





# Avaliação ecotoxicológica de efluentes tratados por alagados construídos

*Ecotoxicological evaluation of effluents treated by constructed wetlands*

Leonardo Beltrão Barszcz<sup>1\*</sup> , Filipe Cardoso Bellato<sup>1</sup> ,  
Roseli Frederigi Benassi<sup>1</sup> , Dácio Roberto Matheus<sup>1</sup> 

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho de alagados construídos com fluxo subsuperficial horizontal cultivados com as macrófitas aquáticas *Eleocharis* sp. (junco) e *Typha* sp. (taboa) na redução da toxicidade de efluentes domésticos. Para isso, foram utilizados ensaios ecotoxicológicos com o microcrustáceo *Daphnia similis*, a dicotiledônea *Lactuca sativa* (alface), a monocotiledônea *Sorghum vulgare* (sorgo) e as macrófitas aquáticas *Lemna* sp. (lentilha-d'água) e *Azolla* sp. O efluente doméstico mostrou-se tóxico à *Daphnia similis* com média de EC<sub>50</sub> de 1,3%. Os tratamentos com macrófitas reduziram significativamente a toxicidade do efluente, com médias de EC<sub>50</sub> de 73% para o tratamento com junco, 53,17% para o com taboa e 78,25% para o com taboa + junco. O controle (sem macrófitas) também reduziu significativamente a toxicidade, com média de EC<sub>50</sub> de 63,13%. Nos ensaios de fitotoxicidade, a alface e o sorgo não se mostraram sensíveis ao efluente analisado, embora sejam para outros tipos de efluentes. A macrófita *Lemna* sp. também não foi sensível ao efluente estudado, no entanto, observou-se a capacidade de identificar, com essa espécie, o potencial eutrofizante do efluente, já que esta se desenvolveu melhor no efluente bruto do que nos tratados. Com a macrófita *Azolla* sp., foi possível verificar que o efluente bruto apresenta maior potencial eutrofizante se comparado com os tratamentos com junco, taboa e controle, nos quais houve remoção de nitrogênio e fósforo. No entanto, evidenciou-se efeito tóxico para *Azolla* sp. nos efluentes tratados.

**Palavras-chave:** ecotoxicologia; alagados construídos; efluentes domésticos; macrófitas aquáticas.

## ABSTRACT

The research objective was to evaluate the performance of wetlands constructed with vertical sub-surface flow cultivated with *Eleocharis* sp. (Junco) and *Typha* sp. (Taboa). For this, ecotoxicological tests were used with the microcrustacean *Daphnia similis*, with the dicotyledon *Lactuca sativa* (alface), the monocotyledon *Sorghum vulgare* (sorgo) and the aquatic macrophytes *Lemna* sp. (Duckweed) and *Azolla* sp. The domestic effluent was toxic to *Daphnia similis* with a mean EC<sub>50</sub> of 1.3%. Macrophyte treatments significantly reduced effluent toxicity with EC<sub>50</sub> averages of 73% for junco treatment, EC<sub>50</sub> 53.17% for taboa treatment, and EC<sub>50</sub> 78.25% for taboa + junco treatment. The control (without macrophytes) also significantly reduced toxicity, with a mean EC<sub>50</sub> of 63.13%. In the phytotoxicity tests, lettuce and sorgo were not sensitive to the analyzed effluent, although they were for other types of effluents. The macrophyte *Lemna* sp. was also not sensitive to the effluent studied. However, it was possible to identify the eutrophic potential of the effluent with this species, since it was better developed in the raw effluent than in treated ones. With the macrophyte *Azolla* sp., it was possible to verify that the raw effluent has greater eutrophic potential when compared to the treatments with junco, taboa and control, where nitrogen and phosphorus removal was observed. However, toxic effect was observed for *Azolla* sp. in treated effluents.

**Keywords:** ecotoxicology; constructed wetlands; domestic wastewater; water macrophytes.

## INTRODUÇÃO

A água é um recurso essencial para a manutenção da vida na Terra, mas esse recurso não tem sido cuidado na mesma proporção de sua importância. A degradação dos corpos hídricos é um grave problema que está se agravando devido ao aumento da população mundial e à prática de atividades potencialmente poluidoras.

A qualidade da água está diretamente relacionada com a qualidade de vida das pessoas. A água e o esgoto contaminados são responsáveis pela transmissão de uma série de doenças, principalmente gastrointestinais (BRASIL, 2006), sendo estimado que, em 2012, ocorreram 842 mil mortes nos países de renda média e média-baixa causadas por água potável contaminada, por instalações inadequadas para a lavagem das

<sup>1</sup>Universidade Federal do ABC – Santo André (SP), Brasil.

\*Autor correspondente: lbarszcz@gmail.com

Recebido: 16/08/2017 – Aceito: 10/09/2018 – Reg. ABES: 184120

mãos e por serviços sanitários inapropriados ou inadequados. Nos países de alta renda, 70% das águas residuais e industriais são tratadas; nos de baixa renda, apenas 8% dessas águas recebem algum tipo de tratamento. Em nível mundial, é provável que mais de 80% das águas residuais sejam lançadas no ambiente sem tratamento (WWAP, 2017).

No Brasil (2017), 83,3% da população é atendida com rede de água e 50,3% do esgoto gerado é coletado. Entretanto, apenas 42,7% do esgoto coletado recebe algum tipo de tratamento antes da disposição final. Esse fato é preocupante, pois reflete a realidade nacional em relação ao esgoto, ou seja, 57,3% de todo o esgoto gerado no país é lançado *in natura* no solo ou nos corpos hídricos.

Uma alternativa para tal problema seria a disseminação de ecotecnologias para tratamento de efluentes, principalmente para pequenas cidades e comunidades mais isoladas, já que o tratamento convencional de esgoto demanda alto investimento e mão de obra qualificada. Ecotecnologia pode ser definida como as técnicas que visam minimizar danos aos ecossistemas e que promovam, ao mesmo tempo, o desenvolvimento sustentável. O estado de São Paulo, mesmo sendo um dos mais desenvolvidos do Brasil, ainda possui 46 municípios de um total de 521 que não contam com nenhuma forma de tratamento de esgoto (CETESB, 2017).

Os alagados construídos (do inglês *constructed wetlands*) vêm sendo utilizados há muito tempo para tratamento de efluentes domésticos e industriais, especialmente para pequenas comunidades. São tanques cultivados com macrófitas e dimensionados com a finalidade de utilizar os processos naturais para a remoção de poluentes (VYMAZAL; KRÖPFELOVÁ, 2008). A água, o solo, os microrganismos e os vegetais interagem entre si, formando um ecossistema equilibrado, no qual ocorre a degradação da matéria orgânica, a reciclagem de nutrientes e, consequentemente, o melhoramento da qualidade da água (ANJOS, 2003).

Comumente, o desempenho dos alagados construídos é avaliado em relação aos parâmetros físico-químicos e microbiológicos, entre eles: pH, demanda bioquímica de oxigênio (DBO), demanda química de oxigênio (DQO), sólidos dissolvidos, concentração de nitrogênio e fósforo e coliformes totais e/ou termotolerantes. No entanto, Costa *et al.* (2008) destacam que os testes de toxicidade são ótimas ferramentas para avaliar a qualidade das águas, porque somente as análises físico-químicas não são capazes de diferenciar as substâncias que afetam os seres vivos daquelas que são inertes no ambiente. Os testes ecotoxicológicos são realizados com organismos indicadores, os quais, por causa das suas características de pequeno limite de tolerância ecológica a determinadas substâncias químicas, apresentam alguma alteração fisiológica, morfológica ou comportamental quando expostos a essas substâncias.

