

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO LODO DE ESGOTO DE DUAS ESTAÇÕES DE TRATAMENTO PARA O INVERTEBRADO AQUÁTICO *Daphnia similis*

CLAUDIO MARTÍN JONSSON*
ALINE DE HOLANDA NUNES MAIA**

No presente trabalho avaliou-se o efeito adverso de amostras de lodo, oriundas das estações de tratamento de efluentes das cidades de Franca (SP) e Barueri (SP), sobre o microcrustáceo de água doce *Daphnia similis*. Valores de mais de 90,0% de imobilidade dos organismos foram registrados durante os 14 dias de exposição a concentrações de lodo de 2 ou 10 g .L⁻¹ (peso úmido), enquanto que nos controles a imobilidade variou entre 3,1 e 21,8%. Esse efeito tóxico, constatado para o material de ambas as estações de tratamento, parece não estar associado com alterações de pH, condutividade ou oxigênio dissolvido. Maior toxicidade foi observada para o material de Barueri, cujo efeito se manifestou em menor tempo de exposição. Resultados de experimentos de exposição em curto prazo com esse lodo demonstraram que a presença de componentes orgânicos no extrato acetônico deve ser em grande parte responsável pela toxicidade do material-teste (como demonstrado pelo resíduo dessa extração). Os resultados indicaram que o uso dos dois lodos testados para fins agrícolas, nas taxas de aplicação agrônômica recomendadas ou superiores a essas, constitui algum risco para os sistemas aquáticos adjacentes.

PALAVRAS-CHAVE: LODO; FERTILIZANTE; TOXICIDADE; *Daphnia similis*.

* Doutor em Biologia Funcional e Molecular, Laboratório de Ecotoxicologia e Biossegurança, Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP (e-mail: jonsson@cnpma.embrapa.br).

** Doutora em Fitotecnia, Laboratório de Geotecnologias e Métodos Quantitativos, Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP (e-mail: ahmaia@cnpma.embrapa.br).

1 INTRODUÇÃO

Devido ao aumento no número de estações de tratamento de resíduos urbanos e a conseqüente elevação da quantidade de lodo de esgoto gerado surgiu a necessidade do estabelecimento de normas específicas para a disposição final desse material. A utilização do lodo na agricultura como fertilizante constitui uma das principais alternativas para a disposição final desses resíduos, tendo em vista que o lodo pode fornecer diversos nutrientes essenciais às plantas, especialmente o nitrogênio (BOEIRA e LIGO, 1999; ROCHA, 1998; RODELLA e ALCARDE, 2001). Por outro lado, dependendo da sua natureza, o lodo de esgoto pode constituir fonte de contaminação de agentes tóxicos de natureza orgânica (fenóis, benzenos, antracenos, alquilbenzenos linear sulfonados, etc.) (PARAIBA e SAITO, 2005; HOLMSTRUP et al., 2001) e de metais pesados (TSAKOU, ROULIA e CHRISTODOULAKIS, 2001; ALMEIDA et al., 1998). Sabe-se ainda que práticas agrícolas que levem à contaminação dos recursos hídricos impactam diretamente a vida das comunidades aquáticas (JERGENTZ et al., 2004; MURTY, 1986) .

Neste trabalho foi utilizado lodo proveniente de duas estações de tratamento de esgoto: a estação de Franca (SP), que recebe esgotos estritamente domésticos, e a estação de Barueri (SP), que além de esgotos domésticos recebe esgotos industriais. Essa segunda estação serve a maior parte da cidade de São Paulo, além de vários municípios como Barueri, Osasco, Carapicuíba, Taboão da Serra, e outros. A vazão que aflui à estação é de aproximadamente 7 mil litros por segundo, com grau de eficiência de 90% de remoção da carga orgânica. O efluente final é lançado no rio Tietê. Por outro lado, a estação de Franca apresenta vazão cerca de 20 vezes menor que a de Barueri, sendo o seu efluente final lançado no córrego dos Bagres (SABESP, 2006; SILVA et al. 2004). Ambas as estações utilizam como processo de tratamento a digestão anaeróbia do lodo ativado (BOEIRA, LIGO e DYNIA, 2002). Análise comparativa entre os parâmetros de caracterização do afluente e efluente das duas estações de tratamento foi descrita por SILVA et al. (2004).

