

**UFFRJ**

**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA,  
TECNOLOGIA E INOVAÇÃO EM AGROPECUÁRIA**

**TESE**

**Avaliação Ecotoxicológica do Biossólido Produzido  
na ETE/CEDAE/Ilha do Governador – RJ**

**Cristina Maria Teixeira Soares Carneiro**

**2018**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA, TECNOLOGIA E  
INOVAÇÃO EM AGROPECUÁRIA**

**AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DO BIODISSÍLIDO PRODUZIDO  
NA ETE/CEDAE/ILHA DO GOVERNADOR – RJ**

**CRISTINA MARIA TEIXEIRA SOARES CARNEIRO**

*Sob a Orientação da Professora*

**Maria Elizabeth Fernandes Correia**

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutora**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária, Área de Concentração em Agrobiologia.

Seropédica, RJ  
Fevereiro de 2018

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

C289a

Carneiro, Cristina Maria Teixeira Soares , 1956-  
Avaliação ecotoxicológica do biossólido produzido na  
ETE/CEDAE/Ilha do Governador-RJ / Cristina Maria  
Teixeira Soares Carneiro. - 2018.  
88 f.: il.

Orientadora: Maria Elizabeth Fernandes Correia.  
Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do Rio  
de Janeiro, PPGCTIA Pós Graduação em Ciência  
Tecnologia e Inovação em Agropecuária, 2018.

1. Ecotoxicologia. 2. Biossólido. 3. Toxicidade de  
misturas. I. Correia, Maria Elizabeth Fernandes, 1967  
, orient. II Universidade Federal Rural do Rio de  
Janeiro. PPGCTIA Pós Graduação em Ciência Tecnologia e  
Inovação em Agropecuária III. Título.

É permitida a cópia parcial ou total desta Tese, desde que seja citada a fonte.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO  
EM AGROPECUÁRIA**

**CRISTINA MARIA TEIXEIRA SOARES CARNEIRO**

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutora**, no Curso de Pós-Graduação em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária, área de Concentração em Agrobiologia.

TESE APROVADA EM 23/02/2018

---

Maria Elizabeth Fernandes Correia. Dra. Embrapa Agrobiologia  
(Orientadora)

---

Eloísa dos Santos Benazzi. Dra. Pesquisadora Autônoma.

---

Luiz Fernando Duarte de Moraes. Dr. Embrapa Agrobiologia

---

Ricardo Gonçalves César. Dr. UFRJ.

---

Stefan Scwab. Dr. Embrapa Agrobiologia

## **EPIGRAFE**

*“A verdadeira viagem de descobrimento não consiste em procurar novas paisagens, mas em ver com novos olhos. ”*

(Marcel Proust)

## **DEDICATÓRIA**

**À minha filha Carolina  
Que veio me ensinar  
tudo aquilo que eu ainda precisava aprender,  
DEDICO.**

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a Deus, por me dar a saúde e as condições necessárias para enfrentar mais um desafio na minha vida profissional.

A minha família, principalmente a minha filha e a todos os amigos, por compreenderem a ausência e a falta de tempo.

A minha orientadora, Dra. Maria Elizabeth Fernandes Correia pela confiança, incentivo e paciência em guiar meus passos e me apresentar o universo da fauna do solo.

Ao Professor Paulo Sérgio dos Santos Leles do Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais e Florestais da UFRRJ pela sugestão do bioossólido como objeto de estudo e ao Doutorando Alan Henrique Marques de Abreu, engenheiro da CEDAE por disponibilizar o resíduo e informações valiosas sobre os métodos de obtenção e a qualidade do mesmo.

Ao Roberto Silva de Oliveira, o Robertinho do Laboratório de Fauna do Solo, por todo o suporte com o cultivo e manutenção dos organismos terrestres. À Miriam de Oliveira Bianchi, por ter disposto generosamente de seu tempo para me ensinar tudo sobre os ensaios com invertebrados terrestres, me explicando cada detalhe e esclarecendo todas as dúvidas sobre os procedimentos. Sem ela, este trabalho não seria o mesmo! A Eloísa Benazzi pelo auxílio na elaboração do trabalho escrito, me permitindo seguir sua tese como exemplo para elaboração das fotografias, tabelas, gráficos e figuras que melhor apresentavam os resultados.

A Giselle Teixeira Barros, Selmo Oliveira de Souza e Ednelson Leite do laboratório de Química Agrícola da Embrapa Agrobiologia, pelas análises químicas das amostras de solo e bioossólido.

A Juliana Müller, Adriana Santos do Nascimento e Carlos Fernando da Cunha do laboratório de Leguminosas Florestais da Embrapa pela indicação da espécie, coleta, beneficiamento e testes de viabilidade com as sementes de *Mimosa caesalpiniiifolia*.

Às professoras Denise da Silva Martins e Danielle Frias Ribeiro Bisaggio e ao estagiário Lucas Costa da Rocha do laboratório de Microbiologia do IFRJ, por todo o auxílio nos ensaios microbiológicos.

Às professoras Mônica Regina da Costa Marques e Márcia Marques dos laboratórios de Tecnologia Ambiental e de Biorremediação e Fitotecnologias (LABIFI) da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ) por me permitirem utilizar seus laboratórios e equipamentos para a realização dos ensaios com algas e cladóceros e às pesquisadoras Mariana Silva de Paula e Janaína Lambert Pereirapelo auxílio prestado durante a execução do trabalho.

Ao PPGCTIA, representado atualmente pelo Professor Dr. Mauro Antônio Homem Antunese anteriormente pela professora Dra. Lucia Helena C. Anjos e à Renata, sempre dispostos a nos apoiar e auxiliar quando solicitados. A todos os professores que ministraram disciplinas cursadas por mim neste e em outros programas de pós-graduação, e que tanto contribuíram para meu desenvolvimento profissional.

Aos companheiros do PPGCTIA, por todos os momentos compartilhados e experiênciastrocadas. Em particular à Cláudia Fortes, por se preocupar em preparar almoços e lanches durante as disciplinas, mantendo-nos sempre bem nutridos e à Iranilde de Oliveira Silva, a Eró, pela amizade tão especial.

Muito obrigada!

## BIOGRAFIA

Cristina Maria Teixeira Soares Carneiro, filha de Carlos Augusto Carneiro e Margarida Maria Teixeira Soares Carneiro, nasceu no Rio de Janeiro – RJ em 11 de maio de 1956. Em março de 1976, ingressou no curso de graduação em Ciências Biológicas na Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) concluindo o curso de Bacharelado em Ecologia em dezembro de 1979 e o curso de Licenciatura em Ciências Biológicas em dezembro de 1980. Ingressou no curso de Mestrado em Botânica na UFRJ em março de 1981, obtendo o título de Mestre em Ciências – modalidade Botânica em setembro de 1985 com a dissertação: “Mecanismo Tóxico de *Dieffenbachia picta* (Schott). Trabalhou como bolsista de março de 1986 a março de 1988 no Laboratório de Terapêutica Experimental do Departamento de Farmacologia da UFRJ com plantas tóxicas e medicinais sob a orientação do Prof. Dr. Nuno Alvares Pereira. Em 1984 ingressou, por concurso público, no quadro de docentes do Estado do Rio de Janeiro, ministrando aulas durante onze anos para o Curso Normal do Instituto de Educação e posteriormente em outras Escolas Estaduais até se aposentar em 2009. Em agosto de 1994 ingressou, por concurso público, na antiga Escola Técnica Federal de Química, atualmente Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ) onde ministra disciplinas para o curso técnico em Controle Ambiental e para o curso de pós-graduação *Lactu sensu* em Gestão Ambiental. Em março de 2014 ingressou no Programa de pós-graduação em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária, em nível de doutorado pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).



## RESUMO

CARNEIRO, Cristina Maria Teixeira Soares. **Avaliação ecotoxicológica do biossólido produzido na ETE/CEDAE/Ilha do Governador-RJ**. 2018. 87 f. Tese (Doutorado em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária). Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2018.

Os efluentes de origem doméstica geram como resíduo o lodo e sua produção só tende a aumentar, principalmente em países em desenvolvimento onde há expectativa de incremento no saneamento básico. Este resíduo, quando tratado adequadamente, transforma-se no biossólido e seu uso para fins agrícolas se apresenta como uma prática econômica e ambientalmente apropriada de destinação final. A disposição deste resíduo no solo, entretanto, pode interferir negativamente na biota e impactar organismos aquáticos quando chega aos rios e lagos. Os ensaios ecotoxicológicos se apresentam como uma importante ferramenta para avaliar o uso seguro do biossólido para os organismos vivos. Para isso, foram realizados ensaios envolvendo a microbiota do solo, algas, cladóceros e peixes, além de invertebrados terrestres, comominhocas, colêmbolos e enquitreídeos, em solos naturais (Planossolo e Argissolo), tratados com diferentes concentrações do biossólido produzido na ETE/CEDAE/Ilha do Governador-RJ. A microbiota do solo foi a menos sensível ao uso do resíduo, tanto no crescimento quanto no metabolismo. No ambiente aquático, as algas (*Raphidoceles subcaptada*) apresentaram maior sensibilidade com  $CE_{50}$  de 12,7% e 8,87 %, seguidas por cladóceros (*Daphnia magna*), com  $CE_{50}$  de 32,0% e 17,9% e peixes (*Danio rerio*) com  $CL_{50}$  de 42,7 % e 38,9%, em Planossolo e Argissolo respectivamente. As sementes de alface (*Lactuca sativa*) apresentaram redução de 50% na germinação em concentrações de 36,1% de biossólido em Planossolo e 29,5 % em Argissolo. Nos invertebrados terrestres foram realizados testes de fuga e reprodução. Os resultados dos ensaios de fuga foram:  $CE_{50}$  de 33,8% e 33,5% para colêmbolos e 48,03 % e 33,82% para minhocas em Planossolo e Argissolo. Os organismos da espécie *Folsomia candida* apresentaram-se ligeiramente mais sensíveis do que as minhocas. Nos ensaios de reprodução, a  $CE_{50}$  foi de 20,8% em colêmbolos nos dois tipos de solo e 22,82% e 20,77% nos enquitreídeos em Planossolo e Argissolo. As concentrações que causam danos foram superiores aquelas utilizadas como fertilizante. É necessário, entretanto, atenção em relação à periodicidade do tratamento, ao uso do biossólido como substrato e ao seu armazenamento para evitar que chegue aos recursos hídricos.

**Palavras-chave:** Toxicidade de misturas. Elutriato. Biossólido. Lodo.

## ABSTRACT

CARNEIRO, Cristina Maria Teixeira Soares. **Ecotoxicological evaluation biosolid produced at ETE/CEDAE/Ilha do Governador-RJ**. 2018. 87p. Thesis. (Doctorate in Science, Technology and Innovation in Agriculture). Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2018.

The production of sludge created by domestic residues tends to grow mainly in developing countries, where there is the expectation of an increase in basic sanitation. This residue when treated adequately, that is turned into biosolid and used in agriculture, shows as an economic practice as well as environmentally appropriate manner to final destination. Ecotoxicological essays are an important tool to evaluate the biosolid safety usage by living organisms. Therefore, essays on soil microbiota, algae, cladocerans, fish, and also earthworms, springtails (*Collembola*) and *Enchytraeids* in natural soils (Planosol and Ultisol), treated with different concentrations of biosolid produced at ETE/CEDAE/Ilha do Governador-RJ, were performed. The soil microbiota was the less sensitive to the residue use, in growing and in the metabolism. In aquatic environment, algae (*Raphidoceles subcapitata*) showed higher sensitivity with 12,7% e 8,87% EC<sub>50</sub>, followed by cladocerans (*Daphnia magna*) with 32,0% and 17,9% EC<sub>50</sub> and fish (*Danio rerio*) with 42,7% and 38,9% LC<sub>50</sub>, in a Planosol and Ultisol respectively. Lettuce seeds (*Lactuca sativa*) showed a 50% reduction in germination in 36,1% (in Planosol) and 29,5% (in Ultisol) concentration of biosolid. Escape and reproduction tests on earth invertebrates were performed, escape results showing 33,8% and 33,5% EC<sub>50</sub> for *Collembola* and 48,03% and 33,82% for earthworms, being *Folsomia candida* organisms more sensitive than the earthworms, while reproduction essays showed 20,8% EC<sub>50</sub> in both types of soil for *Collembola* and 22,82% and 20,77% for *Enchytraeids*, in Planosol and Ultisol. Concentrations that cause damage are higher than those used as fertilizer. One should, though, pay attention to the treatment periodicity, the use of biosolid as substrate and its storage, to prevent it from reaching hydric resources.

**Keywords:** Mixtures toxicity. Elutriate. Biosolid. Sludge.

## RESUMEN AMPLIADO

CARNEIRO, Cristina Maria Teixeira Soares. **Evaluación ecotoxicológica del biosólido producido en la ETE/CEDAE/Isla del Governador-RJ**. 2018. 87f. Tesis (Doctorado en Ciencia, Tecnología y Innovación en Agropecuaria). Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2018.

### 1 Introducción

La urbanización y el crecimiento demográfico, aliados a la creciente demanda por bienes de consumo, provocan un aumento en el volumen de efluentes de origen doméstico e industrial. Estos efluentes son tratados en estaciones y generan como residuo el lodo. Actualmente, los principales destinos del residuo son los vertederos, la incineración y la aplicación en la agricultura. La incineración es una práctica muy cara y ambientalmente no deseada debido a los impactos a ella agregados. En los rellenos, el espacio ocupado por el lodo reduce su tiempo de vida útil. El residuo proveniente de estaciones de tratamiento puede transformarse en biosólido y su uso con fines agrícolas se presenta como la práctica más apropiada de destino final. En el Hemisferio Norte, el uso de biosólidos en sistemas agroforestales ya es una realidad desde hace más de cuarenta años y la prohibición de la disposición oceánica de lodos contribuyó para el aumento de su uso como fertilizante.

Aún hoy, en el país, hay controversia en las definiciones de los términos lodo y biosólido. La elección del término no es sólo una cuestión de semântica. El término biosólido pasó a ser utilizado con el objetivo de negar la noción peyorativa implícita en el término lodo, promoviendo así un nuevo concepto, de un residuo que puede ser reutilizado con beneficios económicos y ambientales. En los países desarrollados, el uso de residuos orgánicos como producto fue intenso y sólo recientemente las preocupaciones con los impactos negativos se tornaron prioritarios como temas de investigación. Brasil debería realizar trayectoria inversa, comprometiéndose, en primer lugar, con investigaciones que aseguren el uso seguro tanto para la salud y para la biota antes de ampliar su utilización. La transformación de residuo (lodo) en producto (biosólido) no debe traer sólo ganancias económicas a los sectores involucrados, sino la garantía de que los riesgos de uso son inexpresivos. La disposición del lodo en el suelo interfiere en la biota y, cuando llega a los cuerpos hídricos, provoca alteraciones en las comunidades acuáticas. Así, se hace necesario un estudio que involucre a organismos representantes de ecosistemas terrestres y acuáticos para que se pueda tener claridad sobre los cambios ambientales provocados por el uso agrícola de este residuo.

Los ensayos ecotoxicológicos consisten en someter organismos a diferentes concentraciones de un contaminante o muestra ambiental con el objetivo de verificar aquellas que causan daños, sea letalidad o reducción en sus actividades biológicas y, a partir de estos datos, calcular las concentraciones seguras para uso. Estos ensayos siguen normas de aplicación de la Organización Internacional para la Estandarización (ISO) y la Asociación Brasileña de Normas Técnicas (ABNT), lo que permite la estandarización de la metodología. Los resultados nos permitieron seleccionar los ensayos más adecuados para la evaluación de riesgo ambiental involucrando la disposición y el almacenamiento de este residuo, así como propuestas para que estas técnicas puedan ser ejecutadas con seguridad no sólo para la salud del hombre, sino también asegurando la sostenibilidad de las mismas comunidades bióticas.

## 2 Material y Métodos

### 2.1 Obtención del biosólido y preparación de muestras

El biosólido utilizado en los ensayos es proveniente de la ETE de la Isla del Gobernador-RJ. El biosólido presenta valores referentes a metales pesados y patógenos inferiores aquellos preconizados por el CONAMA 375/2006 siendo caracterizado como clase A. Después de tamizado (malla de 2 mm), fue aplicado al suelo artificial tropical (SAT) o natural en diferentes concentraciones y constituyó el sustrato para las pruebas de toxicidad. El suelo artificial tropical es refrendado por la norma NBR ISO 15537 (ABNT, 2007) está compuesto por 5% de fibra de coco, 22,5% de caolín y 72,5% de arena. Se utilizaron en los ensayos dos tipos de suelo natural: arenoso (Planosuelo) y arcilloso (Arcisuelo), oriundos del Campo Experimental de la Embrapa Agrobiología, en Seropédica - RJ. El suelo utilizado fue retirado de la capa superficial con el objetivo de simular el proceso de fertilización en áreas agrícolas. Planosolo y Argissolo son muy comunes en el estado de Río de Janeiro. Todas las pruebas con organismos acuáticos se realizaron a partir del elutriado, donde los dos tipos de suelo seco con concentraciones crecientes de biosólido se mezclaron con el agua de dilución en la proporción 1: 4 según las indicaciones de la norma NBR15469 (ABNT, 2015).

### 2.2 Ecotoxicología Terrestre

Los ensayos realizados en el Laboratorio de Fauna del Suelo de la Embrapa Agrobiología fueron mantenidos en condiciones específicas de temperatura ( $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ), con simulación de fotoperiodo de 16:8 h (luz: oscuridad), y humedad del material de 60% de la capacidad de campo. El diseño experimental adoptado fue totalmente aleatorizado con cinco repeticiones. Los ensayos de letalidad fueron concomitantes con los ensayos de reproducción para *E. crypticus* e *F.candida*.

#### 2.2.1 Ensayos de fuga

Fueron realizadas las pruebas de fuga con lombrices de la especie *Eisenia andrei*, basados en las normas ISO 17512-1 NBR ISO 17512-1 (ABNT, 2011) y colémbolos de la especie *Folsomia candida*, según las indicaciones de Natal da Luz (2009).

##### a. *Eisenia andrei*

Los adultos de las lombrices se mantuvieron en estiércol bovino curtido hasta producir huevos aislados para eclosión, obteniéndose así juveniles con la misma edad (sincronizados) que sirven como organismos de prueba después de dos meses de edad, cuando están ciliados. En el inicio del ensayo, los recipientes se dividen en dos secciones verticales idénticas con la ayuda de una placa de plástico o metal y se rellenan con suelo hasta la altura de aproximadamente 60 mm. Una de las partes se llena con el suelo de prueba y la otra con el suelo control (sin contaminante). Una vez completadas las secciones, se quita el separador y se colocan 10 lombrices clavados en la línea de separación. Se montan cinco réplicas por concentración. Hay todavía el control donde las dos secciones se llenan con el suelo sin contaminante también llamado de doble test.. Las concentraciones de biosólido utilizadas fueron: 15, 30, 45, 60 y 75%. Los animales no se alimentan durante la prueba que dura 48hs. Después del final de este período, los divisores se insertan de nuevo, y la tierra de cada una de las secciones se retira, contando las lombrices que estaban en cada sección.

### **b. *Folsomia candida***

Los adultos fueron mantenidos en medio sólido de carbón activado y yeso, en la proporción 1: 5. Los huevos fueron retirados y, entre 8 y 10 días, eclosionaron a los juveniles que fueron usados en la prueba entre el 10° y 12° día después del nacimiento (ensayo sincronizado). La prueba sigue el mismo principio del ensayo de fuga con lombrices. Tiene una duración de 48 horas, 50 g de suelo en cada unidad experimental. Las concentraciones del biosólido fueron: 6,25; 12,5; 25; 37,5; 50, además del control, con 5 réplicas por tratamiento y 10 organismos en cada réplica. Al final de la prueba, cada una de las partes del suelo se separa en un recipiente transparente y se añade agua para que los organismos flotan y puedan ser contados.

## **2.2.2 Ensayos de reproducción**

### **a. *Folsomia candida*. NBR ISO 11267 (ABNT, 2011)**

Este ensayo consiste en exponer los juveniles al suelo más con diferentes concentraciones del contaminante, comparando la tasa de reproducción con la del control. Los organismos fueron colocados en 30g de suelo hidratado en frascos con tapa de rosca y mantenidos durante 28 días en la BOD. En cada frasco se colocaron 10 organismos, con edades variando entre 10 y 12 días (ensayo sincronizado). Las concentraciones del contaminante fueron: 6,25; 12,5; 25; 37,5 y 50% con 5 réplicas para cada unidad experimental. Cada semana fueron alimentados con levadura seca granulada y la humedad del suelo fue ajustada. Después de 21 días, el contenido de los frascos fue transferido a un recipiente de plástico transparente, añadiendo agua y tres gotas de tinta azul de sello para facilitar la visualización. Los adultos fueron contados, determinándose la letalidad, y los juveniles fueron fotografiados y contados posteriormente con el programa "Image Toll 3,0".

### **b. *Enchytraeus crypticus*. NBR16387 (ABNT, 2012)**

La evaluación de la inhibición de la reproducción sigue el mismo principio de la realizada con los colémbolos, comparando la reproducción en los diferentes tratamientos con la del control. Los enquitreídeos se mantuvieron en medio de cultivo en placas de Petri en la BOD hasta llegar a ser adultos (clillados). Diez individuos fueron colocados en frascos transparentes con tapa de rosca y 30 g de suelo con concentraciones de contaminante de: 6,25; 12,5; 25; 37,5 y 50% con 5 réplicas por tratamiento y control durante 21 días. La alimentación (harina de avena) fue administrada cada 7 días, cuando la humedad del suelo fue ajustada para mantener la hidratación original. Al final del ensayo, después de verter en cada frasco alcohol 70% hasta cubrir todo el suelo, se añadió colorante rosa de bengala en 1% de etanol (5 gotas). Después de 48 horas, todos los organismos ya estaban coloreados, fueron triados en agua destilada en un tamiz de 1 mm y colocados en placas de Petri, siendo contados con el auxilio de un microscopio estereoscópico.

## **2.2.3 Ensayo de letalidad - *Eisenia andrei*. ISO 15537 (ABNT, 2014)**

El ensayo consiste en la exposición de las lombrices adultas a diferentes concentraciones de contaminantes. La letalidad debe ser registrada en el 7° y en los 14 días, siendo el organismo considerado muerto cuando no responde el estímulo mecánico provocado por una pinza en la parte anterior del cuerpo. Cada unidad experimental contenía 500 g de suelo arenoso o arcilloso con diferentes concentraciones del contaminante: 15; 30; 45; 60 y 75% y 4 réplicas por tratamiento. Los organismos utilizados (10 en cada réplica) fueron adultos que pesa entre 300 y 600 mg no fueron alimentados durante el ensayo.

#### **2.2.4 Ensayo de inhibición de germinación de semillas. NBR ISO 11269 (ABNT, 2014)**

El ensayo fue conducido utilizando dos tipos de semillas: de lechuga (*Lactuca sativa*) y de la leguminosa arbórea *Mimosa caesalpinifolia*, conocida vulgarmente como sabiá o sansón del campo. Se evaluaron los efectos de diferentes concentraciones del biosólido agregado al Arcisuelo y al Planosuelo sobre la germinación de semillas, el tamaño del hipocótilo y la raíz. El delineamiento experimental utilizado fue completamente casualizado y la viabilidad de las semillas evaluada (BRASIL, 1992).

##### **a. *Lactuca sativa***

Las pruebas de germinación con *Lactuca sativa* variedad Regina se realizaron con 5 sub muestras de 20 semillas distribuidas en cajas plásticas del tipo gerbox, midiendo 11x11 cm. En cada caja se añadieron las semillas sobre 150 g de sustrato compuesto de suelo más de diferentes concentraciones (12,5, 25, 37,5, 50, 62,5) de biosólido e hidratados. A continuación, las cajas se colocaron en BOD a 25 ° C ± 2 y fotoperíodo de 12 horas. A los 7 y 10 días se realizó una evaluación del número de plántulas que emergieron, así como los tamaños de hipocótilo y raíz.

##### **b. *Mimosa caesalpinifolia***

En las pruebas de germinación con *Mimosa caesalpinifolia*, antes del inicio del ensayo se realizó la prueba de viabilidad con las semillas (BRASIL, 1992), recolectadas en agosto de 2015 en el área experimental de EMBRAPA. Las semillas fueron tratadas con ácido sulfúrico 95% PA durante 10 minutos para romperse de adormecimiento y luego lavadas en agua corriente. Veinte y cinco semillas fueron distribuidas en cajas plásticas del tipo gerbox, midiendo 11x11 cm con 4 réplicas para cada tratamiento. (12,5, 25, 37,5, 50) de biosólido e hidratados. A continuación, las cajas se colocaron en BOD a 30 ° C ± 2 y fotoperíodo de 12 horas. A los siete y 10 días se realizó una evaluación del número de plántulas que emergieron, así como los tamaños de hipocótilo y raíz.

#### **2.2.5 Evaluación de la densidad microbiana**

Arcisuelo y Planosuelo fueron tratados con dosis de 0, 25, 50 y 75 y 100% del biosólido y 1% de glucosa y, a intervalos de 0, 7, 14 y 21 días se realizaron los recuentos. Cada muestra fue homogenizada en solución salina (0,9%) y se realizaron diluciones seriadas hasta 10<sup>-6</sup> e inoculadas por la técnica de dispersión en superficie (Spread Plate). Los medios de cultivo utilizados fueron: ágar patrón de recuento (PCA) más el anti-fúngico Nistatina para el crecimiento de bacterias y Sabouraud más el antibiótico Amoxicilina para el crecimiento de los hongos. Se utilizaron triplicados para cada dilución, 3 diluciones por tratamiento e incubadas a 28 °C durante 48h (bacterias) y 72 horas (hongos). Después del crecimiento, fueron seleccionadas las placas conteniendo entre 30 y 300 colonias y contadas utilizando el contador de colonias. El número de unidades formadoras de colonias (UFC) de la muestra se calculó utilizando la siguiente fórmula:

**UFC / mL** = número de colonias x factor de dilución x 10 y el resultado se expresó en UFC / g de sustrato / suelo seco.

## 2.2.6 Ensayos respirométricos

El ensayo respirométrico consiste en un sistema de circulación de aire exento de CO<sub>2</sub> impulsado por un compresor, garantizando el paso constante de O<sub>2</sub>. En una de las cámaras (Kitassato) se coloca el suelo control o el suelo con la adición de diferentes concentraciones del contaminante y en la otra (frasco lavador de gases) la solución de Na OH 0,5M absorbente de CO<sub>2</sub>. El gas carbónico desprendido de la actividad microbiana es recogido en esa segunda cámara, conteniendo solución de Na OH de concentración y volúmenes conocido. En intervalos periódicos la solución es removida y el Na OH residual determinado por la titulación con ácido Se retira una alícuota de 5 mL de la solución de Na OH que capturó el gas liberado por los microorganismos del suelo, se añade 1 mL de BaCl<sub>2</sub>, 10 de acuerdo con los resultados obtenidos en el presente estudio, se observó un aumento en la concentración de la sustancia en el suelo. como se ha consumido por reaccionar con el CO<sub>2</sub> producido y, por equivalencia, se calcula la cantidad de CO<sub>2</sub>, La cantidad de CO<sub>2</sub> desprendido se calcula mediante la fórmula :  $\text{mg CO}_2 = (\text{C}-\text{X}) \times \text{M} \times \text{E} \times 10$  siendo: C = Volumen gastado en la titulación del blanco X = Volumen gastado en la titulación del tratamiento M = Concentración del ácido E = Equivalentes de CO<sub>2</sub> (= 22) 10 = corrección del volumen titulado. La diferencia entre el valor de CO<sub>2</sub> desprendido en el control y en los tratamientos indica alteraciones metabólicas provenientes de la aplicación de la sustancia tes en la microbiota del suelo. Se utilizaron las concentraciones de 25, 50, 75 y 100% de biosólido y 1% de glucosa, en triplicada en frascos conteniendo 40 g de suelo.

## 2.3 Ecotoxicología acuática

### a. *Raphidocelis subcapitata*. NBR ISO 12648 (ABNT, 2011)

El ensayo de inhibición de crecimiento algal duró 96 horas, el elaborado fue preparado con medio de cultivo y el inóculo fue utilizado a partir de la cultura en fase exponencial de crecimiento. Las concentraciones de prueba fueron: 6,25; 12,5; 25; 37,5 y 50% de biosólido en el elutriato más el control, con 3 réplicas por unidad experimental. La temperatura se mantuvo en  $25 \pm 2$  °C y la iluminación continua, mayor de 4.500 luxes. Con la ayuda de una pipeta estéril 3 ml del inóculo con biomasa algal =  $40 \times 10^4$  / ml se transfirió a frascos que contenían 27 ml del elutriato, originando una concentración inicial de células en cada recipiente de prueba =  $4 \times 10^4$ . Cálculo de crecimiento algal:  $C = \frac{N_f - N_0}{T}$  donde: N<sub>f</sub> = número final de organismos; N<sub>0</sub> = número inicial de organismos; y T = intervalo de tiempo. Inhibición de crecimiento algal:  $I = \frac{C_c - C_t}{C_c} \times 100$  donde: C<sub>c</sub> = crecimiento en el control; y C<sub>t</sub> = crecimiento en las soluciones de prueba.

### b. *Daphnia magna*. NBR ISO 12713 (ABNT, 2016)

El ensayo se realizó con elutriato utilizando agua mineral, donde los organismos se encontraban cultivados y aclimatados como agua de dilución el período de exposición fue de 48 horas y el efecto observado inmovilidad. Las concentraciones probadas fueron 12,5; 25; 37,5; 50 y 62%, además del control. Se utilizaron cuatro réplicas por tratamiento con 5 organismos en cada una de ellas. La temperatura durante el ensayo se mantuvo en  $20 \pm 2$  °C y fotoperíodo de 12 horas.

### c. *Danio rerio*. NBR ISO 15088 (ABNT, 2016)

El ensayo utilizado fue de 48 horas. Las concentraciones probadas fueron: 12,5; 25; 37,5 50 y 62%% además del control con 1 réplica por tratamiento. En cada unidad experimental se colocaron 10 organismos adultos, con un tamaño que oscilaba entre 10 y 30 mm. La temperatura durante el ensayo fue de  $25 \pm 2$  °C y el fotoperíodo de 12 horas. Los

animales no fueron alimentados durante el ensayo. En el momento de la prueba, se midieron cada 24 horas, temperatura, pH, conductividad, OD (oxígeno), salinidad y turbidez.

## 2.4 Análisis de los datos

Fueron determinados los siguientes parámetros ecotoxicológicos:

**CL<sub>x</sub>** (concentración en que X% de mortalidad)

**-CE<sub>x</sub>** (concentración efectiva en que X% de los organismos presentan un patrón de fuga, reducción de crecimiento o reproducción).

### 2.4.1 Ensayos de fuga

Los resultados fueron analizados por el teste exacto de Fisher (ZAR, 1996) y los porcentuales de fuga permitieron la obtención de las CEs de fuga, a través del procesamiento de los datos en el programa ProProbit 1.63 (SAKUMA, 1998).

### 2.4.2 Ensayos crónicos

Los valores de reproducción, u otra respuesta fisiológica de los organismos, fueron usados para la obtención de las concentraciones efectivas que inhiben tal capacidad. Fue realizado un análisis de variancia (ANOVA) y se siguió para la comparación múltiple, el test de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ), con las herramientas contenidas en el STATISTICA, versión 7.0.

### 2.4.3 Ensayos agudos

La evaluación de los ensayos de letalidad se basó en la obtención de las concentraciones letales (CLs) para los organismos testados a partir de la mortalidad encontrada. Para el ensayo con las plantas, el número de semillas germinadas permitió los cálculos. Fue utilizado el programa PriProbit 1.63 (SAKUMA, 1998) para el análisis de los resultados.

## 3. Resultados y Discusión

### 3.1 Ensayos de fuga

#### a. *Eisenia andrei*

Los resultados de los ensayos de fuga para *Eisenia andrei*, en Arcisuelo y en Planosuelo, revelan que hay concentraciones del residuo que promueven la transferencia de los organismos al suelo control, evitando el contaminante. En el control absoluto (dual test) las lombrices se distribuyeron de forma similar: 48/52 en el suelo arenoso y 46/54 en el suelo arcilloso, obediendo así los criterios para la validación del test. En el suelo arcilloso la CE<sub>10</sub> fue de 22,08% y CE<sub>50</sub> 33,82% y en el arenoso la CE<sub>10</sub> 32,5 y CE<sub>50</sub> 48,03. Los porcentajes de fuga fueron estadísticamente significativos, para los dos suelos, demostrando toxicidad del residuo, ligeramente superior para el suelo arcilloso.

#### b. *Folsomia candida*

En el doble test los colémbolos se distribuyeron de forma semejante: 50/48 en el suelo arenoso y 54/46 en el suelo arcilloso, obediendo así los criterios para validación del test. En el suelo arcilloso la CE<sub>10</sub> obtenida fue del 7,41% y CE<sub>50</sub> 33,87% y en el arenoso la CE<sub>10</sub> 17,88 y CE<sub>50</sub> 33,5 demostrando mayor toxicidad cuando el residuo se añade al Argissole. Los porcentajes de fuga demuestran toxicidad del residuo, ligeramente superior para el suelo arcilloso. *Folsomia candida* presentó mayor sensibilidad al residuo que las lombrices de la especie *Eisenia andrei*.



### **3.2 Ensayos de reproducción**

#### **a. *Folsomia candida***

La mortalidad observada en el control de los suelos naturales y en el SAT no superó el 20% y la reproducción media fue superior a 100 en el SAT, atendiendo así a los criterios protocolados para la validación de los resultados. Algunas concentraciones afectaron la integridad de los organismos provocando letalidad tanto en suelo arenoso como en suelo arcilloso. En los dos tipos de suelo, la concentración más baja (6,25%) provocó incremento en la reproducción, con el número medio de juveniles mayor que el observado en el control, lo que puede ser explicado por el aporte de nutrientes presentes en el biosólido y la concentración relativamente baja de sustancias tóxicas. En esta concentración, sin embargo, ya se observa letalidad de los adultos después de 21 días. En todas las otras concentraciones probadas, en los dos suelos naturales, el residuo promovió inhibición de la reproducción con número medio de juveniles inferior al control. En las concentraciones superiores al 25% en ambos suelos se observó inhibición de la reproducción en valores que corresponden a reducciones > 20% siendo consideradas estadísticamente diferentes del control.

#### **b. *Enchytraeus crypticus***

Sólo en el argisuelo se observó un incremento en la reproducción, en la concentración del 6,25%. En todas las otras concentraciones probadas, el residuo promovió inhibición de la reproducción con número medio de juveniles inferior al control. En las concentraciones superiores a 12,5 en ambos suelos, se observó inhibición de la reproducción en valores que corresponden a reducciones > 20% siendo consideradas estadísticamente diferentes del control.

### **3.3 Ensayo de letalidad**

En los ensayos de toxicidad aguda para evaluar la letalidad, no hubo una mortalidad superior al 10% en los controles de suelos naturales así como en ninguna de las concentraciones evaluadas: 15, 30, 45, 50 y 75% de biosólido durante 14 días.

### **3.4 Ensayo de inhibición de germinación de semillas**

Las semillas de *Lactuca sativa* demostraron mayor sensibilidad en comparación con las semillas de *Mimosa caesalpinifolia* al uso del biosólido en los ensayos de germinación. La primera presenta  $CE_{50}$  de 36,1 para Planosuelo y 29,5 para Arcisuelo y la segunda  $CE_{50}$  de 68,4 para Planosuelo y 71,2 para Arcisuelo.

### **3.5 Evaluación de la densidad microbiana**

No hubo cambios en la densidad de bacterias en ninguna de las dosis evaluadas y en los hongos hubo un incremento en la dosis de 50% de biosólido tanto para el Planosuelo y para el Arcisuelo. Las bacterias y los hongos respondieron positivamente al tratamiento con glucosa, lo que indica la presencia de los organismos en los suelos naturales, así como su capacidad de crecimiento cuando se trata con una sustancia rica en C.

### **3.6 Ensaio respirométricos**

En cuanto al metabolismo microbiano tampoco se observaron cambios estadísticamente significativos en la liberación de  $CO_2$  en las diferentes dosis evaluadas, lo que demuestra poca sensibilidad de los ensayos con microorganismos del suelo a la adición del biosólido.

### 3.7 Ensayo de inhibición de crecimiento algal

Las pruebas en organismos acuáticos demuestran toxicidad decreciente a lo largo de la cadena trófica. En las algas *Raphidoceles subcaptada*, el impacto causado por el lixiviado del suelo, alterando la transparencia del agua, causa impacto mayor que el biosólido, con reducción de inhibición de crecimiento más intensa en el argisuelo, donde la turbidez es mayor. As  $CE_{50}$  fueran de 12,7% para Planosuelo y 8,8% para Arcisuelo.

### 3.8 Ensayo de inmovilidad con *Daphnia magna*

En los ensayos de inmovilidad con cladóceros zooplanctónicos *Daphnia magna* se observó una relación dosis - efecto negativo para el biosólido, con diferencias significativas entre los dos suelos naturales con  $CE_{50}$  de 32% para Planosuelo y 17,9 % para Arcisuelo.

### 3.9 Ensaio de letalidad con *Danio rerio*

Los peces demostraron menor sensibilidad al uso del residuo y a las diferencias entre los suelos con  $CL_{50}$  de 42,7% en suelo arenoso y 38,9% em suelo arcilloso.

## 4. Conclusiones

El biosólido producido en la ETE / CEDAE / Isla del Gobernador-RJ no es inocuo a los organismos evaluados, presentando toxicidad variable, principalmente en los ensayos crónicos.

Los efectos crónicos, aunque no letales, pueden comprometer las funciones de hábitat de los organismos, causando daños, no sólo la especie, sino también el ambiente.

Para la indicación de la concentración máxima de biosólido como fertilizante con seguridad para toda la biota, este estudio propone los valores del 4,69%, para el Arcisuelo y del 4,85% para el Planosuelo, resultando una recomendación de 42,2 y 43,6 t/ha<sup>-1</sup> para Arcisuelo y Planosuelo respectivamente.

Este valor es superior a aquel en que el biosólido se utiliza como fertilizante para la mayoría de los cultivos en el estado de Río de Janeiro y está indicado para este uso.

Como las funciones de retención del residuo en el suelo no fueron contempladas en este estudio, hay necesidad de mayores informaciones sobre la periodicidad del tratamiento.

Los cuidados especiales se deben tomar cuando el biosólido se utiliza como sustrato para áreas de revegetación sin ninguna dilución o cuando se almacena cerca de los ecosistemas acuáticos.

No es posible establecer un estándar para la disposición del residuo en el suelo, ya que se observaron diferencias de toxicidad entre los suelos naturales estudiados. Así, una evaluación ecotoxicológica se indica para cada suelo y residuo utilizado.

Los ensayos sugeridos considerando sensibilidad de los organismos, tiempo, disponibilidad de recursos y generación de residuos son: *Daphnia magna* (inmovilidad), *Lactuca sativa* (germinación de semillas) y *Folsomía candida* (fuga, reproducción y letalidad).

**Palabras clave:** Toxicidad de las mezclas. Biosólido. Ecotoxicología. Lodo.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Características do tratamento do lodo nas cinco ETEs operadas pela CEDAE/RJ. ..5	
<b>Tabela 2.</b> Valores máximos permitidos de metais pesados em lodos destinados à agricultura segundo as legislações brasileira, norte-americana e europeia. (mg/Kg <sup>-1</sup> de peso seco). .....9	9
<b>Tabela 3.</b> Teores de metais pesados (mg kg <sup>-1</sup> ) potencialmente tóxicos analisados em três lotes da ETIG comparados aos permitidos pela Resolução CONAMA n° 375/2006. .... 10	10
<b>Tabela 4.</b> Concentração de microrganismos patogênicos em lodos de esgoto provenientes de três coletas na ETIG..... 11	11
<b>Tabela 5.</b> Caracterização química dos solos naturais Argissolo Vermelho-Amarelo e Planossolo Distrófico na profundidade de 0-20 cm, coletado em Seropédica – RJ. .... 22	22
<b>Tabela 6.</b> Composição granulométrica do solo natural, Argissolo Vermelho-Amarelo e do solo Planossolo Distrófico na profundidade de 0-20 cm, coletado em Seropédica – RJ. ..... 23	23
<b>Tabela 7.</b> Parâmetros físicos e físico-químicos nas diferentes concentrações de biossólido adicionadas a Argissolo e Planossolo. .... 38	38
<b>Tabela 8.</b> Teores de nutrientes (g/kg-1) presentes na amostra do biossólido da ETIG utilizada nos ensaios ecotoxicológicos. .... 39	39
<b>Tabela 9.</b> Teores de metais (em mg/Kg) presentes na amostra do biossólido da ETIG utilizada nos ensaios ecotoxicológicos, comparados aos permitidos pelo CONAMA 375/2006. ..... 40	40
<b>Tabela 10.</b> Teores de coliformes termotolerantes, ovos de helmintos e <i>salmonella sp.</i> , presentes na amostra do biossólido da ETIG utilizada nos ensaios ecotoxicológicos comparados aos permitidos pelo CONAMA 375/2006. .... 41	41
<b>Tabela 11.</b> Concentração efetiva (CE <sub>x</sub> ) do biossólido que provoca inibição de 10% e 50% na germinação de sementes de <i>Lactuca sativa</i> . .... 47	47
<b>Tabela 12.</b> Concentração efetiva (CE <sub>x</sub> ) do biossólido que provoca inibição de 10% e 50% na germinação de sementes de <i>Mimosa caesalpinifolia</i> . .... 49	49
<b>Tabela 13.</b> Parâmetros físico – químicos do elutriato produzido com as diferentes concentrações de biossólido adicionadas a Argissolo e Planossolo. .... 53	53
<b>Tabela 14.</b> Concentração efetiva (CE <sub>x</sub> ) de elutriato que provoca inibição de 10% e 50% no crescimento populacional em algas fitoplânctônicas <i>Raphidocelis subcaptada</i> . .... 55	55
<b>Tabela 15.</b> Concentração efetiva (CE <sub>x</sub> ) de elutriato que provoca imobilidade de 10% e 50% no cladóceros fitoplânctônico <i>Daphnia magna</i> . .... 56	56
<b>Tabela 16.</b> Concentração efetiva (CE <sub>x</sub> ) de elutriato que provoca a letalidade de 10% e 50% peixe <i>Danio rerio</i> . .... 58	58
<b>Tabela 17.</b> Concentrações efetivas (CE <sub>x</sub> ) e letais (CL <sub>x</sub> ) do biossólido que provocam a redução na reprodução e a letalidade de 10% e 50% do colêmbulo <i>F. candida</i> em Planossolo e Argissolo tratados com diferentes doses de biossólido. .... 66	66

<b>Tabela 18.</b> Concentrações efetivas (CE <sub>x</sub> ) e letais (CL <sub>x</sub> ) dos resíduos do biossólido que provocam a letalidade e a redução da reprodução em 10% e 50% do enquitreídeo <i>E. cripticus</i> em Planossolo e Argissolo tratados com diferentes doses de biossólido. ....	68
<b>Tabela 19.</b> Comparação dos efeitos observados para todos os endpoints avaliados. ....	69
<b>Tabela 20.</b> Demanda potencial de biossólido para 8 culturas mais importantes no estado do Rio de Janeiro, segundo referências. ....	70

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Fluxograma da ETE Ilha do Governador (ETIG). .....	4
<b>Figura 2.</b> Localização da ETE da Ilha do Governador, RJ (ETIG). .....	21
<b>Figura 3. A e B</b> - Amostras do elutriato agitadas no Jar Test no Laboratório de Biorremediação e Fitotecnologias (LABIFI-UERJ). .....	24
<b>Figura 4.</b> Montagem do ensaio de inibição de crescimento algal.....	25
<b>Figura 5.</b> Células na câmara de Neubauer para contagem em microscópio óptico. ....	25
<b>Figura 6.</b> Fêmeas da espécie <i>Daphnia magna</i> capazes de gerar descendentes para o ensaio. ....	26
<b>Figura 7.</b> Montagem do experimento de letalidade com <i>Danio rerio</i> . .....	27
<b>Figura 8.</b> Montagem do ensaio de inibição da germinação de sementes de <i>Latuca sativa</i> . ....	28
<b>Figura 9.</b> Montagem do ensaio de inibição da germinação de sementes de <i>Mimosa caesalpiniiifolia</i> . .....	29
<b>Figura 10.</b> Diferença entre os hipocótilos de <i>Mimosa caesalpiniiifolia</i> (esquerda) e <i>Lactuca sativa</i> (direita) após 10 dias de semeadura. ....	29
<b>Figura 11.</b> Montagem do ensaio de fuga com <i>Eisenia andrei</i> . .....	30
<b>Figura 12.</b> Montagem do ensaio de fuga com <i>Folsomia candida</i> . .....	31
<b>Figura 13.</b> Montagem do ensaio de letalidade em <i>Eisenia andrei</i> . .....	32
<b>Figura 14.</b> Montagem do ensaio de reprodução com <i>Folsomia candida</i> . .....	33
<b>Figura 15.</b> Montagem do ensaio de reprodução com <i>Enchytraeus cripticus</i> . .....	34
<b>Figura 16.</b> Montagem do ensaio de Densidade Microbiana. Exemplares de placas utilizadas na contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) de fungos e bactérias. ....	35
<b>Figura 17.</b> Montagem do ensaio respirométrico.....	36
<b>Figura 18.</b> Crescimento de fungos em Planossolo tratado com diferentes doses de biossólido durante 21 dias. ....	42
<b>Figura 19.</b> Crescimento de fungos em Argissolo tratado com diferentes doses de biossólido durante 21 dias. ....	42
<b>Figura 20.</b> Crescimento de bactérias em Planossolo tratado com diferentes doses de biossólido durante 21 dias. ....	43
<b>Figura 21.</b> Crescimento de bactérias em Argissolo tratado com diferentes doses de biossólido durante 21 dias. ....	43
<b>Figura 22.</b> Comparação entre número de UFC de fungos em solo arenoso (Planossolo) e argiloso (Argissolo) no 21º dia da cultura. As diferenças entre os tratamentos para cada tipo de solo foram comparadas pelo teste de Tukey, $p < 0,05$ . ....	44
<b>Figura 23.</b> Comparação entre número de UFC de bactérias em solo arenoso (Planossolo) e argiloso (Argissolo) no 14º dia da cultura. As diferenças entre os tratamentos para cada tipo de solo foram comparadas pelo teste de Tukey, $p < 0,05$ . ....	45

<b>Figura 24.</b> Liberação de CO <sub>2</sub> pela microbiota em diferentes concentrações do bioossólido em Planossolo.....	46
<b>Figura 25.</b> Liberação de CO <sub>2</sub> pela microbiota em diferentes concentrações do bioossólido em Argissolo.....	46
<b>Figura 26.</b> Inibição da germinação de sementes de <i>Lactuca sativa</i> em Planossolo e Argissolo tratados com diferentes doses de bioossólido. Teste de Tukey com diferenças estatisticamente significativas entre as doses de bioossólido para Planossolo e Argissolo, p<0,05.....	47
<b>Figura 27.</b> Inibição da germinação de sementes de <i>Mimosa caesalpiniiifolia</i> em Planossolo e Argissolo tratados com diferentes doses de bioossólido. Teste de Tukey com diferenças estatisticamente significativas entre as doses de bioossólido para Planossolo e Argissolo, p<0,05.....	48
<b>Figura 28.</b> Alongamento da raiz de <i>Lactuca sativa</i> em Planossolo e Argissolo tratados com diferentes doses de bioossólido. Teste de Tukey com diferenças estatisticamente significativas entre as doses de bioossólido em Planossolo e Argissolo, p<0,05.....	50
<b>Figura 29.</b> Crescimento do hipocótilo de <i>Lactuca sativa</i> em Planossolo e Argissolo tratados com diferentes doses de bioossólido. Teste de Tukey com diferenças estatisticamente significativas entre as doses de bioossólido em Planossolo e Argissolo, p<0,05.....	50
<b>Figura 30.</b> Alongamento da raiz de <i>Mimosa caesalpiniiifolia</i> em Planossolo e Argissolo tratados com diferentes doses de bioossólido. Teste de Tukey com diferenças estatisticamente significativas entre as doses de bioossólido em Planossolo e Argissolo, p<0,05.....	51
<b>Figura 31.</b> Tamanho do hipocótilo de <i>Mimosa caesalpiniiifolia</i> em Planossolo e Argissolo tratados com diferentes doses de bioossólido. Teste de Tukey com diferenças estatisticamente significativas entre as doses de bioossólido em Planossolo e Argissolo, p<0,05.....	52
<b>Figura 32.</b> Turbidez no elutriato produzido a partir de Planossolo, Argissolo e bioossólido. ..	54
<b>Figura 33.</b> Crescimento algal de <i>Raphidocelis subcaptada</i> em elutriato de solo com diferentes concentrações de bioossólido. Teste de Tukey com diferenças estatisticamente significativas entre as doses de bioossólido em Planossolo e Argissolo, p<0,05.....	54
<b>Figura 34.</b> Inibição de crescimento algal de <i>Raphidocelis subcaptada</i> em elutriato de solotratado com diferentes concentrações de bioossólido. Teste de Tukey com diferenças estatisticamente significativas entre as doses de bioossólido em Planossolo e Argissolo, p<0,05.....	55
<b>Figura 35.</b> Ensaio de fuga com <i>Eisenia andrei</i> em Argissolo tratado com diferentes doses de bioossólido.....	60
<b>Figura 36.</b> Ensaio de fuga com <i>Eisenia andrei</i> em Planossolo tratado com diferentes doses de bioossólido.....	61
<b>Figura 37.</b> Ensaio de fuga com <i>Folsomia candida</i> em Argissolo tratado com diferentes doses de bioossólido.....	62
<b>Figura 38.</b> Ensaio de fuga com <i>Folsomia candida</i> em Planossolo tratado com diferentes doses de bioossólido.....	63

