SS	MS
Regression	1	147,3409	147,3409
Residual	11	1737,8782	157,9889
Total	12	1885,2191	157,1016

**Statistical Tests:**

**Normality Test (Shapiro-Wilk)** Passed (P = 0,0713)  
W Statistic= 0,8800 Significance Level = <0,0001

**Constant Variance Test (Spearman Rank Correlation)** Passed (P = 0,0155)

**Fit Equation Description:**  
[Variables]  
x = col(1)  
y = col(2)  
reciprocal\_y = 1/abs(y)  
reciprocal\_ysquare = 1/y^2  
reciprocal\_x = 1/abs(x)  
reciprocal\_xsquare = 1/x^2  
reciprocal\_pred = 1/abs(f)  
reciprocal\_predsqr = 1/f^2  
weight\_Cauchy = 1/(1+4\*(y-f)^2)  
'Automatic Initial Parameter Estimate Functions  
F(q) = ape(x;y;1;0;1)  
[Parameters]  
y0 = F(0)[1] "Auto {{previous: 39,3427}} {{MinRange: -12.3}} {{MaxRange: 36.9}}  
a = F(0)[2] "Auto {{previous: -0,1283}} {{MinRange: -4.5}} {{MaxRange: 1.5}}  
[Equation]  
f = y0+a\*x  
fit f to y

"fit f to y with weight reciprocal\_y  
"fit f to y with weight reciprocal\_ysquare  
"fit f to y with weight reciprocal\_x  
"fit f to y with weight reciprocal\_xsquare  
"fit f to y with weight reciprocal\_pred  
"fit f to y with weight reciprocal\_predsqr  
"fit f to y with weight weight\_Cauchy  
[Constraints]  
[Options]  
tolerance=1e-10  
stepsize=10  
iterations=200

Number of Iterations Performed = 1

Fonte: O autor (2023).

**Figura 20:** Análise estatísticas realizada no software Sigmaplot da produção semanal de CO<sub>2</sub> dos respirômetros incubados por 90 dias do tratamento do solo 1 com adição de vinhaça *in natura* (SVI<sub>1</sub>).

**Equation: Polynomial; Linear**

$$f = y_0 + a * x$$

**R      Rsqr    Adj Rsqr      Standard Error of Estimate**

0,8003   0,6405   0,6078      7,9439

	<b>Coefficient</b>	<b>Std. Error</b>	<b>t</b>	<b>P</b>
y0	44,6321	4,6728	9,5515	<0,0001
a	-0,3717	0,0840	-4,4265	0,0010

**Analysis of Variance:**

	<b>DF</b>	<b>SS</b>	<b>MS</b>
Regression	2	10291,1646	5145,5823
Residual	11	694,1647	63,1059
Total	13	10985,3293	845,0253

Corrected for the mean of the observations:

	<b>DF</b>	<b>SS</b>	<b>MS</b>
Regression	1	1236,4916	1236,4916
Residual	11	694,1647	63,1059
Total	12	1930,6564	160,8880

**Statistical Tests:**

**Normality Test (Shapiro-Wilk)**    Passed (P = 0,3800)  
W Statistic= 0,9336                      Significance Level = <0,0001

**Constant Variance Test (Spearman Rank Correlation)**    Passed (P = 0,1370)

**Fit Equation Description:**

```
[Variables]
x = col(1)
y = col(3)
reciprocal_y = 1/abs(y)
reciprocal_ysquare = 1/y^2
reciprocal_x = 1/abs(x)
reciprocal_xsquare = 1/x^2
reciprocal_pred = 1/abs(f)
reciprocal_predsqr = 1/F^2
weight_Cauchy = 1/(1+4*(y-f)^2)
'Automatic Initial Parameter Estimate Functions
F(q) = ape(x;y;1;0;1)
[Parameters]
y0 = F(0)[1] "Auto {{previous: 44,6321}} {{MinRange: -12.3}} {{MaxRange: 36.9}}
a = F(0)[2] "Auto {{previous: -0,371674}} {{MinRange: -4.5}} {{MaxRange: 1.5}}
[Equation]
f = y0+a*x
fit f to y

"fit f to y with weight reciprocal_y
"fit f to y with weight reciprocal_ysquare
"fit f to y with weight reciprocal_x
"fit f to y with weight reciprocal_xsquare
"fit f to y with weight reciprocal_pred
"fit f to y with weight reciprocal_predsqr
"fit f to y with weight weight_Cauchy
[Constraints]
[Options]
tolerance=1e-10
stepsize=10
iterations=200
```

Number of Iterations Performed = 1

**Fonte:** O autor (2023).



**Figura 21:** Análise estatísticas realizada no software Sigmaplot da produção semanal de CO<sub>2</sub> dos respirômetros incubados por 90 dias do tratamento do solo 1 com adição de vinhaça concentrada (SVC<sub>1</sub>).

**Equation: Polynomial; Linear**

$$f = y_0 + a * x$$

**R      Rsqr    Adj Rsqr      Standard Error of Estimate**

0,7452   0,5553   0,5059      9,1064

**Coefficient   Std. Error      t                  P**

y0      96,9242      7,4682      12,9782      <0,0001  
a      -0,4151      0,1238      -3,3523      0,0085

**Analysis of Variance:**

	DF	SS	MS
Regression	2	60586,2096	30293,1048
Residual	9	746,3346	82,9261
Total	11	61332,5442	5575,6858

Corrected for the mean of the observations:

	DF	SS	MS
Regression	1	931,9184	931,9184
Residual	9	746,3346	82,9261
Total	10	1678,2530	167,8253

**Statistical Tests:**

**Normality Test (Shapiro-Wilk)**    Passed (P = 0,1283)  
W Statistic= 0,8872                  Significance Level = <0,0001

**Constant Variance Test (Spearman Rank Correlation)**    Passed (P = 0,0389)

**Fit Equation Description:**

```
[Variables]
x = col(1)
y = col(4)
reciprocal_y = 1/abs(y)
reciprocal_ysquare = 1/y^2
reciprocal_x = 1/abs(x)
reciprocal_xsquare = 1/x^2
reciprocal_pred = 1/abs(f)
reciprocal_predsqr = 1/f^2
weight_Cauchy = 1/(1+4*(y-f)^2)
'Automatic Initial Parameter Estimate Functions
F(q) = ape(x;y;1;0;1)
[Parameters]
y0 = F(0)[1] "Auto {{previous: 96,9242}} {{MinRange: -12.3}} {{MaxRange: 36.9}}
a = F(0)[2] "Auto {{previous: -0,415082}} {{MinRange: -4.5}} {{MaxRange: 1.5}}
[Equation]
f = y0+a*x
fit f to y

"fit f to y with weight reciprocal_y
"fit f to y with weight reciprocal_ysquare
"fit f to y with weight reciprocal_x
"fit f to y with weight reciprocal_xsquare
"fit f to y with weight reciprocal_pred
"fit f to y with weight reciprocal_predsqr
"fit f to y with weight weight_Cauchy
[Constraints]
[Options]
tolerance=1e-10
stepsize=10
iterations=200
```

Number of Iterations Performed = 1

**Fonte:** O autor (2023).

**Figura 22:** Análise de variância (ANOVA) da evolução semanal de CO<sub>2</sub> das amostras dos respirômetros analisados do solo 1. Sendo o tratamento controle (C<sub>1</sub>) representada por Col 2; tratamento com aplicação de vinhaça *in natura* (SVI<sub>1</sub>), representada por Col 3 e tratamento com aplicação de vinhaça concentrada (SVC<sub>1</sub>), representado por Col 4.