O invertebrado aquático *Daphnia similis*, microcrustáceo bioindicador, é comumente utilizado na avaliação da ecotoxicidade de agentes químicos (JONSSON e MAIA, 1999) e agentes microbianos de controle biológico de pragas (USEPA, 1989; CASTRO et al., 2001).

Espécies do gênero *Daphnia* tem sido adotadas no âmbito de estações de tratamento de esgoto e de efluentes industriais para avaliar processos que visam à redução da toxicidade do efluente final, tais como eletrólise (ANGELIS et al., 1998) e ozonização (ARAÚJO et al., 1991). A utilização desses organismos também tem sido relatada em estudos de avaliação de risco associado à aplicação de lodo gerado nas estações de tratamento. SELIVANOVSKAYA e LATYPOVA (2003) constataram que dentre quatro espécies de organismos testadas, a *Daphnia* foi a mais sensível ao elutriado de um solo tratado com lodo contaminado com metais pesados. Os resultados obtidos por FJALLBORG e GUSTAFSSON (2006) indicaram que a toxicidade de lodo para *D. magna* é aumentada ou diminuída pela peletização ou pela incineração, respectivamente. FJALLBORG et al. (2005) observaram diminuição da toxicidade do lixiviado de lodo de esgoto para *D. magna* quando o material passava através de resinas de troca catiônica. Lodos provenientes de estações que tratam águas com cloreto férrico como coagulante demonstraram-se mais tóxicos para *D. similis* que os originados de estações que utilizam alumina (SOTERO-SANTOS, ROCHA e POVINELLI, 2005).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito adverso, a curto e a longo prazo, do lodo proveniente das estações de tratamento de esgoto de Barueri e Franca sobre o invertebrado de água doce *D. similis*.

2 METODOLOGIA

2.1 MATERIAL-TESTE

Amostras de lodo provenientes das estações de tratamento de esgotos dos municípios de Franca (SP) e Barueri (SP) foram utilizadas como material-teste. A composição química parcial do lodo dessas estações foi previamente descrita por BOEIRA, LIGO e DYNIA (2002).

2.2 ORGANISMO-TESTE

Foram utilizados organismos jovens, com idade inferior a 24 horas, do microcrustáceo *Daphnia similis*, cultivados em água reconstituída preparada segundo o método de HOSOKAWA et al. (1991) e enriquecida com micronutrientes (ELENDET e BIAS, 1990).

As culturas foram mantidas sob temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$, luminosidade de aproximadamente 1.000 lux e em água com as seguintes características físico-químicas: pH = 7,8; dureza total = $111 \text{ mg.L}^{-1} \text{ CaCO}_3$ e condutividade = $0,38 \text{ mS.cm}^{-1}$.

2.3 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE A LONGO PRAZO DE EXPOSIÇÃO

Em recipientes de vidro, medindo cerca de 14,5 cm de altura e 7,5 cm de diâmetro, foram adicionadas 1 ou 5 g de lodo (peso úmido) e 500 mL de água reconstituída (USEPA, 1989). Efetuou-se a adição vagarosamente de modo a evitar ao máximo a suspensão do material-teste na coluna de água. As concentrações de 2 e 10 g.L^{-1} resultantes foram preparadas em réplicas de oito recipientes. Os recipientes que serviram como controle continham água de diluição isenta de material-teste. Cada recipiente recebeu 12 organismos que foram expostos às condições de temperatura e luminosidade descritas anteriormente. Os recipientes foram aerados pela introdução de mangueira com pedra porosa acoplada em minicompressor.

O estudo teve duração de 14 dias, sendo a renovação do conteúdo dos recipientes realizada três vezes por semana. Para cada renovação, o número de organismos que apresentava mobilidade em cada recipiente foi registrado e a percentagem de imobilidade calculada (OECD, 1981).