<b>Figura 39.</b> Reprodução e mortalidade de <i>Folsomia candida</i> , após 21 dias de exposição às diferentes doses do biossólido em planossolo. ....	65
<b>Figura 40.</b> Reprodução e mortalidade de <i>Folsomia candida</i> , após 21 dias de exposição às diferentes doses do biossólido em Argissolo. ....	65
<b>Figura 41.</b> Reprodução e mortalidade de <i>Enchytraeus crypticus</i> , após 21 dias de exposição às diferentes doses do biossólido em Planossolo. ....	67
<b>Figura 42.</b> Reprodução e mortalidade de <i>Enchytraeus crypticus</i> , após 21 dias de exposição às diferentes doses do biossólido em Argissolo. ....	67

## LISTA DE ABREVIACÕES, SIGLAS OU SÍMBOLOS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
BNDES	Banco Nacional de Desenvolvimento
CE	Concentração Efetiva
CEDAE	Companhia Estadual de Águas e Esgotos do Rio de Janeiro
CETESB	Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
CI	Concentração de Inibição
CL	Concentração Letal
CONAMA	Conselho Nacional de Meio Ambiente
CRA	Capacidade de Retenção de Água
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
ETE	Estação de Tratamento de Efluentes
ETIG	Estação de Tratamento da Ilha do Governador, RJ
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i>
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
IFRJ	Instituto Federal de Educação Ciência Tecnologia do R J
MERCOSUL	Mercado Comum do Sul
NBR	Norma Brasileira
OECD	<i>Organisation for Economic Co-operation and Development</i>
pH	Potencial Hidrogeniônico
PNUMA	Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente
SAT	Solo Artificial Tropical
UFRRJ	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
UNESCO	United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization
USEPA	<i>United States Environmental Protection Agency</i>



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	3
2.1 Obtenção e Uso.....	3
2.2 Regulamentação.....	7
2.3 Importância Econômica e Ambiental .....	11
2.4 Toxicidade .....	15
2.5 Avaliação Ecotoxicológica .....	17
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	21
3.1 Obtenção do Biossólido e Preparo de Amostras .....	21
3.2 Solo Artificial Tropical.....	21
3.3 Solo Natural.....	22
3.4 Parâmetros Físicos e Físico-químicos .....	23
3.5 Preparo do Elutriato. NBR ISO 15469 (ABNT, 2015).....	24
3.6 Ensaio de Ecotoxicologia Aquática .....	24
3.6.1 Ensaio de inibição de crescimento algal com <i>Raphidocelis subcapitata</i> , anteriormente denominada <i>Pseudokirchneriella subcaptada</i> . NBR ISO 12648 (ABNT, 2011).....	24
3.6.2 Ensaio de imobilidade com o cladóceros zooplânctônico <i>Daphnia magna</i> . NBR ISO 12713 (ABNT, 2016).....	25
3.6.3 Ensaio de letalidade com peixes nectônicos da espécie <i>Danio rerio</i> . NBR ISO 15088 (ABNT, 2016).....	26
3.7 Ecotoxicologia Terrestre.....	27
3.7.1 Ensaio de inibição de germinação de sementes. NBR ISO 11269 (ABNT, 2014).....	27
a. <i>Lactuca sativa</i> .....	27
b. <i>Mimosa caesalpiniiifolia</i> .....	28
3.7.2 Ensaio de fuga .....	29
a. <i>Eisenia andrei</i> . NBR ISO 1752-1 (ABNT, 2011) .....	29
3.7.4 Ensaio de reprodução.....	32
a. <i>Folsomia candida</i> . NBR ISO 11267 (ABNT, 2011) .....	32
b. <i>Enchytraeus crypticus</i> . NBR16387 (ABNT, 2012).....	33
3.7.5 Avaliação da densidade microbiana .....	34
3.7.6 Ensaio respirométricos.....	35
3.8 Análise dos Dados .....	36

3.8.1 Ensaio de fuga.....	36
3.8.2 Ensaio de reprodução.....	37
3.8.3 Ensaio de letalidade e inibição.....	37
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>38</b>
4.2 Toxicidade na Microbiota.....	41
4.3 Toxicidade em Vegetais.....	47
4.4.1 Parâmetros físicos e físico – químicos.....	52
4.4.2 Ensaio de inibição de crescimento algal com <i>Raphidocelis subcaptada</i> .....	53
4.4.3 Ensaio de imobilidade em <i>Daphnia magna</i> .....	56
4.4.4 Ensaio de letalidade com <i>Danio rerio</i> .....	57
4.5 Toxicidade em Organismos Terrestres.....	59
4.5.2 Ensaio de fuga com <i>Eisenia andrei</i> .....	59
4.5.3 Ensaio de fuga com <i>Folsomia candida</i> .....	62
4.5.4 Ensaio de reprodução com <i>Folsomia candida</i> .....	64
4.5.5 Ensaio de reprodução com <i>Enchytraeus crypticus</i> .....	66
<b>5 CONCLUSÕES.....</b>	<b>71</b>
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>72</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A urbanização e o crescimento demográfico, aliados à crescente demanda por bens de consumo provocam um aumento no volume de efluentes de origem doméstica e industrial. Estes efluentes são tratados em estações e geram como resíduo o lodo. Devido ao grande volume gerado, o destino deste resíduo preocupa órgãos ambientais, legisladores e empresas de tratamento do esgoto. Há uma expectativa do crescimento da produção de lodo, principalmente nos países em desenvolvimento devido ao aumento progressivo da capacidade de tratamento de esgotos urbanos. Atualmente, os principais destinos do resíduo proveniente de estações de tratamento de efluentes são os aterros, a incineração e a aplicação na agricultura. A incineração é uma prática muito cara e ambientalmente indesejada devido aos impactos a ela agregados. Nos aterros, o espaço ocupado pelo lodo reduz seu tempo de vida útil. O resíduo proveniente de estações de tratamento pode ser transformado em bio-sólido e seu uso para fins agrícolas se apresenta como a prática mais apropriada de destinação final.

A utilização de dejetos humanos “in natura” na agricultura é uma prática desde a antiguidade, sendo usada no ocidente desde o século XIX. A partir do século XX, adquiriu caráter científico e, na década de setenta, houve um incremento de pesquisas, gerando maior conhecimento sobre o processo de tratamento de lodos e suas aplicações. No Hemisfério Norte, o uso de bio-sólidos em sistemas agroflorestais já é uma realidade há mais de quarenta anos e a proibição da disposição oceânica de lodos contribuiu para o aumento de seu uso como fertilizante. No Brasil, Bettiol e Carvalho (1982), foram pioneiros na publicação de trabalhos sobre o uso agrícola de lodos.

Ainda hoje há, no país, controvérsia nas definições dos termos lodo e bio-sólido. A escolha do termo não é apenas uma questão de semântica, mas depende da visão e dos conceitos de profissionais da área. O termo bio-sólido passou a ser usado na década de oitenta com o objetivo de negar a noção pejorativa implícita no termo lodo, promovendo assim um novo conceito, de um resíduo que pode ser reutilizado com benefícios econômicos e ambientais. Nos países desenvolvidos, o uso de resíduos orgânicos como produto foi intenso e só recentemente as preocupações com os impactos negativos tornaram-se prioritários como temas de pesquisa. O Brasil, apesar da tendência de seguir o mesmo caminho, deveria realizar trajetória inversa, comprometendo-se, em primeiro lugar, com pesquisas que assegurem o uso seguro tanto para a saúde quanto para a biota antes de ampliar sua utilização. A transformação de resíduo (lodo) em produto (bio-sólido) não deve trazer apenas ganhos econômicos aos setores envolvidos, mas a garantia de que os riscos de uso são inexpressivos. Além da preocupação com a saúde humana, existe também a preocupação ambiental. A disposição do lodo no solo interfere na biota e, quando chega aos corpos hídricos, provoca alterações nas comunidades aquáticas. Assim, torna-se necessário um estudo envolvendo organismos representantes de ecossistemas terrestres e aquáticos para que se possa ter clareza sobre as alterações ambientais provocadas pelo uso agrícola deste resíduo.

Ensaio ecotoxicológicos consistem em submeter organismos a diferentes concentrações de um poluente ou amostra ambiental com o objetivo de verificar aquelas que causam danos, seja letalidade ou redução em suas atividades biológicas e, a partir destes dados, calcular as concentrações seguras para uso. Estes ensaios seguem normas de execução da Organização Internacional para Padronização (ISO) e Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), o que permite a padronização da metodologia. O uso destes ensaios para uma avaliação ambiental apresenta inúmeras vantagens. Permite comparações entre resultados obtidos em diferentes centros de pesquisa e regiões; tem boa aceitação para estabelecer

padrões de lançamento e uso, principalmente para os órgãos ambientais e facilita a fiscalização, garantindo a sustentabilidade do processo.

Com o objetivo de identificar o risco ambiental associado à disposição do biossólido produzido na Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) – Ilha do Governador/RJ (ETIG) no solo assim como o aquele derivado de seu armazenamento foram realizados ensaios ecotoxicológicos agudos e crônicos. Estes ensaios envolveram organismos aquáticos de três níveis tróficos: algas unicelulares (*Raphidocelis subcaptada*), cladóceros (*Daphnia magna*) e peixes (*Danio rerio*); organismos terrestres: anelídeos (*Eisenia andrei* e *Enchytraeus crypticus*), colêmbolos (*Folsomia candida*) e sementes de *Latuca sativa* e *Mimosa caesalpiniiifolia*. Também foram realizados ensaios com a microbiota do solo, avaliando alterações em sua densidade através de cultura e contagem de colônias e em seu metabolismo (através de ensaios respirométricos).

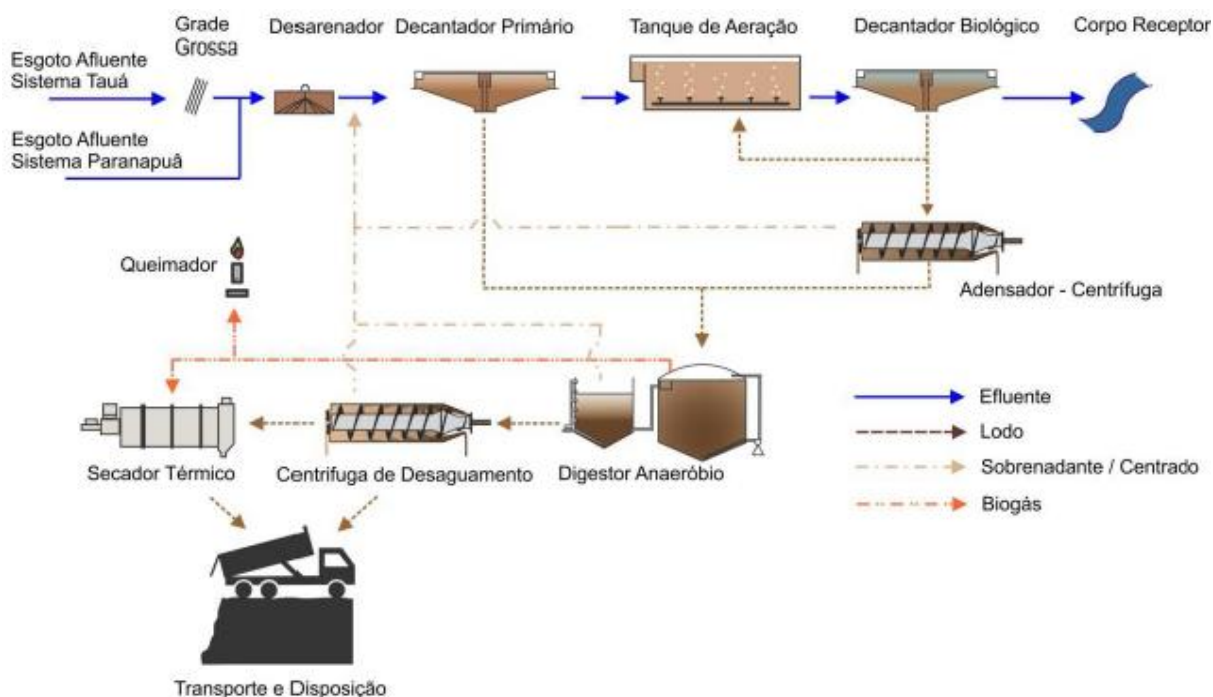
Para avaliar a existência de variação de toxicidade em diferentes tipos de solo foram utilizados dois tipos de solo: Planossolo e Argissolo. Os resultados nos permitiram selecionar os ensaios mais adequados para a avaliação de risco ambiental envolvendo a disposição e o armazenamento deste resíduo, assim como propostas para que estas técnicas possam ser executadas com segurança não só para a saúde do homem, mas também garantindo a sustentabilidade das comunidades bióticas.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Obtenção e Uso

A reciclagem agrícola como disposição final do lodo de esgoto se desenvolveu no início do século XX, porém somente nos anos 1970 houve um incremento nas pesquisas. As lagoas de estabilização são os sistemas de tratamento biológico mais usados no Brasil e geram grande quantidade de resíduo que se acumula nos pátios. De acordo com Norma Brasileira NBR 12.209 (ABNT, 2011), estação de Tratamento de Esgotos (ETE) é constituída por um conjunto de unidades de tratamento, com a finalidade de reduzir as cargas poluidoras do esgoto sanitário para que esse efluente possa ser encaminhado a um corpo receptor minimizando os impactos ambientais. Quaisquer que sejam os processos de tratamento utilizados, uma ETE gera resíduos, cujo destino, segundo a norma, é de responsabilidade da empresa geradora. O termo lododesigna sólidos gerados durante o processo de tratamento de esgotos antes do tratamento adequado à disposição final, e biossólido designa o lodo decorrente do tratamento adequado a uma possível utilização, ressaltando assim os seus aspectos benéficos e valorizando a utilização produtiva em comparação sua disposição final em aterro sanitário (ANDREOLLI, 2006).

O lodo é o subproduto obtido do tratamento de águas residuárias, que são devolvidas aos mananciais, após passarem por Estações de Tratamento de Esgotos (ETE). Nas ETEs, o esgoto é submetido a várias etapas de tratamento. Na primeira, passa por um gradeamento grosseiro que retém o lixo maior, depois é bombeado por uma elevatória onde há um gradeamento mais fino sobrando areia, matéria orgânica e resíduos finos. A areia é retirada do fundo por um raspador, e segue para aterros sanitários junto com o lixo retirado nas duas fases do gradeamento. A segunda etapa é denominada tratamento primário, com o esgoto seguindo para os decantadores primários, onde alguns materiais sedimentam, formando um lodo no fundo dos tanques, e outros, como óleos e gorduras, flutuam. Lâminas raspadeiras separam óleos do lodo sedimentado. O líquido resultante do tratamento primário é coloidal, devido à presença de matéria orgânica, que não sedimenta em processos físicos. Nos tanques de aeração, o material coloidal é transformado em flocos através um processo biológico, mais barato do que o químico. Os microorganismos fazem a digestão da matéria orgânica transformando-a em flocos, para que ela possa sedimentar seguindo para os decantadores secundários, que reduzem em aproximadamente 95% a carga poluidora. Uma parcela do lodo biológico retorna para o tanque de aeração, para alimentar o processo anterior. O lodo secundário entra na centrífuga seguindo para os adensadores, que o tornam mais consistente. Em seguida, é bombeado para os digestores, que, também por um processo biológico utilizando microorganismos anaeróbicos, é transformado em um material mais inerte. O resultado deste processo de digestão é lodo inerte digerido, água e gás metano. Esse lodo é muito aquoso ainda, com mais de 95%. Para ser transformado em matéria pastosa, passa por processo de centrifugação, que reduz sua umidade a 70% (ANDREOLLI, 2001; BIELSCHOWSKY, 2014).



**Figura 1.** Fluxograma da ETE Ilha do Governador (ETIG).

Fonte: BIELSCHOWSKY (2014)

A composição média do lodo é 99,9% de água e 0,1% de sólidos, sendo 70% orgânicos (proteínas, carboidratos, gorduras etc.) e 30% inorgânicos (areia, sais, metais) além de poluentes como metais pesados, compostos orgânicos persistentes e patógenos (ANDREOLLI, 2006; BETTIOL e CAMARGO, 2006). A resolução nº 375 do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA (BRASIL, 2006) regulamenta e define critérios e procedimentos para o uso agrícola de lodos gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados. Após transformações microbianas e devida higienização e estabilização, o lodo de esgoto pode passar a ser designado como biossólido. O termo biossólido refere-se exclusivamente ao lodo resultante do sistema de tratamento biológico de despejos líquidos sanitários, atendendo às condições das normas para utilização segura na agricultura. O lodo que não tenha recebido tratamento adequado para controle de poluentes e patógenos não é considerado biossólido. A prática envolve alguns impactos ambientais negativos potenciais, que demandam controle e cuidados considerando não só o atendimento à legislação quanto ao aspecto sanitário, mas também possíveis alterações nas comunidades bióticas (CETESB, 1999).

Na ETE Ilha (Ilha do Governador/Rio de Janeiro-RJ), o sistema tecnológico de tratamento é o lodo ativado. A estabilização acontece em biodigestores, onde o lodo entra em uma centrífuga, que o torna mais disperso sendo depois reduzido nos leitos de secagem. Após os processos de higienização e estabilização é produzido o biossólido, de acordo com as normas ambientais propostas na resolução 375/2006. O esgoto tratado é derivado de áreas urbanas domiciliares e comerciais, não contendo resíduos industriais. Durante todo o tratamento, um laboratório de controle de bioquímica e bacteriologia monitora a qualidade do efluente. Níveis de pH da água, cloreto, presença de sólidos voláteis e totais, amônia, fósforo etc., são examinados pelos técnicos da Companhia Estadual de Águas e Esgotos do Rio de Janeiro (NOVA-CEDAE). Ao final de cada dia, o laboratório passa a informação online para a estação para certificar que a água está tratada, seguindo as normas estabelecidas pelo Instituto Estadual do Ambiente (INEA-RJ) (BIELSCHOWSKY, 2014).

A secagem térmica é o método de higienização que mais agrega valor ao material final, confirmando a hipótese de que a água interfere negativamente na valoração do lodo (CORRÊA e CORRÊA, 2001). Segundo a legislação americana (USEPA, 1993), os lodos enquadrados na classe A não estão sujeitos a qualquer tipo de restrição para aplicação e comercialização, sendo inclusive, comercializados em supermercados nos EUA, para uso doméstico (SAMPAIO, 2010). Os lodos provenientes das ETEs da CEDAE/RJ além de apresentarem alto potencial nutricional para aproveitamento agrícola e florestal, se enquadram na legislação vigente quanto aos níveis de metais pesados e contaminantes biológicos. É importante salientar que a composição do biossólido varia ligeiramente entre as diferentes ETEs, principalmente em função da bacia de esgotamento, da forma de tratamento e do método de redução de patógenos aplicado. A Companhia Estadual de Águas e Esgotos do Rio de Janeiro (CEDAE/RJ) é responsável por operar e manter os sistemas de esgotamento sanitário da Baía de Guanabara. As cinco estações de tratamento de esgoto (ETEs) do município do Rio de Janeiro (RJ) em operação são: Alegria (5.000 l/s), Penha (1.086 l/s), Ilha do Governador (525 l/s), Pavuna (1.500 l/s) e Sarapuí (1.500 l/s). As principais características dos tratamentos destas ETEs estão descritas na Tabela 1.

**Tabela 1.** Características do tratamento do lodo nas cinco ETEs operadas pela CEDAE/RJ.

ETE	Alegria	Ilha	Penha	Pavuna	Sarapuí
Vazão média L/s	5000	525	1086	1500	1500
Tratamento Primário	Convencional	Convencional	Convencional	Químico	Químico
Tratamento Secundário	Lodos ativados	Lodos ativados	Lodos ativados	Lodos ativados	Lodos ativados
Adensamento lodo primário	Gravidade	Não há	Não há	Não há	Não há
Adensamento lodo secundário	Centrífuga	Centrífuga	Não há	Centríf.	Centríf.
Adensamento lodo misto	Não há	Não há	Gravidade	Não há	Não há
Estabilização do lodo	Biológica (anaeróbica)	Biológica (anaeróbica)	Biológica (anaeróbica)	Química	Química
Desaguamento	Centrífuga	Centrífuga	Centrífuga	Centríf.	Centríf.
Desidratação	Secagem Térmica	Leito de secagem	Não há	Secagem Térmica	Secagem Térmica

Fonte: BIELSCHOWSKY (2014)

Graças ao seu alto teor de matéria orgânica, o biossólido possui grande potencial de melhorar tanto as características químicas como as físicas dos solos, podendo descomplexar elementos tóxicos dos vegetais (como o alumínio), aumentar o pH e a capacidade de troca catiônica (CTC), elevar a porosidade, acumular água e; melhorar a estrutura do solo (COLODRO, 2005; GUEDES et al., 2006; BEZERRA et al., 2006).

Os benefícios de utilização deste resíduo estão relacionados à reciclagem da matéria orgânica e ao aporte de nutrientes melhorando as propriedades físicas, químicas e biológicas do solo assim como a produtividade agrícola. Quando biossólidos são incorporados ao solo há aporte de grande quantidade de micronutrientes que não são incorporados nos processos de fertilização convencional com produtos sintéticos. Pode ainda favorecer a biota do solo, possibilitando a interação entre organismos (GHINI e LEONI, 2005), apresentando grande potencial como fonte de adubação, elevando a disponibilidade de elementos, como nitrogênio

e fósforo, auxiliando o crescimento vegetal. Seu uso, além de ser uma prática sustentável, pode representar uma fonte de economia para o produtor rural, possibilitando redução no custo final do produto (BOVI et al., 2007; SILVA et al., 2008; PAIVA et al., 2009; ABREU, 2014; MTSALI et al., 2014).

Em países como Estados Unidos, Austrália, França, Canadá e Reino Unido, até 80% dos lodos gerados em estações são utilizados para aplicações no solo (MININNI et al., 2015; PRITCHCARD et al., 2010; OUIMET et al., 2015). No Estado do Rio de Janeiro são produzidas aproximadamente 365 toneladas de lodo de esgoto por dia, totalizando 133.225 toneladas anuais, dispostos quase unicamente em aterros sanitários (PERS, 2014). Se levarmos em conta que a população atendida por coleta de esgotos no Estado do Rio de Janeiro é de apenas 39,28% (IBGE, 2010), este número só tende a aumentar. Os elevados teores de nutrientes e matéria orgânica presentes em sua composição poderiam ser reaproveitados, aumentando a produtividade das culturas e diminuindo a dependência de fertilizantes químicos, em sua maioria importados (LOBO et al., 2015; LOZADA et al., 2015).

Em muitos países, o uso deste resíduo para fins agrícolas já é uma realidade há aproximadamente vinte anos com normas preventivas para sua utilização, principalmente contra contaminações decorrentes da existência de metais pesados e de patógenos além da possibilidade de bioacumulação destes metais (BOURIOUG et al., 2015; TIRUNEH et al., 2014; RONG et al., 2014). Biossólidos oriundos do tratamento de esgoto municipal foram utilizados em recuperação de áreas degradadas da floresta tropical atlântica brasileira em nove espécies nativas pioneiras, secundárias e de clímax avaliadas para absorção de metal. Os resultados indicam que os biossólidos podem ser usados na recuperação da floresta tropical atlântica em solos arenosos degradados com pouco impacto de acumulação de metais de solo e nos vegetais (SAMPAIO et al., 2016).

A presença de poluentes orgânicos provenientes de indústrias e de esgotos domésticos, onde podem ser encontrados resíduos de medicamentos, produtos de limpeza, solventes e pesticidas também preocupam. Pesquisas analíticas indicam a presença de centenas de substâncias orgânicas no lodo e sua identificação é dificultada pela complexidade dessa mistura onde há substâncias em quantidades muito pequenas, exigindo técnicas de detecção bastante sensíveis (NASCIMENTO, 2016). Assim, o uso do lodo para fins agrícolas estaria contra-indicado para culturas em que a parte comestível entre em contato direto com o resíduo como, por exemplo, hortaliças, mas poderia ser utilizado em culturas como a cana-de-açúcar e o milho. No Brasil, as alternativas de reuso de lodos e produção de biossólidos não são muito utilizadas e sua destinação final mais comum é o aterro sanitário. Podemos citar como exemplo a destinação do lodo de ETE na região das bacias dos rios Piracicaba, Jundiá e Capivari no estado de São Paulo: 60% aterro sanitário e 19% fertilizante (BIOCICLO, 2011).

O crescimento vegetal sofre influência significativa do substrato e há várias características que devem ser observadas para a escolha do substrato ideal, principalmente, as químicas e físicas, além dos aspectos econômicos, como custo e disponibilidade de material (CALDEIRA et al., 2008; DAVIDE e SILVA, 2008). Substratos com valores de nutrientes relativamente elevados são importantes para o crescimento de espécies florestais que normalmente, apresentarão maior acúmulo nutricional e terão maiores chances de sobrevivência após o plantio no campo. Quando disposto em áreas degradadas, o lodo promove um aumento significativo na capacidade de infiltração e aeração do solo (GONÇALVES et al., 2012; ABREU, 2014; SKOROUA et al., 2006).

A maioria dos projetos de restauração florestal utiliza adubos químicos (RODRIGUES et al., 2009). A legislação estabelece limites para o uso do biossólido, pois sua aplicação pode contaminar o solo e os recursos hídricos pelo excesso de nutrientes, principalmente o nitrogênio e por metais pesados. Assim, a adequação das doses de biossólido é necessária,



para evitar os riscos de contaminação ambiental e garantir efeitos semelhantes àqueles resultantes da aplicação de fertilizantes convencionais (BETTIOL e CAMARGO, 2006; BRASIL, 2006, COSCIONE et al., 2010).

Em trabalho realizado no município de Seropédica-RJ, para avaliar os efeitos de doses crescentes de biossólido no crescimento e nutrição da *Ceiba speciosa* a análise dos perfis de crescimento demonstraram que a velocidade de crescimento médio das plantas foi mais acelerada pelo uso do resíduo. Até a aplicação da dose ideal, apenas efeitos benéficos foram observados, após este valor, o biossólido pode causar fitotoxicidade, provocando declínio nos valores de biomassa de caule e raízes (LIMA FILHO, 2015). Estudos com doses crescentes de biossólido demonstram que a resposta de plantas herbáceas e arbustivas ao uso do fertilizante atinge a fase assintótica da curva a partir do dobro da dose recomendada (CORRÊA et al., 2010). A aplicação de doses crescentes de biossólido demonstra a existência de um ponto ótimo para a aplicação, acima do qual podem ocorrer efeitos negativos ao crescimento vegetal (CORRÊA et al., 2010; CALDEIRA et al., 2012).

O crescimento e a arquitetura do caule e das raízes são afetados pelo substrato e o acréscimo de biossólidos pode causar efeitos benéficos ou deletérios ao crescimento vegetal, dependendo da dose (DECHEN e NACHTIGALL, 2006). Há evidências de que aplicação de doses exageradas não promovem um crescimento proporcional à quantidade empregada, além de aumentarem os riscos de contaminação ambiental. As concentrações de metais pesados e outros poluentes dependem de uma variedade de fatores como: a atividade industrial, o processo gerador do resíduo e o desenvolvimento urbano da área, que abastece a estação de tratamento (OLIVEIRA et al., 2005; BETTIOL e CAMARGO, 2006; COSCIONE et al., 2010; MAIO et al., 2011).

O uso maciço do biossólido como fertilizante é dificultado pela variação em sua composição decorrente das diferentes origens e tipos de tratamento, dos diferentes tipos de lodos produzidos nas estações (primário, secundário, terciário), dos diferentes processos de estabilização, condicionamento e secagem. As características do resíduo também variam em função da relação entre esgoto domiciliar e industrial presente na estação e dos hábitos da população geradora do efluente. As restrições quanto ao tratamento, utilização e disposição do lodo estabelecidas na legislação vigente são determinantes para a definição das tecnologias utilizadas em cada país.

## **2.2 Regulamentação**

A primeira regulamentação para uso de biossólido como fertilizante no Brasil é do órgão ambiental do estado de São Paulo. A norma CETESB P.4.230 de 1999, estabelece que o termo “biossólido” refere-se exclusivamente ao lodo resultante do sistema de tratamento biológico de despejos líquidos sanitários, com características tais que atendam as condições da norma para uma utilização segura na agricultura. Em 2006, surge a resolução CONAMA 375. Nela, o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) considerando que a produção de lodos de esgoto é intrínseca aos processos de tratamento, com crescimento, no mínimo, proporcional ao crescimento da população humana e que a solução para sua disposição se impõe com urgência; que os lodos são uma fonte potencial de riscos à saúde pública e ao ambiente podendo conter metais pesados e patógenos, resolve estabelecer critérios e procedimentos para o uso, em áreas agrícolas, de lodo de esgoto gerado em estação de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados. Esta resolução não se aplica a lodo de estação de tratamento de efluentes de processos industriais e veta a utilização agrícola de: lodo de estação de tratamento de efluentes de instalações hospitalares de portos e aeroportos. É proibida ainda a utilização de qualquer classe de lodo de esgoto ou produto derivado em

pastagens e cultivo de olerícolas, tubérculos e raízes, e culturas inundadas, bem como as demais culturas cuja parte comestível entre em contato com o solo.

Na União Europeia, a Diretiva 86/278/EEC incentiva o uso agrícola do biossólido e regulamenta a amostragem e as análises, estabelecendo limites de metais pesados no resíduo e no solo, de forma a evitar danos ao solo, avegetação, aos animais e ao homem. Em relação à disposição do lodo em aterro sanitário, esta diretiva proíbe a descarga de resíduos líquidos não-tratados nos aterros e impõe a meta de redução de 65% da quantidade de resíduo biodegradável a ser disposto neles até 2020, incluindo o lodo de ETE.

No Brasil, a NBR 12.209 (ABNT, 2011), que apresenta as recomendações para elaboração de projetos de tratamento de esgotos sanitários, não emite qualquer recomendação relacionada à disposição final do lodo. A NBR 10.004/2004 tem como objetivo classificar os resíduos sólidos quanto aos seus riscos potenciais ao meio ambiente e à saúde pública. Essa norma classifica os resíduos em: perigosos e não perigosos e um dos critérios para determinação do resíduo perigoso é a patogenicidade. No entanto, tal norma exclui os resíduos gerados nas estações de tratamento de esgotos domésticos da classificação de perigosos permitindo sua disposição em aterros sanitários de resíduos não perigosos. A Lei nº 11.445 de 2007, que estabelece as diretrizes nacionais para saneamento básico, não trata das questões relacionadas ao gerenciamento dos resíduos de ETE. A Lei nº 12.305 (BRASIL, 2010) que institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos representa um avanço na forma como os resíduos são tratados do ponto de vista de sustentabilidade. Por exemplo, ela diferencia resíduos sólidos de rejeitos, sendo o segundo apenas os resíduos sólidos que, depois de esgotadas todas as possibilidades de tratamento e recuperação, por processos tecnológicos disponíveis e economicamente viáveis, não apresentam outra possibilidade a não ser a disposição final ambientalmente adequada. A primeira refere-se à disposição de rejeitos e resíduos em aterros, enquanto a segunda inclui, além do definido para disposição final ambientalmente adequada, a reutilização, a reciclagem, a compostagem, a recuperação e o aproveitamento energético dos resíduos. Para ambas as definições devem ser observadas as normas operacionais específicas, de modo a se evitar danos ou riscos à saúde pública à segurança e ao meio ambiente. Assim, observa-se que, tanto no Brasil como no mundo, as restrições legais buscam a reutilização e o reaproveitamento dos resíduos, como o lodo e o biogás, porém, a legislação brasileira, diferente da tendência dos países europeus, não impõe barreiras à disposição do lodo oriundo de ETE em aterros sanitários.

A regulamentação para aplicação de lodo proveniente de estações de tratamento de esgotos domésticos em solo agrícola no Brasil (COMAMA, 2006), na Argentina (“Ministério de Desarrollo Social y Medio Ambiente” RES 97, 2001), nos Estados Unidos (USEPA, 1993) e em países membros da União Europeia (DIRETIVA 86/278 EEC) seguem padrões semelhantes.

Segundo o conceito da Agência de Proteção Ambiental dos EUA (USEPA, 1993), o biossólido deve ter uso benéfico como fertilizante e fonte de nutrientes e matéria orgânica para os vegetais e deve passar por tratamento biológico, não apresentando riscos à saúde humana ou ao ambiente. Segundo as normas americanas, no que se refere à avaliação de patógenos, os lodos são classificados como tipo A ou B. Aqueles submetidos a tratamentos, como aquecimento, digestão ou aumento do pH, de forma a reduzir patógenos a níveis não detectáveis (lodo tipo A) podem ser aplicados na agricultura, sem restrição de local, desde que atendam os níveis máximos permitidos para metais. Lodos com carga reduzida de patógenos, que sejam seguros a saúde humana e ao meio ambiente (lodo tipo B), só podem ser aplicados com restrições. Este critério de classificação do lodo tem sido mantido nas resoluções brasileiras.

A resolução CONAMA 357/2006 e a sua ratificação pela resolução CONAMA 380 (BRASIL, 2009) consideram que a aplicação do lodo de esgoto na agricultura enquadra-se

nos princípios de forma ambientalmente adequada de reutilização de resíduos. Em relação à presença de organismos patogênicos, os lodos de esgoto são classificados em classes A e B. Para ser classificado na primeira, deverão apresentar, no momento da disposição no solo, número de coliformes fecais inferior a 1000 NMP g<sup>-1</sup> ST (número mais provável por grama de sólidos totais) e número de *Salmonella sp.* inferior a 3. Para ser classificado como classe B, deverá apresentar número de coliformes fecais inferior a 2.000.000 UFC g<sup>-1</sup> ST (unidade formadora de colônias por grama de sólidos totais) esta resolução determina que, passados cinco anos de sua publicação, o que já ocorreu, não seria permitido o uso do lodo classe B, salvo se fossem determinados novos critérios comprovados por estudos nacionais. Há outras questões que também são reguladas pela CONAMA 357/2006, como a periodicidade das amostragens e análises do lodo, a concentração máxima permitida de metais pesados para uso agrícola, os locais onde é permitida a utilização do lodo como fertilizante e como deve ser realizado o transporte e estocagem do lodo.

Quanto à concentração máxima de metais presentes no lodo para uso agrícola, a legislação norte-americana opta pela avaliação do acúmulo controlado de metais no solo, enquanto a diretiva europeia opta pelo ‘impacto zero’, ou seja, a quantidade de elementos traço adicionada ao solo deve ser igual àquela absorvida pelos vegetais e perdida pela erosão. No Brasil, a resolução CONAMA 375/2006 segue a mesma filosofia da legislação norte americana e estabelece limites muito semelhantes para a presença de metais em lodos para uso agrícola. É necessário, entretanto, estabelecer para as condições de cultivo de solos brasileiros, a carga máxima acumulativa que pode ser aplicada sem contaminar o solo e a produção agrícola. Tanto as normas americanas quanto as brasileiras não consideram a possibilidade da ação fito tóxica de elementos traço e há falta de pesquisas para validar a segurança dos limites estabelecidos. Para a definição das concentrações máximas permitidas de As, Cd, Pb, Cu, Hg, Ni, Se e Zn em biossólido, a resolução CONAMA 375/2006 se baseou na norma americana EPA CFR 40, Part 503 (USEPA, 1993) e os níveis de Cr, Ba e Mo, foram definidos a partir da metodologia proposta pela agência ambiental do Estado de São Paulo – CETESB. Sampaio (2010) critica os valores presentes na norma brasileira, questionando a importação dos valores de referência da norma americana, que foram alcançados em condições ambientais e solos com características diferentes. Questiona também os valores estabelecidos para Cr, Ba e Mo que foram obtidos nas condições específicas do Estado de São Paulo, baseados, segundo o autor, em estudos simplificados de caracterização de solos do Estado.

**Tabela 2.** Valores máximos permitidos de metais pesados em lodos destinados à agricultura segundo as legislações brasileira, norte-americana e europeia. (mg/kg<sup>-1</sup> de peso seco).

METAL	CONAMA 375	USEPA	EEC 278
Arsênico	41	41	-
Cádmio	39	39	20 a 40
Cromo	1000	1200	-
Cobre	1500	1500	1500 a 1750
Chumbo	300	300	750 a 1200
Mercúrio	17	17	16 a 25
Níquel	420	420	300 a 400
Selênio	100	100	-
Zinco	2800	2800	2500 a 4000

Fonte: CONAMA 375, 2006; USEPA, 1993, EEC278, 1986

A mobilidade de metais traço por lixiviação é determinada pelas características do solo, textura, pH e teor de matéria orgânica que influenciam as reações de adsorção/dessorção, precipitação/dissolução, complexação e oxido-redução. A distribuição de metais na mistura solo/lodo vai depender tanto das características do lodo quanto do solo, sendo o pH, a variável mais importante (OLIVEIRA e MATTIAZZO, 2001). Assim, lodos de mesma origem podem apresentar diferentes concentrações de metais no percolado quando adicionados a solos com características distintas. Lã (2010) estudou o efeito da temperatura e do período de estocagem sobre parâmetros químicos e distribuição de metais, assim como a interferência dos altos teores de ferro e da atividade microbiana sobre a sua disponibilidade. Os resultados demonstram que as temperaturas de secagem, assim como o tempo de estocagem, afetam alguns parâmetros químicos usados para caracterizar o lodo para fins agrícolas. A temperatura de secagem afeta diretamente a qualidade da biomassa do lodo e o aumento desta temperatura favorece a ligação de metais traço com matéria orgânica ou óxidos de ferro tornando os metais mais indisponíveis. Embora o lodo possa ser aplicado seco, durante o manejo pode ser reumedecido, sofrendo alterações químicas e biológicas. São necessárias mais pesquisas envolvendo os processos de secagem, reumedecimento e incubação de lodos para que estes conhecimentos possam ser incorporados às práticas, minimizando os efeitos negativos decorrentes da aplicação do resíduo. Foram coletadas amostras do biossólido produzido na ETIG em novembro de 2014 (I), fevereiro de 2015 (II) e janeiro de 2016 (III), para análise microbiológica e determinação da concentração de metais (ABREU et al, 2017). Como pode ser observado na tabela 3, embora ocorram diferenças nos valores para concentração de metais em peso seco de lodo produzido nas diferentes coletas realizadas na ETIG, todos são muito inferiores aqueles estabelecidos pela resolução CONAMA 375/2006.

**Tabela 3.** Teores de metais pesados ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) potencialmente tóxicos analisados em três lotes da ETIG comparados aos permitidos pela Resolução CONAMA nº 375/2006.

Metais Pesados	ETIG I	ETIG II	ETIG III	Média	*Máximo Conama375
As	3,65	0,004	0,004	1,22	41
Ba	182	159	139	160	1300
Cd	1,29	1,01	0,89	1,06	39
Pb	71	61	64	65,3	300
Cu	240	204	277	240,3	1500
Cr	42,7	40,1	39,0	40,6	1000
Hg	0,02	0,01	0,01	0,013	17
Ni	16,2	14,9	13,2	14,7	420
Se	0,004	0,004	0,004	0,004	100
Zn	675	619	1079	791	2800

Fonte: Abreu et al., (2017)

Os padrões microbiológicos da Classe A são mundialmente aceitos como garantia de segurança à saúde pública e são os mesmos fixados pela legislação norte americana (Tabela 4). O biossólido enquadrado na Classe A, vem sendo amplamente utilizado na Austrália e nos EUA sem restrições, sendo comercializados em alguns supermercados nos EUA (SAMPAIO, 2010).

**Tabela 4.** Concentração de microrganismos patogênicos em lodos de esgoto provenientes de três coletas na ETIG.

Parâmetro	Unidade	CONAMA <sup>1</sup> Classe A	ETE Ilha I	ETE Ilha II	ETE Ilha III
Coliformes Termotolerantes	NMP g <sup>-1</sup> ST	< 1000	13,62	7,29	< 0,04
Ovos Viáveis de Helmintos	Ovos g <sup>-1</sup> ST	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
<i>Salmonella</i> sp.	Presente/ausente em 10g ST	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

Fonte: Abreu et al., (2017). <sup>1</sup>valores máximos permitidos pela resolução CONAMA nº 375/2006; NMP: Número mais provável; ST: Sólidos totais.

Embora a maioria dos países considere o bio-sólido com as características acima, seguro para a saúde humana, ainda não há estudos suficientes que comprovem que não apresentam danos à biota.

### 2.3 Importância Econômica e Ambiental

Na última década, a produção agrícola diminuiu na Europa Ocidental em consequência do aumento do valor do euro e de reformas políticas e agrícolas na União Europeia, e aumentou nos países da América Latina e Caribe. As exportações de alimentos quase dobraram, tornando esta região um fornecedor cada vez mais importante de alimentos para mercados globais. A produção agrícola brasileira dobrou a partir dos anos 1990, apresentando um crescimento superior 100% entre 1990 e 2005 (FAO, 2010).

Os países membros do MERCOSUL juntos têm uma população de aproximadamente 266 milhões de habitantes e uma economia de US\$ 2,23 trilhões. O Brasil representa 71% da população e 67% da economia o que gera uma influência determinante sobre os demais países membros. O Brasil e a Argentina têm em comum a grande participação da agricultura na economia. A produção agrícola do Paraguai também vem aumentando, ampliando assim a importância destes países como produtores de alimentos. A tendência crescente das exportações de bens primários, que se acelerou a partir do ano 2001, afeta principalmente os países da América do Sul, sendo reforçada ainda mais na última década pelo crescimento das economias emergentes que demandam esses produtos (FAO, 2010).

No MERCOSUL, houve um aumento da incidência dos setores primários na produção e nas exportações regionais, implicando um aumento na demanda por recursos naturais, defensivos agrícolas e fertilizantes. Neste período, o uso de fertilizantes e pesticidas intensificou-se, sobretudo no Chile, no Uruguai, no Brasil e, também, no Paraguai e na Argentina. Enquanto o uso de fertilizantes duplicou nestes países entre 1995 e 2005, o PIB da região aumentou, em média, cerca de 20% (PNUMA, 2011).

A técnica da aplicação de lodo para fins agrícolas encontra-se cada vez mais difundida em países do MERCOSUL. A avaliação do uso de bio-sólidos produzidos a partir de resíduos agroindustriais no Uruguai demonstra que a adição do lodo beneficia o solo, aumentando a produtividade agrícola a atividade microbiana e promovendo incremento de P, N, Ca e Mg (PINO et al., 2012). A aplicação do lodo da Estação de Tratamento de Esgoto do Aeroporto Internacional do Rio de Janeiro na revegetação de uma área degradada do aeroporto, produziu um aumento significativo nos teores de nutrientes no solo. Estes resultados demonstram a viabilidade do uso de lodo em processos de revegetação (BEZERRA et al., 2006).

No Estado do Paraná, a Resolução do Gabinete Estatal do Meio Ambiente (Sema 021/09) estabeleceu critérios e procedimentos para uso agrícola de lodos de esgoto reduzindo despesas com fertilizantes e calcário, economizando uma média de US\$ 813,45 por ha (BITTENCOURT, 2014). O destino dos lodos das Unidades de Gerenciamento de Lodo (SMU) na Região Metropolitana de Curitiba foi monitorado entre 2007 e 2010. O total de 88.166 t de lodo (33.404 toneladas secas) foi destinado a 2.288 ha de áreas agrícolas fornecendo 74% de N, 73% de  $P_2O_5$  e 35% de  $K_2O$  para fertilizar milho, soja, feijão, aveia, trigo, adubo verde e na implementação e pós-colheita de árvores frutíferas. O lodo municipal de esgoto contém quantidades consideráveis de macro e microelementos essenciais para a nutrição das plantas. O efeito de uma aplicação única de lodo municipal de esgoto foi comparado com uma dose equivalente de fertilizantes minerais em plantio de cevada. Foi observado, além de alterações positivas nas propriedades químicas do solo, o aumento no rendimento dos grãos e na absorção de nutrientes (KEPKA, 2017).

A proteção do solo é essencial para a produção agropecuária, florestal e para a produção de alimentos, e sua preservação tem despertado interesse cada vez maior no campo dos debates ambientais e políticos. Até o momento, as ações políticas e econômicas relativas ao uso do solo estão relacionadas à resolução de problemas de curto prazo, obedecendo aos interesses e às regras de mercado, não levando em conta considerações capazes de trazer resultados que garantam a sustentabilidade. Nos países em desenvolvimento na África e na Ásia, a disponibilidade de solo cultivado é de aproximadamente 0,3 ha/habitante e na Europa esta relação é ainda menor 0,17 ha/habitante (FAO, 1992). O aporte de nutrientes em áreas cultivadas até a década de 1940 era oriundo basicamente de esterco animal. Após a segunda Guerra Mundial, a substituição deste tipo de adubo por fertilizantes sintéticos acrescido de procedimentos intensivos tanto na agricultura quanto na pecuária aumentou os impactos ambientais sobre o solo e recursos hídricos (CALIGARI et al., 2007).

Os fertilizantes, utilizados para aumentar a produtividade agrícola, embora importantes economicamente, causam grande impacto ambiental podendo provocar degradação do solo e poluição do ar e dos recursos hídricos. Podem ser classificados como orgânicos (produzidos a partir de produtos naturais como húmus, esterco, lodo, farinha de osso e torta de mamona) ou inorgânicos (produzidos por compostos químicos sintéticos, ricos em Nitrogênio, Fósforo, Potássio e Enxofre, contendo em suas fórmulas grandes concentrações de nutrientes absorvidos quase imediatamente pelos vegetais. O segundo grupo apresenta os produtos que provocam maior impacto ambiental.

O modelo de agroindústria atual, com utilização intensiva de água, energia e produtos sintéticos (fertilizantes, biocidas) aumenta consideravelmente a produção de safras agrícolas, porém provoca impacto ambiental negativo. A produção agrícola que não vem acompanhada de uma recuperação adequada da fertilidade do solo pode comprometer a sustentabilidade de todo o sistema, sendo o esgotamento de nutrientes uma importante causa de degradação do solo. Assim, o aporte de resíduos orgânicos é fundamental para a manutenção da qualidade do solo.

A fertilização química utilizando N derivado de fertilizantes químicos incrementa o rendimento proteico, porém não melhora a qualidade destas proteínas (há diminuição da relação existente entre aminoácidos essenciais e não essenciais). Existem outros efeitos colaterais resultantes da fertilização química com N como, por exemplo, a redução da síntese de hidratos de C como açúcares, maior vulnerabilidade a doenças nos vegetais e menor resistência a insetos (HORNICK, 1992). Além disso, o uso de fertilizantes sintéticos, aumenta a concentração de alguns elementos tóxicos no solo favorecendo a absorção destes elementos pelos vegetais como, por exemplo, o caso do Cádmiio (UNESCO, 1998).

