

II-804 - FITOTOXICIDADE EM SEMENTES DE ALFACE SUBMETIDAS A EFLUENTES VINÍCOLA BRUTOS E TRATADOS NO SUBMÉDIO SÃO FRANCISCO

Sheila Ferreira Santos ⁽¹⁾

Graduanda em Engenharia Agrícola e Ambiental pela Universidade Federal do Vale do São Francisco, Bolsista PET Saneamento Ambiental.

Aricélia Antunes do Nascimento Vieira ⁽²⁾

Graduanda em Engenharia Agrícola e Ambiental pela Universidade Federal do Vale do São Francisco, Bolsista PET Saneamento Ambiental.

Guilherme Henrique de Lima Freitas ⁽³⁾

Graduando em Engenharia Agrícola e Ambiental pela Universidade Federal do Vale do São Francisco, Bolsista PET Saneamento Ambiental.

Vitor Marcos Lima dos Santos ⁽⁴⁾

Graduando em Engenharia Agrícola e Ambiental pela Universidade Federal do Vale do São Francisco. Bolsista PET Saneamento Ambiental.

Miriam Cleide Cavalcante Amorim ⁽⁵⁾

Doutora em Engenharia Química pela Universidade Federal do Vale do São Francisco; Tutora PET Saneamento Ambiental

Endereço ⁽¹⁾: Universidade Federal do Vale do São Francisco – Campus Juazeiro-BA - Juazeiro – Bahia - CEP: 48902-300 – Brasil - Telefone: (87) 8104.9961- E-mail: sheila.santos@discente.univasf.edu.br.

RESUMO

O presente estudo tem como objetivo avaliar a fitotoxicidade de efluentes vinícola da produção de sucos e vinhos por meio de testes de germinação utilizando sementes da espécie *Lactuca Sativa* como organismo-teste. Os ensaios foram conduzidos no Laboratório de Engenharia Ambiental da Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus de Juazeiro, BA, conduzidos em delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial (2 x 5) sendo dois tipos de efluente (Efluente bruto – EB e Efluente Tratado EF) e cinco diferentes concentrações: (T1- testemunha; T2 - 25%; T3 - 50%; T4 - 75% e T5 - 100%). O teste de toxicidade baseou-se nas diretrizes ecológicas da Norma USEPA Ecological Effects Test Guidelines OCSP 850.4100 – Seed Germination. Antes da instalação do experimento, foi realizada a caracterização físico-química dos efluentes. As avaliações diárias do número de germinações foram realizadas ao longo de cinco dias, e ao final do experimento foram medidos o comprimento da radícula e do hipocótilo. Os resultados indicaram que o efluente bruto teve um impacto menor na germinação e no desenvolvimento das plântulas em comparação ao efluente tratado.

PALAVRAS-CHAVE: *Lactuca Sativa*, Germinação, Vitivinicultura.

INTRODUÇÃO

A indústria vitivinícola produz um grande volume de efluentes com características altamente variáveis, oriundos de processos de limpeza que ocorrem nas etapas de produção, consistindo principalmente em resíduos de vinho, suco de uva, sólidos e produtos de limpeza (Ioannou *et al.* 2015). Segundo Mader *et al.* (2022) a quantidade de efluente resultante das atividades do setor vitivinícola é estimado em um valor global aproximado de 7,5 × 1010 litros anualmente. Vlotman *et al.* (2022), destacam que efluentes vinícolas podem representar uma ameaça ambiental devido alta demanda química de oxigênio (DQO), altos níveis de sólidos suspensos totais (SST), baixo pH e flutuações nos níveis de salinidade e nutrientes.

A complexidade na composição desses efluentes apresenta desafios consideráveis devido ao potencial impacto adverso que podem causar nos corpos d'água e no solo (Flores *et al.*, 2023). Embora as principais características qualitativas dos efluentes de vinícolas já sejam bem conhecidas (Ioannou *et al.*, 2015) e diversas tecnologias de tratamento já estejam disponíveis (Bolzonella *et al.*, 2019), como também haja no Brasil regulamentação da



qualidade dos efluentes estabelecida pela Resolução nº 430 e nº 357 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA, 2011), é essencial compreender os possíveis riscos associados a esses efluentes sobre a comunidade biológica. Isso porque, muitas vezes esses efluentes atendem ao preconizado na legislação quanto aos padrões físico-químicos de qualidade, e, ainda assim, causam efeitos na biota, seja pela interação entre contaminantes, seja pela presença de contaminantes não contemplados pela legislação (Barjhoux *et al.*, 2017).