2.4 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO EXTRATO ORGÂNICO E DO RESÍDUO

Com o objetivo de averiguar a natureza dos agentes tóxicos, presentes no lodo com maior toxicidade (Barueri), realizaram-se testes de toxicidade a curto prazo de exposição com o extrato orgânico e com o resíduo da extração. Pesaram-se 12 g de lodo (peso úmido), o qual foi extraído com 2 porções de 20 mL de acetona sob agitação durante 5 minutos. A fase orgânica foi transferida para balão de fundo redondo e totalmente evaporada a 35°C em rotaevaporador (GROVER e KAUR, 1999; STRMAC e BRAUNBECK, 2000). O extrato seco resultante foi então ressuspenso em 0,3 mL de acetona e o resíduo remanescente da extração separado.

Foram avaliados 5 tratamentos com volume total de 500 mL de meio, descritos a seguir: controle (T_1): água reconstituída; controle + acetona (T_2): água reconstituída + 50 μL de acetona; extrato orgânico (T_3): água reconstituída + 50 μL de extrato orgânico; resíduo (T_4): água reconstituída + 2 g do resíduo da extração; e lodo (T_5): água reconstituída + 2 g de lodo (peso úmido).

Doze organismos-teste foram colocados em cada recipiente. O experimento foi realizado em réplicas de, no mínimo, cinco recipientes para cada tratamento.

Os organismos foram expostos aos diferentes tratamentos durante 72 horas, a temperatura de 20+ 2°C e luminosidade de aproximadamente 1000 lux. Após esse período, avaliou-se a taxa de imobilidade dos organismos por recipiente (OECD, 1981).

2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os parâmetros relativos à imobilidade (% de indivíduos imóveis) foram estimados pelo método de quadrados mínimos ponderados (STOKES, DAVIS e KOCH, 2000), considerando-se os números de indivíduos imóveis em cada tratamento como variáveis aleatórias com distribuição binomial. As comparações entre pares de tratamentos foram efetuadas via teste qui-quadrado de WALD (1943), utilizando-se o PROC CATMOD do SAS System (SAS, 2000).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 ESTUDO A LONGO PRAZO DE EXPOSIÇÃO COM OS LODOS DE FRANCA E BARUERI

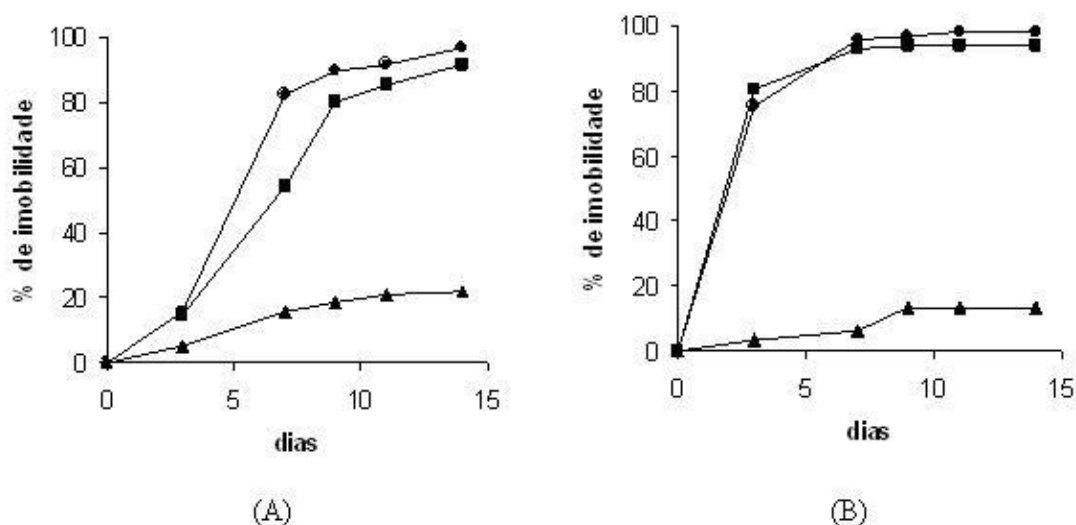
As doses de exposição de lodo testadas (2 e 10 g.L⁻¹) corresponderam, respectivamente, a uma e a 5 vezes a dose de aplicação do material em campo (3 ton.ha⁻¹), considerando-se lâmina de água de 15 cm. A adoção desse procedimento está fundamentada na metodologia descrita pela USEPA (1989) sobre avaliação de risco para a biota aquática. Assim mesmo, a menor dose de exposição testada correspondeu à diluição de 125 vezes do material-teste em relação ao procedimento proposto por SASSON-BRICKSON e BURTON (1991) para avaliação de toxicidade de sedimentos usando invertebrados aquáticos. Esses autores propuseram a utilização da proporção (peso/peso) de 1:4 (material-teste:água) .

