

Camila Cassuly Teles

**AVALIAÇÃO DE LAGOAS DE LEMNAS PARA O POLIMENTO  
DE ESGOTO DOMÉSTICO COM FOCO NA MICROBIOTA  
ASSOCIADA**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Ambiental.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Rejane Helena Ribeiro da Costa.

Coorientador: Prof. Dr. Rodrigo de Almeida Mohedano.

Florianópolis  
2016





**“Avaliação de Lagoas de Lemnas para o Polimento de Esgoto Doméstico com Foco na Microbiota Associada”**

**CAMILA CASSULY TELES**

Dissertação submetida ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de

**MESTRE EM ENGENHARIA AMBIENTAL**

na Área de Engenharia Ambiental.

Aprovado por:

Prof.<sup>a</sup> Rejane Helena Ribeiro da Costa, Dr.<sup>a</sup>.  
(Orientadora)

Prof.<sup>a</sup> Catia Regina Silva de Carvalho Pinto, Dr.<sup>a</sup>.

Prof. Paulo Belli Filho, Dr.

Prof. Luiz Olinto Monteggia, Dr.

Prof. William Gerson Mattas, Dr.  
(Coordenador)

FLORIANÓPOLIS, SC – BRASIL  
ABRIL/2016



Este trabalho é dedicado aos amores da  
minha vida: Luís, Dagma, Elisson,  
Eduardo, Priscila e Jonas.



## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me dado forças nos momentos mais difíceis dessa caminhada;

Agradeço aos meus pais, pelo amor e apoio incondicional, por nunca duvidarem da minha capacidade... Pai e mãe, vocês são incríveis, amo muito vocês! Essa conquista foi por vocês!

Agradeço aos meus irmãos, Eduardo e Elisson, pelo apoio e pelas palavras de carinho e motivação, em especial a Pri, por ter feito o papel de mãe em Floripa, e ao meu afilhado que me proporciona tantos momentos de carinho e descontração. Eu amo vocês!

Agradeço ao meu melhor amigo, Jonas, por ter feito meus dias melhores, sei que não mediu esforços para estar sempre perto, me incentivando a correr atrás dos meus sonhos, não foi à toa que me apaixonei por você! Obrigada!

Agradeço aos familiares e aos amigos de Vacaria que sempre me apoiaram e entenderam minha ausência, em especial a Raquel, Daiane e Rubi, que mesmo longe sempre se fizeram presentes nessa etapa;

Agradeço a Anieli, grande amiga e incentivadora, que me ajudou com as análises estatísticas.

Agradeço a professora Dr. Rejane Costa, por ter me recebido no LABEFLU, e também pela paciência e atenção de sempre;

Agradeço ao Dr. Rodrigo Mohedano pela coorientação e por tudo que me proporcionou aprender durante esses dois anos.

Agradeço a TODOS os professores que ao longo dos anos vêm participando da minha formação: professores do Colégio São José, Colégio Gustavo Vieira de Brito, Energia, UDESC e UFSC;

Agradeço a todos os integrantes e ex-integrantes do LABEFLU, pelo acolhimento e ensinamentos, principalmente ao Gustavo pela parceria e ajuda com as atividades do mestrado;

Agradeço a Ana Maria, Beatriz e Silvana, que contribuíram, com muito bom humor, para a execução dessa pesquisa.

Agradeço a Catiane Pelissari, pela ajuda nas análises de biologia molecular.

Agradeço ao meu casal favorito (Henrique e Mayara), pelo apoio incondicional, pela amizade e carinho que me acolheram em Floripa.

Agradeço a amizade e a companhia dos amigos de Floripa, que amenizaram as saudades de casa, vocês são show: Silvana, Giovanna, Naiara, André e em especial Bruna e Camila que dividiram a convivência diária comigo, muito obrigada;

Agradeço aos membros da banca pela disponibilidade em

## VIII

participar deste momento tão importante em minha vida;

E por fim, agradeço a CAPES, pela bolsa de estudos concedida.

Muito obrigada a todos!



## RESUMO

As lagoas de lemnas são uma tecnologia promissora para o tratamento e valorização dos esgotos sanitários, tendo em vista a eficiência, o baixo custo e a produção de biomassa. Contudo, a influência da dinâmica microbiana nestes sistemas de tratamento é desconhecida e pouco estudada. Deste modo, o presente trabalho visa avaliar o potencial de lagoas de lemnas para o polimento do esgoto doméstico, com enfoque na dinâmica da microbiota associada às macrófitas. Para isso, foi desenvolvido um experimento em escala piloto, composto por duas lagoas de lemnas em série (10,8m<sup>2</sup> e TDH de 17 dias cada) para o tratamento de esgoto doméstico. O sistema foi operado com uma vazão de 200 L/dia, carga orgânica de 2,5 g DQO.m<sup>-2</sup>.d<sup>-1</sup> e monitorado durante 12 meses por meio de parâmetros físicos e químicos: oxigênio dissolvido, pH, temperatura, série nitrogenada, série de sólidos, fósforo total, fosfato, demanda química de oxigênio, demanda biológica de oxigênio, carbono orgânico dissolvido e turbidez. A avaliação microbiológica foi feita utilizando a contagem de plâncton, bem como técnicas de biologia molecular para identificação e quantificação de grupos bacterianos: Hibridização Fluorescente *in situ* e sequenciamento genético. Igualmente, foi avaliada a taxa de crescimento da biomassa de macrófitas. Como resultados, observou-se uma eficiência média de remoção de nutrientes de NT = 91% e PT = 93%, e de matéria orgânica DBO = 86%, produzindo um efluente com concentrações de 5,3, 0,5 e 10,5 mg.L<sup>-1</sup> para NT, PT e DBO, respectivamente. As análises do zooplâncton revelaram uma elevada densidade de microcrustáceos (ostrácodos, cladóceros e copépodos) chegando a aproximadamente 30.000 ind.L<sup>-1</sup>, tendo estes organismos uma importante função na redução de turbidez e sólidos suspensos. O sequenciamento genético revelou diversidade de gêneros bacterianos, incluindo organismos patogênicos, nitrificantes, desnitrificantes e fixadores de nitrogênio, com médias de 9,2%, 0,9%, 33,7% e 16,7%, respectivamente. Conclui-se que as lagoas de lemnas operadas sob as condições avaliadas atingiram remoção de nutrientes enquadrando o efluente nos padrões de lançamento da legislação vigente. E que os organismos associados às macrófitas desempenham uma importante função no sistema, com variações sazonais, principalmente na remoção de sólidos suspensos, DBO e na transformação de nutrientes.

**Palavras-chave:** Lagoas de lemnas, tratamento de efluentes, esgoto doméstico, microbiota, biologia molecular.



## ABSTRACT

The duckweed ponds are a promising technology for the treatment and recovery of wastewater, due to efficiency, low cost and biomass production. However, the influence of microbial dynamic in these treatment systems is unknown and little studied. Thus, this study aims to evaluate the potential of duckweed ponds for domestic wastewater polishing, focusing on the dynamics of the microbiota associated with macrophytes. For this, an experiment was conducted in a pilot scale that consisted of two duckweed ponds in series (10,8m<sup>2</sup> and HRT of 17 days each) for domestic wastewater treatment. The system was operated with a flow of 200 L/day, organic load of 2,5 g COD.m<sup>-2</sup>.d<sup>-1</sup> and monitored over 12 months by physical-chemical parameters: dissolved oxygen, pH, temperature, all nitrogen forms, solids, total phosphorus, chemical oxygen demand, biological oxygen demand, dissolved organic carbon and turbidity. Microbiological evaluation was made using the plankton counts and molecular biology techniques for the identification and quantification of bacterial groups: fluorescence in situ hybridization and genetic sequencing. Also, it evaluated the growth rate of the biomass macrophytes. As a result, there was an average removal efficiency of nutrients TN = 91% and TP = 93%, and organic matter BOD = 86%, producing an effluent with concentrations of 5.3, 0.5 and 10.5 mg.L<sup>-1</sup> for TN, TP and BOD, respectively. Zooplankton analyzes revealed a high density of microcrustaceans (Ostracod, Cladoceran and Copepod) reaching approximately 30,000 ind.L<sup>-1</sup>, and these organisms had an important role in reducing turbidity and suspended solids. Genetic sequencing revealed a high diversity of bacterial genera, including pathogenic, nitrifying, denitrifying and nitrogen fixing organisms, averaging 9.2%, 0.9%, 33.7% and 16.7%, respectively. It is concluded that the duckweed ponds under that conditions achieved a high nutrient removal efficiency framing the effluent in legislation. In addition, that organisms associated with macrophytes can play an important role in the system, with seasonal variations, especially in the removal of suspended solids, BOD and transformation of nutrients.

**Keywords:** Duckweed ponds, wastewater treatment, domestic swage, microbiota, molecular biology



## LISTA DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| Figura 1 – Diferentes gêneros de lemnas. a) Spirodela; b) Lemna; c) Wolffia; d) Wolffia; e) Landoltia. ....  | 32 |
| Figura 2 - Imagens de Landoltia punctata: 1) fronde; 2) raízes; 3) vista inferior da fronde; 4) fronde filha. ....   | 34 |
| Figura 3 - Representação de processos que ocorrem durante o tratamento de efluentes, em lagoas de lemnas. ....   | 40 |
| Figura 4 – Imagem do sistema de tratamento com lagoas de lemnas em escala piloto, onde: 1) Tanque de equalização; 2) Lagoa de Lemnas 1; 3) Lagoa de Lemnas 2. ....   | 49 |
| Figura 5 - Representação esquemática do sistema de tratamento experimental. T1 – Tanque de Estocagem 1; T2 – Tanque de Estocagem 2; TE – Tanque de Equalização; L1- Lagoa de lemnas 1; L2- Lagoa de lemnas 2. Pontos de coleta: EL1 – Entrada da Lagoa de Lemnas 1; SL1 – Saída da Lagoa de Lemnas 1; SL2 – Saída da Lagoa de Lemnas 2. .... | 51 |
| Figura 6 - Representação esquemática dos pontos de coleta em 3 profundidades nas lagoas de lemnas. ....  | 53 |
| Figura 7 – Amostragem da biomassa por m <sup>2</sup> . ....  | 57 |
| Figura 8 - 1) Biomassa retirada; 2) Estufa de secagem; ....  | 57 |
| Figura 9 – Pontos de coleta para a avaliação da microbiota nas Lagoas de Lemnas. ....  | 58 |
| Figura 10 – Pontos de coleta para a aplicação do FISH nas Lagoas de Lemnas. ....   | 60 |
| Figura 11 – Predação por insetos em Lagoas de Lemnas. ....   | 65 |
| Figura 12 - Representação gráfica do pH em função do tempo. SL1- Saída da lagoa 1; SL2- Saída da lagoa 2. ....   | 69 |
| Figura 13 - Representação gráfica da temperatura em função do tempo. SL1-Saída da lagoa 1; SL2- Saída da lagoa 2. ....   | 70 |
| Figura 14 - Representação gráfica do oxigênio dissolvido (OD) em função do tempo. SL1-Saída da lagoa 1; SL2- Saída da lagoa 2. ..  | 71 |
| Figura 15 - Representação gráfica da concentração de DQO no tempo. EL1- Entrada da lagoa 1; SL1-Saída da lagoa 1; SL2- Saída da lagoa 2. retirar quadro das bordas do gráfico. ....  | 73 |
| Figura 16 - Representação gráfica da concentração de DBO no tempo. EL1- Entrada da lagoa 1; SL1-Saída da lagoa 1; SL2- Saída da lagoa 2. ....  | 74 |
| Figura 17 - Representação gráfica da concentração de COD no tempo. EL1- Entrada da lagoa 1; SL1-Saída da lagoa 1; SL2- Saída da lagoa 2. ....  | 75 |

|  |    |
|--|----|
| Figura 18 - Representação gráfica da concentração de Sólidos Suspensos Totais (SST) no tempo. EL1- Entrada da lagoa 1; SL1-Saída da lagoa 1; SL2- Saída da lagoa 2. ....   | 76 |
| Figura 19 - Representação gráfica da concentração de N-NH <sub>3</sub> no tempo. EL1- Entrada da lagoa 1; SL1-Saída da lagoa 1; SL2- Saída da lagoa 2.....   | 78 |
| Figura 20 - Representação gráfica da concentração de NT no tempo. EL1- Entrada da lagoa 1; SL1-Saída da lagoa 1; SL2- Saída da lagoa 2.....  | 79 |
| Figura 21 - Representação gráfica da concentração de N-NO <sub>x</sub> (N-NO <sub>2</sub> + N-NO <sub>3</sub> ) no tempo. EL1- Entrada da lagoa 1; SL1-Saída da lagoa 1; SL2- Saída da lagoa 2. ....   | 80 |
| Figura 22 - Representação gráfica da concentração de PT no tempo. EL1- Entrada da lagoa 1; SL1-Saída da lagoa 1; SL2- Saída da lagoa 2.....  | 81 |
| Figura 23 - Representação gráfica da concentração de P-PO <sub>4</sub> no tempo. EL1- Entrada da lagoa 1; SL1-Saída da lagoa 1; SL2- Saída da lagoa 2.....   | 82 |
| Figura 24 - Redução de coliformes totais e E. coli nas lagoas de lemnas, sazonalmente. Valores representados por média geométrica.....   | 83 |
| Figura 25 – Análise de Componentes Principais. Apresentação do círculo de correlações entre as variáveis obtidas dos parâmetros avaliados nas lagoas de lemnas L1 e L2. ....   | 89 |
| Figura 26 – a) Ostracoda; b) Cladocera (Alona sp); c) Copepoda (Cyclops sp); d) Rotifera (Lepadella sp); e) Rotifera (Lecane sp); f) Cladocera (Moina sp); g) Paramecium sp; h) Náuplio (Estágio Larval ND*); i) Rotifera (Familia Philodinidae). .... | 90 |
| Figura 27 – Representação gráfica da abundância relativa de zooplâncton na rizosfera da L1. ....   | 92 |
| Figura 28 – Representação gráfica da abundância relativa de zooplâncton na rizosfera da L2. ....   | 93 |
| Figura 29 - Concentração total de organismos zooplanctônicos na rizosfera. ....  | 94 |
| Figura 30 – Representação gráfica da abundância relativa de zooplâncton no meio da coluna d'água da L1.....  | 95 |
| Figura 31 – Representação gráfica da abundância relativa de zooplâncton no meio da coluna d'água da L2.....  | 96 |
| Figura 32 - Abundância relativa de organismos zooplanctônicos no meio da coluna d'água. ....   | 96 |
| Figura 33 – Análise de Componentes Principais. Apresentação do círculo de correlações entre as variáveis obtidas dos parâmetros  |    |

|   |     |
|---|-----|
| avaliados na Rizosfera das lemnas - L1 e L2. ....   | 99  |
| Figura 34 – a) <i>Vorticella</i> sp fixadas nas raízes de lemnas; b) e c) formação de biofilme bacteriano na L1; d) formação de biofilme bacteriano com influência de algas presentes na L2, todos vistos em microscópio óptico (aumento 100x)..... | 100 |
| Figura 35 – Representação gráfica da presença de biofilme na rizosfera das lemnas em L1 e L2. ....  | 101 |
| Figura 36 – <i>Oscillatoria</i> sp nas raízes de lemnas da L2 vista em microscópio óptico (aumento 100X).....   | 102 |
| Figura 37 - Células hibridizadas pela sonda NIT visualizadas em microscópio epifluorescente (Aumento 1000x). DAPI em azul (A) e hibridização em vermelho (B).....   | 103 |
| Figura 38 - Células hibridizadas pela sonda PAE visualizadas em microscópio epifluorescente (Aumento 1000x). DAPI em azul (A) e hibridização em vermelho (B).....   | 104 |
| Figura 39 – Número total de seqüências encontradas no sequenciamento de DNA. LL1: Lodo da L1; RL1: Rizosfera da L1; LL2: Lodo da L 2; RL2: Rizosfera da L2.....   | 105 |
| Figura 40 - Porcentagens em nível de gênero das bactérias identificadas. LL1: Lodo da L1; RL1: Rizosfera da L1; LL2: Lodo da L 2; RL2: Rizosfera da L2. ....  | 106 |
| Figura 41 - Porcentagem de organismos nitrificantes em relação ao total de bactérias. RL1: Rizosfera da L1; LL1: Lodo da L1; RL2: Rizosfera da L2; LL2: Lodo da L2. ....  | 107 |
| Figura 42 - Porcentagem de organismos desnitrificantes em relação ao total de bactérias. RL1: Rizosfera da L1; LL1: Lodo da L1; RL2: Rizosfera da L2; LL2: Lodo da L2. ....   | 108 |
| Figura 43 - Porcentagem de fixadoras de nitrogênio em relação ao total de bactérias. RL1: Rizosfera da L1; LL1: Lodo da L1; RL2: Rizosfera da L2; LL2: Lodo da L2. ....   | 109 |
| Figura 44 - Porcentagem de bactérias patogênicas em relação ao total de bactérias. RL1: Rizosfera da L1; LL1: Lodo da L1; RL2: Rizosfera da L2; LL2: Lodo da L2.....  | 110 |
| Figura A2.1 - Representação gráfica da concentração de sólidos suspensos fixos (SSF) no tempo. EL1- Entrada da lagoa 1; SL1- Saída da lagoa 1; SL2- Saída da lagoa 2. ....  | 131 |
| Figura A2.2 - Representação gráfica da concentração de sólidos suspensos voláteis (SST) no tempo. EL1- Entrada da lagoa 1; SL1- Saída da lagoa 1; SL2- Saída da lagoa 2. ....   | 131 |





## LISTA DE TABELAS E QUADROS

|  |     |
|--|-----|
| Tabela 1 - Tempo de detenção hidráulica e profundidade de sistemas de tratamento com lagoas de lemnáceas encontradas em diferentes estudos.....                    | 47  |
| Tabela 2 – Parâmetros, metodologia e frequência de análises. ....  | 55  |
| Tabela 3 – Descrição das sondas utilizadas nas análises das amostras das lagoas de lemnas. ....  | 61  |
| Tabela 4 – Valores médios, desvio padrão e eficiência de remoção dos parâmetros avaliados, em todas as etapas do sistema de tratamento. ....                       | 67  |
| Tabela 5– Cargas aplicadas nas Lagoas de Lemnas por estação do ano. ....   | 68  |
| Tabela 6: Comportamento das variáveis em relação a profundidade das lagoas na primavera (Teste de Tukey). ....   | 85  |
| Tabela 7 – Taxas de crescimento específico e taxas de crescimento superficial das lagoas de lemnas durante o ano. Valores representados por média geométrica. .... | 86  |
| Tabela 8 – Tempo de permanência médio (TP) da biomassa nas lagoas de lemnas durante o ano. Valores representados por média geométrica. ....                        | 86  |
| Tabela 9 – Autovalores e percentuais das variâncias resultantes da análise da L1. ....   | 87  |
| Tabela 10 – Coeficientes de correlação entre variáveis e os fatores artificiais para a L1. ....  | 87  |
| Tabela 11 – Autovalores e percentuais das variâncias resultantes da análise da L2. ....  | 88  |
| Tabela 12 – Coeficientes de correlação entre variáveis e os fatores artificiais para a L1. ....  | 88  |
| Tabela 13 – Autovalores e percentuais das variâncias resultantes da análise da L1. ....  | 97  |
| Tabela 14 – Coeficientes de correlação entre variáveis e os fatores artificiais para a L1. ....  | 97  |
| Tabela 15 – Autovalores e percentuais das variâncias resultantes da análise da L2. ....  | 98  |
| Tabela 16 – Coeficientes de correlação entre variáveis e os fatores artificiais para a L2. ....  | 98  |
| Quadro 1 - Presença de bactérias referentes às sondas utilizadas. LL1: Lodo da L1; RL1: Rizosfera da L1; LL2: Lodo da L2; RL2: Rizosfera da L2. ....               | 103 |
| Tabela A1.1 – Valores médios, desvio padrão e eficiência de remoção  |     |

## XVIII

|   |     |
|---|-----|
| dos parâmetros avaliados, em todas as etapas do sistema de tratamento durante a primavera. ....   | 127 |
| Tabela A1.2 - Valores médios, desvio padrão e eficiência de remoção dos parâmetros avaliados, em todas as etapas do sistema de tratamento durante o verão. ....   | 128 |
| Tabela A1.3 - Valores médios, desvio padrão e eficiência de remoção dos parâmetros avaliados, em todas as etapas do sistema de tratamento durante o outono. ....  | 129 |
| Tabela A1.4 - Valores médios, desvio padrão e eficiência de remoção dos parâmetros avaliados, em todas as etapas do sistema de tratamento durante o inverno. .... | 130 |
| Tabela A3.1: Comportamento das variáveis em relação a profundidade da L1 sazonalmente (Teste de Tukey). ....  | 132 |
| Tabela A3.2: Comportamento das variáveis em relação ao comprimento da L1 sazonalmente (Teste de Tukey). ....  | 133 |
| Tabela A3.3: Comportamento das variáveis em relação a profundidade da L2 sazonalmente (Teste de Tukey). ....  | 134 |
| Tabela A3.4: Comportamento das variáveis em relação ao comprimento da L2 sazonalmente (Teste de Tukey). ....  | 135 |

**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

ACP – Análise de Componentes Principais  
EL1 – Entrada da lagoa 1  
ENS – Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental  
FISH – Hibridização Fluorescente em *situ*  
L1 – Lagoa de Lemnas 1  
L2 – Lagoa de Lemnas 2  
LL1 – Lodo da Lagoa de Lemnas 1  
LL2 – Lodo da Lagoa de Lemnas 2  
LABEFLU – Laboratório de Efluentes Líquidos e Gasosos  
LAMEB - Laboratório Multiusuário de Estudos em Biologia  
LARESO – Laboratório de Resíduos Sólidos  
LIMA – Laboratório Integrado de Meio Ambiente  
RL1 – Rizosfera da Lagoa de Lemnas 1  
RL2 – Rizosfera da Lagoa de Lemnas 2  
SL1 – Saída da Lagoa de Lemnas 1  
SL2 – Saída da Lagoa de Lemnas 2  
SST – Sólidos suspensos totais  
SSF – Sólidos suspensos fixos  
SSV – Sólidos suspensos voláteis  
TCE – Taxa de crescimento específico  
TCR – Taxa de crescimento relativo  
TDH – Tempo de detenção Hidráulica  
TE – Tanque de equalização  
T1 – Tanque de estocagem 1  
T2 – Tanque de estocagem 2  
UASB - Upflow Anaerobic Sludge Blanket (Reator Anaeróbio Fluxo Ascendente)



## SUMÁRIO

|  |           |
|--|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO.....</b>   | <b>23</b> |
| <b>2 OBJETIVOS.....</b>  | <b>27</b> |
| 2.1 OBJETIVO GERAL .....   | 27        |
| 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....  | 27        |
| <b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>   | <b>29</b> |
| 3.1 PROBLEMÁTICA.....  | 29        |
| 3.2 AS LEMNAS .....  | 31        |
| <b>3.2.1 Aspectos gerais .....</b>   | <b>31</b> |
| <b>3.2.2 Descrição da espécie utilizada.....</b>   | <b>33</b> |
| 3.3 LAGOAS DE LEMNAS COMO TECNOLOGIA PARA O<br>TRATAMENTO DE EFLUENTES.....              | 35        |
| <b>3.3.1 Remoção de matéria orgânica e de patógenos.....</b>                             | <b>36</b> |
| <b>3.3.2 Mecanismos de remoção de N e P.....</b>   | <b>39</b> |
| <b>3.3.3 Microbiota associada às lemnas.....</b>   | <b>42</b> |
| 3.4 USOS DA BIOMASSA DE LEMNAS .....   | 44        |
| 3.5 DIMENSIONAMENTO E OPERAÇÃO DE LAGOAS DE<br>LEMNAS .....                              | 45        |
| <b>4 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>   | <b>49</b> |
| 4.1 DESCRIÇÃO DAS UNIDADES PILOTO.....   | 49        |
| 4.2 DIMENSIONAMENTO DE CARGA DE NITROGÊNIO<br>AMONÍACAL .....                            | 51        |
| 4.3 PERÍODO DE ADAPTAÇÃO DO SISTEMA.....   | 51        |
| 4.4 PARTIDA E OPERAÇÃO DO SISTEMA PILOTO.....  | 52        |
| 4.5 MONITORAMENTO DO SISTEMA PILOTO .....  | 52        |
| <b>4.5.1 Avaliação dos parâmetros físicos, químicos e biológicos....</b>                 | <b>53</b> |
| <b>4.5.2 Avaliação da biomassa de lemnas.....</b>  | <b>56</b> |
| <b>4.5.3 Identificação e Avaliação da comunidade microbiológica. 58</b>                  |           |
| 4.6 TRATAMENTO DOS DADOS.....  | 62        |
| <b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>  | <b>65</b> |
| 5.1 PERÍODO DE ADAPTAÇÃO DO SISTEMA.....   | 65        |
| 5.2 DESEMPENHO DO SISTEMA DE LAGOAS NO<br>TRATAMENTO TERCIÁRIO DE ESGOTO DOMÉSTICO ..... | 66        |
| <b>5.2.1 pH.....</b>   | <b>68</b> |
| <b>5.2.2 Temperatura .....</b>   | <b>69</b> |
| <b>5.2.3 Oxigênio Dissolvido (OD).....</b>   | <b>70</b> |

|       |   |     |
|-------|---|-----|
| 5.2.4 | Remoção de Matéria Orgânica.....              | 71  |
| 5.2.5 | Remoção de Sólidos .....                      | 75  |
| 5.2.6 | Remoção de Nutrientes .....                   | 76  |
| 5.2.7 | Remoção de Coliformes Totais e Fecais.....    | 82  |
| 5.3   | ESTRATIFICAÇÃO E HOMOGENEIDADE DAS LAGOAS ... | 83  |
| 5.4   | AVALIAÇÃO DA BIOMASSA .....                   | 86  |
| 5.5   | AVALIAÇÃO DA MICROBIOTA.....                  | 90  |
| 6     | CONCLUSÕES.....                               | 111 |
|       | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....               | 115 |
|       | ANEXO 1.....                                  | 125 |
|       | APÊNDICE 1.....                               | 127 |
|       | APÊNDICE 2.....                               | 131 |
|       | APÊNDICE 3.....                               | 132 |

## 1 INTRODUÇÃO

A preocupação com a disponibilidade de água em quantidade e qualidade suficiente para suprir a demanda de seus múltiplos usos é um tema crescente no Brasil e no mundo. O aumento da população e a conseqüente industrialização das cidades geraram um acréscimo no consumo de água e na poluição dos rios, lagos e reservatórios, causada principalmente pelos efluentes domésticos e industriais ali despejados. O que torna a escassez de água de qualidade uma realidade a ser discutida por todos.

Segundo a ANA (Agência Nacional de Águas) (2015), a compreensão da crise hídrica que se apresenta atualmente, a valorização dos recursos hídricos, como bem público finito, e a conscientização da necessidade de uso mais racional e sustentável da água são essenciais para que se tenha maior garantia da oferta hídrica para os usos múltiplos. Para isso, é necessário apoiar e aprimorar técnicas de reuso da água, reduzir o desperdício pelos diferentes setores usuários (na irrigação, na indústria, na distribuição e no consumo residencial, por exemplo), além de aplicar ações de conservação de mananciais (ANA, 2015).

O tratamento e o reuso das águas residuais são uma das soluções-chave para enfrentar a crise, pois, infelizmente, cerca de 90% das águas residuárias de países em desenvolvimento fluem sem tratamento até os rios, lagos e zonas costeiras (ONU, 2015). Segundo especialistas do Banco Mundial (BIRD), na América Latina, três quartos da água fecal ou residual volta para os rios e outras fontes hídricas, criando um sério problema de saúde pública e para o meio ambiente (ONU, 2015).

Para um maior controle da qualidade da água, leis e políticas públicas foram criadas, como a Lei 9.433/97, que institui a Política Nacional de Recursos Hídricos e regulamenta os usos múltiplos das águas em nosso país (BRASIL, 1997), e a Resolução nº 430/2011 do Conselho Nacional do Meio Ambiente que dispõe sobre as condições e padrões de lançamentos de efluentes para o meio ambiente. Assim, as indústrias e o poder público desempenham um papel importantíssimo na conservação da qualidade da água e preservação do meio ambiente. Esse papel pode ser realizado, em parte, com o tratamento adequado de seus efluentes.

O esgoto doméstico pode apresentar elevadas concentrações de nutrientes, como nitrogênio e fósforo, além da contaminação fecal, por agentes patogênicos, mesmo após o tratamento. Quando os nutrientes são lançados nos ecossistemas aquáticos podem induzir o processo de eutrofização causando diversos danos aos corpos receptores, conforme enumeram Mota e Von Sperling (2009): problemas estéticos e

recreacionais; condições anaeróbias no fundo do corpo d'água; eventuais condições anaeróbias no corpo d'água como um todo; eventuais mortandades de peixes; maior dificuldade e elevação nos custos de tratamento da água; problemas com o abastecimento de águas industrial; toxicidade das algas; modificações na qualidade e quantidade de peixes de valor comercial; redução na navegação e capacidade de transporte. Além disso, a amônia pode causar problemas de toxicidade aos peixes e implicar em consumo de oxigênio dissolvido (ARANA, 1997).

Alguns sistemas convencionais de tratamento dos esgotos sanitários, como o sistema de lodos ativados exigem etapas específicas ou controladas para a remoção de nutrientes, tornando-se uma tarefa onerosa, sendo propício para regiões onde a disponibilidade de área é limitada. No entanto, estes sistemas demandam uma elevada mecanização, implicando em uma operação mais sofisticada, alto consumo de energia elétrica para aeração e maior produção de lodo (VON SPERLING, 2001). Por outro lado, mesmo com a complexidade e a tecnologia empregada nesses sistemas, a remoção de nutrientes a níveis satisfatórios não é garantida, sendo que em muitos casos o efluente apresenta elevadas concentrações de nitratos e fosfatos.

Como alternativa para efetivar a remoção de nutrientes dos esgotos domésticos está o uso de lagoas de tratamento com macrófitas aquáticas. Estes sistemas têm sido propostos e utilizados no tratamento terciário de águas residuárias, tais como as domésticas, industriais e de suinocultura, como exemplo, Tavares *et al.* (2008) avaliaram o desempenho da *Lemna valdiviana* no tratamento terciário de efluentes de suinocultura. Este tipo de configuração de lagoas de estabilização é caracterizado pela presença de uma espécie de planta aquática que cobre totalmente a superfície da lagoa trazendo benefícios como: a redução de algas, a absorção direta dos nutrientes, a redução de odores e superfície para fixação de biofilme, entre outros.

A escolha da espécie vegetal é, junto a outras variáveis de dimensionamento, de fundamental importância para o sucesso do tratamento (MATOS *et al.*, 2010). Dentre as espécies já avaliadas, como os aguapés (*Eichornia spp*), as lemnáceas se destacam pela produção de uma biomassa passível de valorização.

As lagoas que utilizam macrófitas lemnáceas para o tratamento de efluentes domésticos têm sido aplicadas com sucesso em diversos países, como Brasil, China, EUA e Índia (BRUGNAGO, 2014; ZHAO, 2015; CROSS, 2006; IQBAL, 1999). É uma tecnologia promissora, visto que alia a eficiência para o polimento de efluentes com o baixo custo e simplicidade operacional do sistema, sendo assim, se enquadra no



contexto das Tecnologias Sociais.

Segundo Caicedo *et al.* (2000), as macrófitas podem ser aplicadas na superfície de lagoas de estabilização contribuindo para a recuperação de nutrientes a partir das águas residuárias. As espécies de lemnas mostram algumas características que tornam esses sistemas atrativos, como a sua rápida multiplicação e seu elevado teor proteico, aliado com seu pequeno tamanho, tornando o manejo da biomassa mais fácil de ser realizado, sendo assim, um potencial importante para valorização de recursos. Contudo, a aplicação desta tecnologia no Brasil ainda carece de muitos estudos para elucidar diversos parâmetros de operação e controle dos sistemas.

Neste contexto, o Laboratório de Efluentes Líquidos e Gasosos (LABEFLU) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) vêm desenvolvendo pesquisas sobre esta tecnologia há mais de 15 anos, os quais abrangem o tratamento de efluentes agroindustriais e domésticos, com pesquisas em sistemas pilotos e em escala real. (MOHEDANO 2004 e 2010; BACH, 2013; VIEIRA, 2013; BARÃO, 2014; BRUGNAGO, 2014).

O presente trabalho dá continuidade aos trabalhos anteriormente realizados pelo LABEFLU, com a finalidade de avaliar o potencial de lagoas de lemnas – utilizando a espécie *Landoltia punctata* – no polimento de esgoto doméstico, avaliando as eficiências de remoção dos nutrientes e a microbiota presente nas lagoas.



## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a dinâmica da microbiota em lagoas de lemnas utilizadas para o polimento de esgoto doméstico e a sua influência sobre a eficiência do sistema.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o sistema de lagoas de tratamento na remoção da matéria orgânica e nutrientes (N, P) de esgoto doméstico.
- Avaliar a distribuição dos nutrientes (N, P) em perfis horizontais e verticais no interior das lagoas.
- Conhecer a dinâmica sazonal das comunidades zooplanctônicas e bacterianas nas lagoas de lemnas e sua influência na eficiência do tratamento.
- Avaliar a produtividade de biomassa de lemnas, para subsidiar o manejo de remoção.



### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 PROBLEMÁTICA

A necessidade de conservação dos recursos hídricos fica clara quando se destaca que, apenas 2,5% da água no mundo são consumíveis e se encontram nos rios, lagoas, montanhas com neve, entre outros lugares de difícil acesso. À medida que a demanda por água cresce, as cidades se veem obrigadas a depender das fontes que se encontram mais distantes e cujo aproveitamento é mais caro (ONU, 2015).

Nesse sentido, a poluição das águas de superfície e subterrâneas é um grande problema ambiental que vem ganhando destaque devido à escassez de água de qualidade do planeta. Os baixos índices de coleta e tratamento de esgotos contribuem para o agravamento dos problemas relacionados com a incidência de doenças de veiculação hídrica e ainda compromete a qualidade das águas superficiais, podendo inviabilizar o uso dos recursos hídricos (ANA, 2013).

O Brasil sofre com a falta de saneamento básico, e a falta de tratamento adequado para os esgotos sanitários ainda é um grande desafio para o país. Segundo o Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento (SNIS, 2014), 48,6% da população têm acesso à coleta de esgoto, e apenas 39% dos esgotos do país são tratados. Do volume total de esgotos tratados por dia no Brasil, apenas 10% passam por tratamento terciário (ANA, 2013).

Baseado na escassez da água versus aumento da demanda, atualmente existe a procura por tecnologias economicamente viáveis e de grande eficiência na remoção de nutrientes, matéria orgânica e patógenos dos efluentes. Assim, as estações de tratamento de esgotos se transformaram em uma peça importante para a solução do problema.

Com o objetivo de amenizar esse tipo de poluição, o poder público legislativo sancionou algumas normatizações, como as resoluções CONAMA 357/05 e 430/2011 que estabelecem os padrões de lançamento de efluentes e de qualidade dos corpos hídricos, visando à conservação da qualidade dos recursos hídricos existentes.

A maioria das tecnologias de tratamento já consolidadas busca a remoção de matéria orgânica e agentes patogênicos do efluente, porém, tecnologias alternativas para o polimento do efluente são necessárias, visto que o excesso de nutrientes implica na eutrofização do corpo receptor, reduzindo a concentração de oxigênio e podendo levar a morte de organismos aquáticos, (VON SPERLING, 2005).

Sistemas como reator UASB seguido de lodos ativados são

comumente utilizados para o tratamento de efluentes no Brasil. São sistemas que podem apresentar um bom desempenho e demandam pouca disponibilidade de área, porém demandam uma grande quantidade de energia (devido à aeração) e elevada complexidade operacional (VON SPERLING, 2001). Sistemas como lodos ativados não permitem a reutilização dos recursos de nutrientes contidos nas águas residuais, parte desses nutrientes fica retida no lodo, e parte se transforma em gás (ZHAO *et al.*, 2014b). Com isso, tecnologias alternativas para a remoção de nutrientes de efluentes domésticos tendem a ser cada vez mais estudadas.