**Normality Test (Shapiro-Wilk):** Passed (P = 0,066)

**Equal Variance Test (Brown-Forsythe):** Passed (P = 0,626)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
Col 2	14	1	33,046	12,534	3,476
Col 3	14	1	26,392	12,684	3,518
Col 4	14	3	73,642	12,955	3,906

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Groups	2	15200,252	7600,126	47,033	<0,001
Residual	34	5494,128	161,592		
Total	36	20694,381			

The differences in the mean values among the treatment groups are greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference (P = <0,001).

Power of performed test with alpha = 0,050: 1,000

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Holm-Sidak method):  
Overall significance level = 0,05

Comparisons for factor:

Comparison	Diff of Means	t	P	P<0,050
Col 4 vs. Col 3	47,250	9,073	<0,001	Yes
Col 4 vs. Col 2	40,596	7,795	<0,001	Yes
Col 2 vs. Col 3	6,655	1,335	0,191	No

**Fonte:** O autor (2023).

**Figura 23:** Análise da curva sigmoidal da evolução acumulada de CO<sub>2</sub> dos respirômetros incubados por 90 dias do tratamento controle do solo 1 (C<sub>1</sub>).

**Equation: Sigmoidal; Sigmoid, 3 Parameter**

$$f = a/(1+\exp(-(x-x_0)/b))$$

R	Rsqr	Adj Rsqr	Standard Error of Estimate	
0,9914	0,9830	0,9796	17,2991	
	Coefficient	Std. Error	t	P
a	505,8590	51,2516	9,8701	<0,0001
b	25,4317	3,4565	7,3577	<0,0001
x0	51,1813	6,3018	8,1217	<0,0001

**Analysis of Variance:**

	DF	SS	MS
Regression	3	946319,8091	315439,9364
Residual	10	2992,6043	299,2604
Total	13	949312,4134	73024,0318

Corrected for the mean of the observations:

	DF	SS	MS
Regression	2	172751,9174	86375,9587
Residual	10	2992,6043	299,2604
Total	12	175744,5217	14645,3768

**Statistical Tests:**

**Normality Test (Shapiro-Wilk)** Passed (P = 0,0668)  
W Statistic= 0,8779 Significance Level = <0,0001

**Constant Variance Test (Spearman Rank Correlation)** Passed (P = 0,6690)

**Fit Equation Description:**

```
[Variables]
x = col(1)
y = col(2)
reciprocal_y = 1/abs(y)
reciprocal_ysquare = 1/y^2
reciprocal_x = 1/abs(x)
reciprocal_xsquare = 1/x^2
reciprocal_pred = 1/abs(f)
reciprocal_predsqr = 1/f^2
weight_Cauchy = 1/(1+4*(y-f)^2)
'Automatic Initial Parameter Estimate Functions
sup(q) = if(mean(q)>=0; max(q); min(q))
b1(q;r) = if(sup(r)>0; xwtr(q;r,5)/4; -xwtr(q;r,5)/4)
[Parameters]
a = sup(y) "Auto {{previous: 505,859}}
b = if(b1(x;y)=0; 1; b1(x;y)) "Auto {{previous: 25,4317}}
x0 = x50(x;y,5) "Auto {{previous: 51,1813}}

[Equation]
f = a/(1+exp(-(x-x0)/b))
fit f to y
"fit f to y with weight reciprocal_y
"fit f to y with weight reciprocal_ysquare
"fit f to y with weight reciprocal_x
"fit f to y with weight reciprocal_xsquare
"fit f to y with weight reciprocal_pred
"fit f to y with weight reciprocal_predsqr
"fit f to y with weight weight_Cauchy
[Constraints]
[Options]
tolerance=1e-10
stepsize=1
iterations=200
```

Number of Iterations Performed = 11

**Fonte:** O autor (2023).

**Figura 24:** Análise da curva sigmoidal da evolução acumulada de CO<sub>2</sub> dos respirômetros incubados por 90 dias do tratamento com aplicação da vinhaça *in natura* no solo 1 (SVI<sub>1</sub>).

**Equation: Sigmoidal; Sigmoid, 3 Parameter**  
 $f = a/(1+\exp(-(x-x_0)/b))$

R	Rsqr	Adj Rsqr	Standard Error of Estimate
0,8877	0,7881	0,7457	55,8478

	Coefficient	Std. Error	t	P
a	404,0168	136,4317	2,9613	0,0143
b	24,1997	12,3610	1,9577	0,0787
x0	47,8994	20,5588	2,3299	0,0421

**Analysis of Variance:**

	DF	SS	MS
Regression	3	666927,0446	222309,0149
Residual	10	31189,7923	3118,9792
Total	13	698116,8369	53701,2951

Corrected for the mean of the observations:

	DF	SS	MS
Regression	2	115988,0436	57994,0218
Residual	10	31189,7923	3118,9792
Total	12	147177,8359	12264,8197

**Statistical Tests:**

**Normality Test (Shapiro-Wilk)** Passed (P = 0,0006)  
 W Statistic = 0,7010 Significance Level = <0,0001

**Constant Variance Test (Spearman Rank Correlation)** Passed (P = 0,0670)

**Fit Equation Description:**

[Variables]  
 x = col(1)  
 y = col(3)  
 reciprocal\_y = 1/abs(y)  
 reciprocal\_ysquare = 1/y^2  
 reciprocal\_x = 1/abs(x)  
 reciprocal\_xsquare = 1/x^2  
 reciprocal\_pred = 1/abs(f)  
 reciprocal\_predsqr = 1/f^2  
 weight\_Cauchy = 1/(1+4\*(y-f)^2)  
 'Automatic Initial Parameter Estimate Functions  
 sup(q) = if(mean(q)>=0; max(q); min(q))  
 bl(q;r) = if(sup(r)>0; xwtr(q;r;,5)/4; -xwtr(q;r;,5)/4)  
 [Parameters]  
 a = sup(y) "Auto" {{previous: 404,017}}  
 b = if(bl(x;y)=0; 1; bl(x;y)) "Auto" {{previous: 24,1997}}  
 x0 = x50(x;y;,5) "Auto" {{previous: 47,8994}}

[Equation]  
 $f = a/(1+\exp(-(x-x_0)/b))$   
 fit f to y  
 "fit f to y with weight reciprocal\_y  
 "fit f to y with weight reciprocal\_ysquare  
 "fit f to y with weight reciprocal\_x  
 "fit f to y with weight reciprocal\_xsquare  
 "fit f to y with weight reciprocal\_pred  
 "fit f to y with weight reciprocal\_predsqr  
 "fit f to y with weight weight\_Cauchy  
 [Constraints]  
 [Options]  
 tolerance=1e-10  
 stepsize=1  
 iterations=200

Number of Iterations Performed = 9

Fonte: O autor (2023).

**Figura 25:** Análise da curva sigmoidal da evolução acumulada de CO<sub>2</sub> dos respirômetros incubados por 90 dias do tratamento com aplicação da vinhaça concentrada no solo 1 (SVC<sub>1</sub>).