Na Figura 1 são apresentados os resultados de toxicidade dos lodos de Franca e Barueri para o organismo-teste em relação aos recipientes controle, nos quais a percentagem de imobilidade se manteve entre 3,1 e 21,8% durante todo o ensaio. No final do período de exposição houve redução quase total (% de móveis de 2 a 8) da população de organismos móveis para todos os tratamentos com os dois lodos.

Os dados sugerem que o lodo de Franca (Figura 1A) apresentou menor toxicidade em menor período de exposição, comparativamente ao lodo de Barueri. No 3º dia de exposição a imobilidade dos organismos expostos ao lodo de Franca foi menor que 20%, enquanto que os tratamentos com o lodo de Barueri (Figura 1B) afetaram aproximadamente 80% dos organismos para o mesmo período. Essa observação poderia estar associada com maiores valores de concentração de alguns metais pesados no material de Barueri, que recebe esgotos industriais e domésticos (BOEIRA, LIGO e DYNIA, 2002). Assim sendo, os autores relataram a presença de Ni, Cu, Cd, Pb e Zn em níveis de 33,9; 153; 2,6; 72,6 e 744 mg.kg⁻¹, respectivamente, no lodo de Franca. Já o material de Barueri apresentou concentrações de 289,3; 738; 8,8; 160,5 e 1.765 mg.kg⁻¹, respectivamente, para esses metais.

Apesar da ausência de toxicidade no lodo de Franca, nos primeiros dias de exposição, observou-se aumento gradual do efeito em função do tempo para ambas as doses testadas. Assim sendo, atingiu-se 91,7 e 96,9% de imobilidade no final do período de exposição para os tratamentos com 2 e 10 g .L⁻¹ de lodo, respectivamente. Altos valores de percentagem de imobilidade foram também observados nos tratamentos com o lodo de Barueri. Entretanto, esses efeitos ocorreram em período de exposição inferior comparativamente aos dos tratamentos com o lodo de Franca.

FIGURA 1 - TOXICIDADE A LONGO PRAZO DO LODO DE FRANCA (A) E BARUERI (B) PARA *D. similis*



Controle (▲); 2 g.L⁻¹ (■); 10 g.L⁻¹ (●). Cada ponto corresponde à média de observações em oito recipientes.

A toxicidade apresentada pelos dois materiais testados não parece estar associada com efeitos indiretos ocasionados por alterações de importantes parâmetros físico-químicos da água de diluição (Tabela 1). Em alguns tratamentos com lodo ocorreu aumento da condutividade da água de diluição em relação aos controles, mas não associado aos efeitos deletérios proporcionados pelo material-teste. Tal suposição se deve ao fato da condutividade no controle referente ao estudo do lodo de Barueri estar próxima à dos tratamentos com o lodo de Franca, que demonstraram toxicidade.

As concentrações de oxigênio dissolvido (OD) nos recipientes adicionados do material-teste e nos recipientes-controle foram superiores a 80% de saturação da água, sendo que para a maior dose testada a diminuição de OD mostrou-se inferior a 10% (dados não-mostrados).

TABELA 1 - PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DA ÁGUA DE DILUIÇÃO NOS DIFERENTES TRATAMENTOS DURANTE A REALIZAÇÃO DOS ENSAIOS COM OS LODOS DE FRANCA E BARUERI^a

Parâmetros	lodo de Franca			lodo de Barueri		
	controle	2 g.L ⁻¹	10 g.L ⁻¹	controle	2 g.L ⁻¹	10 g.L ⁻¹
pH	7,9	7,8	7,9	7,6	7,9	7,9
Condutividade (mS.cm ⁻¹)	0,35	0,35	0,47	0,40	0,50	0,64

a) Medidas realizadas após 48 horas da introdução do material-teste.