A presença de um excedente de compostos fosfatados e nitrogenados que chega aos rios e lagos ocasiona o processo de eutrofização. Este processo é caracterizado pelo

incremento no crescimento populacional de algas que, quando se decompõem, consomem grandes quantidades de Oxigênio, diminuindo sua concentração na água, provocando a morte de organismos aquáticos. Entre as restrições ao uso de fertilizantes orgânicos destacam-se o perigo da contaminação por patógenos se não forem produzidos corretamente e a quantidade insuficiente ou excessiva de nutrientes. Estes motivos levam à preferência pelo uso de fertilizantes sintéticos na produção agrícola intensiva. Há outras formas de reaproveitamento de lodos como, por exemplo, na fabricação industrial de tijolos e cimentos, muito utilizada nos EUA. A lei nº 12.305 que instituiu a Política Nacional de Resíduos Sólidos prevê tratamento, reciclagem e destinação final adequada ambientalmente como responsabilidade do gerador de resíduos (BRASIL, 2010). Embora haja outras aplicações de interesse econômico, o reaproveitamento agrícola se apresenta como a melhor solução ambiental, pois reduz a utilização de fertilizantes sintéticos e aumenta o período de vida útil nos aterros onde este resíduo ocupa espaço.

Atualmente, a disposição final de resíduos sólidos no Brasil é precária e na maioria dos municípios prevalece a existência de lixões. A Pesquisa de Saneamento Básico de 2008 (IBGE, 2008), mapeou as condições de deposição de resíduos sólidos no Brasil e considerou adequada quando existe pelo menos um aterro sanitário no território ou município. Segundo a pesquisa, há predominância de municípios onde predominam lixões, principalmente nas regiões Centro-Oeste, Norte e Nordeste e há locais que não contam com lixões nem aterros como em algumas regiões do Rio de Janeiro, Mato Grosso do Sul e Minas Gerais. Os aterros sanitários predominam apenas em São Paulo e na região Sul do país. Ainda segundo a pesquisa, 4022 municípios brasileiros apresentam uma disposição final inadequada, o que representa 72% dos municípios brasileiros. Se avaliarmos por região, a situação é inadequada em 91% dos municípios da região Norte, 93% na região Nordeste, 87% na região Centro-Oeste, 64% na região Sudeste e 38% na região Sul. (IBGE, 2008). De acordo com o CENSO 2004, 80% da população brasileira habitava grandes centros urbanos. (IBGE, 2004). O processo de transformação de um país predominantemente rural para um país urbano promoveu a exclusão social das classes menos favorecidas, sem recursos para adquirir moradia em regiões com oferta de serviços públicos, inclusive coleta e destinação adequada de resíduos que se acumulam em terrenos baldios e às margens de rios, lagos e estradas.

Tanto nos lixões quanto nos aterros controlados podem ocorrer impactos ambientais, gerando contaminação do ar, água e solo. A decomposição da grande quantidade de matéria orgânica presente no lixo provoca a liberação de metano, importante gás causador do efeito estufa, além de exalar odor extremamente desagradável. O chorume, líquido de cor escura produzido pela decomposição do lixo, que percola o solo, pode contaminar o lençol freático e os recursos hídricos através do processo de lixiviação. Além disso, o acúmulo de resíduos atrai vetores que podem disseminar patógenos. A média de produção de sólidos por indivíduo é de aproximadamente 120 g por dia e são lançados na rede de esgotos gerando o lodo após tratamento nas estações. O esgoto doméstico é composto basicamente por água (99,87%), sólidos (0,06%) e substâncias dissolvidas (0,07%) (NOVOLARI et al., 2011). Para ser disposto o lodo de uma ETE tem, necessariamente, que passar por processos de eliminação de patógenos, redução do volume de água, dos maus odores e do potencial de putrefação, mesmos procedimentos necessários para sua utilização para fins agrícolas.

Em 2010, a estimativa nacional era que as Estações de Tratamento de Efluentes gerassem de 150 a 220 mil toneladas de matéria seca de lodo por ano que teriam como destino final os aterros. Devemos considerar ainda que estes valores correspondem ao tratamento de esgoto de aproximadamente 30% da população urbana ao ano. Estima-se que estes valores aumentem com o incremento do tratamento de esgotos (PEDROZA et al., 2010).

As primeiras indústrias produtoras de fertilizantes sintéticos surgiram no Brasil nos anos 1940, acompanhando o processo de industrialização do país. Estas indústrias apenas



misturavam no país matérias primas importadas. A utilização do gás natural como insumo básico surgiu em 1971 para consolidar a indústria de fertilizantes nitrogenados no país. O impulso na demanda por fertilizantes, aumentando a necessidade de importações e custos, determinou a criação do PNFC (Programa Nacional de Fertilizante e Calcário Agrícola) como parte do II Plano Nacional de Desenvolvimento, que vigorou de 1974 a 1980, tinha como objetivo a modernização da indústria de fertilizantes do país e estimulou a produção de matéria-prima. Entre 1987 e 1995 foi implementado o Segundo Plano Nacional de Fertilizantes (PNF). Nos dois PNF houve um investimento de U\$3,5 bilhões com participação de U\$1,5 bilhão do BNDES, promovendo melhoria na eficiência e produtividade do setor além de redução nas importações. Entre 1992 e 1994 houve privatização da indústria de fertilizantes no país. No Brasil, o déficit no setor de fertilizantes ainda representa 25% do déficit de todo o setor químico, com valores em torno de U\$8 bilhões/ano, tendo sido o segmento que mais contribuiu para o déficit comercial no setor da indústria química. (BNDES, 2006)

Segundo relatório apresentado pelo IBGE durante a Rio + 20, o consumo de fertilizantes no Brasil passou, entre 1992 e 2012, de 70 para 150 quilos por hectare (BRASIL, 2010). Deste volume, 70% dos fertilizantes nitrogenados são importados da Rússia e dos EUA e a Petrobras é responsável por 60% da produção nacional. Estas importações representam um impacto considerável sobre a balança comercial brasileira. O modelo intensivo predominante na agroindústria brasileira tem gerado um incremento no uso de agrotóxicos e fertilizantes sintéticos. As lavouras que mais consomem fertilizantes são: soja, milho, cana-de-açúcar, café, algodão e arroz e a região Sudeste é aquela que apresenta maior consumo de fertilizante por área plantada (208,1 kg/ha). A demanda por fertilizantes permaneceu aquecida para as safras de 2012/13 (VALOR ECONÔMICO, 2013) graças à alta nos preços de commodities agrícolas, ocasionada pela seca que atingiu a lavoura norte-americana.

A lei Federal nº 12.305, de agosto de 2010, também conhecida como lei de resíduos sólidos, determina a eliminação de lixões em todo o território nacional até 2014 devendo ser substituídos por aterros sanitários (BRASIL, 2010). O cálculo de custos de implantação de um aterro sanitário para atender a uma população de 500 mil habitantes durante um período de 20 anos totaliza valores em torno de 117 milhões de reais se for realizado com recursos públicos e 139 milhões de reais sem recursos públicos. (ABETRE, 2009). É importante ressaltar que o local escolhido para a implantação do aterro terá importante impacto sobre os custos operacionais, já que deve ser afastado de áreas habitadas. Nas grandes concentrações urbanas do país, torna-se cada vez mais difícil encontrar terrenos nestas condições, sem que a distância dos centros de coleta encareça o transporte.

A agricultura familiar brasileira, de acordo com o convênio FAO/INCRA (2000), com base nos dados do Censo Agropecuário 1995/96 do IBGE, representa 85% dos estabelecimentos agropecuários, ocupa 79% da mão-de-obra, responde por 38% do valor bruto da produção gerando mais renda por unidade de área do que a agricultura empresarial. Um espaço institucional do MERCOSUL criado para tratar desse tema é a Reunião Especializada em Agricultura Familiar (REAF), que reúne organizações sociais e governos dos cinco países membros (Argentina, Brasil, Paraguai, Uruguai e Venezuela) (NUNES, 2007). A agricultura familiar demanda o uso de técnicas agrícolas alternativas, diversificadas e vantajosas economicamente como a fertilização através do uso de lodos ou biossólido.

A Embrapa Meio Ambiente em parceria com a Escola Superior de Agricultura Luís de Queiroz vem realizando pesquisas com o objetivo de avaliar o uso do lodo tanto em plantações florestais quanto na recuperação de áreas degradadas com plantas nativas. O estudo dos efeitos da aplicação agrícola de lodos residuais de cervejarias, assim como a determinação das condições ideais para seu uso, vem sendo realizado na Argentina para



controle da redução de fertilidade em solos da província de Buenos Aires (CAMPANA, 2011). O lodo produzido em uma estação de tratamento representa entre 1 a 2% do valor total de esgoto tratado, porém 60% do custo operacional de uma Estação de Tratamento de Efluentes (ETE) é consumido com seu processamento, gerenciamento e destinação final (VON SPERLING, 2001).

Algumas das principais culturas do Estado do Rio de Janeiro são: cana de açúcar, banana, café, laranja, milho, abacaxi e tomate (EMATER, 2014). Nestas culturas, a parte comestível não se encontra em contato direto com o solo, o que é um dos critérios utilizados na legislação brasileira vigente para permitir o uso de biossólido para fins agrícolas (BRASIL, 2006).

O transporte é a etapa logística que demanda maior atenção em relação aos custos tanto para biossólidos quanto para fertilizantes sintéticos. No primeiro caso, quanto menor for a quantidade de água presente no lodo menor será seu volume e, conseqüentemente, maior a economia de transporte e a viabilidade econômica do destino agrícola deste resíduo. O transporte de biossólidos é de responsabilidade da empresa geradora do resíduo segundo o artigo 19 da resolução CONAMA 375/2006 (BRASIL, 2006). No segundo caso, os custos estão relacionados à distância entre o local de obtenção da matéria-prima e a indústria produtora. Ainda existem normas especiais de transporte para alguns produtos considerados perigosos como, por exemplo, amônia, ácido sulfúrico e ácido nítrico que encarecem o transporte.

Se compararmos as diferentes possibilidades de disposição de lodo de esgoto, podemos observar que a destinação agrícola como fertilizante ou substrato tem um custo 50% menor do que a incineração e semelhante à disposição em aterro, sem apresentar os impactos ambientais agregados a estes procedimentos. Pesquisas apontam que o gasto com o transporte do lodo é inferior aquele gasto com fertilizantes sintéticos se a distância entre o gerador e a área agrícola for igual ou inferior a 250 quilômetros (ANDREOLLI et al., 2006).

## **2.4 Toxicidade**

Um amplo espectro de produtos químicos considerados essenciais para a sociedade moderna, quando descarregados no sistema de coleta de águas residuais urbanas, pode ser transferido para o lodo. Pesquisas sobre contaminantes orgânicos (COs) em biossólidos foram realizadas por mais de trinta anos e um número de evidências crescentes demonstra que a maioria dos compostos estudados não coloca a saúde humana em risco quando estes resíduos são utilizados na agricultura. No entanto, existem 143 mil produtos químicos registrados na União Europeia para uso industrial e todos poderiam ser encontrados no biossólido. Assim, há recomendações para a priorização de novas pesquisas e monitoramento de COs emergentes para o uso agrícola de biossólidos. Alguns são persistentes, potencialmente tóxicos ou estão presentes em grandes concentrações no lodo, o que torna possível a penetração em cadeias alimentares humanas e ecológicas de um solo tratado com biossólidos (CLARCK e SMITH, 2011). A Grécia foi utilizada como estudo de caso para avaliação do risco ambiental associado à existência de orgânicos emergentes (COEs) em solo tratado com lodo usando a abordagem de quociente de risco (RQ). Triclosan parece representar risco ao ambiente do solo, tanto na avaliação de risco baseada em dados de toxicidade terrestre como aquática. O tetradecametilhexasiloxano apresentou o RQ mais alto, sendo calculados também RQs elevados para decametilciclopentasiloxano e cafeína. Os países que reutilizam lodo para fins agrícolas devem incluir COEs específicos em campanhas nacionais de monitoramento e estudar mais detalhadamente seus efeitos no ambiente terrestre (THOMAIDI et al., 2016)

A presença e concentração de POE (poluentes orgânicos emergentes) no lodo de esgoto depende das características do efluente, do comportamento físico-químico do poluente

e ainda do processo empregado no tratamento sendo, portanto, muito variável (BITENCOURT, 2016). A USEPA (Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos) realizou, nos anos de 2006 e 2007, a Pesquisa Nacional sobre Lodo de Esgoto onde avaliou em 74 ETE a presença de 145 substâncias, incluindo fármacos e hormônios. Dentre os fármacos pesquisados triclocarban, ciprofloxacina e difenidramina foram encontrados em 100% das amostras. Em relação aos hormônios pesquisados, o 17  $\beta$ -estradiol e a estrona foram encontrados respectivamente em 13% e 71,4% das amostras (USEPA, 2009). Compostos fenólicos estão presentes em detergentes e emulsificantes, sendo encontrados em efluentes domésticos e industriais. São solúveis em água e condições ambientais como pH, temperatura, oxigênio dissolvido e salinidade podem acelerar ou retardar seu processo de degradação. Apresentam caráter ácido, devido ao H presente na hidroxila e podem provocar toxicidade em resíduos provenientes de águas residuárias (CORVINI, 2006).

A Agência de Proteção Ambiental dos EUA realizou um inventário de 77 tipos retardadores de chama bromados (BFRs) em biossólidos de amostras arquivadas a partir de um estudo de mesocosmo externo de 3 anos para determinar a persistência ambiental de BFRs em solos tratados com este resíduo. A concentração média de PBDEs foi maior nas amostras de 2001, em comparação com os níveis relatados pela EPA em 2006/7, refletindo os esforços em curso na eliminação de PBDEs nos EUA (VENKATESAN, 2014).

Nas águas residuárias municipais há uma ampla gama de contaminantes inorgânicos e orgânicos denominados contaminantes emergentes, incluindo muitos fármacos. A presença desses produtos no meio ambiente é importante considerando que eles não aparecem individualmente, mas como uma mistura complexa, o que pode levar a efeitos sinérgicos indesejados. Além disso, a disseminação de bactérias resistentes aos antibióticos causada pela presença de drogas antibacterianas é uma preocupação emergente. O monitoramento ambiental deve determinar o destino e o impacto destas substâncias em todo o seu ciclo de vida, incluindo não só o ambiente aquático, mas também o ambiente terrestre. É necessário avaliar biossólidos em solos tratados em condições de campo, investigando a lixiviação e o escoamento superficial, o impacto na degradação do solo, na toxicidade aos organismos terrestres, a potencial absorção por plantas assim como a entrada na cadeia alimentar humana. O resíduo de antifúngicos no ambiente é motivo de preocupação devido aos riscos ambientais e à persistência. A distribuição, o comportamento e o destino dos fármacos antifúngicos utilizados com frequência foram investigados em águas residuais na China. O fluconazol passou pelo tratamento e permaneceu em grande parte no efluente final. O cetoconazol foi mais prontamente bio-transformado, enquanto o clotrimazol, o econazol e o miconazol persistiram no lodo de esgoto. A lipofilicidade desempenha o papel determinante na absorção (PETRIE et al., 2015; MARTI et al., 2014; PENG, 2013). O processo de absorção é resultante de interações entre os grupos alifáticos e aromáticos de alguns poluentes presentes na fase líquida do esgoto e a membrana celular lipofílica dos microrganismos presentes no lodo e são fundamentais para que estes micropoluentes sejam transferidos para as frações lipídicas sólidas dos lodos de ETEs. Está relacionado à lipofilicidade da substância, caracterizada pelo coeficiente de partição octanol-água (Kow). O processo de adsorção refere-se às interações eletrostáticas dos produtos químicos carregados positivamente com as superfícies dos microrganismos carregadas negativamente. Assim, as moléculas catiônicas serão adsorvidas com mais facilidade do que aquelas carregadas negativamente. Portanto, o potencial de sorção destes resíduos é função de ambos os seus caracteres lipofílicos (Kow) e acidez (pKa) (SUAREZ et al., 2008).

Dados sobre as concentrações de fármacos e produtos de higiene pessoal em lodos primários, secundários, compostados e secos originários de ETE foram levantados com o objetivo de avaliar o risco ambiental representado pelo uso agrícola deste resíduo. Os compostos mais críticos encontrados no solo tratado com biossólido foram: estradiol,

ciprofloxacina, ofloxacina, tetraciclina, cafeína, triclosan e triclocarban. O estudo conclui que mais pesquisas na área devem ser realizadas para refinar a avaliação do risco ambiental (VERLICCHI e ZAMBELLO, 2015). Os agentes antimicrobianos triclocarban (TCC) e Triclosan (TCS) e fixadores AHTN (Tonalide) e HHCB (Galaxolide) são amplamente utilizados em produtos de cuidados pessoais e podem ser liberados no solo através do uso agrícola de biossólidos oriundos de ETE de águas residuárias e afetar a biota. Aplicações repetidas de biossólido levaram à acumulação desses produtos de higiene pessoal e resultam em maiores riscos ecológicos. Com base nos níveis residuais nos locais de teste, esperam-se altos riscos para os organismos do solo para TCC e TCS, enquanto os riscos baixos e médios para AHTN e HHCB (CHEN et al., 2014).

Os éteres difenílicos polibromados ou polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) são um grupo de aditivos retardadores de chama bromados (BFRs) que foram amplamente utilizados para diminuir a inflamabilidade de vários produtos de consumo. Sua persistência, potencial de bioacumulação e toxicidade resultaram em várias restrições de uso. Duas das três misturas comerciais foram banidas na Europa, voluntariamente eliminadas nos Estados Unidos e estão listadas como poluentes orgânicos persistentes (POPs) ao abrigo da Convenção de Estocolmo. Os PBDEs, no entanto, continuam a ser detectados em todo o mundo em humanos, animais selvagens e no meio ambiente. Algumas das maiores concentrações de PBDEs na América do Norte foram medidas em lodo de esgoto e biossólidos. A presença de altos níveis destes compostos em águas residuais municipais é causada provavelmente por efluentes residenciais contaminadas por produtos tratados com PBDEs resultando assim em altas concentrações no biossólido. Os impactos ambientais podem incluir a absorção agrícola em culturas, introdução em redes alimentares terrestres, escoamento para os rios e potencial de transporte de longo alcance (DAVES et al., 2012).

## 2.5 Avaliação Ecotoxicológica

Embora o biossólido produzido na ETE/CEDAE Ilha do Governador- RJ se encontre dentro dos padrões exigidos pelas normas brasileiras, sendo caracterizado como classe A, são necessárias mais pesquisas envolvendo os processos de secagem, reumedecimento e incubação de lodos. É fundamental que estes conhecimentos possam ser incorporados às práticas, minimizando os efeitos negativos decorrentes da aplicação do resíduo. Ensaios realizados com *Vibrio fischeri*, *Lactuca sativa* e *Salmonella* com o lodo proveniente de cinco Estações de Tratamento de Esgoto do estado de São Paulo demonstraram serem efetivos para fornecer informações a respeito da periculosidade deste resíduo, principalmente quando interpretados de forma integrada (ZANATTA, 2014, DA MATTA, 2009).

A toxicidade em um vegetal pode ser observada quando constituintes tóxicos, do solo ou da água, são absorvidos e acumulados em seus tecidos em concentrações suficientemente altas para provocar danos ou retardar seu desenvolvimento. A germinação depende de eventos fisiológicos influenciados tanto por fatores ambientais como temperatura, salinidade, pH e presença de substâncias inibidoras quanto por fatores intrínsecos como a dormência. Os testes de toxicidade utilizando vegetais constituem recurso prático de baixo custo e de sensibilidade razoável na indicação qualitativa da presença de substâncias tóxicas ou inibidores biológicos (PELEGRINI et al., 2006). Bioensaios padronizados utilizando sementes de alface *Lactuca sativa* (germinação e alongamento de raiz) vem sendo propostos para avaliar impacto de efluentes e de resíduos. Esses testes biológicos além de baratos, e de fácil implementação reproduzem e destacam os efeitos causados pelo poluente e poderiam ser rotineiramente usados para verificar seu impacto (CHARLES et al., 2011). O efeito fitotóxico em amostras de lodos de esgoto provenientes de sete estações de tratamento do Estado de São Paulo foi avaliado utilizando os ensaios de alongamento de raiz e germinação de sementes. A

metodologia empregada demonstra ser promissora para avaliar fitotoxicidade discriminando as diferentes estações de tratamento (CETESB, 2008).

A alface é produzida comercialmente em muitos países sendo especialmente importante como uma cultura comercial na Ásia e na América. A China, os EUA, a Espanha, Itália, Índia e o Japão estão entre os maiores produtores mundiais (MOU, 2008). As sementes de alface são excelentes organismos para ensaios de toxicidade, pois apresentam alta sensibilidade ao estresse químico, bem como rápidas germinação e reidratação, garantindo a reprodutibilidade do ensaio (PEREIRA et al., 2009). Tanto os ensaios de germinação quanto de alongamento radicular em *Lactuca sativa* (*Asteraceae*) se apresentam como boas ferramentas para avaliar a fitotoxicidade de solos e de resíduos (GONZALÉS et al., 2011; CAMPAGNA-FERNANDES et al., 2016). Além disso, a alface é um vegetal amplamente cultivado, utilizado em grande escala na alimentação humana e animal, e vulnerável a contaminações durante os processos de irrigação e fertilização (GIORGETTI et al., 2011).

A espécie *Mimosa caesalpinifolia*, pertence à família Leguminosa, subfamília Mimosoideae, sendo vulgarmente conhecida como sabiá, unha de gato ou sansão do campo. É uma espécie heliófita, de rápido crescimento e de fácil renovação devido à capacidade de rebrota tanto do tronco quanto das raízes. Trata-se de uma espécie pioneira, ocupando formações primárias e secundárias, ocorrendo de forma natural em Minas Gerais e na região Nordeste do Brasil (LORENZI, 2002; CARVALHO, 2007). Estas características, aliadas à sua capacidade de sobrevivência com recursos limitados, tornam a espécie amplamente utilizada para recuperação de áreas degradadas e reflorestamento tanto no Nordeste quanto em regiões úmidas do Rio de Janeiro e de São Paulo (TEIXEIRA, 2013; RIBASKI et al., 2003). O uso de leguminosas arbóreas mostra-se como boa alternativa para solucionar a baixa disponibilidade de nutrientes em solos degradados, pois, além de fixar N, tem outros efeitos positivos na fertilidade, como por exemplo, a passagem de nutrientes das camadas mais profundas para as camadas superficiais do solo criando condições para acelerar o processo de recuperação do ecossistema (SILVA et al., 2013; RESENDE et al., 2013). A introdução de leguminosas arbóreas como *Mimosa caesalpinifolia* em pastagens degradadas revela um potencial na melhoria de diversos atributos edáficos como fauna do solo (MANHÃES et al., 2007) e na capacidade de melhorar a fertilidade do solo através da ciclagem de nutrientes via serapilheira (COSTA et al., 2014). Sua propagação ocorre via sementes que se desprendem à medida que os frutos secam, porém, as sementes desta espécie são robustas, possuindo altos níveis de dormência tegumentar (ALVES et al., 2004).

Os organismos aquáticos foram os primeiros utilizados em ensaios de ecotoxicidade. Os ensaios agudos são aqueles que avaliam efeitos severos e rápidos, sofridos pelos organismos expostos a um contaminante em um curto período de tempo. Os ensaios realizados com *Daphnia magna* *Danio rerio* são um exemplo deste tipo de teste. Os microcrustáceos atuam como consumidores primários na cadeia alimentar aquática e organismos do gênero *Daphnia*, também conhecidos como pulgas d'água, embora não ocorram naturalmente no Brasil, são facilmente cultivados em laboratório, obtendo-se assim populações homogêneas e com sensibilidade constante (BERTOLETTI, 2008). Ensaio de ecotoxicidade crônica permitem avaliar os efeitos adversos por um período do ciclo de vida dos organismos como reprodução e fecundidade, ou ainda efeitos sobre o crescimento populacional como ocorre na alga unicelular *Raphidocelis subcapitata*. Algas unicelulares fitoplanctônicas são produtoras, base da cadeia trófica e as principais responsáveis pela oxigenação do ecossistema aquático. Uma redução destes organismos pode provocar danos aos processos ecológicos e a toda a biodiversidade do sistema.

Peixes dulcícolas são amplamente utilizados em testes de toxicidade, por serem sensíveis a poluentes e reconhecidos internacionalmente. Os resultados dos testes de toxicidade aguda com peixes realizados para elutriado do lodo da ETE de Goiânia estimaram

em 10,26% v/v a concentração letal para 50% dos organismos testados em um ensaio de 48 horas, demonstrando assim a toxicidade do lodo quando carregado para ambientes aquáticos. (SANTOS, 2010). Há liberação significativa, nas estações de tratamento de efluentes, de resíduos coloidais contendo nanopartículas como, por exemplo, aquelas, presentes nos protetores solares. Estes resultados demandam questionamentos sobre a toxicidade dos efluentes para os organismos aquáticos, principalmente para as espécies dulcícolas (WANG et al., 2012).

Ensaio com os microcrustáceos aquáticos *Daphnia similis* e *Artemia salina* em elutriados de lodos de ETEs em São Paulo e Pernambuco demonstraram a ocorrência de efeitos adversos do lodo sobre a fauna aquática, apresentando aumento gradual da toxicidade em função do tempo. Estes efeitos aparentemente não foram causados somente pela presença de metais pesados no lodo, mas também pela existência de compostos orgânicos (JONSON e MAIA, 2007; SANTOS, 2009).

Ensaio agudo com *Daphnia similis* e crônicos com algas clorofíceas da espécie *Pseudokirchneriella subcaptata*, além de testes de bioacumulação de metais com oligoquetas (*Eisenia andrei*) foram utilizados para uma avaliação ecotoxicológica da aplicação do lodo da ETE Ilha do Governador em dois tipos de solo: latossolos e chernossolos. Os organismos aquáticos apresentaram uma relação significativa de dose e efeito às concentrações crescentes do resíduo e as algas demonstraram a maior sensibilidade à toxicidade do lodo (CESAR et al., 2010).

Lodos da mesma ETE foram usados em ensaios de letalidade e fuga com *Eisenia andrei*. Quando utilizado “in natura” o lodo provocou a morte de 100% dos organismos testados, porém a adição do resíduo aos solos naturais na concentração de 6,66% não causou letalidade. Os resultados do ensaio de fuga mostraram diferenças significativas entre os solos, 96,43% das minhocas evitaram o latossolo e 31% o chernossolo tratado com o resíduo (CESAR, 2008)

Minhocas, colêmbolos e enquitreídeos são considerados “engenheiros do ecossistema”. Uma redução na população destes organismos, seja por morte, “fuga” ou redução na reprodução, interfere também nas características do solo, cadeia trófica e diversidade das comunidades. Ensaio ecotoxicológicos realizados com minhocas submetidas a diferentes concentrações de lodo de esgoto doméstico misturado ao solo não apresentaram resposta de toxicidade aguda, entretanto testes de reprodução e de crescimento apontam para a existência de efeitos deletérios sobre a reprodução das minhocas, com ausência de casulos ou organismos jovens, além de atrofia e perda de peso nas concentrações mais altas (DORES-SILVA et al., 2013).

Estudos com nanopartículas presentes em protetores solares sugerem que, como cerca de noventa por cento do produto fica retido no lodo, a maior exposição ambiental esperada seria no solo, após aplicação do mesmo. Assim, os autores sugeriram a necessidade de mais ensaios ecotoxicológicos com organismos terrestres quando houver utilização agrícola de lodo de estações de tratamento (JOHNSON et al., 2011)

Ensaio com lodo urbano e industrial em Portugal demonstraram que ensaios de fuga com colêmbolos apresentam maior sensibilidade do que aqueles realizados com minhocas. Os autores acreditam que os ensaios ecotoxicológicos são ferramentas importantes para a caracterização toxicológica dos lodos e que, quando complementados por outros ensaios, podem integrar uma estratégia de avaliação fornecendo informações importantes para controlar o uso de biossólidos na agricultura (NATAL DA LUZ, 2009). Impactos da disposição de lodos de esgoto urbano sobre a mesofauna também podem ser testados em mesocosmos sendo avaliadas a densidade faunística, a abundância relativa dos principais táxons e a estrutura da comunidade (ANDRÉS, 2005). Bioensaios utilizando diferentes espécies como colêmbolos, minhocas e germinação de sementes podem ser uma ferramenta

adicional para avaliar os efeitos da alteração de resíduos orgânicos no solo. Os ensaios biológicos são sensíveis a poluentes em baixas concentrações e, através deles, podem ser observados resultados de interações entre substâncias não detectadas pelas análises químicas de rotina (MOREIRA, 2008).

Dois parâmetros, os fatores de bioconcentração (BCFs) ou fatores de bioacumulação (BAFs), têm sido amplamente utilizados para avaliar a bioacumulação de poluentes na biota aquática e terrestre com o pressuposto de que os organismos conseguem estabelecer um equilíbrio químico em relação a uma rota de exposição. Foram relatados BAFs maiores para minhocas coletadas em solos contaminados, o que apoia a hipótese de que estes organismos poderiam ser uma fonte importante para examinar a biodisponibilidade de metais no solo ou substrato. No lodo municipal, podem existir substâncias tóxicas que, ao serem usadas como fertilizantes, ameacem a qualidade do solo em longo prazo. As minhocas podem transferir produtos orgânicos perigosos, acumulando metais tóxicos em seus tecidos. Este acúmulo pode prejudicar os processos do solo e a biodiversidade local, se os resíduos forem transferidos para organismos que ocupam diferentes níveis tróficos. Portanto, a bioacumulação de contaminantes nas minhocas deve ser prioridade de pesquisa (SUTHAR, 2009).

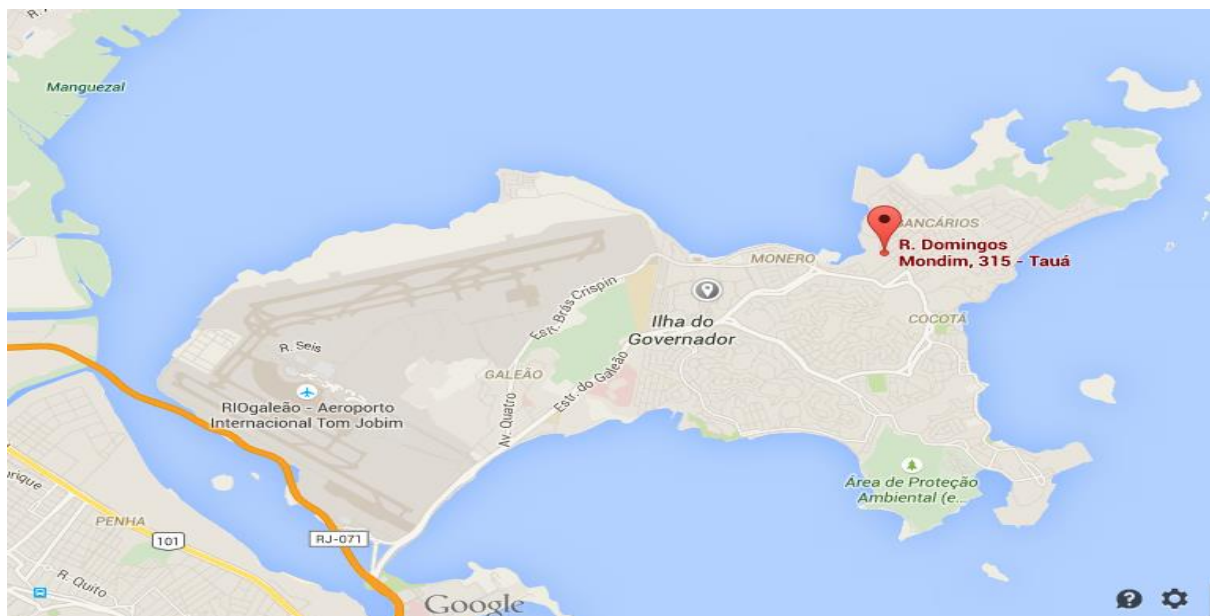
As concentrações de cimetidina, um anti-histamínico amplamente utilizado no tratamento de distúrbios gastrointestinais, vêm aumentando nas águas residuárias municipais. Os invertebrados podem ser afetados pela exposição à cimetidina, porque usam as suas enzimas para regular a função olfativa e estomatogástrica. A ecotoxicidade da cimetidina foi avaliada utilizando *Daphnia magna*, *Moina macrocopa*, e *Danio rerio*. Embora os resultados indiquem que há pouca evidência de que a cimetidina cause impacto ecológico nos níveis ambientais atuais, as potenciais consequências da interrupção do sistema endócrino após a exposição em longo prazo merecem uma investigação mais aprofundada. Ensaio realizados com duas espécies de invertebrados, *Gammarus fasciatus* e *Psephenus herricki*, demonstraram que tanto a reprodução quanto a biomassa final de *G. fasciatus* e a sobrevivência de *P. herricki* foram reduzidos em todos os tratamentos. As baixas concentrações de cimetidina parecem não ter efeito sobre os produtores primários, mas há indícios de que produzem efeitos negativos indiretos no crescimento e na dinâmica da população de invertebrados (LEE et al., 2015; HOPPE et al., 2012).

Enquanto a biomassa microbiana pode ser avaliada estimando-se a densidade, o metabolismo pode ser estimado através da quantificação do CO<sub>2</sub> resultante dos processos metabólicos através de ensaios respirométricos. Entre as técnicas utilizadas para acompanhar a atividade microbiana, a respirometria se apresenta como uma alternativa relevante. O acompanhamento é realizado a partir do oxigênio consumido ou do CO<sub>2</sub> produzido para o meio e se caracterizam pela simplicidade da análise. Os respirômetros podem ser abertos ou fechados e, embora existam equipamentos comerciais, prevalece o uso de protótipos, desenvolvidos em escala de laboratório. (BERNARDES, 2005). Esses ensaios se apresentam como uma ferramenta para avaliação qualitativa do efeito de uma substância ou resíduo sobre a atividade biológica e vem sendo utilizados, principalmente para avaliação de efeitos da aplicação e caracterização de lodos oriundos de esgotos domésticos e resíduos (FERREIRA et al., 2002; ANDREOTTOLA et al., 2005; COSTA, 2009).

## 3 MATERIAL E MÉTODOS

### 3.1 Obtenção do Biossólido e Preparo de Amostras

O biossólido utilizado nos ensaios é proveniente na ETE da Ilha do Governador-RJ situada à Rua Domingos Mondim, 315, Tauá, Ilha do Governador, onde são tratados 525L/s de esgoto beneficiando 290.000 pessoas distribuídas em 14 bairros e 20 comunidades. O biossólido apresenta valores referentes a metais pesados e patógenos inferiores aqueles preconizados pelo CONAMA 375/2006 sendo caracterizado como classe A.



**Figura 2.** Localização da ETE da Ilha do Governador, RJ (ETIG).

Após a coleta, o resíduo foi acondicionado em sacos de nylon e armazenado no laboratório de Bioensaio do IFRJ e no Laboratório de Fauna do Solo na EMBRAPA Agrobiologia. O biossólido, depois de peneirado (malha de 2mm), foi aplicado ao solo artificial tropical (SAT) ou natural em diferentes concentrações e constituiu o substrato para os testes de toxicidade.

### 3.2 Solo Artificial Tropical

Em alguns ensaios com organismos terrestres foi utilizado o solo artificial. A vantagem de sua utilização é padronizar as condições dos ensaios ecotoxicológicos, excluindo variáveis além do efeito do biossólido. O solo artificial foi originalmente descrito no protocolo 207 (OECD,1984), sendo composto por 10% de turfa, 20% de caulim e 70% de areia fina. Passou a ser denominado solo artificial tropical (SAT), após a substituição da turfa por fibra de coco. O solo artificial tropical segundo orientações de Garcia (2004) e referendado pela norma NBR ISO 15537 (ABNT, 2007) é composto por 5 % de fibra de coco, 22,5% de caulim e 72,5% de areia. A areia, obtida na Embrapa Agrobiologia, foi passada em peneirae submetida à secagem em estufa de circulação forçada de ar a  $105 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , por 24horas. A fibra de coco adquirida foi o substrato agrícola Golden Mix granulado T-80, da Amafibra, que por ser um material lavado, inerte, livre de agrotóxicos é adequado ao emprego em ensaios ecotoxicológicos. A fibra também foi seca em estufa de circulação forçada de ar a  $60^{\circ}\text{C}$ , sendo revolvida até completa secagem. O caulim usado foi o Caulim Branco 325, da

Inducal, vendido em sacos de 25 kg de elevada pureza mineralógica. O pH foi ajustado para o valor de  $6,0 \pm 0,5$ , com adição de  $\text{CaCO}_3$  quando necessário. As amostras de solo foram peneiradas com malha de 2 mm e adicionadas diferentes doses do bio sólido.

### 3.3 Solo Natural

Foram utilizados nos ensaios dois tipos de solo: predominantemente arenoso (Planossolo) e predominantemente argiloso (Argissolo), oriundos do Campo Experimental da Embrapa Agrobiologia (Terraço), em Seropédica – RJ. O solo utilizado foi retirado da camada superficial com o objetivo de simular o processo de fertilização em áreas agrícolas. Planossolo e Argissolo são muito comuns no estado do Rio de Janeiro e apresentam características bastante distintas. O primeiro é formado por grãos pequenos e compactos que promovem intensa retenção de água e nutrientes. O segundo apresenta grande porosidade por onde circula a água carreando nutrientes, reduzindo a matéria orgânica e tornando-o mais seco. Estas características podem interferir na toxicidade de um resíduo quando disposto no solo, por isso foram selecionados como substrato para os ensaios com diferentes doses do bio sólido. As amostras de terra referentes à camada superficial (20 cm) de Argissolo Vermelho-Amarelo e de Planossolo Háptico Distrófico tiveram suas caracterizações químicas e físicas realizadas, respectivamente, no Laboratório de Química Agrícola da Embrapa Agrobiologia e no Laboratório de Análise de Solos, Plantas e Resíduos da UFRRJ, segundo tabelas 5 e 6, acrescentando a ambas diferentes doses de bio sólido gerado na ETE da Ilha do Governador.

**Tabela 5.** Caracterização química dos solos naturais Argissolo Vermelho-Amarelo e Planossolo Háptico Distrófico na profundidade de 0-20 cm, coletado em Seropédica – RJ.

Na	Ca	Mg	H+Al	Al	S	T	V	pH <sub>água</sub>	C-org	P	K	CE
cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>								%		g kg <sup>-1</sup>	mg L <sup>-1</sup>	dS m <sup>-1</sup>
Argissolo Vermelho-Amarelo												
0,03	1,82	0,81	3,07	0,05	2,73	5,80	47	5,40	6,5	2,15	29	0,025
Planossolo Háptico Distrófico												
0,03	0,50	0,60	1,8	0,2	1,80	5,40	28	5,20	5,10	2,08	24	0,041

CE = condutividade elétrica

SiBCS = Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (EMBRAPA, 2013).



**Tabela 6.** Composição granulométrica do solo natural, Argissolo Vermelho-Amarelo e do solo Planossolo Háptico Distrófico na profundidade de 0-20 cm, coletado em Seropédica – RJ.

Argissolo Vermelho- Amarelo	
Argila Natural (g kg <sup>-1</sup> )	240
Argila Total (g kg <sup>-1</sup> )	370
Areia Total (g kg <sup>-1</sup> )	570
Areia Grossa (g kg <sup>-1</sup> )	390
Areia Fina (g kg <sup>-1</sup> )	180
Silte (g kg <sup>-1</sup> )	70
Grau de Floculação (g kg <sup>-1</sup> )	350
SiBCS simplificada	argiloso
Planossolo Háptico Distrófico	
Terra fina (g kg <sup>-1</sup> )	1000
Argila Total (g kg <sup>-1</sup> )	60
Areia Total (g kg <sup>-1</sup> )	868
Areia Grossa (g kg <sup>-1</sup> )	653
Areia Fina (g kg <sup>-1</sup> )	215
Silte (g kg <sup>-1</sup> )	72
Grau de Floculação (g kg <sup>-1</sup> )	83
SiBCS simplificada	arenoso

SiBCS = Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (EMBRAPA, 2013)

### 3.4 Parâmetros Físicos e Físico-químicos

Para cada concentração de bio-sólido em Planossolo e Argissolo, foram avaliados os seguintes parâmetros: densidade, capacidade de campo, pH condutividade, salinidade e, nos ensaios com organismos aquáticos, turbidez.

Para determinar a densidade, após secagem em estufa durante 24 horas a 36 graus, foram pesados, em balança analítica, 20 mL de cada concentração, calculando-se a densidade através da fórmula:  $d = m / v$ .

Para determinar a condutividade, o pH, a salinidade, e a turbidez, a 10g de cada concentração foram adicionados 50 ml de água destilada sendo a mistura homogeneizada em agitador magnético durante 30 minutos. Após 30 minutos de repouso, foram realizadas as medidas no sobrenadante utilizando pHmetro, condutivímetro, salinômetro e turbidímetro.

Todos os substratos foram hidratados em 60% da capacidade de retenção de água (CRA) calculada de acordo com a fórmula:

$$CRA = (Ms - Mt - \frac{Mp}{Mp}) \times 100$$

Sendo:

**Ms** = massa do solo teste saturado de água, da proveta, do funil e do papel de filtro;

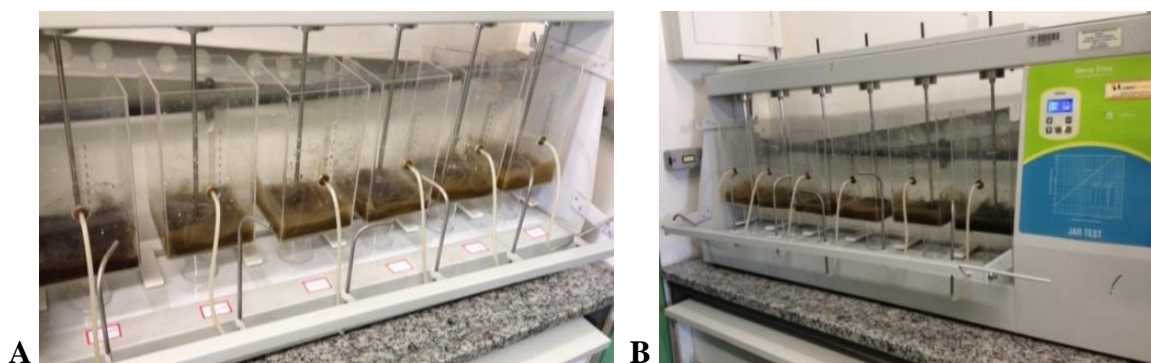
**Mt** = massa da proveta, do funil e do papel de filtro; e

**Mp** = massa do solo seco (NBR 11269. ABNT,2014).

As análises de macronutrientes do bio-sólido foram realizadas no Laboratório de Química Agrícola da Embrapa e as análises de metais por absorção atômica no laboratório E.P. Analítica do grupo E.P. Engenharia do Processo.

### 3.5 Preparo do Elutriato. NBR ISO 15469 (ABNT, 2015)

Todos os testes com organismos aquáticos foram realizados a partir do elutriato, onde os dois tipos de solo seco com concentrações crescentes de biossólido foram misturados à água de diluição na proporção 1:4. Para uso posterior com as algas foi preparada com o meio de cultura MBL composto por 14 micro e macronutrientes e vitaminas (STEIN, 1979), para as *Daphnias*, com a água mineral e para os peixes, com a água do aquário onde foram aclimatados. A mistura foi submetida à agitação em Shaker ou Jar Test durante um período de 20 a 24 horas, a temperatura inferior de 25°C, em uma velocidade de agitação entre 150 a 180 rpm. Após 2 a 3 horas de decantação, o sobrenadante foi submetido à centrifugação durante 30 minutos a 2.000 rpm. No caso dos aquários para peixes, como o volume de água necessário ao ensaio é bem maior, foi sedimentado durante 6 horas e o sobrenadante filtrado. O início dos ensaios não ultrapassou 24 hs da produção do elutriato, conforme determina a NBR15469 (ABNT, 2015).



**Figura 3. A e B** - Amostras do elutriato agitadas no Jar Test no Laboratório de Biorremediação e Fitotecnologias (LABIFI-UERJ).

### 3.6 Ensaios de Ecotoxicologia Aquática

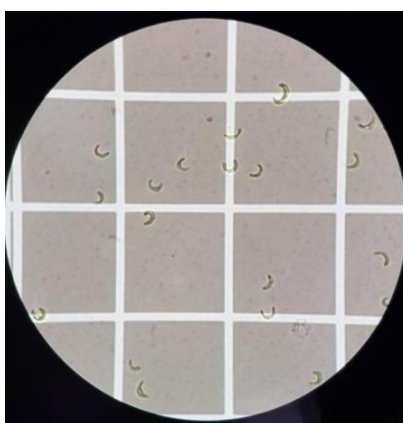
#### 3.6.1 Ensaio de inibição de crescimento algal com *Raphidocelis subcapitata*, anteriormente denominada *Pseudokirchneriella subcaptada*. NBR ISO 12648 (ABNT, 2011)

O ensaio crônico avalia a  $CI_{50}$  (concentração da amostra que causa inibição de 50% no crescimento da biomassa algal nos recipientes testes, quando comparado ao controle, sob as mesmas condições de ensaio). Os testes foram realizados com culturas axênicas (monoespecíficas e isentas de contaminação microbiana), mantidas em condições controladas de temperatura e luminosidade. Uma vez ao mês as culturas foram submetidas a testes de sensibilidade com Cloreto de Sódio (NaCl). O valor obtido neste ensaio deve estar compreendido em um intervalo de  $\pm 2$  desvios-padrão em relação aos valores médios obtidos na carta controle. O ensaio durou 96 horas, o elutriado foi preparado com meio de cultura e o inóculo foi utilizado a partir da cultura em fase exponencial de crescimento. As concentrações teste foram: 6,25; 12,5; 25; 37,5 e 50% de biossólido no elutriato mais o controle, com 3 réplicas por unidade experimental. A temperatura foi mantida em  $25 \pm 2$  °C e a iluminação contínua, maior do que 4.500 luxes. Para manter a velocidade de agitação, a temperatura e a iluminação exigidas para a realização do ensaio, as amostras foram colocadas sobre o agitador, presas, e colocadas no interior da câmara de germinação, em condições de temperatura e iluminação controladas. Com o auxílio de uma pipeta estéril 3 ml do inóculo com biomassa algal =  $40 \times 10^4$ / ml foi transferido para frascos contendo 27 ml do elutriato originando uma concentração inicial de células em cada recipiente teste =  $4 \times 10^4$ .



**Figura 4.** Montagem do ensaio de inibição de crescimento algal.

A- Amostras no agitador. B- Amostras na BOD mantidas sob agitação. C- Crescimento algal em amostras com diferentes concentrações do biossólido.



**Figura 5.** Células na câmara de Neubauer para contagem em microscópio óptico.

**Cálculo do crescimento algal:**

$$C = Nf - No/T$$

Sendo:

**Nf** = número final de organismos;

**No** = número inicial de organismos; e

**T** = intervalo de tempo.

**Inibição de crescimento algal:**

$$I = Cc - Ct/Cc \times 100$$

Sendo:

**Cc** = crescimento no controle; e

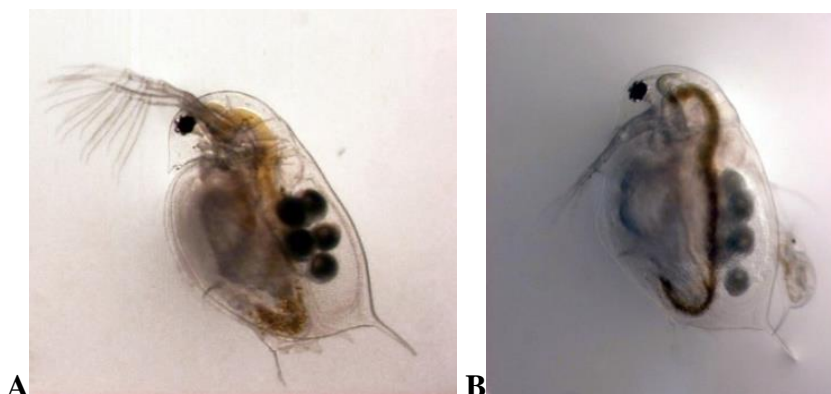
**Ct** = crescimento nas soluções teste.