**Equation: Sigmoidal; Sigmoid, 3 Parameter**

$$f = a/(1+\exp(-(x-x_0)/b))$$

R	Rsqr	Adj Rsqr	Standard Error of Estimate
0,9945	0,9890	0,9863	27,7143

	Coefficient	Std. Error	t	P
a	870,6294	53,4096	16,3010	<0,0001
b	18,0586	2,0220	8,9312	<0,0001
x0	51,9361	2,9718	17,4766	<0,0001

**Analysis of Variance:**

	DF	SS	MS
Regression	3	2994235,8713	998078,6238
Residual	8	6144,6633	768,0829
Total	11	3000380,5346	272761,8668

Corrected for the mean of the observations:

	DF	SS	MS
Regression	2	554625,3892	277312,6946
Residual	8	6144,6633	768,0829
Total	10	560770,0526	56077,0053

**Statistical Tests:**

**Normality Test (Shapiro-Wilk)** Passed (P = 0,5066)  
W Statistic= 0,9388 Significance Level = <0,0001

**Constant Variance Test (Spearman Rank Correlation)** Passed (P = 0,7755)

**Fit Equation Description:**

```
[Variables]
x = col(1)
y = col(4)
reciprocal_y = 1/abs(y)
reciprocal_ysquare = 1/y^2
reciprocal_x = 1/abs(x)
reciprocal_xsquare = 1/x^2
reciprocal_pred = 1/abs(f)
reciprocal_predsqr = 1/f^2
weight_Cauchy = 1/(1+4*(y-f)^2)
'Automatic Initial Parameter Estimate Functions
sup(q) = if(mean(q)>=0; max(q); min(q))
bl(q;r) = if(sup(r)>0; xwtr(q;r,.5)/4; -xwtr(q;r,.5)/4)
[Parameters]
a = sup(y) "Auto" {{previous: 870,629}}
b = if(bl(x;y)=0; 1; bl(x;y)) "Auto" {{previous: 18,0586}}
x0 = x50(x;y;.5) "Auto" {{previous: 51,9361}}
```

```
[Equation]
f = a/(1+exp(-(x-x0)/b))
fit f to y
"fit f to y with weight reciprocal_y
"fit f to y with weight reciprocal_ysquare
"fit f to y with weight reciprocal_x
"fit f to y with weight reciprocal_xsquare
"fit f to y with weight reciprocal_pred
"fit f to y with weight reciprocal_predsqr
"fit f to y with weight weight_Cauchy
[Constraints]
[Options]
tolerance=1e-10
stepsize=1
iterations=200
```

Number of Iterations Performed = 11

**Fonte:** O autor (2023).

## 7.2 Dados de Ecotoxicidade

**Tabela 15:** Comprimento de raiz e hipocótilo de teste de germinação com *L. sativa* em papel filtro para o controle positivo (CP).

	(CP) I		(CP) II		(CP) III		(CP) IV		(CP) V	
	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO
1	2,7	2,2	5,4	2,8	3,5	2,4	5,5	2,3	4,4	2,0
2	3,2	2,4	5,2	3,3	4,5	2,2	4,6	3,4	4,0	2,8
3	2,6	2,3	3,9	2,5	3,1	2,1	5,1	2,8	2,2	2,3
4	5,2	2,7	5,7	3,6	3,9	2,2	4,7	1,5	3,1	2,6
5	4,2	3,1	4,3	2,4	4,4	2,0	4,2	3,0	3,2	2,7
6	3,3	2,4	4,8	2,7	3,4	2,4	3,9	2,8	2,5	2,4
7	2,8	2,6	4,0	3,1	3,1	2,4	5,3	2,2	4,6	2,9
8	2,4	2,8	3,7	2,3	3,5	2,2	5,1	2,7	3,7	2,5
9	2,9	2,6	3,9	2,6	3,5	2,0	1,7	0,6	0,9	0,3
10	2,1	2,6	4,0	2,6	3,4	2,1	4,3	2,6	3,5	2,8
11	2,7	2,3	2,8	3,2	3,0	2,1	4,7	2,7	3,7	2,7
12	4,4	3,0	4,0	2,5	4,4	2,2	3,9	2,1	3,9	2,8
13	4,0	2,6	4,2	2,7	3,2	2,0	4,6	2,5	3,1	3,5
14	4,9	2,8	3,9	2,5	3,5	2,2	4,1	2,4	3,2	2,9
15	4,2	2,7	3,8	2,9	2,7	1,9	4,2	3,0	3,5	3,0
16	2,1	2,4	4,6	2,3	4,1	2,3	4,8	1,6	3,7	2,7
17	3,1	2,5	4,3	2,2	3,5	2,3	5,2	2,6	3,0	2,6
18	3,0	2,8	4,0	2,6	3,8	2,6	3,8	2,1	3,1	2,4
19	3,3	2,4	3,7	2,5	1,0	0,5	0,0	0,0	3,9	2,7
20	2,6	2,4	3,1	1,8	0,0	0,0	0,0	0,0	3,7	2,8

**Tabela 16:** Comprimento de raiz e hipocótilo de teste de germinação com *L. sativa* em papel filtro para a análise ao longo do tempo para o tratamento controle no tempo inicial (T<sub>1</sub>).

	(T <sub>1</sub> ) I		(T <sub>1</sub> ) II		(T <sub>1</sub> ) III		(T <sub>1</sub> ) IV		(T <sub>1</sub> ) V	
	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO
1	5,3	2,3	4,4	2,2	5,4	2,5	5,9	2,0	4,7	2,1
2	3,0	2,1	4,7	2,4	4,8	2,0	4,2	1,6	4,2	1,6
3	5,3	2,1	4,9	2,1	6,0	2,5	3,6	1,8	3,4	2,7
4	4,4	2,5	5,1	2,9	4,9	2,6	5,1	1,8	4,8	2,0
5	3,5	1,6	5,0	2,8	4,2	1,9	4,2	1,5	6,2	2,4
6	4,0	1,2	3,1	1,8	5,5	2,4	3,3	2,5	4,8	2,2
7	4,8	2,3	5,1	1,5	4,5	3,0	5,8	2,1	4,6	2,0
8	3,7	2,3	4,5	2,0	4,2	2,6	3,8	2,4	4,9	1,7
9	5,6	2,2	3,2	2,8	3,8	2,2	0,9	1,1	3,6	1,7
10	4,8	2,0	5,3	2,2	4,9	2,8	0,4	0,6	5,5	2,5
11	4,9	1,7	5,2	2,4	3,9	2,2	4,5	2,1	3,5	2,8
12	5,1	2,7	4,2	2,3	5,2	2,0	3,6	2,4	4,0	1,8
13	4,5	2,2	5,4	1,4	4,2	2,0	4,9	1,9	5,3	2,2
14	4,8	2,3	5,4	2,8	5,4	1,7	4,5	2,0	4,7	2,3
15	4,5	2,0	4,1	2,0	5,2	2,5	3,0	1,7	5,3	2,3
16	4,7	2,0	4,6	2,6	4,8	2,8	7,2	1,6	4,0	1,1
17	3,2	2,1	3,5	1,9	2,5	2,0	4,2	2,2	4,0	2,0
18	3,9	1,7	4,4	1,2	3,4	1,7	3,8	2,1	3,8	0,7
19	0,0	0,0	5,4	2,1	0,0	0,0	4,9	1,4	0,5	0,0
20	0,0	0,0	5,8	1,6	0,0	0,0	5,1	2,2	0,0	0,0

**Tabela 17:** Comprimento de raiz e hipocótilo de teste de germinação com *L. sativa* em papel filtro para a análise ao longo do tempo para o tratamento com adição de vinhaça *in natura* no tempo inicial de incubação (I<sub>1</sub>).