3.2 ESTUDO A CURTO PRAZO DE EXPOSIÇÃO COM O LODO DE BARUERI

Os dados da Tabela 2 demonstram que a presença de componentes orgânicos solúveis em acetona deve ser em grande parte responsável pela toxicidade do material-teste. As porcentagens de imobilidade no tratamento com extrato orgânico e no controle adicionado de acetona foram 76,67 e 6,67 %, respectivamente. AGUAYO et al. (2004) também constataram que o extrato orgânico (metanólico) do efluente de três dentre sete estações de tratamento apresentaram alta toxicidade aguda para *Daphnia magna*.

No presente trabalho, a alta toxicidade do resíduo remanescente da extração sugere a presença de agentes tóxicos que podem ser de natureza orgânica (não-extraídos pela acetona) ou inorgânica. A percentagem de imóveis foi significativamente maior (teste de Wald, $p < 0,001$) no tratamento T_4 (resíduo) quando comparado ao T_5 (lodo), indicando menor toxicidade desse último em relação ao primeiro. Provavelmente, a retirada de material orgânico pelo solvente extrator do lodo tenha contribuído para tornar mais biodisponíveis compostos tóxicos remanescentes no resíduo.

TABELA 2 – IMOBILIDADE DE *D. Similis* NOS DIFERENTES TRATAMENTOS E RESULTADOS DO TESTE DE WALD

TRATAMENTO	N ^a	IMOBILIDADE (%)	ERRO PADRÃO	Valores p ^b				
				T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅
Controle (T ₁)	60	5,00	2.81	-	0,6967	<0,001	<0,001	<0,001
Controle + acetona (T ₂)	60	6.67	3,22	-	-	<0,001	<0,001	<0,001
Extrato orgânico (T ₃)	60	76,67	5,46	-	-	-	<0,001	0,6029
Resíduo (T ₄)	60	100,0	0,00	-	-	-	-	<0,001
Lodo (T ₅)	96	80,21	4.07	-	-	-	-	-

a) Número total inicial de indivíduos em cinco recipientes nos tratamentos 1-4 e oito recipientes no tratamento 5 (T₅).

b) Probabilidade de erro tipo I associada ao teste qui-quadrado de Wald para contrastes entre pares de tratamentos.

4 CONCLUSÃO

De acordo com os dados apresentados conclui-se que em decorrência da aplicação de lodo de esgoto, proveniente das estações de tratamento de Franca e Barueri, existe algum risco de ocorrência de efeitos adversos para a fauna aquática. O risco estaria relacionado à aplicação do lodo em regiões agrícolas próximas de compartimentos aquáticos, cujos efeitos se manifestariam a curto ou longo prazo para organismos zooplânctônicos e, conseqüentemente, para outros organismos da cadeia alimentar. Esse fenômeno estaria associado ao transporte do lodo para os referidos compartimentos, assim como de seus constituintes orgânicos ou inorgânicos com ação tóxica.

Conclui-se também que os efeitos tóxicos do lodo de Barueri não devem ser atribuídos somente à presença de metais pesados já constatados nesse material, mas à presença de compostos orgânicos passíveis de serem extraídos pela acetona e que podem ter propriedades acumulativas.

ABSTRACT

TOXICITY EVALUATION OF THE SEWAGE SLUDGE FROM TWO TREATMENT STATIONS FOR THE AQUATIC INVERTEBRATE *Daphnia similis*

This work evaluates the adverse effect of the sludge taken from the sewage treatment stations of the cities of Franca (SP) and Barueri (SP) over the fresh-water invertebrate *Daphnia Similis*. The immobility registered in the treated organisms, during 14 days of exposure, with 2 or 10 g.L⁻¹ of sludge (wet weight), was of more than 90.0% comparing to the controls, where this value varied between 3.1 and 21.8%. This toxic effect was observed in both materials, from both stations, and did not seem to be related with changes in the water pH, conductivity and dissolved oxygen. However, higher toxicity was identified in Barueri's sludge, where the effects appeared earlier. Results of short term exposure, with this same sludge, indicated that the presence of organic compound in the acetic extract may have extreme influence in the toxicity of the material-test. The results also showed that the use of sludge from both sources used for agriculture purposes, with recommended or upper agronomic applications, may present risk to the adjacent aquatic systems.

KEY-WORDS: SLUDGE; FERTILIZER; TOXICITY; *Daphnia similis*.

