

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL

HELOÍSA FERNANDES

**A DINÂMICA DA BIOTA EM UM SISTEMA DE LAGOAS DE ESTABILIZAÇÃO PARA
TRATAMENTO DE LIXIVIADO DE ATERRO SANITÁRIO**

Florianópolis, SC

Março - 2009

HELOÍSA FERNANDES

**A DINÂMICA DA BIOTA EM UM SISTEMA DE LAGOAS DE ESTABILIZAÇÃO PARA
TRATAMENTO DE LIXIVIADO DE ATERRO SANITÁRIO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Ambiental.

Orientadora: Prof. Rejane Helena Ribeiro da Costa, Dra.

Florianópolis, SC

Março - 2009

Fernandes, Heloísa

A dinâmica da biota em um sistema de lagoas de estabilização para tratamento de lixiviado de aterro sanitário.

Heloísa Fernandes – Florianópolis - 2009

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós- graduação em Engenharia Ambiental.

Título em Inglês: Biota dynamics evaluation in a stabilization pond system for treatment of landfill leachate.

1. Lagoas de estabilização, 2.Lixiviado, 3.Dinâmica da Biota

HELOISA FERNANDES

**“A DINÂMICA DA BIOTA EM UM SISTEMA DE LAGOAS DE ESTABILIZAÇÃO
PARA TRATAMENTO DE LIXIVIADO DE ATERRO SANITÁRIO”**

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 de grau de

MESTRE EM ENGENHARIA AMBIENTAL

na Área de Engenharia Ambiental.

Aprovado por:

Annemarie König, Dr^a.
UFCG - Examinador Externo

Prof^a. Cátia Regina S. de C. Pinto, Dr^a.

Prof^a. Regina Vasconcellos Antonio, Dr^a.
(Co-Orientadora)

Prof^a. Rejane Helena Ribeiro da Costa, Dr^a.
(Orientadora)

Prof. Flávio Rubens Lapolli
(Coordenador)

Florianópolis, SC
Março – 2009

*Dedico este trabalho à minha família,
Antonio Carlos Fernandes e
Valquíria Pacheco Fernandes, meus
pais, responsáveis por toda
educação que tive e por mais esta
realização
em minha vida, e também a minha irmã
Aíze Fernandes.*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, que com amor me deu a vida, saúde e ilumina meus caminhos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, pela oportunidade concedida.

À Professora Rejane Helena Ribeiro da Costa, por me receber tão bem como aluna, pela sua dedicação e apoio além de um verdadeiro exemplo como ser humano e profissional.

À Professora Regina Vasconcellos Antonio, pela co-orientação, incentivo e pelos momentos de estudo e também descontração no laboratório.

À Professora Mara pelo espaço sempre tão prontamente disponibilizado de seu laboratório para as análises microscópicas.

À Alessandra por ter-me repassado todo seu conhecimento da técnica de FISH e PCR. Obrigada por me confiar tanta informação e conhecimento!

À Arlete pela atenção e prontidão para auxiliar e esclarecer dúvidas na parte experimental tornando o LIMA um local de trabalho muito mais seguro e agradável.

À Cláudia, pela parceria nos trabalhos e pelos momentos de bom humor no laboratório ou nos incontáveis “perfis totais” e relatórios parciais!!

A todos os bolsistas e voluntários que trabalharam e tanto auxiliaram, seja nas coletas, quanto nas análises laboratoriais, em especial: Viviane, Elisa, Ismael, Rafaela, Thales e Felipe. Agradeço à todos de coração! Agradeço ainda à Mariele e Bianca pela amizade e conselhos.

Aos meus pais, Antonio Carlos e Valquíria, e também à minha irmã, Aíze, pelo amor incondicional, carinho e por me acolherem e apoiarem em todos meus momentos de êxtase ou desespero.

Às pessoas queridas em minha vida, em especial ao Angelo (pela nossa imensa amizade e pelos momentos de incentivo e compreensão), ao Rodrigo (pessoa ímpar, um verdadeiro presente tê-lo como amigo, conselheiro e parceiro de trabalho) e a Aline (pela convivência, pelo humor inigualável e inteligência admirável).

A todos os colegas do Programa de Pós-Graduação 2007/2009 por proporcionarem um ambiente de trabalho tão solidário, descontraído e prazeroso.

A banca examinadora, pelas contribuições oferecidas a este trabalho.

A CAPES, pela concessão da bolsa de mestrado, ao CNPq – FINEP – PROSAB.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

*“Diante do colar - belo como um sonho – admirei,
sobretudo, o fio que unia as pedras e se imolava anônimo
para que todos fossem um”.*

(D. Helder Câmara)

RESUMO

O tratamento do lixiviado de aterro sanitário representa um grande desafio, tendo em vista a variação de suas características em função da heterogeneidade dos resíduos dispostos e da idade do aterro. Assim, o emprego de alternativas que minimizem esses danos torna-se necessário, sendo no Brasil, largamente utilizado o sistema de lagoas de estabilização para o tratamento desses efluentes. Objetivando investigar a dinâmica dos microrganismos durante o processo biológico de tratamento de lixiviado e a correlação destes com os parâmetros físico-químicos, desenvolveu-se o presente estudo em uma estação piloto de tratamento de lixiviado de aterro sanitário, localizada na Universidade Federal de Santa Catarina, composta por 3 lagoas de estabilização em série: lagoa 1 (L1), lagoa 2 (L2) e lagoa 3 (L3), sendo L1 anaeróbia e L2 e L3 aeróbias. As lagoas foram monitoradas durante 13 meses (agosto/2007 a outubro/2008), sendo este período dividido em duas etapas: Etapa I (período sem aeração em L2 durante os meses de agosto/2007 a maio/2008) e Etapa II (período com aeração em L2 durante os meses de agosto a outubro de 2008). Amostras foram coletadas em pontos pré-determinados e submetidas às análises microbiológicas através da técnica de Hibridização Fluorescente *in situ* (FISH), Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), sequenciamento e análise filogenética. Para a identificação taxonômica do fitoplâncton, amostras frescas foram analisadas e fixadas com lugol acético. Os parâmetros físico-químicos avaliados foram: temperatura (°C), pH, OD (mg/L), ORP (mV), condutividade (mS/cm), DQO total e solúvel (mg/L), DBO (mg/L), amônia (mg/L), sólidos suspensos (mg/L) e clorofila *a* (µg/L). Para o sistema de lagoas as seguintes eficiências de remoção foram encontradas: 57% DQO Total; 54% DQO solúvel; 83% DBO; 82% N-NH₃. A aplicação da análise fatorial dos componentes principais (ACP) na interpretação dos resultados evidenciou que para o efluente de L2 e de L3, as variáveis OD, clorofila *a* e pH tiveram efeito importante na variância; e, para o efluente de L1 e de L3 o componente principal foi DQO total. Além disso houve estratificação para a clorofila *a* e OD, quando analisados os perfis verticais e horizontais. Na análise ao longo do dia, verificou-se oscilações horárias para a maioria dos parâmetros, refletindo na qualidade do efluente de cada lagoa. A avaliação da comunidade planctônica apresentou baixa riqueza de espécies, com predominância de *Chlamydomonas sp.* (densidade relativa acima de 50% e frequência de 100%) na Etapa I e diminuição do fitoplâncton na fase inicial da Etapa II, com consequente substituição das algas por grupos de ciliados. Pela técnica de FISH observou-se, em L1, a predominância de Planctomycetales e Verrucomicrobiales, presença de bactérias sulfato-redutoras, baixa ocorrência de Archae bactérias, rara ocorrência de bactérias nitrificantes e nenhuma ocorrência de organismos Anammox. Através do sequenciamento e análise filogenética realizados em L1 e L2, foi constatada a presença de *Pseudomonas sp.* e do filo *Planctomycetes*, respectivamente. O sistema apresentou eficiências satisfatórias de remoção, mesmo com as variações climáticas nas diferentes etapas do tratamento, no entanto necessita de tratamentos complementares para melhoria da qualidade do efluente final, conforme as condições exigidas pela Legislação Ambiental (CONAMA 357/2005) quanto ao seu lançamento em corpos d'água.

Palavras-chave: lagoas de estabilização; lixiviado de aterro sanitário; dinâmica da biota.

ABSTRACT

The landfill leachate treatment is a big challenge because its characteristics variation caused by the heterogeneity of residues and landfill age. Thus, the application of alternatives to minimize the damage is essential, and in Brazil stabilization ponds systems are largely used to treat this effluent. Aiming to investigate the microorganisms dynamics and the correlation of them to the physical-chemical parameters the present study was conducted in a pilot system of landfill leachate treatment, located at Federal University of Santa Catarina, composed of three serial stabilization ponds: pond 1 (L1), pond 2 (L2) and pond 3 (L3), where L1 was anaerobic while L2 and L3 were aerobic. The ponds were monitored during 13 months (August/2007 until October/2008), and this period was divided in two parts: Part I (period without aeration in L2 from August/2007 until May/2008) and Part II (Period with aeration in L2 from August/2007 until October/2008). Samples were collected on pre-established points and after submitted to microbial analyses with Fluorescent *in situ* Hybridization (FISH), Polymerase Chain Reaction (PCR), sequencing and phylogenetic analyses. For taxonomic identification of phytoplankton fresh samples were analyzed and fixed with acetic lugol. The physical-chemical parameters analyzed were: temperature (°C), pH, OD (mg/L), ORP (mV), conductivity (mS/cm), total and soluble DQO (mg/L), DBO (mg/L), ammonium (mg/L), suspense solids (mg/L) and chlorophyll *a* (µg/L). On the ponds system the following removal efficiency was observed: 57% Total DQO; 54% soluble DQO; 83% DBO; 82% N-NH₃. The application of factorial analyses of main compounds (PCA) on results interpretation evidenced that on effluent from L2 and L3, the variables OD, chlorophyll *a* and pH had important effect on variation; and on effluent from L1 and L3 the main compound was Total DQO. Moreover, were observed stratification of chlorophyll *a* and OD when analyzed the vertical and horizontal profiles. On the analyses during the day, were verified time oscillations in almost all parameters, reflecting the effluent quality in each pond. The plactonic community variation showed low species richness, with predominance of *Chlamydomonas sp.* (relative density up to 50% and frequency of 100%) on Part I and decrease of phytoplankton on the initial period of Part II, with consequent substitution of algae by ciliates groups. By the FISH technique, was observed on L1 the predominance of Planctomycetales and Verrucomicrobiales, presence of sulfate reducers bacteria, low occurrence of Archae bacteria, rare occurrence of nitrifying bacteria and no occurrence of Anammox organisms. The sequencing and phylogenetic analyses from L1 and L2 showed the presence of *Pseudomonas sp.* and the phylum *Planctomycetes*, respectively. The system showed satisfactory removal efficiency, even with the climatic variation in the different treatment stages; however it is needed complementary treatment to improve the final effluent quality, according to the conditions required by the Environment Legislation (CONAMA 357/2005) to the discharge in water bodies.

Key words: stabilization ponds; landfill leachate; biota dynamics.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Vista aérea do aterro sanitário de Biguaçu.....	61
Figura 2.	Poço de captação de lixiviado do aterro sanitário de Biguaçu.....	62
Figura 3.	Reservatório de fibra de vidro utilizada para armazenamento do lixiviado bruto.....	63
Figura 4.	Sistema de tratamento biológico e polimento final para tratamento de lixiviado. A) tanque de equalização (efluente bruto); B, C e D) sistema de lagoas e E) filtro de pedras para polimento do efluente final.....	65
Figura 5.	Lagoas de estabilização para tratamento biológico.....	65
Figura 6.	Lagoa 2 com aeração desligada.....	66
Figura 7.	Lagoa 2 com aeração ligada.....	66
Figura 8.	Esquema representativo do sistema em planta baixa demonstrando a localização dos pontos de coleta. Para a lagoa 1 observa-se o ponto central (A), e para as lagoas 2 e 3, são apresentados os 9 pontos (A até I).....	67
Figura 9.	Esquema representativo da vista em perspectiva do sistema de lagoas e os diferentes níveis de coleta. Para a lagoa 1 a figura representa o ponto central nas duas profundidades. Para as lagoas 2 e 3 a figura representa os 9 pontos (A até I) de coleta nas três profundidades.....	67
Figura 10.	Valores de DQO, DQO solúvel, DBO e Amônia no efluente bruto e no sistema de lagoas ao longo do monitoramento.....	78
Figura 11.	Distribuição (diagramas de caixa) das variáveis monitoradas na L1, ao longo das estações do ano.....	80
Figura 12.	Distribuição dos dados (diagramas de caixa) de temperatura (°C) nas diferentes estações de monitoramento, categorizados por lagoa.....	86
Figura 13.	Distribuição dos dados (diagramas de caixa) de pH nas diferentes estações de monitoramento, categorizados por lagoa.....	87
Figura 14.	Distribuição dos dados (diagramas de caixa) de oxigênio dissolvido (mg/L) nas diferentes estações de monitoramento, categorizados por lagoa.....	89
Figura 15.	Distribuição dos dados (diagramas de caixa) de condutividade (mS/cm) nas diferentes estações de monitoramento, categorizados por lagoa.....	90
Figura 16.	Distribuição dos dados (diagramas de caixa) de potencial redox (mV) nas diferentes estações de monitoramento, categorizados por lagoa.....	92
Figura 17.	Distribuição dos dados (diagramas de caixa) de sólidos suspensos (mg/L) nas diferentes estações de monitoramento, categorizados por lagoa.....	93

Figura 18.	Distribuição dos dados (diagramas de caixa) de clorofila <i>a</i> ($\mu\text{g/L}$) nas diferentes estações de monitoramento, categorizados por lagoa.....	94
Figura 19.	Valores médios mensais de Clorofila <i>a</i> ($\mu\text{g/L}$) nos períodos de monitoramento em L3.....	95
Figura 20.	Variação da clorofila <i>a</i> ($\mu\text{g/L}$) e da precipitação pluviométrica média (mm) ao longo dos meses de monitoramento. Dados de precipitação pluviométrica fornecidos pela Estação Meteorológica da EPAGRI – Estação São José, Grande Florianópolis.....	96
Figura 21.	Variação da clorofila <i>a</i> ($\mu\text{g/L}$) e da temperatura ($^{\circ}\text{C}$) ao longo dos meses de monitoramento. Dados de precipitação pluviométrica fornecidos pela Estação Meteorológica da EPAGRI – Estação São José, Grande Florianópolis.....	96
Figura 22.	Variação da clorofila <i>a</i> ($\mu\text{g/L}$) e da radiação solar (W/m^2) ao longo dos meses de monitoramento. Dados de precipitação pluviométrica fornecidos pela Estação Meteorológica da EPAGRI – Estação São José, Grande Florianópolis.....	97
Figura 23.	Distribuição vertical da biomassa algal (clorofila <i>a</i>) nas L2 e L3 ao longo das estações de monitoradas. A escala de cores por concentração de clorofila está acima representada.....	98
Figura 24.	Riqueza de espécies da população planctônicas nas lagoas L2 e L3, ao longo dos meses de monitoramento.....	99
Figura 25.	Densidade relativa (%) dos gêneros encontrados na L2 ao longo do monitoramento, agrupados pela profundidade de coleta.....	100
Figura 26.	Densidade relativa (%) dos gêneros encontrados na L3 ao longo do monitoramento, agrupados pela profundidade de coleta.....	101
Figura 27.	Frequência algal nas L2 e L3 de acordo com a profundidade e ao longo do período de monitoramento.....	102
Figura 28.	Variação temporal da produtividade da biomassa algal ($\text{gSS/m}^2/\text{d}$) em L2, ao longo do monitoramento e de acordo com as profundidades amostrais.....	103
Figura 29.	Variação temporal da produtividade da biomassa algal ($\text{gSS/m}^2/\text{d}$) em L3, ao longo do monitoramento e de acordo com as profundidades amostrais.....	103
Figura 30.	Análise dos Componentes principais. Apresentação do círculo de correlações entre variáveis obtidas dos parâmetros avaliados em L1 (fator 1 x fator 2).....	106
Figura 31.	Análise dos Componentes principais. Apresentação do círculo de correlações entre variáveis obtidas dos parâmetros avaliados em L1 (fator 1 x fator 3).....	107
Figura 32.	Análise dos Componentes principais. Apresentação do círculo de correlações entre variáveis obtidas dos parâmetros avaliados no efluente da L2 (fator 1 x	

	fator 2).....	109
Figura 33.	Análise dos Componentes principais. Apresentação do círculo de correlações entre variáveis obtidas dos parâmetros avaliados no efluente da L2 (fator 1 x fator 3).....	110
Figura 34.	Análise dos Componentes principais. Apresentação do círculo de correlações entre variáveis obtidas dos parâmetros avaliados no efluente da L3 (fator 1 x fator 2).....	112
Figura 35.	Análise dos Componentes principais. Apresentação do círculo de correlações entre variáveis obtidas dos parâmetros avaliados no efluente da L3 (fator 1 x fator 3).....	113
Figura 36.	Distribuição (diagramas de caixa) dos dados de temperatura (°C) nas L2 e L3 (Ponto E) nos diferentes horários ao longo do dia e da estação de monitoramento.....	116
Figura 37.	Distribuição (diagramas de caixa) dos dados de pH nas L2 e L3 (Ponto E) nos diferentes horários ao longo do dia e da estação de monitoramento.....	117
Figura 38.	Distribuição (diagramas de caixa) dos dados de Oxigênio Dissolvido (mg/L) nas L2 e L3 (Ponto E) nos diferentes horários ao longo do dia e da estação de monitoramento.....	119
Figura 39.	Distribuição (diagramas de caixa) dos dados da Condutividade (mS/cm) na L2 (Ponto E) nos diferentes horários ao longo do dia e da estação de monitoramento.....	120
Figura 40.	Distribuição (diagramas de caixa) dos dados da Condutividade (mS/cm) na L3 (Ponto E) nos diferentes horários ao longo do dia e da estação de monitoramento.....	122
Figura 41.	Distribuição (diagramas de caixa) dos dados de Sólidos Suspensos (mg/L) na L2 (Ponto E) nos diferentes horários ao longo do dia e da estação de monitoramento.....	124
Figura 42.	Distribuição (diagramas de caixa) dos dados de Clorofila a (µg/L) na L2 (Ponto E) nos diferentes horários ao longo do dia e da estação de monitoramento.....	125
Figura 43.	Contagem de células algais totais em L2 e L3.....	126
Figura 44.	Incidência algal (Indivíduos/ml) nas lagoas 2 e 3, ao longo do dia: 10 horas, 14 horas e 18 horas	127
Figura 45.	Distribuição tridimensional do fitoplâncton (clorofila <i>a</i>) ao longo de três estações do ano, na L2.....	129
Figura 46.	Distribuição tridimensional do fitoplâncton ao longo de três estações do ano, na L3.....	130
Figura 47.	Distribuição da biomassa algal (µg/L) ao longo do dia em L2 e L3, no período após aeração.....	133
Figura 48.	Incidência planctônica(Indivíduos/ml) em L2 e L3, ao longo do dia, no período	

	após aeração.....	135
Figura 49.	Microrganismos encontrados na lagoa 1. A e B) Microrganismos coletados na superfície (0,1m) e C e D) Microrganismos de fundo (0,7m). Microscopia óptica (1000X).....	137
Figura 50.	Grupos de diatomáceas presentes nas fases iniciais do tratamento. A) <i>Nitzschia</i> sp. presente na lagoa 3, e F) <i>Navicula</i> sp. presente em ambas as unidades.....	139
Figura 51.	Presença de <i>Cryptomonas</i> sp. nas unidades aeróbias do sistema. Microscopia óptica: A) Aumento 1000X e B) Aumento 400X.....	139
Figura 52.	Presença de <i>Chlamydomonas</i> sp. nas unidades aeróbias do sistema. (Microscopia óptica: A e B) Amostra L2 e L3 respectivamente (400X), C, D, E e F) <i>Chlamydomonas</i> sp. presente em L2 e L3 (1000X).....	141
Figura 53.	Presença de <i>Chlamydomonas</i> sp. em divisão assexuada. Microscopia óptica: A) amostra fresca (200X) e B) Amostra fixada (400X).....	142
Figura 54.	<i>Chlamydomonas</i> sp. em processo de divisão longitudinal da célula; A) amostra L2 B) amostra L3.....	142
Figura 55.	<i>Chlamydomonas</i> sp. em processo de divisão longitudinal da célula em amostra fixada. Microscopia óptica 200X.....	142
Figura 56.	<i>Chlamydomonas</i> sp. em processo reprodutivo (agrupamento das células e perda dos flagelos); A) amostra L2 B) amostra L3.....	143
Figura 57.	Floração da biomassa algal na L2 (Etapa 1). A e B) Vista superior de L2. C) Biomassa fitoplanctônica formando uma “pasta viscosa” e D) Vista em aumento, tornando visível além das biomassa algal, bolhas de oxigênio liberadas para a superfície.....	144
Figura 58.	Floração da biomassa algal na L2 (Etapa 2). A) Vista superior de L2 com flocos bacterianos. B) Vista em aumento da biomassa e flocos superficiais. No detalhe, presença de dípteros.....	145
Figura 59.	Ciliado encontrado em L2 e L3. A) Em amostra fixada em lugol provinda da L3 (200X) e B) Ciliado em amostra fresca provinda da L2 (400X).....	146
Figura 60.	Células hibridizadas para análise de Eubactérias: A) DAPI (100%) e B) EUB mix (\cong 70%).....	148
Figura 61.	Células hibridizadas para análise de bactérias do gênero <i>Desulfobionaceae</i> DAPI (100%) e B) DSV (\cong 20%).....	
Figura 62.	Imagem da eletroforese em gel de agarose 1% das amostras coletadas nas lagoas 1, 2 e 3.....	149
Figura 63.	Árvore filogenética neighbor-joining, baseada no 16S rDNA, de amostra provinda da L1. A seqüência encontrada está representada por um triângulo (\blacktriangle). Somente seqüências com mais de 98% de similaridade foram incluídas. O número de acesso no GenBank está indicado entre	

	parênteses.....	150
Figura 64.	Árvore filogenética neighbor-joining, baseada no 16S rDNA, de amostra provinda da L2. A seqüência encontrada está representada por um círculo (●). Seqüências com de similaridade entre 94 e 95% foram incluídas. O número de acesso no GenBank está indicado entre parênteses.....	152
Figura 65.	Fases de desenvolvimento dos dípteros encontrados nas Lagoas 2 e 3. A) Estágio larval; B) Estágio de pupa; C) e D) Fase adulta.....	153
Figura 66.	Dípteros presentes na L2. A) Dípteros em biomassa floculada em floração algal. B) Dípteros na saída do sistema.....	154
Figura 67.	Dípteros presentes na L3. A) Visão geral da lagoa com conglomerados larvais na superfície. B) Grande quantidade de larvas aderidas na chicana de entrada. C) Visão mais focada na chicana de entrada e D) Larvas em grande quantidade na superfície da lagoa.....	155
Figura A2.1	Representação esquemática simplificada, da técnica de FISH.....	183

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Classificação de lagoas de estabilização de acordo com a variação de alguns fatores.....	32
Tabela 2.	Características e fatores ambientais envolvidos nas principais transformações bioquímicas em lagoas de estabilização.....	37
Tabela 3.	Principais características físico-químicas do lixiviado do aterro sanitário de Biguaçu.....	63
Tabela 4.	Características físicas das lagoas do sistema de tratamento em escala piloto..	64
Tabela 5.	Monitoramento realizado de acordo com a variação dos pontos amostrais e das etapas do sistema.....	69
Tabela 6.	Parâmetros monitorados e metodologia utilizada.....	70
Tabela 7.	Valores médios obtidos nas lagoas 1, 2 e 3 para os parâmetros DQO, DBO e N-NH ₃ . Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão e valores mínimos e máximos.....	77
Tabela 8.	Comportamento das variáveis, ao longo das estações do ano, na L1 (Teste de Tukey).....	79
Tabela 9.	Comportamento das variáveis, ao longo das estações do ano, na L2 (Teste de Tukey).....	83
Tabela 10.	Variação dos parâmetros, ao longo das estações do ano, na L3 (Comparação de médias – Teste de Tukey).....	84
Tabela 11.	Autovalores e percentuais das variâncias resultantes da análise da L1.....	105
Tabela 12.	Coefficientes de correlação entre variáveis e os fatores artificiais para a L1....	105
Tabela 13.	Autovalores e percentuais das variâncias resultantes da análise do efluente de L2.....	107
Tabela 14.	Coefficientes de correlação entre variáveis e os fatores artificiais para o efluente da L2.....	108
Tabela 15.	Autovalores e percentuais das variâncias resultantes da análise do efluente de L3.....	110
Tabela 16.	Coefficientes de correlação entre variáveis e os fatores artificiais para o efluente da L3.....	111
Tabela AP1.1.	Valores obtidos na L1, nas profundidades 0,1 e 0,7m, para as variáveis monitoradas. Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão e valores mínimos e máximos.....	169
Tabela AP1.2.	Valores obtidos na L2, nas profundidades 0,1; 0,4 e 0,7m, em cada ponto de coleta. Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão e valores mínimos e máximos.....	170
Tabela AP1.3.	Valores obtidos na L3, nas profundidades 0,1; 0,3 e 0,5m, em cada ponto de coleta. Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão e valores mínimos e máximos.....	171

Tabela AP2.1.	Comportamento das variáveis, ao longo do ano, em L2 (Comparação de Médias - Teste de Tukey).....	172
Tabela AP2.2.	Comportamento das variáveis, ao longo do ano, em L3 (Comparação de Médias - Teste de Tukey).....	173
Tabela AP3.1.	Comportamento das variáveis, ao longo das estações, no estrato superficial (0,1m) de L2 (Comparação de Médias - Teste de Tukey).....	174
Tabela AP3.2.	Comportamento das variáveis, ao longo das estações, no estrato intermediário (meio – 0,4m) de L2 (Comparação de Médias - Teste de Tukey).....	175
Tabela AP3.3.	Comportamento das variáveis, ao longo das estações, no estrato profundo (fundo – 0,7m) de L2 (Comparação de Médias - Teste de Tukey).....	175
Tabela AP3.4.	Comportamento das variáveis, ao longo das estações, no estrato superficial (0,1m) de L2 (Comparação de Médias - Teste de Tukey).....	176
Tabela AP3.5.	Comportamento das variáveis, ao longo das estações, no estrato intermediário (meio – 0,4m) de L2 (Comparação de Médias - Teste de Tukey).....	176
Tabela AP3.6.	Comportamento das variáveis, ao longo das estações, no estrato profundo (fundo – 0,5m) de L3 (Comparação de Médias - Teste de Tukey).....	177
Tabela AP4.1.	Valores obtidos em L2, nas profundidades 0,1; 0,4 e 0,7m, no monitoramento ao longo do dia. Os resultados estão expressos como média ± desvio padrão e valores mínimos e máximos.....	178
Tabela AP4.2.	Valores obtidos em L3, nas profundidades 0,1; 0,3 e 0,5m, no monitoramento ao longo do dia. Os resultados estão expressos como média ± desvio padrão e valores mínimos e máximos.....	179
Tabela A2.1.	Descrição das sondas utilizadas na detecção dos microrganismos presentes na lagoa 1 pela técnica de FISH.....	183

LISTA DE SÍMBOLOS

ADP - adenosina difosfato
AIA - Avaliação de Impacto Ambiental
ATP - adenosina trifosfato
CEMPRE - Compromisso Empresarial para Reciclagem
CH₄ - metano
Cloro *a* - clorofila *a*
CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente
CO₂ - dióxido de carbono
DAPI - 4,6 diamidino – 2 – phenylindoli
DBO₅ - Demanda Bioquímica de Oxigênio
DNA - ácido desoxiribonucléico
DNAc - desoxiribonucleico complementar
DNAr - ribossômico
DQO - Demanda Química de Oxigênio
DQO filtrada - Demanda Química de Oxigênio da amostra filtrada
FISH - Fluorescence *In Situ* Hybridization (Hibridização Fluorescente *in situ*)
L1 - Lagoa 1
L2 - Lagoa 2
L3 - Lagoa 3
NADH - Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Reduzido
NBR - Norma Brasileira
N-NH₄⁺ - nitrogênio amoniacal
N-NO₂⁻ - nitrogênio nítrico
N-NO₃⁻ - nitrogênio nitrato
OD - oxigênio Dissolvido
ORP - Potencial Redox
PCR - Polymerase Chain Reaction (Reação em Cadeia da Polimerase)
pH - potencial hidrogeniônico
PROSAB - Programa de Pesquisa em Saneamento Básico

Q - vazão

RNA_m - ácido ribonucléico mensageiro

RNA_r - ácido ribonucléico ribossômico

RSU - Resíduos Sólidos Urbanos

S - Unidades de Sveldberg

SS - Sólidos Suspensos

SSU - small subunit (pequena subunidade do ribossomo)

TRH - Tempo de Retenção Hidráulico

UASB - Upflow Anaerobic Sludge Blanket

UV - radiação ultravioleta

SUMÁRIO

1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	19
1.1 INTRODUÇÃO.....	19
1.2 JUSTIFICATIVA	21
1.3 OBJETIVOS	23
1.3.1 Objetivo Geral	23
1.3.2 Objetivos Específicos	23
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	25
2.1. RESÍDUOS SÓLIDOS URBANOS (RSU)	25
2.2 LIXIVIADOS DE ATERROS SANITÁRIOS.....	26
2.3 TRATAMENTO DO LIXIVIADO	29
2.4 TRATAMENTO BIOLÓGICO: LAGOAS DE ESTABILIZAÇÃO	30
2.4.1 Caracterização e Classificação	30
2.5 PRINCIPAIS VARIÁVEIS NO FUNCIONAMENTO DE LAGOAS DE ESTABILIZAÇÃO	33
2.5.1 Condições ambientais.....	33
2.5.2 Potencial Hidrogeniônico (pH) e Oxigênio Dissolvido (OD).....	35
2.5.3 Carga Orgânica.....	36
2.6 PRINCIPAIS TRANSFORMAÇÕES BIOQUÍMICAS EM LAGOAS DE ESTABILIZAÇÃO	37
2.7 UTILIZAÇÃO DE MICRORGANISMOS NO MONITORAMENTO DO TRATAMENTO BIOLÓGICO	42
2.8 COMUNIDADE PLANCTÔNICA EM LAGOAS DE ESTABILIZAÇÃO.....	43
2.8.1 Principais Grupos Fitoplanctônicos em Lagoas de Estabilização	44
2.8.2 Principais Grupos Zooplanctônicos em Lagoas de Estabilização	49
2.8.3 Principais Grupos Bacteriplanctônicos em Lagoas de Estabilização	53
2.9 A BIOLOGIA MOLECULAR COMO FERRAMENTA DE CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA.....	55
2.9.1 Estrutura do RNAr e Aplicação Taxonômica.....	56

2.9.2 A técnica de Hibridização Fluorescente in situ - FISH	57
2.9.3 A Técnica de Reação em Cadeia da Polimerase - PCR.....	59
3. METODOLOGIA	61
3.1. ORIGEM E CARACTERÍSTICAS DO LIXIVIADO.....	61
3.2. UNIDADE EXPERIMENTAL	63
3.2.1 Localização.....	63
3.2.2 Descrição do Sistema de Tratamento	64
3.2.3 Pontos Amostrais.....	66
3.3 MONITORAMENTO	68
3.4 VARIÁVEIS FÍSICAS, QUÍMICAS E BIOLÓGICAS AVALIADAS.....	69
3.5 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	70
3.5.1 Identificação fitoplanctônica e zooplanctônica	70
3.5.2 “Hibridização Fluorescente in situ” - FISH.....	71
3.5.3 Extração de DNA	72
3.5.4 “Reação em Cadeia da Polimerase” - PCR	72
3.5.5 Sequenciamento e análise filogenética.....	72
3.6 TRATAMENTO DOS DADOS.....	73
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	77
4.1 ETAPA I – VARIÁVEIS FÍSICO-QUÍMICAS.....	77
4.1.1 Variáveis Indicadoras de Matéria Orgânica nas Lagoas	77
4.1.2 Variação Sazonal das Variáveis Físico- Químicas - Lagoa 1.....	79
4.1.3 Variação Sazonal das Variáveis Físico-Químicas - Lagoas 2 e 3	82
4.1.4 Quantificação da biomassa fitoplanctônica – L2 e L3	99
4.1.5 Análise dos Componentes Principais (ACP).....	104
4.1.6 Comportamento das Variáveis Físico-Químicas ao Longo do Dia - Lagoas 2 e 3	114
4.1.7 Análise da Biomassa Algal ao Longo do Dia - Lagoas L2 e L3	126
4.1.8 Perfil Tridimensional - Lagoas L2 e L3	128
4.2 ETAPA II – AVALIAÇÃO PLANCTÔNICA DAS LAGOAS L2 E L3 COM AERAÇÃO ARTIFICIAL EM L2	132

4.3 DIVERSIDADE TAXONÔMICA – ANÁLISES MICROSCÓPICAS	137
4.3.1 Lagoa Anaeróbia (L1)	137
4.3.2 Lagoas Aeróbias (L2 e L3).....	138
4.4 ANÁLISES DE BIOLOGIA MOLECULAR	147
4.4.1 Análise de FISH (Hibridização Fluorescente in situ).....	147
4.4.2 PCR, Seqüenciamento e análise filogenética	149
4.5 DIVERSIDADE TAXONÔMICA – OCORRÊNCIA DE DÍPTEROS NAS L2 E L3	153
5. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES.....	157
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	161
7. APÊNDICES E ANEXOS	169

1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1.1 Introdução

No Brasil, são produzidas diariamente cerca de 241 mil toneladas de lixo, das quais 90 mil são de origem domiciliar. Dessa forma, a média nacional de produção de resíduos por habitante, estaria em torno de 600g/dia (IPT/CEMPRE, 2000). Tal fato agrava-se na atualidade, em decorrência do modelo consumista da sociedade ocidental, caracterizado pela redução da vida útil dos bens de consumo, o que contribui para uma crescente geração de resíduos.

A problemática ambiental relacionada à adequada disposição final destes resíduos, bem como o estabelecimento de parâmetros que garantam soluções racionais para sua gestão, tornam-se assuntos recorrentes e de grande interesse público, pois além de necessitar de grandes áreas para sua disposição e tratamento, os resíduos sólidos têm-se apresentado, em decorrência da grande probabilidade de contaminação ambiental, como um dos mais sérios problemas a serem enfrentados pelas administrações públicas municipais.

Uma das técnicas mais amplamente utilizadas para a disposição final de resíduos sólidos têm sido os aterros sanitários, que promovem o confinamento dos resíduos a menor área possível e ao menor volume permissível. Com o aterramento dos resíduos sólidos, líquidos percolados são formados pela degradação da matéria orgânica e infiltração da água de chuva neste meio.

Aterramentos, quando bem executados, apresentam-se como uma boa alternativa de disposição. Neste sistema, os resíduos sólidos são degradados, inicialmente, sob condições aeróbias, seguindo-se uma fase anaeróbia. Contudo, possuem como inconveniente a geração dos lixiviados durante a decomposição destes resíduos. Os lixiviados são formados por compostos orgânicos, inorgânicos dissolvidos, e pela água de infiltração que percola através dos resíduos. Devido à elevada concentração de matéria orgânica (cerca de 60 vezes superior às encontradas em esgoto doméstico), promovem um potencial problema de poluição para as águas superficiais e, principalmente, para as águas subterrâneas.

Devido às suas características, métodos eficazes no tratamento de lixiviados devem ser desenvolvidos ou adaptados, uma vez que devem ser tratados antes de serem lançados no meio

ambiente, evitando-se assim maiores riscos de contaminação e o comprometimento dos recursos naturais. Entretanto, o tratamento de lixiviado representa um grande desafio, uma vez que sua composição se altera em função das características dos resíduos dispostos no aterro e, principalmente, com a idade do aterro. Os métodos de tratamento biológico do lixiviado se assemelham com os utilizados no tratamento de esgotos domésticos: lodos ativados, lagoas (anaeróbias, facultativas), reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo (UASB – “Upflow Anaerobic Sludge Blanket”), filtros biológicos e terras úmidas (*wetland*).

No Brasil são utilizados freqüentemente sistemas de lagoas de estabilização, uma vez que apresentam baixo custo de implantação e manutenção, além de apresentarem condições climáticas favoráveis e disponibilidade de área territorial. Por definição, lagoa de estabilização é uma lagoa, contendo água residuária bruta ou tratada, onde ocorre estabilização anaeróbia ou aeróbia da matéria orgânica. Estes sistemas funcionam através de processos naturais por meio de fenômenos químicos, físicos e biológicos. São estruturados, geralmente, em série (anaeróbias, facultativas e maturação) sendo realizada a remoção da carga orgânica dos lixiviados pela ação de microrganismos.

O processo de autodepuração ocorre principalmente pela ação de microrganismos (bactérias, protozoários, fungos, algas e vermes) que se desenvolvem sob determinadas condições. O conhecimento da microbiologia e ecologia dos microrganismos envolvidos nos processos de depuração do lixiviado é, portanto, de extrema relevância para o controle e eficiência do tratamento, pois permite avaliar as relações destes com o ambiente e com outros organismos. A identificação e o conhecimento de sua fisiologia podem evidenciar o papel de cada um nas diferentes etapas do tratamento. Desta forma, pode-se garantir o máximo rendimento do sistema, bem como individualizá-lo para um determinado efluente.