Assim, testes de toxicidade podem ser aplicados para se estudar a influência desses efluentes na biota, sendo empregados para complementar os resultados das análises físico-químicas, permitindo a determinação do grau ou nível de toxicidade do efluente. As diretrizes ecológicas OCSPP 850.4100 da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) recomendam o uso de sementes da espécie *Lactuca sativa* para a realização de testes de toxicidade, devido à alta sensibilidade a agentes químicos. Esses ensaios mostram-se necessários, uma vez que as análises físico-químicas, comumente utilizadas e estabelecidas pelas legislações ambientais, não são capazes de diferenciar entre as substâncias que podem afetar os sistemas biológicos das que se encontram inertes no ambiente (Guevara *et al.*, 2019).

O presente estudo tem como objetivo avaliar a fitotoxicidade de efluentes, gerados por uma vinícola no município de Petrolina, PE com produção de sucos e vinhos, por meio de testes de germinação utilizando sementes da espécie *Lactuca Sativa* como organismo-teste.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os efluentes utilizados foram originados de uma vinícola localizada na cidade de Petrolina, Pernambuco. Esses efluentes têm origem tanto no processo de produção de sucos e vinhos quanto nas descargas adicionais de águas residuais resultantes das operações diárias, como lavagem de equipamentos e limpeza em geral nas instalações da vinícola. Para o experimento, foram utilizadas amostras de efluente bruto obtidas na entrada do sistema de tratamento (EB - Efluente Bruto) e de efluente após o tratamento, coletado na saída do sistema (ET - Efluente Tratado), caracterizado por lagoas de estabilização anaeróbias e aeróbias. Os ensaios foram conduzidos no Laboratório de Engenharia Ambiental da Universidade Federal do Vale do São Francisco, localizado no campus de Juazeiro, BA (Figura 1).



Figura 1: Mapa de localização do local de coleta das amostras e realização do experimento.

Antes da instalação dos bioensaios, realizou-se a caracterização físico-química dos efluentes analisando-se os seguintes parâmetros: pH, cor, turbidez, condutividade elétrica, alcalinidade, cloretos, sólidos totais, demanda química de oxigênio (DQO), sódio, potássio, nitrogênio amoniacal e fósforo. Todas as análises físico-químicas seguiram a metodologia do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA., 2017).

O teste de toxicidade baseou-se nas diretrizes ecológicas da Norma USEPA Ecological Effects Test Guidelines OCSPP 850.4100 – Seed Germination (USEPA, 2012), na qual, recomenda-se a utilização de sementes de alface (*Lactuca sativa* L.) como organismos teste. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente

casualizado (DIC) sendo as sementes expostas a 5 tratamentos para cada Efluente, com diferentes concentrações: T1- (testemunha); T2- 25%; T3- 50%; T4 – 75% e T5- 100% (Tabela 1). Cada tratamento com quatro repetições, sendo a unidade amostral composta por 10 sementes. Para a testemunha foi utilizada somente água. Para a execução dos ensaios, dez sementes foram dispostas em placas de Petri (90 mm de diâmetro) com substrato de papel filtro qualitativo e umedecidas com 2 mL de cada solução (tratamento). As placas de Petri foram seladas com plástico filme transparente, para manter a umidade, e regadas diariamente com 0,5 mL de amostra. As placas foram mantidas em estufa BOD para germinação por 120 horas (5 dias) a uma temperatura de 22 ± 2 °C e sem fotoperíodo.

Tabela 1: Proporção de efluente e água utilizada em cada tratamento.

TRATAMENTO	EFLUENTE (EB, ET) (%)	ÁGUA (%)
T1	0	100
T2	25	75
T3	50	50
T4	75	25
T5	100	0

As sementes foram monitoradas a cada 24h para avaliar o parâmetro germinação. Ao final das 120 h com o auxílio de um paquímetro foram medidos o comprimento das radículas e hipocótilos. No parâmetro de germinação, foi adotado o critério do aparecimento efetivo da raiz para determinar se a semente germinou ou não.