REFERÊNCIAS

- 1 AGUAYO, S.; MUNOZ, M.J.; DE LA TORRE, A.; ROSET, J.; DE LA PENA, E.; CARBALLO, M. Identification of organic compounds and ecotoxicological assessment of sewage treatment plants (STP) effluents. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v.328, n.1-3, p.69-81, 2004.
- 2 ALMEIDA, V.C. de; LENZI, E.; BORTOTTI-FAVERO, L.O.; LUCHESE, E.B. Avaliação do teor de alguns metais e de nutrientes de lodos de estações de tratamento de Maringá. **Acta Scientiarum**, Maringá, v.20, p.419-425, 1998.
- 3 ANGELIS, D.F. de; CORSO, C.R.; BIDOIA, E.D.; MORAES, P.B.; DOMINGOS, R.N.; ROCHA-FILHO, R.C. Eletrólise de resíduos poluidores. I - efluente de uma indústria liofilizadora de condimentos. **Química Nova**, São Paulo, v.21, n.1, p.20-24, 1998.
- 4 ARAUJO, R. P. A.; GASI, T. M.T.; GHERARDI-GOLDSTEIN, E.; AMARAL, L. A. V.; FRANCISCO, R. Ozone application for the improvement of UASB reactor effluent. II. Toxicity evaluation. **Ozone: Science & Engineering**, Philadelphia, v.13, n.2, p.195-203, 1991.
- 5 BOEIRA, R.C.; LIGO, M.A.V.; DYNIA, J.F. Mineralização de nitrogênio em solo tropical tratado com lodos de esgoto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n.11, p.1639-1647, 2002.
- 6 BOEIRA, R.C.; LIGO, M.A.V. **Mineralização do nitrogênio de lodos de esgoto aplicados em Latossolo**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 1999. 2 p. (Embrapa Meio Ambiente. Pesquisa em Andamento, 2).
- 7 CASTRO, V.L.S.; JONSSON, C.M.; MELO, I.S.; NUNES, F.V. Avaliação de risco ecotoxicológico de *Trichoderma stromaticum* usado como biopesticida. **Ecotoxicology and Environmental Restoration**, Coimbra, v.4, n.1, p.18-24, 2001.
- 8 ELENDT, B.P.; BIAS, W.R. Trace nutrient deficiency in *Daphnia magna* cultured in standard medium for toxicity testing. Effects of the optimization of culture conditions on life history parameters of *D. Magna*. **Water Research**, Amsterdam, v.24, n.9, p.1152-1167, 1990.
- 9 FJALLBORG, B.; GUSTAFSSON, N. Short-term bioassay responses to sludge products and leachate. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v.51, n.3, p.367-376, 2006.
- 10 FJALLBORG, B.; AHLBERG, G.; NILSSON, E.; DAVE, G. Identification of metal toxicity in sewage sludge leachate. **Environment International**, Elmsford, v.31, n.1, p.25-31, 2005.
- 11 GROVER, I.S.; KAUR, S. Genotoxicity of waste water samples from sewage and industrial effluent detected by the Allium root anaphase aberration and micronucleus assays. **Mutation Research**, Amsterdam, v.426, n.2, p.183-188, 1999.
- 12 HOSOKAWA, M.; ENDO, G.; KURODA, K.; HORIGUCHI, S. Influence of sulfate, Ca and Mg on the acute toxicity of potassium dichromate to *Daphnia similis*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v.46, p.461-465, 1991.
- 13 HOLMSTRUP, M.; KROGH, P.H.; LOKKE, H.; WOLF, W. de; MARSHALL, S.; FOX, K.; WOLF, W. Effect and risk assesment of linear alkylbenzene sulfonates in agricultural soil. 4. The influence of salt speciation, soil type, and sewage sludge on toxicity using the collembolan *Folsomia fimetaria* and the earthworm *Aporrectodea caliginosa* as test organisms. **Environmental Toxicology and Chemistry**, Elmsford, v.20, p.1680-1689, 2001.