O ensaio foi realizado no Laboratório de Tecnologia Ambiental da UERJ.

### 3.6.2 Ensaio de imobilidade com o cladócer zooplancctônico *Daphnia magna*. NBR ISO 12713 (ABNT, 2016)

Neonatos de cladóceros zooplancctônicos aquáticos do gênero *Daphnia*, espécie *Daphnia similis* são obtidos por partenogênese, a partir da segunda postura e devem atender aos seguintes requisitos: neonatos com idade entre 6 h e 24 h, obtidos a partir de fêmeas com idade entre 7 dias e 28 dias. A realização do ensaio com substância de referência deve ser realizada em paralelo com cada lote de organismos utilizados. Se o resultado de uma série de

ensaios for consistente, isto é, com coeficiente de variação (CV) menor que 30%, esta frequência pode ser espaçada para no mínimo a cada 30 dias. Como substância de referência, podem ser utilizadas o cloreto de sódio (NaCl), cloreto de potássio (KCl), sulfato de cobre pentahidratado ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ), dodecil sulfato de sódio (DSS). A escolha da substância de referência deve ser realizada com critério, levando em conta potenciais riscos à saúde humana e ao ambiente. O valor obtido no ensaio com a substância de referência deve estar compreendido em um intervalo de  $\pm 2$  desvios-padrão em relação aos valores médios anteriormente obtidos para a mesma espécie, que corresponde à carta-controle.



**Figura 6.** Fêmeas da espécie *Daphnia magna* capazes de gerar descendentes para o ensaio. **A** -Exemplar 7 a 14 dias. **B**-Exemplar 14 a 21 dias. (Fonte ABNT, 2016)

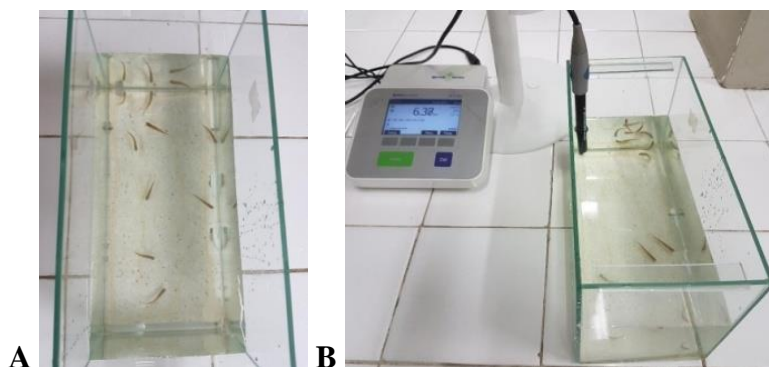
O ensaio foi realizado com elutriato utilizando-se água mineral, onde os organismos se encontravam cultivados e aclimatados como água de diluição o período de exposição foi de 48 horas e o efeito observado imobilidade. As concentrações testadas foram 12,5; 25; 37,5; 50 e 62%, além do controle. Foram usadas quatro réplicas por tratamento com 5 organismos em cada uma delas. A temperatura durante o ensaio foi mantida em  $20 \pm 2$  °C e fotoperíodo de 12 horas. Os organismos não foram alimentados durante o ensaio. Os resultados foram considerados válidos pois, no término do período de ensaio, a porcentagem dos organismos imóveis no controle for inferior ou igual a 10 %. Os resultados foram expressos em  $\text{CE}_{50}$  (imobilidade). O ensaio foi realizado no Laboratório de Biorremediação e Fitotecnologias (LABIFI-UERJ).

### **3.6.3 Ensaio de letalidade com peixes nectônicos da espécie *Danio rerio*. NBR ISO 15088 (ABNT, 2016)**

Conhecido vulgarmente como paulistinha ou zebra-fish, peixe originário da Índia e do Paquistão, atua como consumidor secundário. É ovíparo e omnívoro, com o comprimento variando entre 2,0 e 4,0 cm e amplamente utilizado em testes de ecotoxicidade. A água de cultivo utilizada na manutenção dos organismos teste foi água de abastecimento desclorada, com pH entre 6,5 e 7, temperatura entre 23 e 27 °C. O teor de oxigênio dissolvido (OD), permaneceu acima de 4 mg/L, o fotoperíodo entre 12 a 16 horas de luz difusa e a dureza da água entre 10 e 60 mg  $\text{CaCO}_3/\text{L}$ . Nestas condições, os peixes foram aclimatados 7 dias antes do ensaio. Os organismos só podem ser utilizados se não apresentarem, neste período, sinais de estresse como: comportamento anormal, hemorragias, mucosidade excessiva ou letalidade acima de 5% no lote. Mensalmente, a sensibilidade dos organismos foi avaliada através de

uma substância de referência. No caso do *Danio rerio*, a substância é dicromato de potássio ( $K_2Cr_2O_7$ ) e a  $CL_{50}$  deve estar entre 70 e 140 mg/L da substância de referência.

A água de diluição utilizada nas soluções teste foi aquela de aclimação do aquário. O ensaio utilizado foi o estático onde não há renovação da substância teste com duração de 48 horas. As concentrações testadas foram: 12,5; 25; 37,5 50 e 62% além do controle com 1 réplica por tratamento. Em cada unidade experimental foram colocados 10 organismos adultos, com tamanho variando entre 10 e 30 mm. A temperatura durante o ensaio foi de  $25 \pm 2$  °C e o fotoperíodo de 12 horas. Os animais não foram alimentados durante o ensaio. O ensaio foi considerado válido, pois houve sobrevivência de, no mínimo, 90% dos organismos no aquário controle. A cada 24 horas foram medidas: temperatura, pH e condutividade, OD (oxigênio dissolvido) e, no início do teste, além destes parâmetros também foram medidos, salinidade e turbidez. Os ensaios foram realizados no Laboratório de Bioensaios do IFRJ.



**Figura 7.** Montagem do experimento de letalidade com *Danio rerio*.  
**A** - Unidade experimental. **B** – Avaliação de parâmetros físico-químicos.

### 3. 7 Ecotoxicologia Terrestre

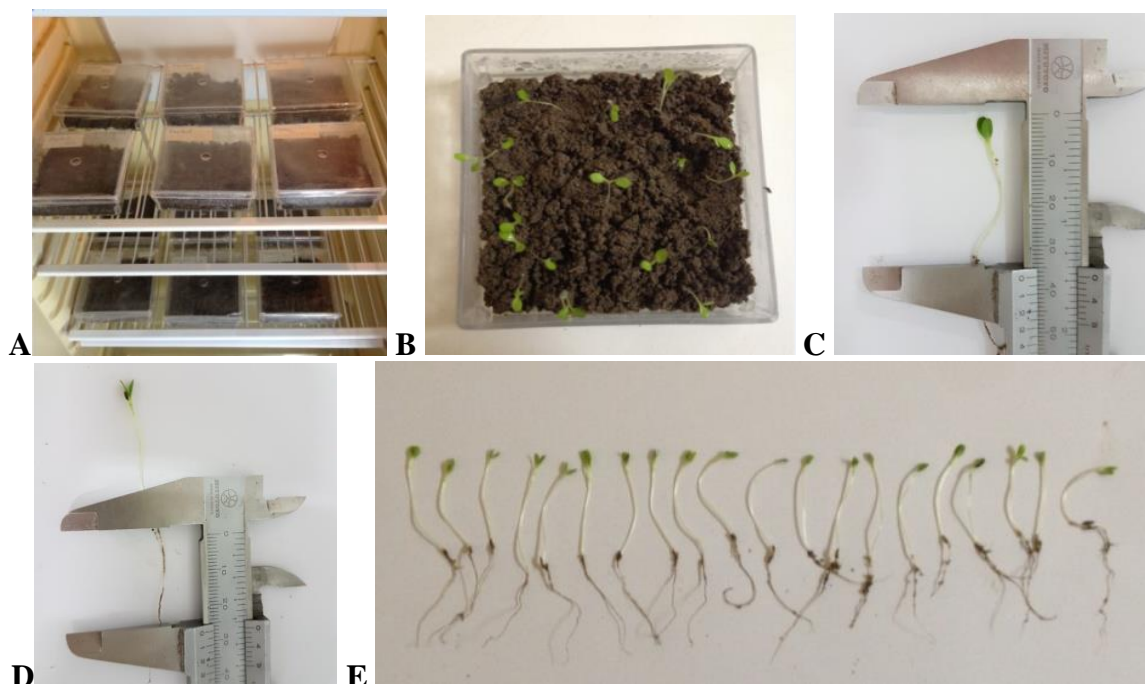
#### 3.7.1 Ensaio de inibição de germinação de sementes. NBR ISO 11269 (ABNT, 2014)

O ensaio foi conduzido utilizando dois tipos de sementes: de alface (*Lactuca sativa*) e da leguminosa arbórea *Mimosa caesalpinifolia*, conhecida vulgarmente como sabiá ou sansão-do-campo. Foram avaliados os efeitos de diferentes concentrações do biossólido adicionado ao Argissolo e ao Planossolo sobre a germinação de sementes (NBR11269), o tamanho do hipocótilo e da raiz. O delineamento experimental utilizado foi completamente casualizado e a viabilidade das sementes avaliada (BRASIL, 1992). Os ensaios foram realizados no Laboratório de Bioensaios do IFRJ.

##### *a. Lactuca sativa*

Os testes de germinação (TG) com *Lactuca sativa* variedade Regina foram realizados com 5 sub amostras de 20 sementes distribuídas em caixas plásticas do tipo gerbox, medindo 11x11 cm. Em cada caixa foram adicionadas as sementes sobre 150 g de substrato composto de solo acrescido de diferentes concentrações (12,5; 25; 37,5; 50; 62,5) de biossólido e hidratados. Em seguida, as caixas foram colocadas em BOD a  $25^{\circ}C \pm 2$  e fotoperíodo de 12 horas. Aos 7 e 10 dias foi realizada avaliação do número de plântulas que emergiram, assim como os tamanhos de hipocótilo e raiz.

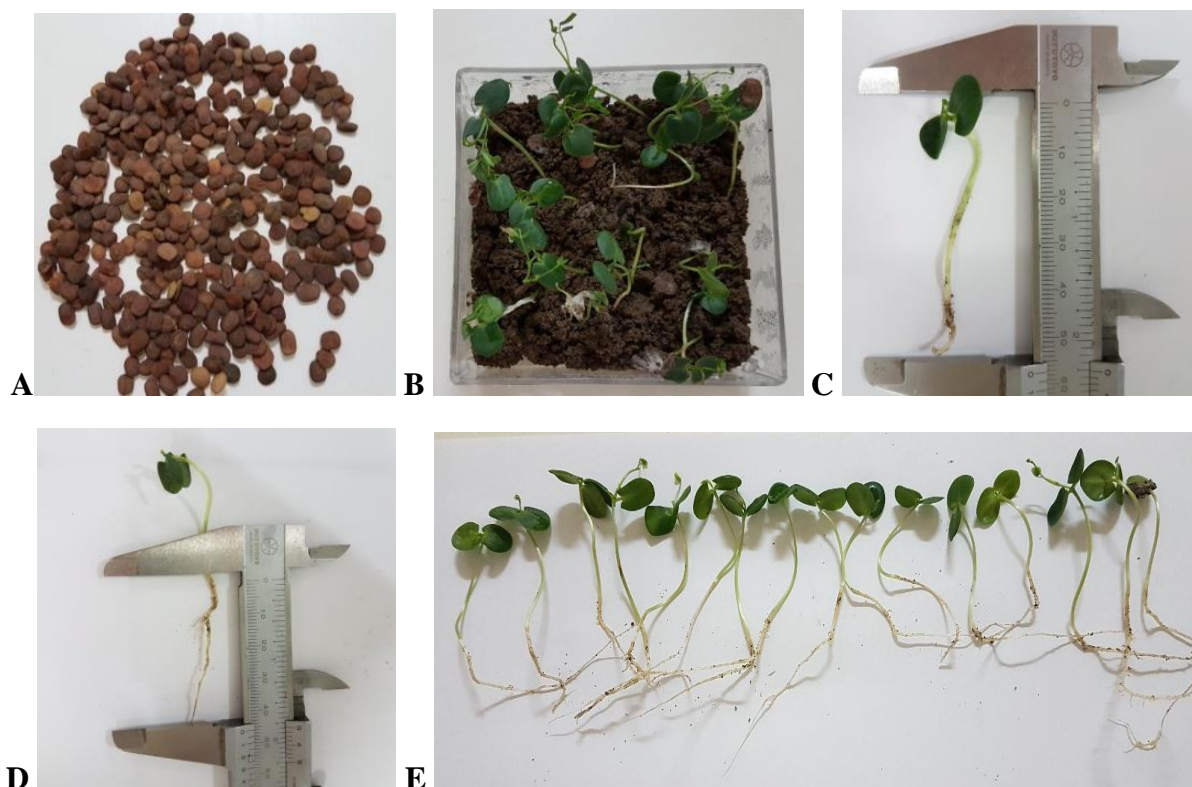




**Figura 8.** Montagem do ensaio de inibição da germinação de sementes de *Lactuca sativa*. **A** - Unidades experimentais em BOD. **B**- Crescimento no controle após 7 dias. **C** – Medida do hipocótilo . **D** – Medida da raiz . **E** - Observação da integridade dos cotilédones e da raiz.

**b. *Mimosa caesalpinifolia***

Nos testes de germinação (TG) com *Mimosa caesalpinifolia*, antes do início do ensaio foi realizado o teste de viabilidade com as sementes (BRASIL, 1992), coletadas em agosto de 2015 na área experimental da EMBRAPA. As sementes foram tratadas com ácido sulfúrico 95% PA durante 10 minutos para quebra de dormência e, em seguida, lavadas em água corrente. Vinte e cinco sementes foram distribuídas em caixas plásticas do tipo gerbox, medindo 11x11 cm com 4 réplicas para cada tratamento. (12,5; 25; 37,5; 50) de biossólido e hidratados. Em seguida, as caixas foram colocadas em BOD a  $30^{\circ}\text{C}\pm 2$  e fotoperíodo de 12 horas. Aos sete e 10 dias foi realizada avaliação do número de plântulas que emergiram, assim como os tamanhos de hipocótilo e raiz.



**Figura 9.** Montagem do ensaio de inibição da germinação de sementes de *Mimosa caesalpinifolia*.

**A-**Sementes após tratamento com ácido sulfúrico. **B-** Crescimento no controle após 10 dias. **C-** Medida das plântulas. **D** - Medidas da raiz. **E-** Observação da integridade dos cotilédones e da raiz.



**Figura 10.** Diferença entre os hipocótilos de *Mimosa caesalpinifolia* (esquerda) e *Lactuca sativa* (direita) após 10 dias de semeadura.

### 3.7.2 Ensaio de fuga

#### a. *Eisenia andrei*. NBR ISO 1752-1 (ABNT, 2011)

Os invertebrados terrestres foram cultivados e os ensaios realizados no Laboratório de Fauna do Solo da EMBRAPA Agrobiologia. Adultos foram mantidos em esterco bovino curtido até produzirem ovos isolados para eclosão, obtendo-se assim juvenis com a mesma idade (sincronizados) que servem como organismos teste após dois meses de idade, quando estão clitelados.

Este é um ensaio sub-letal que avalia a tendência de um organismo a evitar o solo teste, preferindo o solo controle. No início do teste, os recipientes são divididos em duas seções verticais idênticas com o auxílio de uma placa de plástico ou metal e preenchidos com solo hidratado a 60% da capacidade de campo até a altura de, aproximadamente, 60 mm. Uma das partes é preenchida com o solo teste e a outra com o solo controle (sem contaminante). Depois de preenchidas as seções, o separador é removido e 10 minhocas cliteladas são colocadas na linha de separação. São montadas cinco réplicas por concentração. Há ainda o controle onde as duas seções são preenchidas com o solo sem contaminante também chamado de dual test. Para que o teste possa ser considerado válido deve haver uma distribuição equitativa quando as duas seções são preenchidas com solo controle (sem contaminantes). Segundo a norma se há uma fuga superior a 80% para o solo controle, há indicação de limitação na função de habitat e a substância teste pode causar impacto negativo ao ambiente.

Os recipientes são fechados e colocados na sala de incubação com temperatura de  $20 \pm 2$  °C e com uma fonte de luz capaz de liberar 400lx a 800lx sobre os recipientes em um ciclo entre 12/12 e 16/8h claro/escuro. As concentrações de biossólido usadas foram: 15, 30, 45, 60 e 75%. Os animais não são alimentados durante o teste que dura 48hs. Após o final deste período, os divisores são novamente inseridos, e a terra de cada uma das seções é retirada, sendo contadas as minhocas que estavam em cada seção. O teste é considerado inválido se mais de uma minhoca por recipiente estiver morta ou perdida ao final do ensaio.



**Figura 11.** Montagem do ensaio de fuga com *Eisenia andrei*.

**A** - Preenchimento das duas seções das unidades experimentais. **B** - Introdução dos organismos. **C** - Unidades experimentais prontas para o início do teste.

Para o cálculo da percentagem do efeito de cada concentração, a média de minhocas no solo teste é comparada com a média no solo controle de acordo com a fórmula:

$$X = \left( \frac{nc - nt}{N} \right) \times 100$$

Sendo:

**X** – Fuga expressa em %

**nc** – Número de minhocas no controle em todas as réplicas

**nt**- Número de minhocas no solo teste em todas as réplicas

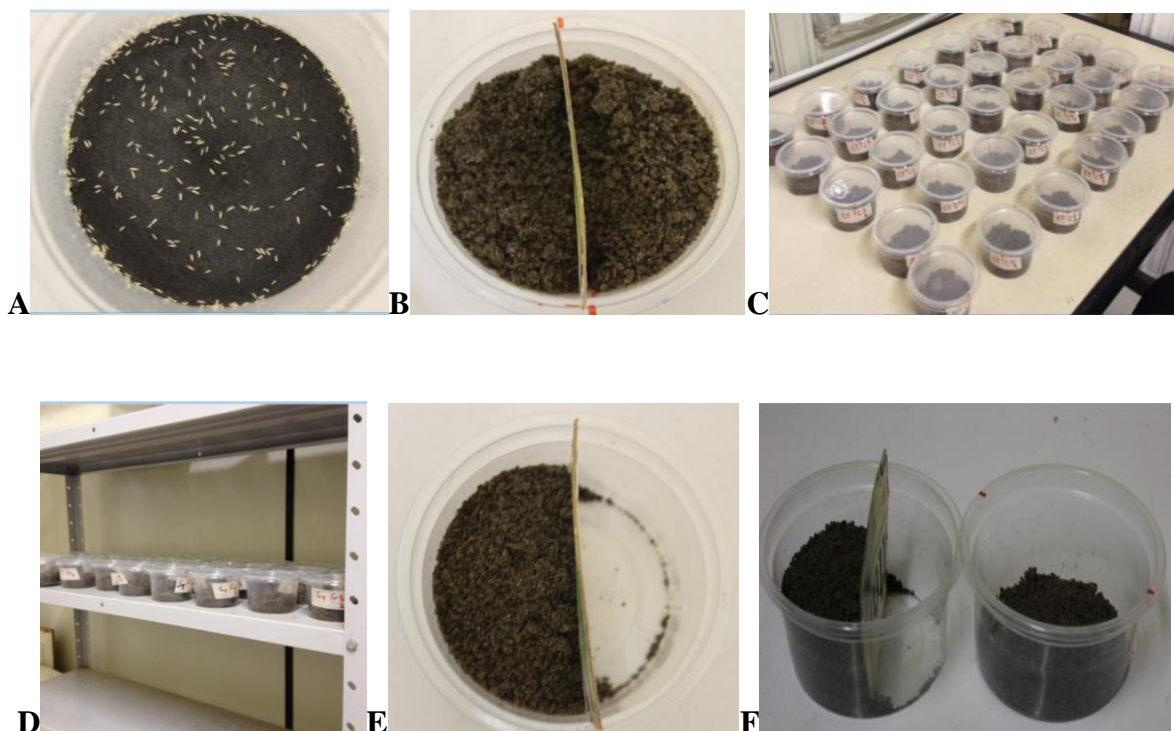
**N**- Número total de minhocas em todas as réplicas

#### **b. *Folsomia candida* (NATAL DA LUZ, 2009)**

Os organismos foram cultivados no Laboratório de Fauna do Solo da EMBRAPA Agrobiologia. Adultos foram mantidos em meio sólido de carvão ativado e gesso, na proporção 1:5. Os ovos foram retirados e, entre 8 e 10 dias, eclodiram os juvenis que foram usados no teste entre o 10° e 12° dia após o nascimento (ensaio sincronizado). O teste segue o mesmo princípio do ensaio de fuga com minhocas. Tem a duração de 48 horas, 50 g de solo em cada unidade experimental. As concentrações do biossólido foram: 6,25; 12,5; 25; 37,5;



50, além do controle, com 5 réplicas por tratamento e 10 organismos em cada réplica. Ao final do teste, cada uma das partes do solo é separada em um recipiente transparente e adicionada água para que os organismos flutuem e possam ser contados.

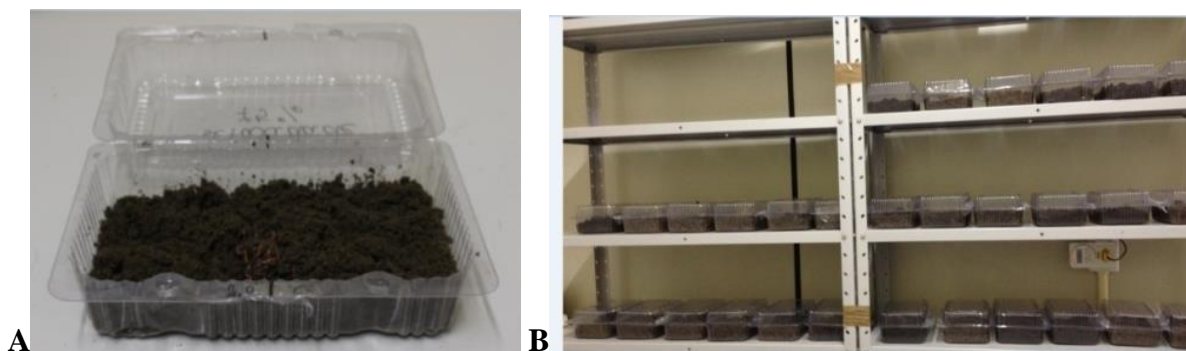


**Figura 12.** Montagem do ensaio de fuga com *Folsomia candida*.

**A** - *Folsomia candida* no meio de cultivo. **B** - Preparo das duas seções do ensaio de fuga. **C** - Unidades experimentais prontas para o início do teste **D** - Unidades experimentais dispostas em sala climatizada. **E**- Retirada do solo de uma das seções. **F** - Preparo para a contagem.

### 3.7.3 Ensaio de letalidade – *Eisenia andrei*. NBR ISO 15537 (ABNT, 2014)

O ensaio consiste na exposição de minhocas adultas a diferentes concentrações de contaminante. A letalidade deve ser registrada no 7º e no 14º dias, sendo o organismo considerado morto quando não responder a estímulo mecânico provocado por uma pinça na parte anterior do corpo. Cada unidade experimental continha 500g de solo arenoso ou argiloso com diferentes concentrações do contaminante: 15; 30; 45; 60 e 75% e 4 réplicas por tratamento. Os organismos utilizados (10 em cada réplica) foram adultos pesando entre 300 e 600 mg não foram alimentados durante o ensaio. A temperatura foi mantida em  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  e o fotoperíodo de 12 horas.



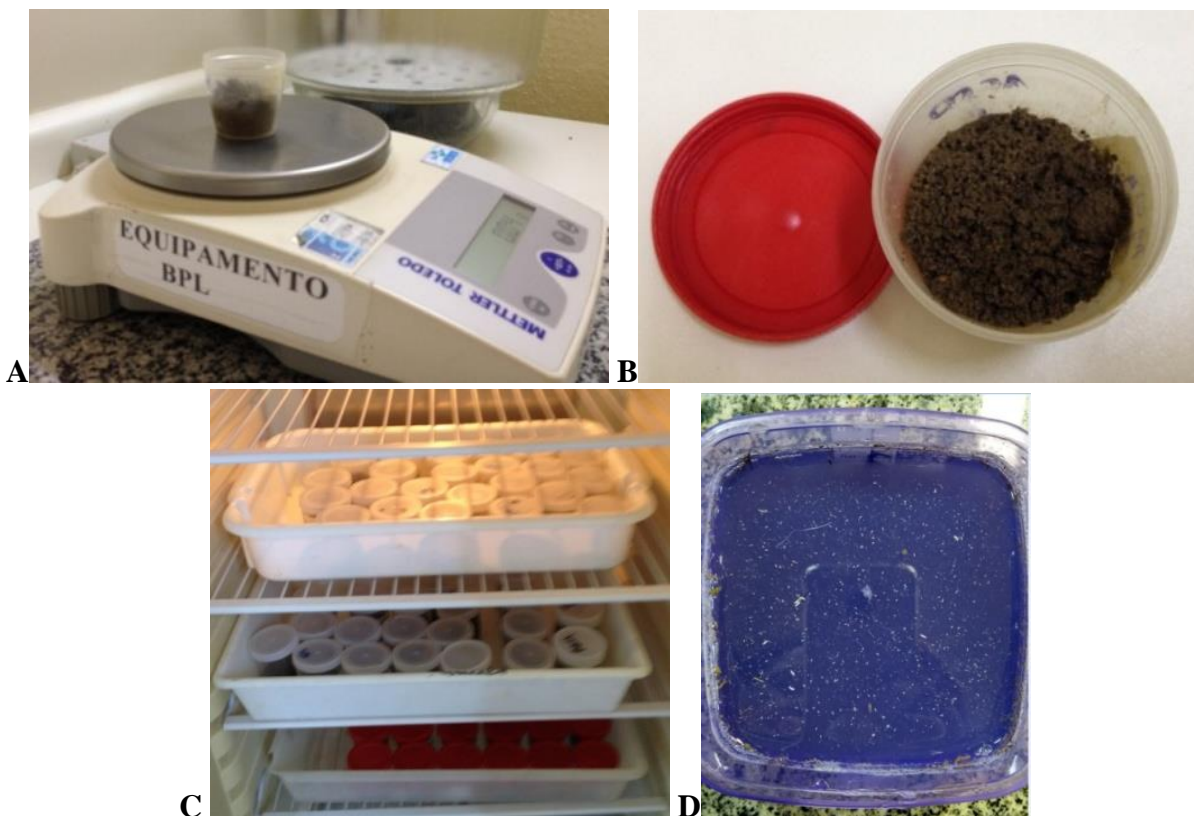
**Figura 13.** Montagem do ensaio de letalidade em *Eisenia andrei*.

**A** - Unidades experimentais prontas para o início do teste. **B** - Unidades experimentais dispostas em sala climatizada.

### 3.7.4 Ensaio de Reprodução

#### a. *Folsomia candida*. NBR ISO 11267 (ABNT, 2011)

Este ensaio consiste em expor colêmbolos juvenis ao solo acrescido de diferentes concentrações do contaminante, comparando a taxa de reprodução com aquela do controle. Os organismos foram colocados em 30g de solo hidratado em frascos com tampa de rosca e mantidos durante 28 dias na BOD. Em cada frasco foram colocados 10 organismos, com idades variando entre 10 e 12 dias (ensaio sincronizado). As concentrações do contaminante foram: 6,25; 12,5; 25; 37,5 e 50% com 5 réplicas para cada unidade experimental. A cada semana foram alimentados com levedura seca granulada e a umidade do solo foi ajustada sendo mantidos a uma temperatura de  $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ . Após 28 dias, o conteúdo dos frascos foi transferido para um recipiente de plástico transparente, adicionando-se água e três gotas de tinta azul de carimbo para facilitar a visualização. Os adultos foram contados, determinando-se a letalidade, e os juvenis foram fotografados e contados posteriormente com o programa “Image Toll 3,0”. Validação do teste: presença de 100 indivíduos, no mínimo no controle.

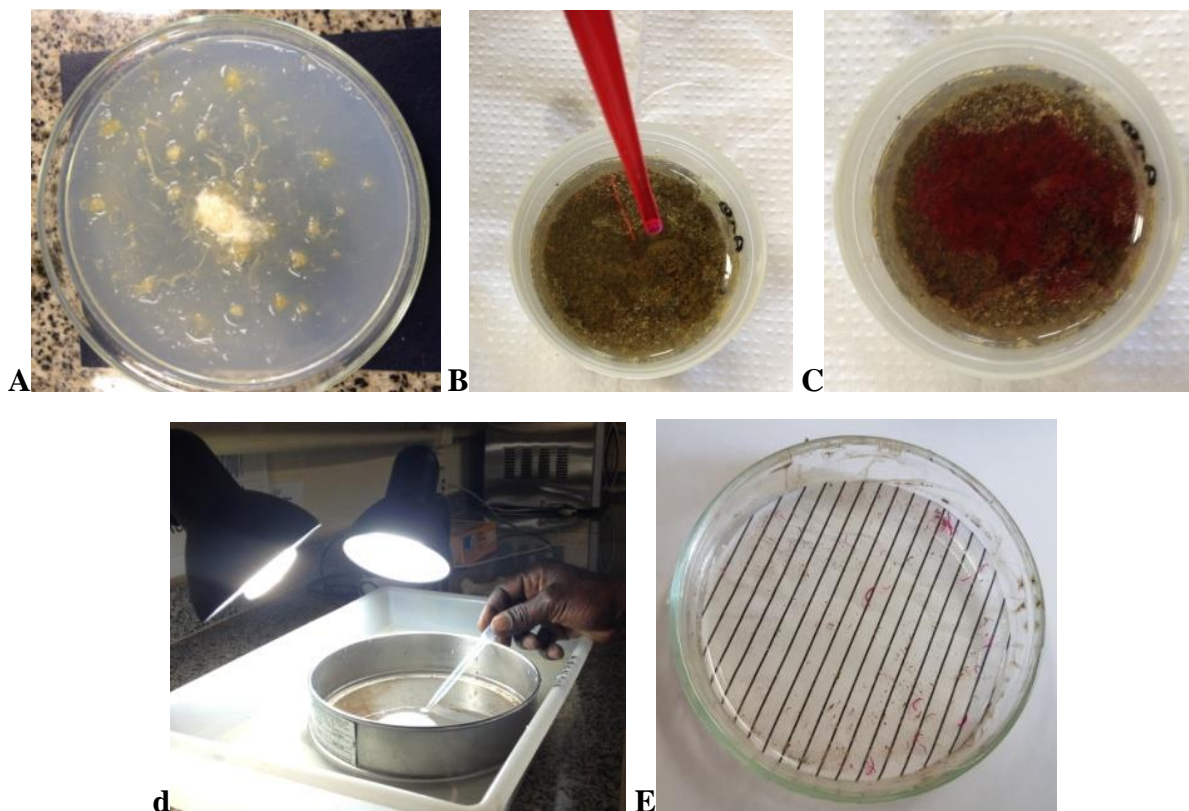


**Figura 14.** Montagem do ensaio de reprodução com *Folsomia candida*.

**A** - Frasco com tampa de rosca e 30 g de solo. **B** - Unidade experimental pronta para o início do teste com 10 organismos em cada. **C** - Unidades experimentais dispostas BOD. **D** - Conteúdo dos frascos após adição de água e três gotas de tinta azul usada para carimbo.

**b. *Enchytraeus crypticus*. NBR16387 (ABNT, 2012)**

A avaliação da inibição da reprodução segue o mesmo princípio da realizada com colêmbolos, comparando a reprodução nos diferentes tratamentos com aquela do controle. Os enchytraídeos foram mantidos em meio de cultura em placas de Petri na BOD até se tornar adultos (clitelados). Dez indivíduos foram colocados em frascos transparentes com tampa de rosca e 30 g de solo com concentrações de contaminante de: 6,25; 12,5; 25; 37,5 e 50 % com 5 réplicas por tratamento e controle e mantidos na BOD com temperatura de  $20 \pm 2$  °C por 21 dias. A alimentação (farinha de aveia) foi administrada a cada 7 dias, quando a umidade do solo foi ajustada para manter a hidratação original. Ao final do ensaio, após verter em cada frasco álcool 70% até cobrir todo o solo, foi adicionado o corante rosa de bengala em 1% de etanol (5 gotas). Após 48 horas, todos os organismos já estavam corados, foram triados em água destilada em uma peneira de 1 mm e colocados em placas de Petri, sendo contados com o auxílio de um microscópio estereoscópico.



**Figura 15.** Montagem do ensaio de reprodução com *Enchytraeus cripticus*.

**A** - Meio de cultura com adultos clitelados. **B** - Unidade experimental com o solo coberto por álcool 70% e corado com rosa de bengala. **C** - Unidade experimental após 48 horas pronta para a leitura. **D** - Triagem dos organismos. **E** - Contagem dos organismos juvenis e adultos.

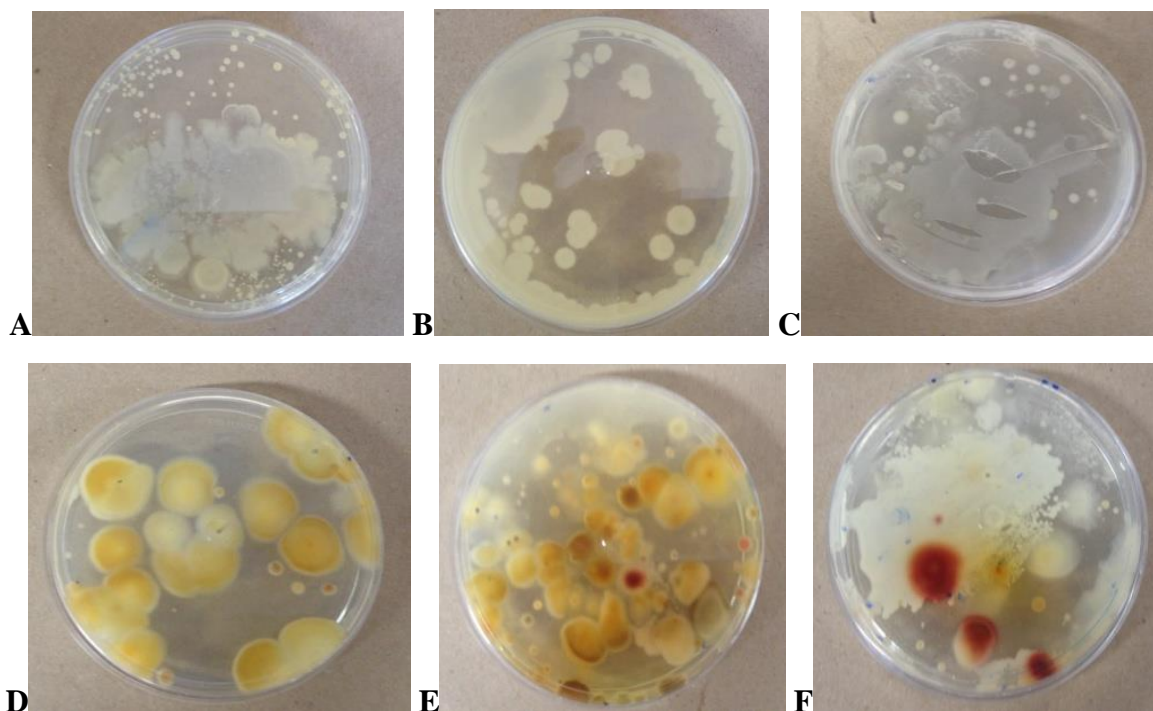
### 3.7.5 Avaliação da densidade microbiana

Tanto o Argissolo quanto o Planossolo foram tratados com doses de 0, 25, 50 e 75 e 100% do biossólido e 1% de glicose, hidratados a 60% da capacidade de retenção de água e, em intervalos de 0, 7, 14 e 21 dias foram realizadas as contagens. Cada amostra foi homogenizada em solução salina (0,9%) sendo realizadas diluições seriadas até  $10^{-6}$  e inoculadas pela técnica de espalhamento em superfície (Spread Plate). Os meios de cultura utilizados foram: ágar padrão de contagem (PCA) acrescido do anti-fúngico Nistatina para crescimento de bactérias e Sabouraud acrescido do antibiótico Amoxicilina para o crescimento de fungos. Foram usadas triplicatas para cada diluição, 3 diluições por tratamento e incubadas a 28°C durante 48h (bactérias) e 72 horas (fungos). Após o crescimento, foram selecionadas as placas contendo entre 30 e 300 colônias e contadas utilizando o contador de colônias.

O número de unidades formadoras de colônias (UFC) da amostra foi calculado utilizando a seguinte fórmula:

**UFC/mL** = número de colônias x fator de diluição x 10 e o resultado foi expresso em UFC/g de substrato/solo seco.





**Figura 16.** Montagem do ensaio de Densidade Microbiana. Exemplos de placas utilizadas na contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) de fungos e bactérias.

**A** - Bactérias em solo arenoso e 75% de biossólido. **B** - Bactérias em solo arenoso e 50% de biossólido. **C** - Bactérias em solo argiloso e 50% de biossólido. **D** - Fungo 100% de biossólido. **E** - Fungos em solo arenoso e 75% biossólido. **F** - Fungos em solo argiloso e 75% biossólido.

Os Ensaio foram realizados no laboratório de microbiologia do IFRJ.

### 3.7.6 Ensaio respirométricos

A capacidade de degradação de matéria orgânica é considerada a atividade mais importante da microbiota do solo e está intimamente relacionada ao seu metabolismo.

Assim, podemos aferir redução ou aumento no metabolismo destes organismos medindo sua respirometria utilizando-se sistemas especiais denominados respirômetros constituídos por duas câmaras interligadas.

O ensaio respirométrico consiste de um sistema de circulação de ar isento de  $\text{CO}_2$  impulsionado por um compressor, garantindo a passagem constante de  $\text{O}_2$  e permitindo que o mesmo não seja um fator limitante para o metabolismo microbiano. Em uma das câmaras (Kitassato) é colocado o solo controle ou o solo com a adição de diferentes concentrações do contaminante e na outra (frasco lavador de gases) a solução de  $\text{Na OH}$  0,5M absorvedora de  $\text{CO}_2$ . O gás carbônico desprendido da atividade microbiana é recolhido nessa segunda câmara, contendo solução de  $\text{Na OH}$  de concentração e volumes conhecidos (armadilha de  $\text{CO}_2$ ).

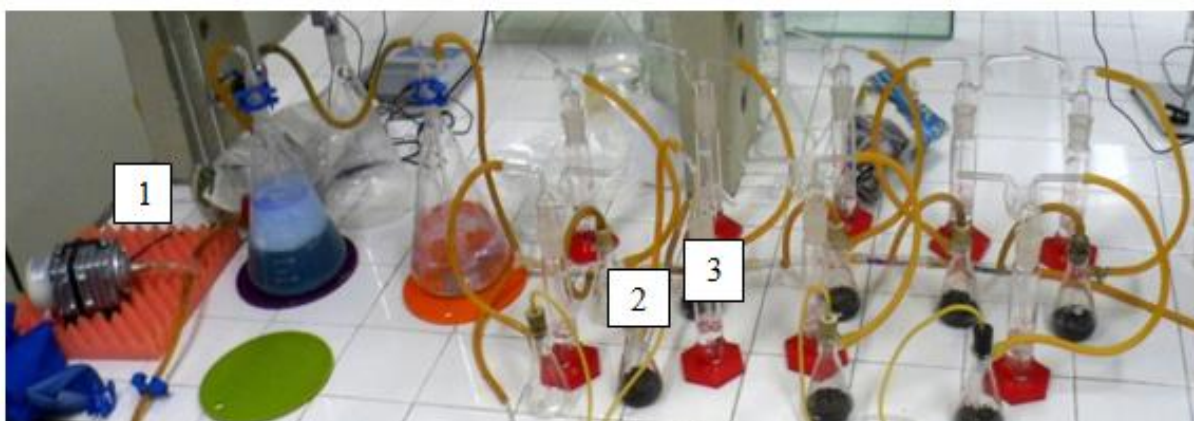
Em intervalos periódicos a solução da armadilha é removida e o  $\text{Na OH}$  residual determinado pela titulação com ácido. É retirada uma alíquota de 5 mL da solução de  $\text{Na OH}$  que capturou o gás liberado pelos microrganismos do solo, adiciona-se 1 mL de  $\text{BaCl}_2$ , 10 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  para melhor visualização do ponto de viragem, 2 gotas de indicador fenolftaleína e por fim realiza-se uma titulação ácido base utilizando  $\text{H Cl}$  0,5 molar ou 0,5M. Sabendo-se quanto sobrou de  $\text{Na OH}$ , sabe-se quanto foi consumido por reagir com o  $\text{CO}_2$  produzido e, por equivalência, calcula-se a quantidade de  $\text{CO}_2$ . A quantidade de  $\text{CO}_2$  desprendido é calculada pela fórmula:

$$\text{mg CO}_2 = (C - X) * M * E * 10$$

Sendo:

- C** = Volume gasto na titulação do branco
- X** = Volume gasto na titulação do tratamento
- M** = Concentração do ácido
- E** = Equivalentes de CO<sub>2</sub> (=22)
- 10** = correção do volume titulado

A diferença entre o valor de CO<sub>2</sub> desprendido no controle e nos tratamentos indica alterações metabólicas provenientes da aplicação da substância teste (biossólido) na microbiota do solo. Foram utilizadas as concentrações de 25, 50, 75 e 100% de biossólido e 1% de glicose, em triplicata em frascos contendo 40 g de solo controle ou tratado. A glicose foi usada como controle positivo do metabolismo microbiano. Foram repetidos os ensaios para os dois tipos de solos avaliados: Planossolo e Argissolo.



**Figura 17.** Montagem do ensaio respirométrico.

**1** - Compressor responsável pelo fluxo de ar no sistema. **2** - As diferentes amostras de solo encontram-se na câmara principal. **3** - O CO<sub>2</sub> produzidodissolvido na solução de NaOH encontra-se na câmara secundária.

Os Ensaio foram realizados no laboratório de microbiologia do IFRJ.

### 3.8 Análise dos Dados

Foram determinados os seguintes parâmetros para os ensaios ecotoxicológicos:

- **CL<sub>x</sub>** (concentração letal onde X% dos indivíduos morrem)
- **CE<sub>x</sub>**(concentração efetiva em que X% dos organismos apresentaram padrão de fuga, redução de crescimento, germinação ou reprodução).

#### 3.8.1 Ensaio de fuga

Os resultados obtidos nos ensaios de fuga com minhocas e colêmbolos foram analisados pelo teste exato de Fisher (ZAR, 1996), que permite a comparação da distribuição dos animais, pressupondo a não existência de comportamento de fuga entre solos sem contaminante.

Enquanto um valor positivo indica a fuga para o solo controle, um valor negativo indica a preferência pelo contaminante avaliado. O percentual é obtido pela equação:

$$A = [(C - T)/N]x100$$

Sendo:

- C** = soma de minhocas observadas no controle

**T** = soma de minhocas observadas no solo tratado

**N**= total de minhocas por repetição

Os percentuais permitiram a obtenção das CE fuga e para o processamento destes dados foi usado o programa PriProbit 1.63 (SAKUMA, 1998).

### **3.8.2 Ensaios de reprodução**

O número de juvenis foi usado na obtenção das concentrações de inibição de reprodução. Os cálculos de CEs para estes ensaios foram realizados através da análise de variância (ANOVA) utilizando o teste de Donnut ( $p < 0,05$ ) para comparar os tratamentos com o controle. O programa utilizado foi STATISTIVA 7,0.

### **3.8.3 Ensaios de letalidade e inibição**

As concentrações letais (CLs) foram calculadas a partir da mortalidade encontrada. Nos ensaios com plantas e algas, os valores de sementes germinadas, tamanho das plântulas e crescimento algal foram usados para calcular as CEs através do programa PriProbit 1.63 (SAKUMA, 1998) sendo as médias das réplicas comparadas pelo teste de Tukey com  $p < 0,05$ .

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Caracterização do Biossólido

A tabela 7 relaciona pH, presença de íons, densidade, capacidade de hidratação e salinidade em Argissolo e Planossolo tratados com doses crescentes de biossólido.

**Tabela 7.** Parâmetros físicos e físico-químicos nas diferentes concentrações de biossólido adicionadas a Argissolo e Planossolo.

Concentrações	pH	Condutividade elétrica (dS/m <sup>-1</sup> )	Densidade (g/mL)	CRA (%)	Salinidade (°/°)
Biossólido	4,64	2,983	0,45	45,1	1,3
Argissolo					
Doses Biossólido	5,69	0,065	1,08	67,9	0
6,25 %	4,98	0,313	1,07	67,2	0,12
12,5 %	4,98	0,581	1,05	64,5	0,21
25%	4,96	0,918	1,00	63,4	0,3
37,5%	4,94	1,288	0,98	62,8	0,43
50%	4,90	1,492	0,91	58,9	0,5
62,5%	4,82	1,876	0,78	57,2	0,78
75%	4,74	2,767	0,61	49,2	1,1
Planossolo					
Doses Biossólido	6,11	0,036	1,35	51,9	0
6,25 %	5,75	0,287	1,32	53,1	0,08
12,5 %	5,38	0,583	1,28	56,2	0,14
25%	5,01	0,858	1,25	58,3	0,2
37,5%	4,93	1,101	1,12	59,1	0,38
50%	4,86	1,372	1,00	59,7	0,45
62,5%	4,84	1,738	0,84	58,2	0,68
75%	4,78	2,183	0,67	48,2	0,9

Fonte: CRA - Capacidade de Retenção de Água.

Concentrações elevadas de sais reduzem o potencial osmótico tornando a água menos disponível para as plantas. Com o aumento da concentração de sais no substrato há redução no potencial osmótico, acarretando menor capacidade de absorção de água pelas sementes, influenciando negativamente a capacidade germinativa e o desenvolvimento das plântulas (FERREIRA et al., 2013; GUEDES et al., 2013). Várias espécies vegetais são afetadas negativamente pelo aumento da concentração salina no meio. Podem ser observados: aumento no tempo médio de germinação (TMG), redução na massa seca e no crescimento de raízes e parte aérea (DUTRA et al., 2017; SANTOS et al., 2016; CRUZ et al., 2016). O excesso de sais na zona radicular pode prejudicar a germinação, o desenvolvimento e a produtividade nos vegetais. Uma maior concentração de sais faz com que a planta tenha um dispêndio de energia maior para absorver água prejudicando assim seus processos metabólicos como a germinação e o crescimento. O sal pode ainda ser um fator limitante para crescimento de bactérias, reduzindo tanto o seu potencial biotecnológico como a capacidade de fixação de N (MEDEIROS et al., 2007). Solos acima de 2,0 dS/m<sup>-1</sup> são considerados moderadamente salinos e o biossólido, assim como os tratamentos com doses de 75% apresentam



condutividade superior a esta. Culturas como feijão, milho, alface, cebola, abacate e morango já apresentam redução em sua produtividade em solos com condutividade acima de 2,0 dS/m<sup>-1</sup> (CORDEIRO, 2000).

O biossólido retém apenas 45% de água e promove o efeito de redução na retenção hídrica em todos os tratamentos, principalmente nas maiores concentrações testadas. A disponibilidade de água é fundamental para a maioria dos processos metabólicos dos organismos vivos. Este efeito associado à condutividade pode estar relacionado a alguns dos efeitos negativos observados em vários ensaios com solos tratados com biossólido.

O pH interfere na disposição de elementos químicos essenciais ao desenvolvimento vegetal, favorecendo ou não suas liberações. Abaixo de 4,5 ou acima de 8,0 pode resultar em dissolução de alguns elementos que, tendo sua concentração no solo aumentada, podem tornar-se tóxicos ou serem reduzidos, tornando-se menos assimiláveis pelos vegetais, alterando seu desempenho (BRADY E WEIL, 2012). Enquanto a maioria das colônias de bactérias se desenvolve melhor em pH neutro (entre 6,5 e 7,5), os fungos crescem preferencialmente em pH mais ácido (entre 5 e 6). Além disso, o pH do solo onde a semente vai germinar e a plântula crescer, tem efeito determinante sobre sua viabilidade, atuando também na liberação de nutrientes. Embora seja um resíduo rico em matéria orgânica e predominantemente ácido, o pH do biossólido e de todos os tratamentos encontra-se na faixa entre 4,5 e 8.