	(I <sub>1</sub> ) I		(I <sub>1</sub> ) II		(I <sub>1</sub> ) III		(I <sub>1</sub> ) IV		(I <sub>1</sub> ) V	
	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO
1	2,7	1,9	1,9	2,2	3,2	1,8	2,8	0,9	2,6	1,1
2	2,0	1,6	3,6	2,2	3,2	2,0	2,4	0,9	2,5	1,4

3	4,4	1,9	3,4	2,5	2,7	1,6	1,4	1,2	1,8	1,1
4	4,7	2,6	2,8	1,2	3,4	1,6	1,3	0,8	2,2	0,9
5	2,7	2,0	2,3	1,5	2,6	1,8	2,3	0,9	3,4	1,0
6	2,5	1,5	3,0	1,6	3,4	1,6	2,3	1,0	2,5	1,2
7	3,2	2,1	2,3	1,7	4,0	1,9	2,6	1,2	2,2	0,8
8	0,6	1,8	2,8	1,6	1,9	1,6	2,6	1,1	3,2	1,4
9	2,8	1,6	3,2	2,0	3,8	1,5	2,9	1,3	2,6	1,1
10	1,5	1,2	1,8	1,2	3,1	1,8	2,0	1,1	1,3	1,1
11	1,6	1,4	3,0	1,4	2,6	1,5	2,7	0,9	2,6	1,2
12	4,0	2,2	2,4	2,4	2,8	1,7	2,4	1,0	1,1	1,8
13	3,5	1,5	2,0	1,6	2,4	2,0	1,8	0,6	2,1	1,2
14	3,7	1,9	3,0	1,0	3,9	1,8	1,0	0,6	2,2	1,3
15	3,6	2,1	1,5	2,2	3,8	1,8	0,5	0,0	1,2	1,0
16	1,0	1,4	2,5	1,9	2,8	1,8	3,5	0,9	2,1	1,0
17	3,9	2,0	3,1	1,2	3,4	1,1	1,1	1,1	1,8	1,2
18	1,8	1,2	2,8	1,6	2,4	1,7	2,1	1,3	2,4	1,1
19	2,9	1,6	4,2	2,3	0,0	0,0	1,6	0,9	0,7	0,2
20	0,0	0,0	3,1	1,6	0,0	0,0	0,5	1,1	2,0	1,2

**Tabela 18:** Comprimento de raiz e hipocótilo de teste de germinação com *L. sativa* em papel filtro para a análise ao longo do tempo para o tratamento com adição de vinhaça concentrada no tempo inicial de incubação (V<sub>1</sub>).

	(V <sub>1</sub> ) I		(V <sub>1</sub> ) II		(V <sub>1</sub> ) III		(V <sub>1</sub> ) IV		(V <sub>1</sub> ) V	
	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO
1	5,4	2,8	3,0	3,6	4,7	2,9	5,8	2,9	4,7	3,8
2	5,3	2,5	3,2	2,8	4,4	2,8	3,5	3,1	4,7	3,0
3	5,7	3,1	5,5	2,9	3,9	3,3	6,2	3,0	4,9	3,4
4	5,0	2,7	5,4	3,1	4,4	2,2	3,9	3,0	4,1	3,6
5	5,3	2,6	4,2	2,5	3,7	3,4	4,4	2,8	5,2	3,2
6	5,2	2,9	6,1	3,0	3,9	2,6	5,2	3,0	5,4	3,9
7	4,2	2,5	5,0	3,0	5,5	3,4	6,1	3,9	5,1	4,0
8	4,9	3,1	6,3	2,8	5,3	3,4	3,7	2,7	5,2	2,9
9	4,0	3,3	4,8	2,6	4,3	2,0	5,2	3,6	3,6	2,1
10	4,2	2,9	4,7	2,5	5,2	3,5	5,3	4,0	4,9	3,6
11	4,4	2,7	4,5	3,2	3,8	2,6	5,1	3,5	3,0	2,5
12	5,6	2,9	3,6	2,4	4,8	2,9	4,1	3,3	3,5	3,0
13	4,0	2,8	5,2	3,6	5,6	3,4	4,1	3,5	4,5	3,0
14	4,6	2,7	4,4	2,8	5,5	2,4	4,2	3,0	4,2	3,1
15	4,7	3,0	5,6	2,7	5,4	3,1	5,2	2,6	5,0	3,2
16	4,3	3,3	4,0	2,6	3,8	3,0	5,5	3,3	4,5	3,4
17	4,6	2,9	4,5	3,1	4,7	2,3	6,3	3,2	4,2	3,5
18	4,2	3,5	5,1	3,0	1,5	1,0	4,1	2,7	4,0	3,2
19	1,5	0,6	5,0	2,5	1,2	1,0	4,5	2,8	4,5	2,8
20	3,6	3,0	5,4	2,4	0,0	0,0	5,3	3,0	3,9	2,6

**Tabela 19:** Comprimento de raiz e hipocótilo de teste de germinação com *L. sativa* em papel filtro para a análise ao longo do tempo para o tratamento controle no 30º dia de incubação (T<sub>30</sub>).

	(T <sub>30</sub> ) I		(T <sub>30</sub> ) II		(T <sub>30</sub> ) III		(T <sub>30</sub> ) IV		(T <sub>30</sub> ) V	
	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO
1	4,3	2,8	3,4	2,7	4,8	3,0	2,2	1,5	0,7	1,0
2	2,7	2,7	3,2	2,3	4,4	2,7	2,3	1,4	0,9	0,9
3	6,2	2,5	4,0	2,5	3,9	2,5	2,2	1,2	1,1	1,0
4	4,9	2,9	3,1	2,6	3,1	2,8	2,5	1,2	1,2	1,0
5	4,5	2,8	3,0	2,9	3,7	2,7	2,0	1,3	1,1	1,1
6	2,7	1,7	3,7	2,3	3,9	3,1	2,2	1,8	1,8	1,0
7	4,1	2,5	2,5	2,7	4,3	3,3	1,1	1,6	0,7	1,3
8	4,3	2,4	3,0	2,6	2,9	2,3	2,7	1,6	1,6	1,5
9	4,7	2,6	3,6	2,3	4,4	2,5	1,9	1,7	0,8	1,0
10	4,2	2,5	4,8	2,3	4,1	2,7	2,0	1,7	1,0	0,6
11	3,6	2,9	3,3	2,7	3,5	3,0	2,2	0,9	0,9	1,1

12	4,4	2,4	3,9	2,2	5,0	2,9	1,7	1,5	0,7	1,5
13	2,7	1,4	2,6	2,9	3,3	2,5	1,7	1,2	1,5	1,7
14	3,9	2,6	2,9	2,5	3,9	2,9	1,9	1,5	1,2	1,0
15	3,5	2,9	2,9	2,6	3,7	2,7	1,7	1,7	0,7	0,8
16	3,0	1,9	2,3	2,7	6,0	3,0	2,2	1,5	0,9	1,0
17	3,7	2,3	3,6	3,0	4,3	3,0	3,0	1,3	0,9	0,8
18	3,5	2,8	3,0	2,9	3,2	2,9	2,3	1,2	1,2	0,6
19	4,5	1,9	3,3	2,3	4,4	2,5	2,5	1,5	1,0	0,7
20	3,1	3,0	2,4	1,9	0,0	0,0	1,7	1,5	0,0	0,0

**Tabela 20:** Comprimento de raiz e hipocótilo de teste de germinação com *L. sativa* em papel filtro para a análise ao longo do tempo para o tratamento com adição de vinhaça *in natura* em seu 30º dia de incubação (I<sub>30</sub>).