É indicada a utilização de pelo menos três espécies que representem diversos níveis da cadeia trófica, a fim de se obterem resultados mais precisos dos efeitos tóxicos específicos e aumentar a probabilidade de

respostas tóxicas a organismos de diferentes sensibilidades (BAUN *et al.*, 1999; DOMINGUES; BERTOLETTI, 2006). Esse procedimento é muito importante, uma vez que dificilmente uma única espécie pode representar os efeitos causados em um determinado ecossistema.

O objetivo deste estudo foi avaliar o desempenho de alagados construídos cultivados com macrófitas emergentes na redução de toxicidade de efluentes domésticos. Para isso, realizaram-se ensaios de toxicidade aguda, utilizando-se o microcrustáceo bioindicador *Daphnia similis*, e de fitotoxicidade, utilizando-se quatro espécies vegetais bioindicadoras — a dicotiledônea *Lactuca sativa* (alface), a monocotiledônea *Sorghum vulgare* (sorgo) e as macrófitas aquáticas *Lemna sp.* (lentilha-d'água) e *Azolla sp.*

## METODOLOGIA

### Implantação da planta piloto

A implantação do sistema piloto de tratamento de efluente doméstico com macrófitas aquáticas emergentes ocorreu em janeiro de 2016, nas dependências da estação de tratamento de efluentes (ETE) situada no município de Arujá (SP) e operada pela (Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo (SABESP). O modelo de alagado construído escolhido foi o de fluxo subsuperficial horizontal.

Foi construída uma caixa de contenção, a fim de evitar a contaminação do solo com possíveis vazamentos de efluentes, como pode ser observado na Figura 1. Foram instalados o tanque de alimentação com volume de 500 L; os 4 tanques de tratamento, em policloreto de vinila (PVC), com dimensões  $2,63 \times 1,16 \times 0,71$  m (C  $\times$  L  $\times$  P) e volume de 1.568 L; e o painel de bombas peristálticas contendo 4 bombas (modelo: AWM 5000). O dimensionamento e a vazão dos alagados construídos foram determinados de acordo com Sezerino *et al.* (2015).

A alimentação do sistema foi realizada a partir do efluente bruto do decantador primário da ETE Arujá, pois o excesso de partículas grossas pode acelerar o entupimento do sistema (VYMAZAL *et al.*, 1998; VYMAZAL, 2002) inclusive em escala real. O tanque de alimentação, que recebeu o efluente bruto, possuía volume de 500 L com o objetivo de garantir o fluxo do sistema mesmo quando a ETE não estiver recebendo efluente da rede de esgoto. Ressalta-se que se encontram diversos modelos ou critérios empíricos para projetar sistemas de filtros plantados com macrófitas (*wetlands*), sendo que grande parte desses modelos estão voltados à remoção da matéria carbonácea (SEVERINO; PHILIPPI, 2003).

Cada um dos quatro tanques recebeu efluente com vazão de entrada de  $0,105 \text{ m}^3 \cdot \text{dia}^{-1}$  ou  $4,4 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$ , controlado por meio de bombas peristálticas que minimizam os riscos de entupimento e com tempo de detenção hidráulica de 4,8 dias. Reed *apud* Kletecke (2011) recomendam um tempo de detenção hidráulica de 2 a 7 dias para sistemas subsuperficiais e de 5 a 14 dias para os superficiais.

Cada um dos tanques de PVC recebeu um tratamento diferente. O tanque 1 foi colonizado com *Eleocharis* sp. (junco); o 2, com *Typha* sp. (taboa); o 3, com *Typha* sp. e *Eleocharis* sp.; e o 4 (controle), somente como brita. Essas espécies apresentam grande capacidade de acúmulo de matéria orgânica e nutrientes, como nitrogênio e fósforo (BRIX, 1997). Como meio de sustentação para as plantas, foram utilizadas brita números 0 (dimensão de 2,36 a 12,5 mm) e 1 (dimensão de 4,75 a 25 mm) para minimizar possíveis entupimentos (VALENTIM, 2003).

Os efluentes que passaram pelos tratamentos seguiram para a lagoa de aeração da ETE e foram submetidos ao tratamento tradicional. O efluente recebido pela ETE é basicamente doméstico. No entanto, diariamente, ao menos um caminhão limpa-fossa era descarregado no decantador primário, misturando-se com o efluente doméstico bruto.

### Coleta das amostras

O sistema foi implantado no fim de janeiro de 2016 e permaneceu em regime de batelada por dois meses. Nesse período, as mudas que morreram foram substituídas por novas. Após a temporada de batelada, esse sistema entrou em operação de fluxo contínuo. Consideraram-se mais dois meses em fluxo ininterrupto para a estabilização do sistema e o desenvolvimento das plantas.

Ao todo, foram realizadas dez campanhas de coleta, nos dias 18, 20, 24 e 31 de maio e 1º, 2, 7, 8, 9 e 10 de junho. Em cada uma, coletou-se

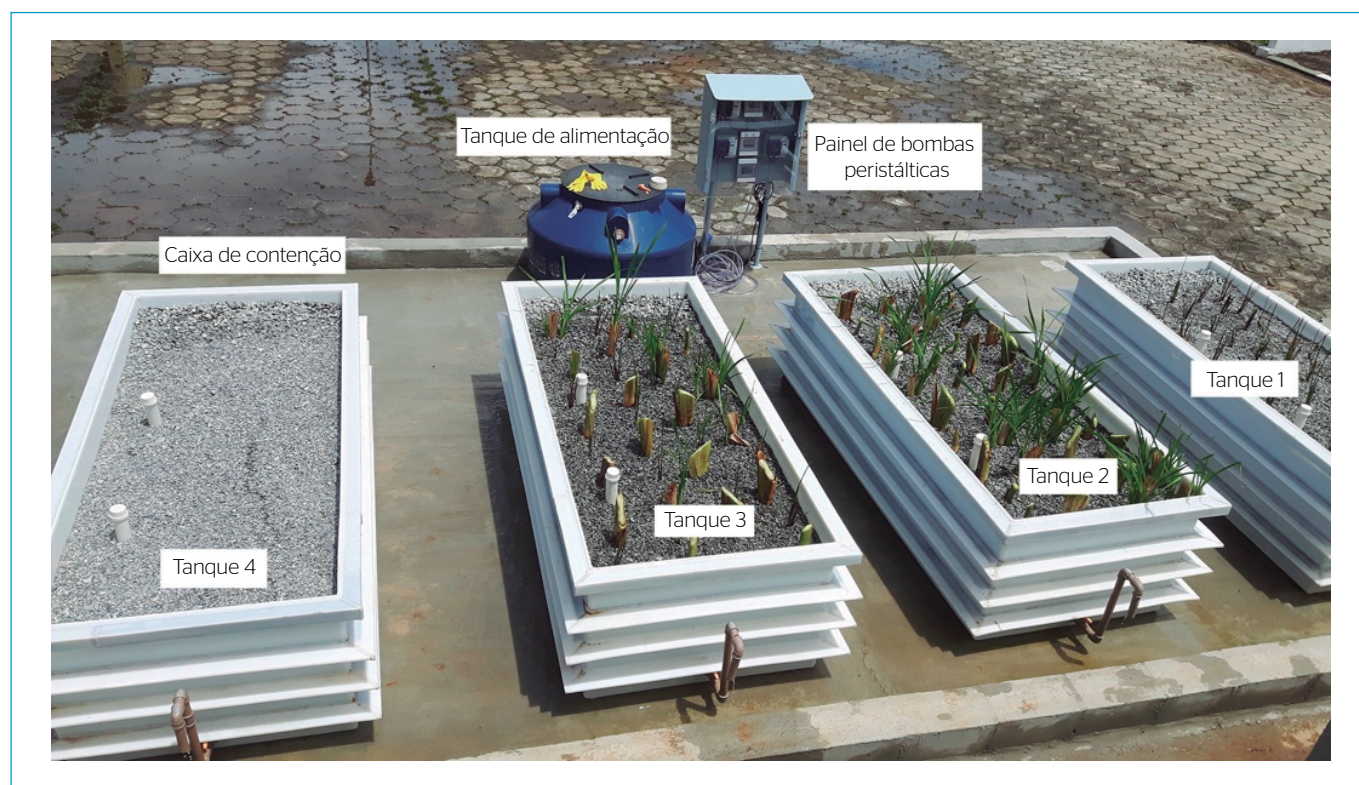
1 L da amostra do tanque de alimentação (esgoto bruto), dividido em dois frascos de 500 mL; e uma amostra de 1 L, dividida em dois recipientes de 500 mL da saída de cada um dos tanques de tratamento (tanques 1, 2, 3 e 4), totalizando 50 amostras. Os frascos de coleta foram lavados com a própria amostra e preenchidos por completo para evitar a presença de ar e possíveis reações indesejadas. As amostras foram congeladas e mantidas abaixo de -10°C até a data dos ensaios, seguindo a norma da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT, 2009).