Os teores de nutrientes encontrados no lote de biossólido analisado (tabela 8) estão de acordo com os valores de resíduos semelhantes avaliados em ETEs de outras regiões do país. Nas diferentes estações avaliadas no Brasil os teores de N variaram entre 22,5 a 55,3 g kg<sup>-1</sup>, os de P entre 6 e 30 g kg<sup>-1</sup>, os de K entre 0,1 a 3,9g kg<sup>-1</sup> e os teores de matéria orgânica variaram entre 410 e 713 g kg<sup>-1</sup> (SAMPAIO, 2010). A avaliação de lodo de sete ETEs em Suazilândia, na África Austral (MITSHALI et al., 2014) e em duas ETEs no Estado de São Paulo (CARVALHO et al., 2015), também encontraram altos teores de matéria orgânica e nutrientes, principalmente N e P, podendo ser considerada uma característica deste tipo de resíduo. A diferença na concentração de nutrientes entre resíduos gerados em diferentes estações está relacionada não somente à composição do esgoto, mas ao tipo de tratamento empregado na estação. A variabilidade do teor de N no lodo gerado na ETE Ilha do Governador, por exemplo, parece estar relacionada ao método de secagem. Os leitos semipermeáveis a céu aberto, presentes nesta estação, permanecem em processo de secagem por períodos mais longos permitindo assim maior percolação e volatilização do N (ABREU, 2017).

**Tabela 8.** Teores de nutrientes (g/kg<sup>-1</sup>) presentes na amostra do biossólido da ETIG utilizada nos ensaios ecotoxicológicos.

Nutriente	N	Mo	Ca	K	Mg	P	Na	NH <sub>4</sub>	NO <sub>3</sub>
g/kg	18,0	576	17,3	1,49	2,68	6,24	0,48	0,2	2,0

Como pode ser observado na tabela 9, a caracterização do biossólido demonstra que a média da concentração de metais pesados na amostra da ETIG utilizada nos ensaios ecotoxicológicos são muito inferiores aos valores máximos permitidos pela resolução CONAMA 375/2006. Estes resultados são esperados em estações que não recebem cargas industriais. Em solos de clima tropical, onde ocorre intensa mineralização da matéria orgânica original, este poderia ser um fator limitante para a repetição do uso de biossólidos (ANJOS e MATTIAZO, 2000). A lixiviação dos constituintes do biossólido e a consequente

contaminação do subsolo e das águas subterrâneas dependem não apenas da repetição do tratamento, mas também do tipo de solo que o recebe. Uma avaliação da lixiviação de amônia, nitrato e fosfato presentes neste resíduo em três tipos de solo: Latossolo Vermelho-Amarelo Distrófico (LVAd), Latossolo Vermelho Distroférrico (LVdf) e Argissolo Vermelho-Amarelo Distrófico (PVAd) com e sem lodo de esgoto demonstrou que os elementos estudados percolam de forma diferenciada quando o solo varia. A aplicação de lodo de esgoto aumentou a quantidade lixiviada de amônia no solo LVAd, e de nitrato em todos os solos testados seguindo a ordem crescente: PVAd < LVdf < LVAd (COSTA et al., 2014).

Foi observado um aumento nos teores de bário, cromo e chumbo na camada superficial de solos que receberam tratamento com lodo de esgoto por longos períodos. Estes metais, entretanto, foram encontrados em níveis muito baixos ou não detectáveis nas culturas (MERLINO et al., 2010; NOGUEIRA et al., 2010). Outra preocupação diz respeito não só às concentrações de metais pesados no biossólido, no solo tratado e na produção agrícola, mas também à lixiviação destes elementos. Em avaliação de solos tratados repetidamente com biossólido, não foi constatada a percolação dos metais Cd, Cu, Cr, Ni, Pb e Zn nas camadas de solo inferiores a 0,60m de profundidade (ANJOS e MATTIAZZO, 2000). Embora as concentrações máximas de metais permitidas pela resolução CONAMA 375/2006 estejam muito acima daquelas encontradas na amostra testada, é necessária atenção quando os tratamentos se repetem em um curto período de tempo.

**Tabela 9.** Teores de metais (em mg/Kg<sup>-1</sup>) presentes na amostra do biossólido da ETIG utilizada nos ensaios ecotoxicológicos, comparados aos permitidos pelo CONAMA 375/2006.

Metais	As	Ba	Cd	Cr	Cu	Hg	Ni	Pb	Se	Zn
ETE Ilha	<0,5	267,7	2,79	45,2	312,7	<0,01	24,4	104	<0,5	1002,4
Conama*	41	1300	39	1000	1500	17	420	300	100	2800

A avaliação para contaminação de origem fecal é realizada através da análise de indicadores bacterianos presentes nas fezes, indicando assim a possibilidade da presença de patógenos. Estudos demonstram que vários fatores podem influenciar o risco desta contaminação como o período de estocagem, a exposição ocupacional e a exposição do consumidor (NAVARRO et al., 2009). O risco de contaminação aceito pela EPA para patógenos após o uso de biossólidos em culturas agrícolas foi ultrapassado em alguns casos estudados após o consumo de legumes e verduras como cenoura e espinafre em solos tratados com biossólidos, inclusive para a bactéria *Salmonella* (JIMENEZ et al., 2007). A literatura sobre a resistência de patógenos emergentes à temperatura e outros fatores ambientais foi revisada para avaliar a probabilidade de sobrevivência destes organismos a vários processos de tratamento de biossólidos. Sabe-se que os adenovírus e o vírus da hepatite A são os mais resistentes termicamente e podem sobreviver por períodos prolongados no ambiente em temperaturas obtidas na digestão anaeróbia. Um modelo foi utilizado para avaliar o risco de infecção e doença de vírus entéricos após a aplicação de biossólidos classe B (GERBA, 2002). Os biossólidos são classificados em classe A e B (USEPA, 1993) e as diferenças entre os dois grupos estão relacionadas principalmente com os processos utilizados para a redução de patógenos. No Brasil, a classificação segue o mesmo padrão da norma americana avaliando indicadores bacterianos e ovos de helmintos. A avaliação microbiológica do biossólido reflete mais uma preocupação com a saúde humana que poderá consumir alimentos cultivados em solos tratados com o resíduo do que um receio de que provoquem impactos sobre a biota. Os

valores encontrados na amostra usada nos ensaios (tabela 10) encontram-se dentro dos valores de referência brasileiros, para classificá-la como biossólido classe A.

**Tabela 10.** Teores de coliformes termotolerantes, ovos de helmintos e *Salmonella sp*, presentes na amostra do biossólido da ETIG utilizada nos ensaios ecotoxicológicos comparados aos permitidos pelo CONAMA 375/2006.

Parâmetros avaliados	Coliformes termotolerantes NMP g-1 ST	Ovos viáveis de helmintos Ovos g-1	<i>Salmonella sp</i> Presente/Ausente Em 10 g ST
ETIG	<0,04	<0,01	Ausente
Conama	<1000	<0,25	Ausente

#### 4.2 Toxicidade na Microbiota

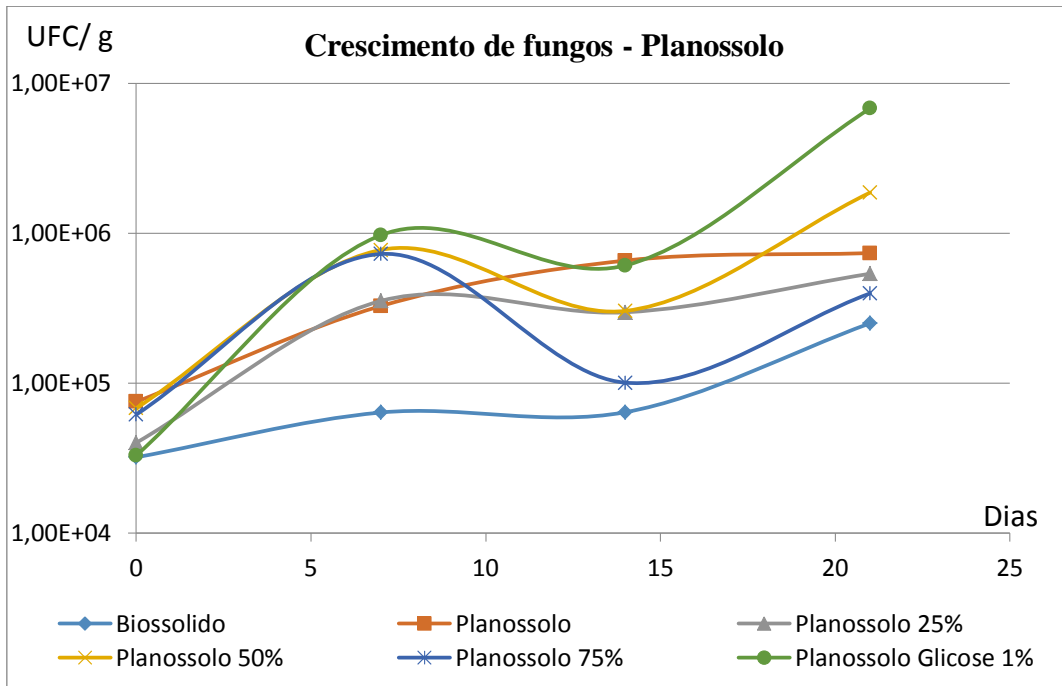
Os microrganismos presentes no solo participam do ciclo biogeoquímico de nutrientes mediando sua disponibilidade através dos processos de decomposição de compostos orgânicos, sendo responsáveis pela ciclagem de matéria e pelo fluxo de energia no solo, funcionando como importante reservatório de nutrientes para os vegetais. Assim, a produtividade dos ecossistemas agrícolas e florestais encontra-se intimamente ligada à densidade microbiana (GAMA-RODRIGUES e GAMA-RODRIGUES, 2008). Entre os componentes da biota do solo, as bactérias e os fungos são responsáveis por grande parte da biomassa e do metabolismo respiratório, controlando processos vitais em ecossistemas florestais (SOUTO, 2008).

A biomassa microbiana e sua atividade metabólica são influenciadas pelas condições bióticas e abióticas do sistema apresentando-se como boas indicadoras de alterações resultantes do manejo do solo (RODRIGUES, 2011; TRANNIN et al., 2007; SILVA et al., 2010). Mudanças nas propriedades microbiológicas ocasionadas pelo uso agrícola do solo podem ser detectadas antes mesmo daquelas que ocorrem nos teores de C e N total. (GAMA-RODRIGUES et al., 2005). Medidas de atividade microbiana vêm sendo cada vez mais utilizadas como indicadoras da qualidade do solo ou toxicidade de um contaminante. Em estudos para determinar os efeitos dos agentes contaminantes e do manejo do solo sobre as atividades e a dinâmica das comunidades microbianas, as análises mais utilizadas como indicadoras são: liberação de CO<sub>2</sub> pela respiração microbiana; mineralização de nitrogênio e carbono; fixação biológica de nitrogênio; atividades enzimáticas; contagem de grupos microbianos e biomassa microbiana (SILVA et al., 2007; PAULA, et al., 2010; ZHONG et al., 2010). Além da medição da biomassa, a atividade da microbiota do solo pode ser avaliada de várias maneiras como, por exemplo, através de medidas da respiração basal (TÓTOLA e CHAER, 2002). A respiração depende do estado fisiológico das células microbianas, sofrendo a influência de diferentes fatores do solo, tais como: umidade, temperatura, disponibilidade de nutrientes, textura e presença de resíduos orgânicos.

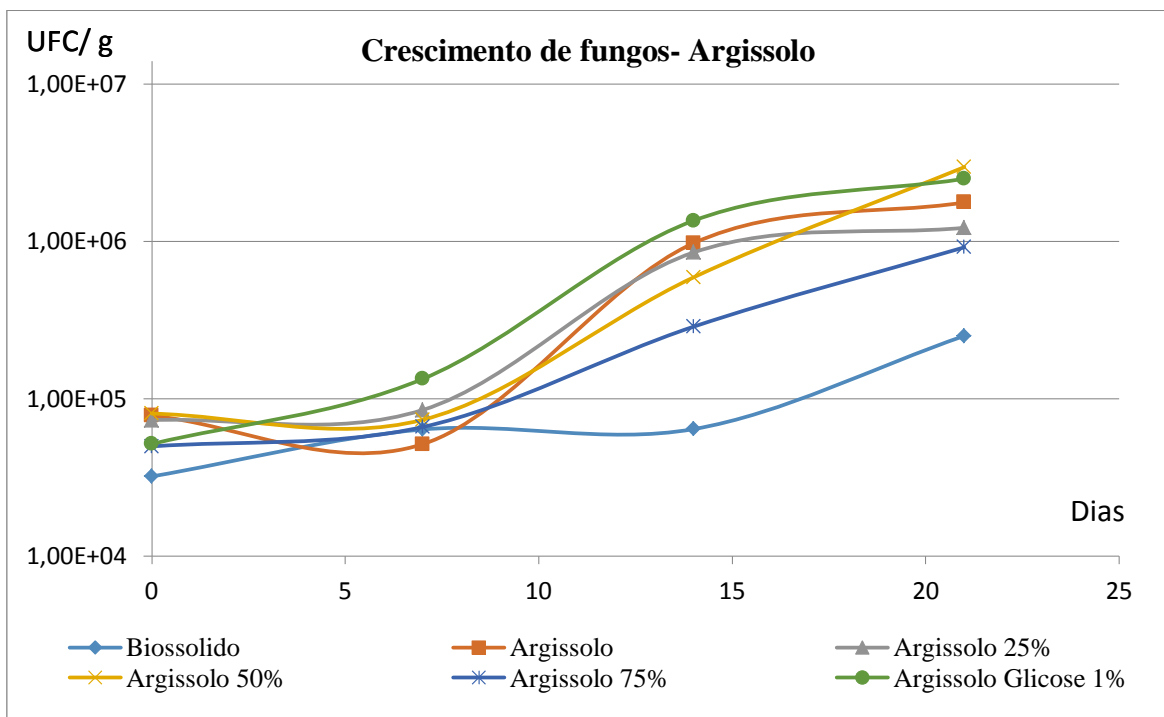
Variações no teor de água no solo influenciam diretamente a proporção de fungos e bactérias, sendo as bactérias mais sensíveis à desidratação do solo, desenvolvendo-se melhor em períodos de chuva enquanto os fungos apresentam melhor desenvolvimento em períodos de seca (RODRIGUES et al, 2011). O biossólido tem baixa capacidade de retenção de água, nas maiores concentrações do resíduo o substrato para os ensaios apresenta menor hidratação.

Quando a densidade de fungos é avaliada pode-se observar que o maior número de UFC é obtido após 21 dias da mistura do biossólido tanto com Planossolo quanto com Argissolo (Figuras 18 e 19). Quando a densidade das bactérias é avaliada pode-se observar

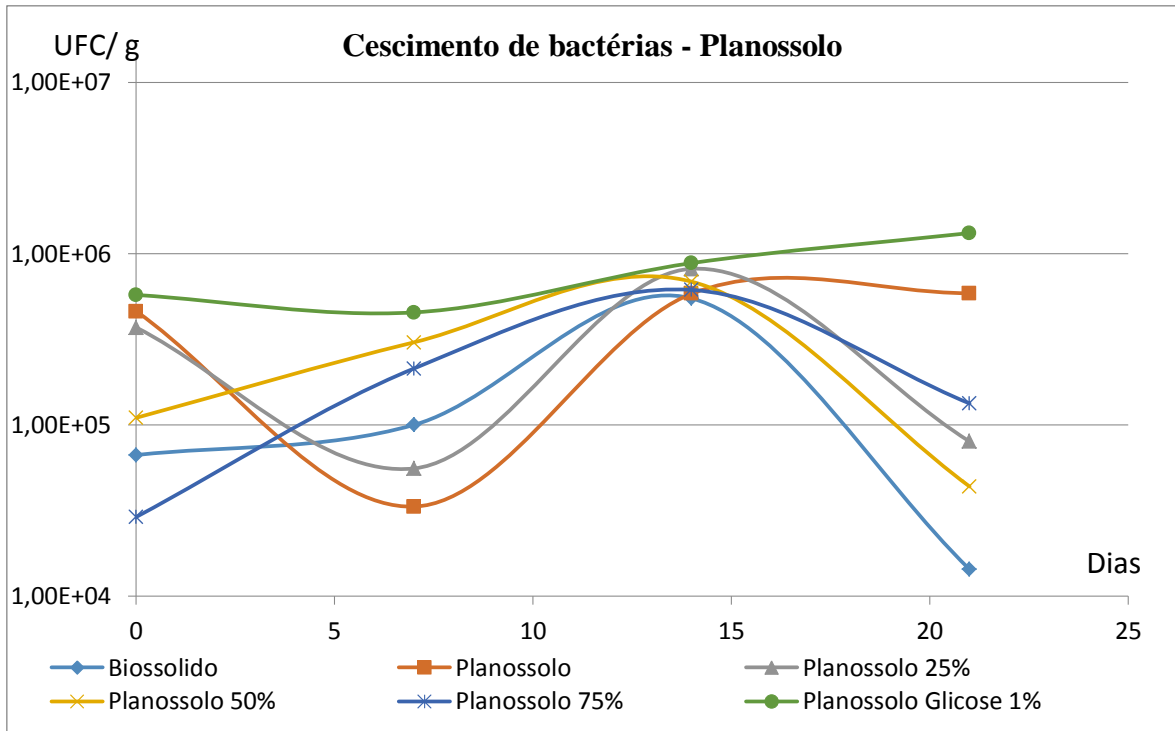
que o maior número de UFC é obtido após 14 dias da mistura do bio sólido tanto com Planossolo quanto com Argissolo (Figuras 20 e 21).



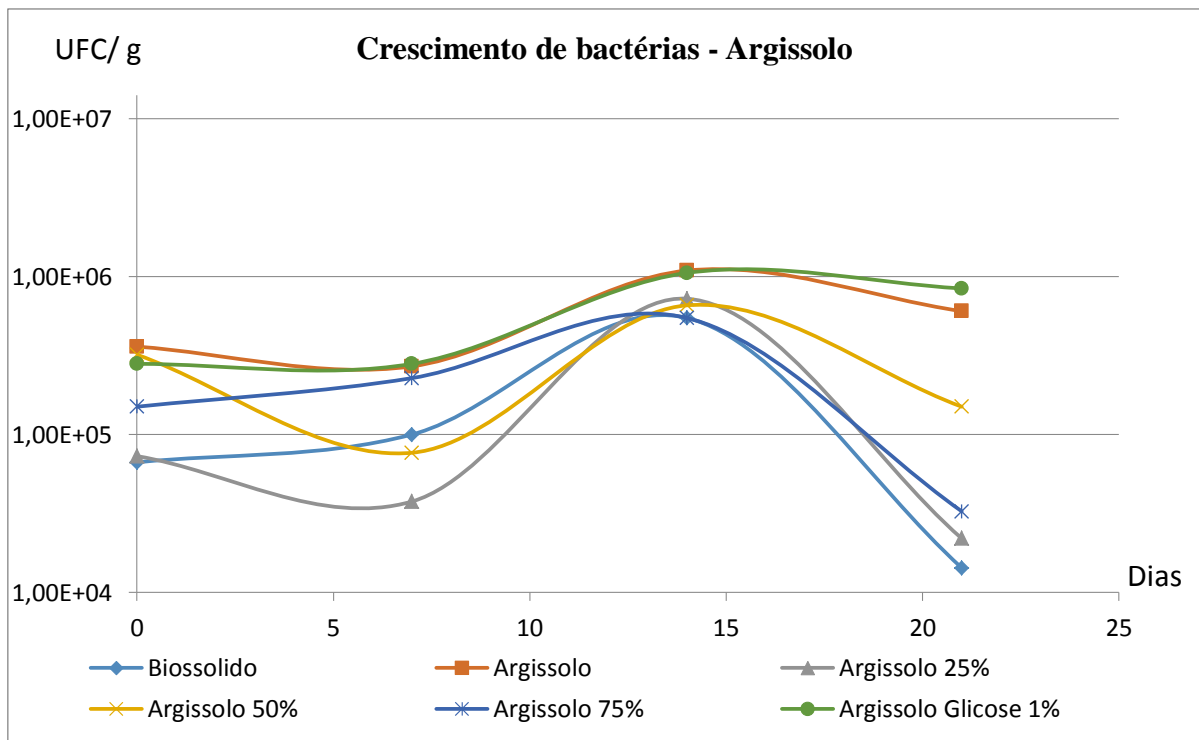
**Figura 18.** Crescimento de fungos em Planossolo tratado com diferentes doses de bio sólido durante 21 dias.



**Figura 19.** Crescimento de fungos em Argissolo tratado com diferentes doses de bio sólido durante 21 dias.

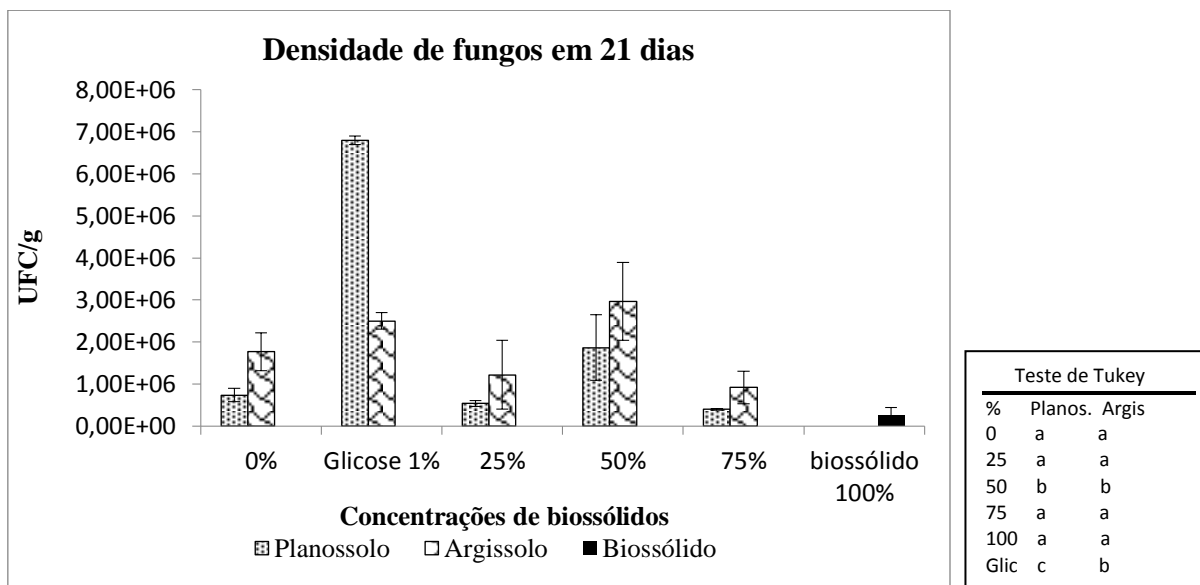


**Figura 20.** Crescimento de bactérias em Planossolo tratado com diferentes doses de biossólido durante 21 dias.



**Figura 21.** Crescimento de bactérias em Argissolo tratado com diferentes doses de biossólido durante 21 dias.

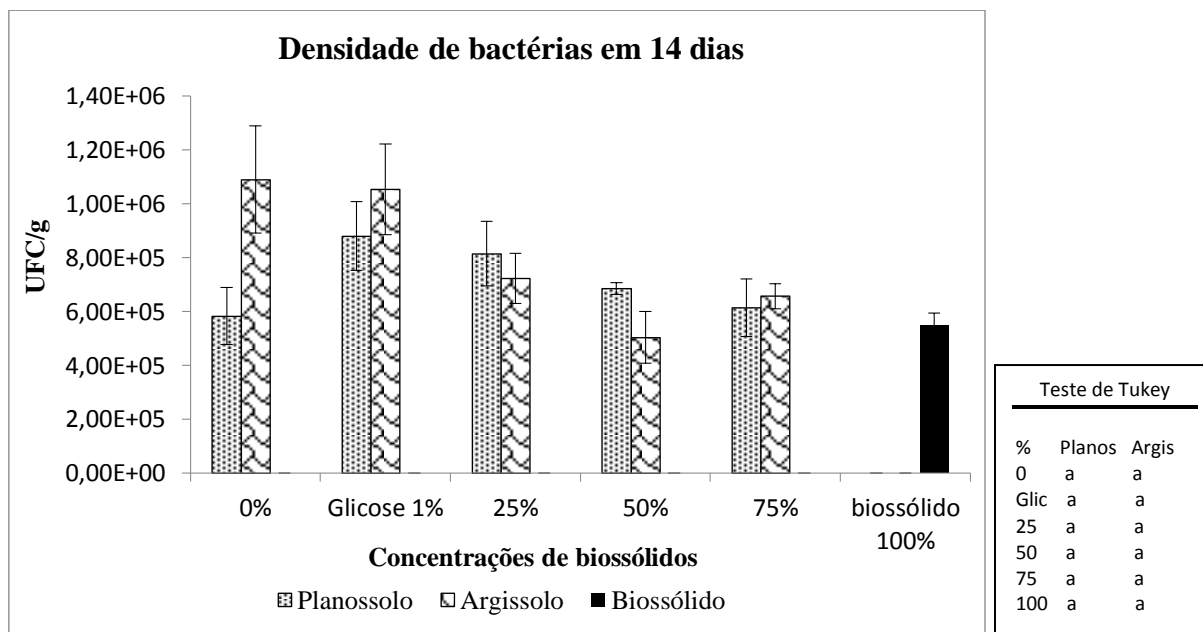
Nos fungos, o tratamento com glicose (que pode ser considerado como um controle positivo, demonstrando o potencial de crescimento destes organismos no solo avaliado sem a adição de biossólido) e o tratamento com 50% de biossólido foram aqueles que resultaram nos maiores números de UFC com os dois tipos de solos naturais (figura 22). A disponibilidade de nutrientes no solo é influenciada por diversos fatores, destacando-se a textura. Os solos com baixo teor de argila (predominantemente arenosos como o Planossolo) apresentam baixo teor de matéria orgânica e nutrientes, baixa capacidade de retenção de água, alta drenabilidade e pH mais ácido. Quanto maior o teor de argila do solo, maior será a capacidade de troca de cátions e o poder-tampão do solo para cátions e ânions. O Planossolo, com menor retenção de nutrientes responde de forma mais efetiva à adição de glicose. Em ambos os solos as concentrações de 25% e 75% e 100% não apresentaram diferenças estatisticamente significativas quando comparadas ao controle pelo teste de Tukey  $< 0,05$ . A concentração que resultou em maior crescimento de colônias é a de 50% de biossólido para ambos os solos, provavelmente porque a concentração de 25% não contém nutrientes suficientes para incrementar o crescimento e a concentração de 75% já agrega características negativas ao substrato. No Argissolo, o número de colônias com a adição de glicose e de 50% de biossólido são semelhantes.



**Figura 22.** Comparação entre número de UFC de fungos em solo arenoso (Planossolo) e argiloso (Argissolo) no 21º dia da cultura. As diferenças entre os tratamentos para cada tipo de solo foram comparadas pelo teste de Tukey,  $p < 0,05$ .

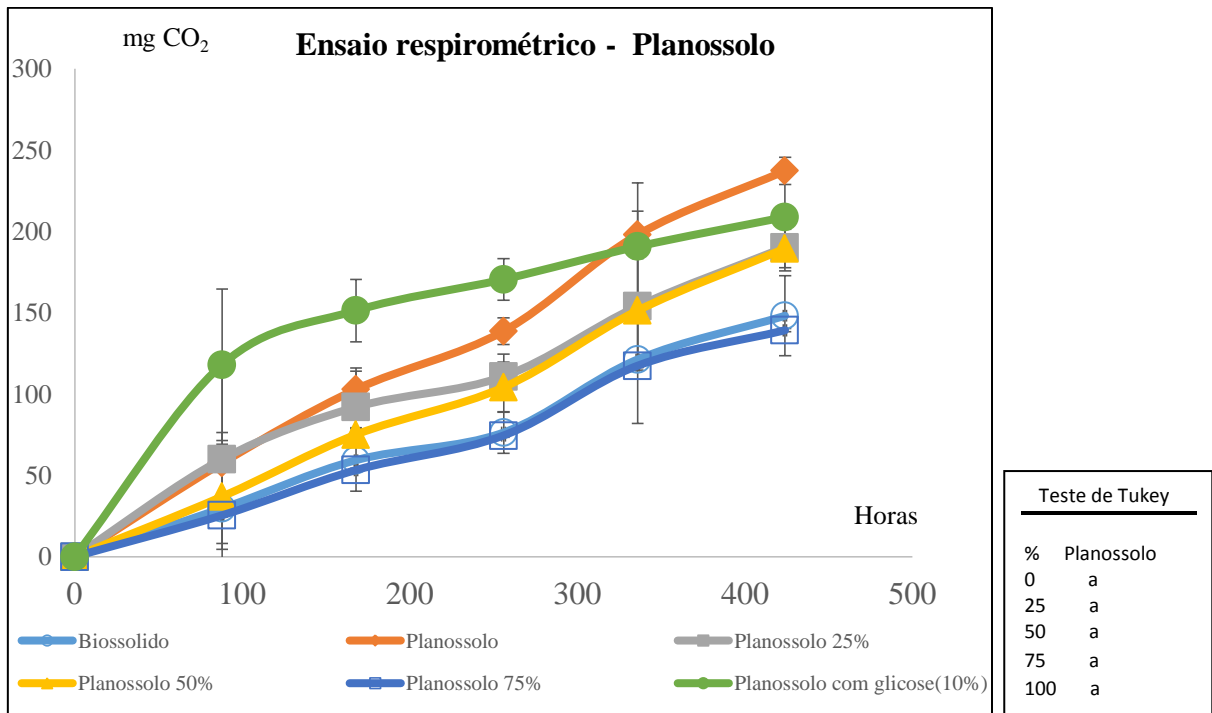
As bactérias são mais exigentes em relação à disponibilidade de água livre do que os fungos. O biossólido apresenta baixa CRA (capacidade de retenção de água). A hidratação do substrato torna-se, portanto, menor quando crescem as concentrações deste resíduo. O pH também é um fator importante para o crescimento de colônias bacterianas. Enquanto os fungos crescem em substratos com acidez entre 4,5 e 6,0, as bactérias tem preferência por pH neutro, entre 6,5 e 7,0. O biossólido tem pH ácido (4,6) e nas maiores concentrações do resíduo (50 e 75 %) seus valores oscilam entre 4,9 e 4,7. Alterações na densidade e na atividade microbiana interferem diretamente nos processos biológicos e bioquímicos do solo, podendo assim atuar como indicadores de poluição ou degradação, pois são influenciados por temperatura, concentração de oxigênio dissolvido (OD), nutrientes, pH, salinidade e presença de substâncias tóxicas (MATSUOKA, 2003).

Podemos observar na figura 23, que não houve alterações estatisticamente significativas em relação ao controle. No Argissolo, embora se tenha notado um menor número de UFC em relação ao tratamento com glicose, não há diferenças significativas entre as doses do biofósforo. Neste caso, o uso do biofósforo não parece ser benéfico para o crescimento de colônias bacterianas em nenhuma dose. Embora o biofósforo aporte nutrientes ao solo, sua adição não contribuiu para aumentar significativamente a biomassa microbiana, segundo o teste de Tukey.



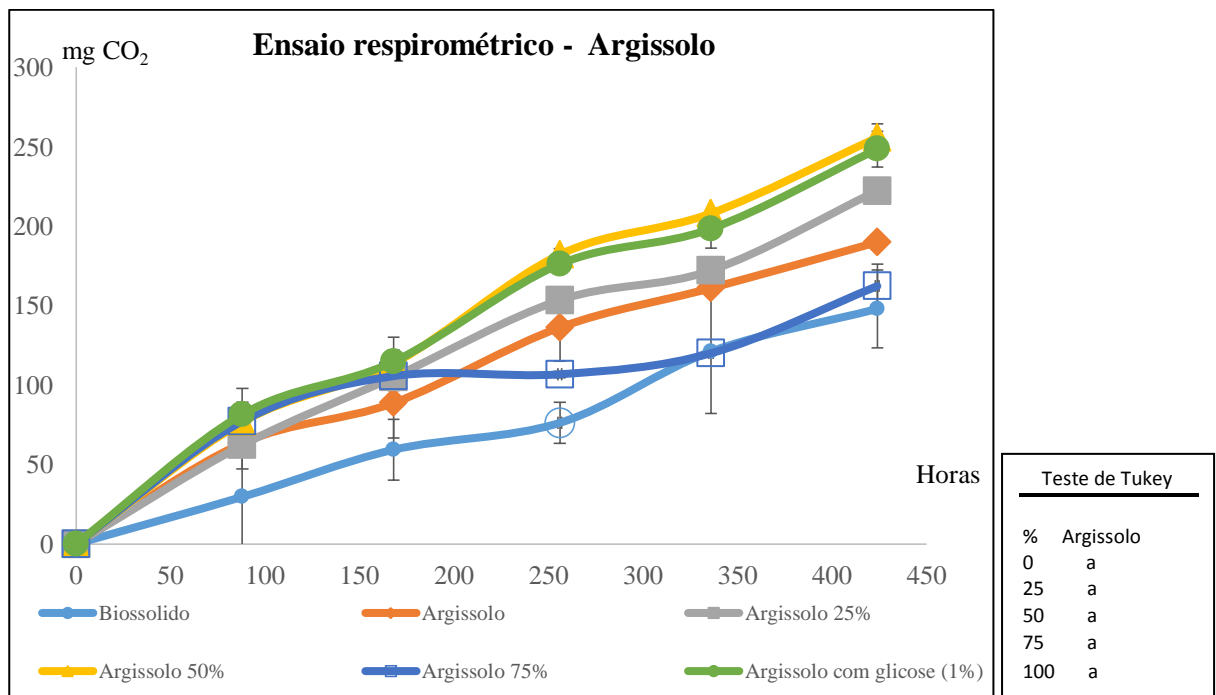
**Figura 23.** Comparação entre número de UFC de bactérias em solo arenoso (Planossolo) e argiloso (Argissolo) no 14º dia da cultura. As diferenças entre os tratamentos para cada tipo de solo foram comparadas pelo teste de Tukey,  $p < 0,05$ .

Para resíduos que apresentam contaminantes, a incubação pode, a partir de determinadas concentrações, inibir o metabolismo ou até mesmo matar microrganismos, diminuindo assim a liberação de  $\text{CO}_2$  em relação ao controle. Neste caso, a toxicidade do resíduo aos microrganismos do solo poderá ser avaliada. Podemos observar que, no caso do Planossolo, todas as concentrações do biofósforo apresentaram padrões de metabolismo, através da estimativa do  $\text{CO}_2$  liberado na respiração, semelhantes aqueles encontrados no solo sem adição do resíduo. Como o Planossolo habitualmente tem menos nutrientes, há um intenso consumo de glicose pelos microrganismos na fase inicial do ensaio, o que explica os resultados representados no gráfico (figura 24). Não foram observadas diferenças significativas entre as doses e o controle quando comparadas pelo teste de Tukey. A quantidade de mg de  $\text{CO}_2$  foi considerada por frasco. Cada frasco continha 40 g da solução de solo acrescido de biofósforo.



**Figura 24.** Liberação de CO<sub>2</sub> pela microbiota em diferentes concentrações do bio-sólido em Planossolo.

No Argissolo, o consumo da glicose pela microbiota foi constante ao longo do ensaio e não houve diferenças significativas da liberação de CO<sub>2</sub> entre as doses quando comparadas pelo teste de Tukey ( $p < 0.05$ ). Este resultado foi semelhante aquele obtido no número de UFCs bacterianas onde também não foi observada diferença entre as diferentes doses de bio-sólido.

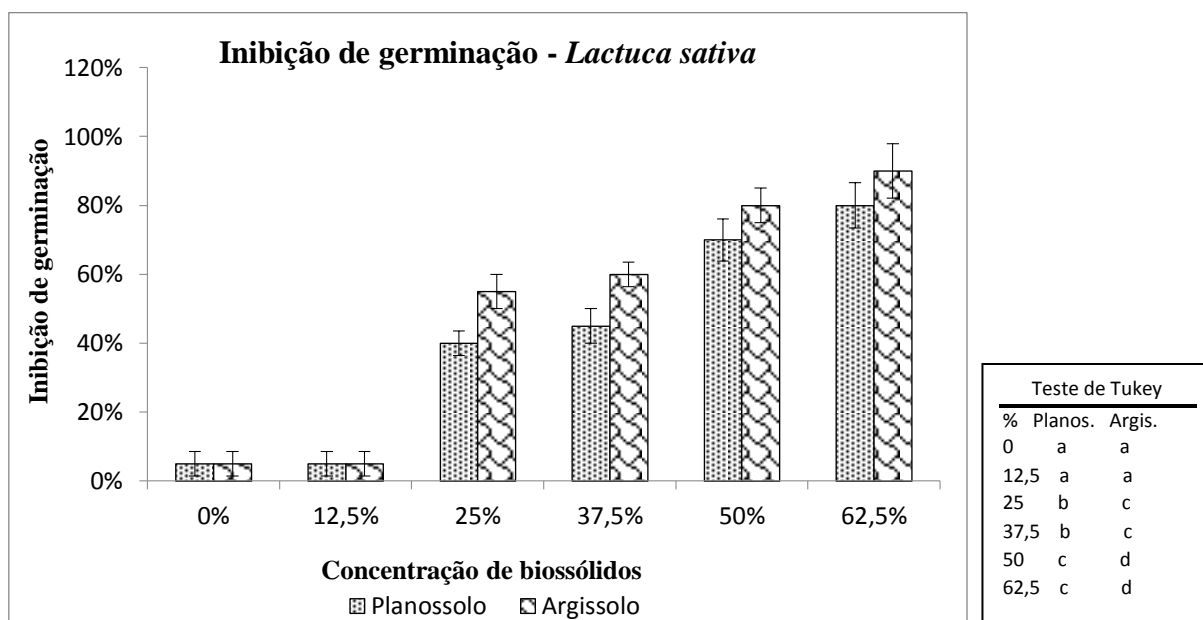


**Figura 25.** Liberação de CO<sub>2</sub> pela microbiota em diferentes concentrações do bio-sólido em Argissolo.



### 4.3 Toxicidade em Vegetais.

Nas sementes de alface, foi observada a interferência que as diferentes doses de bio-sólido produzem sobre a germinação (figura 26). Nas concentrações acima de 25% do resíduo já houve diferenças em relação ao controle no Planossolo e no Argissolo. As diferenças na inibição da germinação entre os dois tipos de solo avaliados tornaram-se estatisticamente significativas a partir desta dose com o Argissolo apresentando valores maiores de inibição. Uma provável explicação está no fato dos compostos e íons presentes no solo arenoso serem lixiviados com maior facilidade do que no argiloso, eliminando mais facilmente do contato das sementes elementos que poderiam ser prejudiciais à germinação.



**Figura 26.** Inibição da germinação de sementes de *Lactuca sativa* em Planossolo e Argissolo tratados com diferentes doses de biossólido. Teste de Tukey com diferenças estatisticamente significativas entre as doses de biossólido para Planossolo e Argissolo,  $p < 0,05$ .

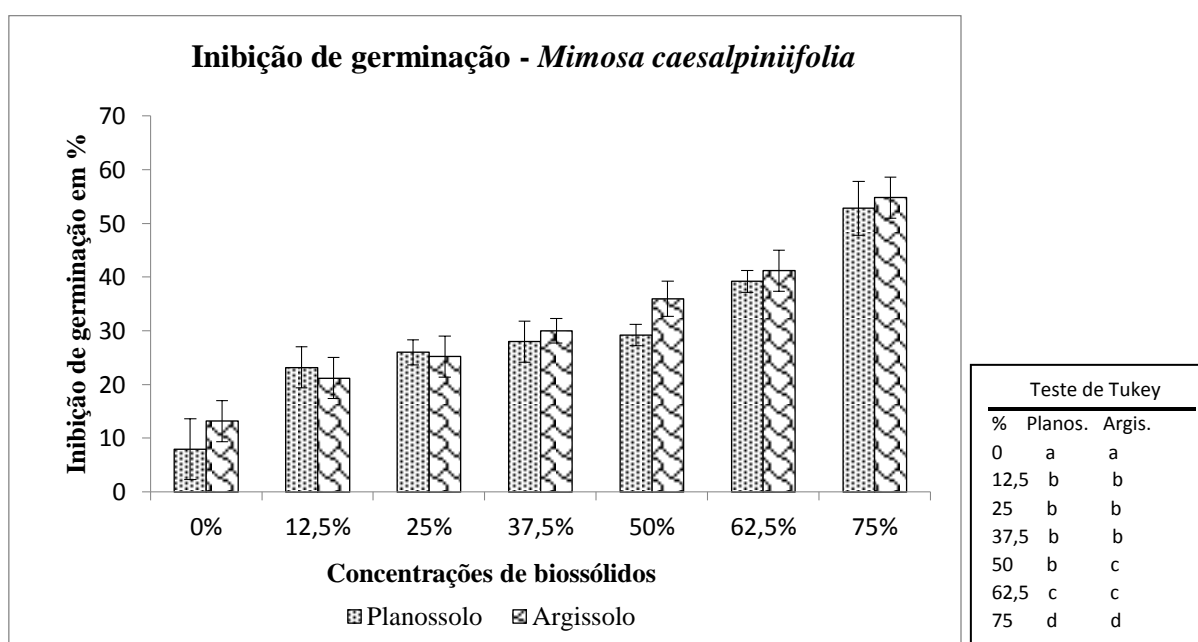
As concentrações que provocam a inibição na germinação em 50% das sementes também apresentam diferenças quando são semeadas em Planossolo ou Argissolo, com tendência a apresentar maior toxicidade no Argissolo.

**Tabela 11.** Concentração efetiva (CE<sub>x</sub>) do biossólido que provoca inibição de 10% e 50% na germinação de sementes de *Lactuca sativa*.

Dose	Planossolo		Argissolo	
	CE <sub>10</sub> inibição	CE <sub>50</sub> inibição	CE <sub>10</sub> inibição	CE <sub>50</sub> inibição
Percentual	16,4 (9,5-21,5)	36,1(32,7-43,3)	14,4 (8,8-18,7)	29,5 (24,1-30,8)
CRA	57,1	59,3	63,8	61,4
Na mg/Kg	78,72	173,28	69,2	141,6

Valores entre parênteses indicam intervalo de confiança de 95%, quando obtidos. CRA- Capacidade de retenção de água.

Na comparação entre as doses de biossólido que causam efeito nas sementes de sabiá, foram encontradas diferenças estatisticamente significativas em relação ao controle a partir da concentração de 12,5%, porém as doses de 12,5, 25 e 37% não mostraram diferenças significativas entre si (Figura 27). Este fato pode ser explicado pela robustez das sementes que configuram uma barreira maior do que aquela encontrada nas sementes de alface. Assim, diferenças entre as doses não provocariam o mesmo impacto demonstrando um menor efeito dose-resposta para estas concentrações. As doses que causam redução da germinação em 50% são bem superiores às aquelas encontradas em alface. Sabiá é muito utilizada em reflorestamento e recuperação de áreas degradadas e o uso de biossólido como substrato e fertilizante nos processos de revegetação se apresenta como uma solução de gestão deste resíduo. A resistência das sementes de sabiá se apresenta como um fator favorável à sua utilização, porém a diferença na sensibilidade encontrada entre as espécies vegetais testadas demonstra a necessidade da realização de ensaios de toxicidade para todas as espécies envolvidas nos projetos de reflorestamento.



**Figura 27.** Inibição da germinação de sementes de *Mimosa caesalpiniifolia* em Planossolo e Argissolo tratados com diferentes doses de biossólido. Teste de Tukey com diferenças estatisticamente significativas entre as doses de biossólido para Planossolo e Argissolo,  $p < 0,05$ .

As sementes de sabiá já apresentam naturalmente um potencial de germinação menor do que as sementes de alface. No controle, sem adição de biossólido já houve uma germinação próxima a 90% no Planossolo e inferior a este valor no Argissolo. Assim não foi possível determinar a concentração efetiva do resíduo que provocasse a inibição da germinação em 10% das sementes.

**Tabela 12.** Concentração efetiva (CE<sub>x</sub>) do biossólido que provoca inibição de 10% e 50% na germinação de sementes de *Mimosa caesalpiniiifolia*.

Dose	Planossolo		Argissolo	
	CE <sub>10</sub> inibição	CE <sub>50</sub> inibição	CE <sub>10</sub> inibição	CE <sub>50</sub> inibição
Percentual	ND	68,4 (57,3-73,9)	ND	71,02 (68- 76,5)
CRA	ND	53,1	ND	52,3
Na mg/Kg	ND	328,82	ND	340,89

Valores entre parênteses indicam intervalo de confiança de 95%, quando obtidos. CRA- Capacidade de retenção de água.

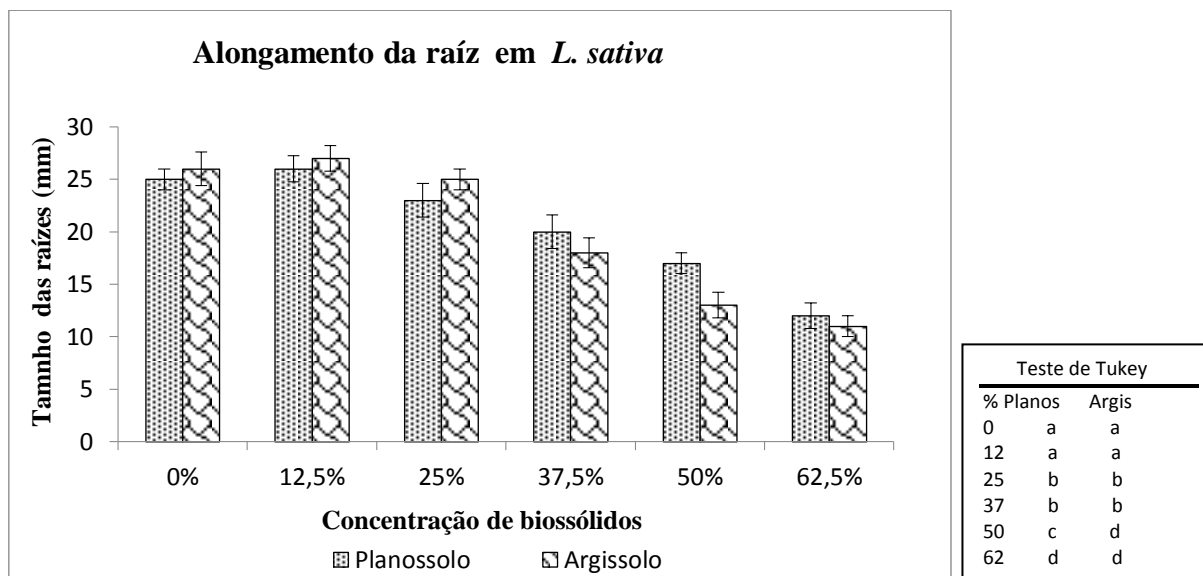
As sementes de alface demonstraram maior sensibilidade em comparação com as sementes de sabiá ao uso do biossólido nos ensaios de germinação. As sementes de *Lactuca sativa* possuem uma grande superfície de contato, pequeno tamanho e baixa quantidade de endosperma (ANDRADE et al., 2010). Sementes pobres em endosperma se tornam mais suscetíveis às condições do meio principalmente nos primeiros estágios de desenvolvimento. Sementes de plantas nativas na região semiárida como *Mimosa caesalpiniiifolia* apresentam uma série de adaptações ambientais que permitem sua germinação apenas quando as condições ambientais se apresentam favoráveis sendo, entretanto altamente tolerantes à alguns fatores de estresse ambiental como a salinidade com germinação limitada acima de 12 dS/m<sup>-1</sup>. (KILL, 2012; DANTAS et al., 2014).

Ao compararmos a influência do uso do biossólido sobre a inibição da germinação de sementes entre as duas espécies, observamos um impacto maior sobre as amostras de alface, com uma CE<sub>50</sub> de 29,5% de biossólido para o solo argiloso e 36,1% para o solo arenoso, apresentando uma diferença de 18,5% entre os dois tipos de solos. Em contraste, para as amostras de sabiá, foram necessárias doses mais elevadas, sendo a CE<sub>50</sub> 68,4% para Planossolo e 71,02 para Argissolo. Embora a inibição tenha ocorrido com doses bem mais elevadas do que aquelas observadas nas sementes de alface, há uma relação dose – resposta na redução da germinação das sementes de sabiá. Através do teste de Tukey, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os dois tipos de solo para os ensaios com *Mimosa caesalpiniiifolia*.