	(I <sub>30</sub> ) I		(I <sub>30</sub> ) II		(I <sub>30</sub> ) III		(I <sub>30</sub> ) IV		(I <sub>30</sub> ) V	
	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO
1	2,5	3,0	5,0	2,7	3,9	3,0	1,7	1,9	1,7	2,3
2	2,7	2,2	3,3	2,8	3,7	2,7	2,6	1,5	4,2	3,0
3	4,5	2,7	3,9	2,4	3,2	3,1	1,7	1,3	3,2	2,6
4	3,2	2,3	3,9	2,2	2,8	2,4	0,5	0,9	2,7	2,4
5	3,3	2,4	3,1	2,5	2,6	2,4	2,5	1,0	3,1	2,3
6	3,4	2,6	3,4	2,1	3,1	2,6	2,0	1,3	3,0	2,5
7	4,3	2,8	3,6	3,0	3,4	2,3	1,2	2,5	2,9	2,3
8	3,0	2,4	3,5	2,6	3,9	2,5	1,1	0,8	2,4	2,6
9	2,2	1,9	3,3	2,2	3,8	2,6	1,3	1,8	2,8	2,4
10	3,2	3,0	2,8	2,7	2,0	2,2	1,5	0,8	2,6	2,3
11	3,6	2,1	5,2	2,5	4,1	2,4	2,7	1,0	2,9	2,7
12	2,5	2,3	3,1	2,4	3,1	2,5	1,7	1,2	3,0	2,8
13	2,0	2,6	2,5	2,2	3,7	2,4	1,0	0,7	3,0	1,8
14	3,5	2,6	3,3	2,4	5,2	2,5	0,8	1,2	2,5	2,2
15	2,1	2,3	2,0	2,1	4,1	2,4	0,9	1,2	1,4	2,0
16	3,9	2,7	2,7	1,9	0,7	0,6	0,8	1,0	4,2	2,5
17	3,0	2,4	4,0	2,5	2,9	1,5	0,9	0,7	1,8	2,5
18	2,3	2,1	3,5	2,5	3,8	2,1	0,7	0,8	3,4	2,5
19	2,8	2,6	4,1	3,0	2,9	1,2	0,8	0,5	3,1	2,7
20	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,6	0,0	0,0

**Tabela 21:** Comprimento de raiz e hipocótilo de teste de germinação com *L. sativa* em papel filtro para a análise ao longo do tempo para o tratamento com adição de vinhaça concentrada no seu 30º dia de incubação (V<sub>30</sub>).

	(V <sub>30</sub> ) I		(V <sub>30</sub> ) II		(V <sub>30</sub> ) III		(V <sub>30</sub> ) IV		(V <sub>30</sub> ) V	
	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO
1	3,5	4,1	4,1	4,0	2,8	1,4	3,5	1,6	3,2	1,6
2	4,6	3,8	4,5	4,2	2,2	1,6	3,1	1,4	3,0	1,2
3	5,4	3,6	3,9	3,6	2,8	0,3	2,3	1,3	3,1	2,0
4	4,7	3,1	3,7	3,8	2,4	1,3	2,2	1,9	3,7	2,0
5	4,5	3,2	4,7	4,2	2,6	1,3	2,8	1,6	3,1	1,7
6	3,4	3,3	3,4	3,5	3,3	1,4	3,6	1,5	3,4	1,6
7	1,5	1,5	5,0	3,5	0,9	1,3	3,2	1,5	2,2	1,1
8	3,7	4,3	4,5	3,8	3,4	1,5	3,1	1,5	3,2	1,3
9	4,0	3,9	3,5	3,5	2,4	1,2	4,0	1,6	3,7	2,0
10	4,1	4,2	1,9	1,2	4,2	1,4	3,6	1,5	4,0	2,2
11	4,0	4,2	5,4	3,4	2,0	1,2	2,9	1,3	3,5	1,7
12	4,6	4,2	4,2	3,5	2,7	1,5	2,8	1,6	2,8	1,8
13	2,5	3,7	4,0	3,4	2,5	1,7	2,9	1,4	3,5	2,1
14	3,8	4,4	4,8	3,9	3,6	1,4	2,8	1,3	2,6	1,5
15	3,7	3,2	3,7	3,2	2,8	1,3	3,4	1,4	3,1	2,1
16	3,1	4,0	4,6	1,6	2,8	1,4	3,6	1,4	2,7	1,6
17	4,4	3,6	2,8	3,0	3,1	1,3	2,9	1,3	4,3	2,1
18	3,0	2,8	0,6	0,3	3,2	1,5	3,1	1,0	3,5	1,7
19	2,1	3,1	2,3	2,1	2,7	2,3	3,1	1,2	3,0	1,8



20	0,0	0,0	4,1	4,0	2,6	1,2	0,0	0,0	0,0	0,0
----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

**Tabela 22:** Comprimento de raiz e hipocótilo de teste de germinação com *L. sativa* em papel filtro para a análise ao longo do tempo para o tratamento controle no 60º dia de incubação (T<sub>60</sub>).

	(T <sub>60</sub> ) I		(T <sub>60</sub> ) II		(T <sub>60</sub> ) III		(T <sub>60</sub> ) IV		(T <sub>60</sub> ) V	
	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO
1	5,0	3,2	0,8	2,4	3,2	2,2	2,9	1,9	3,6	3,2
2	5,8	2,5	1,4	2,7	5,2	2,5	3,4	2,5	3,0	2,2
3	4,0	2,3	4,3	1,8	4,5	3,0	3,7	2,5	4,5	3,1
4	3,6	3,0	3,0	1,9	4,6	2,4	3,0	2,0	2,4	3,1
5	5,3	3,1	2,9	3,7	4,0	2,7	4,5	2,3	3,7	3,6
6	6,4	3,1	2,4	2,4	3,9	2,9	5,7	2,5	2,6	2,8
7	4,2	3,3	2,3	2,9	3,3	2,6	4,0	2,4	3,4	3,2
8	4,2	2,7	1,7	2,4	5,3	3,0	4,8	2,8	1,9	2,4
9	4,2	2,3	3,3	3,1	4,8	2,3	4,5	2,7	4,1	3,3
10	4,7	2,9	1,8	2,6	2,6	3,0	3,7	2,7	3,0	2,2
11	1,9	2,4	2,8	1,9	1,7	3,1	5,9	2,1	5,2	2,9
12	3,0	3,5	5,4	2,0	3,2	3,1	4,2	2,4	5,0	3,7
13	3,5	2,9	2,3	2,0	4,4	2,5	4,1	2,7	2,8	2,9
14	4,5	2,1	3,4	2,1	3,5	2,4	6,1	2,2	5,5	2,3
15	3,7	2,2	4,7	1,7	2,5	1,6	2,8	2,0	4,7	3,3
16	5,0	2,3	2,4	2,5	3,6	2,7	3,6	1,9	3,3	2,7
17	2,5	2,7	1,7	3,3	4,8	2,9	5,2	2,5	4,5	3,1
18	3,1	2,9	1,5	3,2	4,1	3,1	3,9	2,6	2,6	3,3
19	3,0	2,0	2,2	3,0	3,3	2,2	4,3	2,4	2,2	1,7
20	0,0	0,0	1,3	1,1	4,3	2,5	0,0	0,0	4,7	2,1

**Tabela 23:** Comprimento de raiz e hipocótilo de teste de germinação com *L. sativa* em papel filtro para a análise ao longo do tempo para o tratamento com adição de vinhaça *in natura* em seu 60º dia de incubação (I<sub>60</sub>).