### Parâmetros físico-químicos dos efluentes

Para cada amostra, *in situ*, foram determinados o pH, a condutividade elétrica e o oxigênio dissolvido (OD), com o auxílio da sonda multiparamétrica (marca Hanna®, modelo HI9829) e da sonda de oxigênio (marca Thermo Fisher Scientific®, Modelo K08177), respectivamente.

### Avaliação da toxicidade aguda: método de ensaio utilizando *Daphnia similis*

Os testes com *Daphnia similis* foram realizados no Laboratório de Ecotoxicologia e Ecofisiologia Aquática do Núcleo de Ecotoxicologia e Ecologia Aplicada do Centro de Recursos Hídricos e Estudos Ambientais (CHREA) da Escola de Engenharia de São Carlos (EESC) da Universidade de São Paulo (USP) (São Carlos, SP). Para esses ensaios, foram utilizados neonatos de *Daphnia similis* com idades entre 6 e 24 horas, obtidos



**Figura 1** - Vista da planta piloto constituída de caixa de contenção; um tanque de alimentação de 500 litros; quatro tanques de tratamento, em policloreto de vinila (PVC), com as seguintes dimensões: 2,63 m de comprimento, 1,16 m de largura e 0,71 m de profundidade cada um; e painel de bombas contendo 4 bombas peristálticas.

por partenogênese a partir de fêmeas com idades entre 7 e 28 dias de vida. Seguiram-se as recomendações da norma brasileira (NBR) 12713 (ABNT, 2009) para a realização dos testes de toxicidade aguda, com duração de 48 horas.

As amostras de efluente bruto (tanque de alimentação) foram diluídas utilizando a água do cultivo nas proporções de 100, 50, 10, 5, 1, 0,5 e 0,1% (v.v<sup>-1</sup>). Da mesma forma, as amostras dos efluentes tratados com macrófitas (tanques 1, 2 e 3) e controle (tanque 4) foram diluídas nas proporções de 100, 50, 25 e 12,5% (v.v<sup>-1</sup>). Todas as diluições foram feitas em quadruplicatas, usando copos de polipropileno descartáveis de 50 mL, contendo 10 mL da amostra e 5 neonatos de *D. similis*. Os testes foram mantidos em fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 1.000 lux e 8 horas de escuro, a temperatura de 23 ± 2°C. Ao fim de cada teste, contabilizaram-se as mortes ou imobilidade dos neonatos, expressando-se os resultados em relação à concentração da amostra (CE<sub>50</sub>).

### Efeito fitotóxico

Os testes com alface (*Lactuca sativa*) e sorgo (*Sorghum vulgare*) ocorreram em condições estáticas tendo como base as metodologias descritas por Tam e Tiquia (1994) e por Andrade (2009), com as devidas adaptações. O índice de germinação (I<sub>G</sub>) foi calculado combinando o percentual de germinação de sementes e a medida de crescimento das raízes, conforme metodologia citada.

No caso dos ensaios utilizando as macrófitas *Lemna* sp. e *Azolla* sp., seguiu-se a metodologia descrita por Ignácio (2014) e por Silva et al. (2012), baseadas na norma nº 221 da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD, 2002). As plantas foram coletadas em corpos d'água não poluídos no município de Conchas (SP).

As plantas foram desinfetadas com solução de hipoclorito de sódio 3% e água destilada. Posteriormente, quatro colônias com três frondes (*Lemna* sp.) em cada colônia ou cinco plantas completas de *Azolla* sp. foram transferidas para frascos de vidro de 100 mL com 50 mL de solução Hoagland (OECD, 2002). As macrófitas permaneceram em ambiente climatizado com temperatura de 25 ± 2°C por mais 24 horas e, em seguida, adicionaram-se 50 mL de solução Hoagland com os efluentes sanitários nas proporções de 6,25, 12,5, 25, 50 e 100% (v.v<sup>-1</sup>). Os testes tiveram duração de sete dias. Para *Lemna* sp., foi observado o crescimento de novas frondes no 1º, 3º, 5º e 7º dias. Ao fim do teste, determinou-se o peso úmido de ambas as espécies. Foram calculados os percentuais de biomassa e de inibição de área de acordo com OECD (2002).

Para todos os resultados obtidos, foram aplicados a análise de variância (ANOVA) para realizar a comparação entre os quatro tratamentos (junco, taboa, taboa + junco e controle) e o teste de Tukey para testar toda e qualquer diferença entre as médias dos tratamentos, ambas utilizando o software Minitab versão Release 14.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### pH

Os valores de médias, medianas, 1º e 3º quartis bem como máximos e mínimos de pH obtidos nos diferentes tratamentos podem ser observados na Figura 2.

Os valores das médias do pH do efluente bruto e dos quatro tratamentos (junco, taboa, taboa + junco e controle) mostraram-se adequados à faixa de pH ideal em relação às exigências biológicas do organismo-teste *Daphnia similis* (DOMINGUES; BERTOLETTI, 2006). Se forem levados em conta ainda os padrões de lançamento fixados pela Resolução CONAMA nº 430/2011 (BRASIL, 2011), que define como padrão o pH entre 5 e 9 para lançamento em corpos d'água de classe 2, os 3 tratamentos, inclusive o controle, satisfazem a essa exigência.

Os tanques com junco e controle foram os que tiveram as maiores médias do pH que foram, respectivamente, 7,6 e 7,9, não diferindo estatisticamente entre si, mas distinguindo-se dos demais. Os tratamentos taboa + junco e taboa apresentaram média de pH de 7,3 e 7,2, respectivamente, divergindo dos demais, exceto da taboa, que também não diferiu do menor pH observado no esgoto bruto não tratado.

O trabalho desenvolvido por Sanchez (2017) utilizou o mesmo sistema de alagados construídos da presente pesquisa e avaliou o desempenho destes em relação ao tratamento secundário do efluente advindo da ETE Arujá em cerca de 25 campanhas de coleta. A autora relata que a variação do pH pode estar relacionada com uma maior ocorrência do processo de desnitrificação, por exemplo, que tende a aumentar a alcalinidade do efluente por consumir íons H<sup>+</sup> e que pode explicar os resultados aqui obtidos, pois esse processo está associado à atividade microbiana que também acontece no tratamento controle.