A alface tem sido amplamente utilizada em ensaios ecotoxicológicos e a maioria dos trabalhos privilegia a germinação para avaliar a toxicidade não considerando o comprimento da raiz e dos hipocótilos. As raízes estão em contato direto com o solo, absorvendo água, assim como os contaminantes presentes. Além disso, as observações dos efeitos de crescimento de raiz geralmente ocorrem em concentrações de contaminantes mais baixas, permitindo o estabelecimento das concentrações tóxicas realmente seguras para o organismo de teste (CAMPAGNA et al., 2016; CASIMIRO et al., 2017). Entre múltiplos fatores que influenciam a germinação e o alongamento, a qualidade da água e o número de sementes utilizada por unidade experimental não parece afetar a germinação, o alongamento da raiz ou o comprimento total (raiz mais hipocótilo). No entanto, quando há diferenças de sensibilidade entre as variedades, parece que a cultivar tem um efeito importante no resultado da avaliação de toxicidade. Seria necessário, portanto, escolher cuidadosamente a cultivar bioindicadora e realizar testes rápidos entre cultivares múltiplos para determinar aquele mais sensível ao teste (PRIAC, 2017).

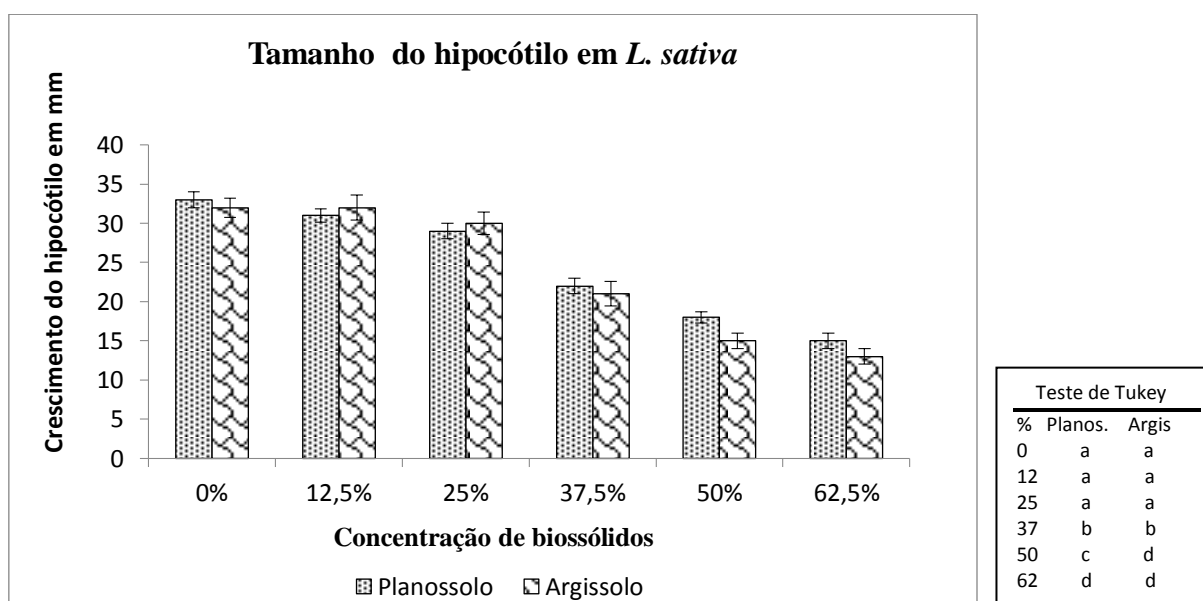
No ensaio de alongamento de raiz, *Lactuca sativa* demonstrou ser menos sensível ao uso de biossólido do que o ensaio de germinação de sementes e a diferença nos resultados entre os solos arenosos e argilosos também foi menor. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os dois tipos de solo na maioria das concentrações.

Observou-se uma redução no tamanho da raiz nos dois solos com uma  $CE_{50}$  de 60,1% e 54,1% para Planossolo e Argissolo respectivamente.



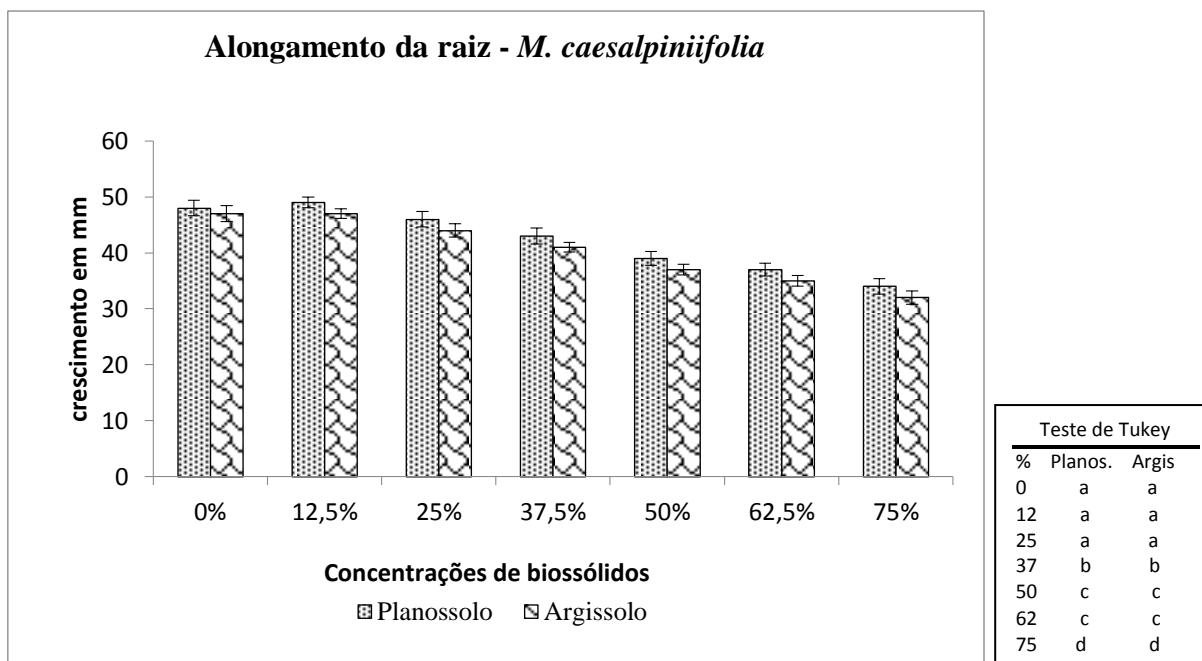
**Figura 28.** Alongamento da raiz de *Lactuca sativa* em Planossolo e Argissolo tratados com diferentes doses de biossólido. Teste de Tukey com diferenças estatisticamente significativas entre as doses de biossólido em Planossolo e Argissolo,  $p < 0,05$ .

O crescimento do hipocótilo seguiu o mesmo padrão do alongamento da raiz não demonstrando diferenças significativas nas concentrações mais baixas de biossólido (12 e 25%) quando comparadas ao solo controle. Somente a partir da dose de 37,5% ocorre redução do desenvolvimento do hipocótilo com uma  $CE_{50}$  de 57,3% e 53,4% no Planossolo e Argissolo respectivamente.



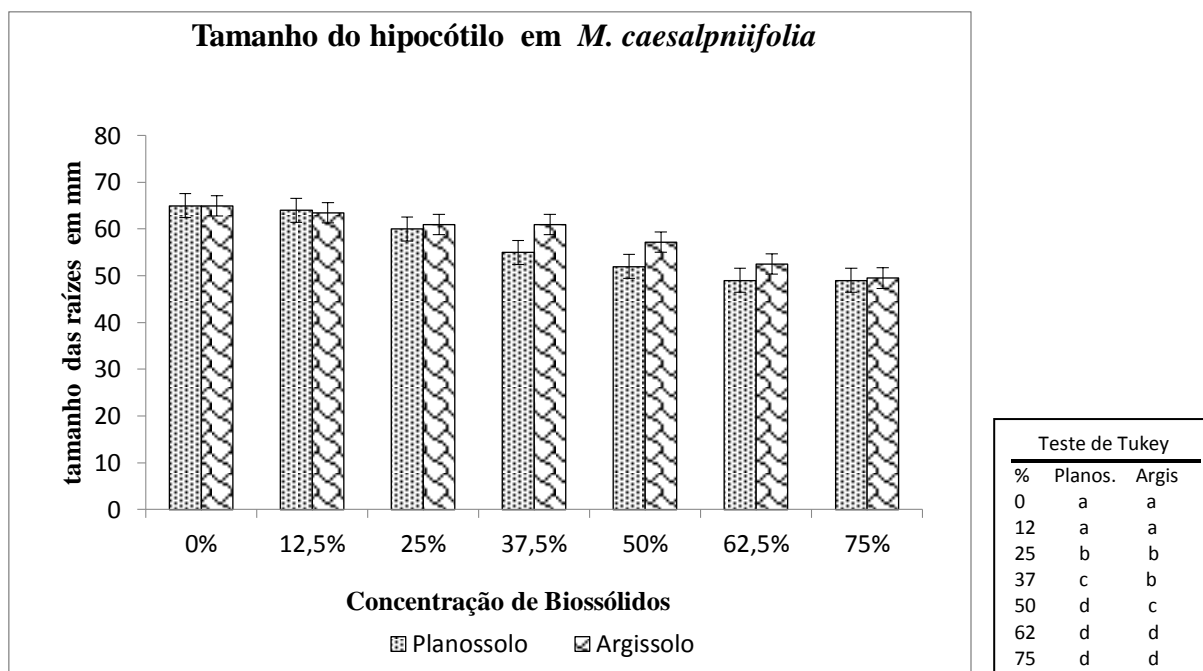
**Figura 29.** Crescimento do hipocótilo de *Lactuca sativa* em Planossolo e Argissolo tratados com diferentes doses de biossólido. Teste de Tukey com diferenças estatisticamente significativas entre as doses de biossólido em Planossolo e Argissolo,  $p < 0,05$ .

No ensaio de alongamento de raiz, *Mimosa caesalpinifolia* também demonstrou ser menos sensível do que no ensaio de germinação de sementes e não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os dois tipos de solo para nenhuma concentração de biofósforo testada. A redução no tamanho da raiz foi bem inferior àquela encontrada em alfaca. Na maior concentração de biofósforo testada (75%), houve uma redução no desenvolvimento da raiz de 21,9% no Argissolo e 23,6% no Planossolo em relação ao controle. Neste caso não foi alcançada a  $CE_{50}$ , não sendo possível sua determinação.



**Figura 30.** Alongamento da raiz de *Mimosa caesalpinifolia* em Planossolo e Argissolo tratados com diferentes doses de biofósforo. Teste de Tukey com diferenças estatisticamente significativas entre as doses de biofósforo em Planossolo e Argissolo,  $p < 0,05$ .

O crescimento do hipocótilo seguiu padrão semelhante ao alongamento da raiz, não apresentando diferenças estatisticamente significativas em relação aos diferentes tipos de solo em quatro dos seis tratamentos avaliados nem no controle. Na maior concentração de biofósforo testada (75%), houve uma redução do desenvolvimento do hipocótilo de 19,49% no Planossolo e 21,1% no Argissolo em relação ao controle. Não foi alcançada a  $CE_{50}$ , não sendo possível sua determinação.



**Figura 31.** Tamanho do hipocótilo de *Mimosa caesalpinifolia* em Planossolo e Argissolo tratados com diferentes doses de biochar. Teste de Tukey com diferenças estatisticamente significativas entre as doses de biochar em Planossolo e Argissolo,  $p < 0,05$ .

Em todos os ensaios o impacto negativo do uso do biochar foi maior para sementes de alface do que para sementes de sabiá. Embora a salinidade do biochar não seja muito elevada, este resíduo apresenta características de impermeabilidade, o que pode provocar uma redução na disponibilidade de água para as sementes nas concentrações mais elevadas. Sendo *Mimosa caesalpinifolia* uma leguminosa pioneira e nativa de regiões onde pode haver baixa disponibilidade hídrica, a disponibilidade de água reduzida pelo uso do biochar, deve interferir menos em processos de germinação e alongamento de raiz do que na alface.

#### 4.4 Toxicidade em Organismos Aquáticos

##### 4.4.1 Parâmetros físicos e físico – químicos

No elutriado foram avaliados alguns parâmetros físicos e físico-químicos que interferem no crescimento populacional de algas e na letalidade de cladóceros e peixes. Os principais fatores abióticos que podem interferir nos resultados dos ensaios são: pH, oxigênio dissolvido, turbidez, temperatura e salinidade (ZAGATTO e BERTOLETTI, 2008). Fatores que interferem na produtividade como temperatura, intensidade da luz e disponibilidade de nutrientes, apresentam inegável preponderância sobre os fatores bióticos (FERESIN et al., 2011). A turbidez está relacionada à redução da entrada de luz no ambiente aquático, é medida em UNT (Unidades Nefelométricas de Turbidez) e exerce papel preponderante para o equilíbrio do ecossistema aquático. Corpos hídricos de classe I podem apresentar, no máximo, 40 UNT (CETESB, 2009). O oxigênio dissolvido, assim como o pH, tem uma relação direta com a manutenção da vida aquática, contribuindo para os processos de respiração aeróbia ou para a manutenção de um ambiente que permita a realização de reações químicas importantes para a vida (PIVELI, 2005).

**Tabela 13.** Parâmetros físico – químicos do elutriato produzido com as diferentes concentrações de biossólido adicionadas a Argissolo e Planossolo.

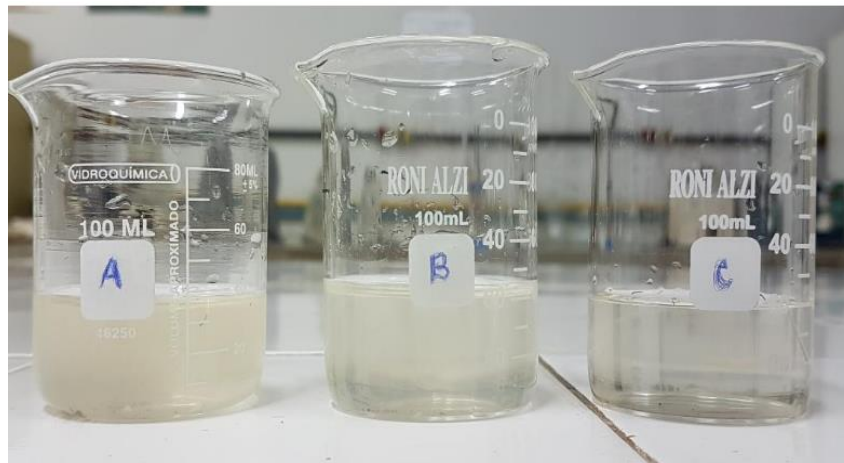
Concentrações	pH	Condutividade elétrica (dS/m <sup>-1</sup> )	OD (mg/L)	Turbidez (UNT)	Salinidade (g/L)
Biossólido	4,68	2,967	3,9	49	1,52
Argissolo					0
Doses Biossólido	5,97	0,073	5,9	110	
6,25%	5,68	0,325	5,6	99	0,18
12,5%	5,36	0,596	5,4	86	0,27
25%	5,24	0,983	4,8	81	0,35
37,5%	5,12	1,375	4,5	76	0,48
50%	5,06	1,575	4,4	72	0,56
62,5 %	4,88	1,978	4,2	67	0,82
75%	4,86	2,786	4,1	59	1,31
Planossolo					0
Doses Biossólido	6,25	0,041	6,5	98	
6,25%	5,95	0,382	6,3	87	0,09
12,5%	5,47	0,684	6,2	78	0,19
25%	5,38	0,893	5,8	75	0,28
37,5%	5,21	1,210	4,9	68	0,46
50%	5,18	1,487	4,7	65	0,57
62,5%	4,97	1,858	4,5	62	0,74
75 %	4,88	2,670	4,3	57	1,12

Estudos sobre tolerância a baixas taxas de oxigênio dissolvido em espécies de peixes de água doce do noroeste da Europa foram utilizados para criar distribuições de sensibilidade entre estágios da vida de diferentes espécies de peixes. Os ovos e embriões se apresentaram como os menos tolerantes seguidos pelos juvenis, o que demonstra a importância deste fator para a manutenção e desenvolvimento dos alevinos (ELSHOUT et al., 2013). As concentrações de oxigênio dissolvido são reduzidas em presença de matéria orgânica biodegradável, como é o caso do biossólido. Nos corpos hídricos, o oxigênio dissolvido é um indicador da qualidade da água, sendo resultado da interação de diversos processos que podem aumentar ou diminuir sua concentração. Enquanto a turbulência da água pode contribuir para seu aumento, o lançamento de resíduos ou efluentes ricos em matéria orgânica provoca sua redução (PEREIRA et al., 2010; BLUME et al., 2010). A queda dos níveis de oxigênio dissolvido provoca a morte de seres aeróbicos mais sensíveis, promovendo processos anaeróbicos no ambiente, que geram, além do gás sulfídrico, o metano (SIQUEIRA et al., 2011; RIBEIRO, 2010; RIVAS et al., 2009).

#### 4.4.2 Ensaio de inibição de crescimento algal com *Raphidocelis subcaptada*

Variações nos valores de turbidez podem ser provocadas por carregamento de partículas sólidas oriundas da bacia de drenagem, aumento da biomassa fitoplânctônica, ressuspensão de partículas sólidas sedimentadas, turbulência provocada pelas chuvas e pela ação dos ventos. Dados coletados para avaliação da produtividade primária fitoplanctônica sugerem que a transparência tenha influência importante na atividade fitoplanctônica do ecossistema (CRUZ,

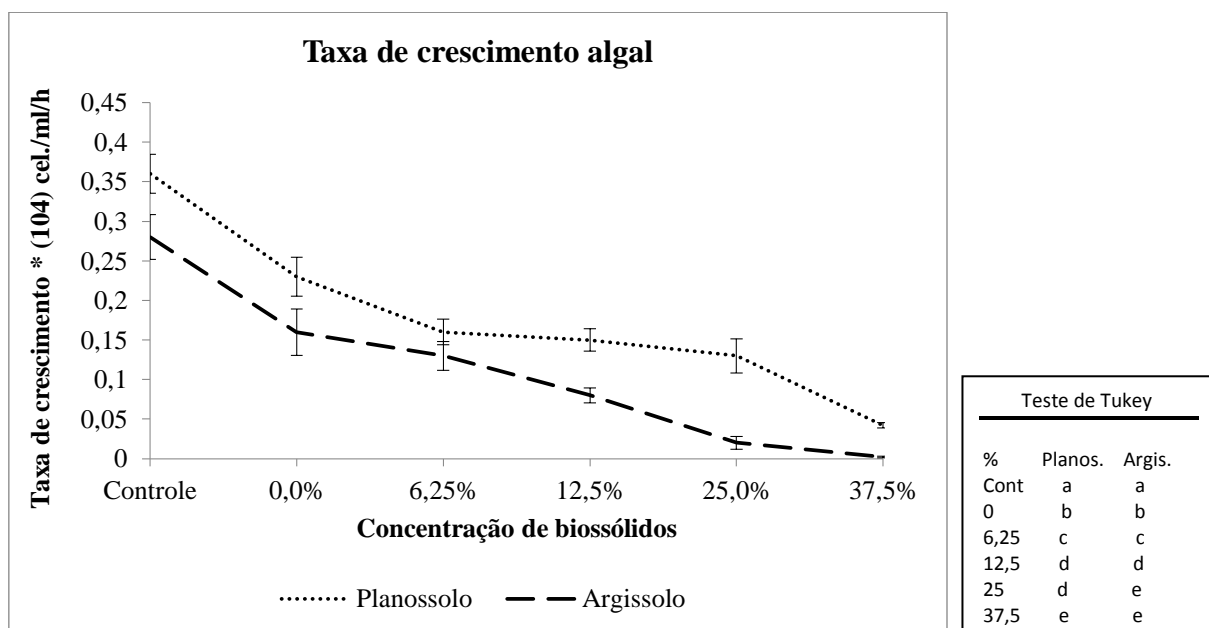
2012; LI *et al.*, 2017). O elutriato produzido tanto a partir do Planossolo quanto do Argissolo apresenta altos níveis de turbidez.



**Figura 32.** Turbidez no elutriato produzido a partir de Planossolo, Argissolo e biossólido.

A. Elutriato produzido com Argissolo. B. Elutriato produzido com Planossolo. C. Elutriato produzido com biossólido.

Nos ensaios de inibição de crescimento algal realizados com elutriato, a turbidez demonstrou ser um fator determinante para a redução da população de algas fitoplânctônicas. Independente da concentração do biossólido que, devido à sua baixa densidade flutua, o aporte de solo controle, principalmente argiloso, já provoca uma queda significativa nas taxas de crescimento algal quando consideramos como controle o meio de cultura.

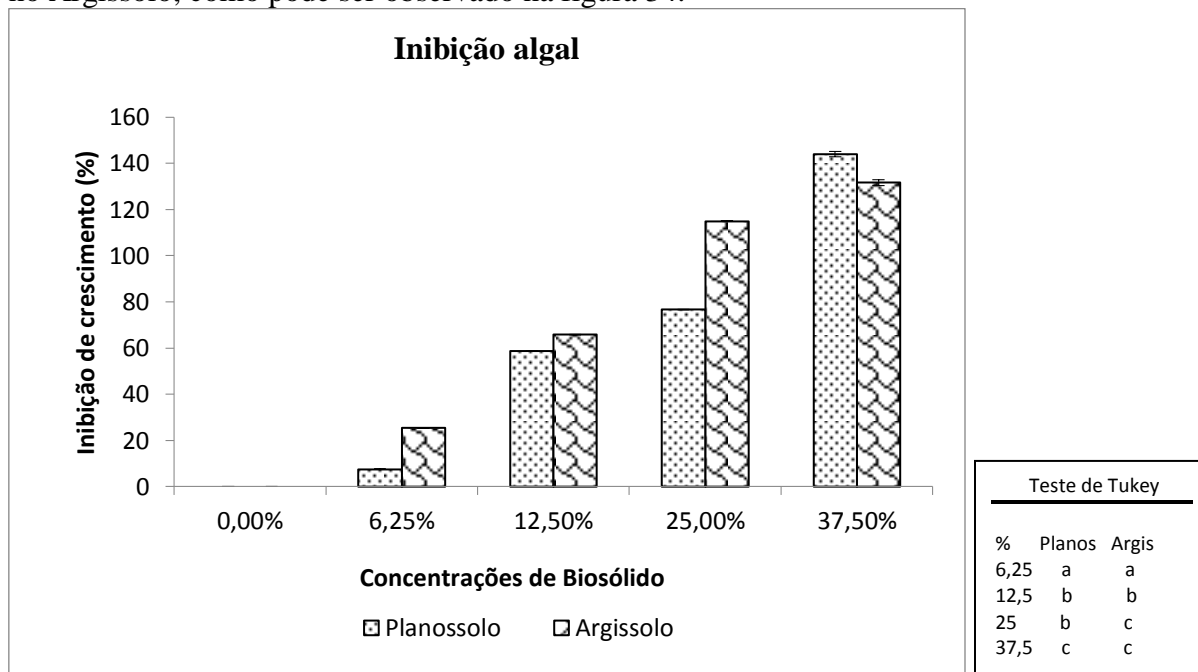


**Figura 33.** Crescimento algal de *Raphidocelis subcaptadaem* elutriato de solo com diferentes concentrações de biossólido. Teste de Tukey com diferenças estatisticamente significativas entre as doses de biossólido em Planossolo e Argissolo,  $p < 0,05$ .

Para uma avaliação do efeito do biossólido sobre a inibição do crescimento populacional em algas fitoplanctônicas, foram considerados como controles os solos sem



tratamento no lugar do meio de cultura. Assim, foi reduzida a interferência nos resultados da inibição causada pelo aumento da turbidez resultante do aporte de solos no ambiente aquático e enfatizado o efeito do biossólido. Há diferenças estatisticamente significativas na maioria das doses sugerindo uma relação dose-efeito negativa. Na concentração de 25% há diferença entre o crescimento em Planossolo e Argissolo com redução de crescimento mais acentuada no Argissolo, como pode ser observado na figura 34.



**Figura 34.** Inibição de crescimento algal de *Raphidocelis subcaptada* em elutriado de solotratado com diferentes concentrações de biossólido. Teste de Tukey com diferenças estatisticamente significativas entre as doses de biossólido em Planossolo e Argissolo,  $p < 0,05$ .

Dentre os organismos aquáticos dos níveis tróficos avaliados, as algas fitoplanctônicas apresentaram a maior sensibilidade ao biossólido, com os menores valores de concentração de efeito (CE). Esta sensibilidade, entretanto, pode estar relacionada não apenas ao uso do resíduo, mas também ao aporte de partículas dos solos tratados que interferem negativamente na turbidez do meio.

**Tabela 14.** Concentração efetiva (CE<sub>x</sub>) de elutriado que provoca inibição de 10% e 50% no crescimento populacional em algas fitoplânctônicas *Raphidocelis subcaptada*.

Ensaio	Planossolo		Argissolo	
	CE <sub>10</sub> inibição	CE <sub>50</sub> inibição	CE <sub>10</sub> inibição	CE <sub>50</sub> inibição
Percentual	5,84 (2,47-9,51)	12,7 (10,6-18,7)	4,67 (3,06-8,5)	8,87 (8,06-9,7)
Turbidez (UNT)	87	78	98	85
pH	5,3	5,4	5,6	5,4

Valores entre parênteses indicam intervalo de confiança de 95%, quando obtidos.

#### 4.4.3 Ensaio de imobilidade em *Daphnia magna*

Embora o bio sólido apresente altas concentrações de  $\text{NH}_4$  (200 mg/Kg) as concentrações máximas no elutriato, na  $\text{CE}_{50}$  para solos arenosos estaria em torno de 16 mg/L. As alterações na salinidade são prejudiciais a sobrevivência de dafnídeos, porém os valores de  $\text{CE}_{10}$  e  $\text{CE}_{50}$  apresentam salinidade bem inferior àquela que a literatura descreve como capaz de provocar imobilidade em *Daphnia magna*. A causa do efeito deletério deve estar relacionada à ação sinérgica de vários fatores como hipóxia, turbidez, ambiente levemente ácido e salino. Algumas variáveis ambientais como pH, oxigênio dissolvido, salinidade e turbidez apresentam valores semelhantes nas diferentes concentrações de efeito e nos dois solos avaliados, sugerindo uma relação entre estes fatores e a toxicidade.

**Tabela 15.** Concentração efetiva ( $\text{CE}_x$ ) de elutriato que provoca imobilidade de 10% e 50% no cladóceros fitoplânctônico *Daphnia magna*.

Ensaio	Planossolo		Argissolo	
	$\text{CE}_{10}$ imobilidade	$\text{CE}_{50}$ imobilidade	$\text{CE}_{10}$ imobilidade	$\text{CE}_{50}$ imobilidade
Percentual	22,5(16,9-26,0)	32(28,1-35,5)	11,5(8,12-14,0)	17,9 (14,9-20,9)
OD	5,8	5,4	5,3	5,2
pH	5,4	5,1	5,3	5,3
Turbidez	81	79	86	84
Na	108	153,6	55,2	85,92
Condutividade ( $\text{dS/m}^{-1}$ )	0,891	1,112	0,593	0,883
Salinidade (g/L)	0,26	0,44	0,24	0,31

Valores entre parênteses indicam intervalo de confiança de 95%, quando obtidos.

Quando as condições físicas do meio ambiente não são favoráveis ao crescimento do fitoplâncton, sua população decresce interferindo diretamente na população de zooplâncton (ROY et al., 2016). Os dafnídeos apresentam diferentes tolerâncias fisiológicas para vários componentes iônicos, sendo bons indicadores de mudanças ambientais principalmente em relação à salinidade (AMSINSCK et al., 2003).

Investigando as comunidades de zooplâncton e a estrutura trófica em 45 lagos foi observado que a riqueza de espécies de zooplâncton foi significativamente reduzida com o aumento da salinidade, mas não se relacionou com a temperatura. O declínio na riqueza de espécies em resposta ao aumento de salinidade em lagos com dois níveis tróficos foi menos abrupto que em lagos com três níveis tróficos. A variação estrutural da comunidade de zooplâncton depende do comprimento da cadeia alimentar e a salinidade se apresenta como uma variável ambiental crítica. A comunidade de zooplâncton passou do domínio de copépodos nos lagos com baixa salinidade e três níveis tróficos para grandes espécies de alimentação salina filtrante em lagos com alta salinidade e dois níveis tróficos. A relação de zooplâncton com a biomassa do fitoplâncton foi positivamente relacionada com a temperatura que interfere tanto nos processos de salinização e desalinização quanto sobre a riqueza de espécies, composição estruturas tróficas (LIN et al., 2017).

Há redução na diversidade e abundância das comunidades de zooplâncton expostas ao aumento de salinidade (HALL e BURNS, 2003; SCHALLENBERG et al., 2003). Os efeitos da alteração de diferentes fatores abióticos (salinidade, temperatura e hipóxia) em *Daphnia*

*magna* confirmaram a forte influência do aumento dos níveis de salinidade no metabolismo do cladóceros. O impacto provoca principalmente mudanças no conteúdo celular de carboidratos, ácidos graxos, ácidos orgânicos e aminoácidos. Em contraste, esses efeitos foram menos significativos para os outros dois fatores (temperatura e hipóxia) quando não foram combinadas com a salinidade (GARRETA-LARA, 2017).

A tolerância à salinidade de uma cepa de água doce de *Daphnia magna* foi avaliada em diferentes concentrações de NaCl com CE<sub>50</sub> para o teste agudo de 48 h igual a 5,48 g/L, porém a análise do ciclo de vida demonstrou que a expectativa de vida, a taxa de reprodução e a taxa de crescimento também foram significativamente reduzidas de acordo com o aumento das concentrações de NaCl (MARTINEZ-JERONIMO e MARTINEZ-JERONIMO, 2007). Ensaios com o microcrustáceo de água doce foram realizados em três tipos de algas salgadas. A taxa de sobrevivência foi melhor no controle seguido de CE<sub>10</sub> de 1,66, 0,44 e 2,48 g/L para os três tipos de águas salgadas avaliadas (NaCl, água do mar sintética e água do mar natural respectivamente). A sobrevivência diminuiu gradualmente com salinidades crescentes. A reprodução também foi favorecida pela baixa salinidade com aumento de número de descendentes por fêmeas e as melhores taxas de reprodução ocorrendo em valores de salinidade inferiores a 3g/L (EL-DEEB GHAZY et al., 2009). Efeitos de diferentes concentrações de salinidade em duas espécies de cladóceros: *Daphnia magna* e *Daphnia longispina* demonstraram que a primeira é menos sensível que a segunda a alterações na salinidade com CE<sub>50</sub> de 5,9 e 2,9 g/L, respectivamente em ensaios agudos e CE<sub>50</sub> de 5,0 e 2,2 g/L na exposição crônica. A salinidade causou uma redução significativa da fecundidade e um atraso no desenvolvimento (aumento da idade na primeira reprodução), bem como uma diminuição na taxa de crescimento de dafnódeos. Estes efeitos foram observados, no entanto, principalmente nas concentrações de salinidade que causam a imobilidade (GONÇALVES et al., 2007). A salinidade do elutriado não é alta (1,52g/L), porém apresenta condutividade elétrica máxima de 2,967dS/m<sup>-1</sup>. As concentrações acima de 50% de biossólido, tanto no Planossolo quanto no solo Argissolo, ultrapassam o limite em que a água é considerada salobra (0,5g/L).

Ensaios com *Daphnia magna* sugerem toxicidade aguda para amônia com taxa de imobilidade aumentando 60% após 48 horas para a concentração de 70 mg/L. A taxa de aumento corporal, número médio de desova e frequência média de muda diminuíram em concentrações crescentes de amônia, principalmente nos organismos expostos a 20mg/L. Os resultados demonstraram que maiores concentrações de amônia afetaram negativamente os requisitos de habitat de *D. magna* (RENG, 2014). A degradação das florescências de cianobactérias geralmente provoca hipóxia e concentrações elevadas de amônia provocando efeitos adversos nos organismos aquáticos. Estes efeitos foram avaliados em *Daphnia similis* isolada do lago Taihu, fortemente eutrofizado durante 14 dias. Os resultados mostraram que tanto a amônia como a hipóxia prejudicaram significativamente o número de ninhadas, o número de prole por fêmea e o número de descendentes totais por fêmea, e interações significativamente sinérgicas foram detectadas (LYU, 2013). Assim, os resultados dos ensaios levam a crer que a toxicidade do biossólido está relacionada à ação sinérgica de todos os fatores citados.

#### **4.4.4 Ensaio de letalidade com *Danio rerio***

Fatores abióticos que podem interferir nos resultados dos ensaios de ecotoxicidade com peixes são principalmente: pH, oxigênio dissolvido (OD), temperatura e salinidade. Alguns poluentes mostram grandes variações na toxicidade em função do pH da água, como por exemplo a amônia, o cianeto e sulfeto de hidrogênio, que podem ionizar devido ao pH.

Outros, ricos em matéria orgânica, consomem oxigênio provocando hipóxia no meio. Por isso, são monitorados durante a execução do ensaio.

**Tabela 16.** Concentração efetiva (CE<sub>ex</sub>) de elutriato que provoca a letalidade de 10% e 50% do peixe *Danio rerio*.

Ensaio	Planossolo		Argissolo	
	CL <sub>10</sub> letalidade	CL <sub>50</sub> letalidade	CL <sub>10</sub> letalidade	CL <sub>50</sub> letalidade
Biossólido %	41,6	42,7	37,0	38,9
OD	4,9	4,9	4,5	4,5
pH	5,1	5,1	5,1	5,1
CE	1,2	1,2	1,3	1,3
Na	199,6	204,9	177,6	186,7
Temperatura	24,3	24,3	24,5	24,5
Salinidade	0,46	0,46	0,48	0,48

Temperatura (°C), Salinidade (g/L), CE - Condutividade Elétrica (dS/m<sup>-1</sup>), Na (mg/Kg), OD (mg/Kg<sup>-1</sup>).

O metabolismo energético dos organismos aquáticos varia em função da temperatura da água e sua elevação pode ainda aumentar a solubilidade de muitas substâncias e diminuir a quantidade de oxigênio dissolvido na água. Assim, um aumento da temperatura da água resultaria em maior ecotoxicidade de determinadas substâncias (ZAGATTO e BERTOLETTI, 2008). A temperatura durante os ensaios manteve-se dentro do intervalo considerado ideal pela norma NBR15088 (ABNT, 2016).

O estresse salino pode afetar o metabolismo e a excreção de nitrogênio como parte da resposta adaptativa, que permite ao organismo enfrentar mudanças ambientais adversas. Os efeitos agudos de diferentes salinidades e temperaturas no metabolismo de *Gambusia affinis* e *Danio rerio*, foram avaliados. No peixe-zebra, o principal efeito observado foi a redução da excreção de nitrogênio a 20 graus salinidade 25 ‰ ou g/L (ULIANO et al., 2010). Os embriões de *Danio rerio* são muito mais sensíveis sendo tolerantes à salinidade inferior a 4 ‰. A tolerância à salinidade e a capacidade de osmoregulação dos embriões aumenta com desenvolvimento embrionário, ou seja, as gástrulas são mais tolerantes à mudança de salinidade do que as blástulas e blástulas mais tolerantes do que a clivagem quando expostos a salinidades variando de 4 a 10 ‰ (SAWANT et al., 2001) A salinidade máxima encontrada no elutriato é de 1,5 ‰ ou g/L<sup>-1</sup>, portanto inferior àquela capaz de causar danos ao *Danio rerio* adulto ou durante a embriogênese.

Ho e Burggren (2012) avaliaram a relação entre a exposição hipóxica crônica no peixe-zebra adulto (*Danio rerio*) e danos ao fenótipo de sua prole. Populações adultas foram expostas a hipóxia ou normoxia por períodos que variaram de 1 a 12 semanas. Os adultos foram então retornados à normoxia e criados em grupos experimentais. Foi avaliada a fecundidade do adulto e as características dos ovos (volume de ovo, gema e fluido perivitelinico). Os resultados demonstraram que a exposição hipóxica dos pais no peixe-zebra adulto tem profundos efeitos sobre o fenótipo morfológico e fisiológico de sua prole. Peixes da espécie *Danio rerio* mantidos em condições normais de oxigênio dissolvido (7,5 mgO<sub>2</sub>/L<sup>-1</sup>) e condições hipóxicas (4,3 mgO<sub>2</sub>/L<sup>-1</sup>) foram avaliados durante diferentes estádios de desenvolvimento. Os estágios iniciais não toleram a hipóxia ambiental. No entanto, após 30 dias de idade, começam a responder a hipóxia através de mecanismos fisiológicos.

Verificou-se um atraso no crescimento para os animais de origem hipóxica e a sobrevivência de *Danio rerio* para ovos e larvas variou entre 87,7 a 62,4% em animais criados sob normoxia e hipóxia leve, respectivamente. No entanto, os animais sobreviventes criados sob hipóxia moderada mostraram uma melhor aptidão para regular as capacidades aeróbicas e anaeróbicas quando expostas a hipóxia aguda. (BARRINUEVO et al., 2010). Nas concentrações onde as doses de biossólido provocaram efeitos deletérios, o oxigênio dissolvido encontrava-se bem próximo às condições hipóxicas, entretanto a alteração deste parâmetro aparentemente não é o único responsável pela letalidade.

Os resultados entre os ensaios realizados com organismos aquáticos de três níveis tróficos demonstram maior sensibilidade ao contaminante pelas algas fitoplanctônicas, seguida por cladóceros zooplânctônicos e peixes nectônicos. Esta informação é relevante para o armazenamento do biossólido que, quando acumulado próximo a cursos de água e ambientes lacustres, pode contaminá-los, principalmente após períodos de intensa pluviosidade.

## **4.5 Toxicidade em Organismos Terrestres**

### **4.5.1 Ensaio agudo com *Eisenia andrei***

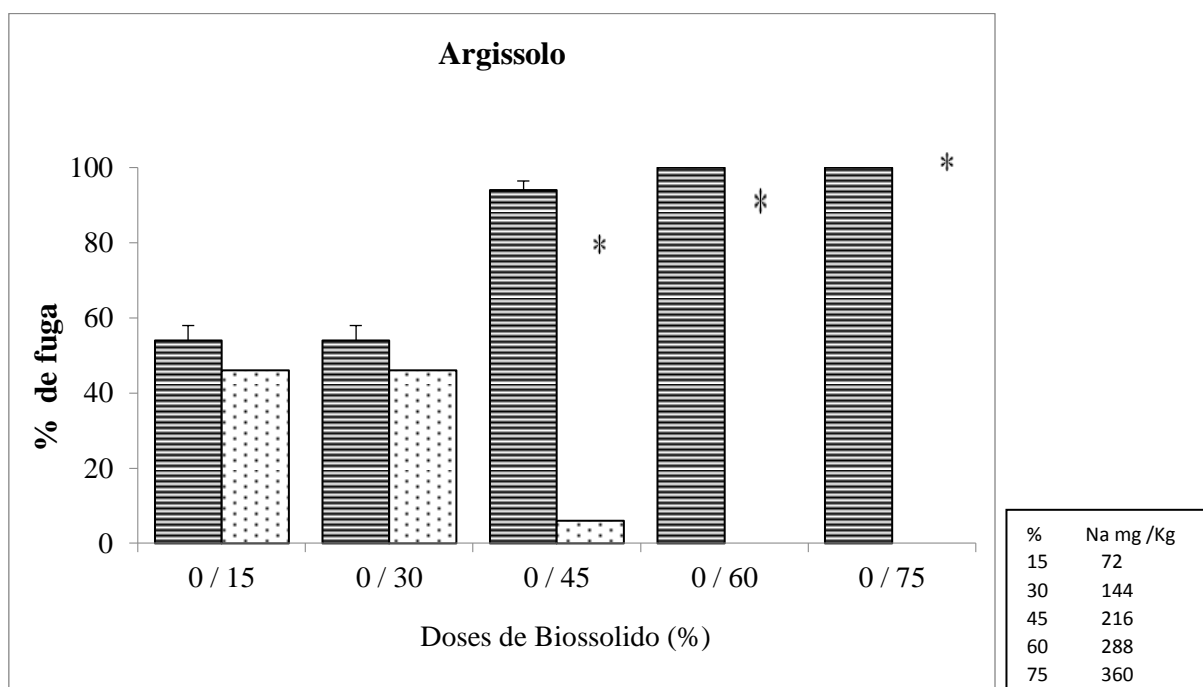
Nos ensaios de toxicidade aguda para avaliar a letalidade, não houve mortalidade superior a 10% nos controles de solos naturais (Planossolo e Argissolo) assim como em nenhuma das concentrações avaliadas: 15, 30, 45, 50 e 75% de biossólido durante 14 dias (ABNT, 2014). Não havendo indicação de toxicidade aguda para *Eisenia andrei*, foi realizado ensaio de fuga.

### **4.5.2 Ensaio de fuga com *Eisenia andrei***

Os resultados dos ensaios de fuga para *Eisenia andrei*, tanto em Argissolo quanto em Planossolo revelam que há concentrações do resíduo que promovem a transferência dos organismos para o solo controle, procurando assim, evitar o contaminante. No controle absoluto (dual test) as minhocas se distribuíram de forma semelhante: 48/52 no solo arenoso e 46/54 no solo argiloso, obedecendo assim os critérios para validação do teste. As figuras 35 e 36 mostram as concentrações onde houve preferências estatisticamente significativas, pelo solo não contaminado através do teste exato de Fisher  $p < 0,05$ . No solo argiloso a  $CE_{10}$  foi de 22,08% e  $CE_{50}$  33,82% e no arenoso a  $CE_{10}$  32,5 e  $CE_{50}$  48,03. Os percentuais de fuga foram estatisticamente significativos, independentemente do tipo de solo, demonstrando toxicidade do resíduo, ligeiramente superior para o solo argiloso. Esta diferença entre os dois tipos de solo pode ser explicada pelo fato do solo argiloso já apresentar naturalmente condutividade mais elevada do que o arenoso.

Bianchi (2013) avaliando dois tipos de resíduos da mineração de bauxita encontrou os valores de NaCl para a fuga de 50 % de minhocas da espécie *Eisenia andrei*: 2093,1mg/Kg<sup>-1</sup> para o resíduo “*in natura*” e 1949,12mg/Kg<sup>-1</sup> para o resíduo filtrado em SAT. Segundo Owojori e Reinecke (2009), os resultados para ensaios de fuga com as minhocas *Eisenia fetida* e *Aporrectodea caliginosa*, em solo artificial OCDE acrescido de NaCl e em solo salino natural coletado na África do Sul, demonstraram diferenças de sensibilidade entre os dois organismos assim como entre os tipos de solo. No solo artificial, a  $CE_{50}$  para *A. caliginosa* foi de 667 mg kg<sup>-1</sup> NaCl e 1164 mg kg<sup>-1</sup> para *E. fetida*. Estes resultados indicam que *A. caliginosa* mostrou melhor evasão à salinidade do que *E. fetida* independentemente de tipos de solo. A variação nas sensibilidades dessas minhocas pode ser resultado de diferenças na sua ecofisiologia. Benazzi (2015) observou que valores a partir de 22,50 mg e

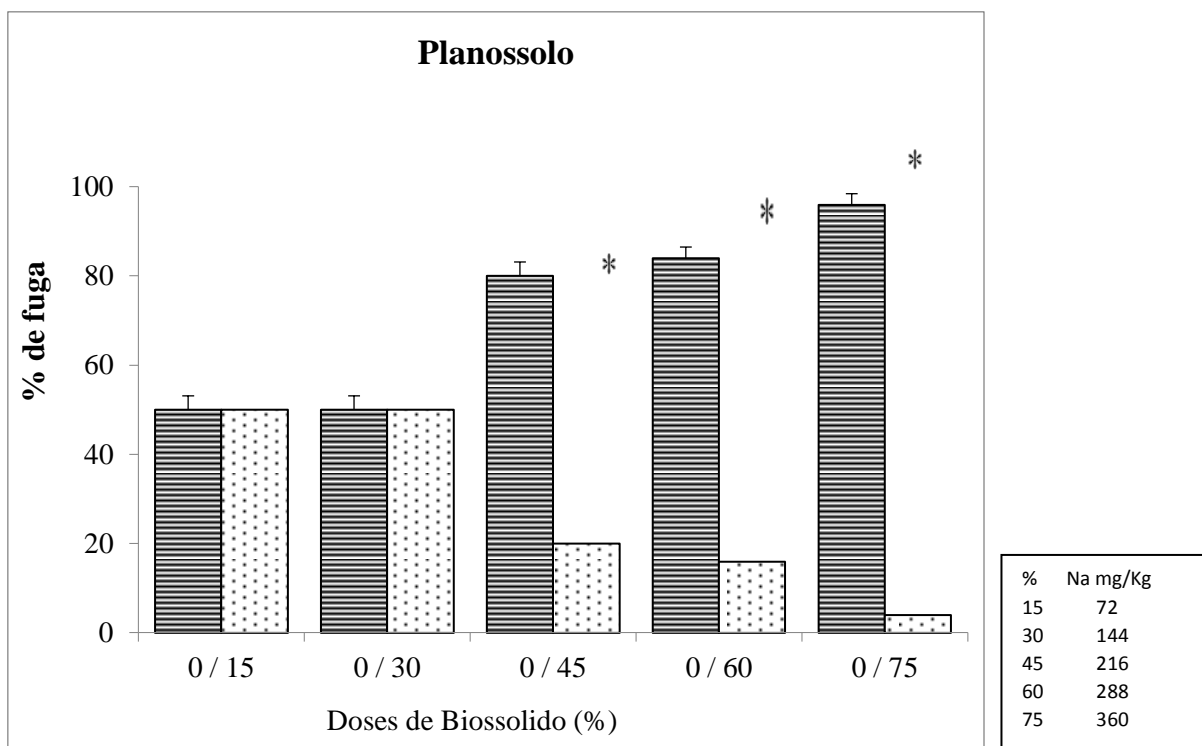
40,84 mg de NaCl kg<sup>-1</sup> em SAT para dois tipos de resíduos de perfuração petrolífera promoveram a fuga de *Eisenia andrei* para o solo controle. O intervalo das concentrações do biossólido onde ocorreu fuga significativa das minhocas para o solo controle foi entre 216 mg/Kg<sup>-1</sup> e 360mg/Kg<sup>-1</sup> de Na tanto no solo arenoso quanto no argiloso. Os valores de Na encontrados para a fuga de 50% das minhocas foram: 162,33 mg/Kg<sup>-1</sup> para solo argiloso e 230,54 mg/Kg<sup>-1</sup> para solo arenoso. Os valores se referem à concentração de Na, que corresponde a aproximadamente 40% do valor do Na Cl. Estes valores são superiores aqueles encontrados por Benazzi (2015) e inferiores aos encontrados por Owojori e Reinecke (2009) e também por Bianchi (2013), o que pode significar que o Na não é o único e nem mesmo o principal fator de toxicidade. As diferenças entre as condutividades vêm corroborar esta ideia. As concentrações de NaCl citadas por Bianchi (2013) de 1556,3, 2093,1, 1781,43 e 1949,12 mg/Kg<sup>-1</sup> apresentem CE de 0,35, 0,42, 0,44 e 0,47 dS/m<sup>-1</sup> respectivamente. As concentrações de NaCl citadas por Owojori e Reinecke (2009) para 500, 1000, 2000 e 4000 mg kg<sup>-1</sup> de NaCl, correspondem à CEs de 0,12; 0,26; 0,43; 0,77 e 1,21 dS m<sup>-1</sup>, respectivamente. No biossólido, as concentrações de Na de 120 mg/Kg<sup>-1</sup> apresentam CE de 0,85 dS/m em solo arenoso e 0,91dS/m em solo argiloso e concentrações de 240mg/Kg<sup>-1</sup> de Na apresentam CE de 1,37dS/m<sup>-1</sup> no solo arenoso e 1,49dS/m<sup>-1</sup> no solo argiloso. Estes valores sugerem a presença de íons diferentes do Na contribuindo para o aumento da condutividade elétrica, o que é esperado no caso de uma mistura como o biossólido.