A eutrofização é o enriquecimento do meio aquático com nutrientes, causando o crescimento de algas e plantas aquáticas, que podem atingir níveis tais que sejam causadores de interferências aos usos desejáveis do corpo d'água. Normalmente, o maior fator de preocupação é o crescimento das algas, pois sua toxicidade implica na rejeição da água para abastecimento humano e animal, em razão da presença de secreções tóxicas de cianobactérias (cianotoxinas) (MOTA e VON SPERLING, 2009). As principais fontes de nutrientes em corpos d'água estão associadas à drenagem pluvial urbana e ao lançamento de esgoto. Neste contexto, os sistemas de tratamento secundários e terciários têm sido avaliados e aprimorados para cumprir a função de remoção de nutrientes.

Tecnologias a base de plantas, conhecidas como fitorremediação, são opções promissoras para a remoção do excesso de nutrientes de águas naturais ou efluentes. Plantas aquáticas capazes de recuperar ou extrair nutrientes ou poluentes, que têm uma elevada taxa de crescimento juntamente com alto valor nutritivo são excelentes candidatos para fitorremediação de águas residuais (ANSAL *et al.* 2010). Nesse contexto, as lagoas de lemnas apresentam-se como uma tecnologia alternativa e promissora para a remoção de nutrientes aliado à produção de biomassa passível de valorização, e com baixo custo de implantação e manutenção (CAICEDO, 2005; MOHEDANO, 2010).

Tendo em vista a produção e valorização da biomassa de lemnas rica em proteínas, diversos trabalhos têm apresentado a utilização potencial dessa biomassa como ração para animais, principalmente peixes (IQBAL, 1999, MOHEDANO, 2010; ANSAL *et al.*, 2010; SHAMMOUT *et al.*, 2015). Além disso, a lemna é considerada como fonte de bioenergia potencial para a produção de bioetanol devido à sua excelente capacidade de crescimento e acúmulo de amido (CHENG *et al.*, 2009; XU *et al.*, 2011).

As lagoas de lemnas aliadas a um pré-tratamento anaeróbio podem ser uma combinação viável para a remoção de matéria orgânica e nutrientes do efluente. A principal forma de nitrogênio no efluente

anaeróbico é de amônia, que é a fonte preferida das lemnas. Considerando que em certos níveis a amônia pode se tornar inibidora do crescimento da planta (CAICEDO *et al.*, 2000), uma combinação adequada de diferentes tecnologias em um sistema integrado pode converter um tratamento das águas residuais num atraente sistema sustentável (CAICEDO, 2005).

## 3.2 AS LEMNAS

### 3.2.1 Aspectos gerais

O termo “Lemna” se refere a um gênero de plantas aquáticas da subfamília Lemnoideae. Contudo, utiliza-se o termo lemna como um nome popular difundido por pesquisadores brasileiros, o qual será utilizado no decorrer do presente trabalho, desconsiderando regras de nomenclatura científica. Ou seja, o termo “lemna”, grafado com a primeira letra minúscula, é um termo que designa todas as espécies da subfamília Lemniodeae.

As lemnas são plantas aquáticas de livre flutuação caracterizadas por um crescimento rápido e contínuo que pode cobrir completamente a superfície de água formando uma camada verde espessa (SHAMMOUT *et al.*, 2015). Elas são uma das menores plantas no mundo e de mais rápido crescimento, frequentemente dobrando sua biomassa em condições ótimas em dois dias ou menos (CULLEY *et al.*, 1981).

As lemnas estão entre as menores e mais simples Angiospermas, sendo frequentemente confundidas com algas (SKILLICORN *et al.*, 1993), elas possuem frondes (fusão da folha e caule em uma única estrutura) com alguns milímetros de diâmetro e raízes em torno de 1 cm. A principal forma de reprodução do grupo é assexuada, ou seja, cada planta mãe é capaz de gerar diversas outras plantas por brotamento. (LENG, 1999).

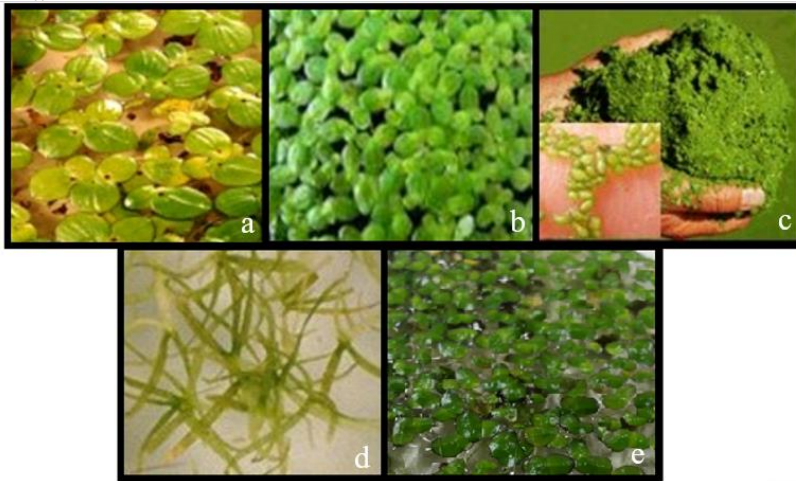
Na cadeia trófica, as lemnas possuem um importante papel como produtoras primárias, pois são capazes de fixar o carbono atmosférico e dissolvido, produzindo uma biomassa de excelente qualidade nutricional (ORON, 1994). Conforme Mohedano (2010) destaca, muitos peixes, aves, anfíbios, crustáceos, insetos e moluscos se alimentam de lemnas, outro papel importante que elas exercem é na autodepuração dos corpos hídricos removendo com eficiência o nitrogênio amoniacal e fosfatos. A rizosfera (conjunto de raízes) das lemnas cria um ambiente de refúgio para diversos microrganismos e aumentam a superfície para fixação de biofilme (IQBAL, 1999).

As lemnas compõem uma ampla cobertura vegetal ocasionando

um sombreamento na lagoa, que atua dificultando a penetração da luz na coluna d'água e impedindo o desenvolvimento de algas (SKILLICORN *et al.*, 1993). Com isso, as lagoas de lemnas são caracterizadas pela baixa quantidade de sólidos em suspensão, baixa turbidez e estabilidade nos níveis de oxigênio (MOHEDANO, 2010).

A maioria das espécies de lemnas são encontradas em climas moderados de zonas tropicais e subtropicais, amplamente distribuídas pelo planeta, a faixa de temperatura ótima para o seu crescimento encontra-se entre 25°C e 31°C e a temperatura mínima é de 7°C, se desenvolvem em locais protegidos de ventos fortes e sem correntezas, em águas doces e salobras (até 4g.L<sup>-1</sup>), ricas em nutrientes (IQBAL, 1999). Na figura 1 têm-se fotos de 5 gêneros pertencentes a subfamília Lemnoideae.

Figura 1 – Diferentes gêneros de lemnas. a) *Spirodela*; b) *Lemna*; c) *Wolffia*; d) *Wolffiella*; e) *Landoltia*.



Fonte: Adaptado de ANSAL *et al.* (2010).

Segundo Iqbal (1999), as lemnas podem apresentar a maior taxa de crescimento entre os vegetais superiores, quando desenvolvidas em condições ideais, são exigentes principalmente em fontes de nitrogênio e fósforo (5:1), os nutrientes fixados pelas lemnas são transformados em proteínas, e esse conteúdo de proteína na biomassa seca pode ser muito alto (25-45%) (GIJZEN, 2001; LANDOLT *et al.*, 1987; SKILLICORN *et al.*, 1993). As experiências relatadas até agora sugerem que esta tecnologia é uma grande promessa pelo baixo custo de tratamento de



águas residuais, especialmente quando aplicado em combinação com a produção de peixe ou outras aplicações de ração animal (GIJZEN, 2001).

Conforme Caicedo (2005) descreve, o crescimento das lemnas é inibido pela alta densidade de plantas, o que reduz a fotossíntese e, conseqüentemente, afeta seu rendimento. No entanto, a luz pode penetrar na coluna de água se a densidade torna-se muito baixa e as algas crescem, competindo com as lemnas por nutrientes. As algas podem liberar substâncias inibidoras para as lemnas dentro da água, e algumas espécies crescem em torno das raízes e sobre as folhas, causando deterioração e, finalmente, a morte das frondes. Por esses motivos, a densidade deve ser mantida em níveis ótimos, realizando a coleta da biomassa frequentemente.

### 3.2.2 Descrição da espécie utilizada

De acordo com Mohedano (2010), o grupo botânico de macrófitas aquáticas, conhecido como família Lemnaceae, tem sofrido mudanças em sua taxonomia devido aos avanços das técnicas de biologia molecular (análises de DNA). Muitos especialistas têm desconsiderado a família Lemnaceae como táxon, passando este grupo a ser uma sub-família (Lemnoideae) da família Araceae (APG III, 2015).

Les e Crawford (1999) descreveram, um novo gênero para a sub-família Lemnoideae: O gênero *Landoltia* (derivado de *Spirodela*), em homenagem a Elias Landolt, um dos maiores pesquisadores deste grupo vegetal. Pott (2000) destaca que o gênero *Landoltia* é muito parecido com a *Lemna*, pelo tamanho pequeno da fronde, porém se diferencia pelo número de raízes e pela cor avermelhada no interior da fronde. A classificação taxonômica da espécie utilizada encontra-se descrita abaixo:

Reino: Plantae

Divisão: Angiospermae

Classe: Monocotyledoneae

Ordem: Arales

Família: Araceae (Lemnaceae até 2000)

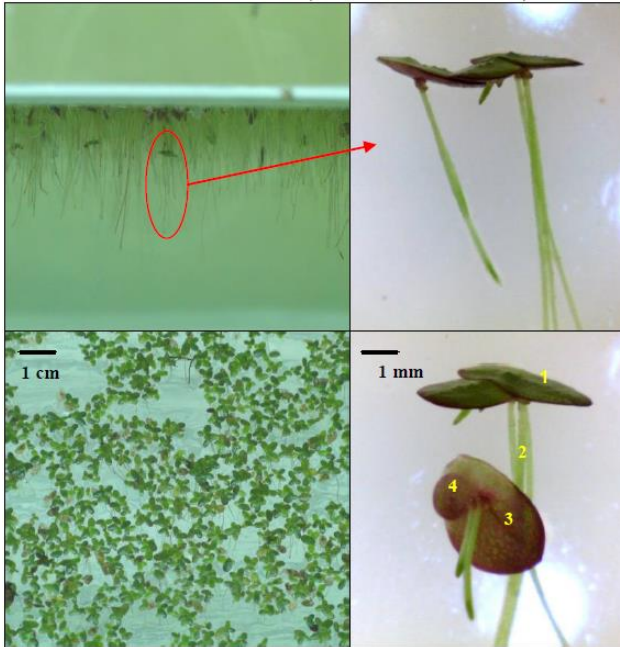
Sub-família: Lemnoideae

Gênero: *Landoltia*

Espécie: *Landoltia punctata*

A espécie *Landoltia punctata*, descrita por Les e Crawford (1999), é caracterizada por ter corpo achatado, verde-escuro na parte superior e vermelho-púrpura na parte inferior e células de pigmento marrom na epiderme, seu tamanho varia entre 3 e 5 mm. Na figura 2 está apresentada a espécie utilizada.

Figura 2 - Imagens de *Landoltia punctata*: 1) fronde; 2) raízes; 3) vista inferior da fronde; 4) fronde filha.



Fonte: adaptado de Mohedano (2010)

Estudos realizados por Zhao *et al.* (2014a) avaliaram a influência da temperatura e dos nutrientes no crescimento da espécie *Landoltia punctata*, e consideraram 25°C a temperatura ótima para o crescimento das lemnas, a taxa de crescimento também aumentou em concentrações mais elevadas de N e P quando comparada a *Lemna minor*. *Landoltia punctata* também apresentou um enriquecimento no teor de amido maior que *Spirodela polyrhiza* e *Lemna minor*, nessas condições. Mohedano (2010) obteve uma taxa de crescimento de 18 g.m<sup>-2</sup>.d<sup>-1</sup>, enquanto Cheng *et al.* (2002a) alcançaram 29 g.m<sup>-2</sup>.d<sup>-1</sup>.

A escolha da espécie *Landoltia punctata* se justifica para a presente pesquisa por ser facilmente encontrada na região litorânea de Santa Catarina (MOHEDANO, 2010) e por ter se destacado com sua grande eficiência na remoção de nutrientes. Esta espécie se destaca também pela alta produção de proteína como relatado na pesquisa de Bergmann *et al* (2000), que compararam 12 espécies diferentes de lemnas para o tratamento de dejetos suínos. E ainda apresentou boa resposta às variações

na carga orgânica aplicada no sistema de tratamento de esgoto sanitário, como demonstrado no estudo de Brugnago (2014).

Conforme investigação de campo realizada por Xiao *et al.* (2013), a taxa de crescimento de lemnas foi positivamente correlacionada com altos teores de N e P, e *Landoltia punctata* foi a mais adequada para acumulação de amido.

### 3.3 LAGOAS DE LEMNAS COMO TECNOLOGIA PARA O TRATAMENTO DE EFLUENTES

Os sistemas de tratamento naturais de águas residuais estão se tornando populares no mundo inteiro, pois sua construção não é considerada cara, e ainda são de fácil manutenção e operação. Alguns tipos como lagoas de estabilização, lagoas de aguapé e lagoas de lemnas têm sido amplamente utilizados para o tratamento secundário e terciário de águas residuárias em áreas onde a disponibilidade de terras não é uma restrição (KRISHNA *et al.*, 2008). O custo de implantação está relacionado com a necessidade de grandes áreas.

O potencial econômico de cada espécie de vegetal para o tratamento de águas residuárias depende, em grande parte, da sua eficiência em remover nutrientes sob uma ampla gama de condições ambientais, como o seu crescimento, a facilidade e custo da manutenção do sistema de tratamento, e a possível aplicação da biomassa vegetal (GIJZEN, 2001).

As lagoas de lemnas utilizadas no tratamento de efluentes domésticos exercem a função de conversão de nutrientes, como nitrogênio e fósforo, em uma rica biomassa vegetal, o que ganha grande destaque, pois esta tecnologia aborda o tratamento de efluentes e a geração de um valor agregado desta biomassa, que pode ser utilizada como fonte de energia ou alimento para alguns animais (SKILLICORN *et al.*, 1993).

As lemnas apresentam algumas vantagens que justificam o seu uso no tratamento de efluentes. Citando-se, como exemplos, o bom desenvolvimento em ambientes eutrofizados, tolerância à presença de sólidos suspensos, nitrogênio amoniacal e ainda às variações de pH. A barreira física que elas formam na superfície da lagoa faz com que a ação do vento seja reduzida, contribuindo com o processo de decantação, impedindo a reprodução de insetos e bloqueando a passagem da luz, consequentemente, evitando o crescimento de algas (IQBAL, 1999).

Essa tecnologia vem sendo explorada por vários pesquisadores nas últimas décadas, destacando seu elevado potencial em benefícios

ambientais e econômicos (ALAERTS *et al.*, 1996; KORNER *et al.*, 1998a; IQBAL, 1999; KRISHNA *et al.*, 2008; MOHEDANO *et al.*, 2012a; PRIYA *et al.*, 2012; ZHAO *et al.*, 2014a). Para o uso em escala real, essa prática tem sido aplicada na Índia e nos Estados Unidos (CROSS, 2006).

As lagoas de lemnas podem ser utilizadas para tratar efluentes industriais, visto que apresentam uma eficiente absorção de metais pesados e outros compostos tóxicos, contudo, é importante que a biomassa retirada nessas condições não seja reutilizada, devendo ser queimada ou depositada em aterros industriais (IQBAL, 1999).

De acordo com Mohedano (2010), os sistemas de tratamento com lagoas de lemnas necessitam ainda de estudos e pesquisas para o seu aperfeiçoamento, pois os mesmos apresentam reações complexas perante diversas variáveis, como:

- Variáveis climáticas: foto-período, temperatura, altitude, umidade relativa do ar, sazonalidade, pluviosidade;
- Variáveis do efluente: pH, salinidade, toxicidade, disponibilidade de macro e micronutrientes;
- Variáveis biológicas: espécie utilizada, competição com algas, herbivoria, interação com microrganismos;
- Variáveis de engenharia: tempo de detenção hidráulica, profundidade das lagoas, configurações do sistema, pré-tratamentos e dimensionamento de cargas.

Os sistemas podem ser projetados para operação em bateladas ou em fluxo contínuo. Para o projeto das lagoas um design tipo canal estreito é mais conveniente que lagoas mais amplas, para facilitar a retirada da biomassa. É importante ainda que elas fiquem em local de fácil acesso (IQBAL, 1999).

É de suma importância um cronograma de coleta da biomassa bem planejado para manter o crescimento vigoroso da lemna e, conseqüentemente, a remoção de nutrientes. Esse planejamento deve levar em conta a taxa de crescimento de lemnas, sabendo que geralmente os tempos de duplicação da biomassa variam de 2 a 3 dias (ANSAL *et al.*, 2010).

### **3.3.1 Remoção de matéria orgânica e de patógenos**

Além da remoção de nutrientes, as lemnas têm influência significativa na redução de sólidos suspensos totais (SST) e da demanda bioquímica de oxigênio (DBO) em águas residuárias (ANSAL *et al.*,

2010).

No caso de efluentes com alta carga de matéria orgânica e de nutrientes, as lagoas de lemnas requerem um tratamento primário adequado para reduzir estas cargas. O tratamento primário do esgoto bruto é essencial para a separação inicial de alguns dos agentes patogênicos, sólidos sedimentáveis e material flutuante, além de liberar o nitrogênio e fósforo de forma orgânica por meio da hidrólise microbiana, aumentando a disponibilidade de  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{o-PO}_4^{3-}$ , que são fatores importantes para o rápido crescimento das lemnas (IQBAL, 1999).

Nos sistemas de tratamento com lagoas de lemnas, a remoção de matéria orgânica ocorre principalmente pela ação de microrganismos que se diferenciam de acordo com as condições físicas e químicas do meio, sendo que os principais microrganismos atuantes nessa redução são as bactérias heterotróficas aeróbias e anaeróbias. Esses microrganismos ficam aderidos na superfície das plantas, suspensos na coluna d'água e presente nos sedimentos (CROSS, 2006). A cobertura vegetal influencia diretamente nas condições para o desenvolvimento desses microrganismos devido, principalmente, ao sombreamento e a superfície de fixação (MOHEDANO, 2010).

A remoção da DBO por processos aeróbios é mais rápida e depende do suprimento de  $\text{O}_2$  e da superfície disponível para a fixação de bactérias (MOHEDANO, 2010). Com isso, a baixa remoção de matéria orgânica tem sido relatada como uma das principais limitações para o uso desta tecnologia, pois as lagoas de lemnas apresentam baixas concentrações de oxigênio dissolvido na coluna d'água (CAICEDO, 2005).

Alguns autores ainda divergem sobre a concentração de oxigênio dissolvido em lagoas de lemnas, mas Mohedano *et al.* (2014) e Caicedo (2005) concordam que ocorre uma zona aeróbia próxima a superfície, pela atividade fotossintética, e no fundo predomina o ambiente anaeróbio, dependendo da profundidade da lagoa. As lagoas de lemnas também proporcionam a formação de um biofilme bacteriano aderido às raízes das macrófitas, que auxilia na remoção de matéria orgânica do efluente. Entretanto, Alaerts *et al.* (1996) relataram que a coluna de água permaneceu aeróbia, em um experimento com uma lagoa de 0,9 metros de profundidade, tempo de detenção hidráulica de 20 dias e carga aplicada de  $48\text{-}60 \text{ kg DBO}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ .

As lagoas de lemnas têm mostrado boa eficiência na remoção de matéria orgânica. Por exemplo, Mohedano (2004) relata uma redução de 91% de DQO (de 421 para  $38 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) no tratamento de efluente de piscicultura (TDH de 26 dias), utilizando *Lemna valdiviana*. Alaerts *et al.*

(1996) obtiveram de 89 a 90% na remoção de DQO, utilizando um tempo de detenção menor (20,4 dias). Já Awuah *et al.* (2001), em experimentos com efluente doméstico, demonstrou a redução de DBO de 130 mg.L<sup>-1</sup> para 7,5 mg.L<sup>-1</sup> em 29 dias, com o uso de *Lemna paucicostata*. Enquanto El-Shafai *et al.* (2007) destacam que os valores de eficiências das lagoas de lemnas podem diminuir no inverno.

A remoção de bactérias patogênicas em lagoas de estabilização é considerada um fenômeno complexo (EL-SHAFAI *et al.*, 2007). As principais variáveis que influenciam esse processo são a radiação UV, o tempo de detenção hidráulica e a temperatura. Já em sistemas de lagoas de lemnáceas, a remoção por radiação UV é pouco provável, pois nessas lagoas existe a cobertura na superfície formada pela biomassa, que impede a entrada de radiação solar (MOHEDANO, 2010; BRUGNAGO, 2014). Com isso, essa remoção pode ser menos efetiva devido a fatores como a menor penetração da luz solar, ausência de substâncias bactericidas produzidas pelas algas, menor concentração de oxigênio e ausência de condições extremamente alcalinas. O aumento do tempo de detenção nas lagoas pode melhorar o desempenho de remoção de patógenos (RANGEBY *et al.*, 1996).

Ansa *et al.* (2012) ressaltam que os mecanismos de remoção de coliformes fecais em sistemas de lagoas de tratamento com lemnas não estão claramente compreendidos, principalmente em relação a influência dos macroinvertebrados, que podem se alimentar dos coliformes adensos às macrófitas aquáticas ou aos materiais particulados em suspensão.

Com relação à temperatura, El-Shafai *et al.* (2007) afirmam que em sistemas com lemnáceas, a remoção de coliformes fecais aumenta para temperaturas mais altas, devido a alguns fatores: as lemnas absorvem maior quantidade de nutrientes, causando uma deficiência dos mesmos para outros organismos; a remoção periódica de lemnas pode remover os coliformes do sistema; as lemnas oferecem proteção aos coliformes, em busca de proteção do sol, as bactérias concentram-se nas plantas e no momento da coleta da biomassa, os coliformes são removidos do sistema. Awuah *et al.* (2001) relataram uma redução de 5 unidades log em um experimento realizado com lemnas, enquanto El-Shafai *et al.* (2007) obtiveram remoção de 5 unidades log atribuídas às lagoas de lemnas, porém essa remoção foi menor durante o período mais frio do ano. Brugnago (2014) relata remoção de 3 unidades log utilizando o mesmo sistema experimental do presente trabalho, com 2 lagoas de lemnas em série tratando efluente doméstico.

### 3.3.2 Mecanismos de remoção de N e P

As lemnas atuam na remoção de nutrientes de efluentes devido à sua rápida capacidade de crescimento, sendo eficientes no tratamento de efluentes pela absorção de nutrientes como nitratos, fosfatos, cálcio, sódio, potássio, magnésio, carbono e cloreto (ANSAL *et al.*, 2010). Os quais são permanentemente removidos do sistema quando as plantas são colhidas.

Tal como acontece com muitas outras plantas aquáticas, as lemnas crescem melhor em água com altos níveis de nutrientes, podendo sobreviver em um meio com  $240 \text{ mg NH}_3\text{.L}^{-1}$ , conforme demonstram Cheng *et al.* (2002a) utilizando *Landoltia punctata*. A eutrofização de um corpo de água pode produzir essas condições e promover o crescimento de lemnas.

As macrófitas lemnáceas são exigentes na absorção de nitrogênio devido ao rápido crescimento de suas populações (MOHEDANO, 2010). Assim, alguns autores como Korner *et al.* (1998b) citam que a remoção de nitrogênio nas lagoas de lemnas é devida, em até 50%, pela incorporação direta na biomassa. Compostos nitrogenados, como a amônia são reduzidos em sistemas com lemnáceas pelos seguintes processos: 1) absorção da amônia pelas lemnáceas; 2) sedimentação de sólidos suspensos com nitrogênio orgânico; 3) volatilização da amônia; 4) nitrificação e desnitrificação por microrganismos fixados na rizosfera (IQBAL, 1999). Segundo Skilliconr *et al.* (1993), a principal via de remoção de fósforo é a assimilação direta pela biomassa.

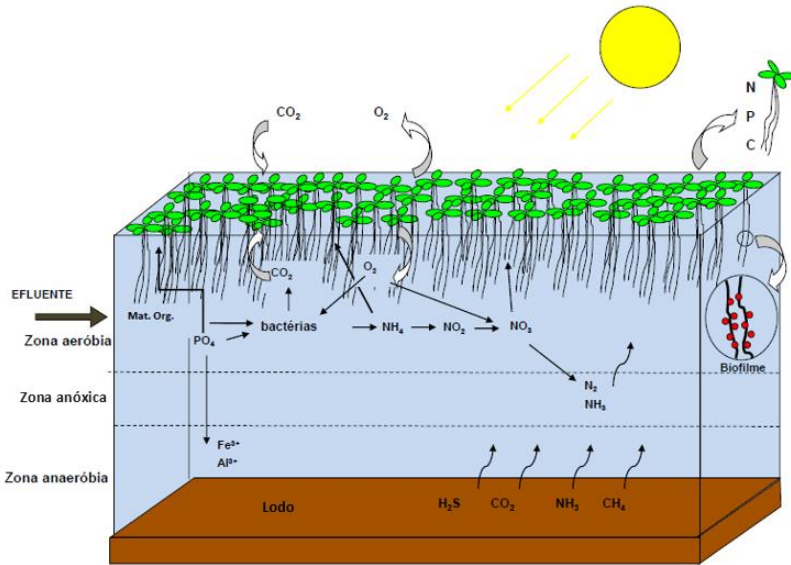
O oxigênio em equilíbrio nas lagoas de lemnas é muito importante para as transformações e mecanismos de remoção do nitrogênio. Mohedano (2010) exemplifica as transformações mais importantes do que ocorrem nas lagoas, apresentadas na figura 3.

A volatilização da amônia é diretamente influenciada pelo pH e temperatura, contudo, como há uma baixa variação de pH em lagoas de lemnas, e a superfície da lagoa é coberta pelas plantas, a volatilização da amônia não é considerada um importante mecanismo de remoção de nitrogênio por diversos autores (CAICEDO *et al.*, 2000; EL SHAFI *et al.*, 2007; MOHEDANO, 2010).

A desnitrificação pode ser um processo biológico ou um processo químico, mas o processo biológico é o mais importante em sistemas naturais. Muitas variedades de bactérias heterotróficas são hábeis em desnitrificar efluentes em condições anóxicas, como exemplo, *Pseudomonas*, *Paraccocus* e *Bacillus*. Este processo ocorre na presença de uma fonte de carbono que funciona como doador de elétrons, enquanto

o  $\text{NO}_3^-$  age comoceptor de elétrons na cadeia respiratória (SÁNCHEZ *et al.*, 2000).

Figura 3 - Representação de processos que ocorrem durante o tratamento de efluentes, em lagoas de lençmas.



Fonte: adaptado de Mohedano (2010). atualizar figura sugestão do Paulo Belli

Considerando a pouca representatividade da perda de nitrogênio por volatilização da amônia e pela desnitrificação, o fator mais importante a ser considerado nessa remoção é a absorção direta da amônia pelas lençmas, pois vários autores concordam que essas macrófitas absorvem preferencialmente a amônia ( $\text{NH}_3$  e  $\text{NH}_4^+$ ) em relação ao nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) (CULLEY, *et al.*, 1981; CAICEDO *et al.*, 2002; MOHEDANO, 2010). O pH influencia diretamente o processo de absorção direta de amônia pela biomassa, pois ele determina a porcentagem de amônia ionizada ( $\text{NH}_4^+$ ) e não ionizada ( $\text{NH}_3$ ) no meio, sendo que  $\text{NH}_3$  tem efeito tóxico e inibitório (CAICEDO *et al.*, 2000). Com isso, Mohedano (2010) destaca que para um pH 8, o nitrogênio amoniacal não deve ultrapassar  $50 \text{ mg.L}^{-1}$ , e que em pH 7 as lençmas podem tolerar concentrações de  $100 \text{ mg.L}^{-1}$ .

Como normalmente os efluentes orgânicos possuem pouco oxigênio dissolvido, a maior parte do nitrogênio inorgânico presente encontra-se na forma de amônia (MOHEDANO, 2010), facilmente removido por absorção direta pelas lençmas. Assim as lagoas de lençmas



representam uma alternativa de baixo custo para o polimento de efluentes, pois podem substituir sistemas aerados para remoção de nutrientes (SKILLICORN, 1993).

Diversos trabalhos têm sido realizados utilizando as lagoas de lemnas para a remoção de nutrientes, dentre esses estudos, destaca-se a pesquisa de Mohedano *et al.* (2012a), na qual observou-se uma remoção de 99,8% de NTK e 99,7% de N-NH<sub>3</sub>, utilizando a espécie *Landoltia punctata* para o tratamento de dejetos suínos. Já El-Shafai *et al.* (2007) alcançaram remoções de 85% e 98% de NTK e amônia, respectivamente, com TDH de 15 dias, utilizando um sistema de tratamento integrado de esgoto doméstico com reator UASB e lagoas de lemnas. Benjawan *et al.* (2007) obtiveram uma remoção de 92% em uma carga superficial aplicada de 1.300 mg N.m<sup>-2</sup>.d<sup>-1</sup> e 76% para uma carga de 3.300 mg N/m<sup>2</sup>/dia tratando esgoto doméstico.

Cheng *et al.* (2002b) testaram a capacidade da espécie *Spirodela punctata* para recuperar nitrogênio e fósforo, a partir de um efluente sintético formulado para se assemelhar a efluente de suinocultura. Os autores mostraram que a lemna cresceu em níveis elevados de nitrogênio e fósforo (240 mg N-NH<sub>4</sub>.L<sup>-1</sup> e 31 mg P-PO<sub>4</sub>.L<sup>-1</sup>), com taxas de absorção de nutrientes (N, P) e de crescimento das lemnas, respectivamente, de 0,995 mg N/Lh, 0,129 mg P/Lh, e 31,9 g de biomassa seca.m<sup>-2</sup>.d<sup>-1</sup>.

Quanto ao fósforo, além da remoção pela absorção direta pela biomassa, ocorrem também a adsorção em partículas de argila e de matéria orgânica, a precipitação química e a remoção pelo lodo, ocasionando acúmulo de fósforo no sistema, sendo sua retirada possível somente com a coleta das plantas da superfície ou com a dragagem do solo (IQBAL, 1999).

A capacidade de absorção de fósforo pelas plantas depende da taxa de crescimento, frequência de coleta e disponibilidade de ortofosfato (o-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>) na água (forma assimilável de P pelas plantas) (MOHEDANO, 2010). Quanto maior for a taxa de crescimento das plantas, e respectiva coleta de biomassa, maior será a remoção de fósforo do sistema.

A sazonalidade pode interferir diretamente no crescimento de lemnas. No inverno pode ocorrer um decaimento no crescimento quando comparado às estações mais quentes, apesar disso, Xu e Shen (2011) relatam que um sistema de lagoas de lemnas manteve alta remoção de fosfato nesse período, o que provavelmente foi atribuído ao acúmulo de proteína das lemnas e a absorção de nutrientes pelo biofilme ligado às lemnas e às paredes do sistema (algas e bactérias).

Pesquisas demonstram o grande potencial das lagoas de lemnas na remoção de fósforo de efluentes, como por exemplo, Alaerts *et al.* (1996)

conseguiram uma remoção de 77% de fósforo total em uma estação de tratamento de esgoto sanitário de pequeno porte; Cheng *et al.* (2002a) observaram uma taxa de remoção de fósforo de 31,9 mg/m<sup>2</sup>/dia, a partir da concentração de 30 mg PO<sub>4</sub>.L<sup>-1</sup>, em experimento laboratorial; e Mohedano *et al.* (2012b) relatam uma remoção de 98,8% utilizando a espécie *Landoltia punctata* no tratamento de efluente da suinocultura.

Variações nas concentrações de N e P aplicadas em lagoas de lemnas podem afetar diretamente no crescimento das plantas. Zhao *et al.* (2014a) observaram que, em altas concentrações de N e P, as lemnas se caracterizaram por frondes grandes, verde escuras e finas, e as raízes eram finas e curtas. Quando as plantas foram expostas a baixas concentrações de N e P, suas frondes eram mais claras, espessas e pequenas, e as raízes longas e grossas.

### 3.3.3 Microbiota associada às lemnas

A avaliação da qualidade da água por meio do estudo das comunidades de invertebrados é uma forma de gestão dos recursos hídricos que vem sendo cada vez mais estudada.

Segundo Bento (2005), as lagoas de estabilização são habitadas por vários tipos de organismos representando diversos níveis tróficos, como bactérias, algas, protozoários, microcrustáceos e insetos. Apesar dos poucos estudos sobre o tema, sabe-se que as lagoas de lemnas também apresentam tal diversidade, porém com uma composição peculiar, onde as microalgas não formam a base da cadeia trófica.

Ansa *et al.* (2012) destacam que os invertebrados aquáticos têm diferentes graus de resistência em tolerar estresses ambientais, como a variação na concentração de oxigênio dissolvido, ou variações nas cargas orgânicas. As lagoas com maior diversidade de espécies são indicativos de uma melhor qualidade da água, já sob condições de stress, a diversidade dos invertebrados diminui e, ao mesmo tempo, uma ou duas espécies podem atingir densidades mais elevadas devido à eliminação das outras espécies.

Alguns fatores afetam a diversidade, a sucessão e a abundância desses organismos nas lagoas, consequentemente afetam a eficiência do tratamento do esgoto. Bento (2005) destaca esses fatores sendo:

- disponibilidade de substratos e nutrientes (em qualidade – concentração e quantidade – cargas aplicadas);
- efeito da interação entre os próprios organismos;
- mudanças ambientais de natureza física, tais como:

temperatura, umidade, radiação solar (intensidade e foto-período), entre outros;

- mudanças nas condições operacionais.

A principal comunidade de organismos envolvidos no tratamento dos esgotos em lagoas é o plâncton, composto pelo bacterioplâncton, fitoplâncton e zooplâncton. Segundo Bento (2005), o zooplâncton é basicamente composto de protozoários, microcrustáceos e rotíferos, capazes de consumir bactérias, fitoplâncton e detritos orgânicos. Dentre seus efeitos no tratamento de esgotos, destacam-se:

- clarificação o efluente;
- contribuição no equilíbrio ecológico do sistema;
- contribuição na reciclagem dos elementos;
- e em excesso, o comprometimento das cadeias alimentares.

Segundo Zuberer (1983) uma das principais características das macrófitas aquáticas é servir como um suporte para diversos microrganismos que colonizam suas raízes, caules e folhas. Essa associação entre planta e microrganismos pode trazer benefícios para a planta hospedeira, como a fixação biológica do nitrogênio por meio de simbioses associativas.

Ali *et al.* (2007) relatam que os sólidos suspensos totais (SST), a dureza total e o nitrito ( $\text{NO}_2$ ) são as variáveis mais influentes sobre as comunidades de invertebrados presentes em lagoas com macrófitas aquáticas, pois a grande quantidade de matéria orgânica rica em Ca e Mg pode aumentar o desenvolvimento de animais detritívoros.

As comunidades de bactérias em ambientes naturais e eutrofizados têm importante papel na produção e degradação de matéria orgânica e de vários poluentes ambientais, bem como no ciclo do nitrogênio, enxofre e muitos metais. A maioria desses processos requer organismos com diferentes capacidades metabólicas que constituem os biofilmes (BENTO, 2005).

Os biofilmes podem ser compostos por microcolônias de uma única espécie microbiana ou por comunidades de microrganismos de diferentes espécies, dependendo dos parâmetros ambientais nos quais os biofilmes são formados. Bento (2005) enumera algumas condições que afetam a estrutura do biofilme, como: as propriedades da superfície e da interface do suporte, a disponibilidade de nutrientes, a composição da comunidade microbiana e a hidrodinâmica. Dessa forma, há um consenso de que nos ecossistemas naturais, os biofilmes representam um sistema biológico com um alto nível de organização formando comunidades complexas a nível estrutural e funcional.

Para estudar os biofilmes e a comunidade microbiana presentes nas lagoas de lemnas, técnicas de biologia molecular podem ser empregadas. Zhao *et al.* (2015) avaliaram as bactérias presentes em lagoas de lemnas por meio da técnica de pirosequenciamento, e conseguiram quantificar as abundâncias relativas dos gêneros presentes na rizosfera, na coluna d'água e nos sedimentos do fundo. Neste caso, o gênero *Rhizobacter* foi o mais abundante na rizosfera, que é uma bactéria fixadora de nitrogênio simbiótica com as raízes das plantas, já nos sedimentos do fundo predominaram as bactérias anaeróbias, com presença de metanogênicas.