Para avaliação da fitotoxicidade foram determinados os parâmetros: Germinação das sementes - G (%); Comprimento da radícula – L (mm); Comprimento do Hipocótilo – CP (mm); Percentual de Inibição da germinação das sementes – IG (%), calculado conforme a equação (1); Percentual de Inibição do comprimento das raízes – IR (%), conforme a equação (2) e Índice de germinação geral - GI (%) conforme a equação (3).

$$IG(\%) = \frac{AG-BG}{AG} * 100 \quad \text{Equação (1)}$$

Onde: IG - Inibição da germinação das sementes; AG - Germinação média das sementes no tratamento testemunha; BG – Germinação média das sementes no tratamento teste. As variáveis AG e BG foram calculadas a partir da soma de sementes germinadas por dia, dividida pelo período de dias.

$$IR(\%) = \frac{AR-BR}{AR} * 100 \quad \text{Equação (2)}$$

Onde: IR – Inibição do comprimento das raízes; AR - Comprimento das raízes no tratamento testemunha; BR - Comprimento das raízes no tratamento teste.

$$GI(\%) = \frac{GS*LS}{GT*LT} * 100 \quad \text{Equação (3)}$$

Onde: GI – Índice de germinação geral; GS - Germinação das sementes em (%) no tratamento teste; LS - Comprimento das raízes em (mm) no tratamento teste; GT – Germinação das sementes em (%) no tratamento testemunha; LT - Comprimento das raízes em (mm) no tratamento testemunha.

A última etapa do teste de toxicidade consiste em classificar o grau ou nível de toxicidade do tratamento conforme seu índice de germinação (GI). No presente estudo, os valores de GI inferiores a 80% foram considerados como fitotóxicos de acordo com Gerber et al. (2017).

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância 0,05 F de probabilidade, e as médias comparadas pelos testes de Tukey a 5% de probabilidade utilizando software estatístico Sisvar® versão 5.6, e os gráficos e tabelas foram elaborados no software computacional Microsoft Excel 2019.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Caracterização dos Efluentes

Os efluentes gerados pelas vinícolas apresentam características altamente variáveis, sendo influenciada diretamente pelas etapas adotadas no processo produtivo. Além de variar segundo a região, a tecnologia empregada, o consumo de água, o tipo de vinho produzido, a dimensão das instalações, e por fatores ambientais e econômicos (Freitas, 2018). Portanto, é essencial considerar essas diferenças ao tratar e gerir os efluentes vinícolas.

Os dados da caracterização físico-química do efluente bruto (EB) e do Efluente Tratado (ET) utilizados neste estudo estão descritos na Tabela 2. O pH apresentou-se ácido, predominantemente atribuído à presença de ácidos orgânicos como ácido láctico, tartárico, cítrico, málico e ácido succínico (Vlotman *et al.*, 2022).

Tabela 2: Valores da caracterização físico-química do Efluente Bruto e do Efluente Tratado.

PARÂMETROS	EFLUENTE BRUTO	EFLUENTE TRATADO
pH	3,73	4,47
Cor (uH)	528	82
Turbidez (NTU)	1000	787
Condutividade Elétrica ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	2066	918,5
Alcalinidade ($\text{mg CaCO}_3/\text{L}$)	0,0083	0,0077
Cloretos ($\text{mg Cl}/\text{L}$)	108,28	39,32
Sólidos Totais (mg/L)	8.113	2.548
Sódio (mg/L)	75	50
Potássio (mg/L)	1.425	375
Nitrogênio Amoniacal ($\text{mg N-NH}_3/\text{L}$)	4,48	2,24
Fósforo ($\text{mg P}/\text{L}$)	3,85	2,59
DQO ($\text{mg O}_2/\text{L}$)	9.974	5.439

Observou-se que os valores de CE foram de 2066 $\mu\text{S}/\text{cm}$ para o EB e 918,5 $\mu\text{S}/\text{cm}$ para o ET, os quais se encontram próximos da faixa de valores descritos na literatura. Vlotman *et al.* (2022), encontraram CE das águas residuais de vinícolas entre 1.620 $\mu\text{S}/\text{cm}$ a 6.150 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

A DQO nos efluentes apresentou níveis elevados, registrando 9.974 $\text{mg O}_2/\text{L}$ no EB e 5.439 $\text{mg O}_2/\text{L}$ no ET. Mulidzi *et al.* (2018) investigaram a dinâmica anual da qualidade das águas residuais de uma vinícola, observando valores de DQO que chegaram a ultrapassar 5.000 $\text{mg O}_2/\text{L}$ ao longo do período de estudo. Esses resultados indicam uma considerável concentração de matéria orgânica nos efluentes vinícolas.