- 14 JERGENTZ, S.; MUGNI, H.; BONETTO, C.; SCHULZ, R. Runoff-related endosulfan contamination and aquatic macroinvertebrate response in rural basins near Buenos Aires, Argentina. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v.46, p.345-352, 2004.
- 15 JONSSON, C.M.; MAIA, A.H.N. Toxicidade dos herbicidas clomazone e quinclorac para o invertebrado aquático *Daphnia similis* na presença e ausência de sedimento. **Pesticidas: revista de ecotoxicologia e meio ambiente**, Curitiba, v.9, p.145-153, 1999.
- 16 MURTY, A.S. **Toxicity of pesticides to fish**. Boca Raton: CRC Press, 1986. v. 1, 177p.
- 17 OEDC. Organization for Economic Cooperation and Development. **Guidelines for testing of chemicals. *Daphnia sp.* 14-day reproduction test including an acute immobilization test**. Paris, 1981.
- 18 PARAIBA, L.C; SAITO, M.L. Distribuição ambiental de poluentes encontrados em lodos de esgoto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n.9, p.853-860, 2005.
- 19 ROCHA, M.T. **Utilização de lodo de esgoto na agricultura: um estudo de caso para as bacias hidrográficas dos rios Piracicaba, Capivarí e Jundiá**. Piracicaba, 1998. 140 p. Dissertação (Mestrado em Economia Agrária) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- 20 RODELLA, A.A.; ALCARDE, J.C. Legislação sobre micronutrientes e metais pesados. In: FERREIRA, M.E.; CRUZ, M.C.P.; RAIJ, B. van; ABREU, C.A. **Micronutrientes e elementos tóxicos na agricultura**. Jaboticabal: CNPq/FAPESP/POTAFOS, 2001. p.555-576.
- 21 SABESP. Saneamento Básico do Estado de São Paulo. **O que fazemos**. Tratamento de esgoto. Disponível em : <http://www.sabesp.com.br> Acesso em: 20 dez. 2006.
- 22 SAS INSTITUTE INC. **SAS/STAT user's guide/Version 8**. Cary, NC, 2000.
- 23 SASSON-BRICKSON, G.; BURTON, G.A. J. *In situ* and laboratory sediment toxicity testing with *Ceriodaphnia dubia*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, Elmsford, v.10, p.201-207, 1991.
- 24 SELIVANOVSKAYA, S.Y.; LATYPOVA, V.Z. The use of bioassays for evaluating the toxicity of sewage sludge and sewage sludge-amended soil. **Journal of Soils and Sediments**, Landsberg, v.3, n.2, p.85-92, 2003.
- 25 SILVA, S.V. da; PEREIRA, R.A.; PIVELI, R. P.; CRISCUOLO, H.J. Monitoramento das características dos esgotos como instrumento de otimização do processo de lodos ativados e suas aplicações. **Revista Brasileira de Ciências Ambientais**, São Paulo, n.2, p.46-59, dez. 2004.
- 26 SOTERO-SANTOS, R.B.; ROCHA, O.; POVINELLI, J. Evaluation of water treatment sludges toxicity using the *Daphnia* bioassay. **Water Research**, Amsterdam, v.39, n.16, p.3909-3917, 2005.
- 27 STOKES, M.E.; DAVIS, C.S.; KOCH, G.G. **Categorical data analysis using the SAS system**. 2nd ed. Cary, NC: SAS Institute, 2000. 629 p.
- 28 STRMAC, M.; BRAUNBECK, T. Isolated hepatocytes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) as a tool to discriminate between differently contaminated small river systems. **Toxicology In Vitro**, Oxford, v.14, p.361-377, 2000.
- 29 TSAKOU, A.; ROULIA, M.; CHRISTODOULAKIS, N.S. Growth of cotton plants (*Gossypium hirsutum*) as affected by water and sludge from a sewage treatment plant: II. Seed and fiber yield and heavy metal accumulation. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v.66, p.743-747, 2001.
- 30 USEPA. United States Environmental Protection Agency. Subdivision M of the Pesticide Testing Guidelines. **Microbial and biochemical pest control agents**. Washington, D.C. 1989.
- 31 WALD, A. Test of statistical hypotheses concerning general parameters when the number of observations is large. **Transactions of the American Mathematical Society**, Boston, v.54, p.462-482, 1943.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Maurício Rangel (*in memoriam*) e a Neusa Domingos pela colaboração na execução dos ensaios.