O presente trabalho foi desenvolvido junto ao grupo de pesquisa do Laboratório de Efluentes Líquidos e Gasosos (LABEFLU) do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, o qual vem desenvolvendo trabalhos relacionados com a problemática e tratamento de efluentes. Tendo iniciado seus trabalhos, com tratamento dos lixiviado através de sistemas de lagoas de estabilização, conforme apresentado por Silva (2007), atualmente, o grupo de pesquisa encontra-se inserido no Programa de Pesquisa em Saneamento Básico (PROSAB 5) - tema 3 - tratamento e disposição final de resíduos sólidos, com ênfase no tratamento do lixiviado e tendo em vista a

proteção dos corpos d'água. Desta forma, pesquisas científicas, tecnológicas e de inovação, em escalas de laboratório (piloto), de fácil aplicabilidade e baixo custo de implantação e operação e manutenção vêm sendo realizadas (MARTINS et al., 2007; MARTINS et al., 2008; HOSSAKA et al., 2008; FERREIRA et al., 2008), de forma a acrescentar informações nos procedimentos de controle e tratamento dos lixiviados de aterros sanitários.

Assim, este estudo apresenta-se como uma vertente das pesquisas realizadas em um sistema piloto de lagoas de estabilização em série, para tratamento biológico de lixiviado de aterro sanitário, localizado nos Laboratórios de Pesquisa em Resíduos Sólidos (LARESO) e Laboratório de Efluentes Líquidos e Gasosos (LABEFLU), do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, da Universidade Federal de Santa Catarina.

Objetivando identificar os microrganismos presentes nas unidades componentes do sistema, este trabalho contribui com o conhecimento sobre a estrutura e diversidade desta comunidade, bem como evidencia as reações de depuração biológica, baseado na fisiologia e ecologia destes organismos. A avaliação das lagoas quanto à variação de remoção de alguns parâmetros físico-químicos, relacionado à manutenção da biomassa algal, garantirá uma base para a otimização das condições de operação e monitoramento.

1.2 Justificativa

A rápida industrialização e a urbanização, no final do século XX, resultaram em um incremento do consumo de produtos e materiais diversos, conseqüentemente, aumentando a geração de resíduos sólidos, principalmente nas grandes cidades e regiões metropolitanas. Como agravantes, a disposição inadequada dos resíduos urbanos e a formação do lixiviado caracterizam uma forma de poluição, através da contaminação do solo, de águas superficiais e subterrâneas assim como problemas de saúde pública.

Segundo a legislação federal (Decreto nº 49.974-A de 21/01/61 - Código Nacional de Saúde - Art. 40) cabe aos governos municipais a coleta, o transporte, o tratamento e a disposição final dos resíduos sólidos urbanos produzidos no município, em condições que não tragam malefícios ou inconvenientes à saúde, ao bem estar público e à estética. Também a política de Recursos Hídricos no Brasil, expressa na Lei nº. 9433/97 prevê um maior e mais rigoroso controle da

poluição hídrica, que deve ser estendido aos efluentes gerados pelos aterros sanitários para uma proteção efetiva das águas no território nacional.

Em Santa Catarina, o Ministério Público (MP/SC) estabeleceu um Termo de Ajustamento de Conduta (TAC) para a implantação de aterros sanitários, tendo sido implantado em 2001 o programa “*Lixo Nosso de Cada Dia*”, o qual em 2004 atingiu 90,7% do total de municípios catarinenses que passaram a dispor os resíduos adequadamente em aterros sanitários (ABES/SC, 2006), ocasionando a concentração dos resíduos urbanos, que demandam uma forma de tratamento dos lixiviados gerados.

Apesar disto, a maioria dos aterros brasileiros não possui nenhum tipo de tratamento para o lixiviado ou o trata de maneira ineficiente de modo a atender as especificações do CONAMA 357/2005 (classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento e padrões de lançamento de efluentes). Desta forma, é necessário o desenvolvimento de metodologias de tratamento eficientes na remoção da carga poluidora do lixiviado e que sejam compatíveis com a realidade técnica e econômica dos municípios brasileiros.

Lagoas de estabilização são sistemas de simples implantação, manutenção e de baixo custo, representando uma proposta viável para países tropicais e onde a disponibilidade de área não é um fator limitante a ser considerado, como é o caso do Brasil.

O presente estudo traz uma abordagem taxonômica dos microrganismos encontrados nas diferentes etapas de tratamento, de forma a aprofundar o conhecimento da biodiversidade deste ecossistema e garantir a minimização dos problemas de manutenção e controle operacional das estações, atuando como uma ferramenta de controle de qualidade do efluente.

A avaliação da dinâmica dos microrganismos presentes nas lagoas ao longo do tratamento foi também elucidada a fim de estabelecer a relação entre o perfil biológico e os parâmetros físico-químicos, possibilitando um diagnóstico das condições operacionais, garantindo um melhor controle e monitoramento do sistema. Afora isto, pelo fato de haver uma carência de trabalhos que apresentem os microrganismos encontrados nestes sistemas de tratamento, bem como lacunas de informações sobre sua importância, seja na remoção de nutrientes ou manutenção de condições favoráveis à estabilização do lixiviado, o comportamento da biomassa fitoplanctônica

foi também avaliada, frente às mudanças sazonais das variáveis climáticas e/ou qualitativas do afluente.

Partindo dos princípios desta problemática ambiental, o trabalho proposto justifica-se ao buscar soluções visando aprimorar o tratamento do lixiviado produzido em aterro sanitário.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo Geral

Avaliar a dinâmica da biota e correlacioná-la as variáveis físico-químicas em um sistema piloto de lagoas de estabilização para tratamento de lixiviado de aterro sanitário.

1.3.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o comportamento do sistema de lagoas na remoção de algumas variáveis indicadoras de poluição (DBO₅, DQO e Amônia);
- Avaliar o comportamento sazonal e diurno das lagoas quanto as variáveis físico-químicas (temperatura, pH, condutividade, potencial redox, oxigênio dissolvido, sólidos em suspensão) e biológica (clorofila *a*);
- Caracterizar a diversidade da biota das lagoas, utilizando técnicas avançadas de identificação taxonômica;
- Relacionar a ocorrência e distribuição espacial das algas (Cloro *a*) com as características físico-químicas das lagoas de estabilização;
- Verificar as mudanças na estrutura do fitoplâncton durante períodos sem e com aeração artificial.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Resíduos Sólidos Urbanos (RSU)

Apesar dos esforços das campanhas e políticas de redução da problemática dos resíduos (através de incentivos à diminuição da produção e do consumo, valorização dos resíduos, aumento da vida útil dos produtos através da reciclagem), a destinação dos resíduos sólidos urbanos no solo prevalece, ainda hoje, como a técnica mais comum, mais antiga, simples e barata, quando comparada às demais formas de tratamento. Dentre os sistemas de disposição final, podem-se distinguir (NBR 10004, ABNT 2004):

- Descarga a céu aberto ou lixão: forma inadequada de disposição final de resíduos sólidos, onde os resíduos são jogados sobre o solo, sem medidas de proteção ao meio ambiente ou à saúde pública;
- Aterro controlado: os resíduos sólidos são cobertos com terra, de forma arbitrária, reduzindo-se os problemas de poluição visual, mas não a poluição do solo, da água e da atmosfera, não levando em consideração a formação de líquidos e gases;
- Aterro sanitário: disposição de resíduos sólidos no solo, sem causar danos ou riscos à saúde pública e à segurança, minimizando os impactos ambientais. Este método utiliza princípios de engenharia para confinar os resíduos sólidos à menor área possível e reduzi-los ao menor volume permissível, cobrindo-os com uma camada de terra na conclusão de cada jornada de trabalho e em intervalos menores se necessário.

Os aterros sanitários, podem ser definidos como um equipamento urbano de infra-estrutura, integrante de um sistema de engenharia sanitária e ambiental, destinado à disposição final e tratamento dos resíduos sólidos. Esta tecnologia quando corretamente empregada, permite que os resíduos sejam confinados sob o solo, e que os líquidos e gases resultantes das reações químicas (incluindo processos de decomposição) sejam devolvidos ao meio ambiente com o mínimo de impacto (NOGUEIRA; ROCHA, 2001).

Desta forma, o projeto de construção deve ser rigorosamente estruturado, a fim de considerar os requisitos da Lei nº 9.605 de 12 de fevereiro de 1998 - Lei de Crimes Ambientais na *Seção III* -

Da Poluição e outros Crimes Ambientais no artigo 54. Também por gerar uma estrutura modificadora do Meio Ambiente deve atender a Resolução CONAMA n° 001 de 23 de janeiro de 1986 que estabelece a implementação da Avaliação de Impacto Ambiental (AIA) sendo que, neste caso, o licenciamento deve ser submetido à aprovação do órgão estadual competente.

Assim, através da norma NBR 8419/84, são estabelecidos procedimentos para uma correta elaboração de projetos de aterros sanitários devendo, estes, conter:

- Instalações de apoio;
- Sistema de drenagem de água pluvial;
- Impermeabilização lateral e inferior, de modo a evitar a contaminação do solo e do lençol freático;
- Sistema de coleta e tratamento de lixiviados e de drenagem de gases formados a partir da decomposição da matéria orgânica presente no lixo.

Para a disposição do resíduo sólido no aterro, a técnica consiste na redução do volume através da compactação e em seguida, dispor o mesmo no solo em camadas que são periodicamente cobertas com terra ou outro material inerte, formando células, garantindo uma alternância entre os resíduos e o material de cobertura. Estes métodos de operação e disposição dos resíduos estão intimamente relacionados às características geológicas e geotécnicas do local (BIDONE; POVINELLI, 1999). Atualmente, a melhoria das técnicas de aterro sanitário tem visado principalmente à redução na produção de lixiviados, a sua coleta e tratamento, e diminuição das descargas destes no solo.

2.2 Lixiviados de aterros sanitários

Os aterros sanitários podem acumular volumes importantes de líquidos percolados, apesar dos procedimentos operacionais utilizados tenderem a minimizar o fluxo destes efluentes. Define-se como lixiviado, os líquidos, provenientes da umidade natural e da água de constituição presente na matéria orgânica dos resíduos, dos produtos da degradação biológica dos materiais orgânicos e da água de infiltração na camada de cobertura e interior das células de aterramento, somado a materiais dissolvidos ou suspensos extraídos da massa de resíduos (RHEMAN, 2003).

A ABNT, através da norma NBR 8419 define esse percolado como o "líquido produzido pela decomposição de substâncias contidas nos resíduos sólidos, que tem como características a cor escura, o mau cheiro e a elevada DBO₅; constitui-se numa mistura de substâncias inorgânicas, compostos em solução e em estado coloidal e diversas espécies de microorganismos".

Comumente, utiliza-se aos líquidos originados em locais de disposição de resíduos sólidos, como aterros sanitários, as seguintes denominações: chorume, sumeiro, chumeiro, lixiviado e percolado (IPT/CEMPRE, 2000). Embora estes termos sejam utilizados para designar o líquido proveniente das células de aterramento dos resíduos sólidos urbanos, existem diferenças nos significados de cada um deles. De acordo com vários autores, o termo lixiviado apresenta-se como o mais adequado para se denominarem os líquidos drenados em células de aterros sanitários, uma vez que engloba o líquido gerado a partir de fontes externas, como água da chuva, drenagem superficial ou ainda, na decomposição dos resíduos. Desta forma, a fim de estabelecer uma nomenclatura única, o termo lixiviado será adotado, a partir deste item, no desenvolvimento desta dissertação.

Os líquidos formados na decomposição da matéria orgânica, juntamente com a água da chuva, infiltram-se através dos resíduos sólidos arrastando consigo diversos poluentes. Estes líquidos depositados nas camadas inferiores são, em geral, altamente agressivos ao meio ambiente, com um potencial de contaminação muitas vezes maior que a de muitos despejos industriais (MARTINS et. al, 2005). Por ser altamente tóxico, o lixiviado, em contato com o meio ambiente pode causar alterações na qualidade do ar, através da liberação de gases, poluindo ainda águas superficiais e subterrâneas, além de atrair diversos vetores causando enfermidades entre outros problemas.

Segundo Reichert, Cotrim e Rodrigheri (2002), os fatores que afetam o volume de lixiviado gerado são diversos, podendo-se citar com especial destaque o clima local (regime de chuvas, temperatura, velocidade dos ventos, umidade relativa do ar), umidade dos resíduos no momento do aterramento, a evapotranspiração, o grau de compactação dos resíduos, a capacidade de retenção de água dos resíduos, o tipo de cobertura dos resíduos (material, periodicidade e espessura), a infiltração e o escoamento superficial.

Os efeitos da infiltração dos lixiviados no solo são considerados como o maior impacto ambiental que um aterro sanitário pode apresentar. Por esta razão, a legislação tende a definir métodos a fim de evitar a contaminação por lixiviados tanto nas águas superficiais quanto subterrâneas. Assim, os aterros sanitários devem estar inseridos em áreas naturalmente ou artificialmente impermeáveis (CALZIANI; COSSU, 1989).

A variação da qualidade do lixiviado de aterro sanitário é determinada pela composição dos resíduos, pela profundidade das células do aterro, pela idade do lixo, quantidade de umidade e de oxigênio disponível, entre outros fatores. Todos estes fatores influenciam diretamente na sua composição e, sendo assim, os lixiviados produzidos apresentam uma composição variada e diretamente relacionada às condições do aterro em que foi produzido (REINHART; GROSH, 1998).

Apesar da grande variação, geralmente, os aterros sanitários recebem uma mistura de resíduos domésticos, comerciais e industriais mistos, excluindo quantidades significativas de resíduos químicos específicos. Desta forma, os lixiviados apresentam-se, segundo Kjeldsen e colaboradores (2002), como uma solução aquosa com quatro grupos de poluentes principais: material orgânico dissolvido (ácidos graxos voláteis e compostos orgânicos mais refratários como ácidos húmicos e fúlvicos), macro componentes inorgânicos (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , K^+ , NH_4^+ , Fe^{2+} , Mn^{2+} , Cl^- , SO_4^{2-} , HCO_3^-), metais pesados (Cd^{2+} , Cr^{3+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+}) e compostos orgânicos xenobióticos originários de resíduos domésticos e químicos presentes em baixas concentrações (hidrocarbonetos aromáticos, fenóis, pesticidas etc.). Gerba (1996) cita ainda, como principais componentes do lixiviado além de cátions e ânions, metais traços, compostos orgânicos variados usualmente medidos como carbono orgânico total (COT), demanda química de oxigênio (DQO) e demanda bioquímica de oxigênio (DBO_5), uma série de microrganismos, dentre os quais vírus, bactérias, fungos, protozoários e helmintos.

Quanto à DBO_5 , o lixiviado, normalmente apresenta valores na ordem de 3.000 a 19.000 mg/L (SA; KIRCHNER; LOCH, 1993). Essa ampla faixa de valores ocorre uma vez que, no processo de degradação do lixo até a sua inertização, várias etapas estão concorrentes, ou seja, o lixo depositado anteriormente estará em fase de degradação mais adiantada do que o lixo depositado recentemente. Esse valor também é função da composição do resíduo, variando de acordo com

sua heterogeneidade. Segundo Branco (1986) um efluente deve conter, como valor máximo, uma DBO₅ de 8mg/L para não afetar a comunidade aquática do corpo receptor.

As características do lixiviado do aterro sanitário ao qual são destinados os resíduos de Florianópolis apresentam-se com elevada concentração de material orgânico recalcitrante (elevada razão DQO/DBO₅), bem como elevados teores de amônia (MÁXIMO, 2007; SILVA, 2007).

2.3 Tratamento do Lixiviado

Devido ao seu potencial poluidor, os lixiviados devem ser tratados antes de serem lançados no meio ambiente, a fim de evitar maiores riscos de contaminação do solo e das águas subterrâneas e superficiais. Contudo, seu tratamento representa ainda um grande desafio na elaboração dos projetos de aterros sanitários, uma vez que suas características são muito diversas (FERREIRA;GIORDANO; RITTER, 2003).

As técnicas aplicadas para o tratamento dos lixiviados se assemelham às utilizadas no tratamento de esgotos domésticos: lodos ativados, lagoas (anaeróbias, facultativas), reator UASB, filtros biológicos e terras úmidas, obtendo-se índices satisfatórios de redução de DBO, entre outros parâmetros (SILVA, 2007).

As metodologias empregadas no tratamento de lixiviados podem ser biológicas e ou físico-químicas. O tratamento biológico do lixiviado propicia e objetiva transformar os constituintes orgânicos em compostos estáveis, não putrescíveis, com remoção eficiente de DBO, DQO e nitrogênio amoniacal do líquido tratado. Desta forma, cabe à engenharia, fornecer condições ao meio, para que o fenômeno da biodegradação ocorra espontaneamente, através da ação de microrganismos (bactérias, protozoários, algas e fungos). A biodegradação nos lixiviados é um processo catabólico, realizado de forma oxidativa ou fermentativa. Para o tratamento biológico atualmente, utilizam-se sistemas de lagoas de estabilização (anaeróbia, facultativa e de maturação), lagoas aeradas aeróbias de mistura completa, filtro biológico aeróbio (através de meio suporte) e reatores anaeróbio associados a membranas (FERNANDES et al., 2006).

O tratamento dos lixiviados por processos físico-químicos apresentam-se como uma alternativa de diminuição da carga poluente destes efluentes. Assim, tem-se os processos de coagulação,

floculação decantação, flotação, separação por membranas, e oxidação química. Estas alternativas podem ser empregadas isoladamente ou em conjunto com a finalidade de obter um efluente final dentro dos padrões de lançamento (CASTILHOS Jr.,2006).

No Brasil, para o tratamento do lixiviado utiliza-se com mais frequência sistemas de tratamento por lagoas de estabilização em série (anaeróbias, facultativas, aeradas) principalmente devido a simplicidade de operação e manutenção. Há ainda, a possibilidade de recirculação do lixiviado para o aterro, apresentando-se como forma parcial de tratamento e posteriormente, a aspersão do lixiviado sobre o solo como forma de disposição final. Os lixiviados recirculados se atenuam e diluem os compostos produzidos pela atividade biológica e por outras reações físicas e químicas que ocorrem dentro do aterro sanitário (PIÑEDA, 1998).

2.4 Tratamento Biológico: Lagoas de Estabilização

2.4.1 Caracterização e Classificação

As lagoas de estabilização caracterizam-se como um sistema de tratamento onde processos naturais: físicos, biológicos e bioquímicos, fazem a autodepuração das águas residuárias. A autodepuração consiste no restabelecimento do equilíbrio no meio aquático por mecanismos essencialmente naturais após as alterações induzidas (VON SPERLING, 1996). O entendimento pleno deste processo é um importante passo na formulação de parâmetros que possam aperfeiçoar sistemas baseados em lagoas de estabilização.

Projetadas para promover um controle ambiental através do tratamento dos despejos, a autodepuração/estabilização da matéria orgânica é realizada através da oxidação bacteriológica (oxidação aeróbia ou fermentação anaeróbia) e/ou redução fotossintética das algas. Em nível metabólico, os organismos fotoautotróficos (algas e cianobactérias) transformam a matéria inorgânica em compostos orgânicos mais simples, com liberação do oxigênio, o qual fica disponível no meio, desempenhando importante função no processo de decomposição da matéria orgânica. Os organismos heterotróficos alimentam-se desta matéria orgânica e utilizam o oxigênio gerado para oxidação (ganho de energia) e liberação de energia necessária. Ao final deste processo ocorre a liberação de gás carbônico, amônia e fosfato, necessários a fotossíntese (VON SPERLING, 1996).

Um subproduto da respiração das bactérias heterotróficas, o dióxido de carbono, ao ser consumido pelas algas, modifica o equilíbrio tampão carbonato/bicarbonato e, em consequência da formação de íons hidróxidos (OH⁻), eleva o pH do líquido, o qual varia entre 8 e 11 (UEHARA; VIDAL, 1989). Tais condições favorecem a redução do número de bactérias patogênicas, a precipitação dos fosfatos de cálcio e a volatilização da amônia, o que caracteriza o processo de autodepuração dos efluentes. Assim, além da remoção da matéria carbonácea, do ponto de vista sanitário, as lagoas podem alcançar elevadíssimas eficiências de remoção de organismos patogênicos (VON SPERLING et al., 2003).

Assim, de maneira geral, sistemas de lagoas procuram reproduzir os fenômenos observados na natureza, sem que para isso sejam utilizados equipamentos mecânicos. Sua utilização apresenta inúmeras vantagens, dentre as quais se destacam os baixos custos para construção, operação e manutenção (MORENO et al., 1988; MENDONÇA, 2000), simplicidade e confiabilidade operacional (dispensando operadores com capacitação especial), além de alta remoção de carga orgânica e redução de patógenos. É um método natural simples e importante para o tratamento de efluentes, utilizada no tratamento de lixiviados em muitos aterros sanitários (HAMADA; MATSUNAGA, 2000).

Processos bioquímicos e hidrodinâmicos, nas lagoas de estabilização, são influenciados por condições climatológicas como insolação, ventos, temperatura, precipitação e evaporação. A intensidade e duração da radiação solar apresentam-se como fatores primordiais no processo de fotossíntese, sendo significativamente favorecido em regiões de clima tropical e subtropical, como é o caso do Brasil. Pelo fato das lagoas serem um sistema natural, há a necessidade de disponibilidade de área territorial e clima favorável. Assim, tornam-se relevantes os estudos regionais sobre o comportamento do processo a fim de otimizar o processo natural (GOTARDO, 2005).

As lagoas de estabilização são classificadas de acordo com a atividade metabólica predominante na degradação da matéria orgânica em: anaeróbias, facultativas e de maturação ou aeróbias, com variantes segundo a intensificação do processo, como, por exemplo, presença e tipo de fornecimento de oxigênio dissolvido, lugar que ocupam no processo, condição de descarga, disposição das unidades e função específica, aeradas, de alta taxa de degradação e outras

(FERREIRA; GIORDANO; RITTER, 2003). A Tabela 1 apresenta os principais fatores de classificação das lagoas de estabilização.

Estes fatores podem ser distribuídas em diferentes números e combinações a fim de alcançar a qualidade padrão requerida para determinado efluente (PEARSON, 1995). As dimensões de cada unidade de tratamento são estabelecidas com base nas relações teóricas e empíricas dos resultados esperados, e o tempo de retenção hidráulica (TRH) é estimado dependendo da qualidade do efluente que se pretenda alcançar (KELLNER; PIRES, 2000).

Tabela 1: Classificação de lagoas de estabilização de acordo com a variação de alguns fatores.

Classificação da lagoa	Fatores
Presença e tipo de fornecimento de oxigênio	
Aeróbia	O oxigênio é fornecido através da fotossíntese que estabelece condições aeróbias em toda a coluna de água;
Facultativa	A zona superficial é aeróbia enquanto a zona subsuperficial pode ser anóxica ou anaeróbia;
Aerada	O oxigênio é fornecido artificialmente através de aeradores, que produz uma zona aeróbia que pode alcançar a totalidade da lagoa dependendo da intensidade de aeração e profundidade da lagoa;
Anaeróbia	Ocorre ausência de oxigênio na totalidade da coluna de água estabelecendo condições anaeróbias.
Localização no processo de tratamento	
Primária	Recebe efluentes brutos;
Secundária	Recebe efluentes de outro processo de tratamento;
Polimento ou maturação	Situam-se no final do processo de tratamento e tem como propósito fundamental reduzir o conteúdo bacteriano.
Condições de descarga	
Descarga contínua	A descarga do líquido tratado é feita de forma contínua;
Descarga controlada	A descarga é feita periodicamente quando a fonte receptora apresentar condições ótimas para receber o efluente tratado;
Descarga de controle hidrológico	São variações das lagoas de descarga controlada. A descarga acontece quando a lâmina d'água supera um nível de controle;
Retenção completa	Não possui efluente. A descarga do líquido é feita através da percolação e evaporação.
Disposição das unidades	
Série	O fluxo percorre as unidades de forma seqüencial;
Paralelo	O fluxo percorre as unidades simultaneamente;
Combinado	Há a conjugação dos regimes de fluxo.

Fonte: Adaptado de Moravia (2007) citando Yanéz (1993).

A experiência com lagoas de estabilização mostra que a configuração mais adequada para remoção do material orgânico é a série anaeróbia seguida de lagoa facultativa, seguida de lagoa de maturação. No entanto, os critérios de projeto devem ser modificados se a remoção de microrganismos patogênicos for o principal objetivo do tratamento (CHERNICHARO, 2002).

2.5 Principais Variáveis no Funcionamento de Lagoas de Estabilização

2.5.1 Condições ambientais

Em um sistema de lagoas de estabilização, as principais condições ambientais que influenciam no desempenho do sistema são: a radiação solar, a temperatura e o vento. A radiação solar exerce influência na velocidade da fotossíntese; a temperatura exerce influência não só na velocidade de fotossíntese, como também na taxa de decomposição bacteriana, solubilidade, transferência de gases e nas condições de mistura; os ventos influenciam nas condições de mistura assim como na reaeração atmosférica (JORDÃO; PESSOA, 2005).

Radiação Solar

A penetração da radiação solar na massa d'água tem fundamental importância na remoção de patogênicos e na produtividade algal. A divisão da radiação em zonas é determinada pela atenuação da luminosidade, sendo esta realizada pelas substâncias húmicas e absorção algal, sendo o processo de dispersão (turbidez) de menor importância (CURTIS et al., 1994). As algas impedem a penetração da luz no meio líquido, principalmente por possuírem grande quantidade de pigmentos (fotossintetizantes), perfazendo uma correlação entre a absorbância e as algas (como também clorofila *a*) aproximadamente linear. Em geral, todas as lagoas recebem maior incidência luminosa na superfície e menor no fundo sendo a faixa de variação localizada entre 10 e 30 cm de profundidade.

Temperatura

A temperatura apresenta-se como um dos fatores de maior importância no funcionamento das lagoas de estabilização, uma vez que exerce influência tanto em processos bioquímicos e biológicos quanto em fatores hidrodinâmicos (estratificação). Desta forma, a temperatura age

como um excelente guia de desempenho de um sistema, uma vez que a atividade dos microrganismos envolvidos na degradação do substrato é fortemente influenciada por este parâmetro, sendo significativa na faixa de 5 a 35°C. Para o crescimento algal, tem-se observado que o valor é máximo na faixa de temperatura de 25 a 30°C. Temperaturas mais altas diminuem o crescimento, e temperaturas acima de 35°C causam a inibição total da atividade algal (PATERSON; CURTIS, 2005).

Ventos

A ação dos ventos possibilita a homogeneização da massa líquida, levando o oxigênio da superfície às camadas mais profundas, auxiliando na mistura da lagoa. Através da ação dos ventos, os microrganismos se dispersam por toda a extensão da lagoa, servindo ainda para auxiliar na movimentação de algas desprovidas de motilidade. Em alguns casos, onde a fotossíntese torna-se insuficiente para garantir a oxigenação da massa líquida, o vento pode contribuir para a transferência e difusão de oxigênio atmosférico para a massa líquida (MENDONÇA, 2000).

Segundo Mara e Pearson (1998), os ventos podem, de acordo com sua incidência e velocidade, criar fluxos preferenciais, provocando curtos-circuitos nas lagoas, fato este bastante prejudicial para o sistema. Para assegurar que estes fenômenos não sejam formados, de acordo com Mendonça (2000), é necessário que os dispositivos de entrada e saída das lagoas estejam dispostos de forma que a direção dos ventos predominantes ocorra do efluente para o afluente. Isto evitará a saída de sobrenadantes no efluente assim como os curtos-circuitos.

Mistura e Estratificação Térmica

O vento e a variação de temperatura são os principais mecanismos de ação no processo de mistura de lagoas de estabilização. O vento atua no revolvimento da camada superficial da lagoa. Para garantir a máxima influência dos ventos, a lagoa não deve ser cercada de obstáculos naturais ou artificiais, que possam obstruir seu acesso, assim como não deve apresentar contorno muito irregular, para que a homogeneização das áreas mais periféricas com o corpo principal da lagoa não seja dificultada.

Durante as horas do dia em que a incidência de radiação solar na superfície da lâmina d'água torna-se mais elevada, aumenta-se também a temperatura da lagoa, tornando-a suscetível à estratificação térmica. Neste processo, a camada superior (quente) não se mistura com a camada inferior (fria), reduzindo seu desempenho, uma vez que aumenta o “curto-circuito” e interrompe o processo de difusão interna na coluna d'água (CURTIS et al., 1994). A inversão térmica interfere no comportamento das algas que não apresentam motilidade, pois ocasiona sua sedimentação na zona escura da lagoa, deixando de produzir oxigênio, e das algas motoras, que procuram fugir da camada superficial devido a elevada temperatura (~35°C), formando uma densa camada intermediária de algas, dificultando a penetração da luz solar nas camadas inferiores da lagoa.

Com a diminuição, ao final da tarde, da incidência de radiação na lâmina d'água, o processo de fotossíntese encerra, ocasionando um acelerado resfriamento da superfície. A força dos ventos durante a noite tende a aumentar, elevando a densidade na camada de cima e diminuindo na camada do fundo, acarretando uma mistura na coluna d'água. Durante o início da manhã a lagoa com algas apresenta-se desestratificada e ausente de camadas bem definidas na coluna d'água. Com o aumento gradativo da temperatura ao amanhecer, até seu valor máximo no início da tarde, volta-se a estabelecer as camadas; repetindo-se este ciclo diariamente.

Segundo Silva e Mara (1979), em lagoas de estabilização de pequena profundidade, a mistura chega a ocorrer uma vez por dia. As mudanças do vento por apresentarem grande influência na mistura vertical das lagoas, podem provocar a destruição da estratificação térmica (TADESSE; GREEN; PUHAKKI, 2004). O conhecimento e avaliação do fenômeno de estratificação de uma lagoa requerem um planejamento minucioso, principalmente quanto ao horário e profundidade das amostragens.

2.5.2 Potencial Hidrogeniônico (pH) e Oxigênio Dissolvido (OD)

Durante a fotossíntese, ocorre uma grande variação de pH podendo, nas camadas superficiais, atingir valor 10, nos momentos de maior atividade fotossintética, e cair para 7 no período subsequente (noite). Este aumento do pH com a fotossíntese, deve-se, uma vez que as algas consomem continuamente, durante o dia, o CO₂ produzido pela respiração das bactérias heterotróficas. A elevada temperatura da superfície da lamina d'água reduz a difusão do CO₂

atmosférico, ao passo em que potencializa a dissociação dos íons bicarbonatos. Esta dissociação, concomitante ao consumo de CO₂ pelas algas aumenta a concentração de íons hidroxilas na coluna d'água causando a elevação do pH (>10) (TADESSE; GREEN; PUHAKKI, 2004).

Esta flutuação dos valores de pH exerce influência na cinética do crescimento microbiano, na competição inter-específica e nos produtos de digestão da lagoa. O pH nas lagoas normalmente é maior que 4 e não ultrapassa 11, sendo que no período da tarde ocorre elevação devido ao aumento do oxigênio dissolvido (OD). Por sua vez, a concentração de OD no meio varia muito ao longo do dia, pois sua produção depende da concentração de algas. A oxigenação fotossintética, essencial para a oxidação bacteriana da matéria orgânica, varia diariamente com a intensidade luminosa, apresentando picos entre 13 e 15 horas nos trópicos, sendo comum encontrar supersaturação de oxigênio dissolvido na superfície de lagoas nas tardes quentes (PICOT et al., 1992).

Segundo Araujo (2007), valores de pH acima de 8 devem-se principalmente pela respiração e decomposição. Já valores de pH inferiores a 8 indicam a baixa atividade fotossintética, inibindo a utilização de CO₂.

2.5.3 Carga Orgânica

A carga orgânica aplicada em uma lagoa (medidas em DBO₅ ou DQO) exerce influência direta em seu comportamento, sendo esta variável aplicada de acordo com a área superficial (kg DBO₅/ha.dia) definida em seu dimensionamento. A área superficial é preferencialmente utilizada, devido à importância que o espelho d'água tem no processo, uma vez que determina a área de incidência da radiação solar assim como o local onde se processa a oxigenação pela ação das algas durante a fotossíntese (JORDÃO; PESSOA, 2005).

Normalmente, para tratamento de esgotos domésticos, calculam-se as faixas de operação das taxas de aplicação superficial de matéria orgânica em função das condições ambientais, sendo 120-240 kg DBO₅/ha.dia para regiões com inverno e insolação moderados e de 100-180kg DBO₅/ha.dia para regiões com inverno frio e baixa insolação, considerando unidades com a 1,5 a 3m de profundidade (VON SPERLING, 2002). Em trabalho com lixiviado de aterro sanitário, Silva (2007) utilizando-se de procedimentos descritos por CETESB (1989), na partida de um

sistema de lagoas de estabilização em série (anaeróbia, facultativa e de maturação), utilizou três diferentes diluições (25, 50 e 75%), tendo encontrado condições propícias para início do trabalho quando a carga aplicada estava em torno de 4000mg/L de DQO (diluição 75%), fato este observado através da qualidade do líquido lixiviado, permanecendo constante o tempo de TRH (15 dias) para cada lagoa bem como sua vazão (60L/dia).

2.6 Principais Transformações Bioquímicas em Lagoas de Estabilização

Inúmeros processos bioquímicos estão envolvidos na reciclagem da matéria orgânica e dos nutrientes em lagoas de estabilização, e o predomínio de uma ou mais reações é determinado pelo metabolismo das espécies presentes no sistema, sendo que a existência destas, diretamente ligada ao tipo de lagoa envolvida no processo de tratamento. Na tabela 2 encontram-se as principais reações biológicas que ocorrem em lagoas de estabilização.

Tabela 2: Características e fatores ambientais envolvidos nas principais transformações bioquímicas em lagoas de estabilização.

Reação Biológica	Características				Fatores Ambientais				
	Organismos	Substratos	Principais Produtos	Tempo*	T(°C)		OD	pH	Luz**
					Permissível	Adequada			
Oxidação Aeróbia	Bactérias aeróbias	Carboidratos Proteínas	CO ₂ NH ₃	5-10	0-40	15-30	Sim	7,0-9,0	Não
Redução Fotossintética	Algas	CO ₂ NH ₃ PO ₄ ³⁻	O ₂	10-20	4-40	15-25	Sim	6,5-10,5	Sim
Fermentação ácida	Bactérias facultativas heterotróficas	Carboidratos Proteínas Gorduras	Ácidos Orgânicos	10-20	0-50	10-40	Sim e Não	4,5-7,2	Não
Fermentação metânica	Bactérias produtoras de metano	Ácidos Orgânicos	CH ₄ CO ₂ H ₂	40-50	6-30	14-30	Não	6,8-7,2	Não
Nitrificação	Bactérias autotróficas	CO ₂ NH ₃ NO ₂	NO ₂ NO ₃	≥30	10-30	15-25	Sim	7,5-8,6	Não
Desnitrificação	Bactérias facultativas heterotróficas	NO ₃ Carboidratos Proteínas Gorduras	N ₂	5-10	0-50	15-30	Não	7,0-8,0	Não

* Tempo em dias necessários para o desenvolvimento de uma população estável

**Fator ambiental referente à necessidade de luz para a reação biológica

Fonte: Adaptado de Uehara e Vidal (1989).

Dentre os diferentes mecanismos de transformações biológicas necessários para a remoção de matéria orgânica, atuantes nos diversos tipos de lagoas de estabilização, o sistema capaz de

englobar a maior parte destes, é o sistema de lagoa do tipo facultativa. Quanto aos demais tipos de lagoas de estabilização, estes, apresentam-se sujeitos a esses processos em parte ou em sua totalidade (METCALF; EDDY, 2003).

Transformação do Carbono

A matéria orgânica afluenta em um sistema de tratamento utilizando lagoas de estabilização é removida ou transformada através de vários mecanismos físicos, químicos, biológicos e bioquímicos, sendo definidos três principais formas para a transformação do carbono a ser citada:

- fermentação anaeróbia (em lagoas anaeróbias e nas camadas de fundo de lagoas facultativas e de maturação);
- redução fotossintética (nas zonas fóticas de lagoas facultativas e de maturação);
- oxidação aeróbia (nas camadas superficiais de lagoa facultativa e de maturação)

Fermentação Anaeróbia

A fermentação anaeróbia apresenta-se como um processo seqüencial, podendo ser detalhada em quatro fases principais. Na primeira fase ocorre a “digestão ácida”, onde as bactérias fermentativas hidrolíticas excretam exoenzimas que hidrolisam compostos orgânicos complexos (carboidratos e lipídios) em materiais dissolvidos mais simples como aminoácidos, açúcares e álcoóis. Posteriormente estas bactérias metabolizam os compostos hidrolisando-os dentro de suas células em moléculas ainda menores, lançado-as ao meio na forma subprodutos como ácidos orgânicos, acetato propionato, butirato, etanol CO_2 , H_2 , etc., assim como de novas células bacterianas (SOARES; HIRATA, 1997). Esta etapa caracteriza a fase acidogênica e é realizada, na sua maioria, pelas bactérias anaeróbias estritas, porém cerca de 16% são facultativas e podem metabolizar o material orgânico também por via oxidativa (VAN HAANDEL; LETTINGA, 1994).

Em seguida ocorre a fase acetogênica, onde os produtos da fase anterior são oxidados pelas bactérias acetogênicas, convertendo-os em compostos que formam substratos para produção de metano, tais como acetato, hidrogênio e dióxido de carbono. De acordo com o estado de oxidação do material orgânico a ser digerido, a formação de ácido acético pode ser acompanhada pelo surgimento de CO_2 . A etapa final do processo de degradação anaeróbia de compostos orgânicos

em metano e CO_2 é efetuada pelas bactérias metanogênicas. Estas utilizam somente um limitado número de substratos, compreendendo acetato, hidrogênio, dióxido de carbono, ácido fórmico, metanol, metilaminas e monóxido de carbono. Em função de sua afinidade por substrato na produção de metano, estas bactérias são subdivididas em dois grupos: a) bactérias que formam metano a partir de ácido acético ou metanol (denominadas bactérias metanogênicas acetoclásticas) sendo este o grupo predominante na digestão anaeróbia, perfazendo cerca de 60 a 70% de toda a produção de metano a partir do grupo metil do ácido acético; e b) bactérias que produzem metano a partir de hidrogênio e dióxido de carbono, denominado de bactérias metanogênicas hidrogênótóxicas (CHERNICHAO, 1997).