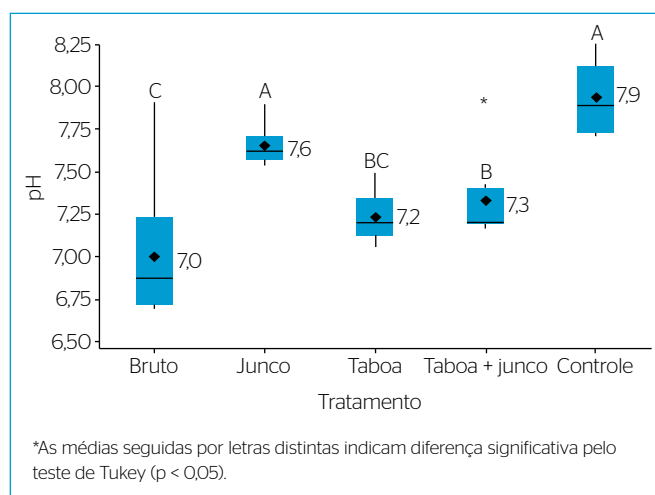


Figura 2 - Boxplot da variação do valor de pH do efluente bruto e dos tratamentos com junco, taboa, taboa + junco e controle\*.



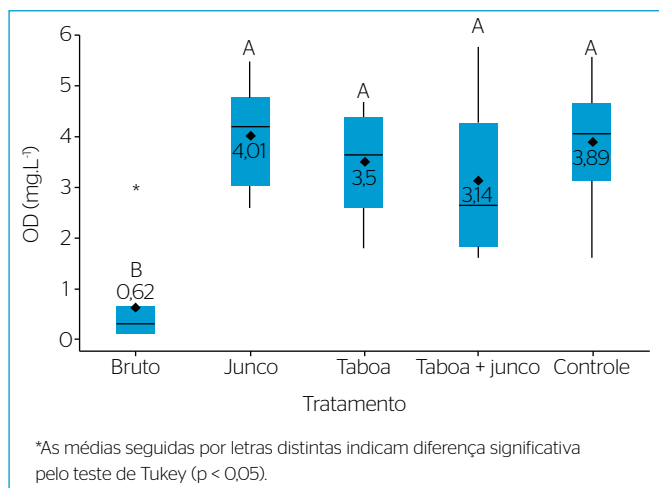
## Condutividade elétrica

Segundo Ribeiro, Maia e Medeiros (2005), a condutividade elétrica pode ser definida como a capacidade de uma solução conduzir corrente elétrica e se dá em função da quantidade de íons presentes na solução. Neste trabalho, as médias da condutividade elétrica variaram de  $651,7 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  no tanque controle até  $742,1 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  no com taboa. A média do esgoto bruto foi  $724,40 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  e não apresentou diferença significativa ( $p = 0,969$ ) em relação aos tratamentos. Os dados obtidos por Sanchez (2017), que comparou o efluente bruto com os quatro tratamentos, não mostraram alteração da condutividade elétrica e corroboram o presente trabalho. Considerando que há correlação direta entre condutividade e sólidos dissolvidos (METCALF; EDDY, 1991), os dados sugerem que o sistema não removeu significativamente os sólidos dissolvidos.

## Oxigênio dissolvido

As médias das concentrações de OD do efluente bruto e dos tratamentos com junco, taboa, taboa + junco e controle podem ser verificadas na Figura 3.

De acordo com a Figura 3, o OD do efluente bruto variou de  $0,1$  a  $0,7 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  — a média foi de  $0,62 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  — por uma das coletas ter sido realizada depois de ter chovido a noite toda, diluindo o esgoto e aumentando os níveis de OD do efluente bruto. Os tratamentos com macrófitas e o controle tiveram um aumento significativo da média da concentração de OD, variando de  $3,14 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (taboa + junco) até  $4,01 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (junco), diferindo significativamente do OD do efluente bruto. Concentrações de OD inferiores a  $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  podem comprometer a interpretação dos resultados dos testes de toxicidade aguda em *Daphnia similis* (ABNT, 2009). No entanto, anteriormente a todos os ensaios utilizando *Daphnia similis*, o OD foi medido e, em nenhum deles, o valor foi inferior a  $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ .



**Figura 3** – Boxplot da variação das concentrações de oxigênio dissolvido do efluente bruto e dos tratamentos com junco, taboa, taboa + junco e controle\*.

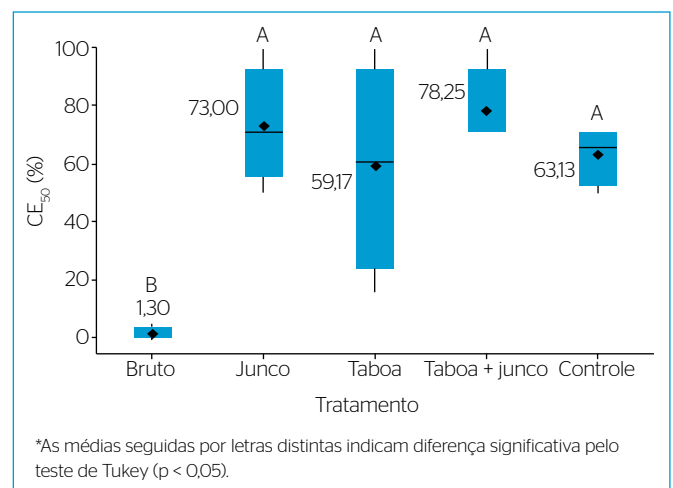
O transporte de oxigênio para o interior do leito ocorre por difusão atmosférica e por liberação na rizosfera pelas raízes das plantas (MAVIOSO, 2010). Os resultados sugerem que o oxigênio incorporado ao sistema não tenha sido consumido pelos microrganismos aeróbios presentes nos tratamentos, propiciando maior OD, o que concorda com Sanchez (2017), que também observou tal comportamento, inclusive com redução de DBO nos tratamentos com macrófitas e no controle, o que vai ao encontro do trabalho de Vymazal (2010), que também observou tal redução para diversos tipos de efluentes.

Assim como observado nos resultados de pH, os de OD obtidos nos tratamentos e no controle também diferiram significativamente do efluente bruto, indicando atividade microbiana significativa, independente da presença de macrófitas no tratamento.

## Toxicidade aguda: ensaio com *Daphnia similis*

Conforme pode ser observado na Figura 4, a média da toxicidade do efluente bruto, representada em termos de  $CE_{50}$ , foi de 1,33%, sendo estatisticamente diferente dos outros quatro tratamentos. As médias da  $CE_{50}$  dos três tratamentos com macrófitas variaram de 59,17 a 78,25%, mas não diferiram significativamente do controle, só com brita, que obteve média de  $CE_{50}$  de 63,13%. No tanque apenas com taboa, observou-se maior amplitude de variação dos resultados, no entanto não foi possível atribuir essa variação a algum fator específico, o que demonstra necessidade de mais estudos sobre esse tema.

A toxicidade elevada do efluente bruto era esperada, principalmente por não se ter conhecimento da origem do efluente trazido pelo caminhão limpa-fossa e também por estudos anteriores realizados com efluentes domésticos de ETE terem encontrado toxicidade variando de  $CE_{50}$  de 0,60% a  $CE_{50}$  de 83,84% (HAMADA *et al.*, 2011) e de  $CE_{50}$  de 0,40% a  $CE_{50}$  de 17,99% (BORRELY, 2001).



**Figura 4** – Média das toxicidades expressas em  $CE_{50}$  de *Daphnia similis* do efluente bruto e após passar pelos tratamentos com macrófitas e controle\*.