	(I <sub>60</sub> ) I		(I <sub>60</sub> ) II		(I <sub>60</sub> ) III		(I <sub>60</sub> ) IV		(I <sub>60</sub> ) V	
	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO
1	5,3	2,9	4,2	3,6	5,1	1,8	4,1	3,0	3,9	3,0
2	4,9	3,4	4,9	3,7	4,9	3,3	1,0	3,0	5,3	1,5
3	4,7	2,1	4,6	3,2	3,4	2,3	3,6	2,6	3,8	3,3
4	4,4	2,6	4,4	3,7	6,7	1,9	4,8	3,2	4,4	3,4
5	1,7	1,9	4,6	2,6	5,5	3,1	4,7	2,7	3,6	3,1
6	3,3	2,3	4,6	3,1	4,0	2,4	3,8	2,5	6,3	2,7
7	4,9	2,8	2,5	4,0	4,1	3,2	4,0	2,8	3,5	3,1
8	4,5	2,4	5,2	3,3	4,0	2,1	4,6	3,2	3,4	3,0
9	6,3	2,9	3,8	2,9	3,9	2,8	1,5	2,7	4,2	2,2
10	3,0	3,3	5,1	3,3	0,8	2,3	3,4	2,1	3,9	3,1
11	4,5	3,4	3,0	3,3	3,6	2,0	3,6	2,9	5,2	1,4
12	3,6	3,4	4,1	3,2	4,3	3,4	3,2	2,0	6,2	3,1
13	4,8	2,7	4,2	3,3	5,9	3,2	1,5	3,5	3,4	2,0
14	6,1	2,8	3,7	3,4	3,4	2,8	4,4	2,4	4,6	3,2
15	3,6	2,3	4,4	1,9	5,5	2,7	4,4	3,2	5,2	2,7
16	3,5	3,2	4,7	3,4	2,8	1,4	5,1	2,9	2,8	2,6
17	5,6	3,0	3,5	3,0	5,1	3,6	3,0	3,1	2,1	3,6
18	3,4	2,1	5,8	2,5	5,1	3,1	4,5	3,6	3,9	3,0
19	4,9	3,0	6,3	2,7	4,0	3,0	4,0	3,3	3,6	3,6
20	6,1	3,1	0,0	0,0	3,9	2,6	4,0	2,3	4,7	3,5

**Tabela 24:** Comprimento de raiz e hipocótilo de teste de germinação com *L. sativa* em papel filtro para a análise ao longo do tempo para o tratamento com adição de vinhaça concentrada no seu 60º dia de incubação (V<sub>60</sub>).

	(V <sub>60</sub> ) I		(V <sub>60</sub> ) II		(V <sub>60</sub> ) III		(V <sub>60</sub> ) IV		(V <sub>60</sub> ) V	
	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO

1	5,0	1,7	3,2	1,8	2,9	2,0	4,0	3,0	4,0	3,0
2	5,6	1,1	2,6	2,5	2,6	2,8	3,9	2,2	4,1	2,2
3	3,5	2,0	3,1	2,0	3,3	2,7	3,5	3,1	5,0	2,5
4	3,9	2,0	3,6	2,9	4,6	2,5	5,5	2,9	3,7	2,5
5	3,6	2,8	2,9	2,4	4,4	1,8	0,7	1,1	5,0	2,0
6	3,2	2,6	3,9	2,5	2,6	2,2	2,8	3,8	4,6	2,3
7	1,9	3,3	5,8	2,1	3,8	2,3	3,8	2,1	4,2	2,0
8	3,6	2,4	3,3	2,4	2,5	3,2	3,6	2,3	5,6	1,9
9	2,3	3,0	4,9	2,5	5,4	2,5	3,6	3,6	4,7	2,5
10	3,7	2,1	3,3	2,4	3,8	2,3	3,5	2,0	4,6	2,2
11	5,6	2,6	3,5	1,4	4,3	2,7	3,3	3,5	3,0	2,0
12	3,4	2,5	3,8	2,1	3,5	2,8	3,9	3,7	2,1	2,4
13	2,3	2,1	3,9	1,0	2,5	3,3	4,2	3,2	2,0	2,6
14	5,0	2,1	4,1	1,8	3,7	2,1	4,8	3,4	5,2	2,5
15	3,8	3,1	2,3	2,0	2,9	2,3	3,6	3,5	6,2	1,8
16	3,9	1,9	3,3	2,2	4,1	2,4	3,5	3,4	5,0	2,0
17	2,8	1,9	3,0	1,9	3,7	2,7	3,1	2,9	4,4	2,7
18	5,3	2,1	2,8	2,0	2,6	2,7	3,7	3,4	4,1	2,8
19	3,6	2,9	2,9	2,1	3,8	2,4	4,3	2,1	2,4	3,0
20	0,0	0,0	0,9	0,4	4,3	2,5	4,4	2,5	3,3	2,8

**Tabela 25:** Comprimento de raiz e hipocótilo de teste de germinação com *L. sativa* em papel filtro para a análise ao longo do tempo para o tratamento controle no 90º dia de incubação (T<sub>90</sub>).

	(T <sub>90</sub> ) I		(T <sub>90</sub> ) II		(T <sub>90</sub> ) III		(T <sub>90</sub> ) IV		(T <sub>90</sub> ) V	
	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO
1	2,5	2,8	3,4	2,5	4,3	2,6	3,3	2,5	2,3	2,3
2	3,2	2,2	1,6	1,9	3,2	2,1	4,3	2,8	2,7	2,0
3	3,3	2,1	2,5	2,4	3,1	2,4	4,3	2,5	3,3	2,1
4	4,0	2,0	1,4	2,2	2,8	2,4	4,0	2,4	2,8	1,9
5	3,0	2,1	3,2	2,3	3,0	2,2	2,9	2,4	3,4	2,1
6	4,3	2,5	1,8	2,7	3,2	2,3	2,7	2,4	4,6	2,2
7	4,0	2,5	2,8	2,6	2,0	2,2	3,7	1,9	2,8	2,6
8	3,0	2,4	4,3	2,7	3,2	1,9	3,2	1,3	3,5	2,0
9	5,7	2,8	2,6	2,0	4,7	2,5	4,3	2,3	2,4	2,4
10	4,2	2,6	2,6	2,6	3,0	1,4	3,5	2,7	5,1	2,3
11	2,9	2,2	5,6	2,6	4,0	2,3	3,8	2,2	4,5	2,5
12	4,8	2,7	3,1	2,5	4,3	2,6	2,1	2,0	3,8	2,2
13	3,8	2,1	4,2	2,4	3,6	2,2	4,1	2,2	3,7	1,8
14	3,2	2,5	3,9	2,2	3,0	1,8	2,9	2,0	3,0	2,4
15	2,6	2,3	2,3	2,1	2,6	1,6	4,0	2,7	3,5	1,9
16	4,2	2,1	2,9	2,8	3,9	1,9	3,5	2,0	2,9	2,5
17	2,9	2,6	4,4	2,3	4,2	1,9	2,5	1,8	3,6	2,1
18	1,6	1,8	3,3	2,1	2,3	2,1	3,8	2,1	2,4	2,2
19	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,8	2,6	3,0	2,2
20	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7	1,0	0,0	0,0

**Tabela 26:** Comprimento de raiz e hipocótilo de teste de germinação com *L. sativa* em papel filtro para a análise ao longo do tempo para o tratamento com adição de vinhaça *in natura* em seu 90º dia de incubação (I<sub>90</sub>).