Além das quatro fases mencionadas acima, despejos que contenham compostos de enxofre podem ainda ser submetidos a uma quinta fase, também chamada sulfetogênese, onde o sulfato, sulfito e outros compostos sulfurados são utilizados como aceptores de elétrons durante a oxidação de compostos orgânicos reduzido-os a sulfeto pela ação de um grupo de bactérias anaeróbias estritas, denominadas bactérias sulforedutoras (SRB), dos gêneros *Desulfovibrio* e *Desulfobacter*, as quais são muitas vezes responsáveis pela produção de odores em sistemas de tratamento devido a liberação de H_2S , bem como a inibição da produção de metano (PEARSON, 2005).

Fotossíntese

O fenômeno da fotossíntese consiste na conversão da energia luminosa em energia química, que será utilizada para reduzir o CO_2 em produtos energéticos como a glicose e o amido. Ocorre sob a ação de fótons (luz), na presença de clorofila e de compostos tais como o difosfato e o trifosfato de adenosina (ADP e ATP), os quais desempenham o papel de transportadores de energia entre os centros de reação fotossintética (ALBERTS et al., 2004).

Nas reações fundamentais da fotossíntese, que são de oxi-redução, o agente redutor é a água (H_2O), que é oxidada a oxigênio (O_2). O agente oxidante é o gás carbônico (CO_2), que é reduzido à carboidrato (CH_2O). Esta sintetização é endergônica, e a energia que ela consome provém da faixa visível do espectro solar. Quimicamente, a fotossíntese significa a armazenagem de uma parte da energia solar sob a forma de energia potencial, possibilitando a síntese de carboidratos e outros compostos orgânicos de alto teor energético, a partir de substâncias de baixo potencial

energético existentes na atmosfera, como o dióxido de carbono e a água (VIEIRA; GAZZINELLI, 1991).

A fotossíntese ocorre em duas fases fisiológicas distintas: (a) a primeira, também chamada fase clara, onde a energia luminosa é utilizada para quebrar a molécula de água e liberar o oxigênio e H^+ , ocorrendo acúmulo de energia química na forma de ATP; (b) e a segunda, também chamada fase escura, que é independente da luz, onde ocorre a redução do CO_2 para a formação de glicose através do uso da energia química acumulada na primeira fase (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2005).

Realizado por seres providos de pigmentos fotossintéticos, procariontes e eucariontes, segundo Ricklefs (2001), mais da metade da fotossíntese provém do fitoplâncton, representados pelo grupo das cianobactérias, dinoflagelados, diatomáceas e euglenófitas. Sabe-se, contudo, que a abundância de pigmentos fotossintéticos varia de acordo com a espécie.

Os pigmentos envolvidos na fotossíntese são as clorofilas *a* e *b*, os carotenóides e as ficobilinas (KLUGE, 2004 apud STREIT et al., 2005). Os carotenóides e as ficobilinas constituem os chamados pigmentos acessórios, assim como outros tipos de clorofilas como a Chl *b* (presentes em vegetais superiores, algas verdes e algumas bactérias); Chl *c* (presentes em feófitas e diatomáceas) e Chl *d* (presentes em algas vermelhas) (TAIZ; ZIEGER, 2004).

A Clorofila *a* (Chl *a*) está presente em todos os organismos que realizam fotossíntese oxigênica. As bactérias fotossintetizantes são desprovidas de clorofila *a* possuindo, em seu lugar, a bacterioclorofila como pigmento fotossintético, localizados em cromatófaros (sistema membranoso), tais como: clorobium clorofila em bactérias verdes, bacterium clorofila em bactérias que não produzem oxigênio (STREIT et al., 2005).

A Chl *a* é o pigmento de maior importância, utilizado para realizar a etapa fotoquímica (primeiro estágio do processo fotossintético), enquanto que os demais pigmentos (acessórios) auxiliam na absorção de luz e na transferência da energia radiante para sítios bem definidos, localizados sobre as membranas tilacóides, chamados centros de reação (STREIT, et al., 2005). Distinguem-se dois centros de reação, um deles absorvendo em 680nm e outro em 700nm, os quais interagem entre si através de transportadores de elétrons. É a partir da molécula de clorofila, a qual absorve em

680nm no espectro visível, que os elétrons oriundos da água são transferidos para a cadeia transportadora de elétrons da fotossíntese (KLUGE, 2004 apud STREIT et al., 2005).

Utilizando-se da radiação fotossinteticamente ativa (RFA ou PAR) compreendida entre 390 e 760nm (a chamada luz visível), a absorção da luz pela clorofila se faz com intensidade máxima nas faixas de comprimento de onda de 400-500 nm (luz azul) e 600-700 nm (luz vermelha) (RICKLEFS, 2001). As bacterioclorofilas absorvem luz numa região próxima ao infravermelho (660 a 870 nm).

Organismos fotossintetizantes podem absorver apenas 1 quantum de energia de cada vez, por molécula de clorofila. A absorção causa excitação de um determinado elétron de um dos átomos da molécula. Os elétrons localizados em orbitais no estado estável do átomo, recebem a energia e podem se deslocar para orbitais mais distantes do núcleo, distância esta proporcional à energia de um fóton que absorveu. A molécula do pigmento encontra-se, desta forma, no estado excitado, e esta energia de excitação é utilizada na fotossíntese. As clorofilas e os demais pigmentos permanecem no estado excitado por períodos muito curtos (1 bilionésimo de segundo = 10^{-9}) e a energia é perdida por calor ou por fluorescência (ROMANO, 2001).

Oxidação aeróbia

A oxidação aeróbia consiste em um processo bioquímico de obtenção de energia, que utiliza o oxigênio como aceptor final de elétrons durante a oxidação da matéria orgânica, ou seja, o processo inverso à fotossíntese, correspondendo ao principal fator de consumo de oxigênio em todos os ambientes (RICKLEFS, 2001). Em sistemas de lagoas, a respiração é realizada, principalmente, pelas bactérias heterotróficas, microalgas e zooplâncton. Alguns organismos fotossintetizantes também utilizam o oxigênio uma vez que necessitam oxidar a glicose ou o amido (resultante da fotossíntese) e assim, obterem energia para os processos vitais (ALBERTS et al., 2004).

Bactéria e outros microrganismos aeróbios, ao destruírem a matéria orgânica, procedem como os animais superiores uma vez que ingerem este alimento, após transformá-lo em compostos orgânicos solúveis e assimiláveis. Estes compostos são armazenados em suas células, e posteriormente utilizados na composição de novas células ou no fornecimento de energia. Na fase

inicial do tratamento ocorre grande redução de DBO_5 e, portanto do conteúdo de matéria orgânica, a qual, inicialmente, é armazenada nas células (principalmente sob a forma de glicogênio) que não é imediatamente metabolizada. Ulteriormente, com a continuação do processo de tratamento, é que será transformada em material para a construção de outros microrganismos ou oxidada para produção de energia necessária a essa mesma síntese ou atividades locomotoras, etc. (BRANCO, 1986). Desta forma, o meio deve conter oxigênio suficiente para que os microrganismos possam oxidar suas reservas de glicogênio (no caso de bactérias) ou de outros compostos (no caso de protistas, vírus, etc.).

A oxidação aeróbia celular é realizada segundo três etapas distintas: a) na primeira, denominada glicólise, ocorre a degradação, sem a necessidade de oxigênio, de uma molécula de glicose e formação de duas de piruvato; b) na segunda, denominada ciclo do ácido tricarboxílico, o piruvato é oxidado completamente a CO_2 ; c) na terceira, denominada cadeia respiratória ou cadeia de transporte de elétron, ocorre a transferência de elétrons do NADH, produzido durante a glicólise e o ciclo do ácido tricarboxílico, para o oxigênio. Esta transferência de elétrons libera uma grande quantidade de energia livre, muito desta energia é conservada na forma de ATP, finalizando a oxidação da glicose (PELCZAR; REID; CHAN, 1980).

2.7 Utilização de microrganismos no monitoramento do tratamento biológico

A utilização de bioindicadores aquáticos representa uma das formas mais modernas para detectar níveis diferenciados de carga orgânica (BASTOS et al., 2006). Assim, têm-se como bioindicadores as espécies utilizadas no monitoramento ambiental, devido a sua sensibilidade ou tolerância a vários parâmetros, como poluição orgânica, derramamento de óleo, alterações de pH da água, lançamento de pesticidas, entre outros (WASHINGTON, 1984).

A utilização de organismos microscópicos, aliados aos parâmetros físico-químicos, constituem alternativas viáveis para a determinação de diferentes níveis de poluição dos corpos hídricos, bem como para a caracterização do grau de depuração de efluentes em diferentes sistemas de tratamento. De acordo com Sladeczek (1973), a caracterização dos diferentes níveis de carga orgânica em cursos d'água através do uso de bioindicadores, consiste em avaliar a presença e as atividades vitais dos microrganismos nestes ecossistemas e sua variação de acordo com as mudanças de qualidade da água. Para Schwoerbel (1975), “o estado biológico de um ambiente

aquático é típico para cada grau de contaminação e a avaliação da composição e abundância das biocenoses de um dado hidrossistema possibilita avaliar o seu grau de pureza ou poluição”.

O uso de parâmetros biológicos para medir a qualidade da água se baseia nas respostas dos organismos em relação ao meio onde vivem. Como os sistemas hídricos estão sujeitos a inúmeras perturbações, a biota aquática reage a esses estímulos, sejam eles naturais ou antropogênicos (CAIRNS; PRATT, 1993).

A primeira tentativa de classificação de ambientes aquáticos com base na fauna local foi desenvolvida por Kolwitz e Marsson em 1909, onde os autores enfatizavam que a presença, ausência ou abundância de diferentes microrganismos nas áreas poluídas ocorriam de acordo com suas características fisiológicas e comportamentais, que lhes possibilitavam tolerar tais condições.

Atualmente, várias são as metodologias utilizadas para análise de avaliação ambiental, com especial enfoque às análises taxonômicas, biológica, ecológica e estatística da comunidade planctônica dos mais variados ambientes naturais ou artificiais.

2.8 Comunidade Planctônica em Lagoas de Estabilização

Os principais organismos envolvidos no tratamento de efluentes em lagoas de estabilização são os plânctons (do grego “*planktos*” = errante, o que flutua livremente) os quais, segundo Font Quer (1989), constituem uma comunidade biótica, delimitada ecologicamente e fisiologicamente, formada por todos aqueles organismos em suspensão na água. De acordo com Henzen, (1987) apud Esteves, (1998) o plâncton pode ser definido como “o conjunto de organismos que não dispõem de movimentos próprios capazes de se opor aos movimentos da água”.

Segundo Esteves (1998), o plâncton é constituído pelo fitoplâncton (cianobactérias e algas), pelo zooplâncton (larvas de insetos, protozoários, microcrustáceos e rotíferos) e pelo bacterioplâncton (bactérias). Estes estão distribuídos nas lagoas em vários níveis tróficos - produtores primários, consumidores, predadores e decompositores - vivendo em uma relação mutualística entre eles e o ambiente.

A presença de microrganismos em sistemas biológicos de tratamento é primordial em todas as etapas do tratamento do efluente. Assim, à medida que a matéria orgânica é degradada há uma sucessão natural dos microrganismos, sendo bactérias, algas, protozoários e rotíferos fundamentais neste sistema (BARTHEL et al., 2008).

O processo de autodepuração consiste no trabalho destes organismos, que se desenvolvem sobre certas condições, possibilitando maior eficácia no processo pelo qual as águas poluídas restauram suas primitivas condições, tornando estáveis e inócuas as substâncias estranhas presentes no meio. Desta forma, a eficiência do tratamento é favorecida de acordo com a associação estabelecida entre estes (BRAGA et al., 2002).

O fitoplâncton e zooplâncton estão sujeitos essencialmente às variações das condições físico-químicas do meio e as variações sazonais: duração do fotoperíodo, intensidade luminosa, temperatura e mudanças nas relações tróficas exercida pelo zooplâncton e fitoplâncton (MENDONÇA, 2000). Em uma lagoa aeróbia com bom funcionamento, existe o predomínio de organismos fotoautotróficos e bactérias heterotróficas. As microalgas presentes no meio irão produzir oxigênio através da fotossíntese, que será então utilizado nos processos de depuração da matéria orgânica e na manutenção do oxigênio dissolvido no meio (KÖNIG, 2000).

As sucessões sazonais de espécies algais observadas no meio aquático são resultado da estratégia de adaptação desenvolvida por cada espécie. As diferentes algas procuram se manter e multiplicar no meio, além de se mostrarem competitivas. Em lagoas facultativas, as algas exercem um papel fundamental, uma vez que mantem o ambiente aerado, através da capacidade de produzirem uma maior quantidade de oxigênio do que são capazes de consumir, suprindo a necessidade de oxigênio dos microrganismos (UEHARA; VIDAL, 1989). Este saldo positivo de oxigênio permite a ocorrência de processos de degradação aeróbia da matéria carbonácea.

2.8.1 Principais Grupos Fitoplanctônicos em Lagoas de Estabilização

Segundo Uehara e Vidal (1989), as algas constituem um grupo de organismos aquáticos uni ou pluricelulares, móveis ou imóveis, dotados de um ou mais cloroplastos, que armazenam os pigmentos fotossintéticos denominados clorofila. Os cloroplastos podem ser reconhecidos microscopicamente no interior das células de algas por sua coloração verde distinta. Alguns tipos

de algas não são verdes, exibindo coloração marrom ou vermelha devido à presença de outros pigmentos como as xantofilas. Segundo Pelczar, Reid e Chan (1980) existem cinco tipos de clorofila: *a*, *b*, *c*, *d*, *e*, sendo que somente a clorofila *a* está presente em todas as algas, o que o torna um excelente indicador. Através da clorofila *a*, as algas produzem oxigênio (O₂) absorvendo a energia solar e transformando-a em calor e energia química, durante o processo da fotossíntese.

Algumas algas podem utilizar a alimentação autotrófica (fotossíntese), mas também a assimilação heterotrófica ou mixotrófica. Nas fotoautotróficas, o carbono assimilado provém do carbono inorgânico (CO₂ ou bicarbonato) e a energia é retirada da luz natural ou artificial. As heterotróficas podem utilizar o carbono orgânico (ex. acetato, celulose) em ausência de luminosidade e a degradação dos substratos orgânicos fornece a energia necessária. Em condições mixotróficas, as microalgas agem de modo similar, mas utilizam também a luz, constituindo-se em um modo de alimentação às vezes autotrófica outras vezes heterotrófica, sem produção de O₂ (LEE, 1999).

Para avaliação do bom funcionamento de uma cultura algal, segundo Sevrin-Reyssac et al. (1995) citado por Araujo (2007) é necessário um acompanhamento da coloração da água. A transparência da água lida no disco de Sechi indica uma importante quantidade de algas, quando apresentando valores de até 5 cm. Leituras de 6 a 10 cm indicam quantidade média. Leituras no disco de Sechi de 10 a 20 cm indicam densidade algal insuficiente, o que afeta a capacidade de depuração. De maneira geral, leituras do disco de Sechi, inferior a 10 cm, caracterizam um meio eutrofizado, uma vez que a densidade fitoplanctônica está relacionada à sua visibilidade (MATHEUS et al.,1991).

Poucas espécies de algas podem sobreviver em águas com elevadas concentrações de elementos nutritivos. A seleção natural é feita em benefício de algumas espécies resistentes que são geralmente encontradas em águas poluídas, de forma que o número de gêneros presentes em lagoas de estabilização torna-se limitado. Dentre as formas mais comumente encontradas e que se destacam por estarem relacionadas com a qualidade da água nas lagoas, estão as do Filo Cyanobacteria, Chlorophyta, Euglenophyta, Cryptophyta e Bacillariophyta. A distinção dos principais grupos será brevemente apresentada, segundo Lee (1999) e Streble e Krauter (1985).

Cyanophyta

As cianobactérias ou algas azuis são organismos procariontes, unicelulares, coloniais ou filamentosas e menos eficientes na produção de oxigênio. As cianobactérias eram anteriormente chamadas de algas verde azuladas, porém, atualmente, são consideradas bactérias fotossintéticas devido a natureza de suas células (procariótica), o que as torna um grupo de bactérias fotossintéticas aeróbias. Apresentam reprodução sexuada e plastos ou cromatóforos contendo os pigmentos fotossintetizantes. São fotoautotróficos, apresentando, além da clorofila *a*, um pigmento azul característico, denominado ficocianina e em algumas espécies, um pigmento vermelho denominado ficoeritrina. Ambos constituintes das chamadas ficobiliproteínas. Sua reserva energética pode ser o amido, glicogênio e cianoficina. Podem participar do fitoplâncton e do perifíton. Predominam, geralmente, nas lagoas com valores de pH próximo do neutro ou tendendo ao alcalino, cujas águas possuem temperaturas mais elevadas (acima de 30°C) e onde ocorre uma deficiência ou desequilíbrio de nutrientes (principalmente nitrogênio). Por possuírem vacúolos ou pseudovacúolos de gás em suas células, este tipo de alga flutua na superfície do líquido, dificultando, assim, a penetração de luz na água e elas são capazes de produzir substâncias inibidoras para o crescimento de outras algas ou tóxicas para o zooplâncton. Normalmente, quando se decompõem, exalam maus odores. Nas lagoas existe o predomínio das espécies da classe Chyanophyceae, tendo como gêneros mais freqüentes: *Synechocystis*, *Microcystis*, *Anabaena*, *Aphanizomenon*.

Chlorophyta

Também conhecidas como algas verdes são eucariontes fotoautotróficas, podendo ser encontradas em todos os níveis de organização, desde formas flageladas, cocais até espécies de estrutura talosa. Alguns organismos apresentam flagelos, em número variável, geralmente de mesmo comprimento, os quais permitem o movimento ativo destes no meio. Nas células flageladas encontram-se ainda manchas oculares (estigma) as quais se apresentam como organelas de coloração vermelha ou parda, que conferem a capacidade de perceber a intensidade e direção luminosa. As clorófitceas diferem das demais algas eucariontes devido ao armazenamento de substâncias de reserva ocorre no cloroplasto e não no citoplasma. São encontradas em seus cloroplastos estruturas que ao microscópio óptico aparecem como pequenos corpúsculos (pirenóides) e em cuja superfície se aderem pequenos grânulos de amido. Possuem cloroplastos

providos de clorofila *a* e *b*, tendo como fonte de reserva o amido (presente no cloroplasto e geralmente associado ao pirenóide), que em solução de lugol cora, facilitando sua diferenciação das demais espécies flageladas dessa divisão. As clorofíceas indicam uma boa condição de funcionamento das lagoas; estão sempre associadas a pH elevado e a um meio líquido balanceado em nutrientes. Dentre os gêneros de clorofíceas, um que requer especial atenção, devido à sua ocorrência em sistemas de lagoas, são as do gênero *Chlamydomonas*. Na natureza, esta alga está amplamente distribuída em água doce, salgada e no solo. Indivíduos *Chlamydomonas* sp. são capazes de se mover em direção à luz de intensidades adequadas (RAVEN et al., 1996) e de crescerem em presença de altas cargas orgânicas ou mesmo sobreviver em condições anaeróbias (KÖNIG, 2000). Além deste gênero, podem-se citar como recorrentes os gêneros: *Chorella*, *Scenedesmus*, *Carteria*, *Micractium*, *Chlorococum*.

Euglenophyta

Os euglenófitos são organismos unicelulares eucariontes que apresentam forma alargada e pouco espiralada, ocorrendo particularmente em águas poluídas com matéria orgânica em decomposição. Apresentam flagelos, núcleo mesocariótico, mancha ocular avermelhada (estigma) visível ao microscópio óptico, funcionando como um órgão receptor de luz, o que determina para muitas espécies fototactismo. Apresentam clorofilas *a* e *b*, β -caroteno e xantofilas, tendo como substância de reserva o paramilo. O paramilo é uma substância parecida com amido, é produzido e acumulado no plasma celular (e não no cloroplasto). Diversas espécies estão ausentes de pigmentos assimiladores e mancha ocular. A multiplicação é realizada por divisão longitudinal, não apresentando reprodução sexual. Assim, à medida que o núcleo, o aparato flagelar e a mancha ocular se duplicam, aparece uma estrangulação no pólo anterior que se desenvolve até a outra extremidade, a divisão dura de duas a quatro horas, sendo que para as espécies verdes somente há divisão em ambientes escuros. Nas lagoas podem ser encontrados os seguintes gêneros: *Euglena*, *Phacus*, *Leptocinclis* e *Trachelomonas*.

Cryptophyta

Grupo de organismos estritamente flagelados contendo células assimétricas, achatadas dorsoventralmente, encontrada em um plano. Possuem clorofilas *a*, *c*₂ e ficobiliproteínas ocorrentes nos tilacóides dos cloroplastos. A proporção de clorofilas, carotenóides e xantofilas

dos cloroplastos é muito variável, conseqüentemente, estes apresentam colorações diversas, tais como pardo amarela, pardo, pardo avermelhado, vermelho, verde, verde azulado e azul, havendo também algumas espécies incolores. Apresentam dois flagelos de tamanhos pouco distintos, e com movimentos diferenciados, o que causa um deslocamento trepidante da célula. Na região ventral da célula observa-se um sulco longitudinal oblíquo, pouco profundo, onde desemboca a citofaringe a qual adentra profundamente no interior da célula. O contorno da citofaringe se encontra marcado na maioria das espécies por grânulos muito refringentes, denominados tricocistos. A função dos tricocistos ainda não foi completamente elucidada, uma vez que a alimentação destes organismos não se baseia na ingestão de alimentos sólidos. Poucas são as espécies heterotróficas, mas a maioria é autotrófica e apresenta um cloroplasto simples com um pirenóide central. A divisão ocorre por divisão longitudinal da célula. Em lagoas de estabilização podem ser encontrados os seguintes gêneros: *Cryptomonas*, *Chroomonas* e *Chilomonas*.

Bacillariophyceae

Também conhecidas como diatomáceas, caracterizam-se por serem organismos unicelulares, algumas vezes coloniais, participando do fitoplâncton como células livres natantes ou do perifíton através da utilização de rochas ou plantas aquáticas como substrato para aderência. Elas são a fonte alimentar primária para a fauna aquática. Frequentemente ocorrem quantidades excepcionais de indivíduos em pequenas áreas. As diatomáceas diferem de outras crisófitas (algas pardas) pela ausência de flagelos e pela parede celular peculiar (dividida em duas metades) composta por sílica, a qual é adicionada por proteínas e polissacarídeos, denominada frústula. Estas envolvem as células, encaixando-se uma na outra e conferindo grande rigidez. Mesmo após a morte da célula e o desaparecimento dos compostos orgânicos, a estrutura externa (frústula) frequentemente permanece, comprovando que o componente silicoso é responsável pela rigidez da célula. Os cloroplastos contêm clorofilas *a*, *c₁*, *c₂*, sendo o carotenóide presente em maior quantidade a fucoxantina, o que lhes confere coloração dourada. Através da microscopia eletrônica evidenciou-se que as finas estrias de suas paredes celulares são compostas de um grande número de pequenos poros, depressões ou canalículos com formas complexas, que conectam o protoplasma do interior da célula com o exterior. Com base na simetria, reconhecem-se dois tipos de diatomáceas: penadas (com simetria bilateral) e cêntricas (com simetria radial). As cêntricas possuem uma proporção superfície/volume maior que as penadas e portanto, flutuam

com maior facilidade. A presença de diatomáceas indica, segundo Branco (1986), eficiência do tratamento. Em lagoas de estabilização podem ser encontrados os seguintes gêneros: *Nitzschia*, *Surirella* e *Cymatopleura*.

2.8.2 Principais Grupos Zooplanctônicos em Lagoas de Estabilização

O conhecimento do zooplâncton em lagoas de estabilização é de grande relevância, uma vez que constituem importante elo com os produtores primários (fitoplâncton); regulam a população fitoplanctônica através da herbivoria; participam da ciclagem de nutrientes; apresentam indivíduos bioindicadores, além de representarem o principal agente da redução de material em suspensão, resultando na depuração do efluente (LIRA; MEDEIROS, 2008).

Segundo Margalef (1983) apud Esteves (1998), os protozoários planctônicos apresentam regime alimentar diversificado, podendo ser bacteriófagos, detritívoros, herbívoros e carnívoros. Nutrindo-se de algas unicelulares e outros componentes fitoplanctônicos, bactérias e partículas orgânicas, contribuem nos tratamentos biológicos, no consumo de matéria orgânica, dado sua natureza heterotrófica; consumo de bactérias livres, refletindo na eliminação do material em suspensão e estimulando o crescimento bacteriano. Capazes de modificar a dominância algal, reduzem as capacidades de suporte das populações em competição levando, em extremo, à exclusão das espécies, principalmente como resultado da competição por alimento (MOERSIDIK, 1992).

Ainda, segundo Branco (1986) os fatores ecológicos de particular importância no desenvolvimento de protistas são: água, temperatura, oxigênio, luz, pH e salinidade; de maneira que, quando estes fatores estão dentro dos limites favoráveis para as espécies, sua ocorrência e abundância dependerá da disponibilidade de alimento e do grau de predação.

Contudo, nem todas as espécies zooplanctônicas são capazes de sobreviver em lagoas de tratamento, principalmente devido aos altos teores de amônia, compostos de enxofre e DBO destes sistemas (LAWS, 1993). Um significativo decréscimo na biomassa zooplanctônica em virtude dos efeitos da amônia não ionizada (NH_3 em níveis superiores a 2,5mg/L) foi observado por Arauzo (2003), sendo o filo rotífera o mais afetado. Afora isso, “blooms” de fitoplâncton resultam em uma intensa atividade fotossintética, acarretando no aumentando do pH e dos valores de amônia não ionizada, minimizando desta forma a biomassa zooplanctônica nas lagoas.

Constituído por uma variedade de organismos com diferentes características reprodutivas e hábitos alimentares, apresentam-se com tamanhos variando entre 40µm a 2,5cm ou mais. Dentre os grupos zooplancônicos presentes em lagoas de estabilização, destacam-se quatro grupos: ciliados, rotíferos, copépodes e cladóceros. Podem ainda ocorrer, com menor frequência, amebas de vida livre, ostrácodes, ácaros, turbelários, larvas e pupas de dípteros (SUETMATSU, 1995).

Ciliados

Os ciliados, maior dentre os principais grupos de protozoários, inclui cerca de 7200 espécies, muitas das quais ainda não são bem conhecidas. Frequentemente, apresentam-se como organismos unicelulares com a superfície inteiramente coberta com centenas de cílios utilizados para locomoção e captura de alimentos (os quais são orientados em direção ao citóstoma), gastando desta forma, grande quantidade de energia. Frequentemente, apresentam importante diversidade específica e fortes densidades, destacando-se como os únicos protozoários que realizam reprodução sexuada por meio da conjugação (união temporária das células com troca de material nuclear) assim como os únicos entre os protozoários a possuir dois tipos de núcleos: o macronúcleo (responsável pelo desenvolvimento e pela reprodução assexuada através da fissão binária transversa) e o micronúcleo (o qual exerce importante papel na reprodução sexuada; contém informação genética que é permutada durante a conjugação) (RUPPERT; FOX BARNES, 2005).

Apresentam importante papel nos processos biológicos de tratamento contribuindo na remoção de bactérias patogênicas, DBO₅ e dos SS (LAYBOURN-PARRY et al., 1999 apud BENTO, 2005). Podem-se ainda encontrar com frequência, ciliados fixos ao substrato por um pedúnculo, os quais criam uma corrente pelo batimento de seus cílios em atividade permanente, necessitando de menos energia. Estas formas, geralmente ocupam melhor posição, dominando o ambiente em períodos de escassez de alimentos.

Segundo Branco (1986) os ciliados são encontrados com frequência em ambientes de alta poluição orgânica, ou em ambientes contendo grande número de bactérias para sua alimentação, sendo desta forma, responsáveis pela estabilização dos dejetos em uma estação de tratamento, sendo capazes de manter uma baixa a população bacteriana, porém em estado de rápido crescimento.

Rotíferos

Os rotíferos constituem um grupo de organismos com dimensões muito reduzidas, geralmente microscópicos, podendo também atingir 1 a 2 mm de comprimento. Na sua maioria, habitantes de água doce, formado por espécies livres natantes, como também por organismos sésseis que se agarram ao substrato, apresenta uma coroa de cílios ao redor da boca, responsáveis pela locomoção e pela captura de partículas alimentares (BARNES; CALOW; OLIVE, 1995). Na região posterior, encontra-se freqüentemente, uma cauda, também chamada pé, cujo movimento auxilia sua locomoção e fixação. Seu corpo apresenta formato cilíndrico, podendo ocorrer também de apresentar-se quase esférico; revestido por envoltório elástico ou rígido (lórica). Possuem dimorfismo sexual, embora freqüentemente realizem reprodução por partenogênese, com os machos relativamente raros e em várias espécies, desconhecidos (BRANCO, 1986).

Comuns em ambientes de menor carga orgânica aparecem principalmente na estação de maior temperatura, sendo esta, assim como o oxigênio dissolvido, os fatores de maior influência no desenvolvimento deste grupo. Há, contudo, espécies que se desenvolvem preferencialmente sob baixa temperatura, quando na busca de melhores condições de oxigenação (MOERSIDIK, 1992 apud BARTHEL, 2007). Constituindo um grupo muito diversificado e disseminado nos mais variados ambientes de águas doces apresentam importância hidrobiológica, sobretudo relacionada ao reconhecimento da qualidade dos mananciais (BRANCO, 1986).

Cladóceros e Copépodos

Cladóceros e copépodos são crustáceos (artrópodos) microscópicos, de vida tipicamente aquática, que apresentam corpo revestido por carapaça rígida e transparente, apresentando dois pares de antenas e corpo formado por cefalotórax (RUPPERT; FOX; BARNES, 2005).

A ordem dos cladóceros, situados entre os menores crustáceos, caracteriza-se por possuir o corpo (mas não a cabeça) encerrado em uma carapaça, em forma de concha bivalva, muito transparente. Locomovem-se aos saltos dentro d'água, graças à impulsos provocados pela região abdominal, e possuem antenas, freqüentemente, muito desenvolvidas e ramificadas (BRANCO, 1986).

Os copépodos, por sua vez, não possuem concha. Reconhece-se facilmente as fêmeas pela presença de dois cachos de ovos situados lateralmente, um de cada lado da região caudal, assim

como os dois pares de antena, sendo o primeiro muito maior que o segundo e não ramificado. Quando observados dorsalmente torna-se difícil a visualização dos órgãos locomotores (MEGLITSCH, 1986).

Outros organismos presentes em Lagoas de Estabilização

Segundo Branco (1986), larvas de insetos são encontradas, geralmente, em grande número, nas águas poluídas onde, além de disporem de alimento orgânico em abundância, encontram-se livres do ataque de peixes e outros animais predadores. Neste trabalho, será feita uma abordagem da Família das Ephydriidae, segundo trabalhos de Mathis (1982), Wirth; Mathis e Vockeroth (1987), correspondente a apenas uma, das centenas de famílias de dípteros acaliptrados até presente data descritos, uma vez que apresenta relevância para esta pesquisa.

Na família Ephydriidae, o ciclo de vida ocorre seguindo as etapas: ovo, larva, pupa e adulto. Os ovos apresentam um comprimento que varia de 0,33 - 1,30mm e largura entre 0,14 - 0,49mm, possuindo assim uma forma ovóide elipsoidal e uma superfície achatada com extremidades bruscamente circulares. A coloração varia do branco ao acinzentado.

As larvas destes dípteros apresentam-se, na maioria das espécies, como aquáticas ou semi-aquáticas, alimentando-se por mastigação ou filtração de alimentos, outras são terrestre, apresentando um variado hábito alimentar. Algumas espécies são minadoras de plantas aquáticas, semi-aquáticas ou terrestres. Outras são parasitóides de ovos de aranhas (*Trimerina madizans*) e massas de ovos de rãs (*Gastrops*) ou apresentam hábito da saprofagia, alimentando-se em matérias em decomposição e fezes (*Hecamede* e *Allotrichoma*). O relativo isolamento e redução da competição interespecífica em tais habitats tem resultado na evolução de muitos gêneros e espécies distintas e especializadas.

A pupa é grosseiramente similar na forma ao terceiro instar larval, embora seja mais compacta. Apresenta, geralmente, uma coloração escurecida, podendo variar do amarelo-claro ao marron, além de uma consistência endurecida, onde características da larva em transformação são distinguíveis, tais como a região cefálica dorsal.

Os adultos apresentam um comprimento que varia de 1 a 11mm e uma coloração que varia de ofuscada a escura. Apresentando hábitos alimentares consideravelmente variados, muitas

espécies são micrófagas de algas microscópicas, dinoflagelados e outras formas unicelulares. Assim, temos adultos e larvas de *Ephydra buresi* Cresson e *Paracocenia bispinosa* (Coquillet) que se alimentam de bactérias e algas que crescem em efluentes de fontes de águas termais sulfurosas. Espécies do gênero *Ochthera* apresentam um comportamento predatório de larvas e pequenos insetos que são sobrepujados pelos mesmos. Espécies de muitos outros gêneros são polípagas, sendo que algumas espécies podem apresentar hábito de canibalismo ou alimentar-se de insetos mortos; outras espécies podem se alimentar de néctar ou epiderme foliar, além de apresentar um típico hábito micrófago.

2.8.3 Principais Grupos Bacteriplanctônicos em Lagoas de Estabilização

As bactérias apresentam-se como os principais organismos responsáveis pela estabilização da matéria orgânica, pois desempenham função chave na reciclagem dos elementos, sendo capazes de converter substâncias químicas em produtos utilizáveis pelos demais grupos, sendo desta forma, essenciais no tratamento biológico e na manutenção do equilíbrio interespecífico. (PELCZAR Jr. et al.,1997).

Apresentam-se como organismos unicelulares, isolados ou em agregados, com suas células diferenciadas por não apresentar um núcleo celular verdadeiro (procariontes). São organismos muito antigos, com mais de 100 milhões de anos, provavelmente os últimos sobreviventes de um mundo extinto de organismos. Embora existam milhares de espécies bacterianas, quando isoladas, apresentam-se sob três formas gerais: elipsoidal ou esférica, cilíndrica ou bastonete e espiralada ou helicoidal, ocorrendo espécies bastante distintas de formas iguais ou muito parecidas. Assim, apresentam características sistemáticas variadas, sendo as técnicas atuais de biologia celular e molecular, ferramenta indispensável nos estudos de classificação e taxonomia (ALBERTS, 2004).

Em sistemas de lagoas de estabilização, os grupos bacterianos presentes são os mesmos encontrados em outros sistemas de tratamento, uma vez que o processo de degradação microbiana da matéria orgânica é similar aos demais sistemas biológicos. Contudo, a concentração de bactérias heterotróficas em lagoas é muito menor, quando comparado com sistemas de lodos ativados, por exemplo, o que torna necessário maior volume e maior TDH.

A principal via de estabilização da matéria orgânica (medida por DBO e DQO) em lagoas anaeróbias, bem como em lagoas facultativas, constitui-se da sedimentação seguida pela digestão anaeróbia. Na digestão anaeróbia, o primeiro passo realizado, envolve a hidrólise e solubilização das proteínas, gorduras e polissacarídeos através de enzimas lançadas ao meio por um grupo de bactérias fermentativas dentre as quais as do gênero *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Flavobacteriu* e *Bacillus*, capazes de hidrolisar a matéria orgânica a qual, posteriormente, serve também como substrato para os demais grupos bacterianos incapazes de hidrolisar o material polimérico inicial (PEARSON, 2005). Assim, uma grande variedade de microrganismos pode ser encontrada em lagoas de estabilização, porém, serão apenas descritas as características dos grupos de interesse direto para esta pesquisa, sendo eles os organismos do gênero *Pseudomonas* e do Filo Planctomycetes.

O gênero *Pseudomonas* se encontra no subgrupo das *Gamma* Proteobacteria, atualmente formada por aproximadamente 181 espécies e 11 subespécies. Apresentam-se como bastonetes Gram-negativos retos ou ligeiramente curvos, de tamanho médio com aproximadamente 1,5-5,0 x 0,5-1,0µm, sendo a maioria móvel, através de um ou vários flagelos polares. São heterotróficas, não necessitando de uma grande quantidade de nutrientes para sobreviver, uma vez que compreendem um táxon formado de organismos muito versáteis metabolicamente, capazes de utilizar uma grande variedade de compostos orgânicos simples ou complexos. Esta capacidade permite uma adaptação constante ao ambientes onde estão inseridas (GOLDBERG et al., 2008).

Encontrados disseminados nos mais variados habitats como água doce, marinha e no solo, muitas cepas têm atraído atenção especial devido a propriedades metabólicas específicas, tais como a degradação de compostos aromáticos, síntese de polihidroxicanoato e processos de desnitrificação (YAN et al., 2008).

Segundo Ward e colaboradores (2006), a ordem Planctomycetales compreende um grupo notável de bactérias que se apresentam como as únicas células bacterianas com ausência de peptidoglicano na parede celular. Formado por 4 gêneros principais *Pirellula*, *Planctomyces*, *Gemmata* e *Isosphaera*, diferem-se dos demais grupos por apresentar divisão por brotamento. Morfologicamente, os Planctomycetes possuem formato esférico à ovóide, com células apresentando pequenas depressões (poços) e alguns membros do grupo formando apêndices celulares podendo, em algumas espécies, formar agregados multicelulares (ou rosetas). Em

alguns grupos móveis, ocorre a formação de filamentos multicelulares, movimentando-se por deslizamento, enquanto outros grupos podem produzir flagelo.