Pouco se tem estudado e, conseqüentemente, se sabe sobre a relação dos alagados construídos com a redução da toxicidade do efluente. Fica claro, neste estudo, que os alagados estabelecidos foram eficientes na redução da toxicidade (eficiência de redução variou de 97,7% no tanque com taboa a 98,3% no com taboa + junco), no entanto não é possível afirmar que essa redução esteja apenas relacionada com as macrófitas ou com a microbiota específica associada a estas, já que, no tanque controle (somente brita), a eficiência de redução da toxicidade foi de 97,7%. Dessa forma, no período das coletas, não é possível afirmar que houve participação das macrófitas nos processos de detoxificação, uma vez que o tanque controle (somente brita) possuiu média de  $CE_{50}$  semelhante aos demais tanques com macrófitas.

Como pode ser observado no trabalho de Sanchez (2017), o sistema de alagados construídos obteve uma redução média significativa de DBO (92%) e DQO (91%) nos três tratamentos com macrófitas e no controle. A redução da toxicidade pode estar diretamente relacionada com a redução de DBO e DQO, pois compostos orgânicos e metais podem conferir toxicidade ao efluente (COSTA *et al.*, 2008).

Mohr *et al.* (2015) avaliaram a toxicidade de efluentes provenientes da ETE da Universidade de Santa Cruz (UNISC) e de um sistema de captação e tratamento de água em uma propriedade rural localizada na cidade de Vera Cruz (RS). Os processos para tratamento de esgoto foram: tratamentos primário (dois reatores UASB) e secundário/terciário (sistema de alagados construídos com regime de fluxo horizontal, sendo quatro leitos, com a macrófita *Hymenachne grumosa*). Não há informações do trabalho sobre o material utilizado como substrato para fixação das macrófitas. Foi utilizado o microcrustáceo *Daphnia magna* para os ensaios de toxicidade aguda. Os autores sugerem a utilização da macrófita *Hymenachne grumosa*, já que houve a completa detoxificação dos efluentes. No entanto, como os autores não fizeram o controle dos alagados construídos utilizando somente o substrato sem as macrófitas, não há como afirmar que foram estas as responsáveis pela detoxificação e não a microbiota associada ao substrato, conforme verificado pelo presente trabalho.

Para garantir a confiabilidade dos resultados de toxicidade aguda deste trabalho, foram monitorados os parâmetros físico-químicos no início e ao fim dos ensaios com *Daphnia similis*. Todos os parâmetros ficaram dentro dos padrões aceitáveis para os testes com *Daphnia similis*. O OD, que é um fator limitante para a manutenção desses organismos, ficou acima de 5,0 mg.L<sup>-1</sup> em todas as amostras iniciais e finais.

## Fitotoxicidade

Nos primeiros dias analisados, observou-se que as variações nos índices de germinação eram significativas apenas na maior concentração (100%). Por isso, nas análises em sequência, realizou-se o teste apenas com essa concentração. Esse ajuste fez com que não fosse possível determinar o  $IG_{50}$ , contudo as informações obtidas foram suficientes

para a realização da ANOVA, obtendo os seguintes resultados para cada tipo de semente estudada.

### *Lactuca sativa* (alface)

A ANOVA dos  $\%I_G$  indicou que não há diferença na toxicidade dos efluentes tratados por macrófitas e controle ( $p = 0,949$ ) e do efluente bruto. Isso demonstra que nem o efluente bruto nem os dos tratamentos foram tóxicos para *Lactuca sativa*. Esses resultados vão ao encontro dos obtidos por Cunha (2011), que realizou uma avaliação ecotoxicológica de diversos tipos de efluente, inclusive o doméstico. O autor verificou que o efluente doméstico bruto não apresentou toxicidade frente aos ensaios com *Lactuca sativa*, diferentemente do lixiviado de aterro sanitário, o qual apresentou elevada toxicidade, e dos efluentes hospitalares e de vinícola, os quais apresentaram toxicidade moderada.

Rodrigues *et al.* (2013) analisaram a fitotoxicidade da água e do sedimento de um córrego urbano localizado no município de Alfenas (MG) utilizando *Lactuca sativa*. Esse córrego recebe lançamento de grande quantidade de esgoto doméstico e efluentes tratado de duas indústrias têxteis e bruto de um abatedouro. Os autores concluíram que tanto a água quanto o sedimento apresentaram fitotoxicidade sobre *Lactuca sativa* e que as grandes concentrações de metais bem como a salinidade podem ter contribuído para esse efeito.

Para estes ensaios, não foram realizados os controles positivos com substância comprovadamente tóxica à *Lactuca sativa*. No entanto, Bellato *et al.* (2015) realizaram uma avaliação da fitotoxicidade de efluente têxtil, concomitantemente ao presente trabalho, utilizando sementes do mesmo lote. Eles verificaram que a *Lactuca sativa* foi sensível a diferentes tipos de efluentes têxteis. Dessa forma, é possível inferir que, apesar de ser sensível a efluentes têxteis, a *Lactuca sativa* não o é ao efluente doméstico, mesmo este sendo tóxico para outros organismos como *Daphnia similis*, conforme visto anteriormente, e, por isso, não pode ser considerado um bom indicador para avaliar eficiência de remoção de toxicidade desse tipo de efluente.

### *Sorghum vulgare* (sorgo)

Assim como registrado para *Lactuca sativa*, o  $I_G$  do efluente bruto não apresentou diferença estatística significativa em relação aos tratamentos com macrófitas e o controle ( $p = 0,987$ ). Da mesma forma que observado em *Lactuca sativa*, o efluente doméstico advindo da ETE Arujá não foi tóxico para *Sorghum vulgare*.

Não existem trabalhos que utilizam as sementes de sorgo como indicadoras de toxicidade de efluentes domésticos, contudo, essa semente é utilizada para análises de efluentes têxteis. Watharkar *et al.* (2015) identificaram, por meio de testes de toxicidade, que essa semente apresenta sensibilidade a efluentes têxteis tratados em um fitorreator com consórcio de plantas e bactérias. Bellato *et al.* (2015) testaram essas sementes em efluentes têxteis tratados por fungos basidiomicetos e

também identificou sensibilidade. Entretanto, Fonseca (2012), em seus estudos sobre aplicação de borra de café em compostagem, revelou que não houve efeito sobre a germinação do sorgo, diferentemente de outras espécies por ele estudadas. Diante disso, o estudo com sensibilidade para essa semente deve ser aprimorado para identificar os principais casos em que esta deve ser aplicada.

Comparando as duas sementes, observou-se que o  $I_G$  obtido difere entre elas ( $p = 0,016$ ). Além disso, pela diferença entre médias, foi possível perceber que o sorgo (99,78) apresenta esse índice maior que a alface (82,21), ou seja, é uma semente menos sensível a variações no efluente. Esses resultados são semelhantes aos que foram obtidos em ensaios de toxicidade de efluentes têxteis por Bellato *et al.* (2015), evidenciando que *Lactuca sativa* é mais indicada para analisar a toxicidade desses tipos de efluente.

### *Lemna* sp. (lentilha-d'água)

As médias dos percentuais de inibição de área e de biomassa para cada tanque foram calculadas e estão apresentadas na Figura 5.

Nota-se que os percentuais de inibição de área obtidos diferem apenas entre os efluentes bruto (-54,56 — 45,82) e tratado com junco (51,29 — 99,23), contudo, a ANOVA indica que o %Ia é igual em todos os tratamentos ( $p = 0,425$ ), inclusive entre o efluente bruto e o tratado com junco ( $p = 0,221$ ), indicando que não houve diferença entre os tratamentos.