Quanto ao fósforo os valores foram baixos quando comparados com a literatura, assim como o nitrogênio. Conforme destacado por Bolzonella *et al.*, 2019, a concentração de fósforo em efluentes vinícolas tende a apresentar menor variação, mantendo-se em torno de 40,6 $\text{mg P}/\text{L}$. Em relação ao nitrogênio, a maioria dos casos varia entre 6 e 51 $\text{mg N}/\text{L}$, embora valores excepcionais de até 390 $\text{mg N}/\text{L}$ sejam ocasionalmente observados. Em relação ao potássio, percebe-se que o EB obteve o valor de 1.425 mg/L , ao passo que o ET apresentou valor de 375 mg/L . Sobre esse parâmetro, Buelow *et al.* (2016) citam que águas residuais de vitivinícolas são ricas em potássio K^+ e Na^+ . Os autores afirmam que o K^+ ocorre devido à característica da própria uva, e o Na^+ devido aos agentes de limpeza utilizados no processamento do efluente.

Fitotoxicidade

A análise de variância, conforme apresentado na Tabela 3, revelou uma influência significativa a ($P < 0,01$) pelo teste F dos efluentes estudados em todas as variáveis analisadas. Além disso, observou-se diferença estatística ($P < 0,01$) entre as concentrações estudadas para todas as variáveis: Germinação das sementes (G), Comprimento da Radícula (CR), Comprimento do Hipocótilo (CH), Percentual de Inibição da germinação (IG) Percentual de Inibição da Radícula (IR) e Índice de germinação geral (GI).

Os resultados da germinação das sementes de alface são apresentados na Figura 2, destacando os efeitos das diferentes concentrações de efluentes sobre esse processo. Observa-se que nas amostras contendo 75% e 100% de efluente EB, não ocorreu germinação. Por outro lado, nas mesmas diluições do efluente ET, os percentuais de germinação foram de 90,7% e 70,2%, respectivamente, indicando que o impacto na germinação das sementes em contato com o efluente EB foi maior em comparação ao efluente ET a partir da concentração de 50%. É importante ressaltar que as amostras do tratamento testemunha atingiram 100% de germinação. Esses resultados indicam que a presença do efluente ET prejudicou significativamente ($P < 0,05$) a germinação das sementes de alface em comparação com o efluente EB e o grupo de controle. Para o efluente EB não houve diferença estatística entre as concentrações testadas até a concentração de 75%.

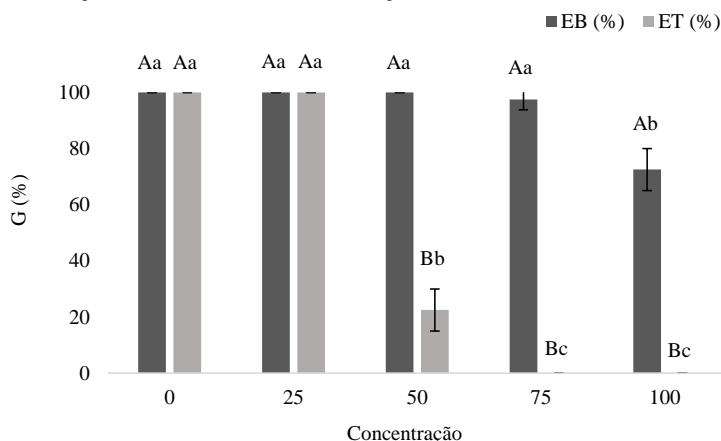


Figura 2: Porcentagem de germinação de sementes de alface em função das diferentes concentrações de Efluente Bruto (EB) e Efluente Tratado (ET).

*Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Os resultados referentes à inibição da germinação das sementes estão apresentados na Tabela 3. Observa-se que a inibição da germinação das sementes em contato com o efluente ET foi significativamente maior ($p < 0,05$) em comparação com o efluente EB, a partir da concentração de 50% do efluente. Para o efluente EB, não foram identificadas diferenças estatisticamente significativas entre as concentrações de 0 a 75%. Em contraste, para o efluente ET, as inibições mais acentuadas ocorreram a partir da concentração de 50%.