Apesar do conhecimento sobre a importância da associação planta/microrganismo, poucas referências relatam uma metodologia específica que esclareça a participação de microrganismos no tratamento dos efluentes pelas lemnas. Zuberer (1983) em seu trabalho de identificação de microrganismos nas raízes de *Lemna minor* e *Spirodela oligorhiza* observou, via microscopia ótica, que as superfícies destas macrófitas, incluindo raízes e frondes, foram colonizadas por bactérias e cianobactérias, algas verdes, diatomáceas e, ocasionalmente, protozoários. Esses microrganismos se apresentaram agregados às raízes, formando o biofilme, comumente observado em outras macrófitas aquáticas e terrestres. Zuberer (1983) afirma ainda que a manta de lemnas é realmente um habitat complexo e heterogêneo dos microrganismos.

Nos ecossistemas aquáticos, a comunidade zooplantônica atua como elo intermediário na cadeia trófica, participando no fluxo de energia e de nutrientes. Esses organismos encontram-se distribuídos em toda a coluna d'água, apresentando muitas vezes estratificação e migração verticais, relacionadas aos fatores físicos, químicos e biológicos, destacando-se a disponibilidade de alimento e a variação da intensidade luminosa. Diferenças na sua densidade e composição são observadas sazonalmente, e entre as regiões litorâneas e limnéticas, mas também podem ser em resposta ao aumento excessivo da comunidade fitoplanctônica e/ou à presença de compostos tóxicos, entre outros (CETESB, 2012).

### 3.4 USOS DA BIOMASSA DE LEMNAS

Segundo Iqbal (1999), por mais de trinta anos, o cultivo de macrófitas lemnáceas é considerado uma tecnologia potencial para combinar o tratamento de efluentes e a produção de alimento. Por ter um potencial de crescimento elevado, bem como um alto teor proteico, a biomassa de lemnas gerada em cada sistema de tratamento de efluentes pode ser utilizada como ração para animais, tendo em vista a composição

do efluente tratado.

A utilização de lemnas na alimentação de peixes parece ser a forma mais difundida para a utilização da biomassa deste vegetal, pois podem ser oferecidas frescas como alimento exclusivo, ou desidratadas, em combinação com outros ingredientes (MOHEDANO, 2010). A maior eficiência desta fonte de alimento é obtida na nutrição de peixes herbívoros ou onívoros, como carpas e tilápias (IQBAL, 1999). Para o uso como rações para outros animais, pode ser necessário algum complemento rico em gordura, pois as lemnas apresentam, em sua composição, baixo teor de lipídeos, já suas proteínas são ricas em aminoácidos essenciais.

De acordo com estudos de Cheng *et al.* (2009) e Landolt *et al.* (1987), as lemnas podem produzir quantidades significativas de amido, podendo ser facilmente convertida em bioetanol, servindo como matéria prima industrial na produção de energia limpa. O acúmulo de amido nas lemnas pode ser induzido pela manipulação de condições de crescimento, tais como os níveis de nutrientes, temperatura, pH, intensidade de luz e foto-período, para impor pressão sobre as lemnas (GE *et al.*, 2012, CHENG *et al.*, 2009 e XU *et al.*, 2011).

### 3.5 DIMENSIONAMENTO E OPERAÇÃO DE LAGOAS DE LEMNAS

Para o dimensionamento de unidades de tratamento de efluentes com lemnas, devem ser considerados alguns parâmetros utilizados em lagoas de estabilização, como o tempo de detenção hidráulica, as cargas de aplicação e a profundidade das lagoas (VON SPERLING, 2009).

Para esgotos domésticos, geralmente, o TDH depende da carga orgânica aplicada, porém, para lagoas de lemnas, um fator limitante para o funcionamento do sistema pode ser a concentração de nitrogênio amoniacal, pois afeta diretamente o crescimento da biomassa (CAICEDO, 2005; MOHEDANO, 2010). Alguns autores têm utilizado a carga de nitrogênio amoniacal para calcular o TDH das lagoas de lemnas, como exemplo, Mohedano (2010) utilizou concentração máxima de nitrogênio amoniacal de  $100 \text{ mg.L}^{-1}$  para o dimensionamento do sistema. A concentração máxima de nitrogênio amoniacal para a sobrevivência das lemnas citada por Cheng *et al.* (2002a) foi de  $240 \text{ mg.L}^{-1}$ , já Caicedo (2005) considera que esse valor não deve ultrapassar  $100 \text{ mg.L}^{-1}$  em pH 7.

A carga superficial aplicada e o TDH podem ser encontrados pelas equações (1) e (2):

Carga superficial aplicada:

$$\lambda_s = \frac{Co*Q}{A} \quad (1)$$

Sendo:

$\lambda_s$  = Carga superficial ( $\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ );

$Co$  = Concentração total afluente ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )

$Q$  = vazão ( $\text{m}^3 \cdot \text{d}^{-1}$ )

$A$  = Área ( $\text{m}^2$ )

Tempo de detenção hidráulica:

$$TDH = \frac{A*H}{Q} \quad (2)$$

Sendo:

TDH = Tempo de detenção Hidráulica (dia)

$A$  = Área da meia profundidade ( $\text{m}^2$ )

$Q$  = vazão afluente ( $\text{m}^3 \cdot \text{d}^{-1}$ )

$H$  = Profundidade da lagoa (m)

Assim, os tempos de detenção hidráulica de efluentes em lagoas de lemnas não possuem um valor padronizado e a literatura tem apresentado variação entre 3 dias (KORNER *et al.*, 1998b) e 75 dias (LYERLY, 2004). Contudo, a maioria dos estudos sugere TDH de 15 a 25 dias (IQBAL 1999; EL-SHAFAI *et al.* 2007). Com relação à carga orgânica aplicada em lagoas de lemnáceas, os valores não devem ultrapassar 100 a 160  $\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ , a fim de obter um efluente com concentração de até 30  $\text{mg} \text{ DBO} \cdot \text{L}^{-1}$  (METCALF e EDDY, 2003; GIJZEN *et al.*, 1997).

A profundidade das lagoas é de fundamental importância no dimensionamento de lagoas de lemnáceas. Mohedano (2010) destaca que esse é um fator que influencia diretamente a mistura vertical, evitando a ocorrência de termoclina e distribuindo a matéria orgânica e os nutrientes em diferentes profundidades. Para aumentar a eficiência do tratamento há necessidade de que o efluente fique em contato com as raízes da planta, lugar de fixação do biofilme, assim, lagoas mais rasas produzirão uma melhor mistura vertical.

A profundidade também influencia nas condições de oxigenação, pois em lagoas muito fundas prevalecem condições anaeróbias, não sendo adequadas para lagoas de polimento, na tabela 1 pode-se observar a relação entre profundidade e TDH utilizada em diferentes pesquisas.

Tabela 1 - Tempo de detenção hidráulica e profundidade de sistemas de tratamento com lagoas de lemnáceas encontradas em diferentes estudos.

| <b>Autor</b>                    | <b>TDH (d)</b> | <b>Profundidade (cm)</b> |
|---------------------------------|----------------|--------------------------|
| Alaerts <i>et al.</i> (1996)    | 20             | 40 - 90                  |
| Korner e Vermaat (1998)         | 3              | 33                       |
| Caicedo (2005)                  | 12 - 21        | 40 - 70                  |
| El- Shafai <i>et al.</i> (2006) | 15             | 48                       |
| Tavares <i>et al.</i> (2008)    | 21             | 15                       |
| Ansa <i>et al.</i> (2012)       | 5              | 30                       |
| Mohedano <i>et al.</i> (2012b)  | 34 - 102       | 40 - 80                  |
| Brugnago (2014)                 | 17             | 42                       |

Caicedo (2005), em seu trabalho utilizando lagoas de lemnas, testou a influência de duas profundidades em tanques sequenciais de tratamento, variando o TDH (40 cm para 12 e 21 dias, e 70 cm para 21 dias) e concluiu que o TDH promove mais influência do que a profundidade.





## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

No presente estudo foi utilizado um sistema de lagoas em série, em escala piloto, para tratamento do esgoto doméstico com lemnas. Este sistema foi operado desde agosto de 2014 até julho de 2015.

### 4.1 DESCRIÇÃO DAS UNIDADES PILOTO

O sistema de tratamento utilizado encontra-se instalado no setor experimental do Laboratório de Efluentes Líquidos e Gasosos (LABEFLU) e Laboratório de Resíduos Sólidos (LARESO), do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental (ENS), nas dependências do campus universitário da Universidade Federal de Santa Catarina, na cidade de Florianópolis (SC).

O esgoto doméstico utilizado era proveniente de um condomínio residencial coletado após o tratamento preliminar (gradeamento e caixa de gordura) e transportado até o sistema piloto por caminhões limpa-fossa, a cada 25 dias. Na unidade piloto, o esgoto era armazenado em dois tanques de estocagem (T1 e T2) e aplicado no tanque de equalização (TE) seguido por duas lagoas com macrófitas lemnáceas, em série, semienterradas. A foto apresentada na figura 4 ilustra o sistema piloto.

Figura 4 – Imagem do sistema de tratamento com lagoas de lemnas em escala piloto, onde: 1) Tanque de equalização; 2) Lagoa de Lemnas 1; 3) Lagoa de Lemnas 2.



Os tanques de estocagem, o tanque de equalização e as duas lagoas são construídos em fibra de vidro e estão interligados entre si por meio de canalizações de PVC (50 mm), contando ainda com registros para controle de vazão e para permitir a manutenção dos mesmos.

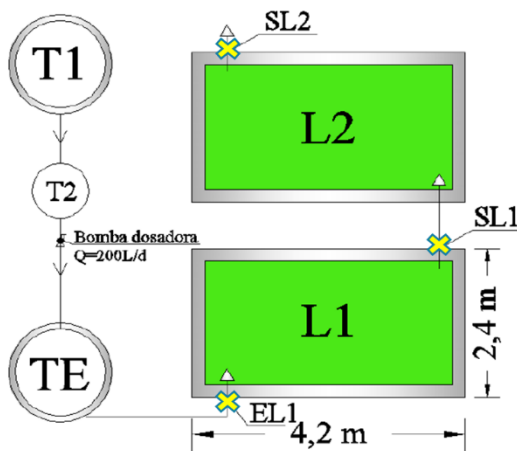
Os tanques de estocagem têm formato cilíndrico, são fechados e foram utilizados para armazenar o esgoto bruto; T1 tem capacidade para armazenar 5000 L, enquanto T2 possui volume útil de 1000 L. O tanque de equalização (TE) tem formato cilíndrico, é fechado, possui volume útil de 5000 L, funcionou com características anaeróbias. As duas lagoas, denominadas L1 e L2, possuem as mesmas dimensões de 4,20 x 2,40 x 1,00 m, ocupam área total de 10,08 m<sup>2</sup> e área útil de 8m<sup>2</sup>, estão dispostas em série, nelas foi colocada a cobertura vegetal com lemnas. A altura da coluna d'água foi de 42 cm em ambas as lagoas, totalizando um volume útil de aproximadamente 3500 L. A vazão de esgoto doméstico aplicada ao sistema foi de 200 L.d<sup>-1</sup>.

O tempo de detenção hidráulica teórico no tanque de equalização foi de 25 dias, enquanto que nas lagoas de lemnas (L1 e L2) foi de aproximadamente 17 dias para cada lagoa. A representação do sistema está demonstrada na figura 5.

As macrófitas lemnáceas da espécie *Landoltia punctata* foram coletadas no ambiente natural e introduzidas nas lagoas experimentais, em quantidade suficiente para cobrir a superfície.

O objetivo do experimento foi avaliar o tratamento pelas lagoas de lemnas, assim, as etapas anteriores (T1, T2 e TE) não foram consideradas, contudo, sabe-se da importância dessa primeira etapa de tratamento para diminuir a carga orgânica aplicada nas lagoas, e conferir ao efluente as características necessárias para o tratamento terciário ser estudado.

Figura 5 - Representação esquemática do sistema de tratamento experimental. T1 – Tanque de Estocagem 1; T2 – Tanque de Estocagem 2; TE – Tanque de Equalização; L1- Lagoa de lemnas 1; L2- Lagoa de lemnas 2. Pontos de coleta: EL1 – Entrada da Lagoa de Lemnas 1; SL1 – Saída da Lagoa de Lemnas 1; SL2 – Saída da Lagoa de Lemnas 2.



#### 4.2 DIMENSIONAMENTO DE CARGA DE NITROGÊNIO AMONÍACAL

O dimensionamento do sistema foi feito com base na carga de nitrogênio amoniacal a ser aplicada nas lagoas, pois, segundo Caicedo (2005), a concentração de nitrogênio amoniacal pode ser um fator limitante para o funcionamento das lagoas de lemnas, que em cargas muito elevadas pode causar efeito tóxico nas macrófitas.

Assim, a carga superficial aplicada foi estimada considerando a variação da concentração de nitrogênio amoniacal no afluente entre 50 e 100 mg.L<sup>-1</sup>, estando de acordo com o trabalho de Caicedo *et al.* (2000), no qual relatam que as lemnas toleram essa concentração em pH neutro.

Conforme a carga de nitrogênio amoniacal aplicada, o sistema foi projetado para atuar com um tempo de detenção hidráulica de 17 dias em cada lagoa.

#### 4.3 PERÍODO DE ADAPTAÇÃO DO SISTEMA

O período de adaptação do sistema teve início no mês de junho/2014, quando o sistema recebeu algumas aplicações gradativas de esgoto doméstico com o objetivo de adaptar as lemnas ao novo meio.

Durante aproximadamente 60 dias, a população de lemnas foi observada por critérios de avaliação de crescimento e qualidade, como a densidade, cor e tamanho das lemnas, visando monitorar sua adaptação. Em agosto/2014, o sistema começou a operar com a vazão prevista no estudo de 200 L.d<sup>-1</sup>.

Durante o período de adaptação do sistema, foi realizada a remoção da biomassa de lemnas uma vez por semana, para manter uma densidade adequada da população, com média de 500 g.m<sup>-2</sup>. Por meio de oito campanhas (uma por semana) de coletas e análises laboratoriais, foi efetuado o monitoramento de alguns parâmetros de qualidade da água, com foco na concentração de nutrientes. Os parâmetros avaliados nessa etapa foram NT, N-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>, N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e P-PO<sub>4</sub><sup>-</sup>, além de DQO, DBO, pH, OD e temperatura. As amostras para análises foram coletadas conforme os pontos demonstrados na figura 5. As cargas médias aplicadas em L1 e L2 foram de 22,10 kg N-NH<sub>3</sub>.ha<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup> e 10,88 kg N-NH<sub>3</sub>.ha<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>, respectivamente. Além dessas análises semanais, o sistema foi monitorado quinzenalmente, em pontos localizados no perfil das lagoas de lemnas 1 e 2 (Figura 6); os detalhes referentes à metodologia de análises laboratoriais e manejo da biomassa estão descritos nos itens 4.5.1 e 4.5.2.

#### 4.4 PARTIDA E OPERAÇÃO DO SISTEMA PILOTO

A operação do sistema piloto foi iniciada em setembro de 2014, após os testes descritos no período de adaptação do sistema, com as lemnas adaptadas à carga de esgoto e teve duração até julho de 2015, tendo abrangido as 4 estações do ano, durante 10 meses. Nesta etapa, o sistema manteve a vazão e a carga orgânica aplicada pré-determinadas, bem como a rotina de coleta e análises que foram usadas no período de adaptação do sistema, com exceção da frequência de remoção da biomassa de lemnas, a qual foi alterada, de uma para duas vezes por semana, e a análise da turbidez foi acrescentada aos parâmetros físicos e químicos analisados.

#### 4.5 MONITORAMENTO DO SISTEMA PILOTO

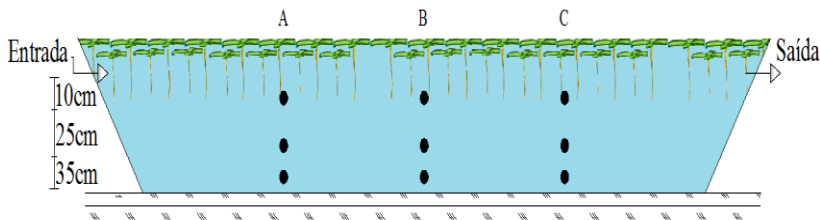
Para avaliar a eficiência do sistema de tratamento piloto foram adotadas coletas de amostras semanais e quinzenais, durante o período operacional.

As coletas de amostras semanais foram realizadas para avaliar o desempenho do sistema de lagoas no tratamento do efluente. Para tal,

foram realizadas coletas nos pontos de entrada e saída de cada unidade de tratamento, conforme indicados na figura 5. O primeiro ponto de coleta foi definido como entrada da lagoa de lemnas 1 (EL1) e corresponde ao efluente do tanque de equalização; ao sair da lagoa de lemnas 1, o ponto foi denominado de saída da lagoa 1 (SL1), e o ponto final de saída do efluente tratado foi chamado de saída da lagoa 2 (SL2). No ponto EL1, o esgoto era coletado na saída do tanque de equalização, enquanto que nos pontos de saída das lagoas de lemnas, o efluente era coletado próximo ao cano de saída das lagoas, localizado a uma profundidade de aproximadamente 10 cm da superfície coberta de lemnas.

Para avaliar a estratificação e a homogeneidade da coluna de água das lagoas, quinzenalmente foram coletadas amostras em 9 pontos ao longo dos perfis longitudinal e vertical das lagoas, conforme apresentados na figura 6. Para os perfis verticais, as profundidades de amostragem foram de 10 cm, 25 cm e 35 cm. Para os perfis longitudinais os pontos A, B e C eram equidistantes.

Figura 6 - Representação esquemática dos pontos de coleta em 3 profundidades nas lagoas de lemnas.



#### 4.5.1 Avaliação dos parâmetros físicos, químicos e biológicos

Na tabela 2 estão apresentados os parâmetros físicos, químicos e biológicos analisados, a metodologia empregada e a frequência de análises.

As amostras coletadas eram encaminhadas ao Laboratório Integrado de Meio Ambiente (LIMA) e Laboratório de Efluentes Líquidos e Gasosos (LABEFLU), do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, onde foram realizadas as análises físicas e químicas, seguindo o *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005), conforme apresentadas na tabela 2.

Os resultados obtidos nas duas estratégias de monitoramento foram analisados por estações do ano, para facilitar a visualização da influência

da sazonalidade no tratamento. A estratégia de monitoramento que contempla o perfil das lagoas de lemnas objetivou avaliar a semelhança entre os pontos de superfície, meio e fundo, conforme o caminho que o efluente percorre na lagoa, verificando possível estratificação na coluna de água. A eficiência de remoção de cada parâmetro foi calculada, separadamente, em cada lagoa de lemna, com base na média das concentrações de entrada e saída, e também a eficiência global do sistema.

Tabela 2 – Parâmetros, metodologia e frequência de análises.

| Análise  | Método   | Amostra/Frequência  |
|--|--|---|
| pH, Temperatura  | pHmetro Hanna HI8314   | Pontos de perfil: Quinzenalmente<br>EL1, SL1, SL2: Semanalmente |
| Oxigênio dissolvido (OD)   | Oxímetro portátil Alfakit AT 150   | Pontos de perfil: Quinzenalmente<br>EL1, SL1, SL2: Semanalmente |
| Demanda bioquímica de oxigênio (DBO)   | Manométrico com incubação de 5 dias a 20°C em base agitadora – HACH® - modelo DR-4000 (SM* 5220 D) | EL1, SL1, SL2: Semanalmente                                     |
| Demanda química de oxigênio (DQO)  | Método colorimétrico de refluxo fechado (SM* 5220D)  | EL1, SL1, SL2: Semanalmente                                     |
| Turbidez (UT)  | Método nefelométrico. Turbidímetro HACH 2100N - (SM* 2130B)  | Pontos de perfil: Quinzenalmente<br>EL1, SL1, SL2: Semanalmente |
| Coliformes totais e E. coli  | Método do substrato cromogênico (Colilert-IDEXX®) (SM* 9223 B)                                     | EL1, SL1, SL2: Quinzenalmente                                   |
| Determinação da Clorofila <i>a</i>   | Método espectrofotométrico (SM* 10200H)  | Pontos de perfil: Quinzenalmente                                |
| Nitrogênio Amoniacal (NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> -N)   | Método do salicilato com cianureto (Kit Hach).   | Pontos de perfil: Quinzenalmente<br>EL1, SL1, SL2: Semanalmente |
| Nitrogênio Total (NT)  | Método da digestão com persulfato (Kit Hach)   | Pontos de perfil: Quinzenalmente<br>EL1, SL1, SL2: Semanalmente |
| Fósforo Total (PT)   | Método molybdovanadato (SM* 4500P C)   | EL1, SL1, SL2: Semanalmente                                     |
| Nitrito (NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N), Nitrato (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N) e Fosfato (PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> -P) | Cromatografia líquida de troca iônica (DIONEX DX 120) (SM* 4110C)                                  | Pontos de perfil: Quinzenalmente<br>EL1, SL1, SL2: Semanalmente |
| Sólidos Suspensos Totais (SST), Fixos (SSF) e Voláteis (SSV)   | Método gravimétrico (SM* 2540)   | EL1, SL1, SL2: Semanalmente                                     |
| Carbono Orgânico Dissolvido (COD)  | Oxidação por combustão catalítica (NPOC) (Shimadzu TOC-L)  | Pontos de perfil: Quinzenalmente<br>EL1, SL1, SL2: Semanalmente |

\*SM = número de referência do método segundo o *Standard Methods* (APHA, 2005).

#### 4.5.2 Avaliação da biomassa de lemnas

A biomassa de lemnas produzida nas lagoas deve ser removida durante o tratamento de efluentes, para que este seja realizado com sucesso (IQBAL, 1999). Korner e colaboradores (1998a) descrevem que, as frondes mortas liberam os nutrientes removidos durante sua decomposição, contribuindo com a elevação da matéria orgânica dissolvida e particulada. Sendo assim, uma elevada densidade de lemnas prejudica o desempenho do tratamento.

Mohedano (2010) ressalta que a quantidade de biomassa removida pode variar com a produtividade da mesma, uma vez que se deve evitar o aparecimento de clareiras, mantendo-se a população fisicamente coesa. Assim, quando ocorre algum problema com o crescimento das macrófitas, a remoção da biomassa deve ser reduzida ou suspensa.

A biomassa de lemnas produzida durante o período experimental foi avaliada por meio da determinação quantitativa e qualitativa. A avaliação quantitativa foi realizada pelo cálculo do peso seco da biomassa de lemna, enquanto a avaliação qualitativa foi realizada pela determinação do teor de proteína bruta contida na biomassa.

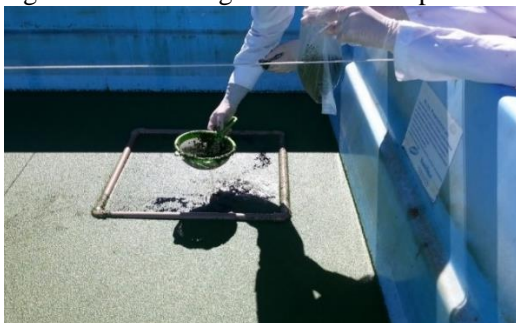
##### *Avaliação quantitativa da biomassa de lemnas*

Conforme descrito por Landesman *et al.* (2005), a avaliação da produtividade da biomassa de lemnas pode ser feita com base na determinação da taxa de crescimento específico (TCE –  $\text{g.g}^{-1}.\text{d}^{-1}$ ) e na taxa de crescimento superficial (TCS –  $\text{g.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$ ). Para determinar essas velocidades de crescimento, é necessário estimar a biomassa total das lagoas.

A fim de se proceder a amostragem quantitativa da biomassa, utilizou-se o método desenvolvido por Mohedano (2010), utilizando um quadrado flutuante (feito com tubos de PVC  $\varnothing 32\text{mm}$ ), com uma área interna de  $0,25\text{m}^2$ . As amostragens da biomassa (Figura 7) foram realizadas uma vez por semana em 3 pontos diferentes da lagoa. O quadrado era lançado aleatoriamente sobre as lagoas de lemnas, e a biomassa aprisionada no seu interior era coletada e pesada, obtendo-se assim uma amostragem da densidade de lemnas (em peso) por metro quadrado. Toda a biomassa coletada era seca em estufa com ventilação forçada (Solab SL - 102) a  $55^\circ\text{C}$ , por 24 horas, para determinação do peso seco (Figura 8).



Figura 7 – Amostragem da biomassa por m<sup>2</sup>.



Fonte: próprio autor

Figura 8 - 1) Biomassa retirada; 2) Estufa de secagem;



Fonte: próprio autor

As velocidades de crescimento específico e superficial foram calculadas pelas equações (3) e (4):

$$TCE = \frac{B_t}{N \cdot D \cdot A} \quad (3)$$

$$TCS = \frac{B_t}{N \cdot A} \quad (4)$$

Sendo:

TCE = Taxa de crescimento específico (kg.kg<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>)

TCS = Taxa de crescimento superficial (kg.m<sup>-2</sup>/d<sup>-1</sup>)

B<sub>t</sub> = Biomassa total removida no período (kg)

N = Número de dias do período

D = Densidade média (kg.m<sup>-2</sup>)

A = (Área) Superfície de lâmina d'água avaliada (m<sup>2</sup>).

Com a finalidade de se conhecer a interferência da dinâmica de crescimento das lemnas no desenvolvimento dos microrganismos foi calculado o tempo de permanência da biomassa. Esta medida representa o tempo médio em que as plantas permaneceram nas lagoas, antes de serem removidas pelo manejo, e pode ser calculada conforme a equação 5:

$$TP = \frac{D \cdot A}{BT} \quad (5)$$

Sendo:

TP = Tempo de permanência da biomassa nas lagoas (d);

D = Densidade média (lemnas vivas) ( $\text{g} \cdot \text{m}^{-2}$ );

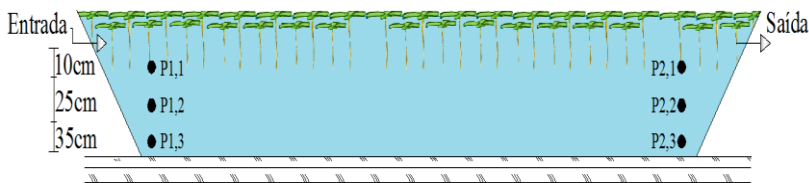
A = (Área) Superfície de lâmina d'água avaliada ( $\text{m}^2$ ).

BT = Biomassa total removida no período (g)

#### 4.5.3 Identificação e Avaliação da comunidade microbiológica.

As análises da microbiota associada às lagoas de lemnas foram realizadas em três etapas. A primeira consistiu na identificação e contagem dos organismos zooplantônicos (eucariontes) presentes em 4 pontos de cada lagoa de lemna (P1,1; P1,2; P2,1; P2,2), conforme demonstrado na figura 9. A segunda consistiu na avaliação do desenvolvimento do biofilme nas raízes de lemnas, realizado com a observação de raízes em microscópio ótico (Olympus - BX41). E a terceira consistiu na identificação de comunidades bacterianas presentes no biofilme das raízes das lemnas (P1,1; P2,1), e no lodo (P1,3; P2,3), por meio da aplicação de técnicas de biologia molecular (FISH e sequenciamento do material genético).

Figura 9 – Pontos de coleta para a avaliação da microbiota nas Lagoas de Lemnas.



### *Identificação e Contagem dos Organismos Zooplancônicos*

A avaliação da comunidade zooplancônica é uma importante ferramenta em estudos de caracterização ecológica, monitoramento e avaliação de impactos, pois várias espécies podem ser empregadas como indicadores da qualidade do efluente (CETESB, 2012).

Para a caracterização do zooplâncton nas lagoas de lemnas, as amostras foram coletadas em pontos de superfície (P1,1 e P2,1) e meio da coluna d'água (P1,2 e P2,2), com volume conhecido (200 mL). As amostras foram filtradas em copos de separação de plâncton, com malha de abertura de 30  $\mu$ m, para concentrar os organismos presentes no meio. Conforme a metodologia descrita pela CETESB (2012), cada amostra foi preservada em solução de formol 4%, e posteriormente, em câmara de Sedgwick-Rafter, foram contados todos os organismos presentes em 1 mL, para a obtenção do número de organismos presentes na amostra por litro de efluente analisado. Essas análises foram realizadas quinzenalmente.

### *Monitoramento do biofilme formado em raízes de lemnas*

Durante a etapa de monitoramento do biofilme, as raízes das lemnas foram separadas para a visualização em microscópio óptico (Olympus - BX41). Nesta metodologia, 10 raízes de cada amostra foram retiradas de suas frondes, com o auxílio de pinças, colocadas em lâminas e cobertas com lamínulas para posterior análise no microscópio. O objetivo desse método foi identificar e registrar a formação de biofilme na extensão das raízes, seu tamanho e os organismos que ali estavam presentes.

Para obter uma classificação em que o biofilme pudesse ser comparado em cada amostra, cada raiz recebeu uma pontuação quanto a extensão do biofilme presente, sendo de 0 para raízes sem biofilme a 1 para raízes com 100% de sua extensão com biofilme, o somatório dessas pontuações caracterizou os critérios de observação.

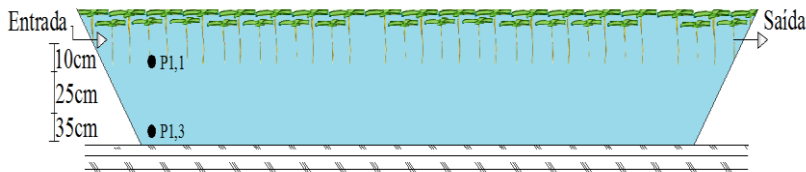
A partir destes critérios subjetivos de observação, a formação do biofilme nas raízes foi classificada como: ausente, baixa, média e intensa. Formações de biofilme estimadas em até 20% da extensão da raiz foram consideradas baixas, de 20 a 60% da extensão foram consideradas médias, e acima de 60% foram consideradas intensas. Estes critérios foram utilizados na comparação da formação de biofilme em cada lagoa, sazonalmente.

### *Hibridização Fluorescente in situ – FISH*

A aplicação da biologia molecular, por meio da técnica de Hibridização Fluorescente *in situ* (FISH) foi empregada para avaliar a presença de comunidades bacterianas em amostras da zona de raízes (P1,1) e do lodo (P1,3) das duas lagoas, totalizando 4 pontos no sistema conforme descrito na figura 10.

Para a identificação das comunidades bacterianas presentes na zona de raízes das lagoas de lemnas, as amostras coletadas (contendo as lemnas) foram agitadas, e conservadas em geladeira por 24 horas em recipiente de fundo cônico, para que o biofilme agregado às raízes das lemnas pudesse sedimentar, juntando o volume necessário para a fixação das amostras e posterior hibridização das células. Após esse processo, as amostras de lodo e zona de raízes tiveram o mesmo tratamento, seguindo o procedimento descrito por Amann (1995) (anexo 1), para a aplicação da técnica de FISH.

Figura 10 – Pontos de coleta para a aplicação do FISH nas Lagoas de Lemnas.



Na tabela 3 são apresentadas as sondas utilizadas, o grupo alvo e as referências bibliográficas. Demais detalhes das sondas estão disponíveis no site do probeBase (<http://probebase.csb.univie.ac.at/>).

As lâminas contendo as amostras hibridizadas foram observadas por microscopia óptica de fluorescência, em microscópio Olympus Bx41, pertencente ao Laboratório Multiusuário de Estudos em Biologia (LAMEB II), do Centro de Ciências Biológicas da UFSC.

Tabela 3 – Descrição das sondas utilizadas nas análises das amostras das lagoas de lemna.

| Sondas  | Grupo Alvo                                       | Referência  |
|---|--|---|
| <b>EUBmix<br/>(I+II+III)</b>  | Domínio <i>Bactéria</i>                          | I – Amann <i>et al.</i> (1990)<br>II e III – Daims <i>et al.</i> (1999) |
| <b>NSO 190</b>  | $\beta$ - oxidantes de amônio<br>Proteobacteria  | Mobarry <i>et al.</i> (1996)  |
| <b>NIT 3</b>  | Nitrobacter sp                                   | Wagner <i>et al.</i> (1996)   |
| <b>PAE 997</b>  | Pseudomonas sp                                   | Amann <i>et al.</i> (1996)  |
| <b>PAOmix<br/>(462<sup>1</sup> +651<sup>2</sup> +846<sup>3</sup>)</b> | Maioria dos membros<br>Candidatus Accumulibacter | Crocetti <i>et al.</i> (2000)   |

### *Sequenciamento de DNA*

O sequenciamento de DNA foi realizado para amostras coletadas em um ponto de superfície e um ponto do lodo de cada lagoa de lemna, totalizando 4 pontos no sistema para cada amostragem. As amostras foram coletadas em Março/2015 (verão), Junho/2015 (inverno) e Setembro/2015 (primavera).

Com o intuito de identificar, de forma mais ampla e detalhada, a diversidade bacteriana presente nas amostras, foram extraídos DNA metagenômico por meio de Kit de extração de *DNA MoBio Power Soil TM* (Mobio Laboratories Inc., Carlsbad, CA, USA), de acordo com as instruções do fabricante e posteriormente foi realizado o sequenciamento de DNA de nova geração com a amplificação da região V3-V4 (341-806) do gene ribossomal 16S.

Esta análise foi realizada em um laboratório terceirizado que utiliza a tecnologia Illumina MiSeq<sup>®</sup> de sequenciamento por síntese (sequencing by synthesis - SBS), sendo esta uma das tecnologias mais usadas no mundo, no que se refere a sequenciamento de DNA em larga escala. O sistema garante a leitura de 100.000 sequências por amostra com a identificação taxonômica e a quantificação do número de sequências obtidas de cada táxon. Os resultados foram fornecidos já com a interpretação do software do sistema.

## 4.6 TRATAMENTO DOS DADOS

Para a realização deste estudo, o software Microsoft Excel® foi utilizado para descrever, analisar e interpretar os dados numéricos das amostras coletadas ao longo do monitoramento. Na análise exploratória dos dados, utilizou-se a estatística descritiva (utilizando valores de média, desvio padrão, para a análise inicial dos dados, os quais foram reunidos em tabelas). Foram construídos gráficos da concentração dos ao longo do tempo, possibilitando uma análise geral da variabilidade dos dados coletados.

O software STATISTICA 7.0 (STATSOFT, Inc., 2004) foi utilizado para a realização das análises de variância e análises de componentes principais descritas no presente trabalho.

A fim de verificar diferenças significativas entre a concentração das principais variáveis ao longo dos perfis verticais e horizontais das lagoas, utilizou-se uma análise de variância. Neste estudo, utilizou-se o teste de Tukey como comparativo entre valores médios, nas diferentes profundidades e comprimentos e condições das lagoas.

O desempenho das lagoas foi também avaliado por meio da *Análise de Componentes Principais* (ACP), que é uma técnica da estatística multivariada que consiste em analisar um conjunto de variáveis numéricas com alta dimensionalidade de representação, reduzindo o número de variáveis, mantendo a máxima variabilidade dos dados originais, minimizando assim a perda de informação ao se fazer redução (SCHMITT, 2005).

Para a determinação das componentes principais é necessário calcular a *Matriz de Correlação* (R), encontrar os autovalores e auto vetores, e por fim, escrever as combinações lineares. Para a escolha dos componentes o método de Kaiser foi utilizado, considerando-se apenas os autovalores maiores que 1, uma vez que a análise foi feita a partir da matriz de correlações. Então, foram retidos os fatores que resultassem na condição acima citada.

Para a análise dos diagramas de dispersão, dois critérios podem ser considerados: as variáveis possuem correlação forte e negativa (ângulo dos vetores próximo a 180 graus) quando presentes em quadrantes contrários; possuem correlação forte e positiva quando presentes no mesmo quadrante ou quando possuem vetores formando ângulo próximo a zero grau.

Neste estudo, a ACP foi usada para descrever as correlações entre diversas variáveis medidas ao longo do monitoramento. Desta forma, foram utilizados 7 parâmetros físicos e químicos e a densidade das lemnas

para avaliar as lagoas de lemnas, e posteriormente, 5 parâmetros físicos e químicos, a densidade das lemnas e 3 grupos de organismos, os quais foram correlacionadas, permitindo uma visão geral do seu comportamento ao longo do sistema.





## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção apresenta-se o relato de situações peculiares encontradas no período de adaptação do sistema piloto e os resultados da etapa de partida e operação do sistema piloto em quatro itens, quais sejam: (i) desempenho do sistema de lagoas no tratamento de esgoto doméstico; (ii) estratificação e homogeneidade das lagoas; (iii) avaliação da biomassa; e (iv) avaliação da microbiota.