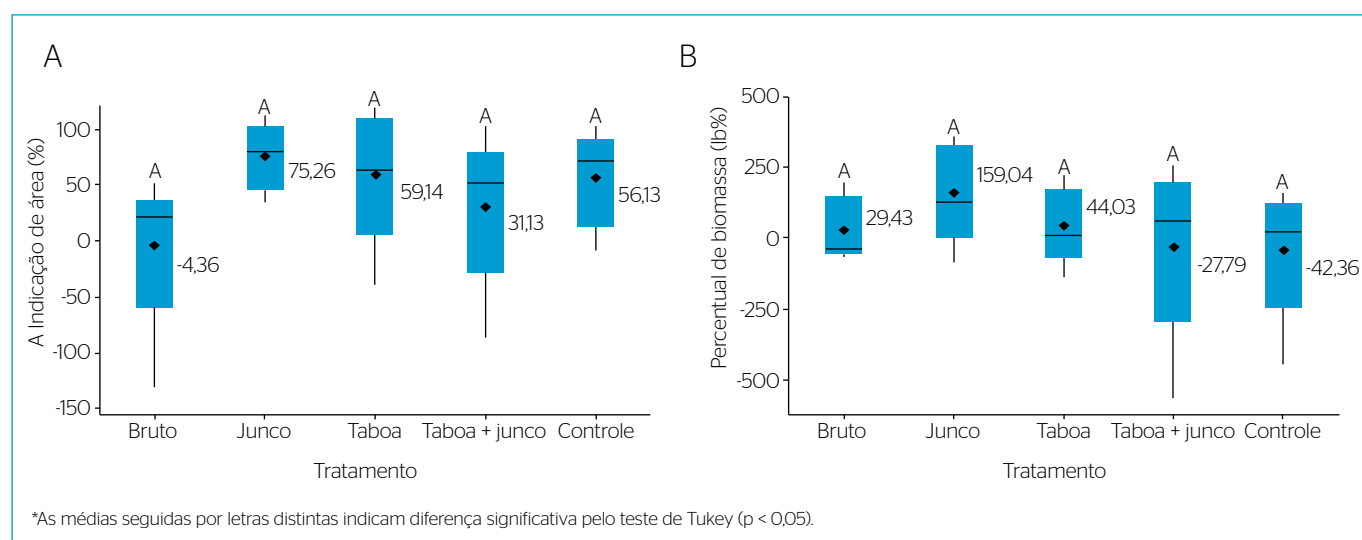
O valor obtido de %Ia para o efluente bruto, por estar negativo, indica que o efluente, invés de ser tóxico, foi mais nutritivo que o próprio meio de cultivo, evidenciando o seu potencial eutrofizante. A diferença entre o efluente bruto e os dos três tratamentos com macrófitas e o controle, por mais que não seja significativa estatisticamente, indica que é possível que tenha ocorrido diminuição na disponibilidade de nutrientes, fazendo com que as plantas crescessem menos que nas amostras com

meio de cultivo, ou seja, indicando a possibilidade de o tratamento ter tido efeito na diminuição do potencial eutrofizante do esgoto.

Conforme verificado por Sanchez (2017), utilizando o mesmo sistema de alagados construídos do presente trabalho, houve diferença estatística significativa da concentração de fósforo total do efluente bruto para os dos tratamentos, sendo a concentração maior no efluente bruto (valor médio de 7,8  $\text{mg.L}^{-1}$ ) do que nos tratamentos com junco (valor médio de 3,9  $\text{mg.L}^{-1}$ ), taboa (valor médio de 3,6  $\text{mg.L}^{-1}$ ), taboa + junco (valor médio de 3,7  $\text{mg.L}^{-1}$ ) e o controle (valor médio de 4,2  $\text{mg.L}^{-1}$ ). Esses resultados corroboram a hipótese de que, mesmo não havendo diferenças estatísticas significativas, o menor crescimento da *Lemna* sp. nos efluentes tratados indica que realmente houve uma diminuição de nutrientes em relação ao efluente bruto.

Analisando os resultados, pode-se inferir que o potencial eutrofizante do efluente bruto tenha sido subestimado pela toxicidade presente no efluente, ou seja, a toxicidade pode ter feito com que as plantas não se desenvolvessem da mesma forma que se desenvolveriam se o efluente possuísse apenas grande aporte de nutrientes. Esse detalhe pode explicar o fato de não terem sido observadas diferenças significativas entre o efluente bruto e os tratamentos, uma vez que, nos tratamentos, houve redução significativa de nutrientes, mas indica também que houve diminuição da toxicidade dos quatro tratamentos diferentes (junco, taboa, taboa + junco e controle).

Esses resultados confirmam os do trabalho realizado por Penning *et al.* (2008) em lagos da Europa, no qual classificaram diversas espécies de macrófitas como sensíveis ou tolerantes à pressão de eutrofização, baseada em um gradiente de fósforo. Duas espécies do gênero *Lemna* (*Lemna minor* e *Lemna trisulca*) foram classificadas como tolerantes à pressão de eutrofização, ou seja, ecossistemas com grande aporte de fósforo não alteram negativamente o desenvolvimento dessas espécies.



**Figura 5 - (A)** média do percentual de inibição de área da macrófita de espécie *Lemna* sp. obtido para cada tanque no período estudado; **(B)** média de percentual de biomassa para cada tanque estudado utilizando a espécie *Lemna* sp. como bioindicadora\*.

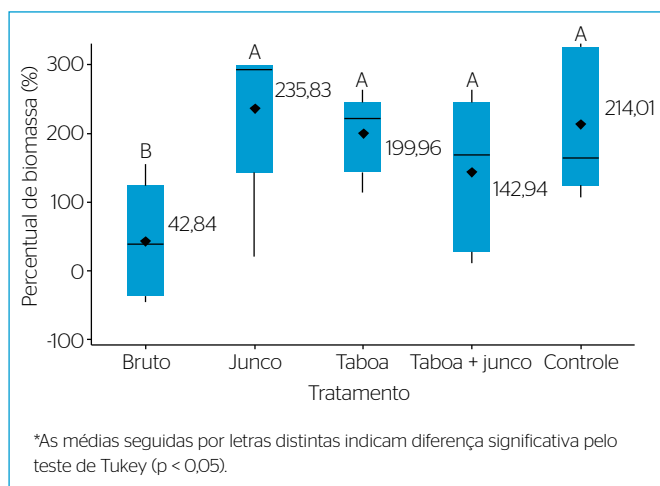
Assim como o que foi obtido nos ensaios de percentual de área, o percentual de biomassa indica que não há diferença estatística entre os tratamentos nem mesmo quando comparado ao efluente bruto ( $p = 0,863$ ). Por outro lado, Rocha *et al.* (2012) obtiveram resultados que sugerem o uso das macrófitas aquáticas como parâmetro para o monitoramento da qualidade da água. Além disso, essa espécie é amplamente utilizada para testar a ecotoxicidade de herbicidas e pesticidas, identificando que esta possui sensibilidade a um grupo específico de compostos que não devem estar presentes no efluente estudado.

Por conta da característica do efluente doméstico, observou-se que essa espécie não foi sensível, ou seja, o efluente não possui componentes tóxicos nos dias estudados capazes de interferir no crescimento de frondes ou ganho de biomassa. Entretanto, viu-se que há tendência à identificação de um potencial eutrofizante, uma vez que os valores obtidos no efluente bruto são menores que nos tratados, e esse potencial eutrofizante pode subestimar o efeito tóxico dos efluentes. Dessa forma, são necessários mais estudos que possam elucidar a relação de potenciais tóxico e eutrofizante, a fim de otimizar a utilização da espécie estudada nos ensaios de fitotoxicidade.