Tabela 3: Inibição da germinação das sementes (IG) de alface em função das diferentes concentrações de Efluente Bruto (EB) e Efluente Tratado (ET).

CONCENTRAÇÃO	IG (%)	
	EB	ET
0	0 ± 0 Ab	0 ± 0 Ac
25%	0 ± 0 Ab	0 ± 0 Ac
50%	0 ± 0 Bb	77,5 ± 7,50 Ab
75%	2,5 ± 3,75 Bb	100 ± 0 Aa
100%	27,5 ± 7,50 Ba	100 ± 0 Aa

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si, e letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Os valores médios das variáveis Comprimento da Radícula e Comprimento do Hipocótilo estão apresentados na Tabela 4. Os resultados indicam que, para o tratamento Testemunha, os valores foram significativamente superiores ($P < 0,05$) em comparação com todos os demais tratamentos. Além disso, constatou-se que o efluente EB apresentou desempenho significativamente melhor ($P < 0,05$) em comparação com o efluente ET. No que diz respeito à variável "Hipocótilo", observou-se que, mesmo havendo germinação, não ocorreu desenvolvimento do hipocótilo na concentração de 100% de ambos os efluentes.



Tabela 4: Valores médios para as variáveis morfológicas das plântulas de alface nos tratamentos com diferentes concentrações de Efluente Bruto (EB) e Efluente Tratado (ET).

CONCENTRAÇÃO	RADÍCULA (MM)		HIPOCÓTILO (MM)	
	EB	EF	EB	EF
0	2,34 ± 0,08 Aa	2,34 ± 0,08 Aa	1,84 ± 0,04 Aa	1,84 ± 0,04 Aa
25%	0,56 ± 0,15 Ab	0,01 ± 0,01 Bb	1,09 ± 0,09 Ab	0,006 ± 0,01 Bb
50%	0,24 ± 0,05 Ac	0,007 ± 0 Bb	0,30 ± 0,11 Ac	0,002 ± 0 Bb
75%	0,05 ± 0,02 Ad	0 ± 0 Ab	0,03 ± 0,01 Ad	0 ± 0 Ab
100%	0,007 ± 0 Ad	0 ± 0 Ab	0 ± 0 Ad	0 ± 0 Ab

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si, letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Os resultados obtidos para os percentuais de inibição do desenvolvimento das radículas das plântulas de alface são mostrados na Figura 3. Observa-se que a inibição do comprimento da radícula foi significativamente maior ($P < 0,01$) nas concentrações de 25% e 50% para o efluente ET em comparação as mesmas concentrações do efluente EB. Por outro lado, nas demais concentrações, não foram observadas diferenças estatísticas entre os efluentes. No caso do efluente ET, não foram identificadas diferenças estatisticamente significativas entre as concentrações. Em contraste, para o efluente EB, a menor inibição ocorreu nas concentrações de 25% e 50%.

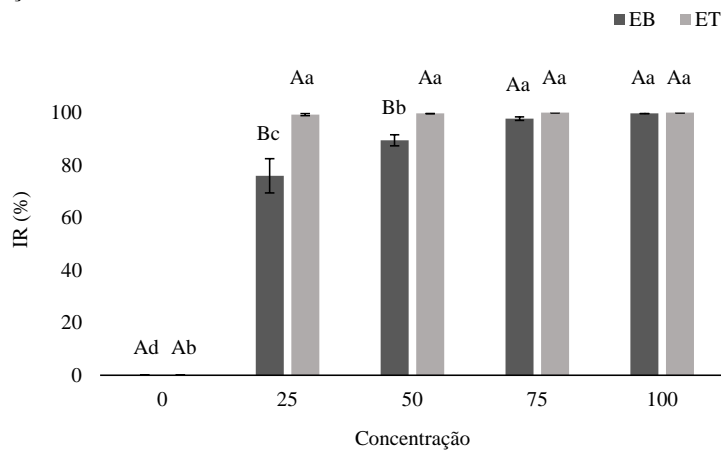


Figura 3: Percentual de Inibição da Radícula de plântulas de alface em função das diferentes concentrações de Efluente Bruto (EB) e Efluente Final Tratado (EF).

*Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Em um ensaio de toxicidade aguda com amostras de efluente vinícola, Cunha (2011) observou que, apesar de apresentarem uma boa taxa de germinação, as plântulas de alface tiveram um crescimento baixo das raízes. Esses resultados corroboram os achados de Cunha, sugerindo que, embora a germinação não seja fortemente afetada, o desenvolvimento das radículas pode ser significativamente comprometido pela presença de compostos tóxicos no efluente vinícola.