### 5.1 PERÍODO DE ADAPTAÇÃO DO SISTEMA

O período de adaptação do sistema piloto teve por objetivo a adaptação das lemnas ao esgoto doméstico e serviu igualmente para o treinamento da equipe para as coletas, análises e conhecimento do funcionamento do sistema de tratamento. Nesse período, ocorreu um problema, onde as lemnas sofreram com o aparecimento de insetos predadores (Figura 11), o que afetou significativamente o crescimento das macrófitas, acumulando a concentração de nitrogênio amoniacal no sistema, conseqüentemente reduzindo a eficiência no tratamento do esgoto.

Figura 11 – Predação por insetos em Lagoas de Lemnas.



Nesta etapa foi observado que a elevada concentração média de nitrogênio amoniacal ( $88,4 \text{ mg N-NH}_3\cdot\text{L}^{-1}$ ) conjuntamente com a

presença de pulgões e girinos em grandes quantidades comprometeram a eficiência do tratamento. Observou-se que a ação destes organismos retardou o desenvolvimento das plantas ocasionando o acúmulo de nitrogênio amoniacal, a qual pode apresentar toxicidade quando em altas concentrações. Como na lagoa 1 foi identificado maior número desses predadores, o desempenho de L1 foi menor que L2, que subjetivamente deveria apresentar uma maior eficiência devido à alta carga recebida em comparação à L2.

Com base nesses problemas encontrados, a operação do sistema foi interrompida por 15 dias, e medidas foram tomadas para a recuperação das macrófitas. A remoção da biomassa foi suspensa, bem como a aplicação de esgoto no sistema. Para conter o desenvolvimento dos predadores, foi utilizado um inseticida natural, a base de tabaco (*Nicotiana tabacum*) evitando-se assim a aplicação de produtos químicos que poderiam comprometer a microbiota nas lagoas. Após a diminuição dos predadores e a recuperação das lemnas, a operação do sistema foi retomada, no início da primavera.

## 5.2 DESEMPENHO DO SISTEMA DE LAGOAS NO TRATAMENTO TERCIÁRIO DE ESGOTO DOMÉSTICO

Os resultados de eficiência obtidos a partir dos parâmetros físicos e químicos analisados, para amostras coletadas nos pontos de entrada e saída de cada unidade, ao longo do ano, estão demonstrados pela média das concentrações, desvio padrão e porcentagem de remoção dos parâmetros analisados, em todo o período estudado conforme a tabela 4. De forma geral, nota-se que as lagoas de lemnas desempenharam uma alta eficiência na redução dos parâmetros analisados, principalmente em relação à remoção dos nutrientes, para os quais as eficiências atingiram valores superiores a 90%. Para avaliar as influências climáticas sazonais, os resultados de eficiência, e as médias de concentrações obtidas foram estudadas em função das estações do ano, e estão demonstradas nas tabelas presentes no apêndice 1.

Tabela 4 – Valores médios, desvio padrão e eficiência de remoção dos parâmetros avaliados, em todas as etapas do sistema de tratamento.

| Parâmetros                                  | n  | EL1         | SL1         | Eficiência da L1 (%) | SL2         | Eficiência da L2 (%) | Eficiência Final (%) |
|---|----|-------------|-------------|----------------------|-------------|----------------------|----------------------|
| <b>DQO (mg.L<sup>-1</sup>)</b>              | 41 | 99,7 ± 52,6 | 37,4 ± 11,6 | 62,4                 | 32,9 ± 13,7 | 12,2                 | 67,0                 |
| <b>DBO (mg.L<sup>-1</sup>)</b>              | 41 | 76,1 ± 61,7 | 26,7 ± 22,6 | 64,9                 | 10,5 ± 8,5  | 60,6                 | 86,2                 |
| <b>COD (mg.L<sup>-1</sup>)</b>              | 41 | 23,0 ± 7,5  | 11,9 ± 2,4  | 48,2                 | 9,7 ± 2,5   | 18,3                 | 57,7                 |
| <b>NT (mg.L<sup>-1</sup>)</b>               | 41 | 59,4 ± 19,1 | 20,6 ± 10,9 | 65,4                 | 5,3 ± 5,0   | 74,2                 | 91,1                 |
| <b>N-NH<sub>3</sub> (mg.L<sup>-1</sup>)</b> | 41 | 49,2 ± 16,2 | 15,5 ± 6,3  | 68,5                 | 2,1 ± 2,8   | 86,2                 | 95,6                 |
| <b>N-NO<sub>2</sub> (mg.L<sup>-1</sup>)</b> | 41 | 0,07 ± 0,3  | 0,1 ± 0,2   |                      | 0,1 ± 0,1   |                      |                      |
| <b>N-NO<sub>3</sub> (mg.L<sup>-1</sup>)</b> | 41 | 0,02 ± 0,1  | 0,3 ± 0,5   |                      | 0,4 ± 0,7   |                      |                      |
| <b>PT (mg.L<sup>-1</sup>)</b>               | 41 | 6,7 ± 1,9   | 2,1 ± 1,2   | 68,9                 | 0,5 ± 0,7   | 76,6                 | 92,7                 |
| <b>P-PO<sub>4</sub> (mg.L<sup>-1</sup>)</b> | 41 | 3,8 ± 1,9   | 1,2 ± 0,8   | 68,8                 | 0,3 ± 0,5   | 78,0                 | 93,1                 |
| <b>pH</b>                                   | 42 | 7,0 ± 0,2   | 7,0 ± 0,2   |                      | 6,8 ± 0,3   |                      |                      |
| <b>OD (mg.L<sup>-1</sup>)</b>               | 30 | 1,3 ± 1,3   | 1,5 ± 1,5   |                      | 1,3 ± 1,2   |                      |                      |
| <b>T (°C)</b>                               | 42 | 21,8 ± 2,8  | 21,8 ± 2,9  |                      | 22,1 ± 2,9  |                      |                      |
| <b>Turbidez (NTU)</b>                       | 41 | 45,9 ± 37,4 | 3,9 ± 2,3   | 91,4                 | 2,3 ± 1,5   | 42,1                 | 95,0                 |
| <b>SST (mg.L<sup>-1</sup>)</b>              | 41 | 24,3 ± 21,9 | 4,5 ± 2,6   | 81,4                 | 3,6 ± 2,9   | 20,5                 | 85,2                 |
| <b>SSF (mg.L<sup>-1</sup>)</b>              | 41 | 4,6 ± 3,6   | 0,7 ± 0,9   | 84,0                 | 0,6 ± 0,8   | 19,5                 | 87,1                 |
| <b>SSV (mg.L<sup>-1</sup>)</b>              | 41 | 19,9 ± 19,2 | 4,5 ± 2,2   | 77,3                 | 3,9 ± 3,0   | 12,8                 | 80,2                 |
| <b>Coliformes Totais* (NMP/100ml)</b>       | 11 | 1,5E+05     | 7,8E+04     | 47,9                 | 1,5E+04     | 80,3                 | 89,7                 |
| <b><i>E. Coli.</i>* (NMP/100ml)</b>         | 11 | 2,7E+04     | 7,6E+02     | 97,2                 | 6,6E+01     | 91,3                 | 99,7                 |

EL1 – Entrada da Lagoa de Lemnas 1; SL1 – Saída da Lagoa de Lemnas 1; SL2 – Saída da Lagoa de Lemnas 2.

\* Valores representados por média geométrica

### Cargas Aplicadas

A carga orgânica e a carga de nutrientes aplicada nas lagoas de lemnas estão demonstradas na tabela 5. Com relação à remoção de nutrientes encontradas no período experimental, pode-se perceber uma elevada remoção dos compostos fosfatados e nitrogenados quando aplicadas cargas médias de NT e PT de 15 kg.ha<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup> e 1,7 kg.ha<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>, respectivamente, durante as estações estudadas. Contudo, os dados obtidos na avaliação de cada parâmetro serão apresentados e discutidos nos tópicos a seguir.

Tabela 5– Cargas aplicadas nas Lagoas de Lemnas por estação do ano.

| Parâmetros<br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | Carga<br>Aplicada na<br>Primavera<br>(kg.ha <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup> ) | Carga<br>Aplicada no<br>Verão<br>(kg.ha <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup> ) | Carga<br>Aplicada no<br>Outono<br>(kg.ha <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup> ) | Carga<br>Aplicada<br>no Inverno<br>(kg.ha <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup> ) |
|-------------------------------------|--|--|---|--|
| <b>DQO</b>                          | 22,2   | 17,7   | 22,1  | 44,7   |
| <b>DBO</b>                          | 23,1   | 19,9   | 9,0   | 28,2   |
| <b>COD</b>                          | 5,4  | 4,7  | 5,2   | 8,7  |
| <b>NT</b>                           | 19,8   | 12,7   | 10,8  | 14,3   |
| <b>N-NH<sub>3</sub></b>             | 15,8   | 10,6   | 10,7  | 10,1   |
| <b>PT</b>                           | 2,0  | 1,2  | 1,6   | 1,8  |

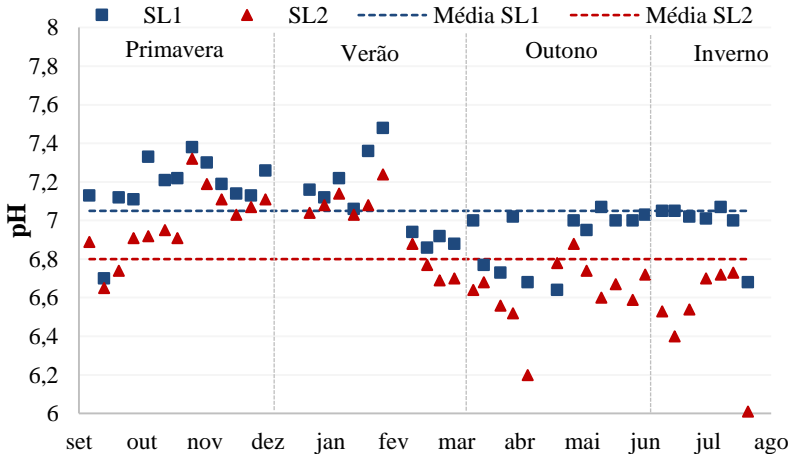
#### 5.2.1 pH

Com a representação gráfica apresentada na figura 12, nota-se que durante a primavera e verão os valores de pH ficaram próximos a neutralidade, permanecendo entre 6,5 e 7,5 nas duas lagoas de lemnas, possibilitando a estabilidade dos processos biológicos. Já durante o outono e inverno, observou-se alguns pontos em que o pH ficou abaixo dessa faixa na L2. Outros autores têm demonstrado valores de pH próximos a neutralidade em estudos realizados com lagoas de lemnas, tanto tratando esgotos sanitários como efluentes da suinocultura (BRUGNAGO, 2014; MOHEDANO, 2010; VERMA *et al.*, 2014).

O pH influencia diretamente o processo de absorção direta de nitrogênio amoniacal pelas macrófitas, pois em pH elevado a amônia apresenta efeito tóxico às lemnas (CAICEDO, 2005). Diferentemente das microalgas, as lemnas fazem trocas gasosas com a atmosfera, portanto não utilizam o CO<sub>2</sub> dissolvido na água e não afetam o equilíbrio do carbonato, mantendo o pH estável durante a fotossíntese. A cobertura das lemnas inibe o desenvolvimento de algas que influenciam no pH durante o ciclo nictemeral.

A presença de cianobactérias na L2 pode ter influenciado diretamente no pH, pois durante o dia, ao realizar a fotossíntese elas retiram o CO<sub>2</sub> da água, aumentando o pH e, durante a noite, a respiração contribui para baixar o pH. Neste estudo, as análises foram realizadas no início da manhã, refletindo o período de pH mais baixo.

Figura 12 - Representação gráfica do pH em função do tempo. SL1-Saída da lagoa 1; SL2- Saída da lagoa 2.



### 5.2.2 Temperatura

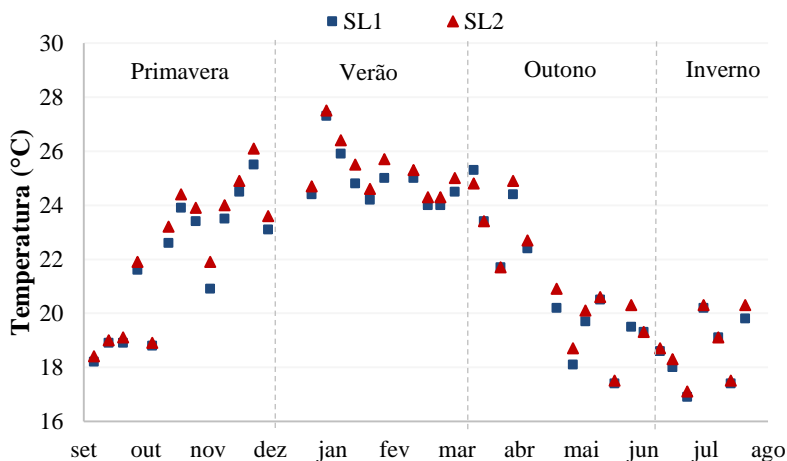
As temperaturas médias em SL1 e SL2 foram de 21,8 °C e 22,1 °C, respectivamente, já a temperatura máxima registrada foi próxima de 27 °C em SL1 e SL2 durante o verão, enquanto a temperatura mínima, no inverno, foi aproximadamente 17,0 °C em SL1 e SL2. Durante o estudo foi observado que a diferença de temperatura entre as lagoas normalmente não ultrapassava 1 °C no mesmo período de medição. A representação da variação da temperatura está apresentada na figura 13.

Para Zhao *et al.* (2015) a temperatura parece ser o fator ambiental mais importante que afeta o crescimento das lemnas. Em seu estudo os autores demonstraram que as menores taxas de crescimento foram medidas no mês mais frio do ano, com temperatura da água média de 9,8 °C. Porém, no presente estudo a média de temperatura da água mais baixa foi de 16,9 °C, com isso destaca-se que o clima da cidade, considerado subtropical, tem influência positiva no funcionamento das lagoas de lemnas e considera-se que as espécies nativas utilizadas nesta pesquisa já

estavam adaptadas ao clima da região.

As lemnas formam uma cobertura que impede a incidência dos raios solares na coluna d'água e as trocas térmicas com a atmosfera evitando estratificações e mudanças abruptas de temperatura. A temperatura influencia em geral nos processos biológicos que ocorrem na lagoa. O efeito da temperatura no crescimento das lemnas e dos microrganismos será discutido nos tópicos correspondentes.

Figura 13 - Representação gráfica da temperatura em função do tempo. SL1- Saída da lagoa 1; SL2- Saída da lagoa 2.



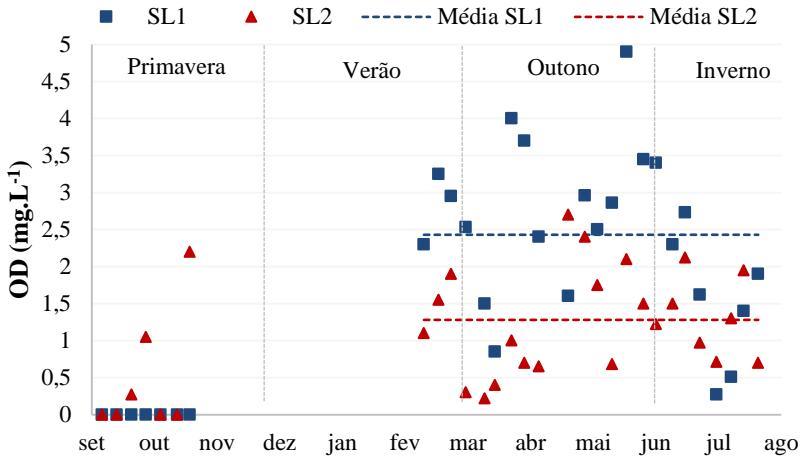
### 5.2.3 Oxigênio Dissolvido (OD)

A medida do oxigênio dissolvido (OD) nas lagoas de lemnas foi realizada nos pontos de saída dentro de cada lagoa, realizada próximo a superfície. Durante os dois primeiros meses de estudo, que caracterizaram a primavera, a concentração de OD observada foi próxima de zero, tanto em SL1 quanto em SL2. Os pontos medidos nas outras estações tiveram como média 2,4 mg.L<sup>-1</sup> e 1,3 mg.L<sup>-1</sup> em SL1 e SL2, respectivamente. Na figura 14 são apresentados os resultados do OD, sendo que no período de novembro a fevereiro não houve medidas devido a problemas no equipamento.

A presença de oxigênio dissolvido em lagoas de lemnas é um ponto divergente entre os autores, conforme descrevem Mohedano et al. (2014), ao mesmo tempo em que a atividade fotossintética favorece a oxigenação,

a cobertura vegetal diminui a superfície de contato com a atmosfera reduzindo a difusão do oxigênio.

Figura 14 - Representação gráfica do oxigênio dissolvido (OD) em função do tempo. SL1-Saída da lagoa 1; SL2- Saída da lagoa 2.



O aumento da concentração de OD encontrado durante o outono e inverno pode estar associado à temperatura das lagoas (variação sazonal), pois os períodos mais frios favorecem a dissolução do OD na água, além de reduzir o metabolismo dos microrganismos e consequentemente o consumo de oxigênio (METCALF & EDDY, 2003).

Ansa *et al.* (2012) relatam valores de OD entre 3,1 mg.L<sup>-1</sup> e 4,5 mg.L<sup>-1</sup> em um sistema de 4 lagoas de lemnas em série tratando esgoto doméstico, sendo que o aumento do valor de OD ocorreu gradativamente em cada lagoa. Zhao *et al.* (2015) avaliaram o OD em lagoas de lemnas durante as estações do ano, e demonstraram que a primavera apresentou a média mais alta entre as estações, que foi de 3,78 mg OD.L<sup>-1</sup>, enquanto nas outras estações as médias variaram entre 2,6 e 2,8 mg OD.L<sup>-1</sup>.

#### 5.2.4 Remoção de Matéria Orgânica

No intuito de simular um esgoto terciário, o afluente bruto era estocado por um longo período conferindo uma baixa concentração de matéria orgânica e alta concentração de nutrientes solúveis. Contudo, mesmo com uma concentração inicial baixa, o sistema de lagoas avaliado apresentou eficiência adequada oxidando a matéria orgânica mais recalcitrante.

Em relação à matéria orgânica oxidável, as lagoas de lemnas (L1 e L2), trabalhando em conjunto, alcançaram uma remoção total de DQO de 67% durante o período estudado (Tabela 4). A maior eficiência em todas as estações foi de L1, pois a eficiência do sistema está correlacionada com a carga aplicada, sendo que há uma redução na eficiência da remoção de poluentes com a redução da carga aplicada.

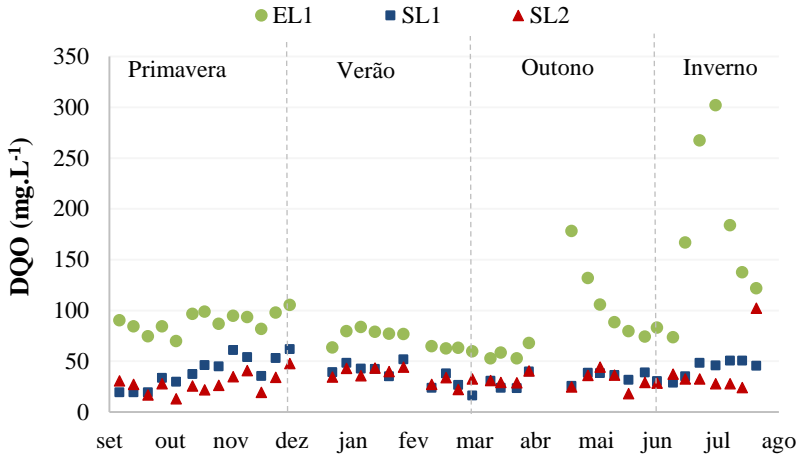
A carga total aplicada em L1 durante o período do estudo foi de 22,2 kg DQO.ha<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>, 17,7 kg DQO.ha<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>, 22,1 kg DQO.ha<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>, e 44,7 kg DQO.ha<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>, na primavera, verão, outono e inverno, respectivamente (Tabela 5). Nos períodos de outono e inverno observou-se um aumento na concentração de DQO afluente ao sistema, porém, observando a figura 15, percebe-se que o sistema absorveu essa variação de entrada, mostrando sua estabilidade.

Ran *et al.* (2004) descreveram eficiência de remoção de 67,5% de DQO em um sistema de tratamento de efluentes utilizando *Lemna Gibba*, com concentração de entrada média de 298 mg DQO.L<sup>-1</sup>. Já Sims *et al.* (2013) estudando duas lagoas de lemnas em série obtiveram eficiência de remoção de 83% na primeira lagoa e 85% na segunda, com concentração média afluente de 111mg DQO.L<sup>-1</sup>. Estudos anteriores usando lemnas para tratar efluente doméstico têm mostrado eficiência de remoção de DQO variando entre 50 e 95% (KRISHNA *et al.*, 2008; KORNER *et al.*, 2003).

Com concentração de DQO média de 99,7 mg.L<sup>-1</sup>, a relação entre a demanda química de oxigênio e a demanda bioquímica (DQO/DBO<sub>5</sub>) foi de 1,3. A relação encontrada é baixa, indicando um esgoto bruto com elevada fração biodegradável, sendo indicado para o tratamento biológico (VON SPERLING 2005).



Figura 15 - Representação gráfica da concentração de DQO no tempo. EL1- Entrada da lagoa 1; SL1-Saída da lagoa 1; SL2- Saída da lagoa 2. retirar quadro das bordas do gráfico

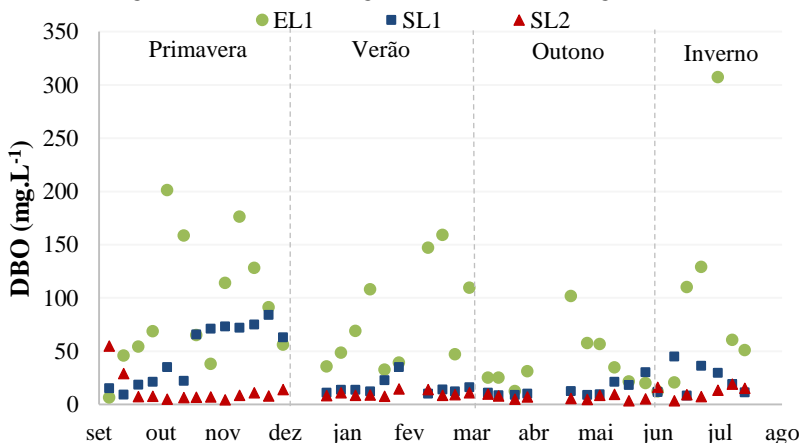


Em relação à demanda bioquímica de oxigênio ( $DBO_5$ ), as lagoas de lemnas (L1 e L2), trabalhando em conjunto, alcançaram remoção total de 86,2%, a partir da concentração média de entrada de  $76,1 \text{ mg } DBO_5.L^{-1}$  durante o período estudado. O efluente final teve concentração média de  $10,5 \text{ mg } DBO_5.L^{-1}$  estando abaixo do padrão de lançamento CONAMA 430/2011 exigido (60% de remoção) e da legislação do estado de Santa Catarina, Lei n° 14.675/2009, que impõe um limite máximo para lançamento de  $60 \text{ mg/L}$ .

As lagoas de lemnas apresentaram boa eficiência comparadas a outros sistemas, como de Ran *et al.* (2004) que descreveram eficiência de remoção de 70,6% de  $DBO_5$  em um sistema de tratamento de efluentes utilizando *Lemna Gibba*, com concentração de entrada média de  $141,8 \text{ mg } DBO_5.L^{-1}$  e Brugnago (2014) que relatou eficiência de remoção de 92% utilizando a espécie *Landoltia punctata* no tratamento de esgoto doméstico, com concentração de entrada média de  $86 \text{ mg } DBO_5.L^{-1}$ .

Sabe-se que a degradação da matéria orgânica em lagoas de lemnas ocorre principalmente pela ação de microrganismos aeróbios e anaeróbios fixados nas plantas, presentes na coluna d'água e no sedimento (CROSS, 2006). A formação de uma zona aeróbia na rizosfera favorece o crescimento de microrganismos aeróbios que degradam  $DBO_5$ . Os microrganismos encontrados no presente trabalho pelas análises de microscopia e biologia molecular elucidam o potencial dessa via de remoção, como será apresentado adiante.

Figura 16 - Representação gráfica da concentração de DBO no tempo. EL1- Entrada da lagoa 1; SL1-Saída da lagoa 1; SL2- Saída da lagoa 2.

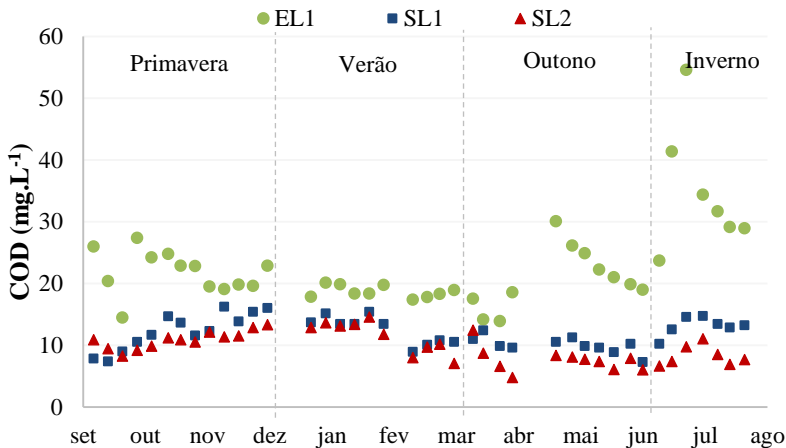


A análise de carbono orgânico dissolvido (COD) é uma medida direta de carbono orgânico, o qual é liberado na forma de CO<sub>2</sub>. É uma análise complementar à DBO e DQO e representa a parcela de matéria orgânica dissolvida no efluente. Quanto à fração particulada, sabe-se que em lagoas, o carbono particulado tende a ir para o fundo sendo degradado e liberando moléculas orgânicas solúveis, como ácidos orgânicos.

Os resultados das análises de COD demonstraram que o sistema de lagoas de lemnas obteve uma eficiência média de 57,7%, onde a média de concentração na entrada de L1 foi de 23,0 mg COD.L<sup>-1</sup>, e a média da saída de L2 foi de 9,7 mg COD.L<sup>-1</sup>.

Conforme demonstra a figura 17, o sistema de lagoas de lemnas foi estável com relação ao efluente na SL2. A variação do esgoto doméstico afluyente não influenciou o desempenho das lagoas, com isso, pode-se destacar a estabilidade do sistema na remoção do carbono.

Figura 17 - Representação gráfica da concentração de COD no tempo. EL1- Entrada da lagoa 1; SL1-Saída da lagoa 1; SL2- Saída da lagoa 2.



### 5.2.5 Remoção de Sólidos

Os resultados das análises de sólidos suspensos totais (SST) demonstraram que o sistema obteve uma eficiência média de 85,2%, onde a média de concentração na entrada de L1 foi de 24,3 mg SST.L<sup>-1</sup>, e a média da saída de L2 foi de 3,6 mg SST.L<sup>-1</sup>, conforme mostra a tabela 4.

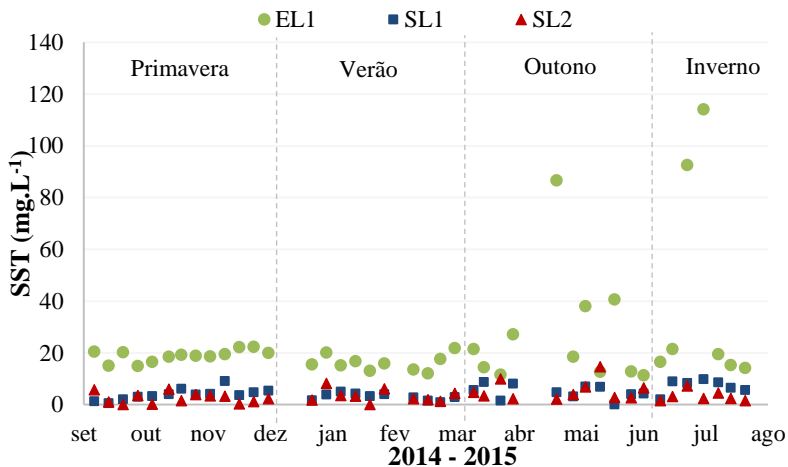
A variação da eficiência não sofreu influência da sazonalidade, uma vez que mesmo nos meses mais frios do ano o sistema ainda apresentou uma remoção de 92,3%. A variação da concentração inicial de SST no sistema está diretamente relacionada com a carga orgânica aplicada, e o sistema demonstrou uma grande estabilidade, visto que o sistema absorveu o aumento de SST aplicados, aumentando a remoção e mantendo a baixa concentração de saída dos SST. Destaca-se que devido ao tempo de armazenamento, os sólidos sedimentáveis ficaram retidos nos tanques de armazenamento, conferindo uma baixa concentração no afluyente do sistema.

Os resultados apresentados podem ser comparados com o trabalho de Ran *et al.* (2004), que descreveram eficiência de remoção para SST de 77,7% em um sistema de tratamento de efluentes utilizando *Lemna Gibba*, com concentração afluyente média de 64,9 mg SST.L<sup>-1</sup>.

Ressalta-se ainda que a elevada concentração de organismos zooplânctônicos encontrada, a qual será discutida posteriormente, apresenta influência direta no consumo de matéria orgânica particulada e

na remoção de sólidos.

Figura 18 - Representação gráfica da concentração de Sólidos Suspensos Totais (SST) no tempo. EL1- Entrada da lagoa 1; SL1- Saída da lagoa 1; SL2- Saída da lagoa 2.



Conforme a tabela 4, a média de sólidos suspensos voláteis (SSV) na entrada no sistema foi de 19,9 mg SSV.L<sup>-1</sup> e na saída foi de 3,9 mg SSV.L<sup>-1</sup>, com eficiência de remoção global de 80,2%. A relação SSV/SST média foi de 0,81, a qual evidencia a predominância de matéria orgânica no esgoto afluyente (fração volátil).

Para os sólidos suspensos fixos (SSF), a média de entrada no sistema foi de 4,6 mg SSF.L<sup>-1</sup> e saída de 0,6 mg SSF.L<sup>-1</sup>, com eficiência de remoção global de 87,1%. Com relação à natureza química dos sólidos, nota-se que a relação SSF/SST média foi de 0,19, demonstrando que 19% dos sólidos referem-se à parcela inorgânica (fixos). As representações gráficas para SSV e SSF estão no apêndice 2.

### 5.2.6 Remoção de Nutrientes

A absorção de nutrientes é o mecanismo predominante de remoção em sistemas de tratamento de efluentes utilizando lemnas (KORNER *et al.*, 1998b). Neste sentido, Zhao *et al.* (2015) ponderam que a contribuição de microrganismos na remoção de nutrientes pode ser limitada, quando comparada à outras macrófitas, pois a lemna tem um sistema radicular pequeno, onde os microrganismos são facilmente

perdidos com o efluente.

Para explorar a capacidade das lemnas, alguns estudos têm utilizado um tratamento primário anaeróbio para melhorar o desempenho das lagoas de lemnas no tratamento de efluentes, particularmente na remoção de nutrientes (MOHEDANO, 2012b; XU e SHEN, 2011). E ainda, as macrófitas lemnáceas apresentam um diferencial no tratamento de efluentes que é a captação preferencial de nitrogênio sob a forma de amônia.

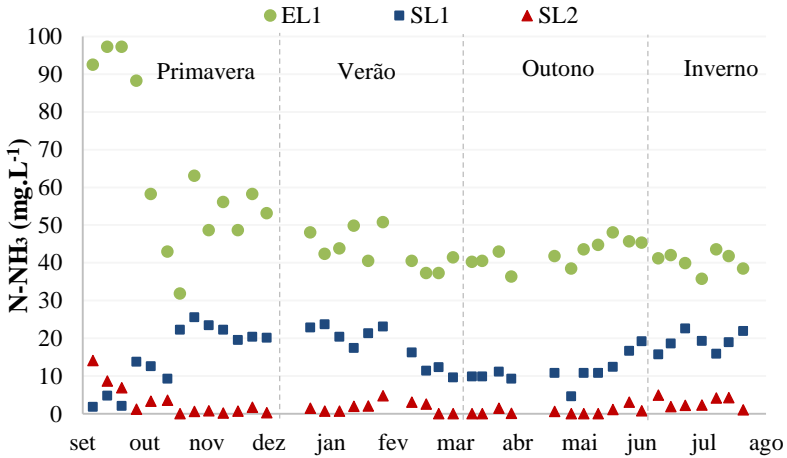
### *Nitrogênio*

Na figura 19 tem-se a variação da concentração de  $N-NH_3$  em função do tempo nas duas lagoas. Ao longo do estudo, a concentração média de entrada foi de  $49,2 \text{ mg } N-NH_3.L^{-1}$  e a saída foi de  $2,1 \text{ mg } N-NH_3.L^{-1}$ , ressaltando-se que o período com maior variação na concentração afluente foi a primavera. A remoção média foi de 95,6%, sendo que L2 teve a maior porcentagem de remoção, em todas as estações. A concentração de nitrogênio amoniacal, ao final do sistema, encontra-se em níveis abaixo do máximo de  $20 \text{ mg } N-NH_3.L^{-1}$  permitidos pela legislação ambiental (CONAMA, 430/2011), evidenciando a efetividade do sistema para o polimento do efluente.

Os valores encontrados estão de acordo com outros estudos, como Xu e Shen (2011) que testaram algumas variações nas concentrações de nutrientes iniciais, utilizando *S. oligorrhiza* para tratamento de dejetos suínos. Para uma concentração inicial de  $52,1 \text{ mg } N-NH_4.L^{-1}$ , os autores obtiveram remoções de 85,3% e 100% após uma e duas semanas, respectivamente. Zhao *et al.* (2015) considerando a variação sazonal das lemnas no tratamento de efluentes, concluíram que a remoção de  $N-NH_4^+$  foi maior durante o verão e o outono, com uma concentração média afluente de  $18 \text{ mg } N-NH_4^+.L^{-1}$ . Brugnago (2014) obteve remoção de 88% aplicando uma concentração média de  $49 \text{ mg } N-NH_3.L^{-1}$  no sistema.

No caso das lagoas de lemnas estudadas, percebe-se na figura 19 que as lagoas suportaram a variação de carga de nitrogênio amoniacal aplicada, onde L1 apresentou variação na concentração final ao longo do ano, e L2 conseguiu absorver essa variação, demonstrando a estabilidade do sistema e a importância da L2 no tratamento. Não foi verificada a influência da sazonalidade na eficiência do tratamento, visto a leve variação na concentração efluente de L2 ao longo das estações do ano.

Figura 19 - Representação gráfica da concentração de N-NH<sub>3</sub> no tempo. EL1- Entrada da lagoa 1; SL1- Saída da lagoa 1; SL2- Saída da lagoa 2.

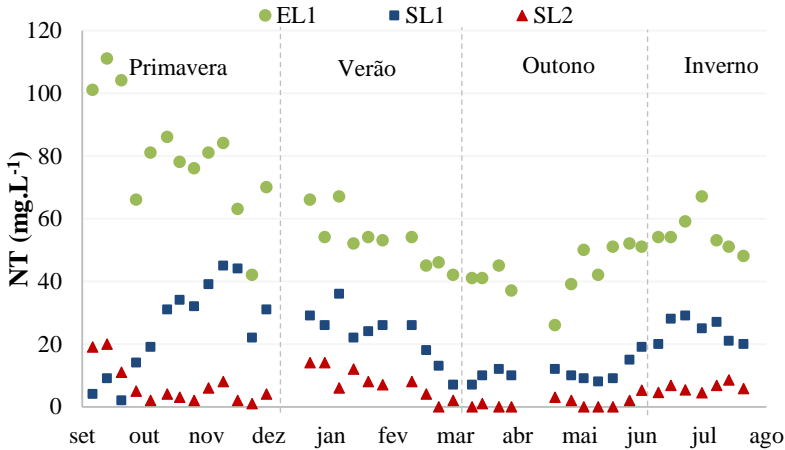


Na figura 20 tem-se a variação da concentração de NT em função do tempo nas duas lagoas. A concentração média de entrada nas lagoas de lemnas foi de 59,4 mg NT.L<sup>-1</sup> e saída média de 5,3 mg NT.L<sup>-1</sup>, com eficiência de remoção média de 91,1%, sendo que L2 teve a maior porcentagem de remoção, em todas as estações.