### *Azolla* sp.

No caso dessa variedade de macrófita, o percentual de biomassa foi o único parâmetro utilizado, já que não é possível realizar a medição do número de frondes. Os resultados podem ser observados na Figura 6.

Diferentemente do observado com a macrófita lentilha-d'água, para a *Azolla* sp. foi notada diferença estatística entre o percentual de biomassa das amostras do efluente tratado com junco ( $p = 0,075$ ), taboa ( $p = 0,021$ ) e o controle ( $p = 0,021$ ), em relação ao efluente bruto. Pela diferença de médias, notou-se que este possui maior potencial tóxico em relação aos tratamentos com junco, taboa e o controle. Ainda assim, da mesma forma que observado em *Lemna* sp., acredita-se que o potencial eutrofizante também tenha subestimado o efeito tóxico



**Figura 6** – Média de percentual de biomassa para cada tanque estudado utilizando *Azolla* sp. com espécie bioindicadora\*.

nas plantas de *Azolla* sp. Alguns casos específicos constataram necrose das plantas em concentrações elevadas de efluente proveniente dos tratamentos com junco, taboa e taboa + junco, evidenciando a presença de elemento tóxico mesmo no efluente após o tratamento.

Para além do uso da planta como bioindicador de toxicidade, a utilização de *Azolla* sp. na remoção de nutrientes ou mesmo de herbicidas ainda é bastante contraditória. Chaux, Caicedo e Fernandez (2013) registraram que essa planta desempenha um papel importante na remoção de fósforo e nitrogênio, nutrientes essenciais para o desenvolvimento do processo de eutrofização, apresentando-se eficiente na remoção desses compostos além de DBO e DQO de efluentes de piscicultura. Já Toledo e Penha (2011) observaram que essas plantas possuem um baixo potencial para melhorar a qualidade dos efluentes de piscicultura. Guimarães *et al.* (2011) identificaram que essa planta apresenta um potencial para remoção de herbicidas, porém limitado a baixas concentrações, enquanto Silva *et al.* (2012) observaram que os herbicidas glyphosate e oxyfluorfen foram tóxicos a essa espécie, enquanto clomazone e 2,4-D foram praticamente não tóxicos.

Dessa forma, fica claro que a utilização de *Azolla* sp. ainda é pouco disseminada para avaliação de fitotoxicidade de compostos e efluentes. Não foi encontrado nenhum trabalho que tenha utilizado essa espécie para verificar a fitotoxicidade de efluentes domésticos e, por isso, a comparação torna-se mais dificultada. A *Azolla* sp. demonstrou ser uma espécie sensível a um grupo específico de compostos, entre eles os presentes nos efluentes domésticos da ETE Arujá.

## CONCLUSÕES

Os alagados construídos se mostraram eficientes na redução da toxicidade de efluentes domésticos, no entanto, não foi possível verificar a participação efetiva das macrófitas nessa redução, já que o tratamento controle (somente com brita) foi tão eficiente quanto os com as macrófitas. É possível inferir que, provavelmente, a microbiota associada ao substrato esteja envolvida nos mecanismos de detoxificação do efluente estudado, fazendo-se necessários mais estudos que investiguem a fundo essa relação. O microcrustáceo *Daphnia similis* mostrou-se um bom indicador de toxicidade de efluentes domésticos, com porcentagem de detoxificação de 98,2; 97,7; 98,3; e 97,9% para os tratamentos com junco, taboa, taboa + junco e controle, respectivamente. Não foi observado efeito tóxico do efluente doméstico e dos tratados nos ensaios realizados com sementes de alface e sorgo, demonstrando que essas espécies não foram sensíveis aos efluentes estudados. Nos ensaios de fitotoxicidade utilizando as macrófitas *Lemna* sp e *Azolla* sp., apenas a segunda se mostrou sensível ao efluente estudado. Embora a *Azolla* sp. seja pouco utilizada em testes de fitotoxicidade, este trabalho verificou que esta pode ser mais aproveitada nas avaliações de ecotoxicidade de efluentes domésticos, principalmente devido à importância que esses organismos possuem para os ecossistemas aquáticos.



## REFERÊNCIAS

- ANDRADE, V.T. (2009) *Avaliação da toxicidade de água produzida tratada por processo evaporativo com a finalidade de reúso em solo*. 164f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- ANJOS, J.Â.S.A. (2003) *Avaliação da eficiência de uma zona alagadiça (wetland) no controle da poluição por metais pesados: o caso da plumbum em Santo Amaro da Purificação/BA*. 328f. Tese (Doutorado) - Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). (2009) *NBR 12713. Ecotoxicologia Aquática - Toxicidade Aguda - Metro de Ensaio com Daphnia sp. (Crustacea, Cladocera)*. Rio de Janeiro: ABNT.
- BAUN, A.; KLOEFT, L.; BJERG, P.L.; NYHOLM, N. (1999) Toxicity testing of organic chemicals in groundwater polluted with land fill leached. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 18, n. 9, p. 2046-2053. <https://doi.org/10.1002/etc.5620180924>
- BELLATO, F.C.; SANTOS, G.O.F.; ROSA, J.M.; MATHEUS, D.R. (2015) Avaliação da fitotoxicidade de efluente têxtil contendo corante CI Reactive Blue 222 após o tratamento por Pleurotus ostreatus em biorreator. *In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA EM INICIAÇÃO CIENTÍFICA*, 11., 2015. *Anais...* São Paulo: Blucher. p. 288-294.
- BORRELY, S.I. (2001) *Redução da toxicidade aguda de efluentes industriais e domésticos tratados por irradiação por feixes de elétrons avaliada com as espécies V. fischeri, Daphnia similis e P. reticulata*. 120f. Tese (Doutorado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.
- BRASIL. (2006) Fundação Nacional de Saúde. *Manual de saneamento*. 3. ed. Brasília: Fundação Nacional de Saúde. 408 p.
- BRASIL. CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - CONAMA. (2011) *Resolução nº 430 de 13 de maio de 2011*.
- BRASIL. (2017) Ministério das Cidades. Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental - SNSA. *Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento: Diagnóstico dos Serviços de Água e Esgotos - 2015*. Brasília: SNSA/MCIDADES. 212 p.
- BRIX, H. (1997) Do macrophytes play a role in constructed treatment alagados? *Water Science and Technology*, v. 35, n. 5, p. 11-17.
- CHAUX, G.F.; CAICEDO, J.R.B.; FERNANDEZ, J.E.M. (2013) Tratamiento de efluentes piscícolas (tilapia roja) en lagunas con, Azolla pinnata. *Biocología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, Popayán, v. 11, n. 2.
- COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). (2017) *Qualidade das águas interiores no estado de São Paulo 2016*. São Paulo: CETESB.
- COSTA, C.R.; OLIVI, P.; BOTTA, C.M.R.; ESPINDOLA, E.L.G. (2008) A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. *Química Nova*, v. 31, n. 7, p. 1820-1830.
- CUNHA, B.M. (2011) *Avaliação Ecotoxicológica de Distintos tipos de efluentes mediante ensaios de toxicidade aguda utilizando Artemia salina e Lactuca sativa*. 79f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- DOMINGUES, D.F.; BERTOLETTI, E. (2006) Seleção, Manutenção e Cultivo de Organismos Aquáticos. *In: ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E. Ecotoxicologia Aquática: Princípios e Aplicações*. São Carlos: Ed. Rima. p. 153-184.
- FONSECA, J.P.Q.B. (2012) *Efeito da adição de borras de café sobre a compostagem de resíduos de Acacia dealbata L. (mimosa)*. 110f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrônômica) - Universidade de Trás os Montes e Alto Douro, Vila Real.
- GUIMARÃES, F.P.; AGUIAR, R.; KARAM, D.; OLIVEIRA, J.A.; SILVA, J.A.A.; SANTOS, C.L.; SANT'ANNA-SANTOS, B.F.; LIZIERI-SANTOS, C. (2011) Potential of macrophytes for removing atrazine from aqueous solution. *Planta Daninha*, Viçosa, v. 29, n. esp. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-83582011000500022>
- HAMADA, N.; MESQUITA, L.C.A.; PEREIRA, I.W.; NAKANO, E.; BORRELY, S.I.; TALLARICO, L.F. (2011) Avaliação ecotoxicológica da estação de tratamento de esgotos Suzano (São Paulo) Utilizando Daphnia similis e Vibrio fischeri. *Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology*, v. 6, n. 1, p. 31-35. <http://dx.doi.org/10.5132/jbse.2011.01.005>
- IGNÁCIO, N.F. (2014) *Seleção de bioindicadores aquáticos pela toxicidade aguda e risco ambiental do inseticida fipronil*. 65f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal.
- KLETECKE, R.M. (2011) *Remoção/exportação de nutrientes de esgoto doméstico utilizando plantas ornamentais: Hedychium coronarium, Heliconia psittacorum, Cyperus alternifolius e Colocasia esculenta*. 310f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Faculdade de Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- MAVIOSO, J.F. (2010) *Tratamento de águas residuais através de Leitões de Macrófitas. A influência da vegetação*. 84f. Dissertação (Mestrado em Engenharia do Ambiente) - Instituto Superior Técnico, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa.
- METCALF; EDDY. (1991) *Wastewater Engineering: Treatment, Disposal, Reuse*. 3. ed. Nova York: McGraw-Hill, 1991.
- MOHR, G.; DUPONT, A.; MACHADO, E.L.; ALCAYAGA, E.A.L. (2015) Avaliação da eficiência da macrófita hymenachne grumosa como organismo-teste, em dois sistemas de tratamento de efluentes, através de ensaios ecotoxicológicos. *Jovens Pesquisadores*, Santa Cruz do Sul, v. 5, n. 2, p. 2-12. <http://dx.doi.org/10.17058/rjpv5i2.5781>
- ORGANIZAÇÃO PARA A COOPERAÇÃO E DESENVOLVIMENTO ECONÓMICO (OECD). (2002) *Guidelines for the testing of chemicals: revised proposal for a new guideline 221; Lemna sp. Growth Inhibition Test*. OECD.