**Figura 35.** Ensaio de fuga com *Eisenia andrei* em Argissolo tratado com diferentes doses de biossólido.

O zero indica a seção sem adição de biossólido.

\* Concentrações onde houve preferência estatisticamente significativa, pelo solo não contaminado através do teste exato de Fisher  $p < 0,05$ .



**Figura 36.** Ensaio de fuga com *Eisenia andrei* em Planossolo tratado com diferentes doses de biossólido.

O zero indica a seção sem adição de biossólido.

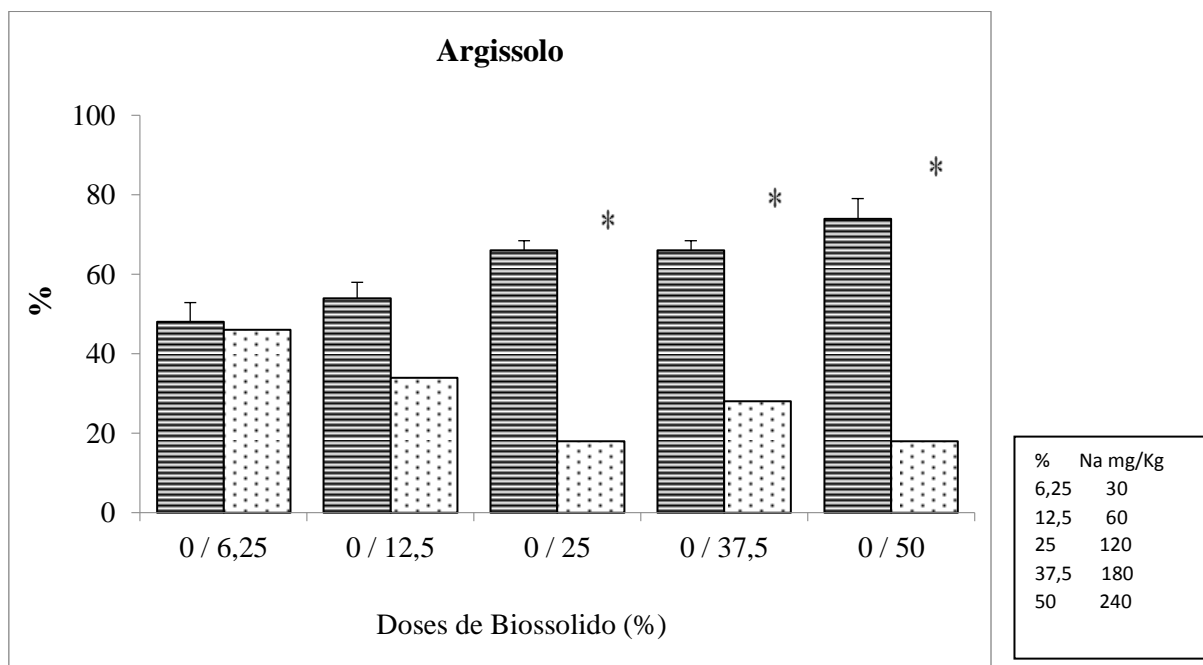
\* Concentrações onde houve preferência estatisticamente significativa, pelo solo não contaminado através do teste exato de Fisher  $p < 0,05$ .

A fuga de, pelo menos, 80% dos organismos para o solo controle, caracteriza a capacidade limitada do solo contaminado em atuar como habitat, provocando danos, não só ao organismo, mas também ao ambiente através da redução das funções exercidas por ele no ecossistema. A perda da função de habitat pode alterar a estrutura da comunidade edáfica, afetar a cadeia trófica e a oferta de serviços ecossistêmicos naquele local como, por exemplo, a decomposição e biopedoturbação exercidas pelas minhocas.

Benazzi (2015) descreveu efeito de 80% de fuga para dois resíduos de perfuração petrolífera com valores de  $135 \text{ mg de NaCl kg}^{-1}$  e  $122,5 \text{ mg de NaCl kg}^{-1}$  em SAT. Para Owojori & Reinecke (2009), o efeito de fuga acima de 80% para *Eisenia fetida* foi obtido em valores de concentração salina de  $500 \text{ mg kg}^{-1}$  de NaCl. Bianchi (2013) avaliando a toxicidade de dois resíduos da mineração de bauxita em SAT, obteve valor de fuga maior que 80% em doses de  $3.700,18 \text{ mg/Kg}^{-1}$  de NaCl para o resíduo “in natura” e  $3.318,35 \text{ mg/Kg}^{-1}$  para o resíduo tratado. Nos ensaios com biossólido houve a fuga de mais de 80% dos organismos, no solo argiloso, a partir da concentração de 45% do resíduo e  $250 \text{ mg/Kg}^{-1}$  de Na, e no arenoso, a partir da concentração de 75% do resíduo e  $360 \text{ mg/Kg}^{-1}$  de Na, embora nas concentrações de 45% e 60% de biossólido, o comportamento de fuga tenha ficado muito próximo a 80%. Owojori et al. (2009) avaliaram os efeitos da salinidade com NaCl puro acrescido de zinco (cloreto de zinco) ou cobre (oxiclreto de cobre) em *Eisenia fetida*. Embora os efeitos da salinidade sobre a toxicidade do cobre fossem aditivos, as minhocas submetidas à exposição de mais de um elemento estressor apresentaram efeitos mais graves do que quando expostas a apenas uma das substâncias. O biossólido é uma mistura composta por múltiplos elementos potencialmente tóxicos, assim a salinidade deve ser avaliada como um fator de estresse, porém não deve ser considerada como o único.

### 4.5.3 Ensaio de fuga com *Folsomia candida*

No dual test os colêmbolos se distribuíram de forma semelhante: 50/48 no solo arenoso e 54/46 no solo argiloso, obedecendo assim os critérios para validação do teste. As figuras 37 e 38 mostram as concentrações onde houve diferenças estatisticamente significativas desta preferência através do teste exato de Fisher. No solo argiloso a  $CE_{10}$  obtida foi de 7,41% e  $CE_{50}$  33,87% e no arenoso a  $CE_{10}$  17,88 e  $CE_{50}$  33,5 demonstrando maior toxicidade quando o resíduo é adicionado ao Argissolo. Os percentuais de fuga demonstram toxicidade do resíduo, ligeiramente superior para o solo argiloso. O colêmbolo *Folsomia candida* apresentou maior sensibilidade ao resíduo do que as minhocas da espécie *Eisenia andrei*. A fuga dos organismos para o solo controle ocorre inicialmente em concentrações inferiores aquelas verificadas para *Eisenia andrei*, a concentração da  $CL_{50}$  para as duas espécies é muito semelhante em solo argiloso e ligeiramente inferior para os colêmbolos no solo arenoso. O valor de fuga negativo no solo arenoso demonstra a preferência pelo solo contaminado em relação ao solo controle nas concentrações de 6,25 e 12,5 %. Como este solo retém menos água e nutrientes do que o solo argiloso e as concentrações mais baixas não apresentam toxicidade elevada, os organismos podem encontrar mais nutrientes disponíveis e a aplicação do resíduo, neste caso, pode resultar em uma melhoria na qualidade do solo predominantemente arenoso como o Planossolo.

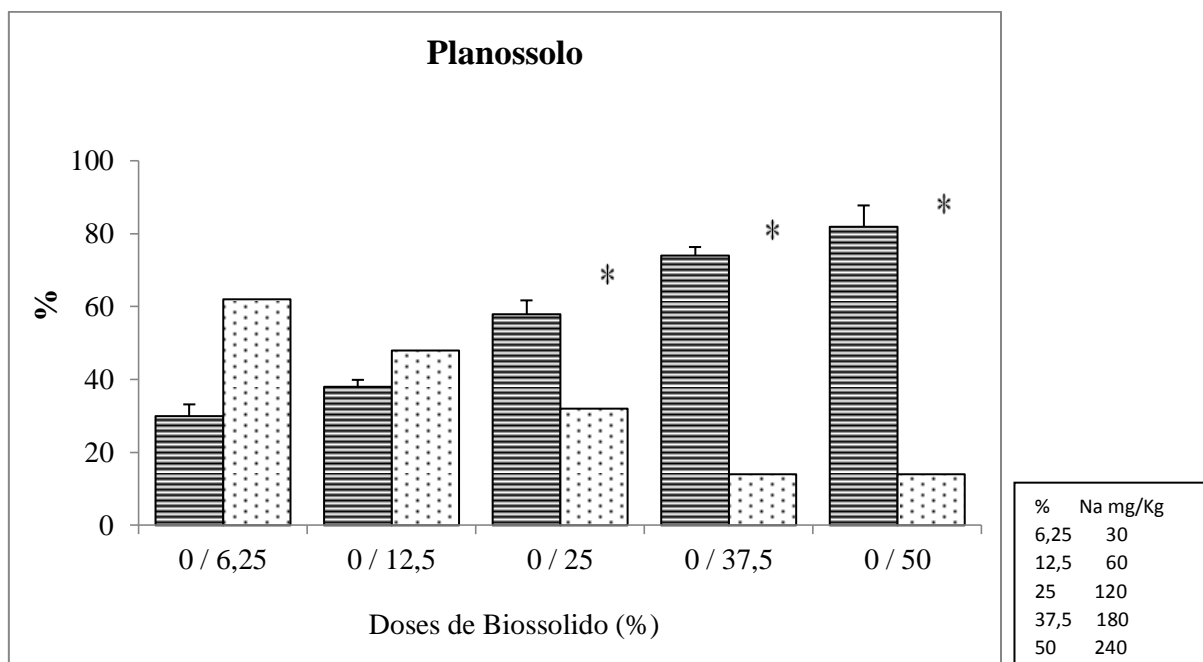


**Figura 37.** Ensaio de fuga com *Folsomia candida* em Argissolo tratado com diferentes doses de biossólido.

O zero indica a seção sem adição de biossólido.

\* Concentrações onde houve efeito estatisticamente diferenciado pelo teste exato de Fisher ( $p < 0,05$ ).





**Figura 38.** Ensaio de fuga com *Folsomia candida* em Planossolo tratado com diferentes doses de biossólido.

O zero indica a seção sem adição de biossólido.

\* Concentrações onde houve efeito estatisticamente diferenciado pelo teste exato de Fisher ( $p < 0,05$ ).

Testes com minhocas e colêmbolos em quatro tipos de solos contaminados com metais revelaram que tanto *Eisenia andrei* quanto *Folsomia candida* foram capazes de evitar os solos mais contaminados. No entanto, as duas espécies apresentaram diferentes sensibilidades aos metais, com as minhocas exibindo respostas mais consistentes e menos variáveis do que os colêmbolos. Os resultados gerais mostraram que os testes de fuga podem ser utilizados com os dois organismos e tornarem-se ferramentas de triagem para avaliação de riscos ecológicos em solos contaminados (NATAL DA LUZ et al., 2004) e que, para ambos os organismos, pode-se obter uma resposta clara dentro de 24 h de exposição. Essa resposta rápida é bastante útil quando há necessidade de avaliar rapidamente solos contaminados (NATAL DA LUZ et al., 2008 a).

Os ensaios com *Folsomia candida* foram realizados em concentrações menores do que aqueles realizados com *Eisenia andrei* onde, no solo argiloso houve mais de 80% de fuga à partir da concentração de 45% e no solo arenoso somente a partir de 75%. Nas concentrações de 37,5 e 50%, principalmente no Planossolo, a fuga dos colêmbolos se aproximou bastante de 80%. A resposta de fuga dos invertebrados edáficos pode ser influenciada pelas propriedades do solo como teor de matéria orgânica e textura. Várias combinações de cada um destes fatores foram testadas e os resultados mostraram que estas propriedades influenciaram a resposta de fuga dos organismos, que evitavam preferencialmente solos com baixo teor de matéria orgânica e textura fina (NATAL DA LUZ et al., 2008 b). Tanto em *Folsomia candida* quanto em *Eisenia andrei* pudemos observar diferenças na fuga entre os solos naturais estudados.

#### 4.5.4 Ensaio de reprodução com *Folsomia candida*

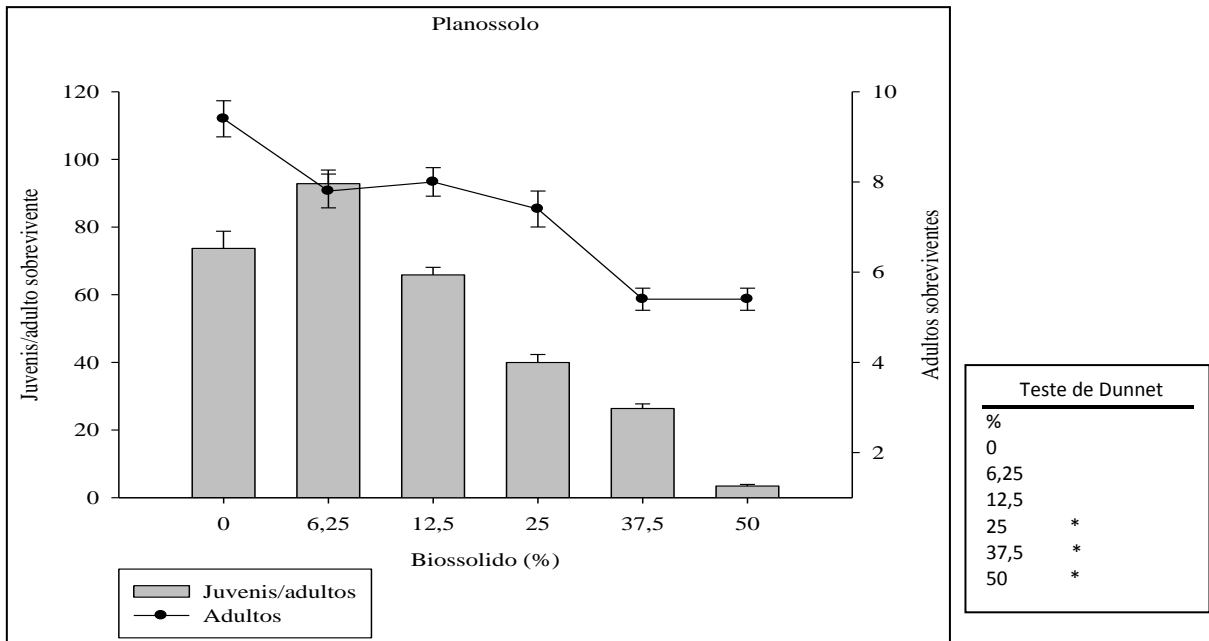
A mortalidade observada no controle dos solos naturais e no SAT, não excedeu 20% e a reprodução média foi superior a 100 no SAT, atendendo assim, aos critérios protocolados para validação dos resultados. Algumas concentrações afetaram a integridade dos organismos provocando letalidade tanto em solo arenoso quanto em solo argiloso.

Nos dois tipos de solo, a concentração mais baixa (6,25%) provocou incremento na reprodução, com o número médio de juvenis maior do que aquele observado no controle, o que pode ser explicado pelo aporte de nutrientes presentes no biossólido e pela concentração relativamente baixa de substâncias tóxicas. Nesta concentração, entretanto, já se observa letalidade dos adultos após 21 dias. Em todas as outras concentrações testadas, nos dois solos naturais, o resíduo promoveu inibição da reprodução com número médio de juvenis inferior ao controle (Figuras 39 e 40).

Nas concentrações acima de 25% em ambos os solos foi observada inibição da reprodução em valores que correspondem a reduções > 20% sendo consideradas estatisticamente diferentes do controle. No Planossolo há uma redução significativa em relação à letalidade e reprodução entre as concentrações de 25% e 37%, enquanto no Argissolo há uma redução acentuada no número de adultos entre as duas concentrações, porém não é acompanhada por uma redução equivalente na reprodução.

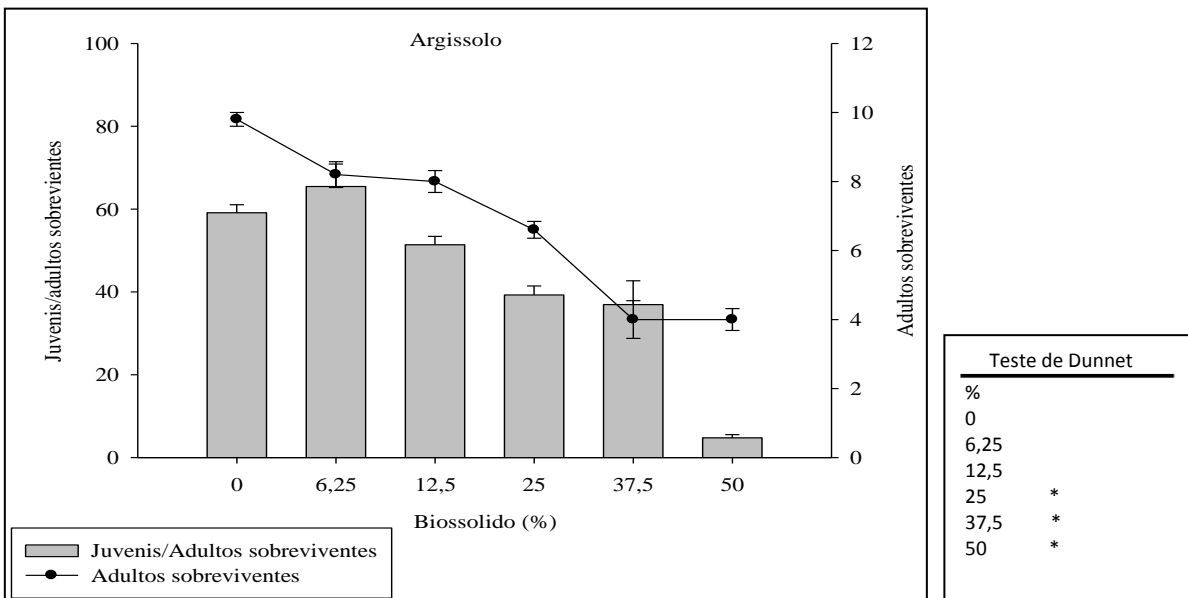
Efeitos de solos naturalmente salinos sobre a sobrevivência e reprodução de *Folsomia candida*, *Enchytraeus doerjes*, *Eisenia fetida* e *Aporrectodea caliginosa* foram avaliados durante 28 dias. A sobrevivência de *E. doerjesi* e *F. candida* não foi significativamente afetada, porém a produção de juvenis cessou para *E. doerjesi*, em 1,31 dS m<sup>-1</sup> e para *F. candida*, em 1,62 dS m<sup>-1</sup>, porém a mortalidade não foi afetada neste intervalo. Baseados nos dados de ensaios de sobrevivência e reprodução, a sensibilidade desses organismos ao estresse salino, aumentou na ordem: *F. candida* < *E. doerjesi* < *A. Caliginosa* < *E. fetida*. (OWOJORI et al., 2009). Na concentração de 50% de biossólido, onde a produção de juvenis é praticamente nula, os valores de condutividade elétrica são de 1,37 e 1,49 dS/m<sup>-1</sup> para Planossolo e Argissolo respectivamente (tabela 7).

Domene et al., (2011) afirmaram que os colêmbolos reproduzem-se menos em solo artificial do que em solo natural. Esta observação não corresponde aos resultados obtidos neste estudo, principalmente no que se refere ao Argissolo, onde o número de juvenis foi sensivelmente inferior aquele encontrado no SAT tanto no controle quanto nas concentrações. Benazzi (2015) reportou a mesma observação em sua avaliação ecotoxicológica de dois resíduos de perfuração petrolífera. Filseret et al., (2014) afirmam que as características do substrato influenciam também o comportamento de organismos-teste e não apenas a biodisponibilidade das substâncias nele presentes.



**Figura 39.** Reprodução e mortalidade de *Folsomia candida*, após 21 dias de exposição às diferentes doses do biossólido em planossolo.

\* Indica diferença significativa em relação ao controle pelo teste de Dunnet,  $p < 0,05$ .



**Figura 40.** Reprodução e mortalidade de *Folsomia candida*, após 21 dias de exposição às diferentes doses do biossólido em Argissolo.

\* Indica diferença significativa em relação ao controle pelo teste de Dunnet,  $p < 0,05$ .

De acordo com os resultados da tabela 17, teores de Na de  $99,84 \text{ mg/kg}^{-1}$  em Planossolo e  $99,87 \text{ mg/Kg}^{-1}$  em Argissolo reduzem a reprodução da população em 50%, equivalendo a valores de condutividade elétrica de  $0,75$  e  $0,76 \text{ dS/m}^{-1}$ , respectivamente. A letalidade para 50% dos organismos ocorreu em concentrações de Na de  $125 \text{ mg/Kg}^{-1}$  e

119,04 mg/Kg<sup>-1</sup> para os solos arenoso e argiloso respectivamente, equivalendo a uma condutividade elétrica de 0,95 e 0,91 para Planossolo e Argissolo respectivamente.

**Tabela 17.** Concentrações efetivas (CE<sub>x</sub>) e letais (CL<sub>x</sub>) do bioestabilizado que provocam a redução na reprodução e a letalidade de 10% e 50% do colêmbulo *F. candida* em Planossolo e Argissolo tratados com diferentes doses de bioestabilizado.

	Percentual	Condutividade Elétrica (dS m <sup>-1</sup> )	Sódio (mg kg <sup>-1</sup> )
Planossolo			
<b>CE<sub>10 repr</sub></b>	8,99 (6,93-11,05)	0,045 (0,04-0,07)	43,15
<b>CE<sub>50 repr</sub></b>	20,80 (18,7-22,8)	0,75 (0,58-0,91)	99,84
<b>CL<sub>10</sub></b>	4,85	0,029 (0,021-0,04)	23,28
<b>CL<sub>50</sub></b>	26,2	0,95 (0,92-0,97)	125,76
Argissolo			
<b>CE<sub>10 repr</sub></b>	7,79 (6,02-9,55)	0,038 (0,036-0,039)	37,39
<b>CE<sub>50 repr</sub></b>	20,87 (18,8-22,8)	0,76 (0,59-0,92)	99,87
<b>CL<sub>10</sub></b>	4,73	0,026 (0,019-0,04)	22,22
<b>CL<sub>50</sub></b>	24,8	0,91 (0,913-0,921)	119,04

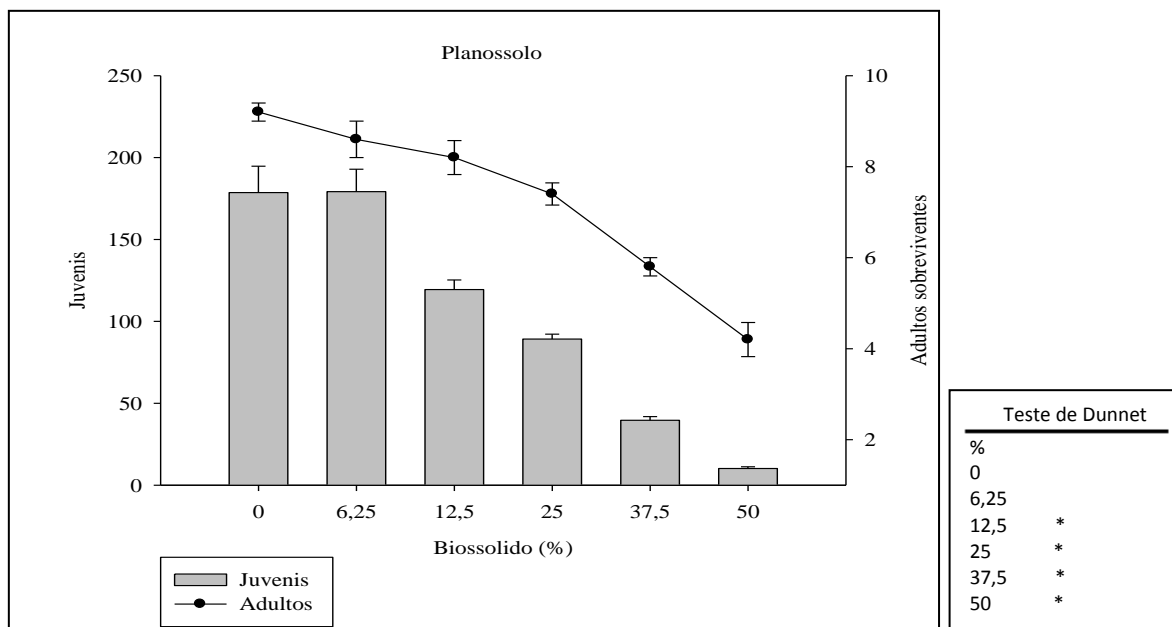
Valores entre parênteses indicam o intervalo de confiança de 95%, quando obtidos.

Os resultados, tanto para a reprodução quanto para a letalidade são muito semelhantes para os dois tipos de solos, reforçando a toxicidade do resíduo quando adicionado a diferentes substratos. As concentrações de Na que provocam efeitos deletérios são inferiores aquelas relatadas na maioria dos trabalhos sobre o tema, porém os valores de condutividade elétrica são semelhantes reforçando a hipótese da presença de outros íons no processo de toxicidade.

#### 4.5.5 Ensaio de reprodução com *Enchytraeus crypticus*

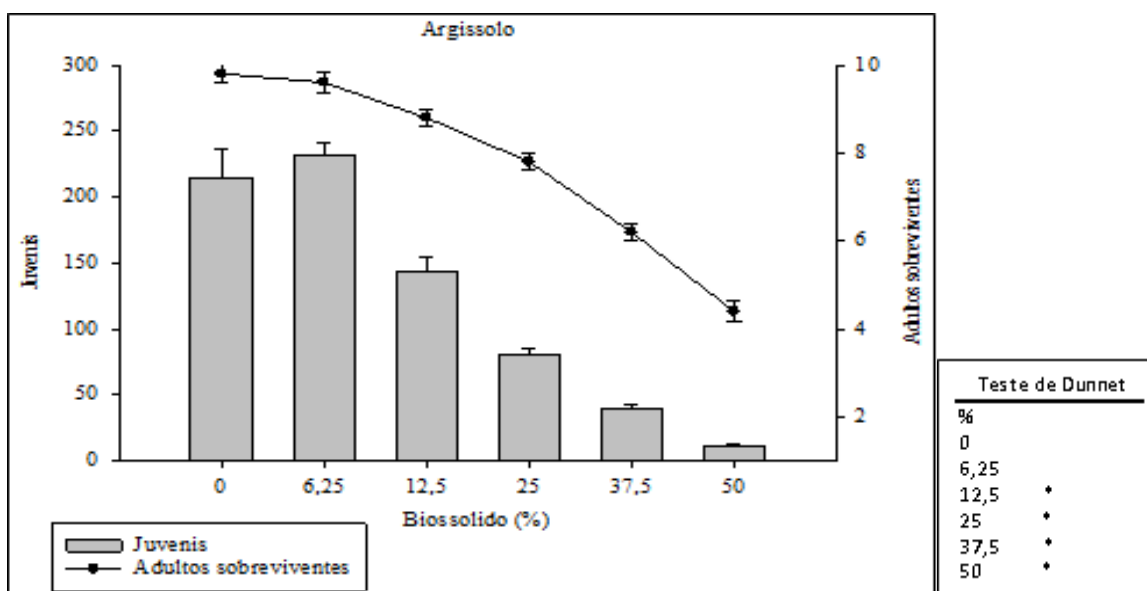
Após 21 dias de ensaio, foram observadas, tanto no controle dos solos naturais quanto no SAT, mortalidades inferiores a 20%. A reprodução média foi superior a 100 no SAT, atendendo assim, aos critérios para validação dos resultados. Além da inibição da reprodução, algumas concentrações do bioestabilizado provocaram letalidade quando adicionadas aos dois solos testados.

Apenas no Argissolo foi observado incremento na reprodução, na concentração de 6,25%. Em todas as outras concentrações testadas, o resíduo promoveu inibição da reprodução com número médio de juvenis inferior ao controle (figuras 41 e 42). Nas concentrações acima de 12,5 em ambos os solos, foi observada inibição da reprodução em valores que correspondem a reduções > 20% sendo consideradas estatisticamente diferentes do controle.



**Figura 41.** Reprodução e mortalidade de *Enchytraeus crypticus*, após 21 dias de exposição às diferentes doses do biossólido em Planossolo.

\*Indica diferença significativa em relação ao controle pelo teste de Dunnet,  $p < 0,05$ .



**Figura 42.** Reprodução e mortalidade de *Enchytraeus crypticus*, após 21 dias de exposição às diferentes doses do biossólido em Argissolo.

\* Indica diferença significativa em relação ao controle pelo teste de Dunnet,  $p < 0,05$ .

De acordo com o descrito na tabela 18, teores de Na de  $99,55 \text{ mg/kg}^{-1}$  em Planossolo e  $109,4 \text{ mg/Kg}^{-1}$  em Argissolo reduzem a reprodução da população em 50%, equivalendo a valores de condutividade elétrica de  $0,71$  e  $0,83 \text{ dS m}^{-1}$ , respectivamente. A letalidade para 50% dos organismos ocorreu em concentrações de Na de  $203,5$  e  $215,0 \text{ mg/Kg}^{-1}$  para Planossolo e Argissolo respectivamente, equivalendo a uma condutividade elétrica de  $1,16$  e  $1,33 \text{ dS/m}$  para Planossolo e Argissolo respectivamente.

**Tabela 18.** Concentrações efetivas (CE<sub>x</sub>) e letais (CL<sub>x</sub>) dos resíduos do biossólido que provocam a letalidade e a redução da reprodução em 10% e 50% do enquitreídeo *E. crypticus* em Planossolo e Argissolo tratados com diferentes doses de biossólido.

	Percentual	Condutividade Elétrica (dS m <sup>-1</sup> )	Sódio (mg kg <sup>-1</sup> )
Planossolo			
CE <sub>10 repr</sub>	7,42(3,85-10,99)	0,037(0,031-0,062)	35,61
CE <sub>50 repr</sub>	20,74 (16,4-22,9)	0,71 (0,53-0,94)	99,55
CL <sub>10</sub>	13,2	0,62 (0,52-0,74)	63,36
CL <sub>50</sub>	42,4	1,16 (0,98- 1,32)	203,52
Argilosolo			
CE <sub>10 repr</sub>	11,8(16,6-29,0)	0,54 (0,36-0,69)	56,64
CE <sub>50 repr</sub>	22,8 (18,8-22,8)	0,83 (0,69-0,95)	109,4
CL <sub>10</sub>	17,6	0,81 (0,63-0,98)	84,48
CL <sub>50</sub>	44,8	1,33 ( 1,13-1,51)	215,04

Valores entre parênteses indicam o intervalo de confiança de 95%, quando obtidos.

Em estudo para avaliar respostas de reprodução e letalidade a variações de Na Cl em invertebrados terrestres observou-se a seguinte ordem de sensibilidade: *H. aculeifer* < *E. crypticus* ≈ *F. Candida* (PEREIRA et al., 2015). As observações corroboram os resultados deste trabalho, no que se refere à reprodução onde foram encontrados valores muito semelhantes para *E. crypticus* e *F. candida*. Os valores de Na assim como a condutividade das concentrações que apresentam efeitos que inibem a reprodução de ambas as espécies também são muito semelhantes para os dois solos naturais. Para os ensaios de letalidade, entretanto, *Falsomia candida* apresentou maior sensibilidade ao resíduo do que *Enchytraeus crypticus* para ambos os solos avaliados. Castro-Ferreira et al., (2012) afirmaram que a reprodução em enquitreídeos é mais sensível que a mortalidade, fato confirmado por Owojori et al., (2009) em relação a ausência de mortalidade em enquitreídeos em valores elevados de condutividade elétrica (1,62 dSm<sup>-1</sup>). Duarte (2011) relatou que resultados obtidos em ensaios de fuga com *F. candida* e *E. andrei* foram menos precisos do que aqueles obtidos em ensaios de reprodução com *F. candida* e *E. crypticus*, sugerindo que a reprodução em colêmbolos é o teste mais preciso para avaliar efeitos da salinização do solo.

O biossólido produzido na ETE Ilha do Governador Rio de Janeiro apresenta toxicidade variável a todos os organismos e em todos os ensaios (tabela 19), exceto na microbiota do solo. Não houve alterações na densidade de bactérias em nenhuma das doses avaliadas e nos fungos houve um incremento na dose de 50% de biossólido tanto para o Planossolo quanto para o Argissolo. Bactérias e fungos responderam de forma positiva ao tratamento com glicose, o que indica a presença dos organismos nos solos naturais, assim como sua capacidade de crescimento quando tratados com substância rica em C. Em relação ao metabolismo microbiano também não foram observadas alterações estatisticamente significativas na liberação de CO<sub>2</sub> nas diferentes doses avaliadas, o que demonstra pouca sensibilidade dos ensaios com microrganismos do solo à adição do biossólido.

Os testes em organismos aquáticos demonstram toxicidade decrescente ao longo da cadeia trófica. Nas algas *Raphidocelis subcaptada*, o impacto causado pelo lixiviado do solo, alterando a transparência da água, causa impacto maior do que o biossólido, com redução de inibição de crescimento mais intensa no Argissolo, onde a turbidez é maior. Nos ensaios de imobilidade com cladóceros zooplantônicos *Daphnia magna* observou-se uma relação dose – efeito negativa para o biossólido, com diferenças significativas entre os dois solos naturais

(48,9% de diferença na CE<sub>10</sub> e 44,1% na CE<sub>50</sub>) sendo a mistura com Argissolo mais tóxica. Os peixes da espécie *Danio rerio* demonstraram menor sensibilidade ao uso do resíduo e às diferenças entre os solos. Os ensaios com dafnídeos, além de apresentarem sensibilidade ao uso do resíduo e às diferenças entre os solos usados como substrato, são rápidos (48 horas), econômicos, geram pouco resíduo e necessitam apenas de meio de cultivo e câmara de germinação, sendo os organismos aquáticos mais indicados para testes de toxicidade com biossólidos

Na avaliação de toxicidade com vegetais, os ensaios de germinação foram mais sensíveis ao uso do resíduo do que os de alongamento de raiz e tamanho de hipocótilo para as duas espécies avaliadas. A alface (*Lactuca sativa*) apresentou sensibilidade maior do que a sabiá (*Mimosa caesalpinifolia*). Além de CE<sub>50</sub> bem menores (47,3 e 58,7% inferiores para Planossolo e Argissolo respectivamente), a alface apresentou grande diferença entre os solos testados (com o Argissolo apresentando CE<sub>50</sub> 19% menor do que o Planossolo). Na germinação de sabiá não foram encontradas diferenças significativas entre os dois tipos de solo. Os ensaios de inibição de germinação com *Lactuca sativa* se apresentaram como os mais adequados para avaliação da toxicidade do biossólido.

Nos ensaios de fuga *Folsomia candida* apresentou maior sensibilidade ao uso do biossólido e as diferenças entre os solos (na CE<sub>10</sub>), porém os ensaios com *Eisenia andrei* apresentaram diferenças maiores entre os dois tipos de solo na CE<sub>50</sub>. Os ensaios com os colêmbolos, ocupam menos espaço e geram menor quantidade de resíduos, sendo assim os mais indicados. Nos ensaios de reprodução com *F. candida* e *E. crypticus*, ambos demonstraram sensibilidade ao uso do resíduo, porém não apresentaram diferenças de toxicidade entre os solos testados. Nos ensaios de letalidade, *F. candida* se mostrou bem mais sensível ao uso do biossólido do que *E. crypticus*, porém nenhum dos organismos apresentou diferenças nas respostas em relação aos diferentes solos naturais.

**Tabela 19.** Comparação dos efeitos observados para todos os endpoints avaliados.

Solo / Resíduo		Planossolo		Argissolo	
		CE <sub>10</sub> (%)	CE <sub>50</sub> (%)	CE <sub>10</sub> (%)	CE <sub>50</sub> (%)
<i>R. subcaptada</i>	Inibição crescimento	5,84	12,7	4,69	8,87
<i>D. magana</i>	Imobilidade	22,5	32,0	11,5	17,9
<i>D. rerio</i>	Letalidade	41,6	42,7	37	38,9
<i>L. sativa</i>	Inibição ger.	16,4	36,1	14,4	29,5
<i>M. caesalp.</i>	Inibição ger.	-	68,4	-	71,2
<i>F. candida</i>	Fuga	7,41	33,87	17,88	33,55
<i>E. andrei</i>	Fuga	32,5	48,03	22,08	33,82
<i>F. candida</i>	Reprodução	8,99	20,8	7,77	20,87
<i>E. crypticus</i>	Reprodução	11,08	22,82	7,42	20,77
<i>F. candida</i>	Letalidade	4,85	26,2	4,73	24,8
<i>E. crypticus</i>	Letalidade	13,2	42,4	17,6	44,8

A maioria das normas para testes ecotoxicológicos, valida ensaios com efeitos de até 20% no controle. A indicação para uso de um produto deve ser mais restritiva no que se refere

à segurança. Assim, a concentração proposta é o valor médio entre o CENO e os 20% de efeito aceito para o controle nos testes, segundo os protocolos de ensaio, ou seja, a menor CE<sub>10</sub> (4,69 para Argissolo 4,85 para Planossolo). Quando os percentuais são transformados em toneladas/hectare, considerando uma camada superficial de 0-20 cm e a densidade do biossólido de 0,45 g/ml, o resultado é de 42,2 ton/ha<sup>-1</sup> para Argissolo e 43,6 ton/ha<sup>-1</sup> para Planossolo.

São apresentadas na tabela 20 algumas das culturas agrícolas mais importantes do estado do Rio de Janeiro, tanto em relação à área plantada quanto ao faturamento agrícola anual (EMATER, 2014). Com o artigo 12 da resolução CONAMA nº 375 (BRASIL, 2006) proíbe a aplicação do biossólido em culturas cuja parte comestível fique em contato direto com o solo não estão contempladas na tabela as culturas de aipim e alface. Como pode ser observado, apenas a recomendação máxima da cultura de banana e a média e máxima da cultura de milho ultrapassam a dose recomendada neste estudo.

**Tabela 20.** Demanda potencial de biossólido para 8 culturas mais importantes no estado do Rio de Janeiro, segundo referências.

Culturas	Recomendação mínima e máxima (t/ha <sup>-1</sup> )	Recomendação média (t/ha <sup>-1</sup> )
Cana de açúcar	10,8 - 42	22,75
Banana	9,0 - 52	31,40
Café	9,0 - 11,5	10,25
Laranja	10,8 - 40	18,36
Coco verde	12,87	12,87
Milho	26 - 75	46,50
Abacaxi	8,80	8,80
Tomate	12,77	12,77

Fonte: ABREU et al. (2017).

Como a toxicidade varia com o tipo de solo onde o biossólido é disposto, torna-se necessária uma avaliação ecotoxicológica para cada solo e resíduo. Quando levamos em conta sensibilidade, tempo, recursos financeiros, espaço, equipamento e quantidade de resíduos gerados, o conjunto de ensaios propostos para avaliação do uso de biossólido em diferentes tipos de solo é de: imobilidade de *Daphnia sp* em elutriato (48h) fuga de *Folsomia candida* (48h) germinação de semente em *L. sativa* (7 dias), reprodução/letalidade em *F. candida* (21 dias). Para todos os ensaios acima, os equipamentos necessários são apenas câmara de germinação ou BOD e microscópio estereoscópico.



## 5 CONCLUSÕES

O bioestabilizado produzido na ETE/CEDAE/Ilha do Governador-RJ não é inócuo aos organismos avaliados, apresentando toxicidade variável, principalmente nos ensaios crônicos.

Os efeitos crônicos, embora não letais, podem comprometer as funções de habitat dos organismos, causando danos, não só a espécie, mas também ao ambiente.

Para a indicação da concentração máxima de bioestabilizado como fertilizante com segurança para toda a biota, este estudo propõe os valores de 4,69%, para o Argissolo e de 4,85% para o Planossolo, resultando uma recomendação de 42,2 e 43,6 ton/ha<sup>-1</sup> para Argissolo e Planossolo respectivamente.

Este valor é superior aquele em que o bioestabilizado é utilizado como fertilizante para a maioria das culturas no estado do Rio de Janeiro estando, portanto, indicado para este uso.

Como as funções de retenção do resíduo no solo não foram contempladas neste estudo, há necessidade de maiores informações sobre a periodicidade do tratamento.

Cuidados especiais devem ser tomados quando o bioestabilizado é utilizado como substrato para áreas de revegetação sem qualquer diluição ou quando é armazenado próximo a ecossistemas aquáticos.

Não é possível estabelecer um padrão para disposição do resíduo no solo, uma vez que foram observadas diferenças de toxicidade entre os solos naturais estudados. Assim, uma avaliação ecotoxicológica é indicada para cada solo e resíduo utilizado.

Os ensaios sugeridos considerando-se sensibilidade dos organismos, tempo, disponibilidade de recursos e geração de resíduos são: *Daphnia magna* (imobilidade), *Lactuca sativa* (germinação de sementes) e *Folsomia candida* (fuga, reprodução e letalidade).

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR10004**: Resíduos sólidos- Classificação. Rio de Janeiro, 2004. 71p.

\_\_\_\_\_. **NBR12648**: Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade crônica - Método de ensaio com algas (*Clorophyceae*). Rio de Janeiro, 2011. 28p.

\_\_\_\_\_. **NBR ISO 17512-1**: Qualidade do solo – Ensaio de fuga para avaliar a qualidade de Solos e efeitos de substâncias químicas no comportamento. Parte1: Ensaio com minhocas (*Eisenia fétida e Eisenia Andrei*). Rio de Janeiro, 2011. 26p.

\_\_\_\_\_. **NBR 12209**: Projeto de Estação de Tratamento de Esgoto. Rio de Janeiro, 2011. 12p.

\_\_\_\_\_. **NBR ISO 11267**: Qualidade do solo - Inibição da reprodução de Collembula (*Folsomia cándida*) por poluentes do solo. Rio de Janeiro, 2011. 26p.

\_\_\_\_\_. **NBR ISO 16387**: Qualidade do solo – efeitos de poluentes em *Enchytraeidae* (*Enchytraeus sp*) – Determinação de efeitos sobre reprodução e sobrevivência. Rio de Janeiro, 2012, 29p.

\_\_\_\_\_. **NBR 15537**: Ecotoxicologia Terrestre. Ecotoxicidade aguda - Método de ensaio em minhocas. Rio de Janeiro, 2014. 13p.

\_\_\_\_\_. **NBR ISO 11269-2**: Qualidade do solo – Determinação de efeitos de poluentes na flora terrestre. Rio de Janeiro, 2014, 23p.;

\_\_\_\_\_. **NBR ISO 15469**: Ecotoxicologia – Coleta, preservação e preparo de amostras. Rio de Janeiro, 2015, 16p.

\_\_\_\_\_. **NBR12713**: Ecotoxicologia Aquática - Toxicidade aguda - Método de ensaio com *Daphnia spp.* (*Cladocera, Crustacea*). Rio de Janeiro, 2016. 27p.

\_\_\_\_\_. **NBR15088**: Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com peixes (Cyprinidae). Rio de Janeiro, 2016. 25p.

ABETRE-ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EMPRESAS DE TRATAMENTO DE RESÍDUOS. **Estudo sobre os aspectos econômicos e financeiros para implantação e operação de aterros sanitários**. Fundação Getúlio Vargas, 2009. Disponível em: <[http://abetre.org.br/estudos e publicações/publicações abetre/](http://abetre.org.br/estudos_e_publicações/publicações_abetre/)>. Acesso em: 12 de fevereiro de 2016.

ABREU, A. H. M. **Biossólido na produção de mudas florestais**. 2014. 78f. Dissertação. (Doutorado em Ciências Ambientais e Florestais). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2014.

ABREU, A. H. M., LELES, P. S. S.; ALONSO, J. M.; ABEL, E. L. S.; OLIVEIRA, R. R. Caracterização do lodo de esgoto gerado no Rio de Janeiro e perspectivas para reciclagem agrícola. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, 2017.

ALVES, E.U.; SADER, R.; BRUNO, R. L. A.; ALVES, A. U. Dormência e desenvolvimento de sementes de sabiá (*Mimosa caesalpinifolia* Benth.). **RevistaÁrvore**, Viçosa-MG, v.28, n. 5, p. 655-662, 2004.

AMSINCK, S. L.; JEPPESE, E.; RYVES, D. Cladoceran stratigraphy in two brackish lakes with special reference to changes in salinity, macrophyte abundance and fish predation. **Journal of Paleolimnol.** v. 29, p. 495-507, 2003.

ANDRADE, L. F.; DAVIDE, L. C.; GEDRAITE, L. S. The effect of cyanide compounds, fluorides, aluminum, and inorganic oxides present in spent pot liner on germination and root tip cells of *Lactuca sativa*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.73, p.626-31, 2010.

ANDREOLI, C. V.; VON SPERLING, M.; FERNANDES, F. (Org.). **Lodo de esgotos: tratamento e disposição final**. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, UFMG; Curitiba: SANEPAR, 484 p. (Princípios do tratamento biológico de águas residuárias, v. 6). 2001.

ANDREOLI, C. V., TAMANIN, C. R., HOLSBACH, B., PEGORINI, E. S., NEVES, P. S. Uso de lodo de esgoto na produção de substrato vegetal. In: **biossólidos - alternativas de uso de resíduos do saneamento**. Rio de Janeiro: Editora: ABES 2006. 398p.

AMDREOTTOLA, G.; OLIVEIRA, E. L.; DALLAGO, L; PEKELINE, R; CARDONNA, M. Método respirométrico para o monitoramento de processos biológicos. **Engenharia Sanitária e Ambiental**.v.10, n. 1, p. 14-23, 2005.

ANDRÉS, P.; DOMENE, X. Ecotoxicological and fertilizing effects of dewatered, composted and dry sewage sludge on soil mesofauna: A TME experiment. **Ecotoxicology** 14. p. 545-557, 2005.

ANJOS, A. R. M. e MATTIAZZO, M. E, Lixiviação de íons inorgânicos em solos continuamente alterados com biossólidos. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**. v. 24, n. 4, p. 927-938, 2000.

BARRIONUEVO, W.R.; FERNANDES, M. N.; ROCHA, O. Aerobic and anaerobic metabolism for the zebrafish, *Danio rerio*, reared under normoxic and hypoxic conditions and exposed to acute hypoxia during development. **Brazilian Journal of Biology**.v. 70, n. 2, p. 425-434, 2010.

BENZAZZI, E. S. **Avaliação ecotoxicológica de resíduos da perfuração petrolífera em terra**.2015.118p. Tese. Programa de Pós-graduação em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2015.

BERNARDES, R.S. e SOARES, S.R.A. **Fundamentos da respirometria no controle de poluição da água e do solo**. Editora Universidade de Brasília: FINATEC, Brasília: DF. 2005. 164p.

BERTOLETTI. **Controle Ecotoxicológico de efluentes líquidos do Estado de São Paulo**. Manual CETESB, 2008. 42p.

BETTIOL, W.; CARVALHO, P.C.T. Utilização de lodo de esgoto primário e fertilizante organo-mineral IPT na cultura do milho. **Revista Fertilizantes**. n. 44, p. 14-15, 1982.

BETTIOL, W.; CAMARGO, O. Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto: descrição do estudo. In: BETTIOL, W.; CAMARGO, O. Lodo de esgoto: **Impactos ambientais na agricultura**. Jaguariúna: EMBRAPA Meio Ambiente, 2006, p.17-24. Cap. 1.

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

BIANCHI, M. O. **Ensaio ecotoxicológico como ferramenta para avaliação do impacto ambiental de resíduos de mineração sobre o solo**. 2013. 91f. Tese (Doutorado em Ciências do Solo). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2013.

BIELSCHOWSKY, M.C. **Modelo de Gerenciamento de Estação de Tratamento de Esgotos: aplicação do caso da Baía da Guanabara**. 2014. Dissertação. (Doutorado em Engenharia Ambiental). Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2014.

BIOCICLO-CONSÓRCIO INTERMUNICIPAL DAS BACIAS DOS RIOS PIRACICABA, CAPIVARI E JUNDIAÍ. **Estudo de viabilidade para instalação e operação de centrais de lodos nas Bacias PCJ**. Americana/SP. 2011. Disponível em: <www.agua.org.br.> Acesso em 03 de outubro de 2014.