As eficiências de remoção encontradas foram superiores a alguns estudos, como Xu e Shen (2011) obtiveram uma remoção NT de 27,5% e 41,6% após uma e duas semanas, respectivamente, com concentração inicial de 58,4 mg NT.L<sup>-1</sup>. Zhao *et al.* (2015) relataram que seus melhores resultados de remoção de NT foram durante o verão e o outono, tendo 56% de remoção a partir da concentração média de 26,2 mg NT.L<sup>-1</sup>. No presente estudo, a maior remoção apresentada ocorreu durante o outono (97,2%), com concentração média de entrada de 43,2 mg NT.L<sup>-1</sup> e saída média de 1,2 mg NT.L<sup>-1</sup>.

Destaca-se que crescimento das lemnas está diretamente relacionado com a carga de nitrogênio aplicada, sendo que a maior taxa de crescimento superficial (5,91 g.m<sup>-2</sup>.d<sup>-1</sup>) foi encontrada na primavera, quando aplicada a maior carga de NT (19,8 kg NT.ha<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>), confirmando que a absorção pelas lemnas é a principal via de remoção de nitrogênio.

Figura 20 - Representação gráfica da concentração de NT no tempo. EL1- Entrada da lagoa 1; SL1-Saída da lagoa 1; SL2- Saída da lagoa 2.



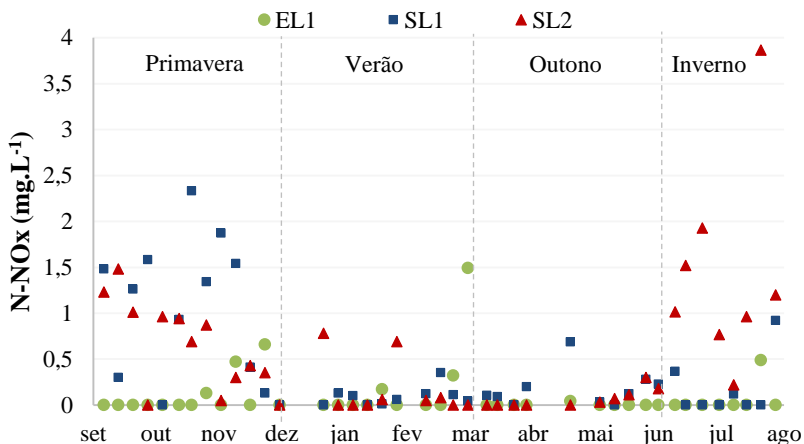
Conforme apresentado na tabela 4, para o nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) a concentração média de entrada nas lagoas de lençóis foi de  $0,07 \text{ mg N-NO}_2^- \cdot \text{L}^{-1}$  e saída média de  $0,1 \text{ mg N-NO}_2^- \cdot \text{L}^{-1}$ . Zhao *et al.* (2015) também descrevem baixas concentrações de nitrito tanto no afluente quanto no efluente de lagoas de lençóis, todas abaixo de  $1 \text{ mg N-NO}_2^- \cdot \text{L}^{-1}$ .

Para o nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) a concentração média de entrada nas lagoas de lençóis foi de  $0,02 \text{ mg N-NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$  e saída de  $0,4 \text{ mg N-NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$ .

Sims *et al.* (2013) obtiveram uma eficiência global de 86% de remoção de nitrato em duas lagoas de lençóis, trabalhando com concentração afluente de  $2,3 \text{ mg N-NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$ . Os autores relatam um efluente tratado com concentração média de  $0,7 \text{ mg N-NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$ .

No gráfico da figura 21 estão apresentadas as concentrações de  $\text{N-NO}_x$  ao longo do período de estudo.

Figura 21 - Representação gráfica da concentração de N-NO<sub>x</sub> (N-NO<sub>2</sub> + N-NO<sub>3</sub>) no tempo. EL1- Entrada da lagoa 1; SL1-Saída da lagoa 1; SL2- Saída da lagoa 2.



### Fósforo

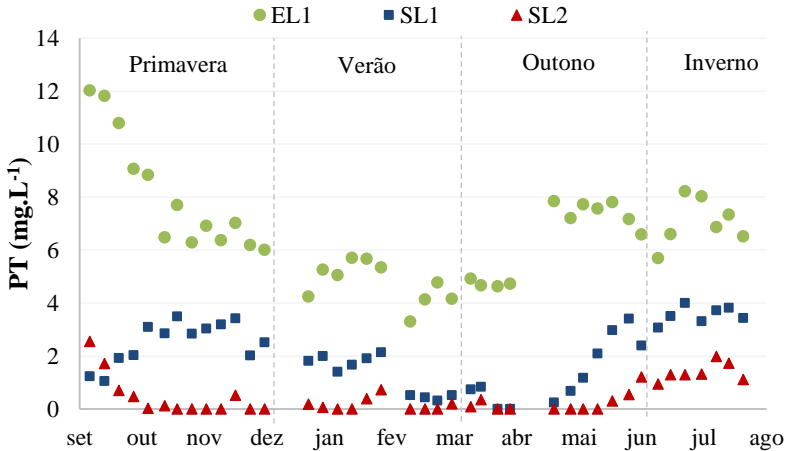
Para o fósforo total, a concentração média de entrada nas lagoas foi de 6,7 mg PT.L<sup>-1</sup> e saída média de 0,5 mg PT.L<sup>-1</sup>. A eficiência de remoção das lagoas alcançou 92,7%, sendo que a maior parte da remoção ocorreu em L2 em todas as estações. Destaca-se que durante todo o período experimental, a remoção de PT foi satisfatória, atendendo a legislação estadual Lei 14675/2009 (SANTA CATARINA, 2009) que estabelece o limite de 4 mg PT.L<sup>-1</sup> para o lançamento de efluentes em corpos d'água lênticos. A remoção encontrada também satisfaz limites internacionais mais restritivos, como os requisitos da União Européia (COUNCIL OF THE EUROPEAN COMMUNITIES, 1991), que variam de 1 a 2 mg.L<sup>-1</sup> de acordo com o tamanho da população.

Os valores encontrados nesse estudo foram superiores aos relatados por outras literaturas, como exemplo, Xu e Shen (2011) testando variações dos nutrientes iniciais, em um sistema de tratamento de dejetos suínos utilizando *S. oligorrhiza*, os quais obtiveram uma remoção PT de 27,5% e 44,3% após uma e duas semanas, respectivamente, com concentração inicial de 15,9 mg PT.L<sup>-1</sup>. Zhao *et al.* (2015) relatam que a maior remoção de PT ocorreu durante o verão e o outono, trabalhando com concentrações iniciais médias de 3,5mg PT.L<sup>-1</sup>. Já Brugnago (2014) obteve 71% de remoção trabalhando com concentração média inicial de 14 mg PT.L<sup>-1</sup>.



No meio ambiente a ótima remoção de fósforo do sistema implica diretamente na redução da eutrofização do corpo receptor, ajudando na manutenção do equilíbrio meio aquático, aumentando os níveis de oxigênio dissolvido no meio e a transparência da água.

Figura 22 - Representação gráfica da concentração de PT no tempo. EL1- Entrada da lagoa 1; SL1-Saída da lagoa 1; SL2- Saída da lagoa 2.

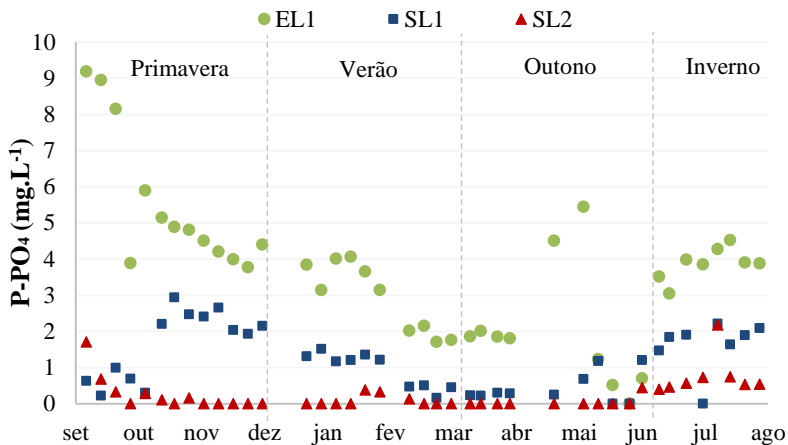


O gráfico da figura 22 demonstra a estabilidade do sistema durante a primavera, verão e outono, em que as lagoas de lemnas suportaram a variação da carga afluyente, mantendo o bom desempenho do sistema. Já no inverno, conforme o aumento da carga afluyente observou-se um aumento na concentração final na saída da L2.

Para o fosfato, a concentração média de entrada nas lagoas foi de 3,8 mg P-PO<sub>4</sub>.L<sup>-1</sup> e saída média de 0,3 mg P-PO<sub>4</sub>.L<sup>-1</sup>. A eficiência de remoção das lagoas alcançou 93,1%. A maior remoção de fosfato em sistemas de tratamento de efluentes com lemnas pode ser atribuída a absorção pelas lemnas e microrganismos e a sedimentação (KORNER *et al.*, 2003; SIMS *et al.*, 2013).

Os valores obtidos na pesquisa apresentam-se superiores aos descritos na literatura, como é o caso de Sims *et al.* (2013) estudando duas lagoas de lemnas em série, que obtiveram remoção P-ortofosfato de 53% e 60% na primeira e segunda lagoa, respectivamente, enquanto Brugnago (2014) obteve remoção de 68% com concentração média inicial de 10 mg PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>.L<sup>-1</sup>.

Figura 23 - Representação gráfica da concentração de P-PO<sub>4</sub> no tempo. EL1- Entrada da lagoa 1; SL1-Saída da lagoa 1; SL2- Saída da lagoa 2.



O sistema teve uma boa remoção de P-PO<sub>4</sub> durante o ano (93,1%). Na primavera, verão e outono manteve-se estável às variações do afluente, e durante o inverno a concentração de saída da L2 sofreu um breve aumento de 0,8 mg P-PO<sub>4</sub>.L<sup>-1</sup>.

### 5.2.7 Remoção de Coliformes Totais e Fecais

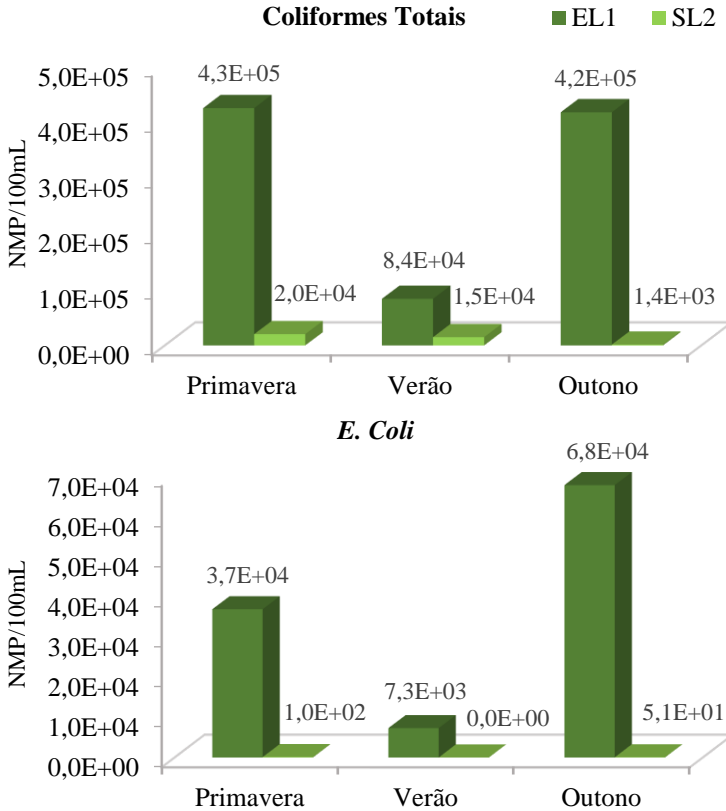
No presente estudo obteve-se redução de coliformes totais de 1 unidade log (1,5x10<sup>5</sup> para 1,5x10<sup>4</sup> NMP/100mL). Já para coliformes fecais (*E. coli*) a redução foi de 2,6 unidades log (2,7x10<sup>4</sup> para 6,6x10<sup>1</sup> NMP/100mL). A maior redução foi durante o outono para os dois parâmetros, conforme apresentado na figura 24.

Em lagoas de lemnas, a remoção de coliformes fecais relatada na literatura por diversos autores normalmente é significativa, como é o caso de El-Shafai *et al.* (2007), que alcançaram uma remoção de 4 unidades logarítmicas durante o verão e de 3 unidades log durante o inverno. Brugnago (2014) alcançou uma remoção de 2 unidades log tanto para coliformes totais como fecais (*E. coli*).

A remoção de coliformes pode ser influenciada por organismos predadores no sistema de tratamento. Segundo Ansa *et al.* (2012), o principal alimento disponível para os ostrácodos nas lagoas de lemnas são as bactérias incluindo os coliformes fecais, o que pode explicar a redução desses patógenos nas lagoas, porém os autores ressaltam que outras

investigações são necessárias para verificar essa teoria. No presente trabalho, os ostrácodos foram encontrados em quantidades consideráveis na rizosfera das lemnas, podendo ter influência na remoção desses patógenos, como será apresentado adiante.

Figura 24 - Redução de coliformes totais e *E. coli* nas lagoas de lemnas, sazonalmente. Valores representados por média geométrica.



### 5.3 ESTRATIFICAÇÃO E HOMOGENEIDADE DAS LAGOAS

Com o intuito de verificar a estratificação e a homogeneidade das lagoas, foram coletadas amostras ao longo dos perfis longitudinal e vertical, conforme apresentado no item 4.5.

O modelo estatístico ANOVA (Teste Tukey) foi aplicado nos dados obtidos no período de monitoramento nas L1 e L2, a fim de

verificar diferenças significativas entre os perfis longitudinais (A, B e C) e entre as profundidades amostrais (10, 25 e 35 cm) ao longo do período de monitoramento. Os valores médios foram agrupados e representados por letras, ou seja, valores de mesma letra representam médias sem diferenças estatísticas significativas. Os resultados da aplicação do teste para L1 e L2 na primavera estão apresentados na tabela 6. As tabelas com os resultados das demais estações avaliadas estão apresentadas no Apêndice 3.

Observou-se, ao nível de significância de 0,05 (5%), que as variáveis apresentaram maiores diferenças significativas quando avaliados de acordo com a profundidade (perfil vertical), comparadas ao perfil longitudinal.

Quanto ao perfil vertical (10, 25 e 35 cm) algumas variações significativas foram encontradas nas camadas, principalmente na primavera (Tabela 6). Em L1, as variações ocorreram na primavera (para as variáveis N-NH<sub>3</sub>, NT, N-NO<sub>3</sub>, P-PO<sub>4</sub> e COD) e no verão (para o parâmetro OD). Com relação ao nitrogênio amoniacal e ao nitrogênio total, nota-se que a profundidade de 10 cm apresentou a menor média comparada às camadas mais profundas, demonstrando a absorção de nutrientes pelas lemnas na camada superficial. Em L2, as variações ocorreram na primavera e no outono para os parâmetros T e OD, os quais apresentaram médias maiores na camada superficial; no verão apenas o N-NH<sub>3</sub> apresentou variação.

Quanto ao perfil horizontal (A, B e C) poucas variações significativas foram encontradas, havendo diferenças consideráveis estatisticamente em L1, nas estações de primavera (para as variáveis temperatura, pH) e outono (para os parâmetros N-NH<sub>3</sub>, pH e OD). Em L2, as variações ocorreram na primavera (para os parâmetros P-PO<sub>4</sub> e pH) e no verão apenas a temperatura apresentou variação. No outono o pH apresentou variação e no inverno o OD variou. A ocorrência de baixa estratificação dos parâmetros estudados pode ser explicada pela baixa profundidade das lagoas (40 cm), aliadas a pouca turbulência pelo vento, devido a proteção das lemnas e bordas da lagoa.

Tabela 6: Comportamento das variáveis em relação a profundidade das lagoas na primavera (Teste de Tukey).

| <b>Lagoa 1</b>             |   |                             |  |  |  |        |         |                              |                              |   |
|----------------------------|---|-----------------------------|--|--|--|--------|---------|------------------------------|------------------------------|---|
| <b>Perfil Vertical</b>     | <b>Valores médios ao longo do monitoramento – Primavera (n=6)</b> |                             |  |  |  |        |         |                              |                              |   |
|                            | N-NH <sub>3</sub><br>(mg.L <sup>-1</sup> )                        | NT<br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | N-NO <sub>2</sub><br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | N-NO <sub>3</sub><br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | P-PO <sub>4</sub><br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | pH     | T (°C)  | OD*<br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | COD<br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | Clorofila <i>a</i><br>(µg.L <sup>-1</sup> ) |
| <b>10cm</b>                | 12,10b  | 14,33b                      | 0,31a                                      | 1,99a                                      | 0,76a                                      | 6,81a  | 20,17a  | 0,00a                        | 10,30a                       | 1,86a                                       |
| <b>25cm</b>                | 17,40a  | 23,67a                      | 0,28a                                      | 1,10b                                      | 0,97a                                      | 6,83a  | 19,93a  | 0,00a                        | 10,39a                       | 53,94c                                      |
| <b>35cm</b>                | 21,90a  | 27,33a                      | 0,22a                                      | 0,32c                                      | 1,54b                                      | 6,88a  | 19,80a  | 0,00a                        | 11,77b                       | 14,88b                                      |
| <b>Perfil Longitudinal</b> |   |                             |  |  |  |        |         |                              |                              |   |
| <b>A</b>                   | 17,90a  | 21,00a                      | 0,31a                                      | 0,99a                                      | 1,21a                                      | 6,93a  | 19,60a  | 0,00a                        | 14,91a                       | 0,00a                                       |
| <b>B</b>                   | 15,70a  | 23,67a                      | 0,29a                                      | 1,18a                                      | 1,09a                                      | 6,92a  | 20,00ab | 0,00a                        | 14,84a                       | 7,44b                                       |
| <b>C</b>                   | 17,80a  | 20,67a                      | 0,21a                                      | 1,23a                                      | 0,97a                                      | 6,67b  | 20,30b  | 0,00a                        | 13,29a                       | 0,00a                                       |
| <b>Lagoa 2</b>             |   |                             |  |  |  |        |         |                              |                              |   |
| <b>Perfil Vertical</b>     | <b>Valores médios ao longo do monitoramento – Primavera (n=6)</b> |                             |  |  |  |        |         |                              |                              |   |
|                            | N-NH <sub>3</sub><br>(mg.L <sup>-1</sup> )                        | NT<br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | N-NO <sub>2</sub><br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | N-NO <sub>3</sub><br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | P-PO <sub>4</sub><br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | pH     | T (°C)  | OD*<br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | COD<br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | Clorofila <i>a</i><br>(µg.L <sup>-1</sup> ) |
| <b>10cm</b>                | 1,70a   | 3,00a                       | 0,00a                                      | 0,18a                                      | 0,04a                                      | 6,55a  | 21,5b   | 0,17b                        | 8,29a                        | 0,00a                                       |
| <b>25cm</b>                | 1,70a   | 12,0a                       | 0,00a                                      | 0,34a                                      | 0,09a                                      | 6,52a  | 21,07a  | 0,00a                        | 8,31a                        | 0,00a                                       |
| <b>35cm</b>                | 2,00a   | 2,67a                       | 0,00a                                      | 0,27a                                      | 0,05a                                      | 6,45a  | 20,90a  | 0,00a                        | 8,83a                        | 3,72b                                       |
| <b>Perfil Longitudinal</b> |   |                             |  |  |  |        |         |                              |                              |   |
| <b>A</b>                   | 1,40a   | 13,00a                      | 0,00a                                      | 0,34a                                      | 0,14b                                      | 6,42a  | 21,07a  | 0,03a                        | 8,55a                        | 0,00a                                       |
| <b>B</b>                   | 1,80a   | 2,00a                       | 0,00a                                      | 0,24a                                      | 0,00a                                      | 6,49ab | 21,20a  | 0,06a                        | 8,04a                        | 0,00a                                       |
| <b>C</b>                   | 2,20a   | 2,67a                       | 0,00a                                      | 0,21a                                      | 0,04a                                      | 6,61b  | 21,20a  | 0,08a                        | 9,09a                        | 3,72b                                       |

\* n=2;

Valores seguidos da mesma letra não diferem entre si, ao nível de 5% de significância pelo Teste de Tukey.

## 5.4 AVALIAÇÃO DA BIOMASSA

Na tabela 7 estão apresentadas as médias das taxas de crescimento específico (TCE) e taxas de crescimento superficial (TCS), encontradas nas duas lagoas de lemnas durante as estações do ano.

Tabela 7 – Taxas de crescimento específico e taxas de crescimento superficial das lagoas de lemnas durante o ano. Valores representados por média geométrica.

|  | Lagoa | Primavera<br>(n=23) | Verão<br>(n=18) | Outono<br>(n=11) | Inverno<br>(n=5) |
|--|-------|---------------------|-----------------|------------------|------------------|
| <b>TCE (g.g<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>)</b> | L1    | 0,084               | 0,081           | 0,087            | 0,126            |
| <b>TCS (g.m<sup>-2</sup>.d<sup>-1</sup>)</b> | L1    | 5,91                | 4,99            | 3,83             | 4,52             |
| <b>TCE (g.g<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>)</b> | L2    | 0,067               | 0,034           | 0,028            | 0,054            |
| <b>TCS (g.m<sup>-2</sup>.d<sup>-1</sup>)</b> | L2    | 4,88                | 2,26            | 2,49             | 2,06             |

As médias das taxas de crescimento específico (TCE) obtidas durante o estudo, tanto de L1 quanto de L2, ficaram abaixo dos valores encontrados por Mohedano (2010) e Bergmann *et al.* (2000), que obtiveram 0,24 g.g<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup> e 0,3 g.g<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>, respectivamente, utilizando a mesma espécie (*Landoltia punctata*).

A taxa de crescimento superficial (TCS) representa a produção de biomassa (em peso seco) em relação a uma determinada área (m<sup>2</sup>). O rendimento das lagoas é semelhante à média obtida por Zhao *et al.* (2015), que foi de 6,1 g.m<sup>-2</sup>.d<sup>-1</sup> (peso seco), tendo a taxa mais baixa no mês mais frio (3,27 g.m<sup>-2</sup>.d<sup>-1</sup>). Porém, quando comparado ao obtido por El-Shafai *et al.* (2007) (13,8 g.m<sup>-2</sup>.d<sup>-1</sup>), o rendimento encontrado foi baixo.

Na tabela 8 estão apresentadas as médias dos tempos de permanência da biomassa (TP) encontradas nas duas lagoas de lemnas durante as estações do ano. Este valor foi calculado afim de representar o tempo médio em que as lemnas permaneceram nas lagoas para avaliar sua influência no crescimento do biofilme formado, e consequentemente nas bactérias presentes na rizosfera. Que será discutido na parte de monitoramento do biofilme no item 5.5.

Tabela 8 – Tempo de permanência médio (TP) da biomassa nas lagoas de lemnas durante o ano. Valores representados por média geométrica.

|               | Lagoa | Primavera<br>(n=23) | Verão<br>(n=18) | Outono<br>(n=11) | Inverno<br>(n=5) |
|---------------|-------|---------------------|-----------------|------------------|------------------|
| <b>TP (d)</b> | L1    | 14,6                | 12,3            | 11,5             | 7,3              |
| <b>TP (d)</b> | L2    | 15,5                | 29,1            | 35,6             | 18,9             |

Com o intuito de avaliar o efeito da cobertura de lemnas sobre os parâmetros indicadores, os valores da densidade da biomassa ( $\text{g.m}^{-2}$ ) medidos nas lagoas L1 e L2 foram relacionados com alguns parâmetros físicos e químicos por meio da *Análise dos Componentes Principais* (ACP). Para tanto, os valores do ponto de entrada da L1, foram utilizados de forma a fornecer um panorama geral do comportamento das variáveis. O mesmo foi realizado com os dados da L2. A análise fatorial (ACP) foi usada como instrumento de descrição do desempenho das lagoas e também para a identificação dos fatores de maior influência na dinâmica das lagoas. Os resultados desta análise estão descritos a seguir, para cada lagoa.

### Lagoa de Lemnas 1

Os três primeiros fatores que apresentaram autovalores maiores que 1 foram automaticamente escolhidos, conforme apresentado na tabela 9, sendo estes: fator 1: 3,23; fator 2: 2,17 e fator 3: 1,15, que somados explicam 81,91% da variância dos parâmetros medidos.

Tabela 9 – Autovalores e percentuais das variâncias resultantes da análise da L1.

|          | <b>Autovalor</b> | <b>Variância Total (%)</b> | <b>Autovalor Acumulado</b> | <b>Variância Total Acumulada (%)</b> |
|----------|------------------|----------------------------|----------------------------|--------------------------------------|
| <b>1</b> | 3,23             | 40,40                      | 3,23                       | 40,40                                |
| <b>2</b> | 2,17             | 27,18                      | 5,41                       | 67,58                                |
| <b>3</b> | 1,15             | 14,33                      | 6,55                       | 81,91                                |

Os coeficientes de correlação entre os fatores artificiais e as 8 variáveis utilizadas para esta análise de L1 são apresentados na tabela 10.

Tabela 10 – Coeficientes de correlação entre variáveis e os fatores artificiais para a L1.

| <b>Variáveis</b>           | <b>Fator 1</b> | <b>Fator 2</b> | <b>Fator 3</b> |
|----------------------------|----------------|----------------|----------------|
| <b>pH</b>                  | -0,24          | -0,15          | <b>0,80</b>    |
| <b>Temperatura</b>         | <b>-0,73</b>   | <b>0,46</b>    | 0,32           |
| <b>SST</b>                 | <b>0,76</b>    | 0,10           | <b>0,45</b>    |
| <b>PT</b>                  | <b>0,40</b>    | <b>-0,88</b>   | 0,01           |
| <b>DQO</b>                 | <b>0,89</b>    | 0,05           | <b>0,37</b>    |
| <b>Turbidez</b>            | <b>0,82</b>    | 0,13           | -0,13          |
| <b>N-NH<sub>3</sub></b>    | -0,12          | <b>-0,95</b>   | -0,04          |
| <b>Densidade de Lemnas</b> | <b>-0,64</b>   | <b>-0,48</b>   | 0,22           |

O fator 1 possui coeficientes de correlação maior que 0,7 para 75%

das variáveis analisadas. Já o fator 2 possui 2 valores maiores que 0,7, enquanto o fator 3 tem apenas um valor maior que 0,7. O maior coeficiente de correlação associado ao fator 1 (abscissas) foi encontrado para a DQO (0,89) e Turbidez (0,82); ao fator 2 (ordenadas) foi o de N-NH<sub>3</sub> (0,95) e PT (0,88) e ao fator 3 (ordenadas) foi o de pH (0,80). Desta forma, pode-se concluir que as variáveis de maior representatividade na L1 foram o nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>), a DQO e o PT.

### Lagoa de Lemnas 2

Os três primeiros fatores que apresentaram autovalores maiores que 1 foram automaticamente escolhidos, conforme apresentado na tabela 11, sendo que estes fatores somados explicam 77,32% da variância dos parâmetros medidos.

Tabela 11 – Autovalores e percentuais das variâncias resultantes da análise da L2.

|          | <b>Autovalor</b> | <b>Variância Total (%)</b> | <b>Autovalor Acumulado</b> | <b>Variância Total Acumulada (%)</b> |
|----------|------------------|----------------------------|----------------------------|--------------------------------------|
| <b>1</b> | 3,07             | 38,37                      | 3,07                       | 38,37                                |
| <b>2</b> | 2,88             | 23,51                      | 4,95                       | 61,88                                |
| <b>3</b> | 1,23             | 15,44                      | 6,19                       | 77,32                                |

Os coeficientes de correlação entre os fatores artificiais e as 8 variáveis utilizadas para esta análise de L2 são apresentados na tabela 12.

Tabela 12 – Coeficientes de correlação entre variáveis e os fatores artificiais para a L1.

| <b>Variáveis</b>           | <b>Fator 1</b> | <b>Fator 2</b> | <b>Fator 3</b> |
|----------------------------|----------------|----------------|----------------|
| <b>pH</b>                  | <b>-0,50</b>   | <b>-0,73</b>   | 0,14           |
| <b>Temperatura</b>         | -0,20          | <b>-0,77</b>   | <b>-0,52</b>   |
| <b>SST</b>                 | <b>-0,45</b>   | <b>0,50</b>    | <b>-0,51</b>   |
| <b>PT</b>                  | <b>-0,71</b>   | <b>0,44</b>    | 0,33           |
| <b>DQO</b>                 | <b>-0,89</b>   | 0,05           | -0,25          |
| <b>Turbidez</b>            | <b>0,50</b>    | 0,31           | <b>-0,70</b>   |
| <b>N-NH<sub>3</sub></b>    | <b>-0,89</b>   | -0,12          | -0,13          |
| <b>Densidade de Lemnas</b> | <b>0,49</b>    | <b>-0,44</b>   | -0,05          |

O fator 1 possui coeficientes de correlação maior que 0,7 para 3 das 8 variáveis analisadas. Enquanto o fator 2 atinge valores maior que 0,7 em 2 variáveis e o fator 3, apenas 1.

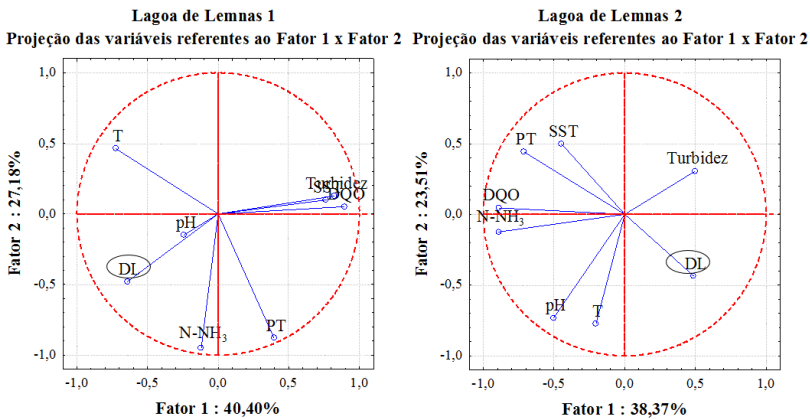
Os maiores coeficientes de correlação associado ao fator 1 (abscissas) foi encontrado para a DQO e N-NH<sub>3</sub> (0,89), seguido do PT (0,71); ao fator 2 (ordenadas) foi o de Temperatura e pH (0,77 e 0,73,



respectivamente) e ao fator 3 (ordenadas) foi o de Turbidez (0,70). Desta forma, pode-se concluir que as variáveis de maior representatividade na L2 foram a DQO, nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) e temperatura.

Na figura 25 é apresentada a correlação obtida entre as variáveis de L1 (A) e de L2 (B), quando utilizado os fatores mais representativos da análise (fator 1 x fator 2).

Figura 25 – Análise de Componentes Principais. Apresentação do círculo de correlações entre as variáveis obtidas dos parâmetros avaliados nas lagoas de lemnas L1 e L2.



Onde: DL: Densidade das Lemnas, DQO: Demanda Química de Oxigênio, N-NH<sub>3</sub>: Nitrogênio amoniacal, pH: Potencial hidrogeniônico, PT (Fósforo Total), SST: Sólidos Suspensos Totais, T: Temperatura.

Pode-se perceber que na Lagoa 1 (Figura 25) existe correlação positiva entre as variáveis indicadoras de matéria orgânica (turbidez, DQO e SST), que aparecem sobrepostas no gráfico, e correlação negativa entre a densidade das lemnas e turbidez, DQO e SST, indicando que o aumento da densidade de biomassa favorece a morte das lemnas, e seus resíduos podem interferir nesses parâmetros. O nitrogênio amoniacal teve correlação positiva com a densidade das lemnas, indicando a importância do nitrogênio no crescimento das lemnas. Na Lagoa 2 a densidade das lemnas apareceu com correlação negativa com SST e com PT. A L2 sofreu influência pela proliferação de algas, ocasionando variações diárias de OD e pH influenciando a solubilidade de nutrientes e a ação da biomassa.

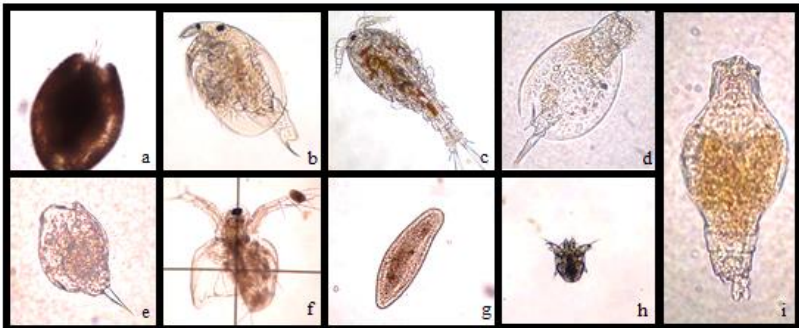
## 5.5 AVALIAÇÃO DA MICROBIOTA

### *Identificação e Contagem dos Organismos Zooplancônicos*

A caracterização da comunidade de zooplâncton presente nas lagoas de lemnas foi realizada tanto nas amostras da rizosfera, quanto nas amostras do meio da coluna d'água. Juntamente com a identificação desses organismos, procedeu-se sua contagem, com o intuito de correlacionar a frequência do aparecimento de determinados organismos, com os parâmetros físicos e químicos avaliados, bem como suas variações sazonais.

Os organismos mais frequentes encontrados durante o período experimental foram microcrustáceos, sendo representados pela classe Ostracoda, Copepoda, Branchiopoda (Ordem Cladocera), porém a presença de rotíferos (Filo Rotifera) também foi importante. Ansa et al. (2012), investigando a densidade de macro-invertebrados em lagoas de lemnas, observaram a predominância de dois grupos, organismos da classe ostrácoda e da ordem cladócera. Na figura 26 têm-se fotos dos organismos zooplancônicos mais frequentes nas análises das duas lagoas de lemnas.

Figura 26 – a) Ostracoda; b) Cladocera (*Alona sp*); c) Copepoda (*Cyclops sp*); d) Rotifera (*Lepadella sp*); e) Rotifera (*Lecane sp*); f) Cladocera (*Moina sp*); g) *Paramecium sp*; h) Náuplio (Estágio Larval ND\*); i) Rotifera (Familia Philodinidae).



Fonte: próprio autor.

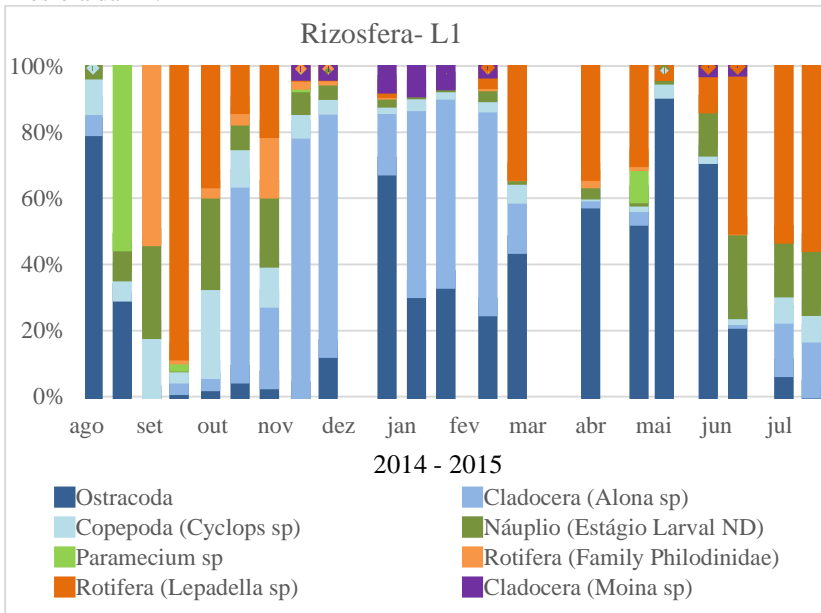
No ambiente natural, as microalgas são a principal fonte de alimento para estes organismos, no entanto, em lagoas de lemnas a presença de algas é incomum, assim, os microcrustáceos geralmente

consomem matéria orgânica particulada (turbidez e sólidos em suspensão). Destaca-se que neste trabalho a turbidez e os sólidos suspensos foram baixos ao longo do período inteiro ( $<30 \text{ mgSST.L}^{-1}$  e  $<10\text{NTU}$ ), podendo ser atribuída relação destes parâmetros com a abundância relativa das espécies.