Ambos os efluentes demonstraram elevada fitotoxicidade para a alface, conforme apresentado na Tabela 5. Os resultados indicam que tanto o efluente bruto quanto o tratado exibem níveis elevados de fitotoxicidade, uma vez que o Índice de Germinação (GI) não atingiu 50%. Em um estudo realizado por Freitas *et al.* (2019), foi constatado que o efluente vinícola demonstrou moderada fitotoxicidade nos testes de germinação da espécie *Lepidium sativum*. Portanto, é notório que os efluentes vinícolas podem ter impactos negativos significativos no processo de germinação e no desenvolvimento inicial das plantas.

Tabela 5: Índice de germinação (GI) das sementes de alface nas diferentes concentrações do efluente Bruto (EB) e Efluente Final Tratado (EF).

CONCENTRAÇÃO	GI (%)	
	EB	EF
0	100 ± 0 Aa	100 ± 0 Aa
25%	24,09 ± 6,52 Ab	0,73 ± 0,45 Bb
50%	10,54 ± 2,15 Ac	0,08 ± 0,06 Bb
75%	2,23 ± 0,72 Ad	0 ± 0 Ab
100%	0,23 ± 0,05 Ad	0 ± 0 Ab

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si, e letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Além disso, a análise de variância do Índice de Germinação (GI %) revelou disparidades na toxicidade entre o efluente bruto (EB) e o efluente tratado (ET). Observou-se que o GI das sementes de alface em contato com o efluente EB foi significativamente superior ($P < 0,01$) em comparação com o efluente ET. A redução do GI e da germinação de sementes (G) em contato com o efluente tratado pode estar relacionada à formação de metabólitos tóxicos durante as etapas de tratamento biológico, o que pode influenciar negativamente os valores de GI e G (Guevara et al., 2019).

Determinar as razões para a fitotoxicidade apresentada pelo efluente vinícola é uma tarefa difícil devido à sua complexidade e variabilidade. Os fatores de influência mais relevantes incluem uma combinação de efeitos, especialmente o pH ácido e o excesso de DQO, além do sódio, o etanol e os polifenóis são todos constituintes potencialmente fitotóxicos (Souza et al., 2019). Mosse et al. (2010) investigaram a germinação das sementes e o crescimento vegetal de quatro espécies de pastagens e mesmo não investigando quais compostos seriam responsáveis por esses efeitos, associaram os efeitos tóxicos à presença de polifenóis no efluente. De acordo com Mosse et al. (2013), embora as técnicas de bioensaio possam confirmar a toxicidade dos efluentes vinícolas, as causas subjacentes são tipicamente de natureza química e podem não ser refletidas apenas por parâmetros como DBO e pH analisados neste estudo.

CONCLUSÕES

O efluente bruto apresentou um impacto menor na germinação e no desenvolvimento das plântulas quando comparado ao efluente tratado, possivelmente devido à formação de metabólitos tóxicos durante as etapas de tratamento. Esta fitotoxicidade ressalta a importância de uma avaliação criteriosa e monitoramento da liberação desse efluente no ambiente, bem como estudos posteriores para identificar e quantificar os compostos específicos responsáveis pela fitotoxicidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. American Public Health Association (APHA), American Works Association, Water Environmental Federation. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 22 edition, Washington, APHA/AWWA/WEF, 2017.
2. BARJHOUX, I.; CLÉRANDÉAU, C.; MENACH, K. L.; ANSCHUTZ, P.; GONZALEZ, P.; BUDZINSKI, H.; MORIN, B.; BAUDRIMONT, M.; CACHOT, J. A comprehensive study of the toxicity of natural multi-contaminated sediments: new insights brought by the use of a combined approach using the medaka embryo-larval assay and physico-chemical analyses. *Ecotoxicology and environmental safety*, v. 142, p. 509-521, 2017.
3. BUELOW, M. C.; STEENWERTH, K.; SILVA, L. C. R.; PARIKH, S. J. Characterization of Winery Wastewater for Reuse in California. *American Journal of Enology and Viticulture*, v. 66, n. 3, p. 302-310, 2016.
4. BOLZONELLA, D.; PAPA, M.; DA ROS, C.; MUTHUKUMAR, L. A.; ROSSO, D. Winery wastewater treatment: a critical overview of advanced biological processes. *Critical Reviews in Biotechnology*, v. 39, p. 489-507, 2019.