	(I <sub>90</sub> ) I		(I <sub>90</sub> ) II		(I <sub>90</sub> ) III		(I <sub>90</sub> ) IV		(I <sub>90</sub> ) V	
	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO
1	3,7	2,4	2,2	2,2	4,1	2,7	2,2	2,4	2,5	2,3
2	3,9	2,9	3,2	2,1	2,1	2,6	2,5	3,0	3,4	2,7
3	1,8	2,2	3,7	2,7	3,0	2,5	2,6	2,7	5,1	2,5
4	3,4	2,6	3,5	2,5	3,2	2,3	3,1	3,4	3,6	2,3
5	3,0	2,4	3,4	2,9	3,4	2,1	3,3	2,7	3,5	2,6
6	4,1	2,5	1,8	1,3	2,8	2,9	3,6	2,7	4,0	3,1
7	2,6	2,5	4,1	2,5	3,2	3,3	3,0	3,5	2,9	2,6
8	6,2	2,1	3,5	2,4	4,6	2,5	2,1	2,8	4,4	2,3
9	1,8	2,4	3,4	2,5	3,8	2,7	4,2	2,6	4,3	2,4

10	2,3	2,9	3,7	2,8	2,3	2,6	2,7	2,2	2,7	2,5
11	3,5	2,3	3,8	3,1	3,4	2,2	2,6	2,6	3,2	2,8
12	4,5	3,1	3,1	3,0	2,7	2,0	3,5	2,6	4,2	2,7
13	2,7	2,3	3,1	2,9	3,6	2,5	1,7	2,0	4,1	1,1
14	3,2	2,4	3,1	2,8	3,7	2,4	3,3	2,8	3,5	2,3
15	3,0	2,4	2,6	2,6	2,7	3,0	4,2	3,4	1,9	2,1
16	3,2	2,6	2,8	2,7	1,4	2,9	2,5	2,4	2,6	1,8
17	3,0	2,7	2,7	2,2	4,4	2,4	3,4	3,2	3,0	2,9
18	3,6	1,1	4,2	2,7	3,1	3,0	0,0	0,0	2,5	2,4
19	0,0	0,0	2,0	2,9	0,5	0,6	0,0	0,0	3,7	2,6
20	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	4,4	2,3

**Tabela 27:** Comprimento de raiz e hipocótilo de teste de germinação com *L. sativa* em papel filtro para a análise ao longo do tempo para o tratamento com adição de vinhaça concentrada no seu 90º dia de incubação ( $V_{90}$ ).

	$(V_{90})$ I		$(V_{90})$ II		$(V_{90})$ III		$(V_{90})$ IV		$(V_{90})$ V	
	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO
1	4,2	3,3	3,2	3,8	4,2	3,0	5,4	4,0	3,7	3,1
2	3,7	3,1	3,3	3,1	4,4	3,2	3,9	4,1	3,5	3,4
3	3,0	3,1	3,0	3,7	3,2	2,9	3,2	2,9	2,7	3,2
4	3,6	3,4	2,8	3,3	4,2	3,0	4,6	3,4	4,5	3,0
5	2,2	3,1	4,0	3,0	3,5	3,3	3,6	4,0	2,7	3,2
6	3,2	3,3	4,0	3,5	3,2	2,2	3,9	3,2	5,3	2,9
7	2,1	2,8	3,1	3,3	2,5	2,3	3,0	3,1	4,0	3,1
8	4,6	2,6	3,3	3,3	3,3	3,5	4,9	2,8	4,5	3,9
9	2,3	2,3	3,4	3,1	3,6	3,2	4,4	3,2	2,8	3,2
10	2,8	3,1	3,9	2,5	3,0	3,1	3,2	2,9	3,2	3,3
11	4,4	2,7	3,4	3,2	3,2	3,5	4,4	3,1	4,2	2,8
12	3,3	2,5	3,7	2,3	1,9	2,8	4,8	2,9	3,2	3,3
13	3,5	3,3	3,9	3,1	2,3	3,0	4,9	3,4	3,6	3,1
14	2,3	2,7	3,5	3,2	4,2	2,9	2,5	3,4	2,4	2,5
15	3,1	2,9	1,5	0,8	3,6	3,7	3,5	2,5	2,5	3,0
16	4,8	2,6	3,8	2,4	5,0	2,9	2,9	3,6	4,0	3,4
17	2,4	1,8	3,4	2,9	3,8	3,0	2,7	2,2	4,5	2,8
18	0,0	0,0	2,4	0,8	3,7	2,7	5,1	3,2	3,7	3,6
19	0,0	0,0	0,0	0,0	2,9	2,8	3,9	2,9	2,0	2,7
20	0,0	0,0	0,0	0,0	3,1	2,9	2,5	2,5	3,4	3,1

**Tabela 28:** Comprimento de raiz e hipocótilo de teste de germinação de *L. sativa* em papel filtro no tratamento controle analisado antes do teste de respirometria (C).

	(C) I		(C) II		(C) III		(C) IV		(C) V	
	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO
1	4,5	1,7	3,2	2,2	3,0	2,0	3,9	2,3	1,9	2,3
2	3,9	2,0	2,9	2,0	3,4	1,9	3,6	2,0	2,5	1,8
3	2,6	1,8	3,2	2,0	2,6	1,9	3,3	1,9	3,5	2,0
4	3,4	2,2	2,6	2,3	4,4	1,9	3,3	2,3	2,7	2,7
5	4,5	2,1	3,0	1,9	2,6	2,0	2,8	2,1	2,9	2,5
6	4,1	2,3	1,8	1,8	2,4	1,7	4,0	2,1	2,6	2,1
7	2,1	1,7	3,3	2,0	2,0	1,5	4,7	2,3	2,7	2,0
8	4,2	1,9	3,4	2,2	2,5	1,7	1,7	1,8	2,6	2,3
9	4,0	2,1	2,6	2,0	4,1	1,9	2,5	1,6	1,5	2,3
10	3,0	2,0	4,3	2,2	3,5	1,8	2,5	1,9	2,9	2,2
11	3,2	1,9	3,4	2,5	3,0	1,6	3,1	1,7	3,5	1,9
12	3,0	1,7	2,4	2,0	3,0	1,7	3,0	2,2	1,2	0,4
13	2,9	1,6	0,8	0,9	3,2	2,3	3,1	1,9	3,0	2,1
14	3,4	1,9	2,8	1,6	3,2	1,9	3,5	2,0	3,4	2,3
15	3,4	1,7	3,1	2,1	2,1	2,0	2,9	1,9	2,5	1,9
16	2,6	1,8	2,3	2,4	3,0	2,0	2,9	2,2	1,7	1,9
17	2,8	1,7	3,0	2,2	2,3	1,8	2,7	1,8	1,5	1,3
18	3,3	1,9	3,1	2,4	3,2	1,7	3,7	2,1	3,0	2,2
19	3,3	1,7	1,3	0,9	3,0	2,0	0,9	1,3	2,4	2,0

20	3,1	1,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6	0,3
----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

**Tabela 29:** Comprimento de raiz e hipocótilo de teste de germinação de *L. sativa* em papel filtro no tratamento controle após período de incubação de 120 dias nos respirômetros (CB).