A abundância relativa do zooplâncton encontrado na superfície (rizosfera) da L1 está apresentada na figura 27. Na L1, o cladóceros *Alona sp* apareceu em maior quantidade nas amostras analisadas na primavera, tendo como média 2.144 organismos/100mL, no verão o ostracoda foi o mais recorrente com média de 1.164 organismos/100mL, seguido da *Alona sp* (1.065 org./100mL). No outono, o ostracoda foi o organismo predominante (2.212 org./100mL) e no inverno a *Lepadella sp* (Rotifera) apareceu em maior quantidade (1.525 org./100mL).

Ansa et al. (2012) ainda explicam que os ostrácodos agem como filtradores e podem se alimentar de bactérias e protozoários ligados às frondes das lemnas, o que explica a principal ocorrência desses organismos na rizosfera das lemnas. Já os cladóceros podem ter uma ação de pouca significância na remoção de partículas orgânicas das águas residuais (DAWIDOWICZ *et al.*, 2013).

Figura 27 – Representação gráfica da abundância relativa de zooplâncton na rizosfera da L1.



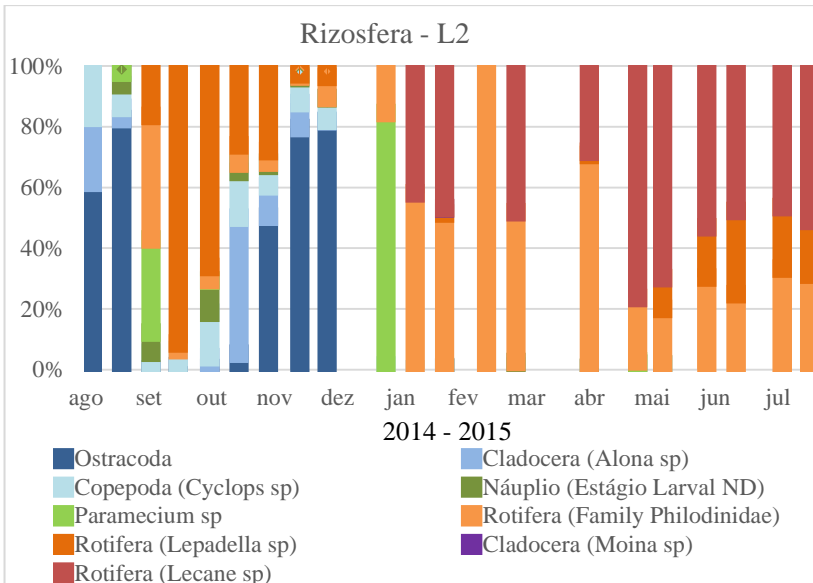
Pela interpretação da Figura 27, observa-se que os rotíferos estiveram presentes nos períodos mais frios do ano e que no verão os microcrustáceos prevaleceram. A substituição das populações em diferentes períodos também pode indicar um grau de competição, e/ou predação, entre as espécies.

Conforme Uehara *et al.* (1989) descrevem, os rotíferos, cladóceras (*Alona sp*) e copépodos (*Cyclops sp*) ocorrem principalmente em lagoas secundárias e terciárias e em elevadas densidades esses organismos afetam o balanço de oxigênio pelo extermínio ou diminuição do número de algas e aumento da demanda respiratória. Eles ainda consomem bactérias, algas, protozoários e detritos orgânicos, contribuindo dessa forma para a clarificação do efluente.

Conforme a figura 28, na rizosfera da L2 a predominância foi do rotífero *Lepadella sp.* (2.077 organismos/100mL) e de ostrácodas (1.522 organismos/100mL) na primavera. No verão, os rotíferos da família Philodinidae foram os mais abundantes (13.640 org./100mL); no outono a maior ocorrência foi de *Lecane sp* (Rotifera) (14.567 org./100mL), seguido do rotífero (família Philodinidae) (14.325 org./100mL). Por fim, no inverno o organismo predominante foi o *Lecane sp* (7.628

org./100mL).

Figura 28 – Representação gráfica da abundância relativa de zooplâncton na rizosfera da L2.



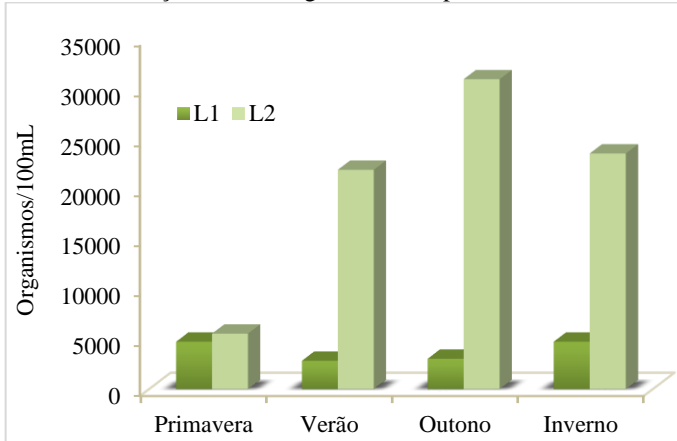
Na rizosfera da L2, é possível destacar o aumento dos rotíferos nadadores livres como o *Lecane sp* e *Lepadella sp*, e também rotíferos fixos da família Philodinidae, principalmente depois da primavera. No mesmo período observou-se um aumento de cianobactérias do gênero *Oscillatoria sp* na L2 e ambos os eventos podem ser correlacionados considerando a oferta de alimento. Ansa et al. (2012) explicam que as algas servem de alimentos para muitos invertebrados e a superfície das algas abrigam muitos protozoários.

Para verificar este fato, notou-se um aumento nos valores de clorofila *a* encontrados nas análises de perfil da L2, onde, a partir de Janeiro/2015, chegaram a valores próximos a  $890 \mu\text{g.L}^{-1}$ . O que pode estar relacionado ao aumento das cianobactérias e outras algas encontradas no período.

Além disso, o número total de organismos aumentou cerca de dez vezes em L2 comparado a L1 (Figura 29). Este fato foi o oposto do relatado por Ansa et al. (2012) que encontraram uma diminuição de macroinvertebrados através de uma série de quatro lagoas (lagoas de lemnas, lagoas de algas e híbridas). Além do alimento e abrigo fornecido

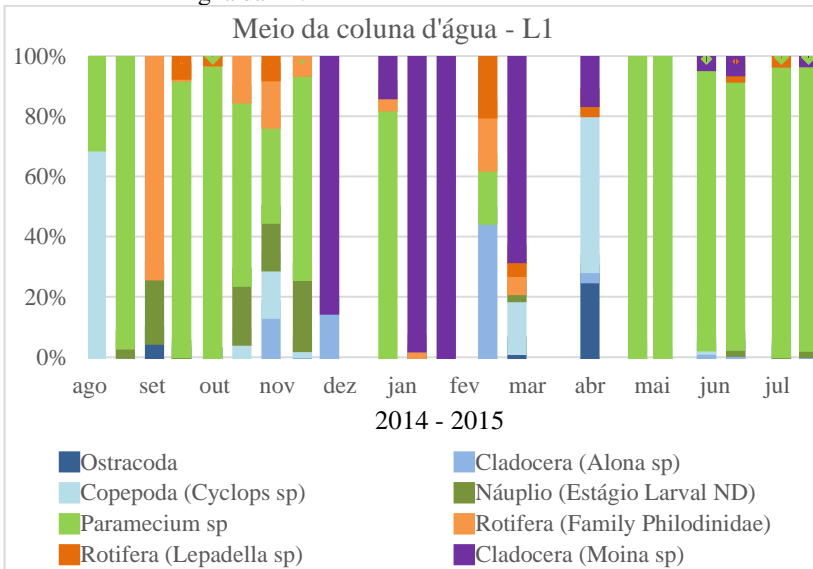
pelas cianobactérias filamentosas, o estresse causado pela alta concentração de nitrogênio amoniacal (perto de  $20 \text{ mg.L}^{-1}$ ) no interior da L1, provavelmente foi um fator restritivo.

Figura 29 - Concentração total de organismos zooplanctônicos na rizosfera.



As amostras coletadas no meio da coluna d'água revelaram uma composição muito diferente quando comparada a rizosfera, na L1 (Figura 30), destacou-se o protozoário ciliado – *Paramecium sp* sendo o organismo mais frequente com média de 1.947 org./100mL, 169 org./100mL, 561 org./100mL e 559 org./100mL, na primavera, verão, outono e inverno, respectivamente. Bento (2005) destaca que os protozoários, especialmente os ciliados, desempenham importante papel nos processos biológicos de tratamento de esgotos contribuindo na remoção de bactérias patogênicas,  $\text{DBO}_5$  e dos SS.

Figura 30 – Representação gráfica da abundância relativa de zooplâncton no meio da coluna d'água da L1.



Conforme apresentado na figura 31, no meio da coluna d'água na L2 a predominância foi do *Paramecium sp* (43 organismos/100mL) na primavera; no verão e no outono foi do Rotífero (família Philodinidae) com 691 e 15 org./100mL, respectivamente; e por fim no inverno, foi da *Moina sp* (Cladocera) com 59 org./100mL.

A predominância de protozoários ciliados e rotíferos nas amostras de meio da coluna d'água demonstra a importância da rizosfera da lemna como microambiente para uma maior diversidade e biomassa de zooplâncton. A diferença das comunidades presentes no perfil vertical das lagoas pode ser relacionada com a variação do OD na coluna d'água, pois os protozoários ciliados são mais resistentes em baixo OD do que os microcrustáceos, e ainda, na rizosfera podem ocorrer competição e predação dos protozoários.

A figura 32 permite comparar a quantidade de organismos zooplancônicos presentes no meio da coluna d'água entre as lagoas e as estações do ano, notando-se que a L1 na primavera obteve a maior quantidade de organismos, e ainda assim essa contagem é baixa quando comparada à rizosfera das lagoas.

Figura 31 – Representação gráfica da abundância relativa de zooplâncton no meio da coluna d'água da L2.

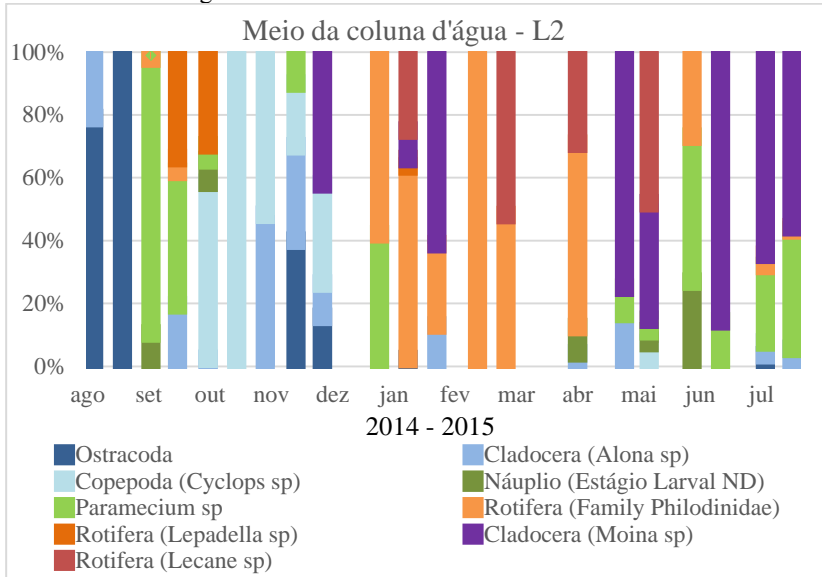
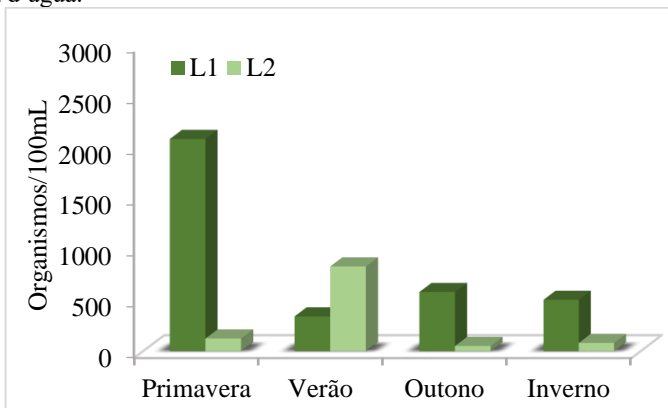


Figura 32 - Abundância relativa de organismos zooplanctônicos no meio da coluna d'água.



A abundância relativa de organismos zooplanctônicos medidas nas lagoas L1 e L2 foram relacionadas com alguns parâmetros físicos e químicos por meio da Análise dos Componentes Principais (ACP). Para tanto, os valores médios do ponto de saída da L1, foram utilizados de forma a fornecer um panorama geral do comportamento das variáveis. O



mesmo foi realizado com os dados da L2. Excepcionalmente, foi utilizado o valor da entrada das lagoas de lemnas para o parâmetro N-NH<sub>3</sub>, visando analisar a influência desse fator no crescimento dos organismos.

A análise fatorial (ACP) foi usada como instrumento de descrição do desempenho das lagoas e também para a identificação dos fatores de maior influência na dinâmica das lagoas.

### Rizosfera da L1

Os três primeiros fatores que apresentaram autovalores maiores que 1 foram automaticamente escolhidos, conforme apresentado na tabela 13, sendo estes: fator 1: 2,72; fator 2: 2,52 e fator 3: 1,47, somando 74,59%, e justificando desta forma a variância em L1.

Tabela 13 – Autovalores e percentuais das variâncias resultantes da análise da L1.

|          | <b>Autovalor</b> | <b>Variância Total (%)</b> | <b>Autovalor Acumulado</b> | <b>Variância Total Acumulada (%)</b> |
|----------|------------------|----------------------------|----------------------------|--------------------------------------|
| <b>1</b> | 2,72             | 30,25                      | 2,72                       | 30,25                                |
| <b>2</b> | 2,52             | 28,03                      | 5,24                       | 58,28                                |
| <b>3</b> | 1,47             | 16,31                      | 6,71                       | 74,59                                |

Os coeficientes de correlação entre os fatores artificiais e as 9 variáveis utilizadas para esta análise de L1 são apresentados na tabela 14.

Tabela 14 – Coeficientes de correlação entre variáveis e os fatores artificiais para a L1.

| <b>Variáveis</b>           | <b>Fator 1</b> | <b>Fator 2</b> | <b>Fator 3</b> |
|----------------------------|----------------|----------------|----------------|
| <b>Temperatura</b>         | <b>-0,88</b>   | -0,02          | 0,12           |
| <b>SST</b>                 | 0,07           | <b>0,89</b>    | -0,14          |
| <b>DQO</b>                 | -0,25          | <b>0,83</b>    | -0,35          |
| <b>Turbidez</b>            | <b>0,71</b>    | <b>0,57</b>    | -0,27          |
| <b>N-NH<sub>3</sub></b>    | 0,07           | <b>-0,56</b>   | <b>-0,74</b>   |
| <b>Densidade de Lemnas</b> | <b>-0,64</b>   | -0,37          | <b>-0,57</b>   |
| <b>Microcrustáceos</b>     | <b>-0,55</b>   | 0,39           | -0,40          |
| <b>Rotíferos</b>           | <b>0,75</b>    | -0,25          | -0,46          |
| <b>Protozoários</b>        | 0,31           | -0,25          | 0,08           |

O fator 1 possui coeficientes de correlação maior que 0,7 para 3 das variáveis analisadas. Já o fator 2 possui 2 valores maiores que 0,7, enquanto o fator 3 tem apenas um valor maior que 0,7.

O maior coeficiente de correlação associado ao fator 1 (abscissas) foi encontrado para a temperatura (0,88) e rotíferos (0,75); ao fator 2

(ordenadas) foi o de SST (0,89) e DQO (0,83) e ao fator 3 (ordenadas) foi o de N-NH<sub>3</sub> (0,74). Desta forma, pode-se concluir que as variáveis de maior representatividade na L1 foram os SST, a temperatura e a DQO.

### Rizosfera da L2

Os quatro primeiros fatores que apresentaram autovalores maiores que 1 foram automaticamente escolhidos, conforme apresentado na tabela 15, sendo que estes fatores somados explicam 78,69%, e justificando desta forma a variância em L2.

Tabela 15 – Autovalores e percentuais das variâncias resultantes da análise da L2.

|          | <b>Autovalor</b> | <b>Variância Total (%)</b> | <b>Autovalor Acumulado</b> | <b>Variância Total Acumulada (%)</b> |
|----------|------------------|----------------------------|----------------------------|--------------------------------------|
| <b>1</b> | 2,51             | 27,85                      | 2,51                       | 27,85                                |
| <b>2</b> | 2,02             | 22,44                      | 4,53                       | 50,29                                |
| <b>3</b> | 1,42             | 15,79                      | 5,95                       | 66,08                                |
| <b>4</b> | 1,13             | 12,61                      | 7,08                       | 78,69                                |

Os coeficientes de correlação entre os fatores artificiais e as 9 variáveis utilizadas para esta análise de L2 são apresentados na tabela 16.

Tabela 16 – Coeficientes de correlação entre variáveis e os fatores artificiais para a L2.

| <b>Variáveis</b>           | <b>Fator 1</b> | <b>Fator 2</b> | <b>Fator 3</b> | <b>Fator 4</b> |
|----------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| <b>Temperatura</b>         | <b>-0,55</b>   | 0,20           | 0,45           | -0,30          |
| <b>SST</b>                 | -0,17          | <b>-0,85</b>   | -0,04          | -0,05          |
| <b>DQO</b>                 | -0,09          | -0,32          | <b>0,82</b>    | -0,12          |
| <b>Turbidez</b>            | <b>0,81</b>    | 0,02           | 0,02           | 0,08           |
| <b>N-NH<sub>3</sub></b>    | <b>-0,72</b>   | 0,41           | 0,23           | 0,01           |
| <b>Densidade de Lemnas</b> | 0,10           | <b>-0,90</b>   | 0,25           | 0,21           |
| <b>Microcrustáceos</b>     | <b>-0,68</b>   | -0,28          | -0,29          | -0,33          |
| <b>Rotíferos</b>           | <b>0,68</b>    | 0,23           | <b>0,48</b>    | -0,39          |
| <b>Protozoários</b>        | -0,25          | 0,20           | 0,32           | <b>0,85</b>    |

Os fatores 1 e 2 possuem coeficientes de correlação maior que 0,7 para 2 das 9 variáveis analisadas, já os fatores 3 e o 4 possuem apenas 1 coeficiente de correlação maior que 0,7.

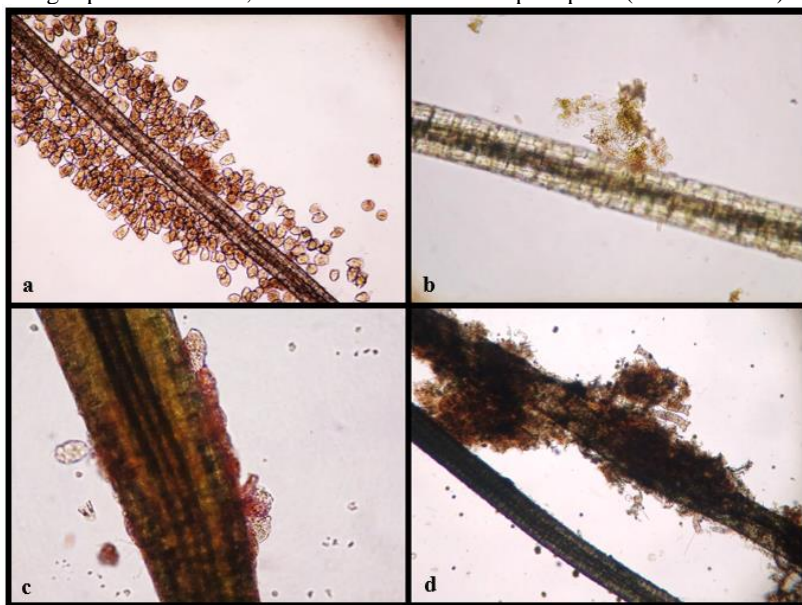
Os maiores coeficientes de correlação associados ao fator 1 (abscissas) foram encontrados para a Turbidez (0,81), seguido da N-NH<sub>3</sub> (0,72); ao fator 2 (ordenadas) foram de Densidade das lemnas (0,90) e SST (0,85); ao fator 3 (ordenadas) foi o de DQO (0,82) e ao fato 4 foi o



*Monitoramento do biofilme formado em raízes de lemnas*

Como resultado da metodologia de identificação de biofilme nas lagoas de lemnas, têm-se a Figura 34, representando algumas formações encontradas nas análises microscópicas. No item a da figura, têm-se aglomerados de *Vorticella sp* fixados nas raízes das lemnas, enquanto os itens b e c representam formações de biofilme na L1, e o item d representa a formação de biofilme na L2, sofrendo interferência de algas presentes na lagoa nesse período.

Figura 34 – a) *Vorticella sp* fixadas nas raízes de lemnas; b) e c) formação de biofilme bacteriano na L1; d) formação de biofilme bacteriano com influência de algas presentes na L2, todos vistos em microscópio óptico (aumento 100x).

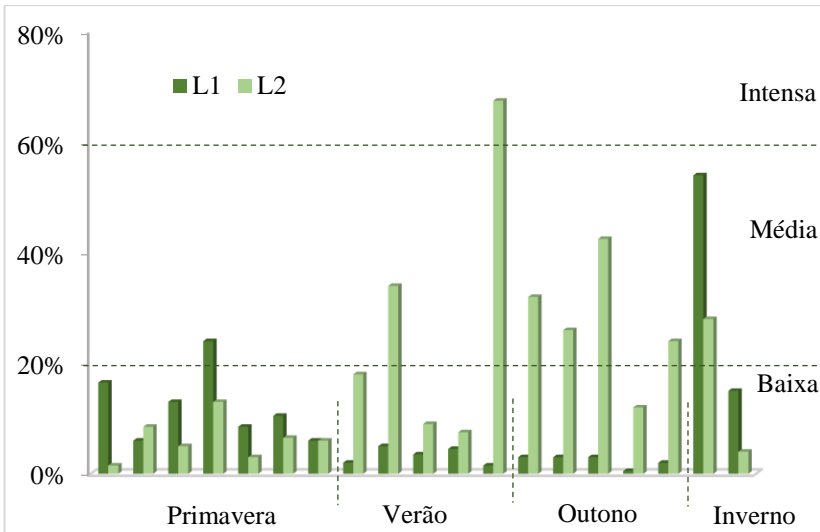


Fonte: próprio autor.

A presença de biofilme na rizosfera das lemnas foi avaliada conforme a intensidade de ocorrência em amostragens realizadas nas duas lagoas. A formação do biofilme está relacionada com a frequência de remoção da biomassa de lemnas, sendo neste estudo a remoção feita duas vezes por semana, diminuindo o desenvolvimento do biofilme devido ao seu tempo de crescimento. A figura 35 apresenta a intensidade da ocorrência de biofilme em cada lagoa de lemna, classificada em ausente,

baixa, média e intensa.

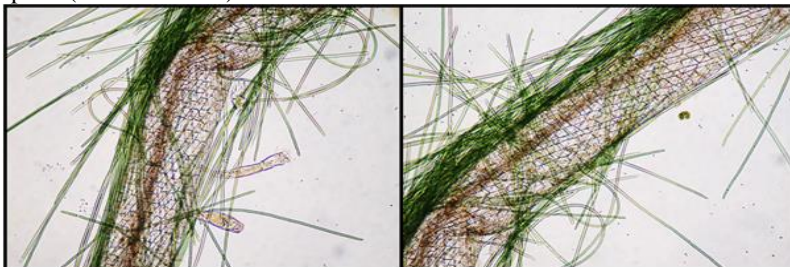
Figura 35 – Representação gráfica da presença de biofilme na rizosfera das lemnas em L1 e L2.



Na Figura 35 nota-se que durante a primavera a presença de biofilme foi baixa, porém mais intensa na L1 comparada a L2, podendo ser relacionada com a maior carga orgânica aplicada no período e ao tempo de permanência da biomassa de lemnas na lagoa de 14,6 dias nesta estação. Já durante as outras estações do ano, a presença de biofilme foi de baixa a média em L1, sendo que o tempo de permanência da biomassa foi mais baixo, sendo de 12,3 dias durante o verão e chegando a 7,3 dias no inverno.

Na lagoa 2 a ocorrência de biofilme se tornou mais intensa a partir do verão, podendo ser relacionada com a proliferação de cianobactérias filamentosas do gênero *Oscillatoria sp* (Figura 36), já que essas atuam envolvendo as raízes das lemnas e aumentando a área superficial disponível para a formação de biofilme. O tempo de permanência da biomassa de lemnas também pode ter influenciado no aumento da formação do biofilme durante o verão, pois o tempo de permanência dobrou em relação a primavera, chegando a 29,1 dias, assim, aumentando o tempo para o biofilme ser formado.

Figura 36 – *Oscillatoria* sp nas raízes de lemnas da L2 vista em microscópio óptico (aumento 100X).



Fonte: próprio autor.

### *Hibridização Fluorescente in situ – FISH*

Para avaliar a composição da comunidade bacteriana presente nas lagoas de lemnas, amostras da rizosfera e do lodo das duas lagoas foram submetidas à técnica de FISH. Os resultados podem ser verificados nos Quadros 1, onde estão em destaque as amostras que apresentaram sinal positivo para as sondas utilizadas.

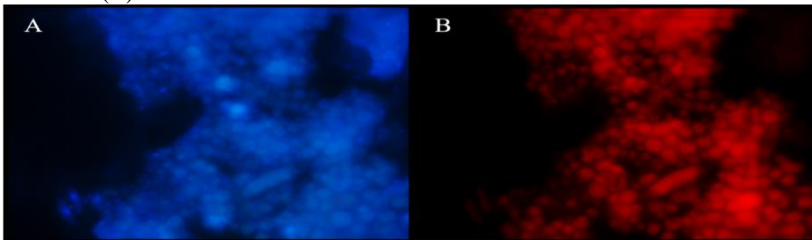
Verificou-se que todas as amostras apresentaram sinal positivo para a sonda EUBmix (Todas Eubacterias). Para as sondas específicas, verificou-se que bactérias do gênero *Pseudomonas* (sonda PAE 997), que são desnitrificantes heterotróficas, foram observadas em amostras de rizosfera e lodo de todas as estações, com exceção do outono, em que foi encontrada apenas no lodo da L1. Destaca-se que a amostra da rizosfera da L1 no inverno obteve o maior número de sequências desta espécie, comprovadas com o sequenciamento de DNA, descrito no item a seguir.

As bactérias oxidantes de amônia (sonda NSO 190) foram observadas na superfície da L1 e lodo das duas lagoas durante a primavera e verão. Já no outono só foi observada na rizosfera da L2, e no inverno no lodo da L1. Da mesma forma, bactérias oxidantes de nitrito (sonda NIT 3) foram observadas principalmente nas amostras de primavera e verão, porém no inverno foi observada na amostra de lodo da L1. As bactérias dos membros *Candidatus Accumulibacter* (sonda PAOmix) foram identificadas nas amostras de lodo das duas lagoas durante todo o período de estudo.

Quadro 1 - Presença de bactérias referentes às sondas utilizadas. LL1: Lodo da L1; RL1: Rizosfera da L1; LL2: Lodo da L2; RL2: Rizosfera da L2.

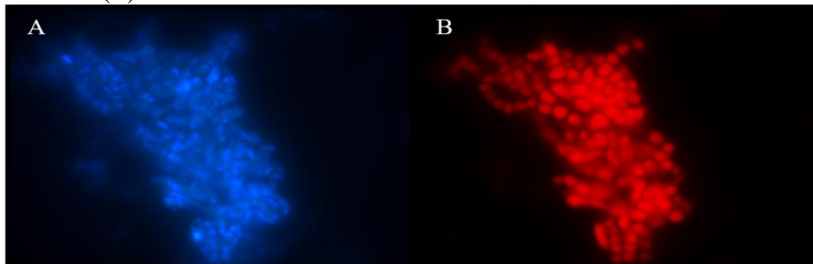
| Sondas            | Primavera |     |     |     | Verão   |     |     |     |
|-------------------|-----------|-----|-----|-----|---------|-----|-----|-----|
|                   | LL1       | RL1 | LL2 | RL2 | LL1     | RL1 | LL2 | RL2 |
| EUBmix (I+II+III) | ■         | ■   | ■   | ■   | ■       | ■   | ■   | ■   |
| NSO 190           | ■         | ■   | ■   | □   | ■       | ■   | ■   | □   |
| NIT 3             | ■         | ■   | ■   | ■   | ■       | ■   | ■   | □   |
| PAE 997           | □         | ■   | ■   | ■   | ■       | ■   | ■   | □   |
| PAOmix (I+II+III) | ■         | □   | ■   | □   | ■       | □   | ■   | □   |
|                   | Outono    |     |     |     | Inverno |     |     |     |
|                   | LL1       | RL1 | LL2 | RL2 | LL1     | RL1 | LL2 | RL2 |
| EUBmix (I+II+III) | ■         | ■   | ■   | ■   | ■       | ■   | ■   | ■   |
| NSO 190           | □         | □   | □   | ■   | ■       | □   | □   | □   |
| NIT 3             | □         | □   | □   | □   | ■       | □   | □   | □   |
| PAE 997           | ■         | □   | □   | □   | ■       | ■   | ■   | □   |
| PAOmix (I+II+III) | ■         | □   | □   | □   | ■       | □   | ■   | □   |

Figura 37 - Células hibridizadas pela sonda NIT visualizadas em microscópio epifluorescente (Aumento 1000x). DAPI em azul (A) e hibridização em vermelho (B).



Fonte: próprio autor.

Figura 38 - Células hibridizadas pela sonda PAE visualizadas em microscópio epifluorescente (Aumento 1000x). DAPI em azul (A) e hibridização em vermelho (B).



Fonte: próprio autor.

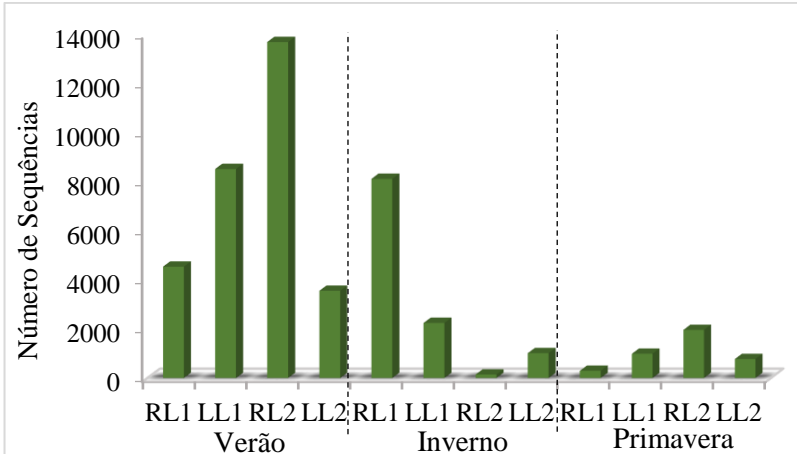
### *Sequenciamento de DNA*

Por meio dos resultados do sequenciamento de DNA foi possível identificar 341 gêneros de bactérias, totalizando 45.993 sequências de genes bacterianos, adquiridos a partir de 12 amostras. Porém, destaca-se que grande parte das sequências obtidas não pode ser atribuída às espécies catalogadas, devido à porcentagem de segurança estabelecida pelo método, sendo descritas como “organismos não cultivados”. Neste contexto, deve-se levar em consideração que amostras ambientais podem apresentar uma diversidade extremamente alta de eubactérias, o que torna difícil a identificação precisa de alguns grupos, pelos métodos disponíveis atualmente.

No presente trabalho foram considerados os organismos identificados em nível de gênero. Na figura 39 apresenta-se a quantidade total de sequências de gêneros obtidas no sequenciamento por amostra, onde se percebe que o verão foi a estação com maior presença de bactérias entre as amostras, o que pode estar relacionado com o aumento da temperatura.



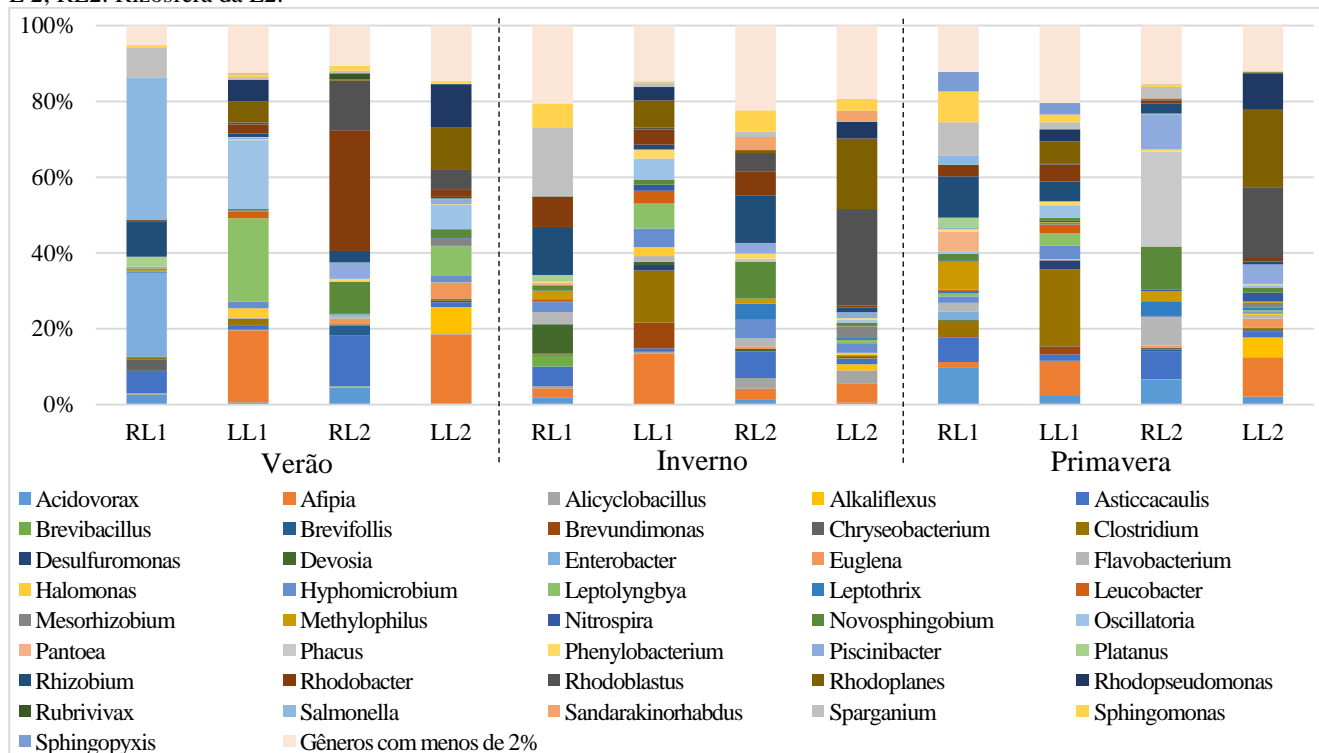
Figura 39 – Número total de seqüências encontradas no sequenciamento de DNA. LL1: Lodo da L1; RL1: Rizosfera da L1; LL2: Lodo da L 2; RL2: Rizosfera da L2.



Destaca-se que para a realização desta análise em amostras da rizosfera, foi encontrada dificuldade na obtenção de biomassa necessária para extração do DNA dos organismos, devido à pequena área superficial das raízes onde o biofilme se encontrava aderido.

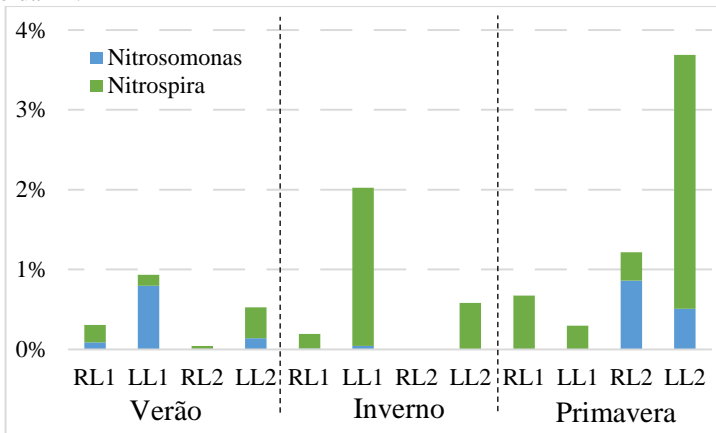
Como resultados obtidos, destaca-se que a comunidade bacteriana é bem heterogênea em todas as amostras. A maioria das bactérias encontradas é heterotrófica, que degradam matéria orgânica. As cianobactérias foram detectadas em amostras da L2, sendo que, o gênero *Oscillatoria sp* teve abundância de até 6% em amostras de lodo. Os gêneros com representação inferior a 2% foram agrupados, devido a sua baixa relevância, e estão apresentados na Figura 40.