Atualmente uma incomum descoberta de compartimentalização celular nos Planctomycetes constitui um desafio para o ponto de vista tradicional da dicotomia morfológica entre procarioto/eucarioto (LINDSAY et al., 2001; FUERST, 2004). Muitos trabalhos vêm demonstrando através da análise filogenética das cepas utilizando seqüências do 16S rDNA (FUERST et al., 1995; WARD et al., 1995; WANG et al., 2002) posições filogenética distintas entre as linhagens de Planctomycetes, indicando grande diversidade filogenética do grupo.

Através da aplicação de técnicas de biologia/ecologia molecular microbiana, tornou-se aparente que os Planctomycetes estão presentes em uma vasta gama de ambientes terrestres e aquáticos, apresentando grande diversidade fisiológica subjacente a esta ubiquidade geográfica ainda não totalmente explorada (WARD et al., 2006).

Planctomycetes foram primeiramente observados em ambientes de água doce, estando atualmente conhecidos por existirem em muitos outros habitats tais como ambiente marinho, solo e lodo de esgoto sendo tais observações imprescindíveis como registro de sua distribuição. Estudos da ocorrência do grupo em água doce relataram distribuição geográfica por diversos locais do mundo, existindo em ambientes caracterizados por todos os estados tróficos. Alguns relatórios sugerem que maior número de Planctomycetes são encontrados em amostras de ambientes classificados entre eutrófico e hipertrófico (ambientes altamente poluídos) tendo sido sugerido por Fuerst (1995) que este grupo é indicador ambiental para condições eutróficas. Altos valores de pH (entre 6,8 - 9,4), elevada condutividade e temperatura estão também associadas com o aumento no número de Planctomycetes.

2.9 A Biologia Molecular como Ferramenta de Caracterização Microbiológica

A introdução de técnicas de biologia molecular aplicadas à ecologia microbiana alterou primordialmente a compreensão da diversidade microbiana. Através destas técnicas, que se baseiam na especificidade das seqüências dos ácidos nucléicos (DNA ou RNA), muitos filotipos e divisões filogenéticas têm sido reformuladas e descritas (HUGENHOLTZ et al., 1998). A seguir, serão abordados alguns conceitos e as principais técnicas utilizadas neste estudo.

2.9.1 Estrutura do RNAr e Aplicação Taxonômica

Os ácidos nucleicos apresentam-se como moléculas de grande importância biológica, estando presentes em todos os seres vivos sob dois tipos: 1) ácido desoxirribonucleicos ou DNA e 2) ácido ribonucleico ou RNA. Durante a síntese protéica, que ocorre no interior das células, a informação genética encontra-se armazenada em seqüências nucleotídicas componentes das moléculas do DNA genômico.

O DNA constitui o depósito da informação genética que é copiada ou transcrita em moléculas de RNA mensageiro (RNAm), cujas seqüências de nucleotídeos contém o código (seqüência dos aminoácidos) posteriormente traduzido em proteínas. É por isso que a síntese protéica também é conhecida como tradução do RNA (ROBERTIS; HIB, 2006).

As estruturas no interior da célula onde se processa a tradução e síntese protéica, encontram-se combinadas com proteínas e outras moléculas de RNA (denominada RNA ribossomal ou RNAr) as quais constituem partículas densas, chamadas ribossomos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2005).

Existe nas células dois tipos de ribossomos que se distinguem pelos seus coeficientes de sedimentação (determinados na ultra-centrifugação) e expressos em unidades *Svedberg* (S). Ribossomos de células procariontes apresentam coeficiente de sedimentação de 70S e são menores que os ribossomos de células eucariontes, cujo coeficiente é de 80S. Ambos são formados por duas subunidades, com características funcionais e estruturais diferentes, assim como diferentes tamanhos (uma maior e outra menor), prendendo-se de modo irreversível no início da síntese da molécula protéica, separando-se quando a proteína está terminada. A subunidade maior das células procariontes possui dois tipos de RNA: um de 23S e outro de 5S, enquanto a subunidade menor apresenta apenas um tipo de RNA: 16S (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2005).

Segundo Abreu (2004), devido à importância da tradução do RNAm em proteínas ou ribossomos, é provável que a forma com que esse mecanismo aconteça tenha surgido uma única vez na evolução, sem ter sofrido mais alterações. Atualmente o RNAr e os seus genes correspondentes (DNAr) são muito utilizados como marcas biológicas da evolução. Assim, grande parte das seqüências de bases das unidades RNAr 5S, 16S e 23S podem ser consideradas conservadas, bem como os genes que as codificam.

De acordo com Junqueira e Carneiro (2005), devido ao seu tamanho conveniente, o RNAr 16S é o mais utilizado em estudos filogenético, uma vez que apresenta cerca de 1.500 bases de nucleotídeos, número este intermediário quando comparado com o 5S, que possui apenas 125 nucleotídeos (o que limita muito suas informações) e com o RNAr 23S, com 2.900 nucleotídeos (que é muito grande, tornando o estudo laborioso e mais difícil).

Portanto, a seqüência de gene RNAr 16S tem sido, atualmente, estudado e seqüenciado em milhares de bactérias, sendo utilizada no reconhecimento de células bacterianas, fornecendo o “*imprinting*” molecular de um determinado organismo. Além disso, torna-se possível fazer uma análise dos genes DNAr 16S de bactérias conhecidas, e através delas, analisar comparativamente amostras de espécies desconhecidas, a fim de determinar sua posição taxonômica, bem como atribuir um nome biológico próprio e válido.

Através do estudo das seqüências de nucleotídeos no RNA16S das células procariontes, novas árvores evolutivas foram construídas, dividindo os organismos em grupos diferentes das que aparecem nas classificações anteriores, baseados nos conceitos de que os organismos que se diversificaram mais cedo tiveram mais tempo para acumular modificações no seu RNAr e vice-versa (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2005).

Desta forma, a partir do conhecimento das seqüências do RNA 16S, os organismos, inicialmente divididos em Procariontes (anucleados) e Eucariontes (nucleados), passam a apresentar subdivisões, tais como os Procariontes, que foram divididos em dois grupos distintos denominados: Archaeobacteria e Eubacteria. Na medida em que novas observações e constatações foram sendo adquiridas, houve a reclassificação dos grupos em Eucarya (para os eucariontes) e Archea e Eubacteria (para os procariontes).

2.9.2 A técnica de Hibridização Fluorescente in situ - FISH

A aplicação da biologia molecular, através da técnica de FISH tem sido atualmente, considerada umas das mais importantes, simples e rápidas, aplicadas na caracterização da comunidade microbiológica em amostras ambientais de águas e solos, sendo utilizada também para sistemas de tratamento biológico (PERNTHALER, et al., 1998; BOUVIER; GIORGIO, 2003).

Baseia-se na observação de que existem seqüências conhecidas e tão específicas do RNAr de um organismo, que permite que se desenhe uma seqüência complementar (sonda) à primeira (AMANN, 1995). Estas sondas de oligonucleotídeos são seqüências sintetizadas *in vitro*, e normalmente possuem de 15 a 20 nucleotídeos, apresentando complementariedade com as regiões RNAr 16S do alvo, ou seja, das bactérias que se deseja detectar.

Ao penetrar nas células bacterianas fixadas, as sondas são capazes de formar ligações estáveis (Híbridos) via pontes de hidrogênio entre nucleotídeos complementares, com a região RNAr 16S nos ribossomos. Quando não há complementariedade entre a seqüência da sonda e a região RNAr 16S do ribossomo, não ocorre a hibridização e os oligonucleotídeos são lavados das células (AMANN; LUDWIG; SCHLEIFER, 1992).

Com o intuito de detectar a ocorrência da hibridização, são acopladas à sonda, moléculas marcadoras fluorescentes na extremidade 5'. Estes marcadores, também chamados fluorocromos, são comumente empregados à exemplo: fluoresceína (FLUOS), cianinas (Cy3, Cy5 e Cy7), tetrametilrodamina (AMANN,1995). Destes, devido à sua considerável estabilidade, o Cy3 tornou-se o marcador mais utilizado, melhorando a detecção da hibridização em amostras ambientais (GLOCKNER et al., 1996 apud BENTO, 2005). A visualização das células hibridizadas pode ser realizada através de microscopia de epifluorescência ou em microscopia confocal.

Geralmente utilizada para determinações qualitativas e quantitativas de microrganismos, esta técnica determina a abundância relativa de um grupo de bactérias de interesse em relação a todas as células, através da utilização de marcadores como o DAPI (4,6 diamidino – 2 – phenylindol) que se une ao DNA (possibilitando que sejam coradas todas as células), ou através da porcentagem do número de bactérias do domínio Bacteria, utilizando a sonda EUB (pois caso as células que não hibridizam com a sonda EUB, indicam condições metabólicas inativas ou não permeáveis aos nucleotídeos da sonda pelo procedimento padrão de fixação). A relação EUB/DAPI dá uma idéia aproximada da proporção de células bacterianas metabolicamente ativas, as células coradas apenas com DAPI podem estar mortas ou inativas (ETCHEBEHERE; MENES, 2005). A grande vantagem oferecida por esta análise é que não há necessidade de purificação prévia da amostra de lodo a ser investigada (JETTEN et al., 2005).

2.9.3 A Técnica de Reação em Cadeia da Polimerase - PCR

A técnica de PCR tem permitido grandes avanços em estudos de biologia molecular, particularmente para estudos de comunidades microbianas, por ser uma metodologia sensível, específica e de rápida execução (LEHNINGER; NELSON; COX, 2002).

Esta técnica baseia-se na replicação *in vitro* do DNA a partir de um DNA molde, sendo formados milhões de cópias de um determinado gene, ou de parte dele, em poucas horas. Desta forma, evita-se o uso de endonucleases de restrição, não necessita recorrer a uma genoteca nem mesmo da construção de moléculas de DNA recombinante (ALBERTS, 2006).

A PCR ocorre primeiramente com a extração do material genético da célula sem danificá-lo. Normalmente utilizado o DNA, este, é desnaturado (por aquecimento), sendo agregados ao meio dois tipos de oligonucleotídeos (primers), complementares às seqüências das extremidades do segmento de DNA que se deseja amplificar. Os primers (ou iniciadores) são seqüências curtas de DNA (aproximadamente 20 nucleotídeos) que se unem (hibridizam-se) ao DNA molde e permitem a união de uma enzima DNA polimerase especial (Taq polimerase), resistente à elevadas temperaturas, para iniciar a polimerização. Juntamente com a enzima são agregados ao meio quantidades suficientes dos quatro desoxirribonucleosídeos trifosfato componentes do DNA (dNTPs) (ROBERTIS; HIB, 2006). Assim, selecionando-se apropriadamente os primers, amplifica-se um determinado gene.

Após formado o meio reacional, contendo DNA e a mistura pré-mix (dNTPs, primers, enzima Taq polimerase e solução tampão), a mistura é colocada no termociclador, aparelho este, que faz ciclos de temperaturas preestabelecidas em tempos exatos. Normalmente são realizados de 25 a 30 ciclos para cada reação sendo o total de células replicadas exponencial - 2^n de ciclos (SAIKI et al., 1988).

A análise dos produtos de PCR normalmente é feita por eletroforese em gel, baseada na mobilidade de fragmentos de DNA parcialmente desnaturados, com igual longitude, porém seqüências diferentes, permitindo assim a obtenção de um padrão de bandas reflexo da presença ou não do organismo alvo na comunidade microbiana (ETCHEBEHERE; MENES, 2005). Para a visualização dos produtos formados (radiação UV) utiliza-se, comumente, revelação em brometo de etídeo.

3. METODOLOGIA

3.1. Origem e Características do Lixiviado

O lixiviado bruto utilizado na alimentação do sistema estudado provinha do aterro sanitário de Biguaçu, situado no Km 177 da BR 101 na localidade de Areias de Cima – Biguaçu/SC (27°21'42 S – 48°38'24 O), onde é operado e administrado pela empresa Proactiva Meio Ambiente Brasil Ltda (Figura 1). Este aterro teve início de suas atividades em 1991 e atualmente recebe resíduos de 37 municípios catarinenses totalizando uma média de 14mil ton/mês de lixo (FINKLER, 2002).



Figura 1: Vista aérea do aterro sanitário de Biguaçu/SC.

Possui uma área de 624.296,42 m² utilizada como destino final de resíduos sólidos urbanos, resíduos sólidos da saúde e inertes. Diariamente, são depositados (com base na baixa temporada) 600 toneladas de resíduos. Estes são dispostos em células com 3 a 4 metros de altura e cobertos com terra. Os resíduos de serviços de saúde e inertes são tratados de forma diferenciada dos

demais, sendo colocados em áreas isoladas utilizando métodos de co-disposição em valas sépticas.

Após a drenagem dos líquidos percolados, estes são conduzidos até um poço de equalização, com função apenas de equalizar a vazão e a carga orgânica do lixiviado, que passará pelo processo de tratamento no próprio aterro, antes de ser lançado no corpo receptor. A figura 2 apresenta o poço de captação do lixiviado gerado no aterro.

O lixiviado bruto utilizado neste estudo foi, portanto, retirado do tanque de equalização do aterro sanitário, e transportado, ao Laboratório Experimental de Resíduos Sólidos, por um caminhão-tanque, onde era armazenado em reservatórios de fibra de vidro com capacidade de 5.000 litros, conforme apresentado na Figura 3. Os reservatórios foram providos de tampas para garantir que seu interior permanecesse sem qualquer iluminação, até o seu término. Este lixiviado foi utilizado para alimentar o sistema de lagoas com vazão conhecidas. Ao término do lixiviado armazenado, era realizada uma nova coleta e transporte. Na Tabela 3 são apresentadas as principais características físico-químicas do lixiviado do aterro sanitário de Biguaçu.



Figura 2: Poço de captação de lixiviado do aterro sanitário de Biguaçu.
Fonte: ABES – SC, 2006.



Figura 3: Reservatório de fibra de vidro utilizada para armazenamento do lixiviado bruto.

Tabela 3: Principais características físicas e químicas do lixiviado do aterro sanitário de Biguaçu (SC).

Parâmetros	Média ± Desvio Padrão
T (°C)	26 ± 3
pH	8.8 ± 0.2
Condutividade (mS/cm)	19 ± 2
Potencial Redox (mV)	-313 ± 42
DQO (mg/L)	3200 ± 739
DBO ₅ (mg/L)	1268 ± 607
N-NH ₄ (mg/L)	1145 ± 234
Sólidos Suspensos (mg/L)	440 ± 178

Fonte: Silva, (2007).

3.2. Unidade Experimental

3.2.1 Localização

O sistema de tratamento utilizado para a realização deste estudo foi instalado no setor experimental do Laboratório de Efluentes Líquidos e Gasoso (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).

3.2.2 Descrição do Sistema de Tratamento

O sistema de tratamento monitorado consiste em um sistema piloto de lagoas de estabilização formado por três lagoas em série, sendo a primeira com características anaeróbias (L1) seguida de lagoa com características facultativa (L2), e uma terceira com características de maturação (L3). Este sistema biológico é parte integrante de uma estação construída, para tratamento de lixiviado, composto por tratamento biológico (série de lagoas) e polimento do efluente final (filtro de pedras). Na Figura 4 apresentam-se os componentes do sistema de tratamento, e na Figura 5, tem-se em detalhe o sistema de lagoas estudado.

A lagoa de estabilização anaeróbia (L1) apresenta formato cilíndrico, feita à base de fibra de vidro, de cor azul claro, com reforço nas suas laterais e dreno para limpeza próximo à base. As lagoas de estabilização aeróbias (L2 e L3) são retangulares e feitas de mesmo material. Estas unidades, estão conectadas entre si por meio de tubulações de PVC (localizadas à 20 cm do fundo) com 50mm de diâmetro, contando ainda com registros para controle do fluxo entre elas, permitindo sua manutenção, sem que haja qualquer interferência. Na Tabela 4 encontram-se as dimensões e características físicas das lagoas componentes do sistema de tratamento. A vazão de alimentação do sistema foi de 200L/d ao longo de todo o período estudado.

Tabela 4: Características físicas das lagoas do sistema de tratamento em escala piloto.

Dimensões	Lagoa 1 (L1)	Lagoa 2 (L2)	Lagoa 3 (L3)
Comprimento (m)	-	4,35	4,35
Largura (m)	-	2,40	2,40
Diâmetro	2,5	-	-
Profundidade (m)	2,0	0,80	0,60
Volume (m ³)	5,0	8,35	6,25
TRH (dias)	25	42	31



Figura 4: Sistema de tratamento biológico e polimento final para tratamento de lixiviado. A) tanque de equalização (efluente bruto); B, C e D) sistema de lagoas e E) filtro de pedras para polimento do efluente final.



Figura 5: Lagoas de estabilização piloto para tratamento biológico.

Na L2 foi também instalado um sistema de aeração formado por tubulações, localizado na base da lagoa, e alimentação de ar através de compressor, com capacidade de aspiração (injeção) de 77,5 litros de ar por minuto, e potência de 372,5 W.

É importante ressaltar que este sistema de aeração foi ativado após 1 ano de funcionamento do sistema piloto (sem aeração). A atividade do aerador visava avaliar o comportamento da lagoa e, conseqüentemente do sistema, quando a demanda de oxigênio da lagoa, nos períodos noturnos, fosse artificialmente atendida. Na Figura 6 apresenta-se a L2 no período com o aerador desligado, e na Figura 7 tem-se uma visão da lagoa com o aerador ligado.



Figura 6: Lagoa 2 com aeração desligada.



Figura 7: Lagoa 2 com aeração ligada.

3.2.3 Pontos Amostrais

Para controlar a qualidade do efluente ao longo do sistema, foram selecionados pontos amostrais em cada lagoa, a fim de possibilitar uma caracterização dos perfis vertical e horizontal das unidades. Assim, na lagoa anaeróbia (L1) foi definido um ponto central, com coletas em duas diferentes profundidades (0,1m e 0,7m). Nas lagoas aeróbias L2 e L3 foram selecionados 9 pontos amostrais (nomeados de A até I). Em cada ponto foram coletadas amostras em três diferentes profundidades sendo para a L2 as profundidades 0,1m, 0,4m e 0,7m e para a L3 as

profundidades 0,1m, 0,3m e 0,5m. Nas Figuras 8 e 9 estão representados os pontos verticais e horizontais acima descritos.

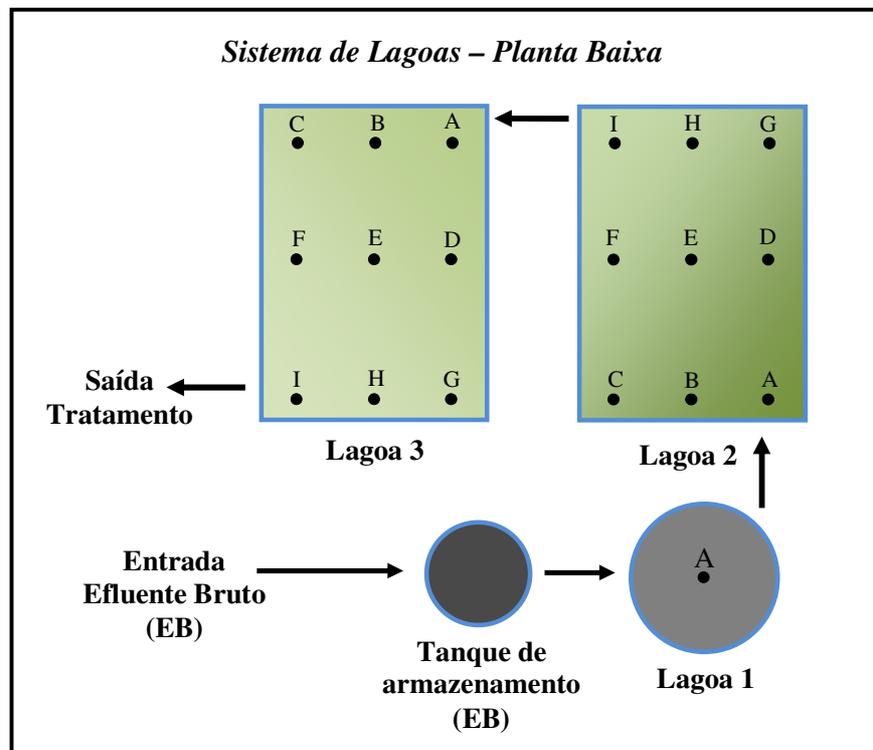


Figura 8: Esquema representativo do sistema em planta baixa demonstrando a localização dos pontos de coleta. Para a lagoa 1 observa-se o ponto central (A), e para as lagoas 2 e 3, são apresentados os 9 pontos (A até I).

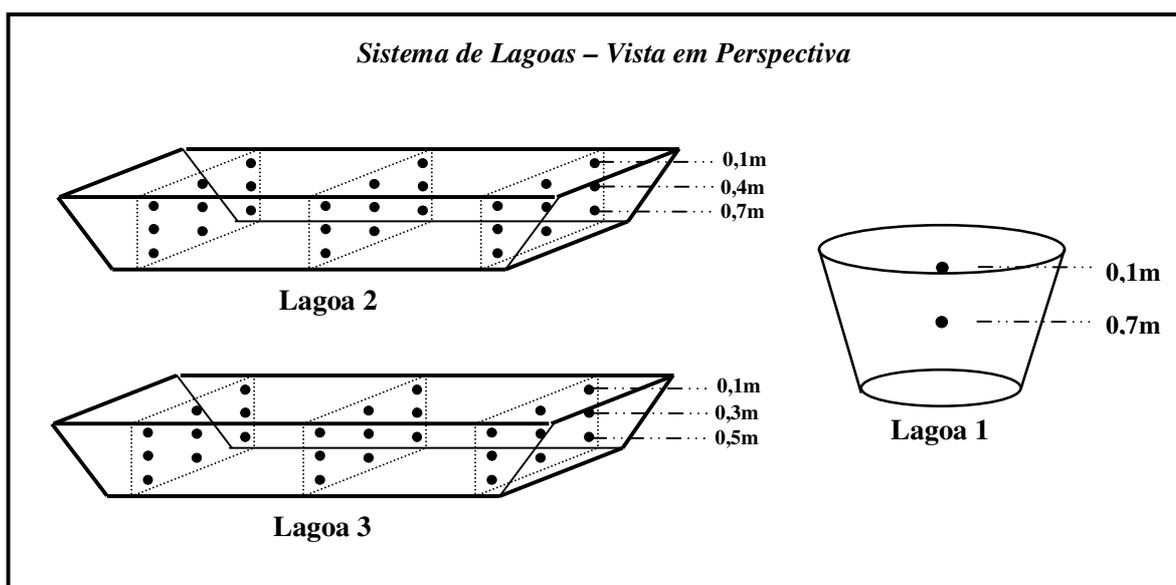


Figura 9: Esquema representativo da vista em perspectiva do sistema de lagoas e os diferentes níveis de coleta. Para a lagoa 1 a figura representa o ponto central nas duas profundidades. Para as lagoas 2 e 3 a figura representa os 9 pontos (A até I) de coleta nas três profundidades.

3.3 Monitoramento

O monitoramento do sistema de lagoas (L1, L2 e L3) foi realizado no período entre agosto de 2007 a maio de 2008 (etapa I - sem aeração em L2), a fim de verificar a dinâmica dos parâmetros avaliados nas lagoas, nas mais variadas situações do tratamento, nos diversos pontos amostrais definidos.

O estudo da variação sazonal das três lagoas foi efetuado para amostras coletadas na L1, no ponto central nas duas profundidades definidas, e para L2 e L3, nos pontos A (entrada), E (meio) e I (saída) nas três diferentes profundidades (figura 8). Esta avaliação foi realizada semanalmente no horário das 14 horas, a fim de acompanhar o processo de tratamento ao longo do período de monitoramento.

Para contemplar as variações ao longo do dia foram realizadas amostragens, em diferentes horários, sendo estes 10, 14 e 18 horas. Estas coletas foram realizadas semanalmente no ponto central (E), nas três profundidades, das lagoas de ocorrência algal, a partir de fevereiro de 2008 até maio do mesmo ano.

Para a avaliação do perfil tridimensional, abrangendo todo o volume das lagoas, foram feitas três coletas distribuídas através dos pontos amostrais determinados, de A até I, nas três profundidades (figura 9). Estas coletas foram realizadas às 14 horas, nos meses de dezembro de 2007, fevereiro e abril de 2008, a fim de caracterizar o perfil tridimensional em diferentes estações do ano.

Após este período, foi iniciado o monitoramento do sistema com aeração artificial em L2 (etapa II – aeração noturna, durante 12 horas), correspondente aos meses de agosto a outubro de 2008. Nessa fase, o sistema foi monitorado nas lagoas de ocorrência algal, seguindo-se a variação ao longo do dia, no ponto E, nas três profundidades e nos horários de 10, 14 e 18 horas.

Na Tabela 5, apresenta-se uma síntese dos perfis de monitoramento realizados, bem como os meses correspondentes a cada etapa.

Tabela 5: Monitoramento realizado de acordo com a variação dos pontos amostrais e das etapas do sistema.

Etapas	Varição Sazonal (Pontos A, E e I)	Varição ao longo do dia (Ponto E)	Perfil Tridimensional (Pontos A até I)
I (Sistema sem aeração na L2)	Agosto/2007 até Maio/2008	Fevereiro/2008 até Maio/2008	*Dezembro/2007 *Fevereiro/2008 *Abril/2008
II (Sistema com aeração na L2)	---	Agosto/2008 até Outubro/2008	---

*Uma coleta para cada mês (referentes às estações de Primavera, Verão e Outono).

Para a realização das coletas, foi utilizada uma pipeta “adaptada” de 100 mL, graduada, em cada ponto e nas profundidades pré-determinadas para cada unidade. As amostras foram, posteriormente, vertidas em frascos plásticos e em frascos de vidro âmbar, para então proceder-se às metodologias subsequentes de análise.

3.4 Variáveis Físicas, Químicas e Biológicas Avaliadas

Foram determinadas as seguintes variáveis físico- químicas: OD (oxigênio dissolvido) em mg/L; temperatura (°C); pH; ORP (potencial redox) em mV, condutividade (mS/cm), clorofila *a* (µg/L), sólidos suspensos, DQO (Demanda Química de Oxigênio), DBO₅ (Demanda Bioquímica de Oxigênio) e amônia em mg/L. As variáveis OD, pH, ORP, condutividade e temperatura foram medidas, *in situ*, através de uma sonda multiparâmetros (YSI-6600) em cada ponto determinado.

Para a variável biológica Clorofila *a* (µg/L) foi utilizada metodologia descrita por Nush (1980). As análises dos sólidos suspensos (mg/L), DBO₅ (mg/L), DQO (mg/L) e amônia (mg/L) foram realizadas de acordo com APHA (2005). As variáveis acima citadas foram analisadas no Laboratório Integrado do Meio Ambiente (LIMA) situado no Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da UFSC. As metodologias empregadas estão apresentadas no Anexo 1. Na tabela 6 são apresentadas todas as variáveis monitoradas e seu respectivo método de análise.

Tabela 6: Variáveis monitoradas e a metodologia utilizada.

Variável	Método
Temperatura (° C); pH; Potencial Redox (mV); Condutividade (mS/cm) OD (mg/L)	Sonda multiparâmetros (YSI 6600 V2)
Sólidos Suspensos (mg/L)	Gravimétrico após filtração em membrana de acetato de celulose 0,45µm
Clorofila <i>a</i> (µg/L)	Extração em álcool etílico Colorimétrico - Refluxo Fechado
DQO Total e Filtrada (mg/L)	Filtrada: filtração prévia em papel filtro (14µm) - Digestor BOD - HACH® modelo DR-4000 SM 5220 D
DBO ₅ (mg/L)	Manométrico Medidor de Bancada - DBO - HACH® modelo DR-4000 SM 5220 D
Amônia (mg/L)	Destilação Kjeldahl Destilador Semi-automático UDK 132 , VELP Científica

3.5 Análises Microbiológicas

As análises microscópicas e de biologia molecular, foram realizadas no Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular de Microrganismos (LBBMM) do Departamento de Bioquímica, da UFSC.

3.5.1 Identificação fitoplanctônica e zooplanctônica

Para a identificação do fitoplâncton, foram utilizadas chaves de classificação de Bicudo e Menezes (2005) e Bourrely (1972), procedendo-se até o nível mínimo de gênero. Para a identificação zooplanctônica, foi utilizada literatura especializada de Sleigh (1989) e Corliss (1979).

As análises foram realizadas através de microscopia óptica binocular (microscópio Olympus modelo BX-41) e em microscópio invertido (Bioval modelo XDS-1) com as amostras frescas e/ou preservadas em refrigerador. As amostras foram analisadas, fotografadas ou desenhadas, a

fim de identificar estruturas peculiares a cada organismo. Este procedimento repetiu-se para cada gênero encontrado, até que o número de organismos não identificados na amostra fosse nulo.

Para a análise quantitativa, as amostras foram preservadas com solução de lugol acético (1:100) e mantidas em ambiente com iluminação reduzida e baixa temperatura, conforme descrito por Bicudo e Bicudo (1970). A contagem foi realizada em Câmara de Sedgewick-Rafter (50mm x 20mm x 1mm) para um volume de 1mL utilizando-se microscópio óptico com aumento de 200X. As observações foram realizadas para todas as amostras coletadas, com o intuito de detectar possíveis impactos ou variações na cadeia trófica no decorrer do sistema de tratamento.

3.5.2 “Hibridização Fluorescente in situ” - FISH

A técnica de FISH foi realizada, conforme descrito por Amann (1995). Resumidamente, a metodologia empregada pode ser dividida em sete (7) principais etapas: 1) Coleta, fixação das amostras com paraformaldeído (PFA) 4% e conservação das amostras em congelador (-20°C); 2) Imobilização e desidratação das células sobre a lâmina; 3) Hibridização das células com oligonucleotídeos fluorescentes (sondas); 4) Lavagem das lâminas para otimização da estringência; 5) Coloração das células com DAPI; 6) Adição de anti “fading” (CitiFluor) sobre a amostra recém preparada (para evitar a perda da fluorescência) e cobertura da lâmina com lamínula; 7) Observação em microscópio epifluorescente. No anexo 2 está apresentado um esquema simplificado das etapas de hibridização, bem como uma tabela detalhada com as sondas, especificidade e sequencias específicas, utilizadas nos processos de hibridização.

A ligação da sonda (ligadas a fluorocromo do tipo Cy3) com a sequencia complementar no rRNA foi detectada por microscopia de epifluorescência (microscópio Olympus modelo BX-41) e na estimativa de abundância de células hibridizadas, foi feita a escolha aleatória de 10 campos microscópicos, em aumento de 1000X. Assim, foram consideradas as células coradas com DAPI como sendo 100% do total de indivíduos.

3.5.3 Extração de DNA

O material genético foi extraído utilizando-se o método de choque-térmico descrito por Leão e colaboradores (1999), adicionando-se 400µL de TE/TRITON 1% (10mM de Tris-EDTA pH 8, 1% de TRITON 100X) à amostra e seguindo três ciclos (10 minutos cada) alternados de fervura e congelamento.

3.5.4 “Reação em Cadeia da Polimerase” - PCR

A execução da técnica de PCR foi baseada em Penton e colaboradores (2006) utilizando-se 10pmol de cada iniciador (436F 5' – GAGCGGTGAAATGCG – 3' e 436R 5' – GGGTTTCGCTCGTTA – 3') os quais amplificam o fragmento compreendido entre os nucleotídeos 677-1112 da região 16S-rDNA, 2.5U de *Taq* Polimerase (Invitrogen[®]), tampão 10X (Invitrogen[®]), 2mM de Cloreto de Magnésio (MgCl₂) (Invitrogen[®]), 200µM de desoxiribonucleotídeos trifosfatos (Invitrogen[®]), 3ng do DNA a ser testado e água ultrapura completando um volume final de 25µL. As reações de amplificação foram executadas em termociclador (Mastercycler Eppendorf) sob as seguintes condições: 95°C por 3 minutos; 30 ciclos (desnaturação a 95°C por 45 segundos, anelamento a 60°C por 1 minuto, extensão a 72°C por 1 minuto) e extensão final a 72°C por 7 minutos.

A análise dos produtos amplificados foi feita por eletroforese em gel de agarose 1% (Invitrogen) corado com brometo de etídio (0.5µg/mL) (Sigma[®]) em tampão TBE 0,5X pH 8.4 (89 mM Tris; 89 mM ácido bórico; 2 mM EDTA) e visualizados sob luz UV. O tamanho dos fragmentos amplificados foi determinado por comparação com o marcador molecular 100pb (Cenbiot[®]).

3.5.5 Seqüenciamento e análise filogenética

O material amplificado foi seqüenciado através da metodologia de Terminação da Cadeia utilizando-se kit comercial (DYEanamic ET terminators sequencing kit - GE healthcare, Giles, United Kingdom) segundo orientações do fabricante. O seqüenciamento foi realizado utilizando-se um seqüenciador automático tipo ABI3130 (Applied Biosystems). As seqüências obtidas foram analisadas através dos *softwares*: Vector NTI 10.0, AlingX e ContingExpress (InforMax, Inc.). Após alinhados a análise filogenética foi realizada utilizando-se o programa BioEdit Versão

7.0.5 (HALL, 1999), através da execução do ClustalW, versão 1.83 (THOMPSON; HIGGINS; GIBSON, 1994). As seqüências foram comparadas a seqüências depositadas em bancos de dados de domínio público (Genbank, NCBI). As análises comparativas foram executadas através da utilização de *softwares* (BLAST, ClustalW, MEGA 4.0.2).

3.6 Tratamento dos Dados

Para a realização deste estudo, o software STATISTICA® 6.0 (STATSOFT, Inc., 2001), foi utilizado para descrever, analisar e interpretar os dados numéricos das amostras coletadas ao longo do monitoramento. O STATISTICA® 6.0, segundo Ogliari e Andrade (2004) é um programa integrado para gerenciar a análise estatística e base de dados, caracterizando uma ampla seleção do processo analítico para as mais diversas áreas, permitindo a realização da “Data Mining” (Mineração de Dados).

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). Valores de máximo e mínimo foram também apresentados como um complemento da análise, possibilitando um olhar geral da variabilidade dos dados coletados. Na análise exploratória, o diagrama de caixa (*box-plot*) com valores de medianas e quartis, foi utilizado, quando objetivando comparar a distribuição de dados, de dois ou mais grupos.

A fim de verificar diferenças significativas entre a concentração das principais variáveis ao longo das profundidades das lagoas, utilizou-se a análise de variância (ANOVA). Conforme Ogliari e Andrade (2004), o ANOVA é um teste de hipóteses que fornece a probabilidade dos grupos (tratamentos) terem respostas médias iguais ou diferentes, partindo-se do princípio de que existam duas hipóteses: H_0 - as médias são iguais, não há diferença entre os tratamentos; H_1 - as médias são diferentes, há diferença entre os tratamentos. Assim, o teste objetiva determinar a probabilidade (p) que permite aceitar ou rejeitar H_0 . Quando $p > \alpha$, aceita-se H_0 e quando $p < \alpha$, rejeita-se H_0 .

Nas análises realizadas, utilizou-se para o nível de significância o valor de 5%, ou seja, $\alpha=0,05$, Havendo diferenças entre os tratamentos procede-se a análise com um teste de comparações

múltiplas de médias. Neste estudo, utilizou-se o teste de Tukey como comparativo entre valores médios, nas diferentes profundidades e condições das lagoas.

A análise da variação vertical e horizontal das lagoas foi realizada através do programa gráfico SURFER[®] 8.0 (GOLDEN SOFTWARE, Inc., 2002), que permite calcular e confeccionar mapas de variáveis, a partir de dados regularmente distribuídos.

Para utilizar o SURFER[®], é indispensável que os pontos de amostragem sejam coletados regularmente, isto é, bem demarcados e espaçados, pois, é a partir dessas coordenadas (localização geográfica e identificação) e dos valores assumidos pela variável neste ponto, que obtêm-se o mapa de distribuição espacial, utilizando um algoritmo de interpolação.

Através da interpolação, torna-se possível estimar o valor da variável sob estudo, em um ponto não amostrado, sendo esta estimativa feita por vários métodos. Dentre eles, o mais simples é a média aritmética entre os valores dos pontos já conhecidos, existindo ainda vários outros métodos de interpolação, adequado à diferentes áreas de interesse ou à variável em questão. Para a escolha do método, é necessário que seja avaliado o grau de fidelidade aos dados originais, suavidade das curvas, velocidade de computação e precisão geral.

A performance das lagoas foi também avaliada através da Análise de Componentes Principais (ACP) a qual, segundo Johnson e Wichern (2005), apresenta como uma forma objetiva de interpretar um conjunto de dados, através da redução da sua dimensionalidade. Esta redução ocorre quando são feitas combinações lineares entre as variáveis, gerando outro conjunto de variáveis, com novas coordenadas. De acordo com Schmitt (2005), as componentes principais representam, geometricamente, um novo sistema de coordenadas, obtidas por uma rotação do sistema original, que fornece as direções de máxima variabilidade e possibilitando uma descrição mais simples e eficiente de covariância dos dados.

Os coeficientes de correlação entre as variáveis e os fatores artificiais permitem interpretar os dados uma vez que as variáveis de maior influência no processo apresentam os mais altos coeficientes de correlação com os fatores artificiais. Os coeficientes de correlação também apresentam as coordenadas das variáveis no espaço multidimensional definido pelos fatores artificiais (diagramas de dispersão), constituindo os eixos que os definem (ordenadas e abscissas) (ZANOTELLI et al., 2003).

Assim, as variáveis possuem correlação forte e negativa (ângulo dos vetores próximo a 180 graus) quando presentes em quadrantes contrários, nos diagramas de dispersão; e possuem correlação forte e positiva quando presentes no mesmo quadrante ou 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 e também para interpretar a variância causada por estas variáveis. Desta forma, foram utilizadas 10 variáveis para a L1 e 11 variáveis para L2 e L3, as quais foram correlacionadas, permitindo uma visão geral do seu comportamento ao longo do sistema.