	(CB) I		(CB) II		(CB) III		(CB) IV		(CB) V	
	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO
1	3,5	2,6	2,9	2,5	4,5	3,2	1,6	2,2	2,6	2,4
2	3,3	2,6	4,4	3,4	4,1	3,4	1,8	2,5	4,6	2,6
3	3,1	2,0	3,3	3,2	4,6	2,4	1,9	1,9	3,5	2,7
4	4,5	2,9	3,2	2,8	4,5	3,1	1,7	2,0	2,7	2,5
5	2,8	2,7	0,2	1,4	3,0	2,6	1,9	1,0	4,7	3,0
6	3,8	2,7	3,6	2,2	4,5	2,6	2,2	2,3	3,0	2,3
7	2,7	2,7	3,4	2,6	2,6	2,3	1,9	1,8	2,0	2,3
8	3,3	2,9	3,8	2,4	4,6	2,5	1,9	2,2	4,2	3,0
9	4,3	2,5	4,1	2,8	3,5	2,4	1,8	1,4	3,9	2,4
10	3,3	2,7	3,1	3,1	3,8	2,8	2,9	2,4	3,2	3,6
11	2,9	2,6	3,5	2,9	3,5	3,0	1,8	2,0	2,6	2,7
12	4,1	2,6	3,2	2,5	5,5	2,6	1,4	2,1	4,8	1,4
13	3,2	1,8	3,4	2,0	2,9	2,4	2,2	1,6	2,4	2,1
14	3,2	2,2	2,7	2,8	3,0	2,8	1,9	1,6	4,2	2,5
15	3,1	2,0	2,6	2,2	3,7	3,0	1,7	1,9	3,3	2,9
16	2,2	2,4	4,2	3,2	4,6	3,2	1,9	1,6	2,3	2,5
17	3,3	2,2	3,2	2,9	1,8	2,1	1,6	1,6	3,1	2,1
18	3,0	2,1	3,6	1,9	3,2	2,8	0,3	0,8	3,8	3,0
19	2,8	1,9	0,4	0,0	2,9	2,1	1,9	1,2	3,1	2,5
20	0,0	0,0	0,0	0,0	2,3	1,7	1,4	1,7	0,7	0,4

**Tabela 30:** Comprimento de raiz e hipocótilo de teste de germinação de *L. sativa* em papel filtro no tratamento com aplicação de vinhaça *in natura* após período de 120 dias de incubação nos respirômetros (CI).

	(CI) I		(CI) II		(CI) III		(CI) IV		(CI) V	
	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO
1	3,9	2,0	3,9	2,4	4,5	2,5	2,5	2,2	3,7	3,0
2	4,0	2,1	4,5	2,7	2,5	2,0	3,2	2,3	3,1	2,1
3	3,6	2,3	2,5	2,0	2,7	2,2	2,6	2,7	3,6	2,6
4	3,9	2,4	3,4	2,1	3,7	2,5	2,8	2,4	3,5	2,4
5	3,5	2,6	3,4	2,2	1,7	2,0	4,4	2,3	4,5	2,1
6	2,4	1,4	5,0	1,9	2,0	1,8	2,8	2,3	5,0	2,3
7	2,8	1,9	3,2	2,2	4,0	2,5	1,6	2,2	3,1	2,2
8	3,0	2,7	4,9	2,6	3,5	2,1	2,0	1,4	3,3	1,7
9	2,6	2,4	2,2	2,1	2,3	1,8	2,9	1,9	2,7	2,4
10	2,3	2,3	6,0	2,0	2,6	2,5	2,8	2,0	0,7	0,0
11	2,6	1,9	4,0	2,0	3,8	2,3	4,0	2,7	1,2	0,9
12	4,3	2,4	2,7	2,1	3,2	2,2	3,4	2,5	3,2	2,1
13	3,3	1,9	3,8	2,4	2,7	2,2	3,1	1,9	3,1	1,9
14	3,3	1,9	2,7	2,7	2,3	2,5	2,3	1,8	1,9	1,3
15	1,2	1,6	2,5	2,3	1,6	2,6	2,8	2,0	2,5	2,2
16	2,8	2,3	3,3	1,8	1,5	1,3	3,4	2,2	3,4	2,6
17	2,8	2,0	4,9	2,4	2,7	2,7	2,8	2,6	3,8	1,8
18	4,2	2,5	2,7	1,8	3,9	2,1	3,4	2,4	3,8	1,7
19	1,0	0,3	1,4	1,5	3,5	2,3	2,8	1,8	3,2	2,1
20	0,8	0,0	3,5	2,3	3,4	2,0	2,1	1,9	2,8	2,6

**Tabela 31:** Comprimento de raiz e hipocótilo de teste de germinação de *L. sativa* em papel filtro no tratamento com aplicação de vinhaça concentrada após período de 120 dias de incubação nos respirômetros (CC).

	(CC) I		(CC) II		(CC) III		(CC) IV		(CC) V	
	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO	RAIZ	HIPOCÓTILO

1	2,4	2,6	2,6	2,8	3,0	2,8	1,8	2,8	3,1	2,3
2	2,6	2,6	2,2	2,7	2,4	2,6	3,1	3,2	3,4	3,9
3	2,3	2,6	1,6	2,6	3,3	2,9	2,5	3,1	3,8	3,0
4	2,5	2,8	2,5	2,9	3,1	3,0	3,2	3,1	2,8	3,0
5	3,8	2,6	2,0	2,6	3,1	2,8	2,9	3,0	2,8	2,3
6	2,5	2,6	2,0	2,6	3,7	3,0	2,3	2,8	3,7	3,0
7	1,8	2,5	1,4	1,5	3,3	2,8	2,5	2,7	5,1	3,5
8	2,0	2,2	3,1	2,5	3,0	2,7	3,5	3,7	2,9	3,5
9	3,5	2,9	2,7	2,8	3,4	2,8	3,2	3,4	3,7	3,5
10	2,7	3,0	2,2	2,0	4,2	2,9	2,9	3,1	4,3	2,9
11	3,0	2,7	2,4	3,2	2,7	2,6	3,0	2,8	3,9	3,2
12	2,5	2,5	2,9	2,4	3,0	2,3	2,4	2,6	4,0	2,7
13	1,9	2,4	3,5	2,4	3,3	2,3	2,5	2,9	2,1	3,0
14	2,0	2,4	2,0	2,2	3,0	2,9	3,7	3,6	1,3	1,5
15	1,5	1,9	2,4	2,9	1,7	1,5	3,2	2,6	3,4	3,6
16	2,5	2,5	2,0	2,4	2,8	2,9	1,7	2,7	3,6	2,8
17	2,1	3,0	2,0	2,4	3,0	1,9	2,1	3,1	1,3	2,8
18	1,6	2,8	2,3	2,2	2,4	2,4	1,4	2,0	2,8	2,5
19	2,9	3,3	1,7	1,4	2,0	2,3	0,0	0,0	2,1	2,6
20	1,0	0,3	0,6	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	3,3	3,2