Figura 40 - Porcentagens em nível de gênero das bactérias identificadas. LL1: Lodo da L1; RL1: Rizosfera da L1; LL2: Lodo da L 2; RL2: Rizosfera da L2.



Analisando as proporções de bactérias nitrificantes (Figura 41), foram detectadas poucas sequências de bactérias oxidantes de amônia (*Nitrosomonas sp*) e bactérias oxidantes de nitrito (*Nitrospira sp*), nas amostras das duas lagoas no verão e inverno, com exceção do lodo da L1 no inverno. Observou-se que as bactérias nitrificantes foram mais abundantes no lodo da L2 na primavera e no lodo da L1 no inverno.

Figura 41 - Porcentagem de organismos nitrificantes em relação ao total de bactérias. RL1: Rizosfera da L1; LL1: Lodo da L1; RL2: Rizosfera da L2; LL2: Lodo da L2.



A amostra que apresentou a maior proporção relativa de bactérias nitrificantes foi a do lodo da L2 na primavera (3,7%). O gênero nitrificante com maior abundância foi *Nitrospira*, presente em onze dos doze extratos amostrados.

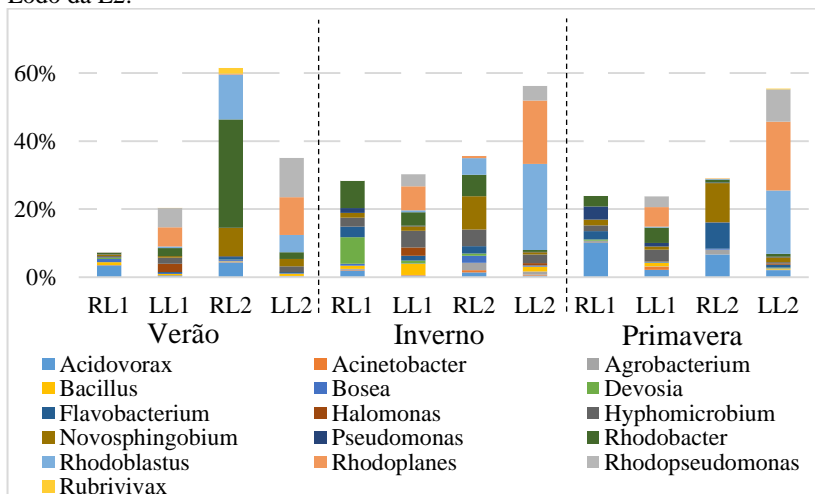
As amostras da rizosfera das duas lagoas representaram abundância relativa de até 1,2%, fato que se assemelha aos dados encontrados por Zhao *et al.* (2015), que relatam uma abundância de bactérias nitrificantes de aproximadamente 1,5% na rizosfera, no entanto, o sistema contou com um meio suporte para fixação de biofilme, melhorando a eficiência de remoção de nitrogênio. A remoção periódica da biomassa de lemnas pode explicar a baixa frequência de bactérias nitrificantes encontradas na rizosfera, pois essas bactérias têm crescimento lento, não havendo tempo suficiente para se desenvolverem antes das plantas serem removidas. Neste contexto, deve-se considerar por serem autotróficas e de crescimento lento, apresentam baixa abundância relativa, mesmo em reatores aeróbios (onde não se espera mais do que 5%).

No entanto, a ocorrência de nitrificação pode ser indicada pelo

consumo de alcalinidade (de 414 para 70 mgCaCO<sub>3</sub>.L<sup>-1</sup>) sendo relacionado por diversos autores (Zimmo *et al.*, 2003; Caicedo, 2005; Zhao *et al.*, 2014b). Porém, a alcalinidade pode ser reduzida pela formação de ácidos orgânicos formados no fundo das lagoas, quando em anaerobiose.

Analisando as proporções de bactérias desnitrificantes (Figura 42), percebe-se que estas foram muito mais abundantes em relação às bactérias nitrificantes, apresentando proporção de até 62% do total de bactérias identificadas.

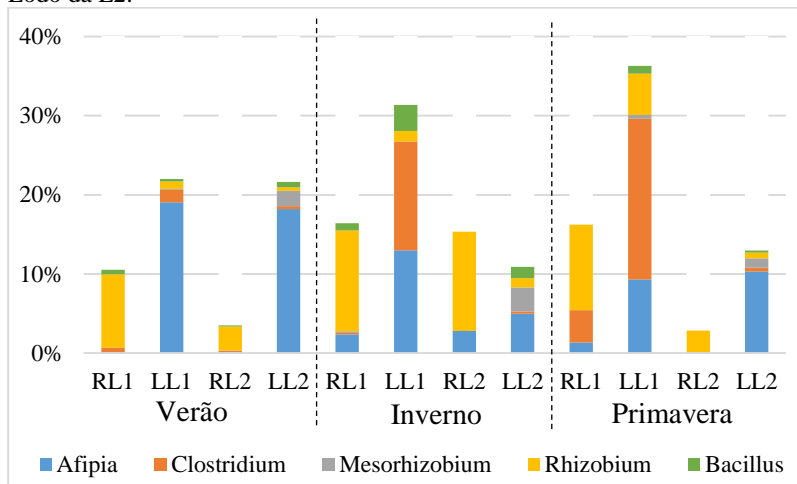
Figura 42 - Porcentagem de organismos desnitrificantes em relação ao total de bactérias. RL1: Rizosfera da L1; LL1: Lodo da L1; RL2: Rizosfera da L2; LL2: Lodo da L2.



Os gêneros de bactérias capazes de promover a desnitrificação mais abundantes foram: *Rhodobacter*, *Rhodoblastus*, *Rhodoplanes* e *Rhodopseudomonas*. Na desnitrificação, o nitrato é reduzido a nitrogênio molecular por bactérias desnitrificantes, por isso, destaca-se que a presença dessas bactérias em quantidades significativas pode não indicar que elas estão desenvolvendo o metabolismo de desnitrificação, já que foram obtidos baixos níveis de nitrato nas lagoas de lemnas. Provavelmente as lemnas absorveram o nitrato antes de ocorrer a desnitrificação.

Analisando as proporções de bactérias fixadoras de nitrogênio (Figura 43), percebe-se que estas apresentaram proporção média de 16,7 ± 10,0% do total de bactérias identificadas.

Figura 43 - Porcentagem de fixadoras de nitrogênio em relação ao total de bactérias. RL1: Rizosfera da L1; LL1: Lodo da L1; RL2: Rizosfera da L2; LL2: Lodo da L2.



Para as amostras da rizosfera, o gênero mais abundante foi o *Rhizobium*, com maior proporção no inverno chegando a 13% tanto em RL1 quanto em RL2. Nas amostras de lodo da L1, os gêneros de fixadoras de nitrogênio mais abundantes foram: *Afípia* (19%, 13% e 9%, no verão, inverno e primavera, respectivamente), *Clostridium* (14% no inverno e 20% na primavera); já para o lodo da L2, o gênero mais abundante foi a *Afípia* (18% no verão, 5% no inverno e 10% na primavera).

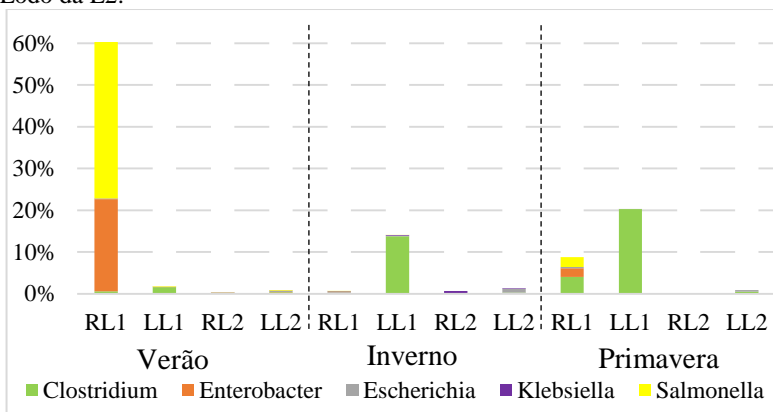
As bactérias fixadoras de nitrogênio podem ter grande influência no balanço de nitrogênio do sistema, fato que se assemelha com o trabalho de Zhao *et al.* (2014b) que mostraram uma alta quantidade de bactérias fixadoras de nitrogênio em lagoas de lemnas em comparação com lagoas de aguapé, representando uma importante contribuição de nitrogênio. Portanto, a absorção de nitrogênio por lemnas é considerada como a principal via de eliminação N.

Analisando as proporções de bactérias patogênicas (Figura 44), percebe-se que estas apresentaram proporção média de  $16,0 \pm 17,2\%$  do total de bactérias identificadas.

Para as amostras da rizosfera, o verão foi a época com mais proporção de bactérias patogênicas, sendo que, o gênero mais abundante foi a *Salmonella* (37% em RL1) seguido de *Enterobacter* (22% em RL1). Nas amostras de lodo, o gênero patogênico mais abundante foi o *Clostridium* (chegando a 20% em LL1 na primavera).

Com relação ao grupo de bactérias pertencentes aos coliformes totais, a *Enterobacter* foi encontrada em amostras da rizosfera da L1, porém não foi encontrada em amostras da L2. Essa redução pode ser relacionada com o TDH e a predação pelo zooplâncton. Nota-se ainda que a presença de *Escherichia coli* foi baixa, principalmente pelo longo tempo de detenção hidráulica do tratamento.

Figura 44 - Porcentagem de bactérias patogênicas em relação ao total de bactérias. RL1: Rizosfera da L1; LL1: Lodo da L1; RL2: Rizosfera da L2; LL2: Lodo da L2.



A diversidade de bactérias envolvidas no ciclo do nitrogênio encontradas nas amostras analisadas é um indicador das múltiplas possibilidades de transformações biológicas de nitrogênio nas lagoas de lemnas. Porém, é importante destacar que as porcentagens aqui expressas para apresentar as proporções das bactérias, foram considerando-se 100% das bactérias identificadas de cada amostra a nível taxonômico de gênero. Portanto, outras bactérias não identificadas podem estar participando dos processos de remoção e transformações de compostos poluentes.

Como nesse sistema de tratamento o foco é a remoção de nutrientes pelas lemnas, as lagoas foram operadas com baixo carbono, sendo assim a relação de alimento para sustentar a biomassa de bactérias é baixa, dificultando seu crescimento. Neste contexto, as lemnas têm um papel mais importante que o papel dos microrganismos.

## 6 CONCLUSÕES

Neste trabalho foi estudado o potencial de lagoas de lemnas para o polimento do esgoto doméstico, com enfoque na dinâmica da microbiota associada às macrófitas. Para as condições testadas no presente estudo, as seguintes conclusões foram obtidas:

### Desempenho do sistema na remoção de matéria orgânica e nutrientes:

- O sistema de lagoas de lemnas realizou um eficiente tratamento de esgoto doméstico, alcançando remoção de matéria orgânica oxidável de 86% para  $\text{DBO}_5$ , produzindo um efluente com concentração de  $10,5 \text{ mg DBO}_5 \cdot \text{L}^{-1}$ .
- Na remoção de nutrientes, destacou-se a remoção de fósforo de 93%, bem como a remoção de nitrogênio amoniacal de 96% e nitrogênio total de 91%, produzindo um efluente com concentração de  $5,3 \text{ mg NT} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $2,1 \text{ mg N-NH}_3 \cdot \text{L}^{-1}$  e  $0,5 \text{ mg PT} \cdot \text{L}^{-1}$ , atendendo a todos os padrões de lançamento de efluentes estabelecidos pelas legislações vigentes (CONAMA 430 e SC).
- A carga aplicada (tanto a carga orgânica como a de nitrogênio amoniacal) apresentou maior interferência na eficiência do sistema do que as variações sazonais de temperatura e fotoperíodo.

### Avaliação da estratificação das lagoas:

- Foi observada uma variação pouco significativa entre os perfis avaliados (horizontal e vertical). Dentre os fatores que contribuem para esta homogeneidade estão: a baixa profundidade das lagoas, a baixa velocidade de escoamento do efluente e o sombreamento causado pelas macrófitas, que gera pouca variação de temperatura na coluna d'água,

### Avaliação da dinâmica sazonal das comunidades zooplanctônicas e bacterianas nas lagoas:

- A comunidade de microcrustáceos como cladóceras (*Alona sp*) e ostrácodas estavam presentes em altas concentrações, com média de  $2815 \text{ org./100mL}$  na L1, resultando em baixa turbidez e SST ( $<10 \text{ NTU}$  e  $<30 \text{ mg SST} \cdot \text{L}^{-1}$ ) durante todas as estações.
- Foi encontrada grande variação na abundância relativa das

espécies presentes nas duas lagoas, sendo compostas primeiramente pelos microcrustáceos (períodos mais quentes) e posteriormente pelos rotíferos e protozoários (períodos mais frios). Por meio da ACP, evidenciou-se a competição e/ou predação entre os microcrustáceos e os protozoários na rizosfera das lagoas.

- Foi observada uma floração de cianobactérias do gênero *Oscillatoria sp* na L2, do verão ao inverno, colonizando as raízes das lemnas. Este fato influenciou notoriamente na riqueza e abundância das espécies presentes, pois além de aumentarem a produtividade primária disponibilizando uma nova fonte de alimento, essas microalgas, por serem filamentosas, proporcionam um aumento de habitat para refúgio de organismos natantes e fixação de organismos sésseis.
- Foi evidenciada uma diferença significativa na abundância absoluta de organismos zooplancctônicos, considerando a profundidade da coluna d'água, onde a maior ocorrência de organismos se deu em amostras da superfície (rizosfera) superando os 30000 org./100mL em comparação com as amostras do meio da coluna d'água (< 2000 org./100mL).
- As lagoas de lemnas apresentaram alta diversidade de grupos bacterianos, totalizando 341 gêneros identificados, dentre eles: organismos patogênicos, nitrificantes, desnitrificantes e fixadores de nitrogênio, com médias de 9,2%, 0,9%, 33,7% e 16,7%, respectivamente, no entanto, uma forte dinâmica das populações pode ser destacada ao longo do período, sendo esta esperada em amostras ambientais (coletadas em campo aberto).

#### Avaliação da produtividade de biomassa de lemnas:

- Destacou-se que o crescimento das lemnas está diretamente relacionado com a carga de nutrientes aplicada, sendo que a maior taxa de crescimento superficial ( $5,91\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ ) foi encontrada na primavera, quando aplicada a maior carga de NT ( $19,8\text{ kg NT}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ) e PT ( $2\text{ kg NT}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ). Contudo, a taxa de crescimento de biomassa não foi tão alta quanto em outros estudos, mas está dentro do esperado.
- Notou-se que a alta concentração de nitrogênio amoniacal e a



ação de herbívoros retardou fortemente o crescimento da população de lemnas no período de adaptação.

- Ficou evidenciado, por meio da ACP, que a variação no comportamento da densidade de lemnas influencia os parâmetros SST e turbidez.

#### Recomendações para trabalhos futuros

Em vista das limitações do estudo e das conclusões apresentadas, recomenda-se:

- Aplicar este estudo com um sistema mais estável, com cargas fixas, para estimar a influência sazonal na microbiota.
- Avaliar a remoção de nutrientes, com um estudo mais detalhado das comunidades bacterianas específicas, aplicando a técnica de sequenciamento genético para gêneros específicos.
- Avaliar as lagoas de lemnas associadas a outras alternativas de tratamento primário, como reator UASB.
- Avaliar a emissão e/ou sequestro de gases do efeito estufa no sistema.
- Estudar o reaproveitamento da biomassa de lemnas para produção de biocombustíveis como o etanol e o biogás.
- Realizar uma análise econômica e de ciclo de vida do sistema.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALAERTS, G.; MAHBUBAR, R.; KELDERMAN, P. Performance analysis of a full-scale duckweed-covered sewage lagoon. **Water Research**, v.30, n.4, p. 843-852. 1996.

ALI, M. M.; MAGEED, A. A.; HEIKAL, M. Importance of aquatic macrophyte for invertebrate diversity in large subtropical reservoir. **Limnologia: Ecology and Management of Inland Waters**, Aswan, v. 37, n. 2, p.155-169, 2007.

AMANN, R. I.; BINDER, B. J.; OLSON, R. J.; CHISHOLM, S. W.; DEVEREUX, R.; STAHL, D. A. Combination of 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes with flow cytometry for analyzing mixed microbial populations. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 56, n. 6, p.1919-1925, 1990.

AMANN R. In situ identification of microorganism by whole cell hybridization with rRNA-targeted nucleic acid probes. IN: A.D.L. Akkerman, J.D.van Elsas, F.J. de Bruijn (eds). **Molecular microbial Ecology Manual**, p.1–15, 1995.

AMANN R. I.; LUDWIG, W.; SCHULZE, R.; SPRING, S.; MOORE, E.; SCHLEIFER, K. rRNA-targeted oligonucleotide probes for the identification of genuine and former pseudomonads. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 19, n. 4, p.501-509, 1996.

ANA. Agência Nacional de Águas (Brasil). **Conjuntura dos recursos hídricos no Brasil: 2013**. Brasília, 2013. 432 p.

ANA. Agência Nacional das Águas. **Conjuntura dos recursos hídricos no Brasil - Informe 2014**, Encarte Especial sobre a Crise Hídrica.

Disponível em:

<<http://conjuntura.ana.gov.br/docs/crisehidrica.pdf>> Acesso em 21 mar. 2015.

ANSAL, M D; DHAWAN, A; KAUR, V I. Duckweed based bio-remediation of village ponds: An ecologically and economically viable integrated approach for rural development through aquaculture. **Livestock Research For Rural Development**, Ludhiana, v. 22, n. 129, jul. 2010.

ANSA, E.D.O.; LUBBERDING, H. J.; AMPOFO, J. A.; GIJZEN, H. J. Attachment of faecal coliform and macro-invertebrate activity in the removal of faecal coliform in domestic wastewater treatment pond systems. **Ecological Engineering**, Achimota, v. 42, n. 1, p.35-41, 01 mar. 2012.

APHA. (American Public Health Association) – AWWA (American Water Works Association) – WEF (Water Environment Federation). **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 20th Edition, 2005.

APG (Angiosperm Phylogeny Group) III. Disponível em: <<http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/welcome.html>> Acesso em 24 mar. 2015.

ARANA, L. V..Princípios químicos da qualidade da água em aquíicultura. Florianópolis, **Ed. UFSC**,116p. 1997.

AWUAH, E; ANOHENE, F; ASANTE, K; LUBBERDING, H; GIJZEN, H. Environmental conditions and pathogen removal in macrophyte-and algal-based domestic wastewater treatment. **Water Science and Technology**. v. 44, n. 6, p. 11-18. 2001.

BACH, A. O. **Avaliação de Lagoas de Lemnas no Polimento de Efluentes e na Fixação de CO<sub>2</sub>**. 2013. 86f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Sanitária e Ambiental), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2013.

BARÃO, L. Z. **Avaliação inicial de lagoas de lemnas com chicanas na remoção de DQO e fósforo de efluentes domésticos e na fixação de CO<sub>2</sub>**. 2014. 79 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia Sanitária e Ambiental, Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

BENJAWAN, L. KOOTTATEP, T. Nitrogen remove in recirculation duckweed ponds system. **Water Science and Technology**. v. 55, n. 11, p. 103-110. 2007.

BENTO, A. P. **Tratamento de esgoto doméstico em lagoas de estabilização com suportes para o desenvolvimento de perifiton - biofilme**. 2005. 197 f. Tese (Doutorado) - Curso de Pós-graduação em

Engenharia Ambiental, Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

BERGMANN, B. A., J. CHENG, J. J. CLASSEN, AND A.–M. STOMP. In vitro selection of duckweed geographical isolates for potential use in swine lagoon effluent renovation. **Bioresource Technology**. v. 73, n.1, p. 13–20. 2000.

BRASIL. **Lei nº 9.433 – 8 jan. 1997**. Institui a Política Nacional de Recursos Hídricos, cria o sistema Nacional de Gerenciamento de Recursos Hídricos, regulamenta o inciso XIX do art. 21 da Constituição Federal e altera o art 1º da Lei nº 8.001, de 13 de março de 1990, que modificou a Lei nº 7.990, de 28 de dezembro de 1989. Diário Oficial da União, Brasília, Seção 1, 9 jan. 1997.

BRASIL. **Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução n. 430 – 13 maio. 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, Brasília, 16 maio. 2011.

BRUGNAGO, N. **Avaliação de Lagoas de Lemnas (*Landoltia punctata*) para o polimento de esgoto sanitário e fixação de gás carbônico**. 2014. 133 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2014.

CAICEDO, J.R., VAN DER STEEN, N.P., ARCE, O.; GIJZEN, H.J. Effect of total ammonia nitrogen concentration and pH on growth rates of duckweed (*Spirodella polirrhiza*). **Water. Research**. 34: (15): 3829-3835. 2000.

CAICEDO, J. R., C. ESPINOSA, M. ANDRADE AND H. J. GIJZEN. Effect of anaerobic pretreatment on environmental and physiochemical characteristics of duckweed based stabilization ponds. **Water Science and Technology**. 45(1): 83-89. 2002.

CAICEDO, J.R. **Effect of Operational Variables on Nitrogen Transformations in Duckweed Stabilization Ponds**. Tese. Delft, The Netherlands. 163pp. 2005.

CHENG, J. LANDESMAN, L. BERGMAN, B. A. CLASSEN, J. J. HOWARD, J. W.; YAMAMOTO, Y. T. B. Nutrient Removal from Swine Lagoon Liquid by *Lemna minor*. **American Society of Agricultural Engineers**. v. 45, n. 4, p. 1003-1010. 2002a.

CHENG, J.; Bergmann, B. A. CLASSEN, J. J. STOMP, A. M. HOWARD, J. W. Nutrient recovery from swine lagoon water by *Spirodela punctata*. **Bioresource Technology**, Raleigh, v. 81, n. 1, p.81-85, jan. 2002b.

CHENG, J. J.; STOMP A. M. Growing Duckweed to Recover Nutrients from Wastewaters and for Production of Fuel Ethanol and Animal Feed. **CLEAN – Soil, Air, Water**. 37 (1): 17–26, 2009.

CETESB. **L5.304**: Zooplâncton de água doce: métodos qualitativo e quantitativo. 2 ed. São Paulo: 2012. 13 p.

COUNCIL OF THE EUROPEAN COMMUNITIES. Council directive of 21 mai 1991 concerning urban wastewater treatment (91/271/EEC). Official Journal of the European Communities, nº L135/40 – 52 (30 mai 1991).

CROCETTI G.R., HUGENHOLTZ P., BOND P.L., SCHULER A., KELLER J., JENKINS D. AND BLACKALL L.L. Identification of polyphosphate-accumulating organisms and design of 16S rRNA-directed probes for their detection and quantification. **Applied and Environmental Microbiology**. 66: 1175-1182, 2000.

CROSS, J.W. 2006. **The charms of duckweed**. Disponível em: <<http://www.mobot.org/jwcross/duckweed/duckweed.htm>> Acesso em: Jan. 2015.

CULLEY, D.D.; REJMANKOVA, E.; KVET, J.; FRYE, J.B.. Production, chemical quality and the use of duckweeds (Lemnaceae) in aquaculture, waste management, and animal feeds. **Journal of the World Aquaculture Society**. 12(2):27-49, 1981.

DAIMS, H.; BRUHL, A.; AMANN, R.; SCHLEIFER, K. H.; WAGNER, M. The Domain-specific Probe EUB338 is Insufficient for the Detection of all Bacteria: Development and Evaluation of a more Comprehensive Probe Set. **Systematic and Applied Microbiology**, v.

22, n. 3, p.434-444, 1999.

DAWIDOWICZ, P.; OZIMEK, T. Cladoceran *Moina* branchiata can not reduce suspended solids in Lemna System macrophyte wastewater treatment plant. **Ecological Engineering**, Warsaw, v. 58, n. 1, p.262-265, set. 2013.

EL-SHAFAI, S.A.; EL-GOHARY, F.A.; NASR, F.A.; VAN DER STEEN, N.P.; GIJZEN, H.J. Nutrient Recovery from domestic wastewater using a UASB-duckweed ponds system. **Bioresource Technology**, v. 98, n.4, p. 798-807, 2007.

FERNANDES, Heloísa. **Estrutura da comunidade microbiana e sua influência no desempenho de reatores em bateladas sequenciais em escala real**. 2013. 189 f. Tese (Doutorado) - Curso de Pós-graduação em Engenharia Ambiental, Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

GE, X., ZHANG, N., PHILLIPS, G. C., XU, J. Growing *Lemna minor* in agricultural wastewater and converting the duckweed biomass to ethanol. **Bioresource Technology**. v. 124, p. 485-488. 2012.

GIJZEN, H.J. **Low cost wastewater treatment and potentials for re-use: a cleaner production approach to wastewater management**. In: proceedings International symposium on low cost wastewater treatment and re-use. Cairo, Egypt, February 3-4. 2001.

GIJZEN, H. J., M. KHONDKER. **An overview of the ecology, physiology, cultivation and applications of duckweed**. Inception Report. Annex 1. Literature Review. Duckweed Research Project (DWRP). Dhaka, Bangladesh. 53 p. 1997.

IQBAL, S. **Duckweed aquaculture**. Potentials, possibilities and limitations, for combined wastewater treatment and animal feed production in developing countries. Switzerland. SANDEC report. n.6, 91p. 1999.

KÖRNER, S.; LYATUU, G.B.; VERMAAT, J.E. The influence of *Lemna gibba* on the degradation of organic material in duckweed-covered domestic wastewater. **Water Research**. v. 32, n. 10, p. 3092-3098. 1998a.

KÖRNER, S.; VERMAAT, J.E. The relative importance of Lemna gibba, bacteria and algae for the nitrogen and phosphorus removal in duckweed – covered domestic wastewater. **Water Research**. v. 32, n. 12, p. 3651- 366. 1998b.

KORNER, S., VERMAAT, J. E., VEENSTRA, S. The Capacity of Duckweed to Treat Wastewater: Ecological Considerations for a Sound Design. **Journal of Environmental Quality**. v.32, n. 5, p. 1583-1590. 2003.

KRISHNA, K.C. B.; POLPRASERT, C. An integrated kinetic model for organic and nutrient removal by duckweed-based wastewater treatment (DUBWAT) system. **Ecological Engineering**, Thailand, v. 34, p.243-250, 29 ago. 2008.

LANDESMAN, L., PARKER N. C., FEDLER C. B., KONIKOFF, M. Modeling Duckweed Growth In Wastewater Treatment Systems. **Livestock Research for Rural Development**. 17 (6). 2005

LANDOLT, E.; KANDELER. **The family of lemnaceae** – a monographic study: Phytochemistry, physiology, application and bibliography. In Biosystematic Investigations in the Family of Duckweeds (Lemnaceae). Veröffentlichungen des geobotanischen Institutes der ETH. Zürich. Stiftung Ruebel, Vol 4, n.95: 638pp.1987.

LENG, R. A. Duckweed - a tiny aquatic plant with enormous potential for agriculture and environment. **FAO Animal Production and Health Paper**. 231p. 1999.

LES, D. H., CRAWFORD, D. J. Landoltia (Lemnaceae), a New Genus of Duckweeds. **Journal for Botanical Nomenclature**. v. 9, n. 4, p. 530-533.1999.

LYERLY N. C. **Swine Wastewater Treatment In an Integrated System of Anaerobic Digestion and Duckweed Nutrient Removal: Pilot Study**. Dissertation. US, North Carolina State University 97p, 2004.

MATOS, A.; ABRAHÃO, S. S.; LOMONACO, P. A.; SARMENTO, A. P.; MATOS, M. P. Capacidade extratora de plantas em sistemas alagados utilizados no tratamento de águas residuárias de laticínios.



**Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental.** Campina Grande, v. 12, n. 14, p.1311-1317, set. 2010.

METCALF & EDDY. **Waste Engineering: treatment and reuse.** Tchobanoglous G. and Burton F. L. [eds.]. 4th Ed. McGraw Hill, Inc., USA. 2003.

MOBARRY, B. K.; WAGNER, M.; URBAIN, V.; RITTMANN, B. E.; STAHL, D. A. Phylogenetic probes for analyzing abundance and spatial organization of nitrifying bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 62, n.6, p.2156-2162, 1996.

MOHEDANO, R.A. **Tratamento de efluente e produção de alimento, em cultivo de tilápias (*O.niloticus*), através da macrófita aquática *Lemna valvidiana* (lemnaceae)** – Uma contribuição para a sustentabilidade da aquicultura. 2004. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Aqüicultura, Florianópolis, 78p. 2004.

MOHEDANO, R. A. **Uso de macrófitas lemnáceas (*Landoltia punctata*) no polimento e valorização do efluente de suinocultura e na fixação de carbono.** Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 270p. 2010.

MOHEDANO, R. A., VELHO, V. F., COSTA, R. H. R., HOFMANN S. M., BELLI, P. B. Nutrient recovery from swine waste and protein biomass production using duckweed ponds (*Landoltia punctata*): Southern Brazil. **Water Science and Technology**. v.65, n. 11, p. 2042-2048. 2012a.

MOHEDANO, R.A., COSTA, R.H.R., TAVARES, F. A., BELLI, P.B. High nutrient removal rate from swine wastes and protein biomass production by full-scale duckweed ponds. **Bioresource Technology**, v. 112, p. 98-104. 2012b.

MOHEDANO, R. A.; COSTA, R. H. R., HOFMANN S. M. BELLI FILHO, P. Using Full-Scale Duckweed Ponds as the Finish Stage for Swine Waste Treatment with a Focus on Organic Matter Degradation. **Water Science and Technology** 69 (10): 2147-2154. 2014.

MOTA, F. S. B.; VON SPERLING, M. **Nutrientes de esgoto sanitário: utilização e remoção**. Rio de Janeiro: PROSAB 5, ABES, 2009. 428p.

ONU. **Até 2050, um bilhão de pessoas viverão em cidades sem água suficiente, diz Banco Mundial**. Disponível em:

<<http://nacoesunidas.org/ate-2050-um-bilhao-de-pessoas-viverao-em-cidades-sem-agua-suficiente-diz-banco-mundial/>>. Acesso em: 21 mar. 2015.

ORON, G. Duckweed culture for wastewater renovation and biomass production. **Agricultural Water Management**, 26: 27-40.1994.

POTT, V. J. **Plantas Aquáticas do Pantanal**. Corumbá -MS. Centro de Pesquisa Agropecuária do Pantanal. Embrapa, 404pp 2000.

PRIYA, A, AVISHEK, K., PATHAK, G. Assessing the potentials of *Lemna minor* in the treatment of domestic wastewater at pilot scale. **Environmental Monitoring and Assessment**. v.184, n. 7, p. 4301–4307. 2012.

RAN, N.; AGAMI, M.; ORON, G. A pilot study of constructed wetlands using duckweed (*Lemna gibba* L.) for treatment of domestic primary effluent in Israel. **Water Research**, Kiryat, v. 38, n. 9, p.2241-2248, 13 abr. 2004.

RANGEBY, M. JOHANSSON, P.; PERNRUP, M. Removal of faecal coliforms in a wastewater stabilization pond system in Mindelo, Cape Verde. **Water Science and Technology**, v.34, n. 11, p. 149-157.1996.

SÁNCHEZ, M.; MOSQUERA-CORRAL, A.; MÉNDEZ, R.; LEMA, J.M. Simple Methods for the Determination of the Denitrifying Activity of Sludges. **Bioresource Technology**. 75 pp.1-6. 2000.

SANTA CATARINA (Estado). **Lei nº 14675**, de 13 de abril de 2009. Código Estadual do Meio Ambiente. Florianópolis.

SCHMITT, J. **Pré-processamento para a mineração de dados: uso da análise de componentes principais com escalonamento ótimo**. Dissertação (Mestrado em Ciência da Computação). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

SHAMMOUT, M. W.; ZAKARIA, H. Water lentils (duckweed) in Jordan irrigation ponds as a natural water bioremediation agent and protein source for broilers. **Ecological Engineering**, Amman, v. 83, n. 1, p.71-77, 24 jun. 2015.

SIMS, A.; GAJARAJ, S.; HU, Z. Nutrient removal and greenhouse gas emissions in duckweed treatment ponds. **Water Research**, Columbia, v. 47, n. 3, p.1390-1398, 01 mar. 2013.

SKILLICORN, P.; SPIRA W.; JOUNEY, W. **Duckweed Aquaculture, a new aquaculture farming system for developing countries**. The World Bank, Washington, USA. 1993.

SNIS – Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento: **Diagnóstico dos Serviços de Água e Esgoto - 2013**. Ministério das Cidades. Brasília, 2014. 181p.

TAVARES, F. A.; RODRIGUES, J. B.; BELLI FILHO, P.; LOBO-RECIO, M. A.; LAPOLLI, F. R. Desempenho da macrófita *Lemna valdiviana* no tratamento terciário de efluentes de suinocultura e sua contribuição para a sustentabilidade da atividade. **Biotemas**, Florianópolis, v. 21, p.17-27, mar. 2008.

UEHARA, V.; VIDAL, W. L. **Operação e manutenção de lagoas anaeróbias e facultativas**. São Paulo: CETESB, 1989. 91 p.

VERMA, R.; SUTHAR, S. Synchronized urban wastewater treatment and biomass production using duckweed *Lemna gibba* L. **Ecological Engineering**, Dehradun, v. 64, p.337-343, 29 jan. 2014.

VIEIRA, B. **Remoção de nutrientes de efluentes líquidos através de lagoas de lemnas com chicanas**. 2013. 58 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia Sanitária e Ambiental, Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 3. edição. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2005. 452p.

VON SPERLING, M. **Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios**. Rio de Janeiro: PROSAB, ABES, Cap 5. 40p. 2001.

WAGNER, M.; RATH, G.; KOOPS, H.; FLOOD, J.; AMANN, R. In situ analysis of nitrifying bacteria in sewage treatment plants. **Water Science and Technology**, v. 34, p.237–244, 1996.

XIAO, Y. FANG, Y. JIN, Y. ZHANG, G. ZHAO, H. Culturing duckweed in the field for starch accumulation. **Industrial Crops And Products**, Chengdu, v. 48, n. 1, p.183-190, 17 maio 2013.

XU, J.; SHEN, G. Growing duckweed in swine wastewater for nutrient recovery and biomass production. **Bioresource Technology**, Raleigh, v.102, n.2, p.848–853, 2011.

XU, J. CUI, W. CHENG, J. STOMP, A. M. Production of high-starch duckweed and its conversion to bioethanol. **Biosystems Engineering**, Raleigh, v. 110, n. 2, p.67-72, 03 ago. 2011.

ZHAO, Z. SHI, H. LIU, Y. ZHAO, H. SU, H. WANG, M. ZHAO, Y. The influence of duckweed species diversity on biomass productivity and nutrient removal efficiency in swine wastewater. **Bioresource Technology**, Chengdu, v. 167, p.383-389, set. 2014a.

ZHAO, Y. FANG, Y. JIN, Y. HUANG, J. BAO, S. FU, T. HE, Z. WANG, F. ZHAO, H. Potential of duckweed in the conversion of wastewater nutrients to valuable biomass: A pilot-scale comparison with water hyacinth. **Bioresource Technology**, Chengdu, v. 163, n. 1, p.82-91, 16 abr. 2014b.

ZHAO, Y. FANG, Y. JIN, Y. HUANG, J. MA, X. HE, K. HE, Z. WANG, F. ZHAO, H. Microbial community and removal of nitrogen via the addition of a carrier in a pilot-scale duckweed-based wastewater treatment system. **Bioresource Technology**, Chengdu, v. 179, p.549-558, mar. 2015.

ZIMMO, O.; VAN DER STEEN, N., GIJZEN, H. Comparison of ammonia volatilization rates in algae and duckweed-based waste stabilization ponds treating domestic wastewater. **Water Research** 37: pp.4587-4594.2003.