BITENCOURT, S.; AISSE, M. M.; SERRAT, B. M.; AZEVEDO, J. C. R. Sewage Sludge Usage in Agriculture: a Case Study of Its Destination in the Curitiba Metropolitan Region, Paraná, Brazil. **Water, Air, & Soil Pollution**. 225:2074, 2014.

BITENCOURT, S.; AISSE, M. M.; SERRAT, B. M.; AZEVEDO, J. C. R. Sorção de poluentes orgânicos emergentes em lodo de esgoto. **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental**. v.21 n.1. p.43-53 jan/mar 2016.

BLUME, K. K.; MACEDO, J. C.; MENGUESI, A.; SILVA, L. B.; QUEVEDO, D. M.; RODRIGUES, M. A. S. Water quality assessment as the Sinos River, Southern Brazil. **Brazilian Journal of Biology**. v.70, n. 4, p. 1185-193, 2010.

BNDES (BANCO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO). Setorial. Fertilizantes: uma visão global sintética. Rio de Janeiro, n. 24, p. 97-138, set, 2006.

BOVI, M. L. A.; GODOY JUNIOR, G.; COSTA, E. A. D.; BERTON, R. S.; SPIERING, S. H.; VEGA, F. V. A.; CEMBRANELLI, M. A. R.; MALDONADO, C. A. B. Lodo de esgoto e produção de palmito em pupunheira. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, p. 153-166, 2007.

BOURIOUG, M.; GIMBERT, F.; ALAOUI-SEHMER, L. BENBRAHIM, M.; ALEYA, L.; SOSSÉ, B. A. Sewage sludge application in a plantation: Effects on trace metal transfer in soil – plant – snail continuum. **Science of the Total Environment**, Califórnia, v. 503, p. 309-314, 2015.

BRADY, N. E.; WEIL, K. **Natureza e Propriedades dos Solos**. Editora Bookman. 3ª edição, 2012. 716p.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Departamento Nacional de Defesa Vegetal. **Regras para análise de sementes**. Brasília: 1992. 365p.

BRASIL. **Resolução nº 375 de 29 de agosto de 2006**. Define critérios e procedimentos, para o uso agrícola de lodos de esgoto gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados, e dá outras providências. Brasília, 2006.

\_\_\_\_\_. **Lei nº 11445 de 5 de janeiro de 2007**. Estabelece diretrizes nacionais para o saneamento básico; altera as Leis nºs 6.766, de 19 de dezembro de 1979, 8.036, de 11 de maio de 1990, 8.666, de 21 de junho de 1993, 8.987, de 13 de fevereiro de 1995; revoga a Lei nº 6.528, de 11 de maio de 1978; e dá outras providências. Brasília, 2007.

\_\_\_\_\_. **Lei nº 12.305, de 2 de agosto de 2010.** Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos; altera a Lei nº 9.605, de 12 de fevereiro de 1998; e dá outras providências. Brasília, 2010.

CALIGARI, A., COSTA, A., RALISH, R. Sustainable agriculture with no-tillage including cover crops and crop rotation. **Ann. Arid. Zone.** v. 46, n.1, p. 1-23, 2007.

CALDEIRA, M. V. W.; BLUM, H.; BALBINOT, R.; LOMBARDI, K. C. Composto orgânico na produção de mudas de aroeira vermelha. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 9, p. 27-33, 2008

CALDEIRA, M. V. W.; DELARMELINA, W. M.; LÜBE, S. G.; GOMES, D. R.; GONÇALVES, E. O.; ALVES, A. F. Biossólido na composição de substratos para a produção de mudas de *Tectonagrandis*. **Revista Floresta**, Curitiba, v. 42, n. 1, p. 77-84, 2012c.

CAMPAGNA-FERNANDES, A. F.; MARIN, E. B.; PENHA, T. H. F. L. Application of root growth endpoint in toxicity tests with lettuce (*Lactuca sativa*). **Ecotoxicology Environmental Contamination.** v. 11, n. 1, p 27-32, 2016.

CAMPANA, H. C. **Efecto de La aplicación em suelos de lodos residuales procedentes de malterias de cevada.** Argentina, 2011. Disponível em: <<http://www.edutecne.vtn.edu.ar>> Acesso em: 03de outubro de 2013.

CARVALHO, P.E.R. **Sabiá *Mimosa caesalpinifolia*.** Embrapa Florestas, 2007. 10p. (Embrapa Florestas. Circular Técnica, 135). Disponível em: <[http://www.cnpf.embrapa.br/publica/comuntec/edicoes/com\\_tec135.pdf](http://www.cnpf.embrapa.br/publica/comuntec/edicoes/com_tec135.pdf)>. Acesso em 05 outubro de 2017.

CARVALHO, C. S; RIBEIRINHO, V. S.; ANDRADE, C. A.; GRUTZMACHER, P.; PIRES, A. M. M. Composição Química da Matéria Orgânica de Lodos de Esgoto. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v.10, n.3, p.413-419, 2015.

CASIMIRO, S.; MANSUR, E.; PACHECO, G.; GARCIA, R.; LEAL, I. C. R. Allelopathic Activity of Extracts from Different Brazilian Peanut (*Arachishypogaea* L.) Cultivars on Lettuce (*Lactuca sativa*) and Weed Plants. **Scientific World Journal.**v.2017, p. 1-7, 2017.

CASTRO-FERREIRA, M. P.; ROELOFS, D.; van GESTEL, C. A. M.; VERWEIJ, R. A.; SOARES, A. M. V. M.; AMOR, M. J. B. Enchytraeus crypticusas model species in soil ecotoxicology. **Chemosphere**, v. 87, n. 11, p. 1222-1227, 2012.

CESAR, R. G.; EGLER, S. G.; ALAMINO, R.; POLIVANOV, H.; SILVA, R. C.; CASTILHOS, Z. C.; ARAÚJO, P. C. Avaliação do Potencial Tóxico de Latossolos e Chernossolos Acrescidos de Lodo de Esgoto Utilizando Bioensaios com Oligoquetas da Espécie *Eisenia andrei*. **Anuário do Instituto de Geociências** (UFRJ. Impresso), v. 31, p. 53-60, 2008.

CESAR, R.G.; ÁLVARO, T.T.; SILVA, M.B.; COLONESE, J.; PEREIRA, C; POLIVANOV, H.; EGLER, S.G.; BIDONE, E.D.; CASTILHOS, Z.C. Biodisponibilidade decontaminantes em solos brasileiros tratados com lodo de esgoto: uma abordagem ecotoxicológica utilizando bioensaios com organismos aquáticos e edáficos. **Geochimic Brasiliensis.** v.24, p. 41-49, 2010.

CETESB-COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Aplicação de lodo de sistema de tratamento em áreas agrícolas: critério para projeto e operação** (manual técnico). São Paulo. 32p. (CETESB NORMA P 4230), 1999.

\_\_\_\_\_. **Bi indicadores vegetais: Ensaio de alongamento da raiz.** Relatório II: Lodo de estação de tratamento de esgoto. São Paulo, 2008. 53p.

\_\_\_\_\_. **Relatório de qualidade das águas superficiais do Estado de São Paulo.** Apêndice B. Índices de qualidade das águas. 2009.

CHARLES, J.; SANCEY, B.; CRINI, N. M.; BADOT, P. M.; DEGIORGI, F.; TRUNFIO, G.; CRINI, G. Evaluation of the phytotoxicity of polycontaminated effluents using the lettuce plant (*Lactuca sativa*) as a bioindicator. **Ecotoxicological and Environmental Safety.** v.74,p. 2057-2064, 2011.

CHEN, F.; Ying, G.; Ma, Y.; Chen, Z.; Lai, H.; PENG, F. Field dissipation and risk assessment of typical personal care products TCC, TCS, AHTN and HHCB in biosolid-amended soils. **Science of the Total Environment.** v 470-471, p. 107-108, 2014.

CLARKE, B. O.; SMITH, S.R. Review of 'emerging' organic contaminants in biosolids and assessment of international research priorities for the agricultural use of biosolids. **Environmental International.** v.37, p. 226-247, 2011.

COLODRO, G. **Recuperação de solo de área de empréstimo com lodo de esgoto.** 2005. 102f. Tese. (Doutorado em Engenharia Agrícola). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

CORDEIRO, G. G. Níveis de tolerância das culturas a teores de sais no solo e na água de irrigação. **Instruções técnicas da Embrapa semi-árido.** v.38, p. 2, 2000.

CORRÊA, R. S.; CORRÊA, A. S. Valoração de biossólidos como fertilizantes e condicionadores de solos. **Revista Sanare,** Curitiba, v. 16, n. 2, p. 49-56, 2001.

CORRÊA, R. S.; SILVA, L. C. R.; BAPTISTA, G. M. M.; SANTOS, P. F. Fertilidade química de um substrato com lodo de esgoto e composto de resíduos domésticos. **Revista brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental,** Campina Grande, v. 14, n. 5, p. 538-544, 2010.

CORVINI, P.F.X; SHAFFER, A; SCHIOSSER, D. Microbial degradation of monophenol and other alkylphenols- our evolving view. **App. Microbial. Biotechnol,** Germany, v.72, p.223-243; abr/jul,2006.

COSCIONE, A. R.; NOGUEIRA, T. A. R.; PIRES, A. M. M (Eds.). **Uso agrícola de lodo de esgoto – Avaliação após a Resolução nº 375 do CONAMA.** Botucatu: FEPAF, 2010, 408p.

COSTA, M. G.; GAMA-RODRIGUES, A.C.; ZAIA, F.C.; GAMA-RODRIGUES, A.C. Leguminosas arbóreas para recuperação de áreas degradadas com pastagem em Conceição de Macabu, Rio de Janeiro, Brasil. **ScientiaForestalis 101 Sci. For.** Piracicaba, v. 42, n. 101, p. 101-112, 2014.

COSTA, M.R. **Uso da respirometria para avaliação da biodegradação aeróbia do lixiviado de resíduos urbanos em Latossolo-Vermelhoescuro.** 2009.109f. Dissertação. (Doutorado em Engenharia Civil e Ambiental). Faculdade de Tecnologia. Universidade de Brasília, 2009.

CRUZ, F. R. S.; ANDRADE, L. A.; ALVES, E. U. Estresse salino na qualidade fisiológica de sementes de *Cryptostegiama dagascariensis* Bojer ex Decne. **Revista Ciência Florestal,** v. 26, n. 4, p. 1189-1199, 2016.

CRUZ, I. F. D. **Efeitos da formação e operação de um reservatório de pequena regularização na alteração da qualidade da água e do regime hidrológico na planície de inundação do pantanal**. 2010. 85 f. Tese. (Doutorado em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

DA MATTA, M.E.M; KUMMOW, F.; UMBUZEIRO, G.A. Uma possível classificação da periculosidade de lodos de esgoto utilizando testes de toxicidade: Resultados preliminares. **Revista AIDIS de Ingeniería y Ciencias Ambientales: Investigación, desarrollo y práctica**, v. 2, n.1, p.49-55, 2009.

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

DAVIDE, A. C.; SILVA, E. A. A. **Produção de Sementes e mudas de espécies florestais**. Lavras: Editora da UFLA, 2008. 128p.

DAVES, E.F.; KLOSTERHAUS, S.L.; STAPLETO, M.H. Measurement of flame retardants and triclosan in municipal sewage sludge and biosolids. **Environment International** 40. p.1–7, 2012

DECHEN, R.A.; NACHTIGALL, G.R. Micronutrientes. In: FERNANDES, M.S. **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p. 327-354.

**DIRECTIVA 86/278/CEE** relativa à proteção do ambiente, e em especial dos solos, na utilização agrícola das lamas de depuração. Disponível em:<<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/>>. Acesso 03 de março de 2014.

DOMENE, X.; CHELINHO, S.; CAMPANA, P.; NATAL-DA-LUZ, T.; ALCANIZ, J. M.; ANDRÉS, P.; RÖMBKE, J.; SOUSA, P. Influence of soil properties on the performance of *Folsomia candida*: implications for its use in soil ecotoxicology testing. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 30, n. 7, p.1497-1505, 2011.

DORES-SILVA, P.R.; LANDGRAF, M.D.; REZENDE, M.O. Bioensaios para avaliação da toxicidade aguda, reprodução e ganho de biomassa de minhocas (*Eiseniafetida*) ambientadas em lodo de esgoto doméstico. **Ecotoxicology and Environmental Contamination**v.8, n.1, p.143-146, 2013.

DUARTE, A.I.D. **Soil salinization as a stress factor for soil fauna**.75f. 2011. Dissertação. (Mestrado em Ecologia). Universidade de Coimbra, 2011.

DUTRA, T. R.; MASSAD, M. D.; MOREIRA, P. R.; RIBEIRO, E. S. M. Efeito da salinidade na germinação e crescimento inicial de plântulas de três espécies arbóreas florestais. **Revista Pesquisa Florestal Brasileira**, v.37, n.91, p.323-330, 2017.

EMPRESA DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL DO RIO DE JANEIRO - **Acompanhamento Sistemático da Produção Agrícola**, Ano 2014. Disponível em <[http://www.emater.rj.gov.br/images/ASPA2014\\_MUN\\_SITE.htm](http://www.emater.rj.gov.br/images/ASPA2014_MUN_SITE.htm)>. Acesso em 12 julho de 2017.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3ª Ed. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 353p, 2013.

EL-DEEB GHAZY, M.; HABASHY, M.; KOSSA, F.I.; MOHAMMADY, E.Y. Effects of Salinity on Survival, Growth and Reproduction of the Water Flea, *Daphnia magna*. **Nature and Science**.v.7, n.11. p. 28-42, 2009.

ELSHOUTH, P.M.; DIONÍSIO PIRES, L.M.; LEUVEN, R.S.; WENDELAAR BONGA, S.E.; HENDRIKS, A.S. Low oxygen tolerance of different life stages of temperate freshwater fish species. **Fish Biol**.v.83, n.1.p.190-206, 2013.

ESTEVEZ, F. A. **Fundamentos de limnologia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Interciência, 2011. 826 p.

FAO-FADINAP. **Regional Seminar Fertilization and the Environment. Rome-Italy. Erosión del suelo en América Latina**.1992. Disponível em: <<http://www.fao.org>> Acesso em: 03 de junho de 2014.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **Food and agriculture in review**. The state of food and agriculture. 2010/2011. Disponível em: <<http://www.fao.org>> Acesso em: 03 de março de 2013

FERESIN, E. G.; ARCIFA, M. S.; SILVA, L. H. S.; ESGUÍCERO, A. L. H. Primary productivity of the phytoplankton in a tropical Brazilian shallow lake: experiments in the lake and in mesocosms. **Acta Limnologica Brasiliensia**.v. 22, n. 4, p. 384-396, 2010.

FERREIRA, E.D.S. **Aplicação da respirometria na caracterização do esgoto doméstico afluente a uma ETE por processo de lodos ativados**. 140p. 2002. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil e Ambiental). Faculdade de Tecnologia. Universidade de Brasília, 2002.

FERREIRA, E. G. B. S.; MATOS, V. P.; SENA, L. H. M.; OLIVEIRA, R. G.; SALES, A. G. F. A. Processo germinativo e vigor de sementes de *Cedrela odorata* L. sob estresse salino. **Revista Ciência Florestal**, Santa Maria, RS, v. 23, n. 1, p. 99-105, 2013.

FILSER, J.; WIEGMANN, S.; SCHRÖDER, B. Collembola in ecotoxicology – any news or just boring routine? **Applied Soil Ecology**, v. 83, p. 193-199, 2014.

GAMA-RODRIGUES, E.F.; BARROS, N. F.; GAMA-RODRIGUES, A. C.; SANTOS, G.A. Nitrogênio, carbono e atividade da biomassa microbiana do solo em plantações de eucalipto. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**. v.9, n. 6, p. 893-901. Nov/Dec. Viçosa, 2005.

GAMA-RODRIGUES, E.F.; BARROS, N.F.; VIANA, A. P.; SANTOS, G.A. Alterações na biomassa e na atividade microbiana da serapilheira e do solo, em decorrência da substituição de cobertura florestal nativa por plantações de eucalipto, em diferentes sítios da região Sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**. v. 32, n. 4. p. 1489-1499. Jul/Ago. Viçosa, 2008.

GARRETA-LARA, E.; CAMPOS, B.; LACORTE, S; TAULER, R. Combined effects of salinity, temperature and hypoxia on *Daphnia magna* metabolism. **Sci. Total. Environ**. v. 1, p. 602-6012, 2017.

GERBA, C.P.; PEPPER, I.L.; WHITTREAD, L. F. A risk assessment of emerging pathogens of concern in the land application of biossolids. **Water Science technology**. 46 (10). p. 225-236, 2002.

GIORGETTI, L.; TALOUIZTE, H.; MERZOUKI, M.; CALTAVUTURO, L.; GERI, C.; FRASSINETTI, S. Genotoxicity evaluation of effluents from textile industries of the region



Fez-Boulmane, Morocco: A case study. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, n. 74, p. 2275–2283, 2011.

GHINI, R.; LEONI, C. Uso de lodo de esgoto para indução de supressividade de solos a *Phytophthoranicotianae* em citros. **Circular Técnica**. Jaguariúna: EMBRAPA, n. 10, p.1-5, 2005.

GONÇALVES, A. M.M.; CASTRO, B.B.; PARDAL, M. A.; GONÇALVES, F. Salinity effects on survival and life history of two freshwater cladocerans (*Daphnia magna* and *Daphnia longispina*). *Ann. Limnol.* - **Int. J. Lim.** v.43. n.1. p.13-20, 2007.

GONÇALVES, E. O.; PAIVA, H. N.; NEVES, J. C. L.; GOMES, J. M. Nutrição de mudas de angico-vermelho (*Anadena theramacarpa* (Benth.) submetidas a doses de N, P, K, Ca, e Mg. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 36, n. 2, p. 219-228, 2012.

GONZÁLES, M.G.; MOLINA, C.; PEINADO, F.; RUANO, S.M. Toxicity assessment using *Lactuca sativa* L. bioassay of the metal(loid)s As, Cu, Mn, Pb and Zn in soluble-in-water saturated soil extracts from an abandoned mining site. **Jounal of soils and Sediments**. v.2 p.281-289, 2011.

GUEDES, M. C.; ANDRADE, C. A. de; POGGIANI, F.; MATTIAZZO, M. E. Propriedades químicas do solo e nutrição do eucalipto em função da aplicação de lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 30, n. 2, p. 267-280, 2006.

GUEDES, R. S.; ALVES, E. U.; VIANA, J. S.; GONÇALVES, E. P.; LIMA, C. R.; SANTOS, S. R. N. Germinação e vigor de sementes de *Apeibatibourbou* submetidas ao estresse hídrico e diferentes temperaturas. **Ciência Florestal**, Santa Maria, RS, v. 23, n. 1, p. 45-53, 2013.

HLL C.J.; BURNS C.W. 2002.Mortality and growth responses of *Daphnia carinata* to eincreases in temperature and salinity. **Freshwat. Biol.**v. 47. p.451-458, 2002.

HLL C.J.; BURNS C.W. Responses of crustacean zooplankton to seasonal and tidal salinity changes in the coastal Lake Waihola, New Zealand.**New Zeal. J. Mar. Fresh. Res.** v.37, p. 31-43, 2003.

HO, D. H.; BURGGREN, W. W. Parental hypoxic exposure confers offspring hypoxia resistance in zebrafish (*Danio rerio*). **J.Exp.Biol.** v.1, n. 215, p. 4208-4216, 2012

HOPPE, P. D.; ROSI-MARSHAL, E. J.; BECHTOLD, H. A. The antihistamine cimetidine alters invertebrate growth and population dynamics in artificial streams. **Freshwater Science**. 31(2). p. 379-388, 2012.

HORNICK, S. B. Factors affecting the nutritional quality of crop. **American Journal of Alternative Agriculture**. 7 (1-2): 63-68, 1992.

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios**, 2004.

\_\_\_\_\_. **Pesquisa Nacional de Saneamento Básico**, 2008.

\_\_\_\_\_. **Senso Demográfico**, 2010.

JIMÉNEZ, B.; AUSTIN, A.; CLOETE, E.; PLASHA, C.; BELTRAN, N. Biological risks to foods crops fertilized with Ecosau sludge. **Water Science and technology** 55. v.7, p.21-29, 2007.

JOHNSON, A. C.; BOWES, M. J.; CROSSJEY, A.; JARVIE, H. P.; JURKSCHAT, K.; JUGENS, M. D.; JAWLOR, A. J.; PARK, B.; ROWLAND, P.; SPURGEON, D.; SVENDSEN, C.; THOMPSON, I. P.; BARNES, R. J.; WILLIAMS, R. J.; XU, N. An assessment of the fate, behaviour and environmental risk associated with sunscreen TiO<sub>2</sub> nanoparticles in UK field scenarios. **Sci. Total. Environ.** 409: 2503-2510, 2011.

JONSSON, C. M.; MAIA, A. H. N. Avaliação da toxicidade do lodo de esgoto de duas estações de tratamento para o invertebrado aquático *Daphniasimilis*. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, 17: 1-8, 2007.

KEPKA, W.; ANTONKIEWICZ, J.; GAMBUS, F.; WITKOWICZ, R. The effect of municipal sewage sludge on the content, use and mass ratios of some elements in spring barley biomass. **Soil Science Annual**. v.2, p. 99-105, 2017.

KILL, L. H. P. Fenologia reprodutiva e dispersão de sementes de quatro espécies da caatinga consideradas como ameaça de extinção. **Informativo Abrates**, v. 36, p. 194-203, 2014.

LÃ, O. R. **Efeito do período de estocagem, tempo de incubação e temperatura de secagem na avaliação de parâmetros químicos e biológicos na disponibilidade de metais de lodo de esgoto**. 2010. 115p. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2010.

LEE, S.; JUNG, D.; KHO, Y.; KIM, P.; AHN, B.; CHOI, K. Ecotoxicological assessment of cimetidine and determination of its potential for endocrine disruption using three test organisms: *Daphnia magna*, *Moina macrocopa*, and *Danio rerio*. **Chemosphere**.135:208-216.

LI, Y.; TANG, C.; WANG, J.; ACHARYA K.; DU, W.; GAO, X.; LUO, L.; LI, H.; DAI, S.; MERCY, J.; YU, Z.; PAN, B. Effect of wave-current interactions on sediment resuspension in large shallow Lake Taihu, China. **Environmental Science and Pollution Research**, p. 4029–4039, 2017.

LIMA FILHO, P. **Biossólido na restauração Florestal: Formação de mudas e fertilização de plantio**. 2015. 99f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais e Florestais). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2015.

LIN, Q.; HOU, J.; LIU, Z.; JAPPESEN, E.; PING-HANG, B. Responses of trophic structure and zooplankton community to salinity and temperature in Tibetan lakes: Implication for the effect of climate warming. **Water Research**. v.124, p. 618-629, 2017.

LOBO, T. F.; FILHO, H. G.; BULL, L. T.; SOUZA, F. L. P. Efeito do Nitrogênio e do Lodo de Esgoto na Nutrição do Feijoeiro. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Pombal, v.10, n.2, p. 33-41, 2015.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 4.ed. Nova Odessa. São Paulo: Plantarum, 155 p, 2002

LOZADA, P. T.; LEAL, J. A. S.; OROBIO, B. A. P.; CASTRO, V. C. PARRA, C. A. M. Influencia de La aplicación de biosólidos sobre el suelo, la morfología y productividad del cultivo de caña de azúcar. **Revista U.D.C.A. Act. & Div. Cient.**, Cartagena, v. 18, n. 1, p. 69-79, 2015.

LUZ, T.N.; TIDONAS, S.; JESUS, B.; MORAIS, P. V.; SOUSA, P.V. The use of sewage sludge as soil amendment. The need for an ecotoxicological evaluation. **J. Soils Sediments**. 9. p. 246-260, 2009.

- LYU, K.; CAO, H.; CHEN, R.; WANG, Q.; YANG, Z. Combined effects of hypoxia and ammonia to *Daphnia similis* estimated with life-history traits. **Environ. Sci. Pollut. Res. Int.** v.20. n.8, p. 5379-5387.
- MAIO, M. M.; SAMPAIO, R. A.; NASCIMENTO, A. L.; PRATES, F. B. S.; RODRIGUES, M. N.; SILVA, H. P.; DIAS, A. N.; FREITAS, C. E. S. Atributos físicos do solo, adubado com lodo de esgoto e silicato de cálcio e magnésio. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 58, n. 6, p. 823-830, 2011.
- MANHÃES, C. M. C.; GAMA-RODRIGUES, E. F.; MOÇO, M. K. S.; GAMA-RODRIGUES, A. C. Caracterização da fauna do solo e da serapilheira de leguminosas florestais em pastagem na região norte fluminense. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Porto Alegre, v. 2, n. 2, p. 1220-1223, 2007
- MARTI, E.; VARIATZA, E.; BALCAZAR, J.L. The role of aquatic ecosystems as reservoirs of antibiotic resistance. **Trends Microbiol.** 22:36-41, 2014.
- MARTINEZ-JERONIMO, F.; MARTINEZ-JERONIMO, L. Chronic effect of NaCl salinity on a freshwater strain of *Daphnia magna* Strauss (Crustacea: Cladocera): a demographic study. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** v.67.n.3, p.411-416, 2007.
- MATSUOKA, M.; MENDES, I. C.; LOUREIRO, M. F. Biomassa microbiana e atividade enzimática em solos sob vegetação nativa e sistemas agrícolas anuais e perenes na região de Primavera do Leste (MT). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, n. 3, p. 425-433, 2003.
- MEDEIROS, E. V.; SILVA, K. J. P.; MARTINS, C. M.; BORGES, W. L. Tolerância de bactérias fixadoras de nitrogênio provenientes de municípios do Rio Grande do Norte à temperatura e a salinidade. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, João Pessoa, v. 7, n. 2, p. 159-168, 2º semestre. 2007.
- MERLINO, L. C. S.; Melo, W. J.; MACEDO, F. G.; GUEDES, A. C. T. P.; RIBEIRO, M. H.; MELO, V. P.; MELO, G. M. P. Bário, cádmio, cromo e chumbo em plantas de milho e em Latossolo após onze aplicações anuais de lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, p. 2031-2039, 2010
- MININNI, G.; BLANCH, A. R.; LUCENA, F.; BERSELLI, S. EU policy on sewage sludge utilization and perspectives on new approaches of sludge management. **Environ. Sci. Pollut. Res**, v.22, p. 7361-7374, 2015.
- MINISTERIO DE DESAROLLO SOCIAL Y MEDIO AMBIENTE. **Resolución N° 97/2001** Regulamento para el manejo sustentable de barros generados en plantas de tratamiento de efluentes líquidos. Buenos Aires. Nov, 2001. Disponível em: <www.ambiente.gov.ar> Acesso em: 08 de janeiro de 2016.
- MTSHALI, J. S.; TIRUNEH, A. T.; FADIRAN, A. O.; Characterization of Sewage Sludge Generated from Wastewater Treatment Plants in Swaziland in Relation to Agricultural Uses. **Resources and Environment**, v.4, p.190-199, 2014.
- MOREIRA, R.; SOUSA, J.P.; CANHOTO, C. Biological testing of adigested sewage sludge and derived composts. **Bioresour Technol.** 99:8382–8389, 2008.
- MOU, B. Lettuce. In: PROHENS J., NUEZ F. (eds), Handbook of Plant Breeding. Vegetables I. Asteraceae, Brassicaceae, Chenopodiaceae, and Cucurbitaceae. New York, **Springer Science**: 75–116, 2008.

NASCIMENTO, A.L. **Caracterização microbiológica, química e presença de poluentes orgânicos em amostras de lodo de esgoto de São Paulo**. 87p. 2016.Tese. (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) Escola Superior de Agricultura Luís de Queirós, Piracicaba, 2016.

NATAL DA LUZ, T.; RIBEIRO, R.; SOUSA, J. P. Avoidance tests with Collembola and earthworms as early screening tools for site-specific assessment of polluted soils. **Environ. Toxicol. Chem.** v. 23, n.9, p. 2188-2193, 2004.

NATAL DA LUZ, T.; ROMBKE, J.; SOUSA, J.P. Avoidance tests in site-specific risk assessment--influence of soil properties on the avoidance response of Collembola and earthworms. **Environ. Toxicol.Chem.** v. 27. n. 5, p. 112-117, 2008a.

NATAL DA LUZ, T.; AMORIM, M. J; ROMBKE, J.; SOUSA, J. P. Avoidance tests with earthworms and springtails: defining the minimum exposure time to observe a significant response. **Environ Environ.Saf.** v. 71, n. 2, p. 545-551, 2008b.

NATAL DA LUZ, T.; TIDONA, S.; JESUS, B.; MORAIS, P. V.; SOUSA, J. P. The use of sludge as soli amendment. Tha need for an ecotoxicological evaluation.**J.Solis.Sediments**.n. 9, p. 246-260, 2009.

NAVARRO, I.; JIMÉNEZ, B.; CIFUENTE, E.; LUCARLO, S. Application of helminth ova infection dose curve to estimate the risks with biosolids application on soil. **Journal of Water and Health.** v.7, n. 1, p. 31-44, 2009.

NOGUEIRA, T. A. R.; MELO, W. J.; NOGUEIRA, T. A. R.; FONSECA, I. M.; MARQUES, M. O.; HE, ZL. Barium uptake by maize plants as affected by sewage sludge in a long-term field study. **JournalofHazardousMaterials**, v. 181, p. 1148-1157, 2010.

NUNES, S.P. **Agricultura familiar no MERCOSUL**. Departamento de Estudos Sócio Econômico Rurais. Boletim eletrônico n° 160, agosto, 2007. Disponível em:<<http://.deser.org.br/adm/ver/asp>>. Acesso em: 03 de outubro de 2013.

NUVOLARI, A. Esgoto sanitário: coleta, transporte, tratamento e reuso agrícola. 2ª ed. São Paulo: Blucher, 2011. 565p.

OLIVEIRA, F. C.; MATTIAZZO, M. E. Mobilidade de metais pesados em um Latossolo Amarelo distrófico tratado com lodo de esgoto e cultivado com cana-de-açúcar. **ScientiaAgricola**, Piracicaba, v. 58, n. 4, p. 807-812, 2001

OLIVEIRA, C.; SOBRINHO, N.M.B.; MARQUES, V.S.; MAZUR, W. Efeitos da aplicação de lodo de esgoto enriquecido com Cd e Zn na agricultura de arroz. **Revista Brasileira de Ciênciado Solo.** 29 (1) 109-116. 2005.

OUMET, R.; PION, A. P.; HÉBERT, M. Long-term response of forest plantation productivity and soils to a single application of municipal biosolids. **Canadian Journal Soil Science.** Saskatoon, v. 95, p. 187–199, 2015.

OWOJORI, O. J.; REINECKE, A. J. Avoidance behavior of two eco-physiologically different earthworms (*Eisenia fetida* and *Aporrectodea caliginosa*) in natural and artificial saline soils. **Chemosphere**, v. 75, n. 3, p. 279-283, 2009.

OWOJORI, O. J.; REINECKE, A. J.; VOUA-OTOMO, P.; REINECKE, S. A. Comparative study of the effects of salinity on life-cycle parameters of four soil-dwelling species

(*Folsomia candida*, *Enchytraeus doerjesi*, *Eisenia fetida* e *Aporrectodea caliginosa*). **Pedobiologia**, v. 52, n. 6, p. 351-360, 2009.

PAIVA, A. V.; POGGIANI, F.; GONÇALVES, J. L. M.; FERRAZ, A. N. Crescimento de mudas de espécies arbóreas nativas, adubadas com diferentes doses de lodo de esgoto seco e com fertilização mineral. *Scientia Forestalis*, Piracicaba, v. 37, n.84, p. 499-511, 2009.

PAULA, A. M.; FONSECA, A. F.; CARDOSO, E.J.B. N.; MELFI, A.J. Microbial metabolic potential affected by surplus wastewater irrigation in tropical soil cultivated with Tifton 85 bermuda grass (*Cynodactylon Pers. X.C. niemfuensisVanderyst*). **Water Air Soil Pollution**, v.205, p.161-171, 2010.

PENG, X.;HUANG,Q.;ZHANG,K.;YU,Y.;WANG,Z.;WANG,C.Distribution, behavior and fate of azole antifungals during mechanical, biological, and chemical treatments in sewage treatment plants in China.**Science of The Total Environment**. v.426:311-317,2012.

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

PELEGRINI, R.T.; BRITO-PELEGRINI, N.N. de; PATERNIANI, J.E.S.; BROTA, G.A.; SANTOS, E.M.; SILVA, N. B. Ensaios biológicos com sementes para avaliar a redução da toxicidade do chorume tratado por processo fotoquímico. **Minerva**. 6(3):219-228. 2009

PEREIRA, L.C.C; MONTEIRO, M. C.; GUIMARÃES, D. O.; MATOS, J.B.; COSTA, R.M. Seasonal effects of wastewater to the water quality of Caeté River estuary, Brazilian, Amazon. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**. 82(2):467-478, 2010.

PEREIRA, C.S.; LOPES, I; SOUZA, J.P.; CHELINHO, S. Effects of NaCl and seawater induced salinity on survival and reproduction of three soil invertebrate species. **Chemosphere**. v. 135, p. 116-122, 2015.

PEREIRA, R.; ANTUNES, S.C.; GONÇALVES, A.M.M.; MARQUES, S.M.; GONÇALVES, S.; FERREIRA, F.; FREITAS, A.C; ROCHA-SANTOS, T.A.P.; DINIZ, M.S.; CASTRO, L.; PERES, I.; DUARTE, A.C. The effectiveness of a biological treatment with *Rhizopusoryzae* and of a photo-Fenton oxidation in the mitigation of toxicity of a bleached kraft pulp mill effluent. **Water Research**.43 (9) :2471-2480, 2009.

PLANO ESTADUAL DE RESÍDUOS SÓLIDOS DO RIO DE JANEIRO. Rio de Janeiro: SEA / INEA, 2014, 137 p.

PETRIE, B.; BARDEN, R.; KASPRZYK-HORDERN, B. A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment: Current knowledge, understudied areas and recommendations for future monitoring. **Water Research**.v. 72, p. 3-27, 2015.

PINO, A.; CASANOVA, O; BARBAZAN, J.; ARLO, L.; BORZACCONI, L.; PASSEGGI, M. Caracterización y evaluación de biosólidos producidos por digestión anaeróbica de residuos agroindustriales. **Ci. Suelo**, Argentina, v.30, n. 2, p. 129-136, 2012.

PIVELE, RP. **Qualidade da água e poluição: aspectos físico-químicos/RP**. Piveli, MT Kato – São Paulo: ABES, 2005.p. 285.

PROGRAMA DAS NAÇÕES UNIDAS PARA O MEIO AMBIENTE.**Eficiência na utilização de recursos na América Latina: perspectivas e implicações econômicas**.

Estudos de caso: MERCOSUL, Chile e México. v.4, p. 1-24. 2011. Disponível em: <<http://www.pnuma.org>>. Acesso em: 03 de outubro de 2013.

PRIAC, A.; BADOT, P.M.; CRINI, G. Treated wastewater phytotoxicity assessment using *Lactuca sativa*: Focus on germination and root elongation test parameters. Évaluation de la phytotoxicité d'eaux de rejets *via Lactuca sativa* : paramètres des tests de germination et d'élongation. **Comptes Rendus Biologies**. v. 340, p. 188-194, 2017.

PRITCHARD, D. L.; PENNEY, N.; MCLAUGHLIN, M. J.; RIGBY, H.; SCHWARZ, K. Land application of sewage sludge (biosolids) in Australia: risks to the environment and food crops. **Water Science & Technology**, v. 62, n.1, p. 48-57, 2010.

PROJETO DE COOPERAÇÃO TÉCNICA FAO/INCRA. **Novo retrato da Agricultura familiar: o Brasil redescoberto**. Brasília, 2000.74p. Disponível em: <<https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/recursos/novoretratoID-3iTs4E7R59.pdf>> Acesso em: 15 de abril de 2016.

RENG, Z.; ZENG, Y.; ZHANG, G. The ammonia effects to the habitat requirements and adaptability of *Daphnia magna*. **Desalination and Water Treatment**.v.52, p.13-15,2014.

RESENDE, A. S.; CHAER, G. M.; CAMPELLO, E. F. C.; SILVA, A. P.; LIMA, K. D. R.; CURCIO, G. R. Uso de leguminosas arbóreas na recuperação de áreas degradadas. In: **Tópicos em Ciências do Solo**, Viçosa: SBCS. v. 8, p. 71-92, 2013.

RIBASKI, J.; LIMA, P.C.F.; OLIVEIRA, V.R.; DRUMOND, M. A. Sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia*) árvore de múltiplo uso no Brasil. **Comunicado Técnico**. EMBRAPA-CNPQ, Colombo, n.104, p.1-4, 2003.

RIBEIRO, E.V. Avaliação da qualidade da água do Rio São Francisco no segmento entre Três Marias e Pirapora – MG: índice de contaminação. **Geonomos**. v. 20.n.1.p:49-63, 2010.

RIVAS, Z.; SANCHEZ, J.; TRONCONE, F.; MARQUÉZ, R.; MEDINA, H.L.; COLINA, M.; GUTIÉRREZ, E. Nitrógeno e fósforo totales de los ríos tributários al sistema Lago de Maracaibo, Venezuela. **Interciencia**. v. 34, n. 5, p. 308-314, 2009.

RODRIGUES, H.J.B.; SÁ, L.D.A.; RUIVO, M.L.P.; COSTA, C.L.; SILVA, R.B.; MOURA, Q.L.; MELLO, I.F. Variabilidade quantitativa de população microbiana associada às condições microclimáticas observadas em solo de floresta tropical úmida. **Revista Brasileira de Meteorologia**. v. 26. n. 4, 2011.

RODRIGUES, R. R.; BRANCALION, P. H. S.; ISERNHAGEN, I (Eds). **Pacto pela restauração da Mata Atlântica – Referencial dos conceitos e ações de restauração florestal**. São Paulo: LERF, 2009. 259p.

RONG, W.; SHIYU, L.; LINHAO, C.; JIANGKAI, L. The effect of sewage sludge application on the growth and absorption rates of Pb and As in water spinach. **Open Life Sciences**.v. 11:508-512, 2014.

ROY, U.; MAJEE, N.C.; RAY, S. Temperature dependent growth rate of phytoplankton and salinity induced grazing rate of zooplankton as determinants of realistic multi-delayed food chain model. **Earth Syst. Environ**. v. 2. n. 161, 2016.

SAKUMA, M. Probit analysis of preference data. **Applied Entomology and Zoology**, v. 33, n. 3, p. 339-347, 1998.

SAMPAIO, A. O. Adequação das estações de tratamento de esgotos sanitários à resolução número 375 do CONAMA In: COSCIONE, A. R.; NOGUEIRA, T. A. R.; PIRES, A. M. M. **Uso agrícola de lodo de esgoto: avaliação após a resolução nº 375 do CONAMA.** Botucatu: FEPAF, 2010. p. 265-278.

SAMPAIO, T. F.; GUERRINI, I. A.; OTERO, X. L.; VAZQUEZ, F. M.; BOGIANI, J. C.; OLIVIEIRA, F. C.; MARCIA, J. L. G.; CIOL, M. A.; LITTKE, K. M.; HARRISON, R. B. The Impact of Biosolid Application on Soil and Native Plants in a Degraded Brazilian Atlantic Rain forest Soil. **Water Air and Soil Pollution**, v. 227, n. 1, p. 1-10, 2016.

SANTOS, C. A.; SILVA, N. V.; WALTER, L. S.; SILVA, E. C. A.; NOGUEIRA, R. J. M. C. Germinação de sementes de duas espécies da caatinga sob déficit hídrico e salinidade. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 36, n. 87, p. 219-224, 2016.

SANTOS, E.R. **Caracterização química, microbiológica e toxicidade do lodo de esgoto da Estação Mangueira, Pernambuco.** 2009. 68p. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento de Processos Ambientais). Universidade Católica de Pernambuco, 2009.

SANTOS, H.M. **Caracterização de lodo de efluente de ETE e água de rio a partir de avaliação química e ecotoxicológica.** Instituto de Química.UFG, 2010. Disponível:<<http://www.sbpcnet.org.br/livro/63ra/conpeex/mestrado/trabalhosmestrado/mestrado-hugo-melo.pdf>.>Acesso em: 01 de julho de 2014

SAWANT, M. S.; ZHANG, S.; LI, L. Effect of salinity on development of zebrafish, *Brachydanio rerio*. **Current Science**. v. 81, n.10, p.1347-1350, 2001.

SCHALLENBERG, M. Hall C.J. et BURNS C.W. Consequences of climate-induced salinity increases on zooplankton abundance and diversity in coastal lakes. **Marine Ecology Progress Series**.v. 251, p. 181-189, 2003.

SHUTAR, S.; SUSHMA, S. Bioconcentrations of metals (Fe, Cu, Zn, Pb) in earthworms (*Eisenia fetida*), inoculated in municipal sewage sludge: do earthworms pose a possible risk of terrestrial food chain contamination? **Environmental Toxicology**. DOI 10.1002. p 25-32, 2009.

SILVA, A. B.; LIRA JUNIOR, M. A.; DUBEUX JUNIOR, J. C. B.; FIGUEIREDO, M. V. B.; VICENTIN, R. P. Estoque de serapilheira e fertilidade do solo em pastagem degradada de *Brachiaria decumbens* após implantação de leguminosas arbustivas e arbóreas forrageiras. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 37, n. 2, p. 502-511, 2013.

SILVA, E.E. da; AZEVEDO, P.H.S. de; DE-POLI, H. **Determinação da respiração basal (RBS) e quociente metabólico do solo (qCO<sub>2</sub>).** Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2007. 4p.

SILVA, P. H. M.; POGGIANI, F.; GONÇALVES, J. L. M.; STAPE, J. L.; MORREIRA, R. M. Crescimento de *Eucalyptus grandis* tratados com diferentes doses de lodo de esgoto úmido e seco, condicionado com polímeros. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 36, n. 77, p. 79-88, 2008a.

SILVA, R.R.; SILVA, M. L.N.; CARDOSO, E.L.; MOREIRA, F.M.S.; CURI, N.; ALOVISI, M.K. Biomassa e atividade microbiana em solo sob diferentes sistemas de manejo na região fisiogeográfica Campos das Vertentes –MG. **Revista brasileira de Ciências do Solo**. v. 34, p. 1585-1592, 2010.

SIQUEIRA, L.F.S.; ROJAS, M.; NETO, J.J.G.C.; BARBIERI, R. Bioensaio e estudo da decomposição de *Ruppia marítima* L, da Laguna da Jansen, São Luís – MA, Brasil. **Rev Acta Tec.**v. 6. n.1.p. 63-72, 2011.

SKORUPA, L.A. (coordenador) **Uso de lodo de esgoto em plantações florestais e na recuperação de áreas degradadas.** Programa de Pesquisa em Saneamento Básico – Relatório Final, jul 2006.

SOUTO, P. C.; SOUTO, J. S; MIRANDA, J. R. P. de; SANTOS, R. V. dos; ALVES, A. R. Comunidade microbiana e mesofauna edáficas em solo sob Caatinga no semiárido da Paraíba. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 32, p. 151-160, 2008.

STEIN, J.R. **Handbook of Phycological Methods: Culture Methods and Growth Measurements**,1979.472p.

SUÁREZ, S.; CARBALLA, M.; OMIL, F.; LEMA, J. M. How are pharmaceutical and personal care products (PPCPs) removed from urban wastewaters? **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v. 7, p. 125–138, 2008.

TEIXEIRA, R.O. **Influência da serapilheira de *Mimosa caesalpinifolia* Benth (sabiá) na germinação e crescimento de sementes de espécies florestais.** 2013. 92p. Dissertação. (Mestrado em Ciências Ambientais e Florestais, Conservação da Natureza). Instituto de Florestas, Departamento de Ciências Ambientais, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2013.

THOMAIDI, V.; ATHANASIOS, S.; STASINAKIS, A.; BOROVA, V.; THOMAIDIS, S. Assessing the risk associated with the presence of emerging organic contaminants in sludge-amended soil: A country-level analysis. **Science of the Total Environment**. v. 548-549. p. 280-288, 2016.

TIRUNEH, A. T.; FADIRAN, A. O.; MTSHALI, J. S. Evaluation of the risk of heavy metal in sewage sludge intended for agricultural application in Swaziland.International. **Journal of Environmental Sciences**, v. 5, n. 1, 2014.

TÓTOLA, M. R.; CHAER, G.M. Microrganismos e processos microbiológicos como indicadores da qualidade do solo. In: ALVAREZ V., V.H.; SCHAEFER, C.E.G.R.; BARROS, N. F.; MELLO, J. W. V.; COSTA, L.M., eds. **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2002. p.195-276.

TRANNIN, I.C.B.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F.M.S. Características biológicas do solo indicadoras de qualidade após dois anos de aplicação de biossólido industrial e cultivo de milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. 31:1173-1184, 2007.

ULIANO, E.; CATALDI, M.; CARELLA, F.; MIGLIACCO, O.; IACCARINO, D.; AGNOSOLA, C. Effects of acute changes in salinity and temperature on routine metabolism and nitrogen excretion in gambusia (*Gambusia affinis*) and zebrafish (*Danio rerio*) .**Comp.Biochem. Physiol.A Mol. Tntegr Physiol**. v.153.n.3.p.283-290, 2010.

UNESCO, **International Hydrological Programme, Soil and groundwater pollution from agricultural activities.** N° 19. Paris-Francia. 1998.

UNITED STATE ENVIRONMENT PROTECTION AGENCY. **Standards for the use or disposal of sewage sludge.** EPA CFR 40, Part 503. Washington, DC, 1993. 86 p.



\_\_\_\_\_. **Targeted National Sewage Sludge Survey: Overview Report.** EPA-822-R-08-014. Washington, DC, 2009.

VENKATESAN, A.K. Brominated flame retardants in U.S. biosolids from the EPA national sewage sludge survey and chemical persistence in outdoor soil mesocosms. **Water Research.**v.55.133-142, 2014.

VALOR ECONÔMICO. **Economia brasileira cresce 2,3% em 2013.** Disponível em: <<http://valor.com.br/Brasil/3446002/economia-brasileira-cresce-23-em-2013>>. Acesso em: 05 de fevereiro de 2016.

VERLICCHI, P.; ZAMBELLO, E. Pharmaceuticals and personal care products in untreated and treated sewage sludge: Occurrence and environmental risk in the case of application on soil — A critical review. **Science of the Total Environment.**v.538. p.750-767, 2015.

VON SPERLING, M.; GONÇALVES, R. F. Lodo de esgotos: características e produção. In: ANDREOLI, C. V.; VON SPERLING, M.; FERNANDES, F. (Org.) **Lodo de esgotos: tratamento e disposição final.** Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, UFMG; Curitiba: SANEPAR, 2001. 484 p. (Princípios do tratamento biológico de águas residuárias, v. 6. cap. 2, p. 17-67.

WANG, Y.; WESTERHOFF, P; HRISTOVSKI. Fate and biological effects of silver, titanium dioxide, and C60 (fullerene) nanomaterials during simulated wastewater treatment processes. **Journal of Hazards Materials.** p. 16-22,2012.

WANG, R.; SHIYU, L.; LINHAO, C.; JIANGKAI, L. The effect of sewage sludge application on the growth and absorption rates of Pb and As in water spinach. **Open Life Sciences.**v.11, 2016.

ZAGATTO, P. A.; BERTOLLETTI, E. **Ecotoxicologia Aquática: Princípios e Aplicações.** Rima, São Carlos, São Paulo, 486p. 2008.

ZANATTA, M.C.K. **Caracterização da toxicidade de lodos de estação de tratamentos com vista a sua aplicação agrícola.** 2014. 79p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia e Inovação). Faculdade de Tecnologia. Universidade Estadual de Campinas, 2014.

ZAR, J. **Biostatistical Analysis.** 3<sup>a</sup> ed. Prentice-Hall International, Inc., London – UK, 662p., 1996.

ZHONG, W. H., GU, T.; WANG, W.; ZHANG, B.; LIN, X. G.; HUANG, Q.R., SHEN, W. S. 2010. The effects of mineral fertilizer and organic manure on soil microbial community and diversity. **Plant and Soil,** v.326, p. 511-522, 2010.