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. Assim, foram retidos os fatores que resultassem na condição acima citada.

A quantificação da biomassa planctônica foi realizada através dos cálculos da densidade relativa e riqueza de espécies, de acordo com Odum (1983), conforme apresentado na Equação 1:

$$\mathbf{Dr} = \mathbf{Na} / \mathbf{N} * \mathbf{100\%} \quad (\text{Equação 1})$$

Onde:

Dr = densidade relativa;

Na = número de indivíduos da espécie presentes na amostra;

N = número total de indivíduos.

A riqueza de espécies (S) ou diversidade da população corresponde ao número de unidades taxonômicas recolhidas a cada amostra.

A frequência da biomassa algal, foi calculada utilizando a equação 2:

$$\mathbf{F \%} = (\mathbf{n}' / \mathbf{N}') * \mathbf{100} \quad (\text{Equação 2})$$

A produtividade da biomassa algal foi calculada utilizando-se o modelo desenvolvido por Oswald (1988) apresentado na equação 3:

$$\mathbf{Pr} = \mathbf{d} * \mathbf{C/\phi} \quad (\text{Equação 3})$$

Onde:

Pr = produtividade da biomassa algal ($\text{gSS}/\text{m}^2/\text{dia}$);

d = profundidade da lagoa (m);

C = concentração algal, medida pelos SS (mg/L);

\emptyset = tempo de residência (dias).

A produtividade da biomassa algal (Pr) corresponde a produção fotossintética aproximada já que há fatores que interferem como: predação por zooplâncton, morte celular (provavelmente o mais significativo) e a variação do conteúdo de clorofila a nas células.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Etapa I – Variáveis Físico-Químicas

4.1.1 Variáveis Indicadoras de Matéria Orgânica nas Lagoas

As variáveis DQO total, DQO filtrada, DBO e amônia (N-NH₃) foram monitoradas no efluente bruto e nos pontos de saída de L1, L2 e L3. Na Tabela 7, encontram-se os valores médios, desvio padrão, mínimos e máximos obtidos durante o período de monitoramento para estes parâmetros nas lagoas.

Tabela 7: Valores médios obtidos na saída das lagoas 1, 2 e 3 para as variáveis DQO, DBO e N-NH₃. Os resultados estão expressos como média ± desvio padrão e valores mínimos máximos.

VARIÁVEIS	Etapa 1 (n = 20)		Média ± Desvio Padrão (mínimo-máximo)		Eficiência (%)
	Bruto	Lagoa1	Lagoa2	Lagoa3	
DQO total (mg/L)	3188 ± 930 (1957-5077)	2529 ± 603 (1489-3662)	1315 ± 594 (541-2459)	1388 ± 527 (495-2659)	57
DQO filtrada (mg/L)	2635 ± 817 (1060-4380)	2136 ± 589 (1240-3171)	1212 ± 715 (337-2470)	1221 ± 592 (477-2303)	54
DBO (mg/L)	1315 ± 510 (210-2510)	820 ± 300 (370-1500)	254 ± 163 (46-730)	221 ± 144 (114-410)	83
N-NH ₃ (mg/L)	918 ± 213 (207-1277)	920 ± 94 (767-1187)	238 ± 143 (56-666)	165 ± 83 (56-358)	82

Observa-se, pela análise dos dados, que houve redução das variáveis, quando comparados L1 e L2, assim como a similaridade dos valores médios do efluente de L2 e L3. Dentre estas variáveis, houve grande eficiência na remoção de N-NH₃ e de DBO (82% e 83%, respectivamente) porém, ao final do tratamento os valores ainda mantêm-se elevados, impossibilitando a descarga ambiental do efluente, segundo a Resolução CONAMA 357/05.

Como já esperado para o tratamento aeróbio, a redução das variáveis citadas foram mais acentuada de L1 para L2, mantendo-se estável de L2 para L3. Para a DQO, o sistema de lagoas efetuou remoção desta variável de 54% (DQO solúvel) e 57% (DQO Total).

Na Figura 10, são apresentados gráficos (diagramas de caixa), agrupados por lagoas, apresentando os valores das medianas, quartis (25-75%) e *outliers*, para cada variável ao longo do período de monitoramento.

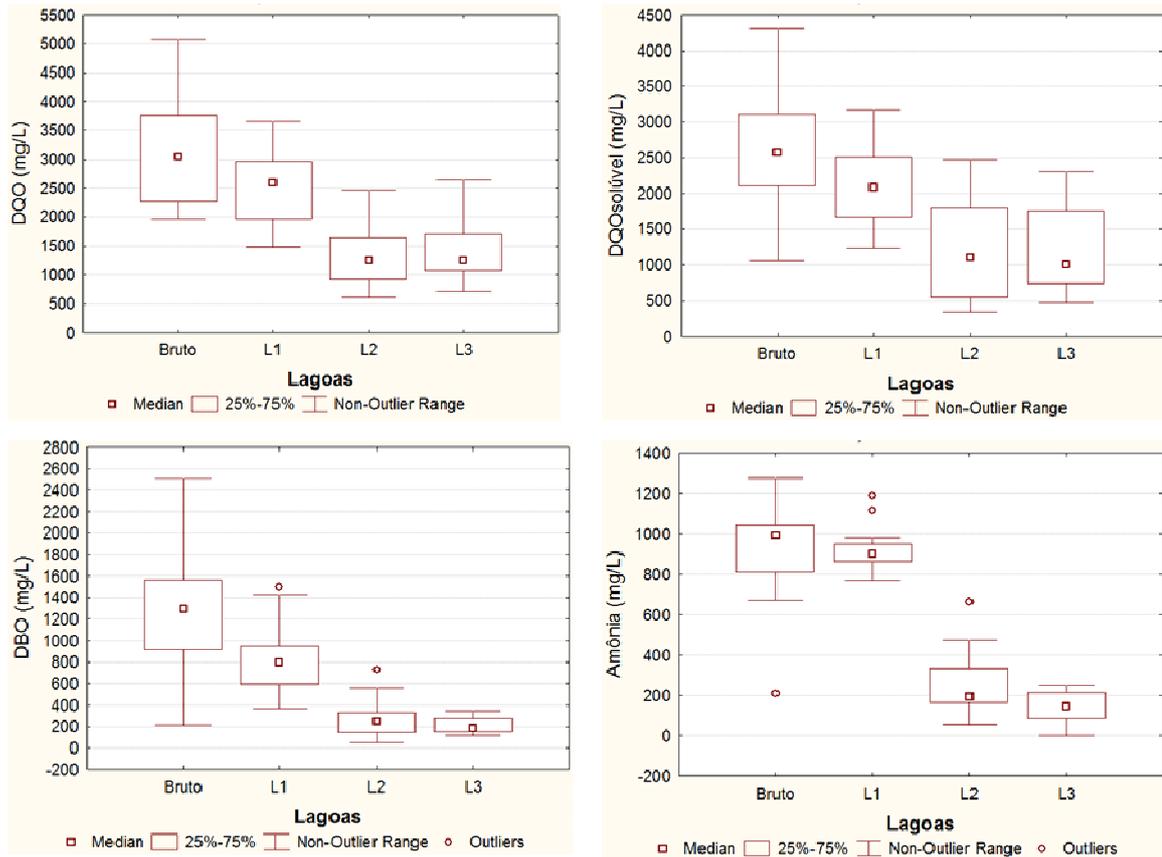


Figura 10: Valores de DQO, DQO solúvel, DBO e Amônia no efluente bruto e no sistema de lagoas ao longo do monitoramento.

Na avaliação do afluente bruto, percebe-se que o sistema recebe uma alta carga orgânica e amoniacal com valores de DQO entre 2000 e 5000mg/L e amônia entre 650 e 1300mg/L. Quando analisadas as variáveis em L1, observa-se uma remoção, porém baixa, principalmente para a amônia. Tal fato deve-se, por esta unidade funcionar sobre condições de anaerobiose, dificultando a volatilização desta. No entanto, quando analisado o efluente de L2, este, representa a unidade de melhor remoção destas variáveis, com o efluente melhor estabilizado. Contudo, em L3, o efluente apresenta uma minimização na remoção de todas as variáveis, mostrando-se com medianas muito próximas às encontradas em L2. Isto demonstra a capacidade da L2 de remover alta carga orgânica provinda da L1, assim como uma considerável estabilização na remoção dos

parâmetros ao atingirem a L3, a qual foi concebida, para a remoção complementar da matéria orgânica e amoniacal remanescente da L2.

4.1.2 Variação Sazonal das Variáveis Físico- Químicas - Lagoa 1

O modelo estatístico ANOVA foi aplicado nos dados obtidos no período de monitoramento, a fim de verificar diferenças significativas entre as profundidades amostrais (0,1m e 0,7m) ao longo das estações de monitoramento. Verificou-se, no entanto, ao nível de significância de 0,05 (5%), que a maioria das variáveis não apresentou diferenças significativas entre as médias, de acordo com as profundidades. O teste de Tukey foi então utilizado como comparativo dos valores médios das profundidades amostrais da coluna d'água para cada estação do ano, uma vez que é capaz de organizar as médias gerando agrupamentos representados pelas letras a elas atribuídas. Os resultados da aplicação do teste entre as profundidades estão apresentados na Tabela 8, sendo que valores de mesma letra representam médias sem diferenças estatísticas significativas.

Tabela 8: Comportamento das variáveis físico-químicas ao longo das estações do ano, na L1 (Comparação de Médias – Teste de Tukey).

Profundidade (cm)	Valores médios ao longo do monitoramento - PRIMAVERA (n=3)					
	SST (mg/L)	Temp (°C)	pH	Cond (mS/cm)	ORP (mV)	OD (mg/L)
10	296,66 a	24,64 a	9,09 a	19,320 a	- 336 a	0,66 a
70	303,33 a	24,37 a	9,07 a	19,239 a	- 364 b	0,45 a
Valores médios ao longo do monitoramento - VERÃO (n=9)						
10	364,44 a	29,52 a	9,12 a	18,363 a	-295 a	0,61 a
70	398,88 a	28,52 a	9,11 a	18,411 a	-300 a	0,63 a
Valores médios ao longo do monitoramento - OUTONO (n=8)						
10	323,75 a	24,80 a	9,22 a	16,666 a	-290 a	0,82 a
70	326,25 a	23,80 a	9,23 a	16,636 a	-310 a	0,48 b

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

Pela Tabela 8 pode-se concluir que não houve diferença estatisticamente relevante entre as profundidades amostrais ao longo das estações do ano na maioria das variáveis monitoradas. Resultados de significância estatística foram encontrados apenas para o parâmetro OD, na estação de outono e de ORP na primavera.

Desta forma, os dados de ambas as profundidades foram agrupados para elaboração dos gráficos (Figura 11), os quais se apresentam como diagramas de caixa, com os valores das medianas, quartis (25-75%) e *outliers*, agrupados por estação do ano.

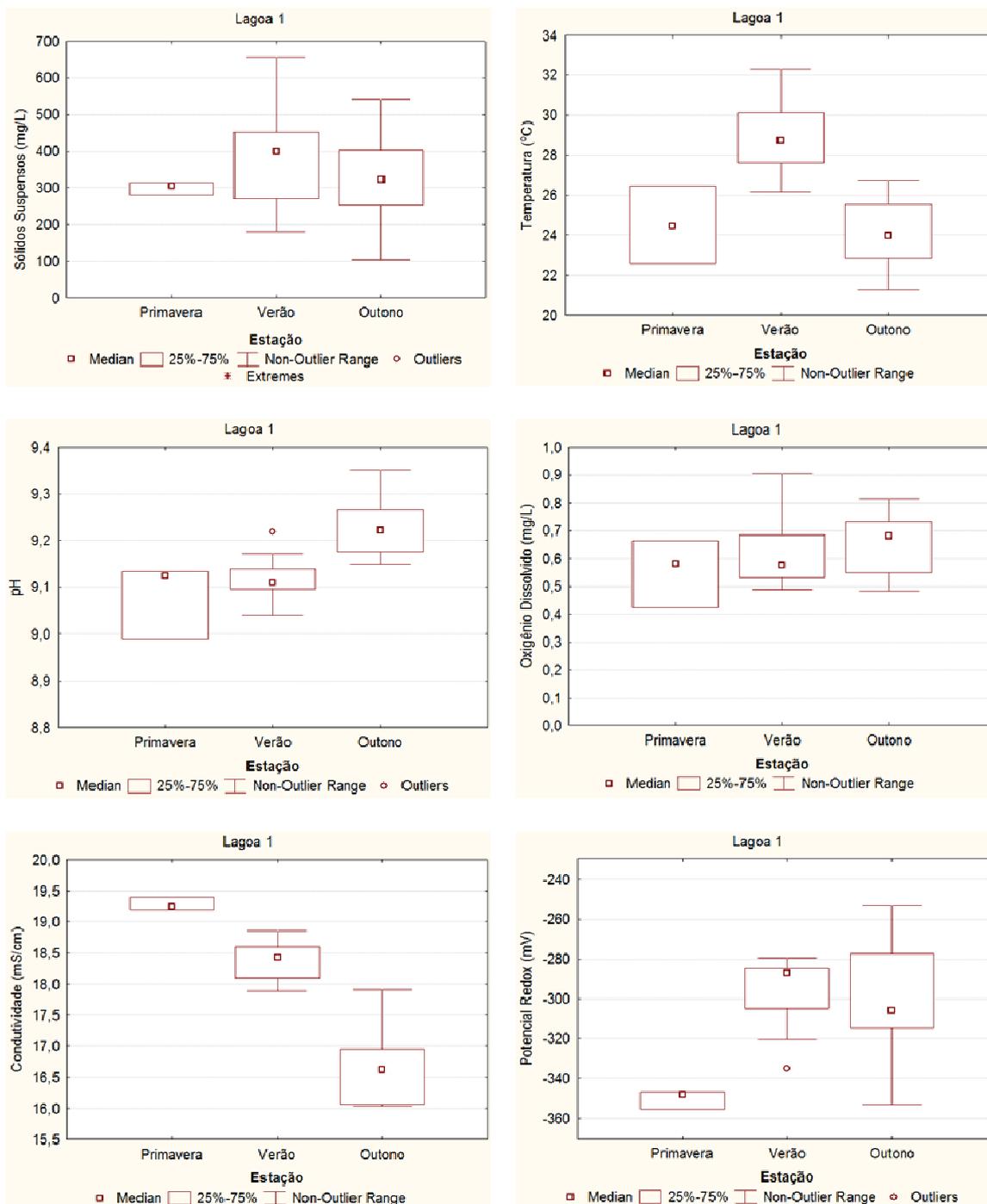


Figura 11: Distribuição (diagramas de caixa) das variáveis monitoradas na L1, ao longo das estações do ano.

Observa-se que houve grande variação nos parâmetros ao longo das estações dentre eles a temperatura ($^{\circ}\text{C}$), condutividade (mS/cm) e o potencial redox (mV).

A temperatura apresentou valores de medianas semelhantes entre as estações de primavera, e outono, com maior variação no período do verão. Valores médios máximos foram também encontrados nesta estação ($26,74^{\circ}\text{C}$). Assim, observou-se que a curva de variação da temperatura na lagoa, acompanhou a curva de variação da temperatura média externa para cada estação, estando os valores entre $20,7^{\circ}\text{C}$ e $32,6^{\circ}\text{C}$, o que, segundo Metcalf e Eddy (2003), essa faixa de temperatura é ideal para a realização da maioria dos processos de degradação biológica. Afora isto, estudos apresentaram remoções maiores de 90% das cargas orgânicas, em tratamento de lixiviado sob condições anaeróbias, por cerca de 10 a 12 dias, quando a temperatura encontrava-se na faixa de 23 a 30°C , com carga superior a $1000\text{g DQO}/\text{m}^3.\text{d}$, indicando que a eficiência do tratamento está diretamente ligada à temperatura do meio líquido (IPT/CEMPRE, 2000).

A condutividade mostrou-se com valor de mediana decrescente ao longo das estações, tendo sido encontrados valores máximos na primavera e mínimos no outono, indicando uma diminuição na concentração de íons em solução ao longo do período monitorado. O aumento da concentração de sais deve ser sempre evitado, principalmente no caso dos lixiviados, uma vez que pode ser desfavorável para o tratamento biológico (devido ao efeito osmótico) sobre os microrganismos responsáveis pela biodegradação. Segundo Giordano (2003), elevadas concentrações de sais propiciam alta condutividade elétrica e assim, o processo eletrolítico.

O potencial redox (ORP) apresentou valores predominantemente negativos, tendendo a um aumento entre as estações de primavera e verão, e apresentando maior amplitude de variação na estação de outono. Ambientes com ORP negativos são favoráveis à manutenção de microrganismos estritamente anaeróbios e vice-versa. Microrganismos facultativos apresentam uma ampla faixa de potencial redox, possibilitando sua atividade metabólica. Assim, em condições de ORP positivos utilizam o oxigênio como aceptor de elétrons, e em ORP negativos usam aceptores de elétrons alternativos, como íons férrico, nitrato e sulfato (AMIM, 2008).

A variação do pH, manteve-se baixa ao longo das estações, estando o valor mediano entre 9,0 e 9,2. Este parâmetro apresentou ainda, baixo desvio padrão (0,1). Valores máximos foram registrados no outono (9,3) não apresentando, porém, mudanças bruscas ao longo do tempo. O

pH do lixiviado torna-se superior a 8,0 em aterro que já apresentem-se na fase metanogênica (EDUARDO, 2007).

O pH tem papel fundamental na digestão dos resíduos, uma vez que sua variação pode alterar o processo de biodegradação, afetar a atividade de enzimas, a solubilização dos compostos e mesmo a sua toxicidade. Assim, valores elevados de pH estão, relacionados à biodegradação da matéria orgânica, com formação de compostos mais simples (VON SPERLING, 1996), fato este esperado nesta primeira etapa do tratamento. Valores elevados de pH, são também responsáveis pela dissolução de certos elementos minerais quando do contato líquido-sólido (CASTILHOS Jr. et. al., 2003). Ainda, de acordo com Silva (2007), o pH dos lixiviados de aterros sanitários são controlados pela presença de metabólitos da fermentação dos resíduos orgânicos, ou mesmo da solubilização das espécies químicas a partir de resíduos não orgânicos.

Os valores de OD apresentaram-se predominantemente baixos, em ambos os estratos, e com pouca variação sazonal, resultado este esperado, considerando-se que esta lagoa teria funcionamento anaeróbio.

Os sólidos suspensos mantiveram-se em valores mais baixos na primavera, assim como mais homogeneamente distribuído, enquanto no verão, estes valores apresentam-se com maior amplitude de variação. Tal fato deve-se provavelmente à maior temperatura nesse período, o que potencializa o metabolismo bacteriano, uma vez que sólidos em suspensão apresentam-se diretamente relacionados às bactérias presentes no sistema.

4.1.3 Variação Sazonal das Variáveis Físico-Químicas - Lagoas 2 e 3

O modelo estatístico ANOVA foi aplicado nos dados obtidos no período de monitoramento nas L2 e L3, a fim de verificar diferenças significativas entre os pontos amostrais (A, E e I) distintos pelos perfis horizontais (entrada meio e saída) e pelas profundidades amostrais (0,1; 0,4 e 0,7m para L2 e 0,1; 0,3 e 0,5m para L3) ao longo das estações de monitoramento.

No Apêndice 2, são apresentados os resultados de comparação entre médias ao longo de todo período monitorado ao longo da coluna d'água. Quanto ao perfil horizontal (sentido Entrada → Saída) poucas variações significativas foram encontradas nas camadas, de acordo com as profundidades determinadas (apêndice 3) havendo variações consideráveis estatisticamente

apenas em L3, nas estações de verão, no estrato intermediário (para as variáveis temperatura, pH, condutividade e ORP) e outono, nos estratos superficial e intermediário (para os parâmetros Cloro *a* e OD, respectivamente).

Desta forma, observou-se, ao nível de significância de 0,05 (5%), que as variáveis apresentaram maiores diferenças significativas entre as médias, quando avaliados de acordo com a profundidade (perfil vertical) bem como a estação do ano. O teste de Tukey foi utilizado como comparativo dos valores médios das profundidades amostrais da coluna d'água para cada estação do ano, de forma que as médias foram organizadas e agrupadas, pelas letras a elas atribuídas. Os resultados da aplicação do teste para L2 e L3, entre as profundidades, estão apresentados nas Tabelas 9 e 10, respectivamente. Valores de mesma letra representam médias sem diferenças estatísticas significativas.

Tabela 9: Comportamento das variáveis, ao longo das estações do ano, na L2 (Teste de Tukey).

LAGOA 2							
Profundidade (cm)	Valores médios ao longo do monitoramento - INVERNO (n=6)						
	Clorofila <i>a</i> (µg/L)	SST (mg/L)	Temp. (°C)	pH	OD (mg/L)	Cond. (mS/cm)	ORP (mV)
10	657,51a	396,67 a	23,32 b	9,05 b	13,83b	4,83 b	-7,67 b
40	437,11a	463,33 a	20,01 a	8,81 a	3,56 a	9,67 ab	-83,33ab
70	63,24 b	603,33 a	17,89 a	8,79 a	1,14 a	23,51 ^a	-276 a
Valores médios ao longo do monitoramento - PRIMAVERA (n=9)							
10	469,96 b	422,22 a	23,90 a	9,05 a	3,24 b	10,18 b	-98,44 b
40	191,22 a	350,0 a	22,67 a	8,85 a	1,21a	14,78 ab	-252,33a
70	121,91 a	410,0 a	23,41 a	8,90 a	0,84 a	18,82 a	-277,22a
Valores médios ao longo do monitoramento - VERÃO (n=27)							
10	267,46 a	374,20a	27,56 b	9,05 a	1,22 b	12,30b	-148,30 b
40	296,36 a	375,93a	25,53 a	9,04 a	0,83 a	17,47ab	-215,58 a
70	279,83 a	397,41a	27,19 a	8,93 b	0,74 a	19,10 a	-230,24 a
Valores médios ao longo do monitoramento - OUTONO (n=24)							
10	562,19a	327,08a	23,02a	9,33b	2,77 b	8,75 b	-85,46 b
40	113,84b	302,08a	21,11a	9,20a	0,88 a	14,23ab	-161,33a
70	484,30a	348,33a	21,24a	9,16a	0,58 a	15,95a	-198,58a

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

Tabela 10: Comportamento das variáveis, ao longo das estações do ano, na L3 (Teste de Tukey).

LAGOA 3							
Profundidade (cm)	Valores médios ao longo do monitoramento - INVERNO (n=6)						
	Clorofila <i>a</i> (µg/L)	SST (mg/L)	Temp. (°C)	pH	OD (mg/L)	Cond. (mS/cm)	ORP (mV)
10	724,47 b	560,0 a	23,96 b	8,77 a	0,82 a	7,79 b	-180,50 b
30	356,19 ab	406,67 a	19,05 a	8,76 a	0,56 a	18,59 a	-306,50 a
50	141,36 a	528,33 a	18,32 a	8,78 a	0,68 a	21,25 a	-312,83 a
Valores médios ao longo do monitoramento - PRIMAVERA (n=9)							
10	367,66 a	290,0 a	24,45 a	9,08 a	4,75 b	8,14 a	-72,44 b
30	283,34 a	258,89 a	22,43 a	9,01 a	1,47 ab	8,53 a	-133,44 ab
50	159,96 a	281,11 a	22,70 a	8,86 b	1,95 a	10,76 b	-185,0 a
Valores médios ao longo do monitoramento - VERÃO (n=27)							
10	344,85 b	431,85 b	27,53 b	9,19 a	1,62 b	11,04 a	-102,63 b
30	181,04 a	356,30 ab	24,96 a	9,14 a	0,95 a	11,85 ab	-186,62 a
50	146,32 a	344,07 a	24,66 a	8,98 b	0,86 a	12,77 b	-223,81 a
Valores médios ao longo do monitoramento - OUTONO (n=24)							
10	385,49 a	316,25 a	22,62 b	9,27 a	1,73 b	10,13 a	-84,67 b
30	149,50 a	275,42 a	20,95 ab	9,25 a	0,91 a	10,48 a	-127,46 ab
50	319,87 a	274,17 a	20,76 a	9,21 a	0,69 a	10,87 a	-160,38 a

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

Pelas Tabelas 9 e 10 pode-se concluir que houve diferença estatisticamente relevante para as profundidades amostrais ao longo das estações do ano na maioria das variáveis monitoradas.

O teste de comparação entre médias verificou que, na L2 (Tabela 9), apenas para o parâmetro SST, houve ausência de variação estatisticamente significativa ao longo das profundidades, com o passar das estações do ano. Porém, diferenças significativas foram verificadas nos valores médios para condutividade, ORP, e OD entre as profundidades para todas as estações monitoradas. O pH não apresentou variação na primavera, assim como a temperatura, não apresentou variações na primavera e outono. Para a clorofila *a*, foi observada variação em todas as estações, com exceção do verão.

Para L3 (Tabela 10), observou-se para o parâmetro SST, uma baixa variação na estação do verão. Contudo, diferenças significativas foram verificadas nos valores médios de ORP entre as profundidades para todas as estações monitoradas. Para os demais parâmetros, houve variação ao longo das estações, sendo que a temperatura não variou na primavera, a condutividade não variou no outono, o OD não variou apenas no inverno, e a clorofila *a* não apresentou variação nas estações de primavera e outono.

Desta forma, de acordo com as análises de variância, observam-se comportamentos distintos entre as profundidades, bem como respostas diferenciadas ao longo das estações. Assim, os dados foram separados por profundidades e os gráficos, elaborados (Figuras 12 a 18), os quais se apresentam como diagramas de caixa, com valores das medianas, quartis (25-75%) e *outliers*, agrupados por estação do ano. Para L2 e L3, as profundidades amostradas serão a seguir denominadas superfície (referente a profundidade 0,1m para L2 e L3), meio (referente aos estratos 0,4m e 0,3m para L2 e L3, respectivamente) e fundo (para os estratos 0,7 e 0,5m, para L2 e L3, respectivamente).

Temperatura

Os valores de temperatura encontrados durante todo o monitoramento realizado nas lagoas 2 e 3, para cada profundidade amostral estão representados na Figura 12.

Nela, observa-se uma diminuição da temperatura, conforme o aumento da profundidade, por toda extensão da lagoa, com uma homogeneização aparente entre os estratos mais profundos, nas estações de primavera, verão e outono, e maior variação no inverno. Maiores temperaturas foram registradas na superfície, durante o verão, com valores medianos de 29°C e 30°C para L2 e L3, respectivamente. Ao longo do período de monitoramento houve, em ambas as unidades, grande amplitude térmica, com valor mínimo médio obtido de 17,1°C no inverno para as duas unidades. Esta amplitude térmica é esperada, considerando a variação inerente às mudanças sazonais.

Temperatura (°C)

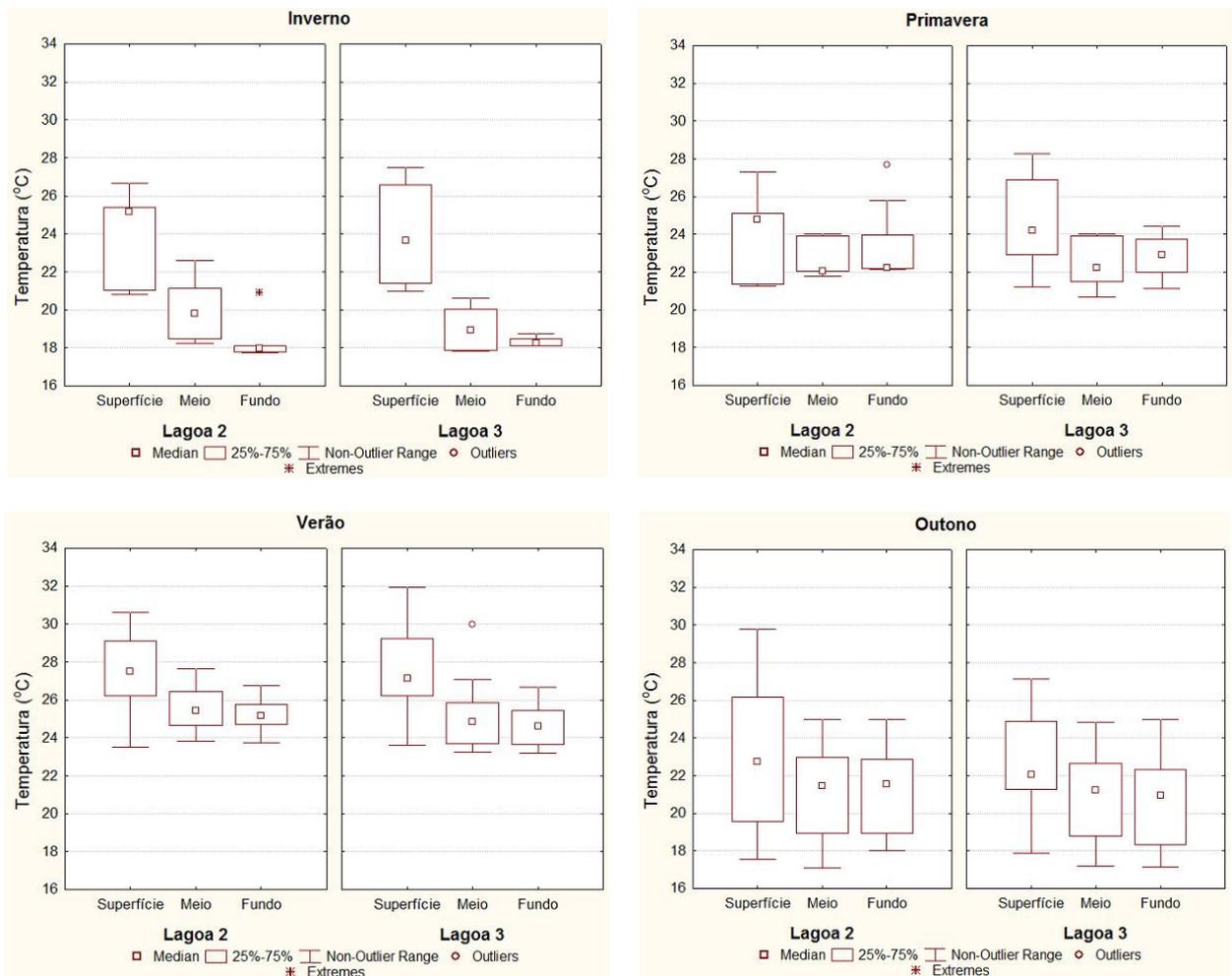


Figura 12: Distribuição dos dados (diagramas de caixa) de temperatura (°C) nas diferentes estações de monitoramento, categorizados por lagoa.

pH

Os valores de pH encontrados durante o monitoramento das lagoas 2 e 3, para cada profundidade amostrada, são apresentados na Figura 13. No início do monitoramento, referente à estação do inverno, o pH para as L2 e L3, apresentavam os valores mínimos encontrados, para os estratos mais profundos (0,4 e 0,7m para L2) e 0,3m e 0,5m para L3). Valores em 0,1m, ainda nesta estação (representados pelos valores medianos) encontravam-se elevados em L2 (acima de 9,0), porém em torno de 8,8 para L3. Tais valores podem ter ocorrido devido a fase pós estabilização do sistema em que se encontravam as lagoas, tendo na L2 sido primeiramente registrada grande incidência algal (o que teria correlação ao elevado pH da superfície já no inverno), uma vez que

elevados valores de pH devem-se, principalmente, pelos processos fotossintéticos, os quais diminuem a concentração de CO_2 (principal responsável pela acidez das águas), aumentando a concentração de íons hidroxila no meio líquido, favorecendo dentre outro fatores, a volatilização da amônia. De modo geral, houve pequena variação ao longo das estações seguintes, com valores elevados de pH na superfície, tendendo a uma pequena diminuição com o aumento da profundidade. Estes valores mais elevados a 0,1m estão relacionados com processos fotossintéticos, justificado por ser neste estrato o de maior incidência fitoplanctônica. Organismos aquáticos têm importante papel no processo de tratamento, sendo sensíveis às mudanças de pH, exigindo maior controle e monitoramento desta variável no tratamento biológico.

pH

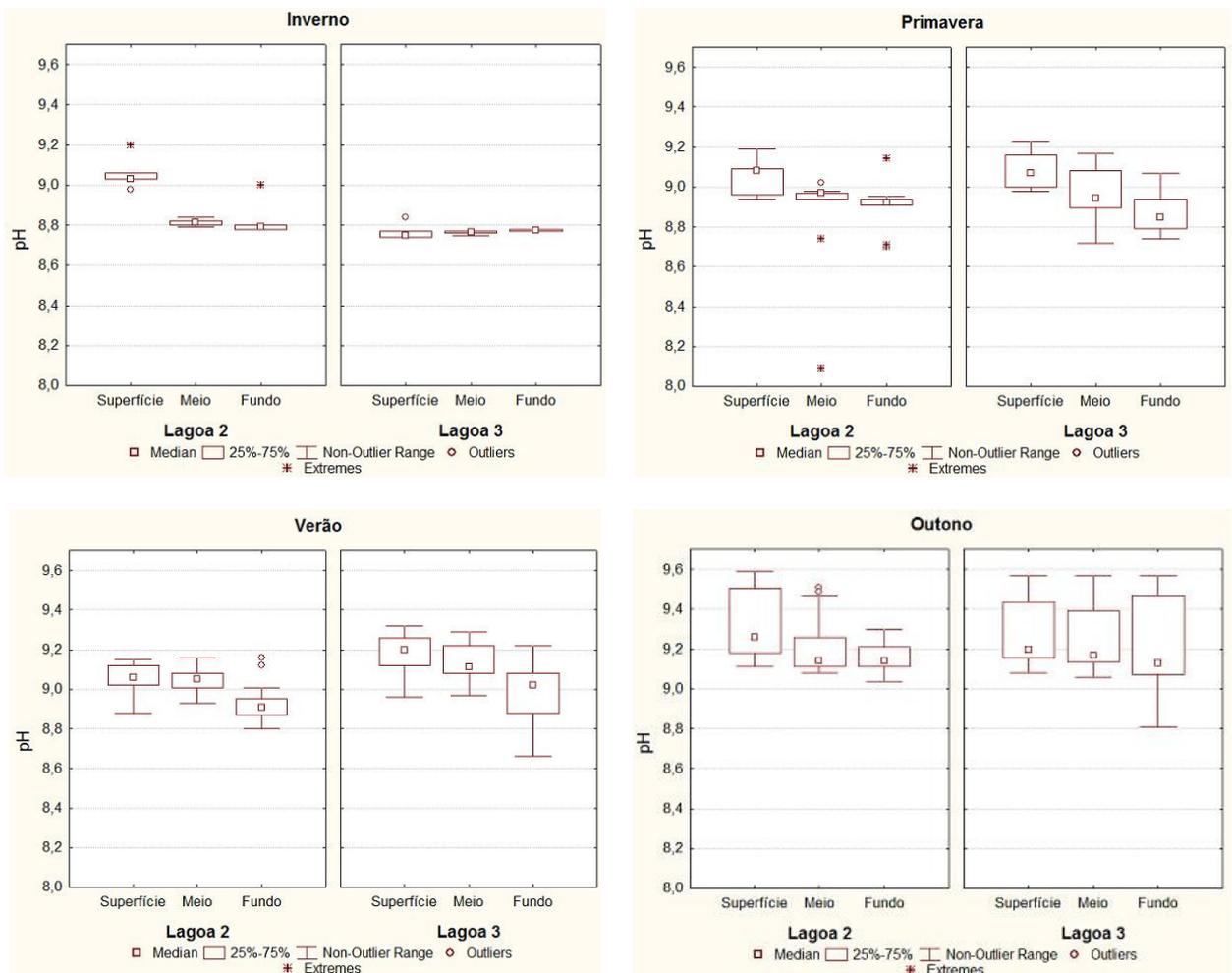


Figura 13: Distribuição dos dados (diagramas de caixa) de pH nas diferentes estações de monitoramento, categorizados por lagoa.

Oxigênio Dissolvido

Os valores de oxigênio dissolvido encontrados durante o monitoramento das lagoas 2 e 3, para cada profundidade amostral, são apresentados na Figura 14.

Observa-se que o OD apresentou valores medianos mais elevados no inverno (período este inicial de monitoramento e após estabilização do sistema), podendo ser resultado da carga orgânica aplicada no período anterior a partida (com o afluente diluído em 75%), conforme trabalho de Martins e colaboradores (2008). Nas estações subseqüentes, houve uma diminuição acentuada dos valores de OD, os quais se relacionam com o aumento da temperatura e elevada concentração de amônia nesta unidade.

Em todas as estações, foram observados valores de OD maiores na superfície, tanto em L2 quanto em L3, estando diretamente relacionados com os valores de pH e clorofila encontrados, uma vez que o oxigênio é principalmente gerado em um sistema de lagoas (sem aeração artificial) pelos processos de fotossíntese. Para os demais estratos, foi observada homogeneidade de distribuição dos valores nos estratos intermediários e profundo em ambas as lagoas. Esta diferença expressiva na concentração de OD pode estar relacionada à instabilidade da carga orgânica provinda do lixiviado que alimentava o sistema ou ainda às variações das condições climáticas, como a amplitude térmica local.

Este fato apresenta-se de acordo com Miwa, Freire e Calijuri (2007) em um estudo com lagoas de estabilização tratando águas residuárias da região do Vale do Ribeira (São Paulo), onde foram registrados valores de pH e de OD de forma a compartimentalizar a lagoa em dois estratos: um superior e outro profundo. Na camada superficial (primeiros 0,5m) observaram elevados valores de pH e OD e no inferior (sub-superfície à interface água sedimento) encontrados menores valores de pH e tendência a anoxia.