5. BRASIL. Resolução CONAMA nº 430, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, p. 89- 91.
6. CUNHA, B. M. **Avaliação ecotoxicológica de distintos tipos de efluentes mediante ensaio de toxicidade aguda utilizando *Artemia salina* e *Lactuca sativa***. Trabalho de Conclusão de curso (Bacharel em Química). Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. P. 79. 2011.
7. FREITAS, T. R. M. **Caraterização química, tratamento e reutilização de efluentes vinícolas para rega**. Dissertação (Mestrado em Engenharia do Ambiente). Escola de Ciências da Vida e do Ambiente (ECVA), Universidade de Trás -Os-Montes e Alto Douro, Vila Real. p. 103. 2018.
8. FREITAS, T. R.; PIRES, M., GONÇALVES, B.; FERREIRA, H., PERES, J. A.; BACELAR, E. Gestão de efluentes vinícolas: potencialidades da sua reutilização na rega de espécies ornamentais. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 42, n. 3, p. 606-618, 2019.
9. FLORES, L.; JOSA, I.; GARCÍA, J.; PENA, R.; GARFÍ, M. Constructed wetlands for winery wastewater treatment: A review on the technical, environmental and socio-economic benefits. **Science of The Total Environment**, p. 163547, 2023.
10. GERBER, M. D.; LUCIA, T. JR.; CORREA, L.; NETO, J. E. P.; CORREA, E. K. Phytotoxicity of effluents from swine slaughterhouses using lettuce and cucumber seeds as bioindicators. **Science of the Total Environment**, v. 592, p. 86-90, 2017.
11. GUEVARA, M. D. F.; MELLO, A. G.; CORRÊA, E. K.; GUEDES, H. A. S.; CORRÊA, L. B.; NAZARI, N. T. Fitotoxicidade em águas residuárias domésticas utilizando sementes como bioindicadores. **Revista DAE**, v. 67, p. 44-51, 2019.
12. IOANNOU, L. A.; PUMA, G. L.; FATTA-KASSINOS, D. Treatment of winery wastewater by physicochemical, biological and advanced processes: a review. **J. Hazard. Mater**, v.286, p. 343-368. 2015
13. MADER, A. E.; HOLTMAN, G. A.; WELZ, P. J. Treatment wetlands and phyto-technologies for remediation of winery effluent: Challenges and opportunities. **Science of the Total Environment**, v. 807, p. 150544, 2022.
14. MOSSE, K. P. M.; PATTI, A. F.; CHRISTEN, E. W.; CAVAGNARO, T. R. Winery wastewater inhibits seed germination and vegetative growth of common crop species. **Journal of Hazardous Materials**, v. 180, p. n. 1-3, p. 63-70, 2010.
15. MOSSE, K. P.; VERHEYEN, T. V.; CRUICKSHANK, A. J.; PATTI, A. F.; CAVAGNARO, T. R. Soluble organic components of winery wastewater and implications for reuse. **Agricultural water management**, v. 120, p. 5-10, 2013.
16. MULIDZI, A. R.; CLARKE, C. E.; MYBURGH, P. A. Annual dynamics of winery wastewater volumes and quality and the impact of disposal on poorly drained duplex soils. **South African Journal of Enology and Viticulture**, v. 39, n. 2, p. 305-314, 2018.
17. SOUSA, R. M. O.; AMARAL, C.; FERNANDES, J. M. C.; FRAGA, I.; SEMITELA. S.; BRAGA, F.; COIMBRA, A. M.; DIAS, A. A.; BEZERRA, R. M.; SAMPAIO, A. Hazardous impact of vinasse from distilled winemaking by-products in terrestrial plants and aquatic organisms. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 183, p. 109493, 2019.
18. USEPA. United States of America USA. Environmental Protection Agency EPA. Ecological Effects Test Guidelines OCSPP 850.4100: Seedling Emergence and Seedling Growth. Washington, EPA 712c012, January, 2012.
19. VLOTMAN, D. E.; KEY, D.; BLADERGROEN, B. J. Technological Advances in Winery Wastewater Treatment: A Comprehensive Review. **South African Journal of Enology and Viticulture**, v. 43, n. 1, p. 58-80, 2022.