ZUBERER, D.A. Microbial colonization of some duckweeds (lemnaceae): examination by scanning and transmission electron and light microscopy (1983), *Aquatic Botany*, 18 (275-285). Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam. 1983.

## ANEXO 1

Metodologia empregada para a realização da técnica de Hibridização Fluorescente *in situ* (FISH) descrito por Amann (1995), conforme resumiu Fernandes (2013) em seis (6) principais etapas:

1) coleta e fixação das amostras: realizado através da adição de 3 volumes de paraformaldeído (PFA) 4% em 200 mM de tampão fosfato de sódio (pH 7,2) para cada 1 volume de suspensão bacteriana. Para a conservação das amostras após a fixação, estas eram armazenadas em congelador (-20°C);

2) preparação das lâminas e desidratação das células: após fixadas, as amostras eram dispostas em lâminas contendo gelatina (0,1%) e KCr (SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> (0,01%) desidratadas (através da adição de concentrações crescentes de etanol - 50%, 80% e 100%), para então proceder-se à hibridização.

3) hibridização das células com as sondas fluorescentes: após desidratadas, as células foram expostas à diferentes concentrações de soluções de hibridização (de acordo com o recomendado para cada sonda). Em seguida, em cada orifício da lâmina foi adicionado uma sonda contendo o marcador Cy3. Para sondas com sequências similares (menos de três bases diferentes) foram utilizadas sondas competidoras evitando resultado falso-positivo. A hibridização ocorreu em um recipiente plástico, fechado e protegido da luz, contendo papel embebido em água onde cada lâmina foi disposta e incubada por 1,5 horas a 46°C. Após a incubação, adicionou-se em cada orifício da lâmina, 2µL de 4,6-diamidino-2-phenylindol (DAPI) em uma concentração de 10µg/mL sendo a lâmina posteriormente exposta por mais 20 minutos a 46°C.

4) lavagem das lâminas para otimização da estringência: após hibridização, as células foram lavadas com solução de lavagem para retirada do excesso da solução de hibridização e de sonda. Para tanto, foram adicionados 20µL da solução de lavagem com concentração específica (de acordo com a porcentagem de formamida utilizado na hibridização) para cada sonda e as lâminas foram incubadas por 20 minutos em banho pré-aquecido de 48°C. O tampão de lavagem foi removido com água destilada a 4°C e as lâminas foram secas em local desprovido de iluminação e em temperatura ambiente.

5) adição de anti “fading” (CitiFluor): algumas gotas da solução de anti “fading” foram adicionadas sobre a amostra recém preparada (a fim de evitar que houvesse perda da fluorescência) e posteriormente, coberta com a lamínula.

6) observação das lâminas em microscópio: a ligação da sonda (com fluorocromo do tipo Cy3) com a sequência complementar no 89 RNAr foi detectada por microscopia de epifluorescência (microscópio Olympus modelo BX-41) e microscopia eletrônica de varredura (Leica TCS SP5). Na estimativa de abundância de células hibridizadas com a sequência complementar do RNAr, 10 campos foram escolhidos aleatoriamente e consideradas as células coradas com DAPI como representante de 100% do total de microrganismos.

## APÊNDICE 1

Tabela A1.1 – Valores médios, desvio padrão e eficiência de remoção dos parâmetros avaliados, em todas as etapas do sistema de tratamento durante a primavera.

| Parâmetros                                  | n  | EL1         | SL1         | %    | SL2         | %    | Eficiência Final (%) |
|---|----|-------------|-------------|------|-------------|------|----------------------|
| <b>DQO (mg.L<sup>-1</sup>)</b>              | 13 | 89,0 ± 10,1 | 39,5 ± 15,3 | 55,6 | 28,1 ± 9,7  | 28,9 | 68,4                 |
| <b>DBO (mg.L<sup>-1</sup>)</b>              | 13 | 92,5 ± 58,8 | 48,0 ± 27,9 | 48,1 | 13,1 ± 14,1 | 72,7 | 85,9                 |
| <b>COD (mg.L<sup>-1</sup>)</b>              | 13 | 21,8 ± 3,5  | 12,3 ± 3,0  | 43,5 | 10,9 ± 1,5  | 11,6 | 50,1                 |
| <b>NT (mg.L<sup>-1</sup>)</b>               | 13 | 80,2 ± 18,4 | 25,1 ± 14,6 | 68,7 | 6,7 ± 6,3   | 73,3 | 91,6                 |
| <b>N-NH<sub>3</sub> (mg.L<sup>-1</sup>)</b> | 13 | 64,3 ± 22,0 | 15,2 ± 8,4  | 76,3 | 3,2 ± 4,3   | 78,7 | 95,0                 |
| <b>PT (mg.L<sup>-1</sup>)</b>               | 13 | 8,1 ± 2,2   | 2,5 ± 0,8   | 69,0 | 0,5 ± 0,8   | 81,3 | 94,2                 |
| <b>pH</b>                                   | 13 | 7,1 ± 0,1   | 7,2 ± 0,2   |      | 7,0 ± 0,2   |      |                      |
| <b>OD (mg.L<sup>-1</sup>)</b>               | 7  | 0,0 ± 0,0   | 0,0 ± 0,0   |      | 0,5 ± 0,8   |      |                      |
| <b>T (°C)</b>                               | 13 | 21,8 ± 2,5  | 21,8 ± 2,5  |      | 22,3 ± 2,6  |      |                      |
| <b>Turbidez (NTU)</b>                       | 13 | 31,1 ± 20,4 | 3,2 ± 0,8   | 89,7 | 1,4 ± 0,8   | 55,9 | 95,5                 |
| <b>SST (mg.L<sup>-1</sup>)</b>              | 13 | 18,9 ± 2,3  | 3,9 ± 2,2   | 79,2 | 2,5 ± 2,0   | 36,9 | 86,9                 |
| <b>SSF (mg.L<sup>-1</sup>)</b>              | 13 | 4,7 ± 1,5   | 0,5 ± 0,7   | 88,6 | 0,9 ± 1,0   | -    | 81,0                 |
| <b>SSV (mg.L<sup>-1</sup>)</b>              | 13 | 13,5 ± 4,1  | 3,8 ± 1,8   | 72,3 | 2,0 ± 1,6   | 45,5 | 84,9                 |
| <b>Coliformes Totais* (NMP/100ml)</b>       | 5  | 4,3E+05     | 1,0E+05     | 75,9 | 2,0E+04     | 80,1 | 95,2                 |
| <b><i>E. Coli.</i>* (NMP/100ml)</b>         | 5  | 3,7E+04     | 6,1E+02     | 98,3 | 1,0E+02     | 83,6 | 99,7                 |

EL1 – Entrada da Lagoa de Lemnas 1; SL1 – Saída da Lagoa de Lemnas 1; SL2 – Saída da Lagoa de Lemnas 2.

\* Valores representados por média geométrica

Tabela A1.2 - Valores médios, desvio padrão e eficiência de remoção dos parâmetros avaliados, em todas as etapas do sistema de tratamento durante o verão.

| <b>Parâmetros</b>                           | <b>n</b> | <b>EL1</b>  | <b>SL1</b>  | <b>%</b> | <b>SL2</b> | <b>%</b> | <b>Eficiência Final (%)</b> |
|---|----------|-------------|-------------|----------|------------|----------|-----------------------------|
| <b>DQO (mg.L<sup>-1</sup>)</b>              | 10       | 70,8 ± 8,9  | 36,2 ± 11,2 | 48,8     | 35,5 ± 7,2 | 2,0      | 49,8                        |
| <b>DBO (mg.L<sup>-1</sup>)</b>              | 10       | 79,5 ± 47,7 | 15,9 ± 7,5  | 79,9     | 10,1 ± 2,4 | 36,5     | 87,3                        |
| <b>COD (mg.L<sup>-1</sup>)</b>              | 10       | 18,7 ± 0,9  | 12,5 ± 2,2  | 33,1     | 11,4 ± 2,6 | 8,5      | 38,8                        |
| <b>NT (mg.L<sup>-1</sup>)</b>               | 10       | 53,3 ± 8,2  | 22,7 ± 8,3  | 57,4     | 7,5 ± 4,8  | 67,0     | 85,9                        |
| <b>N-NH<sub>3</sub> (mg.L<sup>-1</sup>)</b> | 10       | 43,1 ± 4,9  | 17,8 ± 5,2  | 58,7     | 1,8 ± 1,5  | 90,2     | 95,9                        |
| <b>PT (mg.L<sup>-1</sup>)</b>               | 10       | 4,8 ± 0,8   | 1,3 ± 0,7   | 73,3     | 0,2 ± 0,2  | 87,7     | 96,7                        |
| <b>pH</b>                                   | 10       | 7,1 ± 0,2   | 7,1 ± 0,2   | -        | 7,0 ± 0,2  | -        | -                           |
| <b>OD (mg.L<sup>-1</sup>)</b>               | 4        | 2,3 ± 0,5   | 2,8 ± 0,4   | -        | 1,2 ± 0,7  | -        | -                           |
| <b>T (°C)</b>                               | 10       | 24,9 ± 1,0  | 24,9 ± 1,0  | -        | 25,3 ± 1,0 | -        | -                           |
| <b>Turbidez (NTU)</b>                       | 10       | 36,9 ± 25,4 | 2,6 ± 0,8   | 93,0     | 1,9 ± 1,2  | 26,8     | 94,9                        |
| <b>SST (mg.L<sup>-1</sup>)</b>              | 10       | 16,1 ± 3,1  | 3,0 ± 1,3   | 81,2     | 3,28 ± 2,4 | -        | 79,7                        |
| <b>SSF (mg.L<sup>-1</sup>)</b>              | 10       | 2,9 ± 1,4   | 0,3 ± 0,6   | 89,5     | 0,2 ± 0,3  | 33,3     | 93,0                        |
| <b>SSV (mg.L<sup>-1</sup>)</b>              | 10       | 14,3 ± 2,6  | 3,8 ± 1,5   | 73,6     | 4,7 ± 3,2  | -        | 67,2                        |
| <b>Coliformes Totais* (NMP/100ml)</b>       | 3        | 8,37E+04    | 7,44E+04    | 11,1     | 1,49E+04   | 79,9     | 82,2                        |
| <b><i>E. Coli.</i>* (NMP/100ml)</b>         | 3        | 7,30E+03    | 2,10E+02    | 97,1     | 0,00E+00   | 100      | 100                         |

EL1 – Entrada da Lagoa de Lemnas 1; SL1 – Saída da Lagoa de Lemnas 1; SL2 – Saída da Lagoa de Lemnas 2.

\* Valores representados por média geométrica



Tabela A1.3 - Valores médios, desvio padrão e eficiência de remoção dos parâmetros avaliados, em todas as etapas do sistema de tratamento durante o outono.

| <b>Parâmetros</b>                           | <b>n</b> | <b>EL1</b>  | <b>SL1</b> | <b>%</b> | <b>SL2</b> | <b>%</b> | <b>Eficiência Final (%)</b> |
|---|----------|-------------|------------|----------|------------|----------|-----------------------------|
| <b>DQO (mg.L<sup>-1</sup>)</b>              | 11       | 88,3 ± 38,0 | 32,3 ± 6,2 | 63,4     | 31,3 ± 7,4 | 3,1      | 64,5                        |
| <b>DBO (mg.L<sup>-1</sup>)</b>              | 11       | 36,1 ± 26,5 | 13,6 ± 6,8 | 62,3     | 7,5 ± 3,5  | 44,8     | 79,2                        |
| <b>COD (mg.L<sup>-1</sup>)</b>              | 11       | 20,9 ± 5,5  | 10,3 ± 1,1 | 50,6     | 7,8 ± 2,1  | 24,5     | 62,7                        |
| <b>NT (mg.L<sup>-1</sup>)</b>               | 11       | 43,2 ± 7,8  | 11,0 ± 3,4 | 74,5     | 1,2 ± 1,7  | 89,0     | 97,2                        |
| <b>N-NH<sub>3</sub> (mg.L<sup>-1</sup>)</b> | 11       | 42,5 ± 3,4  | 11,4 ± 3,8 | 73,1     | 0,7 ± 1,0  | 94,3     | 98,4                        |
| <b>PT (mg.L<sup>-1</sup>)</b>               | 11       | 6,4 ± 1,4   | 1,3 ± 1,2  | 79,4     | 0,2 ± 0,4  | 82,8     | 96,4                        |
| <b>pH</b>                                   | 12       | 6,9 ± 0,2   | 6,9 ± 0,1  | -        | 6,6 ± 0,2  | -        | -                           |
| <b>OD (mg.L<sup>-1</sup>)</b>               | 12       | 2,4 ± 1,2   | 2,8 ± 1,2  | -        | 1,3 ± 0,8  | -        | -                           |
| <b>T (°C)</b>                               | 12       | 21,1 ± 2,2  | 21,0 ± 2,5 | -        | 20,9 ± 2,3 | -        | -                           |
| <b>Turbidez (NTU)</b>                       | 11       | 37,1 ± 37,3 | 3,8 ± 0,7  | 89,8     | 3,4 ± 1,9  | 8,7      | 90,7                        |
| <b>SST (mg.L<sup>-1</sup>)</b>              | 11       | 26,8 ± 23,0 | 4,9 ± 2,8  | 81,7     | 5,4 ± 4,1  | -        | 79,8                        |
| <b>SSF (mg.L<sup>-1</sup>)</b>              | 11       | 5,5 ± 5,1   | 1,1 ± 1,3  | 80,7     | 0,7 ± 0,9  | 34,9     | 87,4                        |
| <b>SSV (mg.L<sup>-1</sup>)</b>              | 11       | 21,7 ± 19,1 | 4,7 ± 2,3  | 78,2     | 5,8 ± 3,6  | -        | 73,1                        |
| <b>Coliformes Totais* (NMP/100ml)</b>       | 3        | 4,18E+05    | 2,12E+04   | 94,9     | 1,45E+03   | 93,2     | 99,6                        |
| <b><i>E. Coli.</i>* (NMP/100ml)</b>         | 3        | 6,78E+04    | 2,44E+03   | 96,4     | 4,33E+01   | 98,2     | 99,9                        |

EL1 – Entrada da Lagoa de Lemnas 1; SL1 – Saída da Lagoa de Lemnas 1; SL2 – Saída da Lagoa de Lemnas 2.

\* Valores representados por média geométrica

Tabela A1.4 - Valores médios, desvio padrão e eficiência de remoção dos parâmetros avaliados, em todas as etapas do sistema de tratamento durante o inverno.

| <b>Parâmetros</b>                           | <b>n</b> | <b>EL1</b>    | <b>SL1</b>  | <b>%</b> | <b>SL2</b>  | <b>%</b> | <b>Eficiência Final (%)</b> |
|---|----------|---------------|-------------|----------|-------------|----------|-----------------------------|
| <b>DQO (mg.L<sup>-1</sup>)</b>              | 7        | 178,8 ± 80,9  | 43,3 ± 8,3  | 75,8     | 40,5 ± 27,5 | 6,6      | 77,3                        |
| <b>DBO (mg.L<sup>-1</sup>)</b>              | 7        | 113,0 ± 103,0 | 24,8 ± 14,5 | 78,0     | 11,2 ± 5,6  | 54,8     | 90,1                        |
| <b>COD (mg.L<sup>-1</sup>)</b>              | 7        | 34,8 ± 10,3   | 13,1 ± 1,5  | 62,4     | 8,3 ± 1,6   | 36,7     | 76,2                        |
| <b>NT (mg.L<sup>-1</sup>)</b>               | 7        | 57,4 ± 5,9    | 25,8 ± 3,6  | 55,0     | 5,6 ± 1,2   | 78,4     | 90,3                        |
| <b>N-NH<sub>3</sub> (mg.L<sup>-1</sup>)</b> | 7        | 40,3 ± 2,6    | 19,0 ± 2,6  | 52,9     | 3,0 ± 1,5   | 84,3     | 92,6                        |
| <b>PT (mg.L<sup>-1</sup>)</b>               | 7        | 7,0 ± 0,9     | 3,5 ± 0,3   | 49,5     | 1,4 ± 0,4   | 61,1     | 80,3                        |
| <b>pH</b>                                   | 7        | 7,0 ± 0,1     | 7,0 ± 0,1   | -        | 6,5 ± 0,2   | -        | -                           |
| <b>OD (mg.L<sup>-1</sup>)</b>               | 7        | 1,2 ± 1,0     | 1,5 ± 0,9   | -        | 1,3 ± 0,6   | -        | -                           |
| <b>T (°C)</b>                               | 7        | 18,7 ± 1,2    | 18,6 ± 1,2  | -        | 18,8 ± 1,2  | -        | -                           |
| <b>Turbidez (NTU)</b>                       | 7        | 98,7 ± 34,9   | 7,4 ± 3,7   | 92,5     | 2,5 ± 0,6   | 65,4     | 97,4                        |
| <b>SST (mg.L<sup>-1</sup>)</b>              | 7        | 41,9 ± 42,4   | 7,1 ± 2,7   | 83,0     | 3,2 ± 2,0   | 54,8     | 92,3                        |
| <b>SSF (mg.L<sup>-1</sup>)</b>              | 7        | 5,7 ± 5,7     | 1,2 ± 1,0   | 78,3     | 0,5 ± 0,6   | 62,2     | 91,8                        |
| <b>SSV (mg.L<sup>-1</sup>)</b>              | 7        | 36,8 ± 36,8   | 6,6 ± 2,5   | 82,0     | 3,3 ± 1,5   | 49,4     | 91,0                        |

EL1 – Entrada da Lagoa de Lemnas 1; SL1 – Saída da Lagoa de Lemnas 1; SL2 – Saída da Lagoa de Lemnas.

## APÊNDICE 2

Figura A2.1 - Representação gráfica da concentração de sólidos suspensos fixos (SSF) no tempo. EL1- Entrada da lagoa 1; SL1-Saída da lagoa 1; SL2- Saída da lagoa 2.

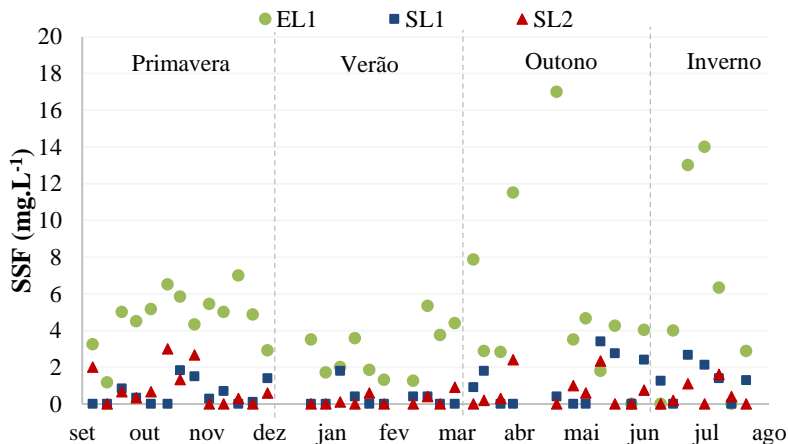
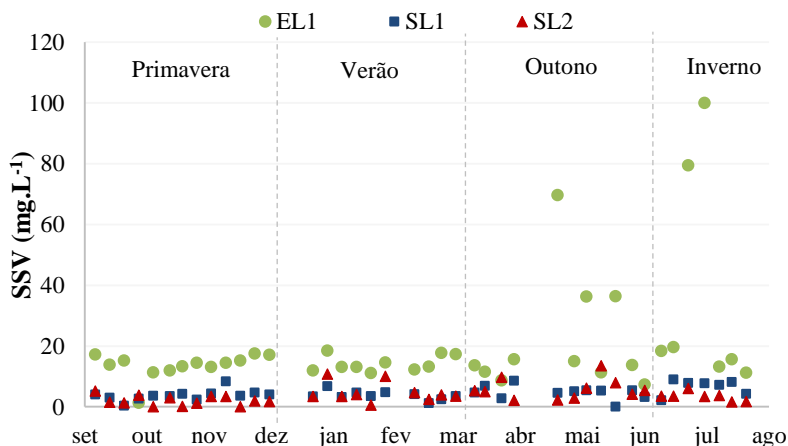


Figura A2.2 - Representação gráfica da concentração de sólidos suspensos voláteis (SSV) no tempo. EL1- Entrada da lagoa 1; SL1-Saída da lagoa 1; SL2- Saída da lagoa 2.



### APÊNDICE 3

Comparação de valores médios das amostras de diferentes profundidades e comprimentos da coluna d'água sazonalmente.

Tabela A3.1: Comportamento das variáveis em relação a profundidade da L1 sazonalmente (Teste de Tukey).

| Perfil   | Lagoa 1  |                             |  |  |  |       |        |                              |                              |   |
|--|--|-----------------------------|--|--|--|-------|--------|------------------------------|------------------------------|---|
|  | Valores médios ao longo do monitoramento – Primavera (n=6) |                             |  |  |  |       |        |                              |                              |   |
| Vertical   | N-NH <sub>3</sub><br>(mg.L <sup>-1</sup> )                 | NT<br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | N-NO <sub>2</sub><br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | N-NO <sub>3</sub><br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | P-PO <sub>4</sub><br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | pH    | T (°C) | OD*<br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | COD<br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | Clorofila <i>a</i><br>(µg.L <sup>-1</sup> ) |
| <b>10cm</b>  | 12,10b   | 14,33b                      | 0,31a                                      | 1,99a                                      | 0,76a                                      | 6,81a | 20,17a | 0,00a                        | 10,30a                       | 1,86a                                       |
| <b>25cm</b>  | 17,40a   | 23,67a                      | 0,28a                                      | 1,10b                                      | 0,97a                                      | 6,83a | 19,93a | 0,00a                        | 10,39a                       | 53,94c                                      |
| <b>35cm</b>  | 21,90a   | 27,33a                      | 0,22a                                      | 0,32c                                      | 1,54b                                      | 6,88a | 19,80a | 0,00a                        | 11,77b                       | 14,88b                                      |
| Valores médios ao longo do monitoramento – Verão (n=4)   |  |                             |  |  |  |       |        |                              |                              |   |
| <b>10cm</b>  | 18,90a   | 28,67a                      | 0,00a                                      | 0,20a                                      | 1,31a                                      | 7,00a | 27,00a | 2,48a                        | 14,91a                       | 0,00a                                       |
| <b>25cm</b>  | 19,80a   | 30,00a                      | 0,00a                                      | 0,23a                                      | 1,39a                                      | 7,08a | 27,07a | 2,27ab                       | 14,84a                       | 7,44b                                       |
| <b>35cm</b>  | 20,20a   | 30,33a                      | 0,14a                                      | 0,24a                                      | 1,37a                                      | 7,08a | 27,17a | 2,09b                        | 13,29a                       | 0,00a                                       |
| Valores médios ao longo do monitoramento – Outono (n=2)  |  |                             |  |  |  |       |        |                              |                              |   |
| <b>10cm</b>  | 12,10a   | 15,67a                      | 0,13a                                      | 0,10a                                      | 0,25a                                      | 6,89a | 24,87a | 2,59a                        | 9,47a                        | 9,30a                                       |
| <b>25cm</b>  | 12,67a   | 16,33a                      | 0,13a                                      | 0,11a                                      | 0,29a                                      | 6,91a | 24,70a | 2,44a                        | 9,95a                        | 5,58a                                       |
| <b>35cm</b>  | 12,60a   | 14,67a                      | 0,16a                                      | 0,11a                                      | 0,28a                                      | 6,93a | 24,57a | 2,25a                        | 9,81a                        | 5,58a                                       |
| Valores médios ao longo do monitoramento – Inverno (n=2) |  |                             |  |  |  |       |        |                              |                              |   |
| <b>10cm</b>  | 21,13a   | 27,00a                      | 0,02a                                      | 0,04a                                      | 1,58a                                      | 7,09a | 17,70a | 2,01a                        | 12,45a                       | 0,00a                                       |
| <b>25cm</b>  | 21,37a   | 24,67a                      | 0,04a                                      | 0,10a                                      | 1,66a                                      | 7,07a | 17,53a | 1,67a                        | 13,46a                       | 0,00a                                       |
| <b>35cm</b>  | 21,30a   | 27,33a                      | 0,01a                                      | 0,12a                                      | 1,62a                                      | 7,07a | 17,50a | 1,63a                        | 13,17a                       | 0,00a                                       |

\*Primavera (n=2); Verão (n=1).

Valores seguidos da mesma letra não diferem entre si, ao nível de 5% de significância pelo Teste de Tukey.

Tabela A3.2: Comportamento das variáveis em relação ao comprimento da L1 sazonalmente (Teste de Tukey).

| <b>Lagoa 1</b>  |   |                             |  |  |  |       |         |                              |                              |   |
|---|---|-----------------------------|--|--|--|-------|---------|------------------------------|------------------------------|---|
| <b>Perfil Longitudinal</b>                                      | <b>Valores médios ao longo do monitoramento – Primavera (n=6)</b> |                             |  |  |  |       |         |                              |                              |   |
|   | N-NH <sub>3</sub><br>(mg.L <sup>-1</sup> )                        | NT<br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | N-NO <sub>2</sub><br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | N-NO <sub>3</sub><br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | P-PO <sub>4</sub><br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | pH    | T (°C)  | OD*<br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | COD<br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | Clorofila <i>a</i><br>(µg.L <sup>-1</sup> ) |
| <b>A</b>  | 17,90a  | 21,00a                      | 0,31a                                      | 0,99a                                      | 1,21a                                      | 6,93a | 19,60a  | 0,00a                        | 10,96a                       | 1,86a                                       |
| <b>B</b>  | 15,70a  | 23,67a                      | 0,29a                                      | 1,18a                                      | 1,09a                                      | 6,92a | 20,00ab | 0,00a                        | 10,68a                       | 0,00a                                       |
| <b>C</b>  | 17,80a  | 20,67a                      | 0,21a                                      | 1,23a                                      | 0,97a                                      | 6,67b | 20,30b  | 0,00a                        | 10,83a                       | 68,82b                                      |
| <b>Valores médios ao longo do monitoramento – Verão (n=4)</b>   |   |                             |  |  |  |       |         |                              |                              |   |
| <b>A</b>  | 20,60a  | 33,00a                      | 0,14a                                      | 0,21a                                      | 1,20a                                      | 7,00a | 27,10a  | 2,25a                        | 14,58a                       | 7,44a                                       |
| <b>B</b>  | 19,80a  | 28,33a                      | 0,00a                                      | 0,24a                                      | 1,44a                                      | 7,08a | 27,03a  | 2,21a                        | 13,62a                       | 0,00a                                       |
| <b>C</b>  | 18,50a  | 27,67a                      | 0,00a                                      | 0,23a                                      | 1,44a                                      | 7,08a | 27,10a  | 2,38a                        | 14,85a                       | 0,00a                                       |
| <b>Valores médios ao longo do monitoramento – Outono (n=2)</b>  |   |                             |  |  |  |       |         |                              |                              |   |
| <b>A</b>  | 12,33ab   | 15,00a                      | 0,10a                                      | 0,10a                                      | 0,27a                                      | 6,93a | 24,60a  | 2,65a                        | 9,81a                        | 9,30a                                       |
| <b>B</b>  | 12,03a  | 16,67a                      | 0,12a                                      | 0,16a                                      | 0,28a                                      | 6,94a | 24,70a  | 2,45ab                       | 9,90a                        | 3,72b                                       |
| <b>C</b>  | 13,00b  | 15,00a                      | 0,20a                                      | 0,06a                                      | 0,27a                                      | 6,87b | 24,83a  | 2,18b                        | 9,52a                        | 7,44a                                       |
| <b>Valores médios ao longo do monitoramento – Inverno (n=2)</b> |   |                             |  |  |  |       |         |                              |                              |   |
| <b>A</b>  | 20,37a  | 26,33a                      | 0,00a                                      | 0,04a                                      | 1,55a                                      | 7,05a | 17,70a  | 1,67a                        | 13,04a                       | 0,00a                                       |
| <b>B</b>  | 20,50a  | 26,67a                      | 0,01a                                      | 0,09a                                      | 1,55a                                      | 7,12a | 17,53a  | 2,00a                        | 13,02a                       | 0,00a                                       |
| <b>C</b>  | 22,93a  | 26,00a                      | 0,05a                                      | 0,13a                                      | 1,76a                                      | 7,06a | 17,50a  | 1,66a                        | 13,03a                       | 0,00a                                       |

\*Primavera (n=2); Verão (n=1).

Valores seguidos da mesma letra não diferem entre si, ao nível de 5% de significância pelo Teste de Tukey.

Tabela A3.3: Comportamento das variáveis em relação a profundidade da L2 sazonalmente (Teste de Tukey).

| <b>Lagoa 2</b>  |   |                             |  |  |  |       |         |                              |                              |   |
|---|---|-----------------------------|--|--|--|-------|---------|------------------------------|------------------------------|---|
| <b>Perfil Vertical</b>  | <b>Valores médios ao longo do monitoramento – Primavera (n=6)</b> |                             |  |  |  |       |         |                              |                              |   |
|   | N-NH <sub>3</sub><br>(mg.L <sup>-1</sup> )                        | NT<br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | N-NO <sub>2</sub><br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | N-NO <sub>3</sub><br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | P-PO <sub>4</sub><br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | pH    | T (°C)  | OD*<br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | COD<br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | Clorofila <i>a</i><br>(µg.L <sup>-1</sup> ) |
| <b>10cm</b>   | 1,70a   | 3,00a                       | 0,00a                                      | 0,18a                                      | 0,04a                                      | 6,55a | 21,5b   | 0,17b                        | 8,29a                        | 0,00a                                       |
| <b>25cm</b>   | 1,70a   | 12,0a                       | 0,00a                                      | 0,34a                                      | 0,09a                                      | 6,52a | 21,07a  | 0,00a                        | 8,31a                        | 0,00a                                       |
| <b>35cm</b>   | 2,00a   | 2,67a                       | 0,00a                                      | 0,27a                                      | 0,05a                                      | 6,45a | 20,90a  | 0,00a                        | 8,83a                        | 3,72b                                       |
| <b>Valores médios ao longo do monitoramento – Verão (n=4)</b>   |   |                             |  |  |  |       |         |                              |                              |   |
| <b>10cm</b>   | 0,90ab  | 7,67a                       | 0,15a                                      | 0,00a                                      | 0,00a                                      | 7,04a | 27,67a  | 1,39a                        | 15,20a                       | 26,04a                                      |
| <b>25cm</b>   | 0,70a   | 1,00a                       | 0,16a                                      | 0,18a                                      | 0,00a                                      | 6,93a | 27,73a  | 1,27a                        | 15,47a                       | 52,08b                                      |
| <b>35cm</b>   | 2,00b   | 16,33a                      | 0,20a                                      | 0,00a                                      | 0,63a                                      | 6,90a | 27,77a  | 1,03a                        | 16,52a                       | 154,38c                                     |
| <b>Valores médios ao longo do monitoramento – Outono (n=2)</b>  |   |                             |  |  |  |       |         |                              |                              |   |
| <b>10cm</b>   | 0,90a   | 2,67a                       | 0,02a                                      | 0,02a                                      | 0,01a                                      | 6,35a | 27,20a  | 0,30b                        | 10,16a                       | 0,00a                                       |
| <b>25cm</b>   | 1,07a   | 2,00a                       | 0,03a                                      | 0,05a                                      | 0,00a                                      | 6,34a | 25,70ab | 0,15a                        | 8,82a                        | 0,00a                                       |
| <b>35cm</b>   | 1,17a   | 3,67a                       | 0,04a                                      | 0,07a                                      | 0,00a                                      | 6,36a | 25,50b  | 0,13a                        | 9,65a                        | 297,60b                                     |
| <b>Valores médios ao longo do monitoramento – Inverno (n=2)</b> |   |                             |  |  |  |       |         |                              |                              |   |
| <b>10cm</b>   | 2,50a   | 4,93a                       | 0,16a                                      | 1,25a                                      | 0,54a                                      | 6,54a | 18,60a  | 2,10a                        | 8,97a                        | 5,58a                                       |
| <b>25cm</b>   | 2,33a   | 4,10a                       | 0,12a                                      | 1,07a                                      | 0,34a                                      | 6,42a | 18,00a  | 2,07a                        | 8,45a                        | 14,88b                                      |
| <b>35cm</b>   | 2,63a   | 4,43a                       | 0,20a                                      | 1,45a                                      | 0,40a                                      | 6,40a | 18,60a  | 1,82a                        | 8,38a                        | 48,36c                                      |

\*Primavera (n=2); Verão (n=1).

Valores seguidos da mesma letra não diferem entre si, ao nível de 5% de significância pelo Teste de Tukey.

Tabela A3.4: Comportamento das variáveis em relação ao comprimento da L2 sazonalmente (Teste de Tukey).

| <b>Lagoa 2</b>  |   |  |                             |  |  |  |         |        |                              |                              |
|---|---|--|-----------------------------|--|--|--|---------|--------|------------------------------|------------------------------|
| <b>Perfil</b>   | <b>Valores médios ao longo do monitoramento – Primavera (n=6)</b> |  |                             |  |  |  |         |        |                              |                              |
|   | <b>Longitudinal</b>   | N-NH <sub>3</sub><br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | NT<br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | N-NO <sub>2</sub><br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | N-NO <sub>3</sub><br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | P-PO <sub>4</sub><br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | pH      | T (°C) | OD*<br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | COD<br>(mg.L <sup>-1</sup> ) |
| <b>A</b>  | 1,40a   | 13,00a                                     | 0,00a                       | 0,34a                                      | 0,14b                                      | 6,42a                                      | 21,07a  | 0,03a  | 8,55a                        | 0,00a                        |
| <b>B</b>  | 1,80a   | 2,00a                                      | 0,00a                       | 0,24a                                      | 0,00a                                      | 6,49ab                                     | 21,20a  | 0,06a  | 8,04a                        | 0,00a                        |
| <b>C</b>  | 2,20a   | 2,67a                                      | 0,00a                       | 0,21a                                      | 0,04a                                      | 6,61b                                      | 21,20a  | 0,08a  | 9,09a                        | 3,72b                        |
| <b>Valores médios ao longo do monitoramento – Verão (n=4)</b>   |   |  |                             |  |  |  |         |        |                              |                              |
| <b>A</b>  | 0,80a   | 13,67a                                     | 0,15a                       | 0,00a                                      | 0,00a                                      | 6,92a                                      | 27,63a  | 1,15a  | 17,90a                       | 163,68c                      |
| <b>B</b>  | 1,20a   | 5,00a                                      | 0,18a                       | 0,00a                                      | 0,63a                                      | 7,02a                                      | 27,83b  | 1,27a  | 14,56a                       | 11,16a                       |
| <b>C</b>  | 1,60a   | 6,33a                                      | 0,18a                       | 0,18a                                      | 0,00a                                      | 6,93a                                      | 27,70ab | 1,28a  | 14,72a                       | 57,66b                       |
| <b>Valores médios ao longo do monitoramento – Outono (n=2)</b>  |   |  |                             |  |  |  |         |        |                              |                              |
| <b>A</b>  | 1,13a   | 1,67a                                      | 0,02a                       | 0,05a                                      | 0,00a                                      | 6,44b                                      | 26,57a  | 0,25a  | 9,78a                        | 0,00a                        |
| <b>B</b>  | 1,11a   | 4,67a                                      | 0,03a                       | 0,02a                                      | 0,01a                                      | 6,31a                                      | 26,00a  | 0,15a  | 10,07a                       | 297,60b                      |
| <b>C</b>  | 0,93a   | 2,00a                                      | 0,04a                       | 0,07a                                      | 0,00a                                      | 6,29a                                      | 25,83a  | 0,19a  | 8,77a                        | 0,00a                        |
| <b>Valores médios ao longo do monitoramento – Inverno (n=2)</b> |   |  |                             |  |  |  |         |        |                              |                              |
| <b>A</b>  | 2,4a  | 4,80a                                      | 0,16a                       | 1,26a                                      | 0,34a                                      | 6,52a                                      | 17,80a  | 2,35a  | 7,86a                        | 3,72a                        |
| <b>B</b>  | 2,4a  | 3,97a                                      | 0,21a                       | 1,50a                                      | 0,34a                                      | 6,43a                                      | 18,43a  | 2,33a  | 8,98a                        | 44,64c                       |
| <b>C</b>  | 2,67a   | 4,70a                                      | 0,12a                       | 1,02a                                      | 0,61a                                      | 6,42a                                      | 18,27a  | 1,31b  | 8,96a                        | 20,46b                       |

\*Primavera (n=2); Verão (n=1).

Valores seguidos da mesma letra não diferem entre si, ao nível de 5% de significância pelo Teste de Tukey.