Segundo Von Sperling (2002), pelo fato das algas necessitarem de energia luminosa, estas, situam-se em maior quantidade próximas à superfície, motivo este responsável pela maior produção de oxigênio neste estrato. Além disso, a penetração de luz nas lagoas é reduzida, devido a turbidez elevada neste sistema, reduzindo a produção de oxigênio na região sub-superficial 10 (~5cm).

Oxigênio Dissolvido (mg/L)

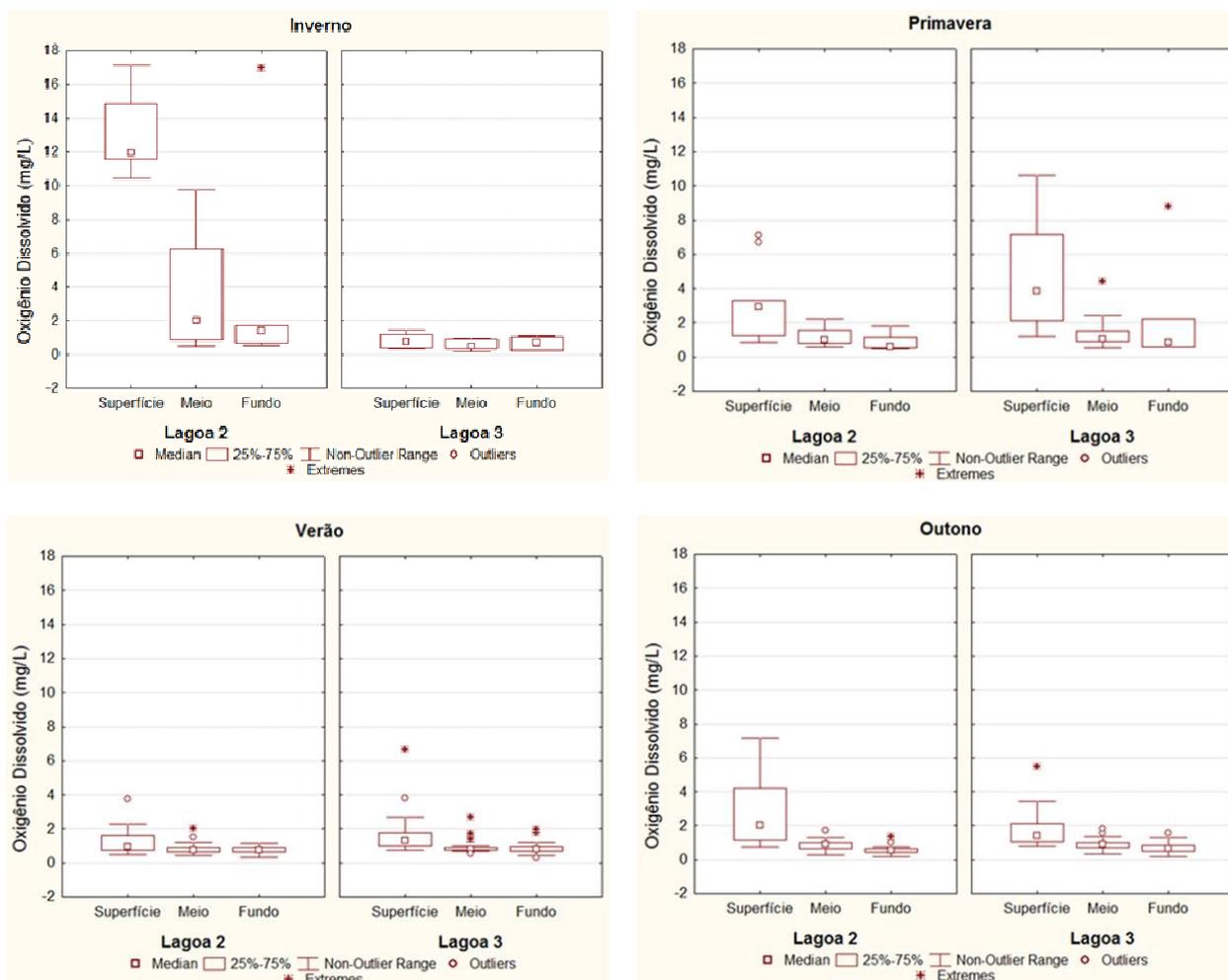


Figura 14: Distribuição dos dados (diagramas de caixa) de oxigênio dissolvido (mg/L) nas diferentes estações de monitoramento, categorizados por lagoa.

Condutividade

Os dados de condutividade encontrados durante as estações de monitoramento das L2 e L3 estão apresentados na Figura 15.

Valores de condutividade refletem a quantidade de íons dissolvidos na massa líquida dentre as quais ácidos inorgânicos, bases e sais. Observam-se em ambas as unidades de estudo, que esta variável apresentou valores crescentes, na medida em que se aumentava a profundidade, sendo que em L2, este perfil crescente foi mais claramente observado que em L3, onde foram

registrados maiores valores medianos no estrato intermediário. Além disso, observou-se para ambos os sistemas grande amplitude de variação a cada estação monitorada.

Condutividade (mS/cm)

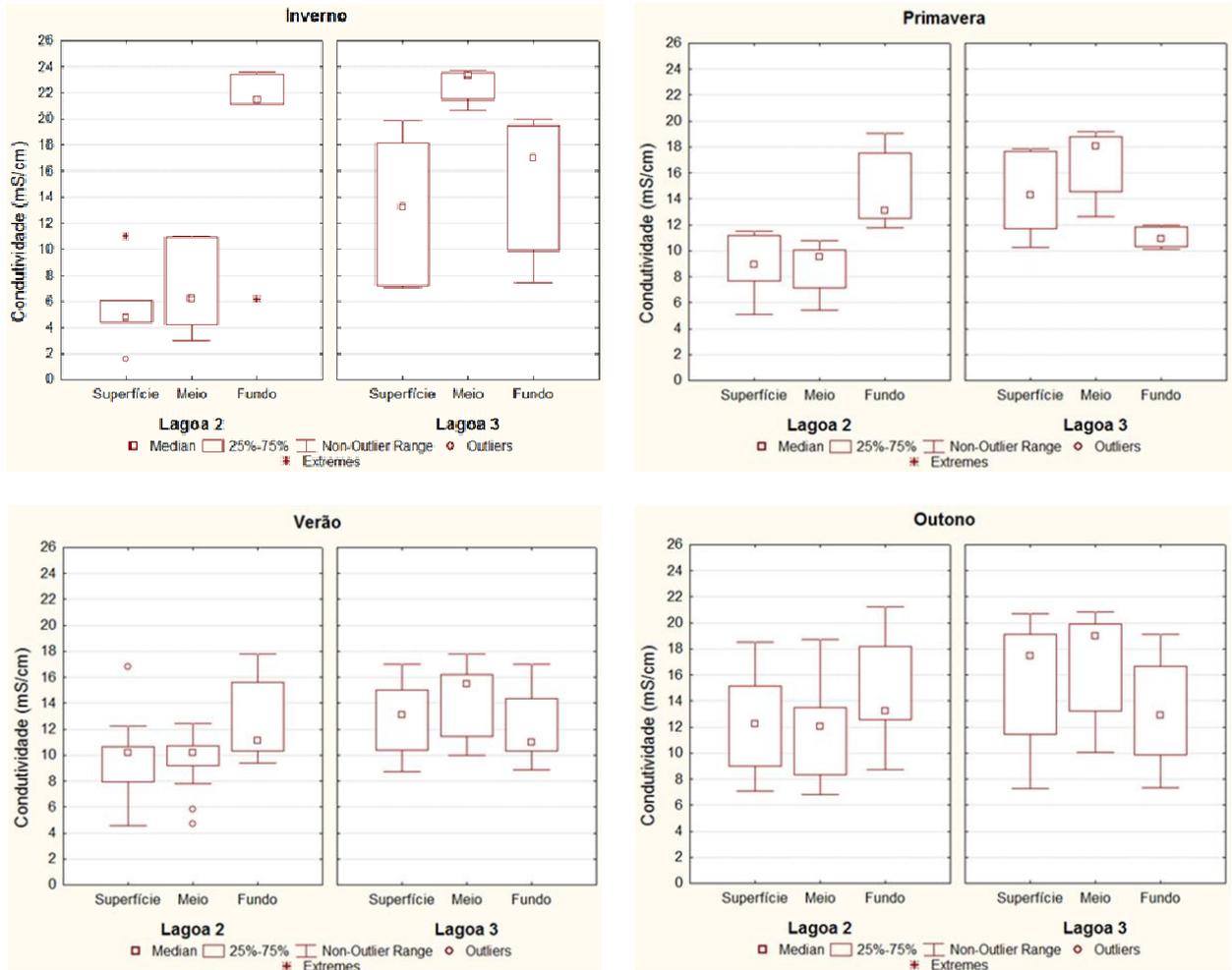


Figura 15: Distribuição dos dados (diagramas de caixa) de condutividade (mS/cm) nas diferentes estações de monitoramento, categorizados por lagoa.

Potencial Redox (ORP)

Os dados de ORP encontrados durante as estações de monitoramento das L2 e L3 estão apresentados na Figura 16.

O ORP encontrado nestas unidades apresentou-se com valores medianos em uma faixa negativa, observando-se, em ambas as unidades de estudo, que o ORP apresentou valores decrescentes com

o aumento da profundidade. Na L2, valores medianos positivos foram observados no estrato superior durante o inverno (estação esta que apresentou também maior amplitude de variação entre os estratos), com valores progressivamente decrescentes ao longo das demais estações. Tal fato pode ter decorrido, uma vez que a redução do conteúdo orgânico reflete um aumento do ORP, assim como valores de sólidos apresentam relação direta com valores de ORP mais negativos. O pH, pode também ser relacionado à este potencial.

Por sua vez, na L3, os valores medianos apresentaram-se mais homogêaneamente distribuídos, variando na sua maioria entre -100 e -200. Porém, valores positivos foram também registrados assim como grande amplitude de variação, na superfície, durante a estação do outono, onde foram registrados valores *outliers* para o estrato mais profundo. Para L3, de maneira geral, poucas amplitudes de variações podem ser percebidas entre o estrato intermediário e profundo.

Sólidos Suspensos

Os dados de sólidos suspensos encontrados durante as estações de monitoramento das L2 e L3 estão apresentados na Figura 17.

Valores medianos em L2 e L3 apresentaram uma tendência decrescente no estrato intermediário, quando comparado ao estrato superficial e profundo, ao longo de todas as estações monitoradas. Os sólidos em suspensão, segundo Von Sperling (2002) em lagoas facultativas apresenta grande parte constituído por algas e bactérias. Esta presença do plâncton promove o aumento dos sólidos suspensos, justificando desta forma a ocorrência de maiores valores no estrato superior (onde preferencialmente encontravam-se os grupos fitoplanctônicos) como justifica o elevado valor de sólidos suspensos no estrato mais profundo (onde são preferencialmente encontrados os grupos bacterioplanctônicos). Contudo, apenas a L2, na estação de inverno, apresentou comportamento diferente deste, com valores medianos máximos no estrato mais profundo.

Potencial Redox (mV)

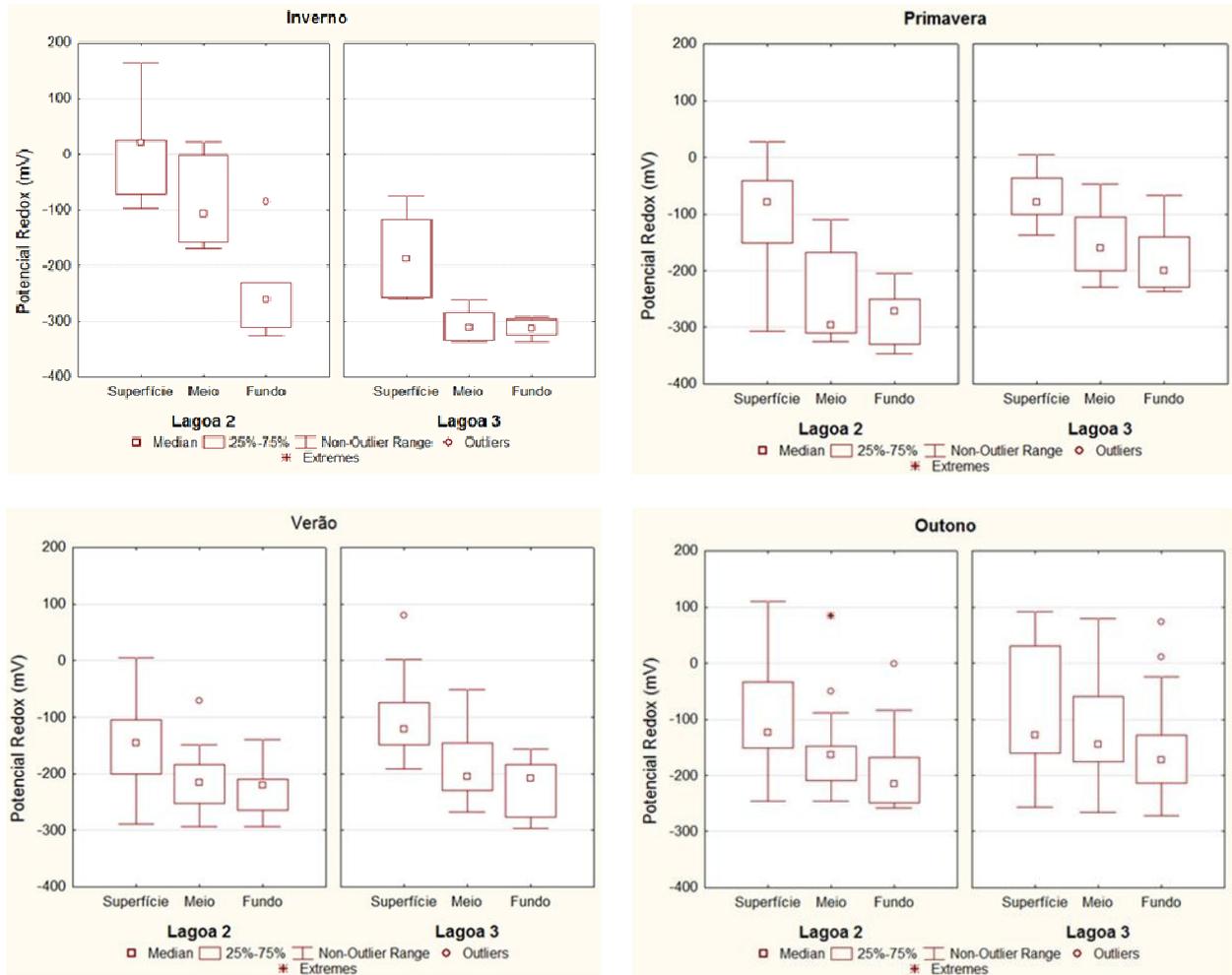


Figura 16: Distribuição dos dados (diagramas de caixa) de potencial redox (mV) nas diferentes estações de monitoramento, categorizados por lagoa.

Sólidos Suspensos (mg/L)

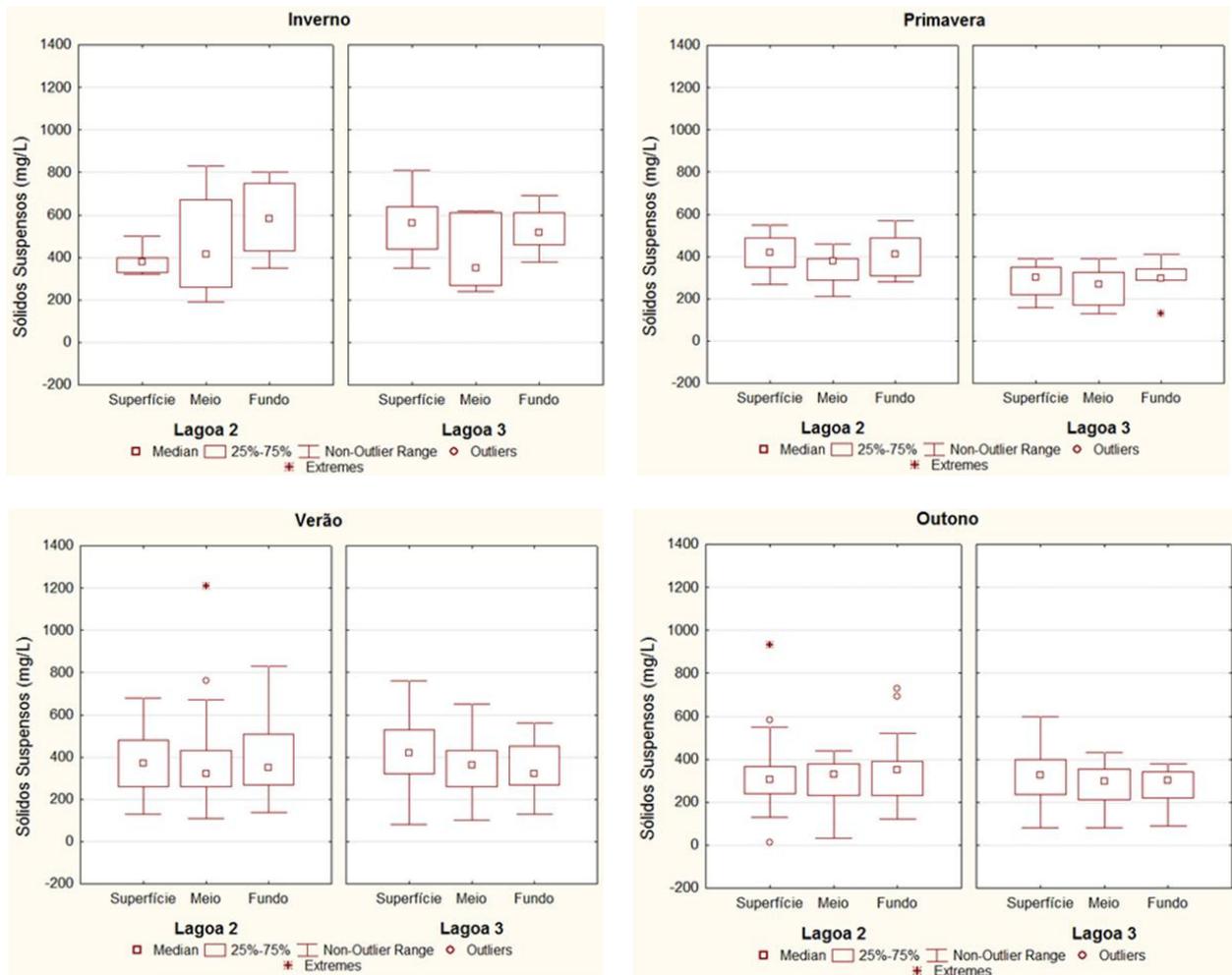


Figura 17: Distribuição dos dados (diagramas de caixa) de sólidos suspensos (mg/L) nas diferentes estações de monitoramento, categorizados por lagoa

Clorofila a

Os dados de Clorofila *a* encontrados durante as estações de monitoramento das L2 e L3 estão apresentados na Figura 18.

A Cloro *a* apresentou valores medianos mais elevados na superfície, com tendência decrescente até o estrato mais profundo, claramente observado nas estações de inverno e primavera. Entre verão e outono, os gráficos apresentam grande número de valores extremos, devido à grande ocorrência de florações algais nas unidades de tratamento (recorrentes a partir de janeiro de

2008). Valores máximos registrados, portanto, referem-se a estas estações. Este parâmetro mostrou-se com valores sempre muito maiores na superfície, quando analisados comparativamente aos demais estratos. Tal fato deve-se, uma vez que é na superfície o local de maior incidência luminosa, portanto onde preferencialmente localizam-se os grupos fitoplanctônicos (fotossintetizantes). A biomassa fitoplanctônica, segundo Jordão e Pessoa (2005) corresponde a cem vezes a concentração de clorofila *a*, a qual será posteriormente apresentada em análise individualizada, assim como os principais grupos fitoplanctônicos registrados no sistema.

Clorofila *a* ($\mu\text{g/L}$)

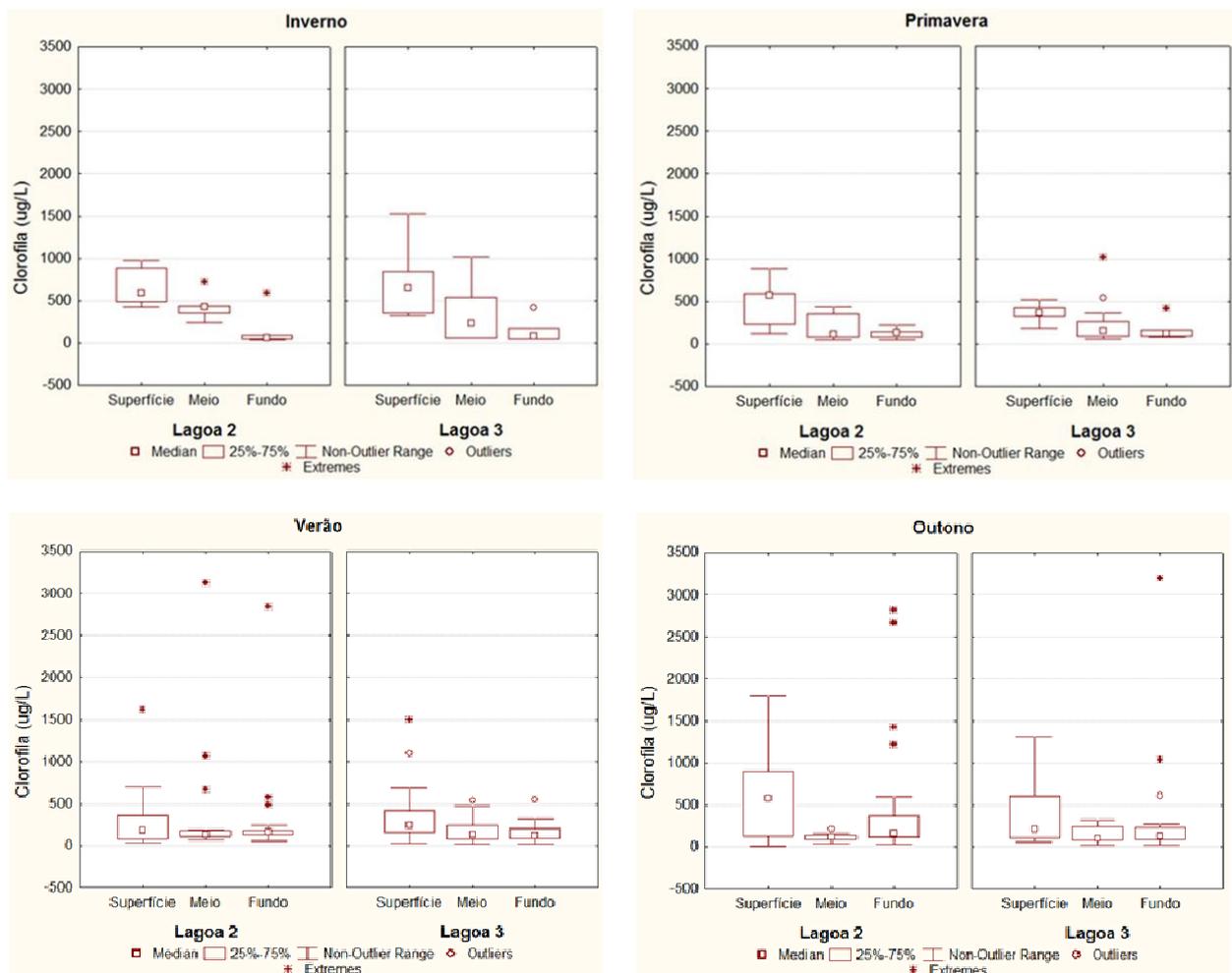


Figura 18: Distribuição dos dados (diagramas de caixa) de clorofila *a* ($\mu\text{g/L}$) nas diferentes estações de monitoramento, categorizados por lagoa.

4.1.3.1 Relação da Clorofila *a* com os fatores ambientais

Na Figura 19, observa-se a variação da Clorofila *a*, ao longo dos meses de monitoramento, para L2 e L3 (valores médios para os pontos A, E e I, nas três profundidades amostrais de cada lagoa).

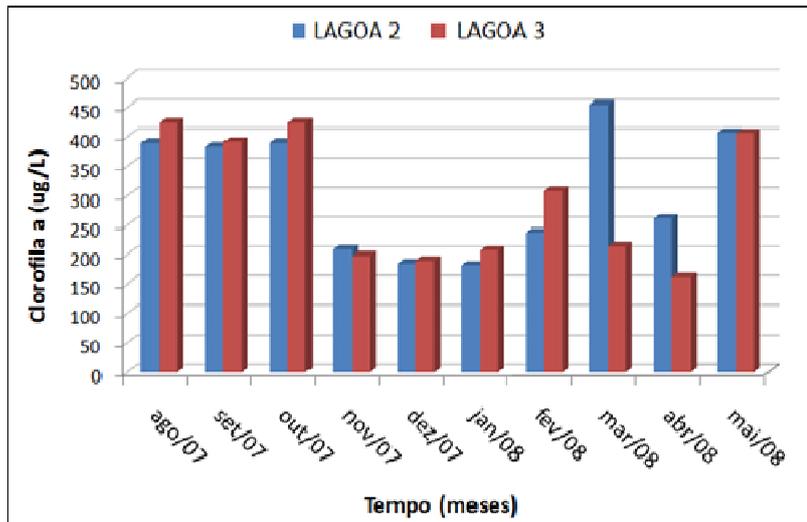


Figura 19: Valores médios mensais de Clorofila *a* (µg/L) nos períodos de monitoramento em L3.

Observando-se a Figura 19, pode-se verificar que, tanto em L2 quanto em L3, durante os meses de agosto até outubro, os valores de clorofila *a* foram elevados, estando os valores médios máximos encontrados em L3, ao longo deste período. Nos meses posteriores, nas duas unidades, ocorreu a redução dos valores médios de clorofila *a* (novembro a janeiro), fase esta com as menores concentrações desta variável, registrada. Após o período de janeiro, houve aumento significativo na biomassa algal em L2 e L3 (com maiores valores em L2), porém conseqüente diminuição em abril para ambas as lagoas. Este decréscimo dos valores pode ter resultado da incidência pluviométrica nestes meses, a qual culmina em janeiro, e torna a aumentar em abril, conforme apresentado na Figura 20, tendo sido responsável pela maior diluição da carga orgânica nas lagoas.

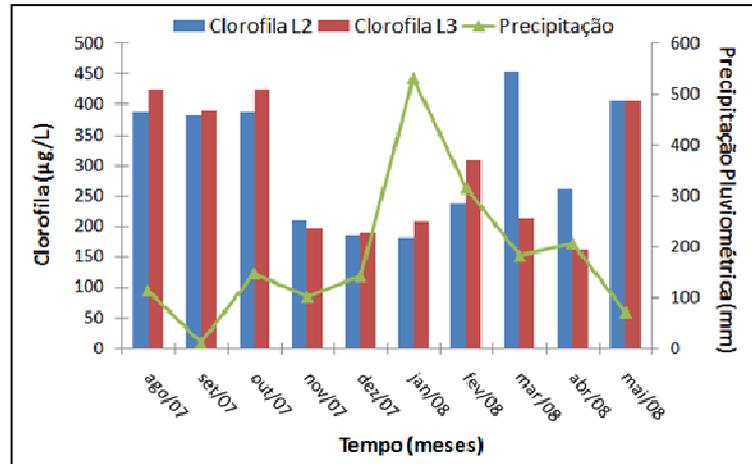


Figura 20: Variação da clorofila *a* ($\mu\text{g/L}$) e da precipitação pluviométrica média (mm) ao longo dos meses de monitoramento. Dados fornecidos pela Estação Meteorológica da EPAGRI – Estação São José, Grande Florianópolis.

Além disso, verifica-se que os meses elevadas temperaturas ($^{\circ}\text{C}$), ocorreram entre novembro de 2007 a março de 2008, refletindo também, diretamente, nos maiores valores de radiação total. Contudo, este período coincide com os períodos de maior precipitação, e como consequência, de menor média na concentração de clorofila *a* registrado nas unidades. Nas Figuras 21 e 22, são apresentados os gráficos de variação da clorofila *a* em relação à radiação e temperatura média do ar.

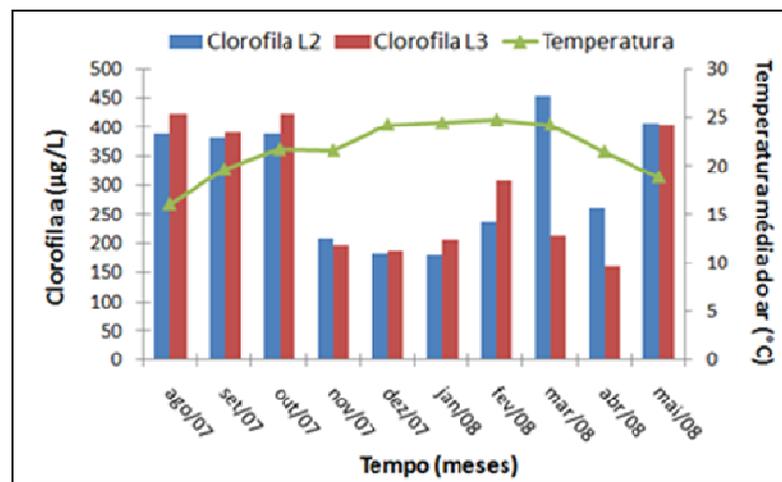


Figura 21: Variação da clorofila *a* ($\mu\text{g/L}$) e da temperatura ($^{\circ}\text{C}$) média do ar ao longo dos meses de monitoramento. Dados fornecidos pela Estação Meteorológica da EPAGRI – Estação São José, Grande Florianópolis.

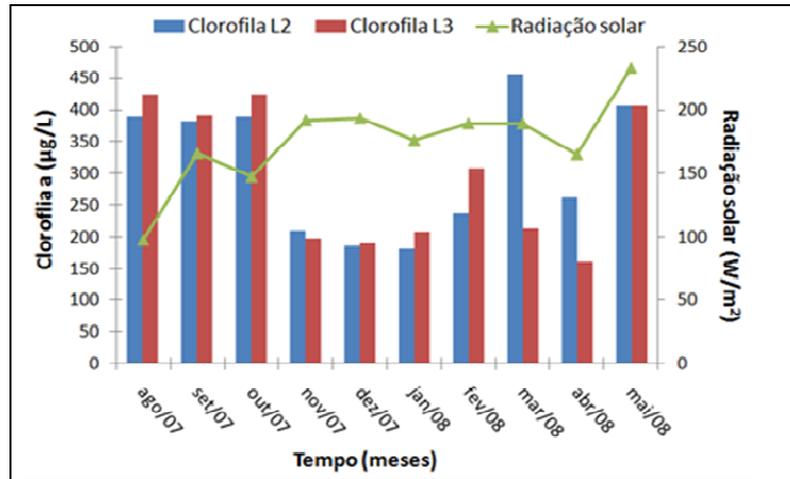


Figura 22: Variação da clorofila a ($\mu\text{g/L}$) e da radiação solar (W/m^2) ao longo dos meses de monitoramento. Dados fornecidos pela Estação Meteorológica da EPAGRI – Estação São José, Grande Florianópolis.

Desta forma, conclui-se que a queda nos valores de Clorofila a em L2 e L3, ocorreu devido à interação destes diversos fatores, tendo sido preponderante, a pluviosidade mensal, bem como a temperatura mensal registrada, diretamente relacionadas na variação da clorofila a no sistema.

4.1.3.2 Distribuição Vertical da Clorofila a nas lagoas

O software SURFER 8.0 foi usado para mostrar a distribuição da biomassa algal nas lagoas 2 e 3, utilizando-se valores médios de clorofila a , conforme período de monitoramento, categorizados pela estação do ano (Inverno, Primavera Verão e Outono), profundidade na coluna d'água (0,10m, 0,40m e 0,7m para a L2; 0,10m, 0,30m e 0,5m para a L3) e local de coleta (3 pontos equidistantes, sendo um na entrada, um no meio e um na saída, de cada lagoa).

A distribuição vertical da clorofila a nas lagoas 2 e 3, para os períodos de estudo, são apresentados na Figura 23 em seção transversal (sentido diagonal da lagoa). Os períodos de monitoramento são caracterizados pela variação da biomassa algal na coluna d'água.

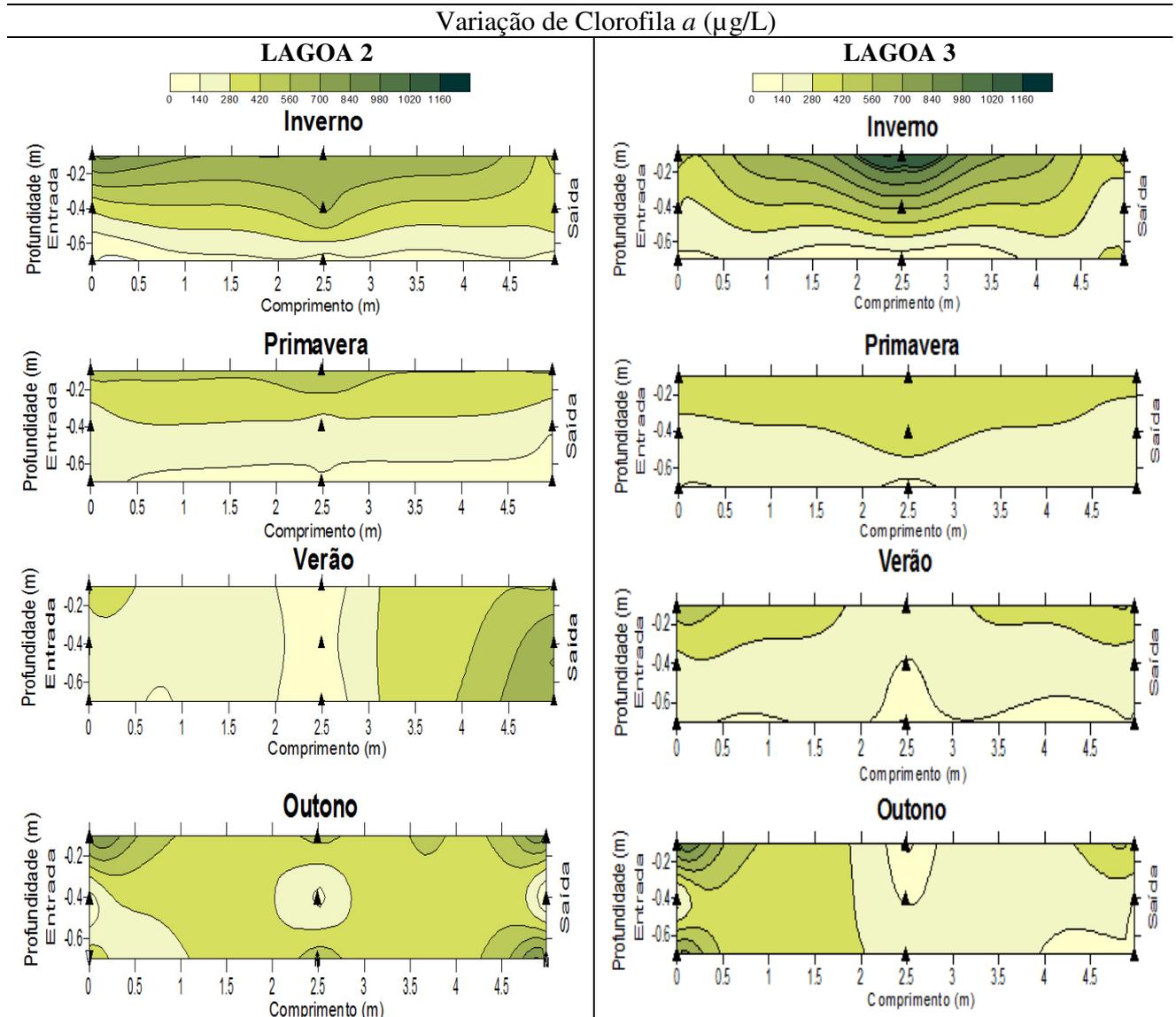


Figura 23: Distribuição vertical da biomassa algal (clorofila *a*) nas L2 e L3 ao longo das estações de monitoradas. A escala de cores por concentração de clorofila ($\mu\text{g/L}$) está acima representada.

Na L2, conforme apresentado nos gráficos, ocorreu melhor distribuição de clorofila *a* (e em maior concentração) do que na L3, embora neste sistema, o valor máximo tenha sido registrado na superfície durante o inverno. No inverno, observa-se também, para as duas lagoas, maior estratificação, tendendo a diminuir com o passar dos meses e das estações. Tal fato pode ter decorrido da estabilização do plâncton presente (dominância do grupo fitoflagelado *Chlamydomonas*) e ainda, da ocorrência de ventos nas estações de verão e outono, que provocam

o arraste das algas além da mistura na coluna d'água. De forma geral, a distribuição vertical da biomassa foi mais heterogênea durante os meses de verão e outono, do que nos períodos anteriores.

4.1.4 Quantificação da biomassa fitoplanctônica – L2 e L3

Os resultados obtidos através da análise quantitativa da biomassa algal, realizada através da contagem microscópica utilizando a Câmara de Sedgewick-Rafter, para as lagoas L2 e L3, são apresentados a seguir.

4.1.4.1 Riqueza de Espécies e Densidade Relativa

Na Figura 24 é apresentada a variação temporal do número de espécies (riqueza de espécies) para as L2 e L3.