- PENNING, W.E.; MJELDE, M.; DUDLEY, B.; HELLSTEN, S.; HANGANU, J.; KOLADA, A.; VAN DEN BERG, M.; POIKANE, S.; PHILLIPS, G.; WILLBY, N.; ECKE, F. (2008) Classifying aquatic macrophytes as indicators of eutrophication in European lakes. *Aquatic Ecology*, v. 42, n. 2, p. 237-251. <http://doi.org/10.1007/s10452-008-9182-y>
- RIBEIRO, G.M.; MAIA, C.E.; MEDEIROS, J.F. (2005) Uso da regressão linear para estimativa da relação entre a condutividade elétrica e a composição iônica da água de irrigação. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 9, n. 1, p. 15-22. <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-43662005000100003>
- ROCHA, C.M.C.; ALVES, A.E.; CARDOSO, A.S.; CUNHA, M.C.C. (2012) Macrófitas Aquáticas como Parâmetro no Monitoramento Ambiental da Qualidade da Água. *Revista Brasileira de Geografia Física*, v. 5, n. 4, p. 970-983. <https://doi.org/10.26848/rbgfv5.4.p970-983>
- RODRIGUES, L.C.A.; BARBOSA, S.; PAZIN, M.; MASELLI, B.S.; BEIJO, L.A.; KUMMROW, F. (2013) Fitotoxicidade e citogenotoxicidade da água e sedimento de córrego urbano em bioensaio com *Lactuca sativa*. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 17, n. 10, p. 1099-1108. <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-43662013001000012>
- SANCHEZ, A.A. (2017) *Desempenho de sistema piloto de alagados construídos de fluxo subsuperficial horizontal no tratamento secundário de efluente sanitário*. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) – Universidade Federal do ABC, Santo André.
- SEVERINO, P.H.; PHILIPPI, L.S. (2003) Filtro plantado com macrófitas (*wetlands*) como tratamento de esgotos em unidades residenciais: critérios para dimensionamento. In: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL (ABES). *Saneamento Ambiental: Ética e Responsabilidade Social*. Joinville: ABES. 30 p.
- SEZERINO, P.H.; BENTO, A.P.; DECEZARO, S.T.; MAGRI, M.E.; PHILIPPI, L.S. (2015) Experiências brasileiras com *wetlands* construídos aplicados ao tratamento de águas residuárias: parâmetros de projeto para sistemas horizontais. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 20, n. 1, p. 151-158. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-41522015020000096615>
- SILVA, A.F.; CRUZ, C.; NETO, A.N.; PITELLI, R.A. (2012) Ecotoxicidade de herbicidas para a macrófita aquática (*Azolla caroliniana*). *Planta Daninha*, v. 30, n. 3, p. 541-546. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-83582012000300009>
- TAM, N.F.Y.; TIQUIA, S.M. (1994) Assessing toxicity of spent sawdust pig-litter using seed germination technique. *Resource Conservation Recycling*, v. 11, n. 1-4, p. 261-274. [https://doi.org/10.1016/0921-3449\(94\)90094-9](https://doi.org/10.1016/0921-3449(94)90094-9)
- TOLEDO, J.J.; PENHA, J. (2011) Performance de *Azolla caroliniana* Willd. e *Salvinia auriculata* Aubl. em efluente de piscicultura. *Brazilian Journal of Biology*, v. 71, n. 1, p. 37-45. <http://dx.doi.org/10.1590/S1519-69842011000100007>
- VALENTIM, M.A.A. (2003) *Desempenho de leitos cultivados ("constructed wetland") para tratamento de esgoto: contribuições para concepção e operação*. 210f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Engenharia Agrícola, Campinas.
- VYMAZAL, J. (2002) The use of sub-surface constructed wetlands for wastewater treatment in the Czech Republic: 10 years experience. *Ecological Engineering*, v. 18, n. 5, p. 633-646.
- VYMAZAL, J. (2010) Constructed Wetlands for Wastewater Treatment. *Water*, v. 2, p. 530-549. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2005.07.002>
- VYMAZAL, J.; BRIX, H.; COOPER, P.F.; HABERL, R.; PERFLER, R.; LABER, J. (1998) Removal mechanisms and types of constructed wetlands. In: VYMAZAL, J.; BRIX, H.; COOPER, P.F.; GREEN, M.B.; HABERL, R. (ed.). *Constructed Wetlands for Wastewater Treatment in Europe*. Leiden: Backhuys Publishers. 366 p.
- VYMAZAL, J.; KRÖPFELOVÁ, L. (2008) *Wastewater treatment in constructed alagados with horizontal sub-surface flow*. Dordrecht: Springer.
- WATHARKAR, A.D.; KHANDARE, R.V.; WAGHMARE, P.R.; JAGADALE, A.D.; GOVINDWAR, S.P.; JADHAV, J.P. (2015) Treatment of textile effluent in a developed phytoreactor with immobilized bacterial augmentation and subsequent toxicity studies on *Etheostoma olmstedii* fish. *Journal of Hazardous Materials*, v. 283, p. 698-704. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.10.019>
- WORLD WATER ASSESSMENT PROGRAMME (WWAP). (2017) *Informe Mundial de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos 2017*. Aguas residuales: el recurso desaprovechado. Paris: UNESCO.