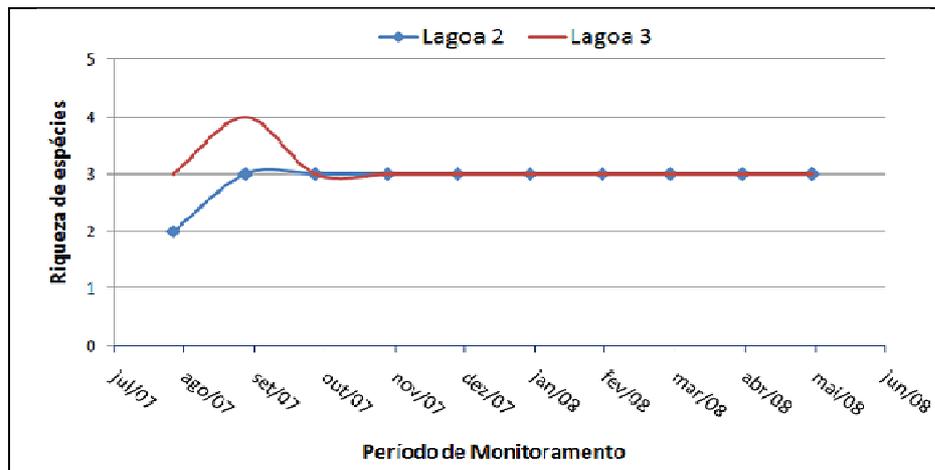


Figura 24: Riqueza de espécies da população planctônicas nas lagoas L2 e L3, ao longo dos meses de monitoramento.

Observa-se pela figura 24, que a riqueza de espécies foi baixa, com um intervalo de 2 a 4 taxa, para ambas as unidades experimentais, sendo em L2, registrado menor número em agosto de 2007, e em L3 maior riqueza de espécies em setembro, do mesmo ano. Este período corresponde ao início do monitoramento e, portanto, após a estabilização do sistema, quando a carga orgânica era menos concentrada. Nos demais períodos, a riqueza de espécies estabiliza em 3 taxa em ambas as unidades. Além disso, segundo Zanotelli e colaboradores (2002), a diversidade de algas

nas lagoas decresce com o aumento da carga orgânica aplicada, conseqüentemente as lagoas facultativas apresentam menor riqueza de espécies do que as lagoas de maturação.

De acordo com trabalhos de Domitrovic, Asselborn e Casco (1998), a riqueza de espécies é mais elevada em ambientes naturais (oligotróficos) do que ambientes eutróficos, como é o caso das lagoas de estabilização, obtendo em seu estudo, em um lago subtropical da Argentina, riqueza específica de 137 espécies. Cruz e colaboradores (2005) obtiveram riqueza de espécies algais de 18 *taxa*, em efluente doméstico, com lagoas facultativas. Barthel (2007), em estudo com lagoas de aguapés, maturação e de alta taxa tratando dejetos suínos, obteve riqueza de espécies em 10, 8 e 4 *taxa*, respectivamente.

Nas Figuras 25 e 26 apresentam os valores obtidos para densidade relativa (%) dos grupos fitoplanctônicos presentes nas lagoas L2 e L3, respectivamente, ao longo do monitoramento, distintos pela profundidade de coleta (valores médios dos pontos A, E e I).

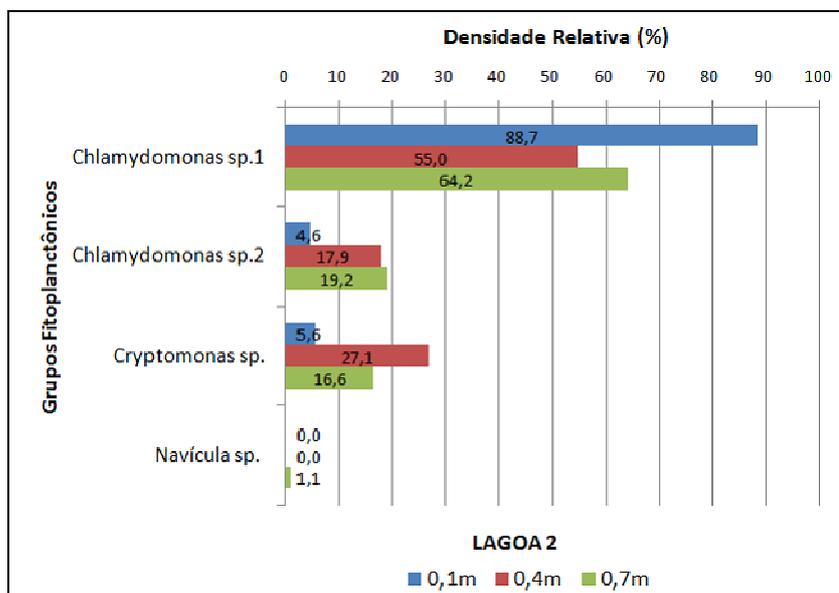


Figura25: Densidade relativa (%) dos gêneros encontrados na L2 ao longo do monitoramento, agrupados pela profundidade de coleta.

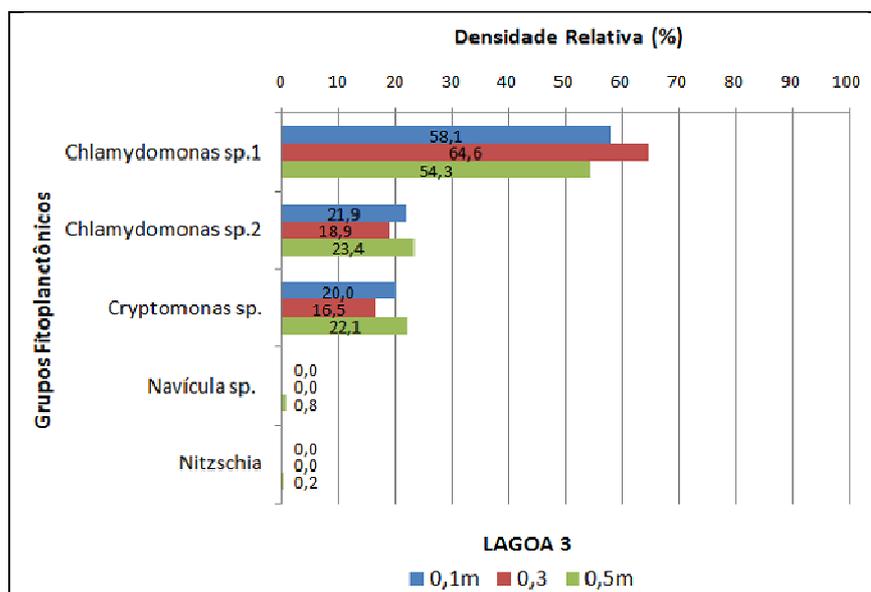


Figura26: Densidade relativa (%) dos gêneros encontrados na L3 ao longo do monitoramento, agrupados pela profundidade de coleta.

Pela análise das Figuras 26 e 27, observa-se que os organismos de maior densidade tanto em L2 quanto em L3, foram os pertencentes ao gênero *Chlamydomonas* (neste trabalho não identificados especificamente, sendo chamados sp.1 e sp.2), estando presentes em mais de 50% em todos os estratos amostrais. Estes resultados, diferem daqueles encontrados por Silva (2007) onde, em estudo com lagoas de estabilização para tratamento de lixiviado, observou abundância de organismos do gênero *Chlorella* sp.

Contudo, segundo Rocha (2005), os gêneros *Chlamydomonas*, *Euglenas* e *Chlorellas* são recorrentes em sistemas de lagoas, indicando boas condições para o sistema. Além disso, a ausência de cianobactérias neste estudo registrada, pode ser resultante do elevado pH encontrado do sistema, uma vez que estas algas, preferem ambientes mais ácidos. Segundo König (2000) o gênero *Euglena* sp. é sensível às altas concentrações de nitrogênio amoniacal (>140 mg/L) e de ambientes onde o pH se encontra acima de 8,3. Nestas condições seu crescimento é seriamente prejudicado, e em pH acima de 9,0 essa alga é completamente inibida. Isto justifica a também, a ausência deste grupo fitoplanctônico nas lagoas L2 e L3.

Houve variação na densidade relativa das algas conforme o período estudado, tendo sido registrado o gênero *Navicula* sp. em L2 e L3 assim como o gênero *Nitzschia* sp. em L3 porém, apenas no período inicial de monitoramento (inverno), com conseqüente desaparecimento na

estação subsequente. A este fato, devem-se os baixos valores de densidade relativa encontrados para estes grupos. De acordo com Araujo (2007) dentre as condições que determinam o número de gêneros encontrados em lagoas, estão a concentração de matéria orgânica, sendo que outros fatores podem interferir (porém de forma mais sutil) como o pH, OD, temperatura e intensidade luminosa, a qual se deve à fatores complexos do sistema de tratamento como as condições físico-químicas e biológicas da água.

4.1.4.2 Frequência algal nas Lagoas

Na Figura 27 são apresentados os resultados obtidos da análise da frequência algal (%), correspondentes às médias para as profundidades das lagoas L2 e L3, ao longo do período de monitoramento.

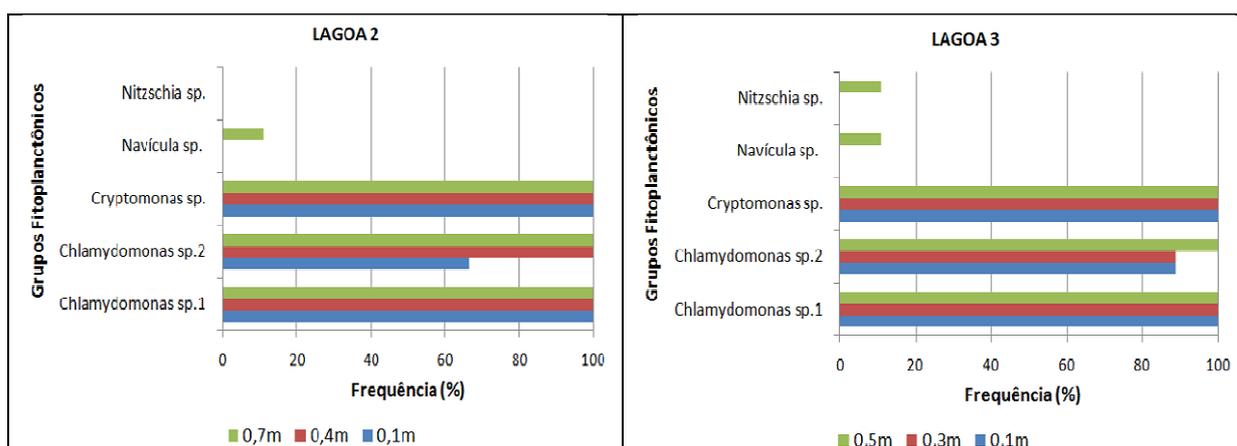


Figura 27: Frequência algal nas L2 e L3 de acordo com a profundidade e ao longo do período de monitoramento.

Através da análise dos gráficos, observa-se que os grupos fitoplancetônicos ocorrentes em todas as amostras (100 % de frequência), foram as do gênero *Chlamydomonas sp.* (1) e *Cryptomonas sp.* dotadas de flagelos, apresentando assim capacidade de se mover ao longo da coluna d'água conforme as condições de luz e nutrientes.

De acordo com Tejo, König e Ceballos (1995), algas flageladas apresentam-se com frequências diminuídas quando em condições de baixa carga orgânica, o que confirma a melhor adaptação destes organismos neste sistema de lagoas já que ambos os gêneros, apresentam grande tolerância à ambientes altamente poluídos.

4.1.4.2 Produtividade da Biomassa Algal

A produtividade da biomassa algal foi avaliada, para as lagoas L2 e L3, utilizando o modelo de Oswald (1988), estando os resultados apresentados nas Figuras 28 e 29. A variação temporal da produtividade da biomassa algal (expressa em SS) foi analisada para as três profundidades amostrais.

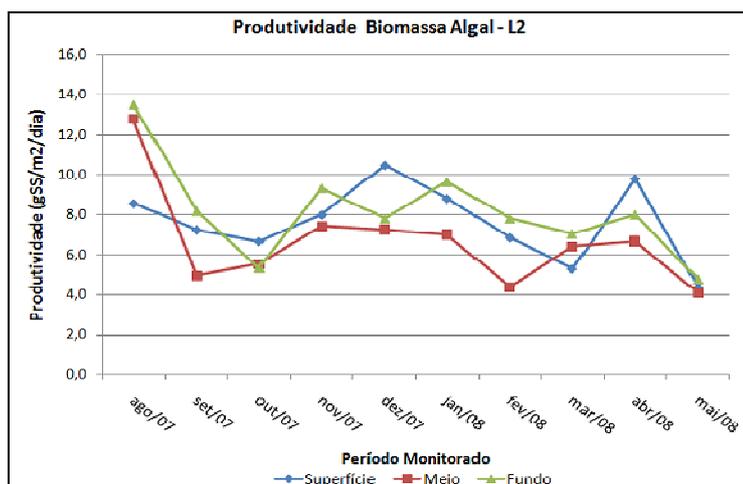


Figura 28: Variação temporal da produtividade da biomassa algal ($\text{gSS}/\text{m}^2/\text{d}$) em L2, ao longo do monitoramento e de acordo com as profundidades amostrais.

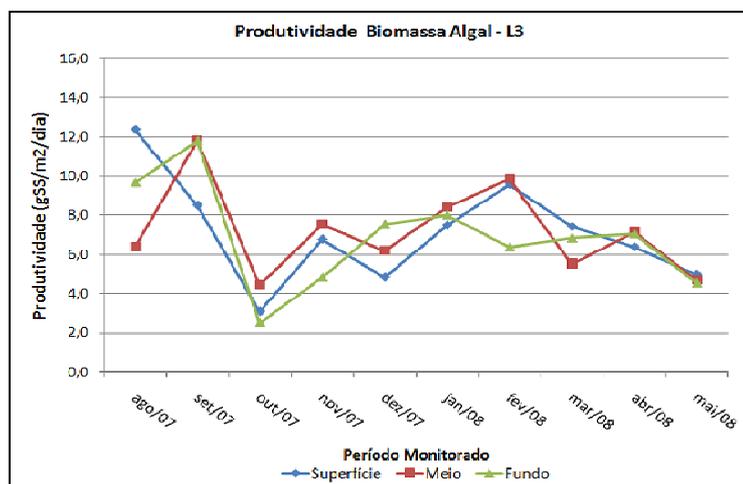


Figura 29: Variação temporal da produtividade da biomassa algal ($\text{gSS}/\text{m}^2/\text{d}$) em L3, ao longo do monitoramento e de acordo com as profundidades amostrais.

A média da produtividade da biomassa algal na L2, foi, para os estratos de superfície, meio e fundo, correspondentes a 7,6gSS/m²/dia, 6,6gSS/m²/dia e de 8,1gSS/m²/dia, respectivamente. Para a L3, estes valores apresentaram-se em 7,1gSS/m²/dia, 7,2gSS/m²/dia e 6,9gSS/m²/dia para as três profundidades, respectivamente. Observa-se desta forma, que a L3, apresentou valores médios de produtividade bastante homogêneos entre os estratos, enquanto que em L2, observam-se valores mais heterogêneos, principalmente quando analisado o estrato intermediário (meio) o qual apresentou valores mais reduzidos.

Apesar disto, a distribuição da produtividade ao longo dos períodos de monitoramento, apresentou grande variação ao longo dos meses e pouca variação entre as profundidades. Observa-se que tanto em L2 quanto em L3, houve um decréscimo na produtividade entre os meses de setembro e outubro, tendo sido neste período registrado menor valor de produtividade para L3, a qual se restabelece entre os meses de novembro e dezembro, seguindo com um padrão mais homogêneo até o final de maio. Quanto à L2, observa-se após a baixa entre os meses de setembro e outubro, valores em geral mais elevados para os estratos de fundo e superfície, talvez devido à maior estratificação deste sistema.

Quanto aos valores obtidos, em um estudo com lagoas de alta taxa, Garcia e colaboradores (2002), tratando efluente doméstico, obtiveram valores médios de 12,7gSS/m²/dia (TDH de 7 dias) e 14,8gSS/m²/dia (TDH de 3 dias). Barthel e colaboradores (2008) em estudo de avaliação da biomassa planctônica em lagoas secundárias para tratamento de dejetos suíno, mostraram valores médios de 10gSS/m²/dia para uma lagoa de alta taxa (TDH de 10,5 dias), valor máximo de 1,5gSS/m²/dia para duas lagoas de maturação (TDH de 70 dias) e 8gSS/m²/dia em uma lagoa de aguapés (TDH de 8,6 dias). Conclui-se desta forma que as lagoas apresentaram valores de produtividade da biomassa algal satisfatórios, tendo em vista o tempo de detenção utilizado neste sistema, bem como o fato de apresentarem-se como fatores inversamente proporcionais.

4.1.5 Análise dos Componentes Principais (ACP)

As variáveis de monitoramento medidas nas lagoas L1, L2 e L3, foram avaliadas por meio da Análise dos Componentes Principais (ACP). Para tanto, os dados de L1, bem como os valores médios entre as profundidades amostrais do ponto de saída da L2 e de saída da L3 (pontos D), foram utilizadas de forma a fornecer um panorama geral do comportamento das variáveis. 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.

Lagoa 1

Os três primeiros fatores que apresentaram autovalores maiores que 1 foram automaticamente escolhidos, conforme apresentado na Tabela 11, sendo estes: fator 1: 4,01; fator 2: 1,31 e fator 3: 1,24, somando 65,68%, e justificando desta forma a variância em L1.

Tabela 11. Autovalores e percentuais das variâncias resultantes da análise da L1.

	Autovalor	Variância Total (%)	Autovalor Acumulado	Variância Total Acumulada (%)
1	4,01	40,16	4,01	40,16
2	1,31	13,12	5,32	53,28
3	1,24	12,40	6,56	65,69

Os coeficientes de correlação entre os fatores artificiais e as 10 variáveis utilizadas para esta análise de L1, são apresentados na Tabela 12.

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

Variáveis	Fator 1	Fator 2	Fator 3
DQOtotal	0,837	-0,208	0,000
DQOsolúvel	0,782	-0,047	-0,004
DBO	0,479	0,158	-0,278
Amônia	0,446	-0,306	-0,006
SST	0,440	0,567	0,424
Temperatura	0,702	-0,319	0,544
pH	-0,799	0,002	-0,012
Condutividade	0,847	0,001	-0,141
OD	-0,030	0,641	0,513
ORP	-0,478	-0,558	0,634

O fator 1 possui coeficientes de correlação maior que 0,7 para 50% das variáveis analisadas. Já os fatores 2 e 3, não atingem em nenhum momento valores maiores que 0,7, estando no entanto, o fator 2 para o parâmetro OD e o fator 3 para o parâmetro ORP, próximos à este valor (0,641 e 0,634, respectivamente).

O maior coeficiente de correlação associado ao fator 1 (abscissas) foi encontrado para a condutividade (0,847) e DQOtotal (0,837); ao fator 2 (ordenadas) foi o de OD (0,641) e ao fator 3

(ordenadas) foi o de ORP (0,634). Desta forma, pode-se concluir que as variáveis de maior representatividade na L1 foram a condutividade, a DQOtotal, OD e ORP, sugerindo-se estes resultados devido às características anaeróbias desta lagoa.

Na Figura 30 é apresentada a correlação obtida entre as variáveis de L1, quando utilizado o fator1 x fator 2.

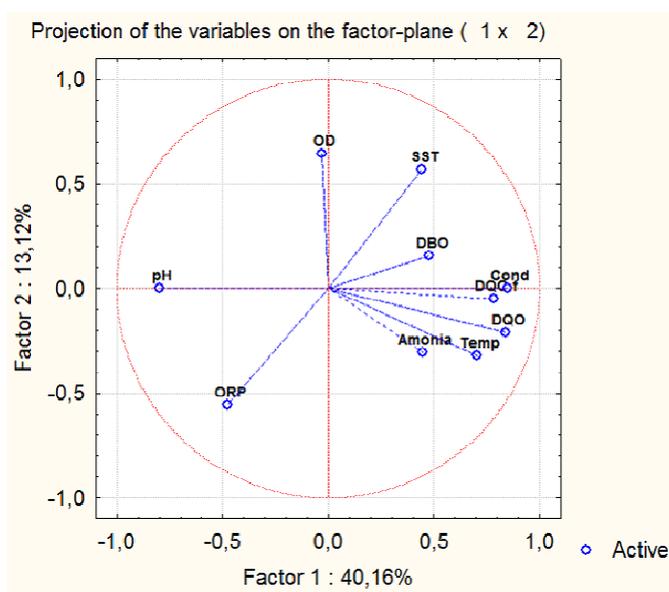


Figura 30: Análise dos Componentes principais. Apresentação do círculo de correlações entre variáveis obtidas dos parâmetros avaliados em L1 (fator 1 x fator 2).

Pode-se perceber, na Figura 30, que existe correlação positiva entre as variáveis (amônia, temperatura, DQO, DQOf, Condutividade) e correlação negativa entre pH e DQOf, pH e condutividade e entre ORP e SST. As variáveis DBO e SST apresentaram correlação positiva entre eles.

Na Figura 31 é apresentada a correlação obtida entre as variáveis de L1, quando utilizado o fator1 x fator 3.

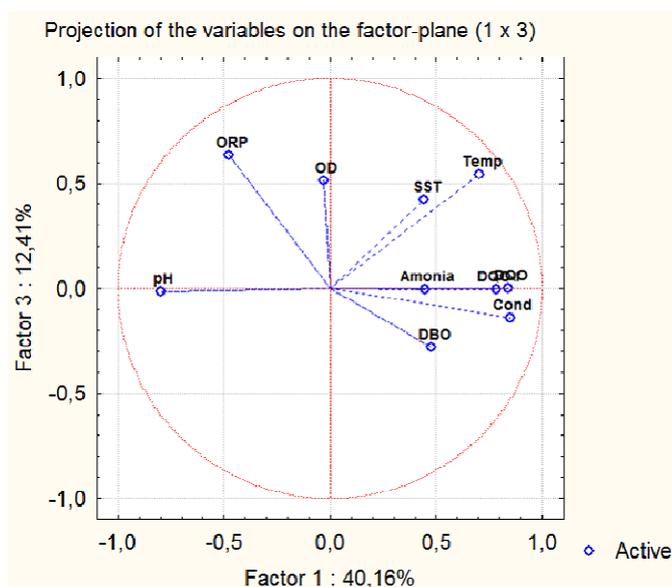


Figura 31: Análise dos Componentes principais. Apresentação do círculo de correlações entre variáveis obtidas dos parâmetros avaliados em L1 (fator 1 x fator 3).

Observa-se, na Figura 31, a manutenção da correlação forte e positiva entre os fatores indicadores de matéria orgânica (DQOtotal, DBO, Amônia) e também da condutividade, estando agora a temperatura em forte correlação com os SST, uma vez que estes estão relacionados com a fração bacterioplancônica, a qual apresenta atividade metabólica favorecida com o aumento da temperatura. Além disso, observa-se uma correlação forte e negativa entre DBO e ORP, bem como DBO e OD.

Efluente da Lagoa 2

Na Tabela 13 são apresentados os três primeiros fatores que possuem autovalores maior que 1, tendo sido escolhidos: fator 1: 5,14; fator 2: 2,14 e fator 3: 1,14, totalizando 76,51%.

Tabela 13. Autovalores e percentuais das variâncias resultantes da análise do efluente de L2.

	Autovalor	Variância Total (%)	Autovalor Acumulado	Variância Total Acumulada (%)
1	5,12	46,57	5,12	46,57
2	2,14	19,54	7,27	66,12
3	1,14	10,40	8,41	76,57

Os coeficientes de correlação entre os fatores artificiais e as 11 variáveis utilizadas para esta análise dos efluentes de L2, são apresentados na Tabela 14.

Tabela 14. Coeficientes de correlação entre variáveis e os fatores artificiais para o efluente da L2.

Variáveis	Fator 1	Fator 2	Fator 3
DQOtotal	-0,718	0,327	0,061
DQOsolúvel	-0,686	0,529	0,072
DBO	-0,891	0,194	-0,117
Amônia	-0,777	0,520	-0,029
Clorofila <i>a</i>	0,076	-0,263	0,792
SST	-0,753	-0,140	-0,209
Temperatura	-0,446	-0,771	0,212
pH	0,649	0,634	0,102
Condutividade	0,531	-0,207	-0,550
OD	-0,900	-0,074	0,126
ORP	0,669	0,563	0,273

O fator 1 possui coeficientes de correlação maior que 0,7 para 5 das 11 variáveis analisadas. Já os fatores 2 e 3, atingem valores maiores que 0,7 apenas para o parâmetro temperatura e clorofila *a*, respectivamente.

O maior coeficiente de correlação associado ao fator 1 (abscissas) foi encontrado para OD (-0,900) e DBO (-0,891); ao fator 2 (ordenadas) foi a temperatura (-0,771) e ao fator 3 (ordenadas) foi o de clorofila *a* (0,792). Desta forma, pode-se concluir que as variáveis de maior representatividade para o efluente de L2 foram o OD, a DBO, a temperatura e a clorofila *a*. Isto possivelmente deve-se, pela condição de oxigenação da lagoa, bem como às condições de proliferação da biomassa algal (indicados pela clorofila *a*) e a dependência da temperatura e da disponibilidade de matéria orgânica neste processo de atividade fotossintética.

Na Figura 32 é apresentada a correlação obtida entre as variáveis no efluente da L2, quando utilizado o fator1 x fator 2.

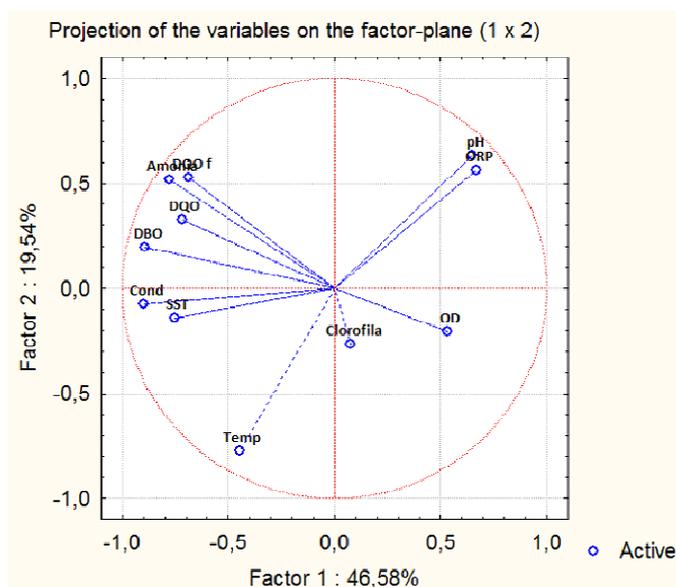


Figura 32: Análise dos Componentes principais. Apresentação do círculo de correlações entre variáveis obtidas dos parâmetros avaliados no efluente da L2 (fator 1 x fator 2).

Observa-se que houve correlação negativa e forte entre o OD e as variáveis indicadoras de matéria orgânica (amônia, DQOf, DQOtotal e DBO), bem como correlação negativa entre a clorofila *a* e esses parâmetros, demonstrando a importância da biomassa algal na manutenção das condições de oxigenação desta unidade experimental, assim como a sua contribuição efetiva na redução destes parâmetros.

Houve correlação positiva entre a matéria orgânica (amônia, DQOf, DQOtotal e DBO), como já observado também na L1, bem como correlações positivas entre os SST e a condutividade. A temperatura apresentou correlação com os SST, conforme também já apresentado na L1. O ORP apresentou forte correlação positiva com o pH sendo estes, negativamente relacionados com a temperatura. A clorofila *a* apresentou ainda, fraca correlação com a temperatura.

Na Figura 33 é apresentada a correlação obtida entre as variáveis no efluente da L2, quando utilizado o fator1 x fator 3.

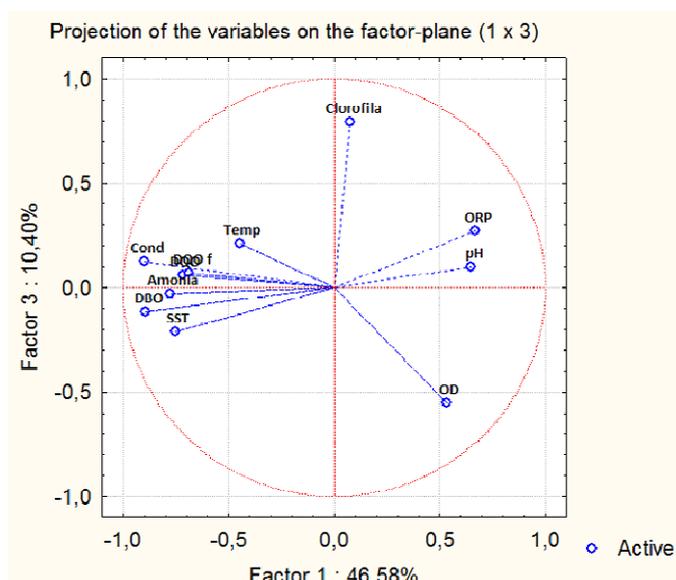


Figura33: Análise dos Componentes principais. Apresentação do círculo de correlações entre variáveis obtidas dos parâmetros avaliados no efluente da L2 (fator 1 x fator 3).

Pela Figura 33 observa-se a correlação negativa entre a clorofila *a* e o pH, bem como a correlação positiva entre os parâmetros indicadores de matéria orgânica, SST, condutividade e a temperatura. Tal fato nos demonstra a importância da matéria orgânica no desenvolvimento dos organismos planctônicos neste sistema. Além disso, observa-se a correlação negativa entre a temperatura e o OD, bem como entre os SST com ORP e pH.

Efluente da Lagoa 3

Na Tabela 15 são apresentados os três primeiros fatores que possuem autovalores maior que 1, tendo sido desta forma escolhidos: fator 1: 3,26; fator 2: 2,64 e fator 3: 1,59, sendo que estes, totalizam 65,17%.

Tabela 15. Autovalores e percentuais das variâncias resultantes da análise do efluente de L3.

	Autovalor	Variância Total (%)	Autovalor Acumulado	Variância Total Acumulada (%)
1	3,26	26,64	3,26	29,64
2	2,64	24,07	5,91	53,72
3	1,59	14,46	7,50	68,19

Os coeficientes de correlação entre os fatores artificiais e as 11 variáveis utilizadas para esta análise dos efluentes de L3, são apresentados na Tabela 16.

Tabela 16. Coeficientes de correlação entre variáveis e os fatores artificiais para o efluente da L3.

Variáveis	Fator 1	Fator 2	Fator 3
DQOtotal	-0,773	-0,392	0,118
DQOsolúvel	-0,551	-0,569	0,311
DBO	-0,709	0,006	0,321
Amônia	0,194	-0,667	-0,499
Clorofila <i>a</i>	0,099	0,240	0,623
SST	-0,691	0,350	-0,075
Temperatura	-0,599	0,632	0,063
pH	0,245	-0,759	0,189
Condutividade	0,331	0,417	0,424
OD	-0,785	-0,446	-0,012
ORP	0,440	-0,438	0,715

O fator 1 possui coeficientes de correlação maior que 0,7 para 3 das 11 variáveis analisadas. Já os fatores 2 e 3, atingem valores maiores que 0,7 apenas para os parâmetro pH, e ORP.

O maior coeficiente de correlação associado ao fator 1 (abscissas) foi encontrado para OD (0,785) e DQOtotal (0,773); ao fator 2 (ordenadas) foi o pH (-0,759) e ao fator 3 (ordenadas) foi o de clorofila *a* (0,623). Desta forma, pode-se concluir que as variáveis de maior representatividade para o efluente de L2 foram o OD, a DQOtotal, o pH e a clorofila *a*. Isto possivelmente deve-se, pela condição de oxigenação da lagoa, bem como às condições de proliferação da biomassa algal (indicados pela clorofila *a*) e a dependência do pH neste processo de atividade fotossintética.

Na Figura 34 é apresentada a correlação obtida entre as variáveis no efluente de L2, quando utilizado o fator 1 x fator 2.

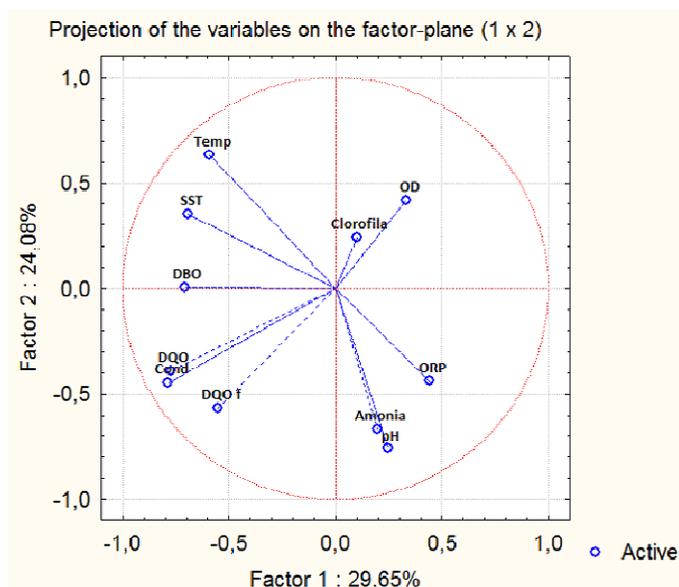


Figura 34: Análise dos Componentes principais. Apresentação do círculo de correlações entre variáveis obtidas dos parâmetros avaliados no efluente da L3 (fator 1 x fator 2).

Observa-se na Figura 34 que no efluente da L3, os dados apresentam maior dispersão, sendo, assim como no efluente de L2, encontradas fortes correlações positivas entre a clorofila *a* e OD, assim como entre os SST e a temperatura. Correlações negativas foram obtidas entre o OD e a DQO filtrada e DQO total, bem como entre o OD e a DBO. Os SST apresentaram correlação com a clorofila *a*, OD e a temperatura, indicando a altas concentrações de biomassa algal na saída desse sistema.

A correlação a amônia e o OD apresentaram-se inversamente proporcionais, e como na L2, os parâmetros indicadores de carga orgânica apresentaram correlação positiva, indicando homogeneidade das lagoas para estes parâmetros.

Na Figura 35 é apresentada a correlação obtida entre as variáveis no efluente de L3, quando utilizado o fator 1 x fator 3.

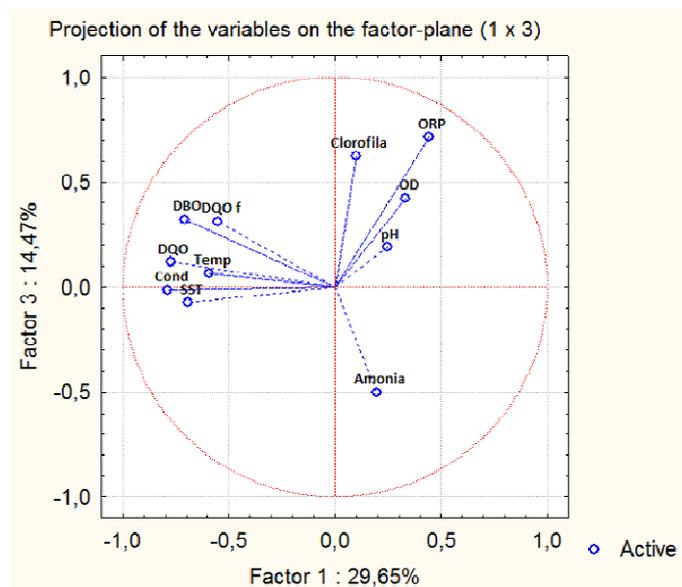


Figura 35: Análise dos Componentes principais. Apresentação do círculo de correlações entre variáveis obtidas dos parâmetros avaliados no efluente da L3 (fator 1 x fator 3).

Observa-se na Figura 36 que a clorofila apresenta-se com forte correlação com OD, ORP e pH, indicando a atividade da biomassa algal na oxigenação desta unidade experimental. A matéria orgânica apresentou correlação com a temperatura conforme anteriormente verificado, sendo que a amônia nesta unidade apresenta fraca correlação com os demais parâmetros.

Síntese da ACP para o sistema

De acordo com a análise dos componentes principais, verificou-se que os fatores artificiais resultantes da análise do sistema de lagoas, apresentaram, para o efluente de L2 e efluente de L3, como variáveis de maior relevância no processo (apresentados pelos altos coeficientes de correlação), o OD e Clorofila *a*, decorrentes da alta concentração de biomassa algal, bem como da aeração decorrente do metabolismo desses organismos.

A DQO_{total}, mostrou-se relevante, tanto em L1 como no efluente da L3, podendo estar relacionado com a alta produção bacteriana neste ambiente bem como com a presença de tecidos e pigmentos algais em decomposição, respectivamente. De acordo com Oliveira e colaboradores (2001), a predominância do fator matéria orgânica, indicado pela DQO e sólidos, demonstra que há necessidade de melhorar a eficiência do sistema, uma vez que indica a má qualidade do efluente. Em estudo com lagoas de estabilização tratando lixiviado industrial,

Rodrigues e colaboradores (2009), encontraram também predominância do fator matéria orgânica representados pelos valores de DQO. Conforme Silva (2007), este fator é predominante em lagoas tratando lixiviados, sendo assim esperada tal característica do efluente, com alta concentração de sólidos e da biomassa algal. Para a L1, observou-se ainda que a amônia e o pH, apresentam-se como parâmetros inversos, uma vez que a volatilização da amônia é controlada pela variação do pH no meio líquido.

Para os efluentes de L2 e L3, estes apresentaram correlação positiva para os parâmetros clorofila *a*, pH e OD em todos as análises assim como uma sutil oposição destes aos demais parâmetros (incluindo carga orgânica). O OD aparece ainda como um fator determinante da variância, mostrando a importância das condições aeróbias nas lagoas. Resultado semelhante foi encontrado por Rodrigues (2009), onde o OD apresentou-se também como fator predominante em ambas as unidades aeróbias estudadas. Assim, para que haja um bom funcionamento destas unidades, torna-se necessário a constante manutenção destes parâmetros, de forma que condições ideais ocorrem mediante altas taxas de atividade fotossintética, resultando em pH e o OD elevados.

4.1.6 Comportamento das Variáveis Físico-Químicas ao Longo do Dia - Lagoas 2 e 3

Nesta análise, os dados serão apresentados através de diagramas de caixa, com valores medianos, quartis (25-75%) e *outliers*. Os gráficos estão representados conforme a profundidade de coleta do ponto central (E), sendo denominados: Superfície (referentes à profundidade 0,1m), Meio (para as profundidades 0,4m em L2 e 0,3m em L3) e Fundo (para as profundidades 0,7m em L2 e 0,5m em L3). Os grupos serão apresentados de forma categorizada, de acordo com a estação (verão e outono) de monitoramento, distintos pelo período de coleta 10 horas (ou manhã); 14horas (ou tarde) e 18horas (ou noite).

Temperatura

A variação da temperatura durante o monitoramento das L2 e L3 ao longo do dia está apresentada na Figura 36. As temperaturas das amostras coletadas foram variáveis conforme a estação do ano. Durante o verão (janeiro a março de 2008) ocorreram as maiores temperaturas, com valores máximos em L2 e em L3 no período das 18 horas (30,74°C e 31,07°C, respectivamente). Na

estação seguinte, correspondente ao outono (março a maio de 2008) a temperatura máxima registrada em L2 e L3, ocorreu no período das 14 horas (27,89°C e 27,11°C, respectivamente).

Em ambas as estações, as máximas temperaturas registradas nas unidades de tratamento, corresponderam ao estrato superior (0,1m). Quanto às temperaturas mínimas registradas, estas, ocorreram nos estratos inferiores e médios, de acordo com a unidade monitorada. Assim valores mínimos foram obtidos no outono (16,38°C e 16,92°C, para L2 e L3, respectivamente), sendo que as mínimas temperaturas no verão estavam em 23,76°C e 22,57°C, para L2 e L3. A diferença entre os valores mínimos para L2 e L3 (16,5°C e 16,9, à 0,1m e 0,5m) no período das 10 horas e o valores máximos (30,7°C e 31,1°C à 0,1m em L2 e L3) no período das 18 horas, demonstram ainda, uma elevada amplitude térmica entre estes dias de coleta (janeiro a maio de 2008).

Analisando-se a distribuição dos diagramas ao longo dos estratos, observou-se uma variação mais acentuada entre a superfície e as demais profundidades, nos períodos das 14 horas e 18 horas para ambas as unidades estudadas, ficando estes (estratos mais profundos) com temperaturas mais homoganeamente distribuídas.

pH

Os valores de pH encontrados durante o monitoramento das lagoas 2 e 3 são apresentados na Figura 37. Para as L2 e L3, os valores máximos atingidos ocorreram no outono (na profundidade 0,1m) e valores mínimos ocorreram no verão, no estrato mais profundo (0,7 e 0,5m). Os valores máximos foram 9,61 e 9,62 e mínimo de 8,82 e 8,60 para L2 e L3, respectivamente.

Os sistemas apresentaram valores de pH em torno de 9,0, com baixa variação ao longo do dia, decaindo minuciosamente na medida em que aumentava a profundidade. Assim, valores máximos foram detectados a 0,1m (9,62) e mínimos a 0,7m (8,82), ambos no período das 10 horas. Maiores mudanças ocorreram ao longo das estações, verificando-se menor amplitude no verão.

A baixa variação registrada nos estratos mais superficiais, em ambas as estações, ao longo do dia, demonstra que o sistema apresentava-se estável, mantendo as condições de oxigenação, mesmo durante a noite (18 horas), uma vez que, de acordo com König (2000), a atividade fotossintética eleva o pH a valores próximos a 9,0 mantendo elevadas as concentrações de OD.

Temperatura (°C)

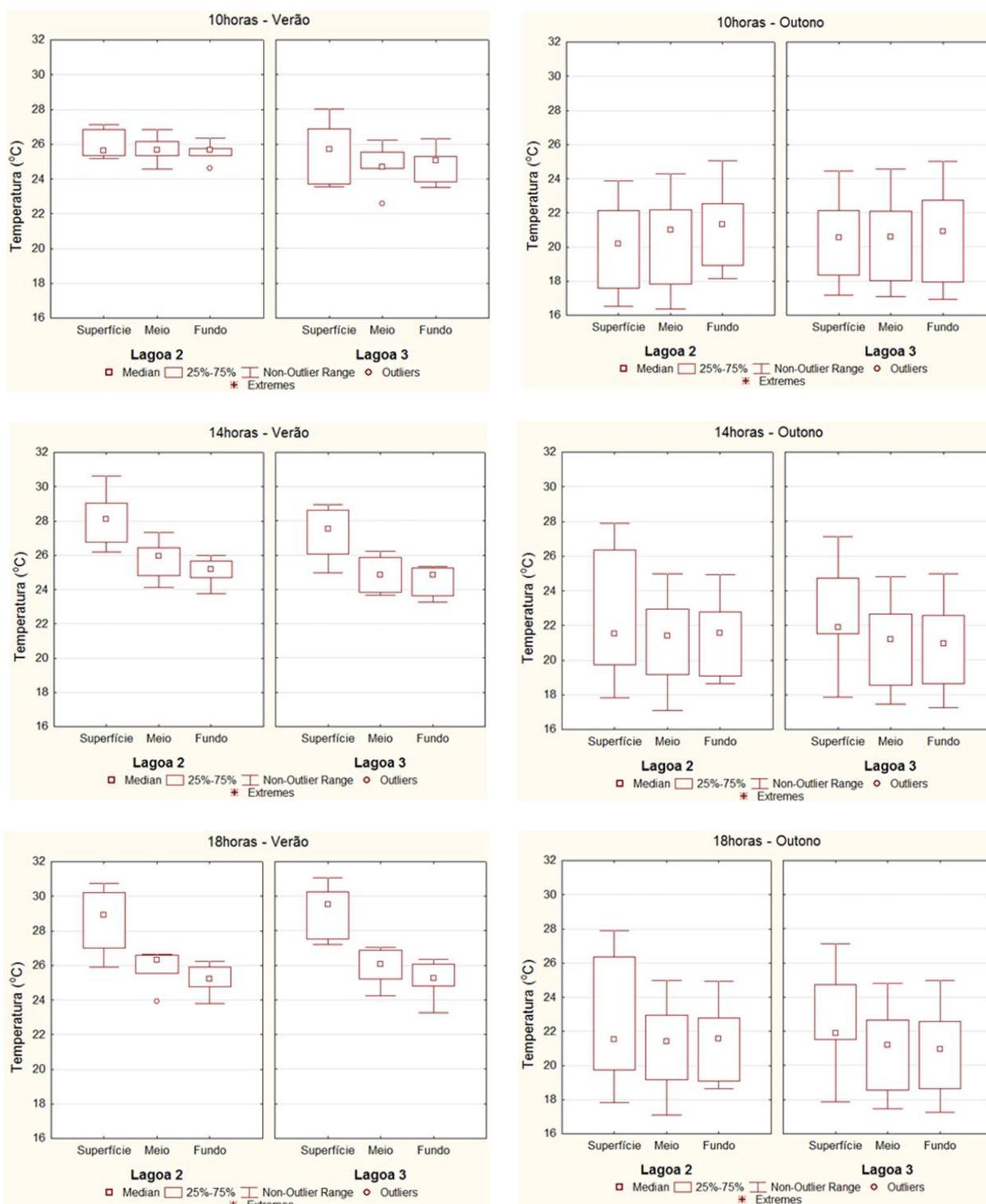


Figura 36: Distribuição (diagramas de caixa) dos dados de temperatura (°C) nas L2 e L3 (Ponto E) nos diferentes horários ao longo do dia (10 horas, 14 horas e 18 horas) e da estação de monitoramento.

pH

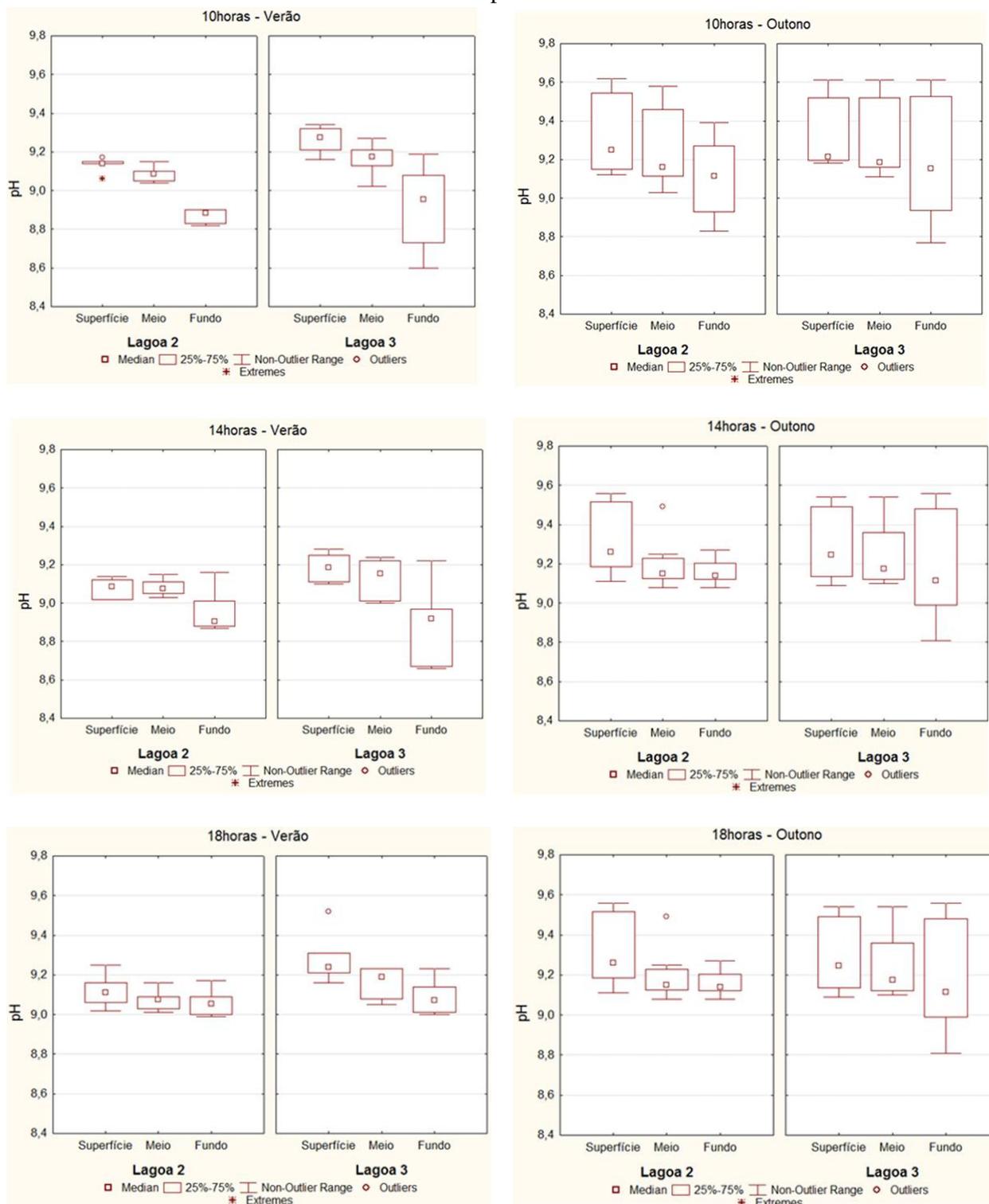


Figura 37: Distribuição (diagramas de caixa) dos dados de pH nas L2 e L3 (Ponto E) nos diferentes horários ao longo do dia (10 horas, 14 horas e 18 horas) e da estação de monitoramento.

Oxigênio Dissolvido (OD)

Os dados de oxigênio dissolvido encontrados durante o monitoramento das lagoas 2 e 3 estão apresentados na Figura 38. Observa-se que o OD apresentou maior amplitude de variação no outono, talvez pela menor incidência de radiação solar, o que minimiza os efeitos de fotoinibição da biomassa algal, contribuindo nos processos fotossintéticos e refletindo sobremaneira na oxigenação da massa líquida. Além disso, a amplitude térmica deste período tornou essas diferenças ainda mais expressivas.

Os valores médios de OD em ambas as unidades apresentaram-se crescentes ao longo do dia, sendo menores os valores no período da manhã e maiores os valores no período da noite. A maior concentração de OD na superfície deve-se aos processos fotossintéticos (realizados pelo fitoplâncton), e pela reaeração superficial através da interface ar-água, produzida pela agitação mecânica dos ventos (KÖNIG, 1990). Além disso, observou-se uma estratificação aparente dessa variável, com expressivo decréscimo na medida em que aumentava a profundidade de coleta.

Os valores máximos encontrados nas L2 e L3 foram 6,5 mg/L e 8,3mg/L, respectivamente (período noturno). Já os valores mínimos registrados foram de 0,14mg/L e 0,1mg/L, respectivamente (período da manhã).

Condutividade

Os dados da condutividade encontrados durante o monitoramento das lagoas 2 e 3 estão apresentados na Figura 39. Observam-se em ambas as unidades de estudo, que esta variável apresentou valores crescentes com o aumento da profundidade, e pouca variação ao longo do dia.

Assim, os valores máximos registrados para L2 e L3 foram 19,550 e 15,560 mS/cm e mínimos de 4,385 e 6,566 para L2 e L3, respectivamente. Na L2 foi possível observar valores mais homogêneos entre os estratos mais profundos (0,4 e 0,7m) quando comparados ao estrato superior (0,1m) em ambas as estações de monitoramento. Já em L3, observou-se um comportamento (valores de mediana) mais homogêneo que em L2, durante o outono. Valores de sólidos suspensos favorecem positivamente a condutividade elétrica no meio.

Oxigênio Dissolvido (mg/L)

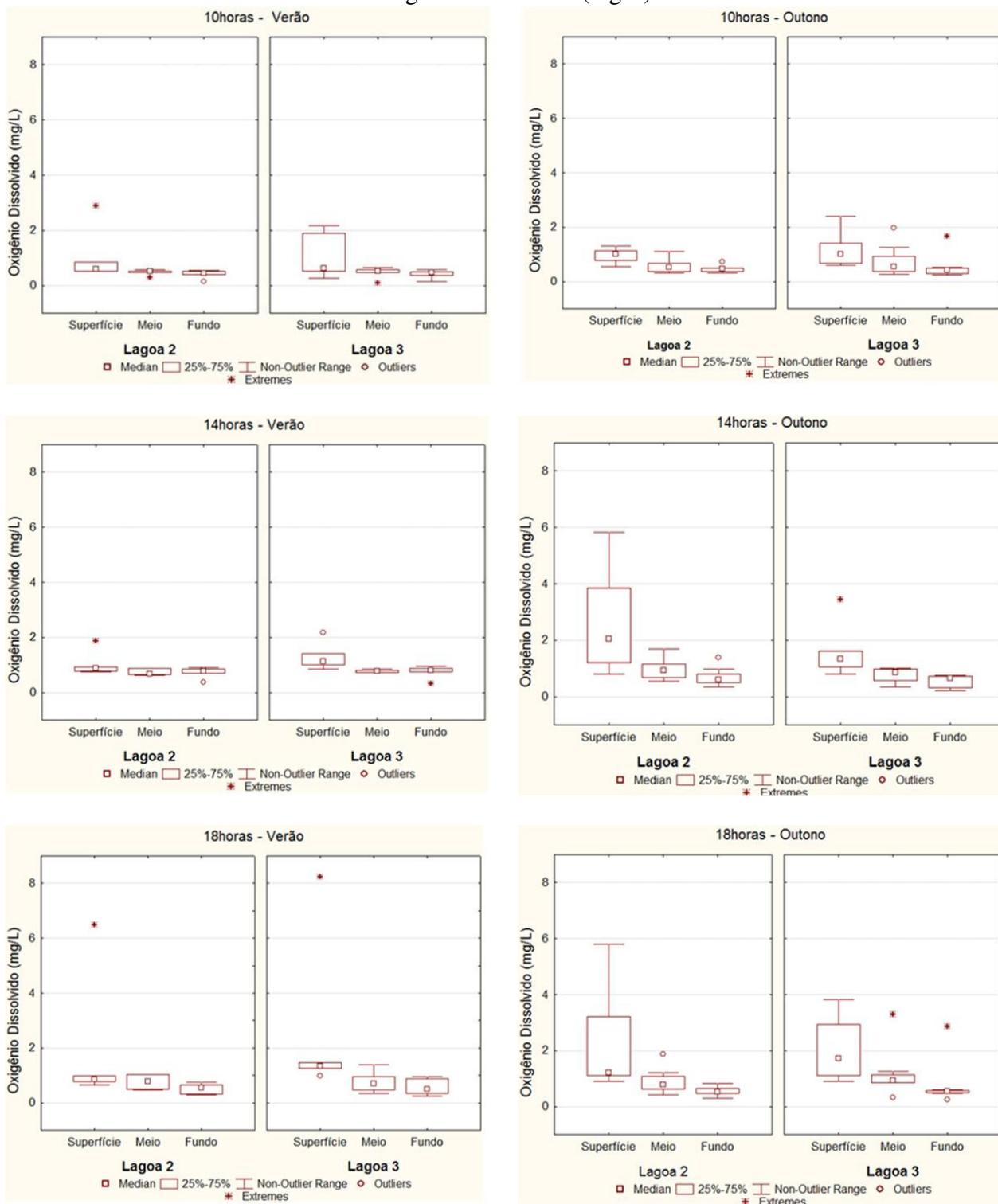


Figura 38: Distribuição (diagramas de caixa) dos dados de Oxigênio Dissolvido (mg/L) nas L2 e L3 (Ponto E) nos diferentes horários ao longo do dia (10 horas, 14 horas e 18 horas) e da estação de monitoramento.

Condutividade (mS/cm)

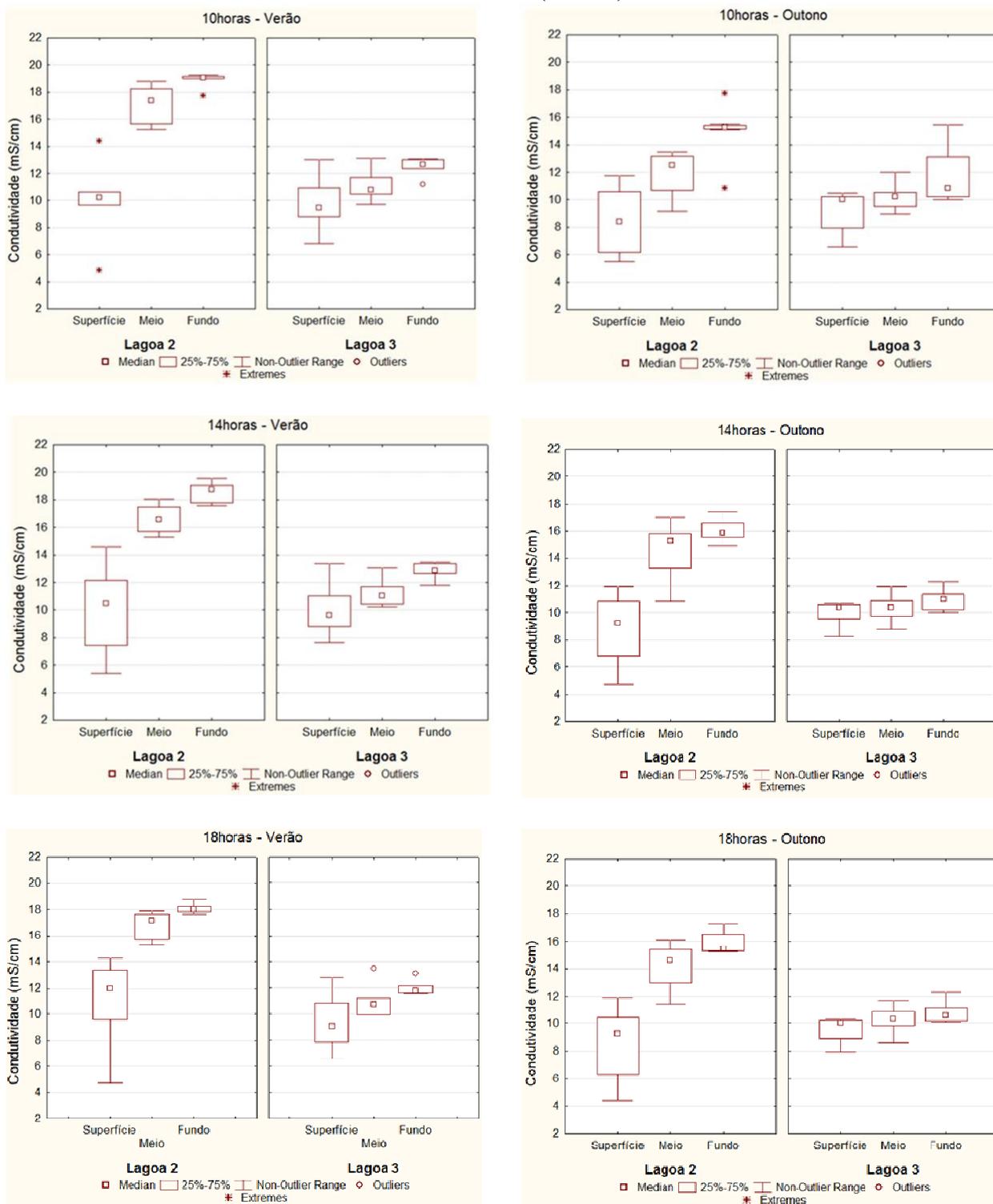


Figura 39: Distribuição (diagramas de caixa) dos dados de Condutividade (mS/cm) nas L2 e L3 (Ponto E) nos diferentes horários ao longo do dia (10 horas, 14 horas e 18 horas) e da estação de monitoramento.

Potencial Redox (ORP)

Os dados do potencial redox (ORP) encontrados durante o monitoramento das lagoas 2 e 3 estão apresentados na Figura 40. Valores do potencial redox encontrados nestas unidades se apresentaram em uma faixa negativa, provavelmente devido ao elevado pH do sistema, uma vez que se apresentam como variáveis inversamente proporcionais.

Observam-se em ambas as unidades de estudo, que o ORP apresentou valores decrescentes, na medida em que se aumentava a profundidade. Na L2, porém, as variações tornavam-se mais acentuadas no verão e mais de maior amplitude no outono, assim como no outono, foram observadas maior incidência de valores positivos. Para L3, o mesmo fato pôde ser observado, além de uma distribuição mais homogênea no outono.

Os máximos valores registrados foram, 123mV e 117mV, e mínimos de -308mV e -314mV, para L2 e L3, respectivamente, sendo os máximos referentes aos estratos superiores e mínimos ao estrato inferior em ambas as unidades monitoradas.

Potencial Redox (mV)

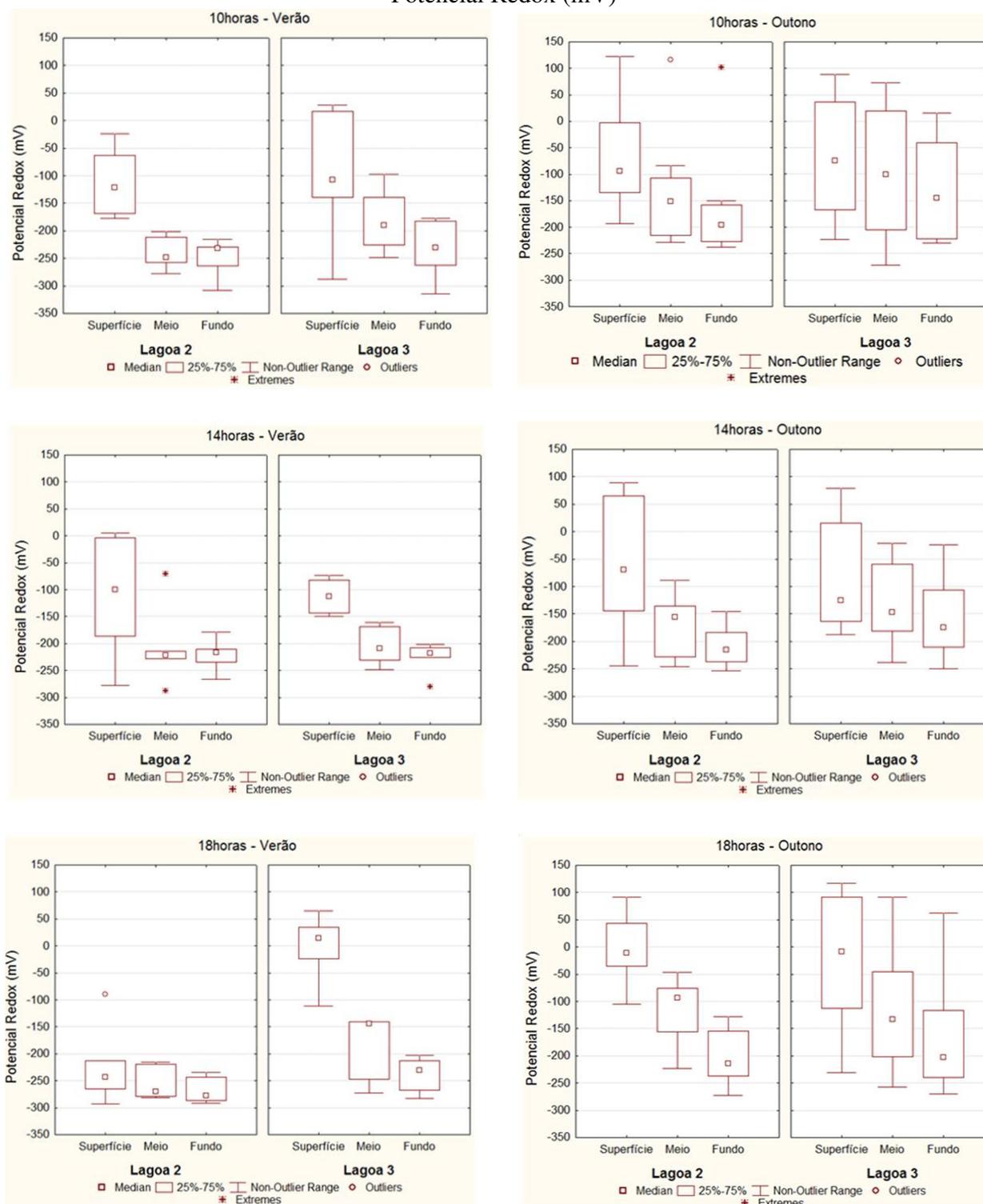


Figura 40: Distribuição (diagramas de caixa) dos dados de Condutividade (mS/cm) nas L2 e L3 (Ponto E) nos diferentes horários ao longo do dia (10 horas, 14 horas e 18 horas) e da estação de monitoramento.

Sólidos Suspensos

A Figura 41 apresenta os valores obtidos para sólidos suspensos nas L2 e L3. Os valores médios em L2 apresentaram uma tendência decrescente no estrato intermediário, quando comparado ao estrato superficial e profundo ao longo das estações. O valor de sólidos suspensos é diretamente proporcional à biomassa algal bem como biomassa bacteriana, o que corresponderia a ocorrência de maiores valores no estrato superior (onde preferencialmente encontravam-se as algas), assim como o elevado valor de sólidos suspensos no estrato mais profundo (onde são preferencialmente encontrados microrganismos).

Já em L3, comportamento contrário à L2 foi observado nos períodos das 10 horas e 14 horas, sendo este semelhante apenas no período das 18 horas. Para os demais períodos, comportamento decrescente pôde ser avaliado, talvez por estes serem os horários de atividade fotossintética, onde então as algas concentrar-se-iam mais superficialmente.

Assim, os valores máximos obtidos em L2 e L3 para os sólidos em suspensão foram 930mg/L e 630 mg/L ambos em 0,1m. Os valores mínimos obtidos foram 50mg/L e 70mg/L, à 0,4m e 0,5m. Em geral, a concentração de sólidos suspensos nas unidades estudadas foi bastante elevada, superior a 300 mg/L.

Clorofila *a*

Na Figura 42 são apresentados os valores obtidos para clorofila *a* nas L2 e L3. A Cloro *a* apresentou grande variação entre os períodos amostrados e entre as profundidades, com maiores valores no outono, em ambas as unidades estudadas, provavelmente pelo fator radiação solar, o qual pode inibir a proliferação do fitoplâncton. Este parâmetro mostrou-se com valores sempre muito maiores na superfície, quando analisados comparativamente aos demais estratos, tendo sido registrados, ainda, nos períodos das 14 horas e 18 horas, valores *outliers* (refletindo em altos valores de desvio padrão) referentes às florações algais, recorrentes nesses períodos, demonstrando a capacidade da biomassa algal de se proliferar nessas unidades.

Valores máximos foram registrados na L2 e na L3, no período noturno, alcançando 2858 μ g/L e 982 μ g/L, respectivamente. Valor mínimo foi de 17 μ g/L no período da manhã, para as duas unidades.

Sólidos Suspensos (mg/L)

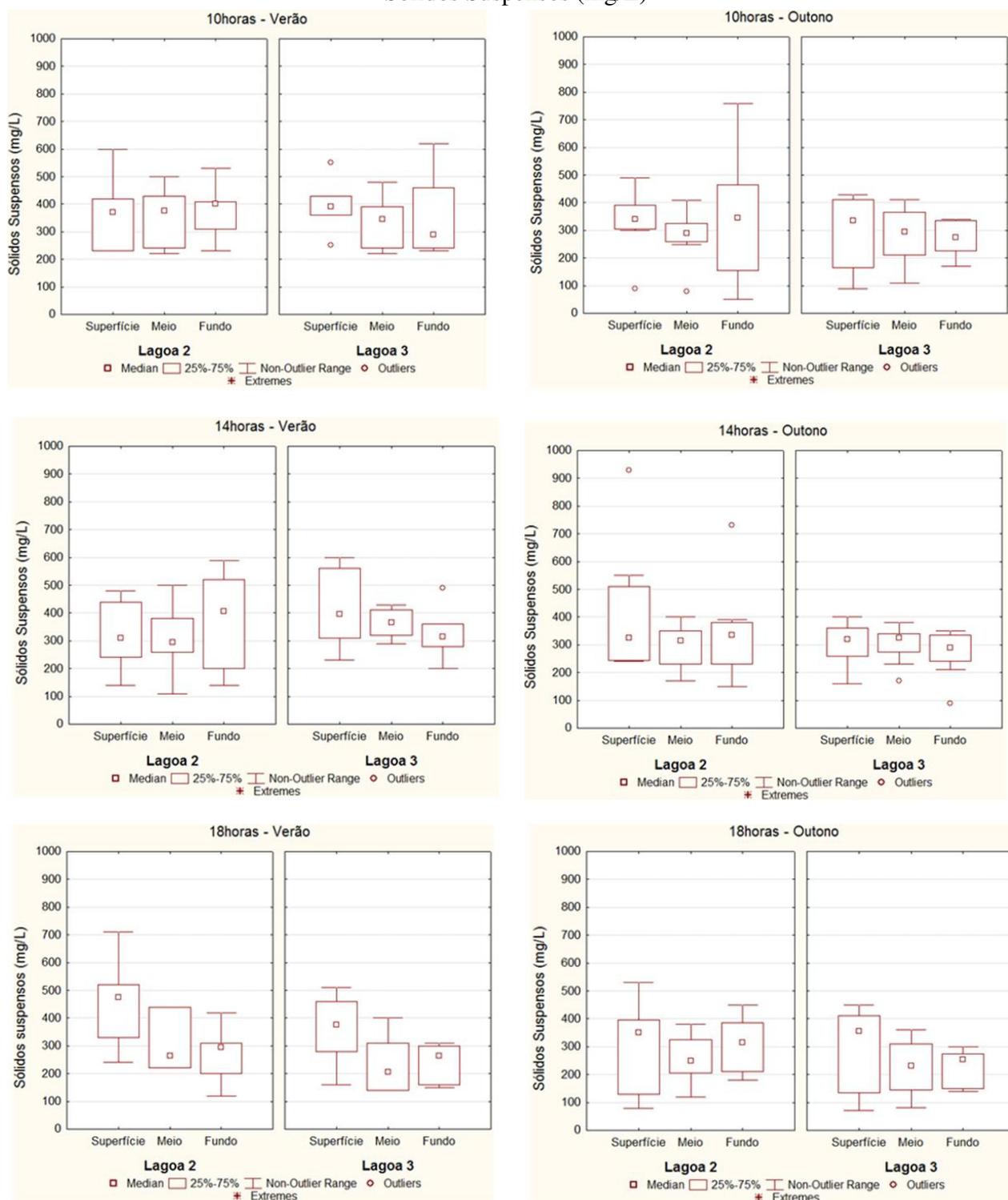


Figura 41: Distribuição (diagramas de caixa) dos dados de Sólidos Suspensos (mg/L) nas L2 e L3 (Ponto E) nos diferentes horários ao longo do dia (10 horas, 14 horas e 18 horas) e da estação de monitoramento.

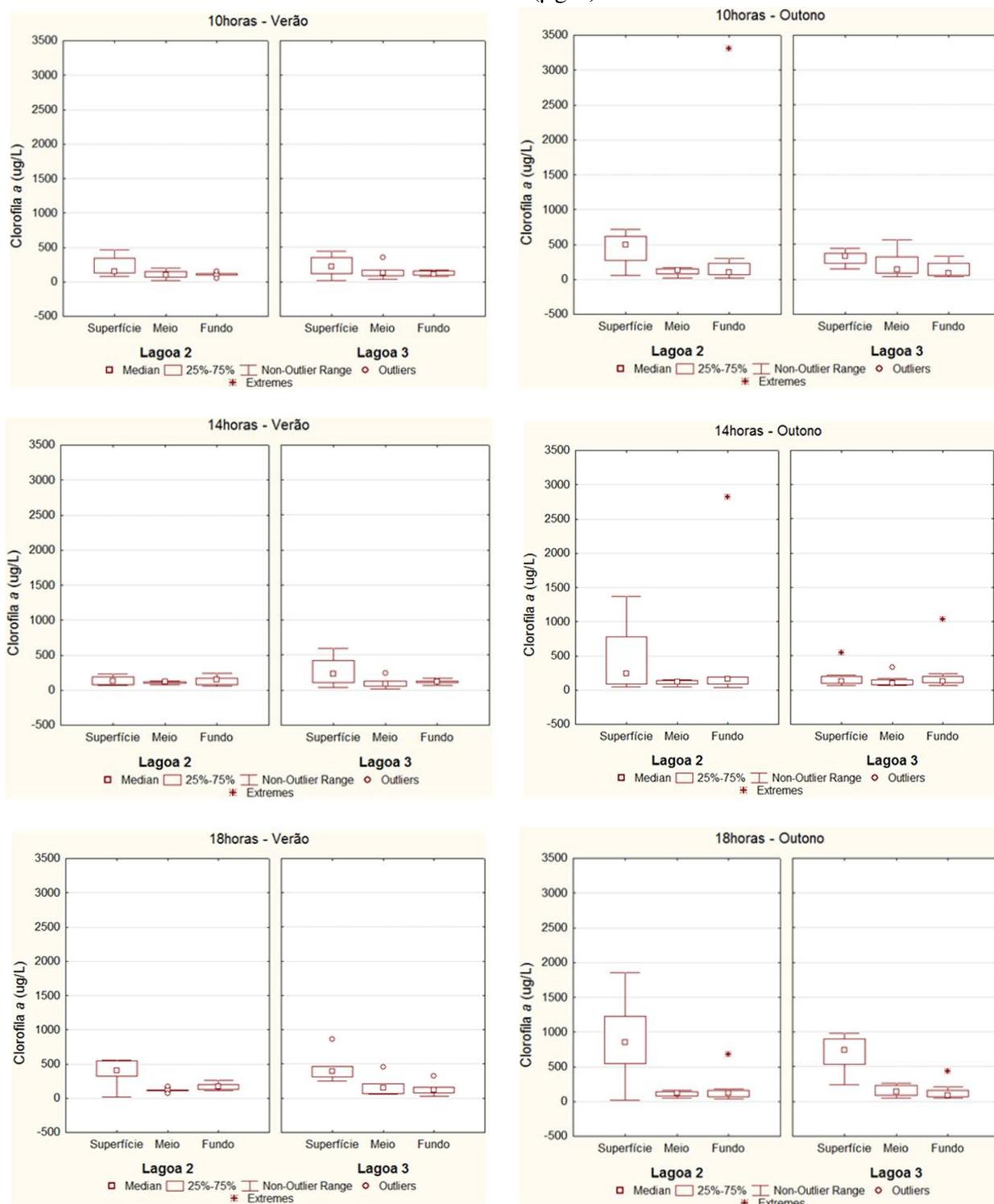
Clorofila *a* ($\mu\text{g/L}$)

Figura 42: Distribuição (diagramas de caixa) dos dados de Clorofila *a* ($\mu\text{g/L}$) nas L2 e L3 (Ponto E) nos diferentes horários ao longo do dia (10 horas, 14 horas e 18 horas) e da estação de monitoramento.

4.1.7 Análise da Biomassa Algal ao Longo do Dia - Lagoas L2 e L3

Os resultados obtidos com a análise quantitativa da biomassa algal, utilizando a Câmara de Sedgewick-Rafter e contagem microscópica, são apresentados na Figura 43, para as lagoas L2 e L3. O gráfico representa o número total de organismos fitoplanctônicos presentes, nos horários das 10 horas (manhã), 14 horas (tarde) e 18 horas (noite) durante todo o período de monitoramento, nas diferentes profundidades (superfície, meio e fundo).

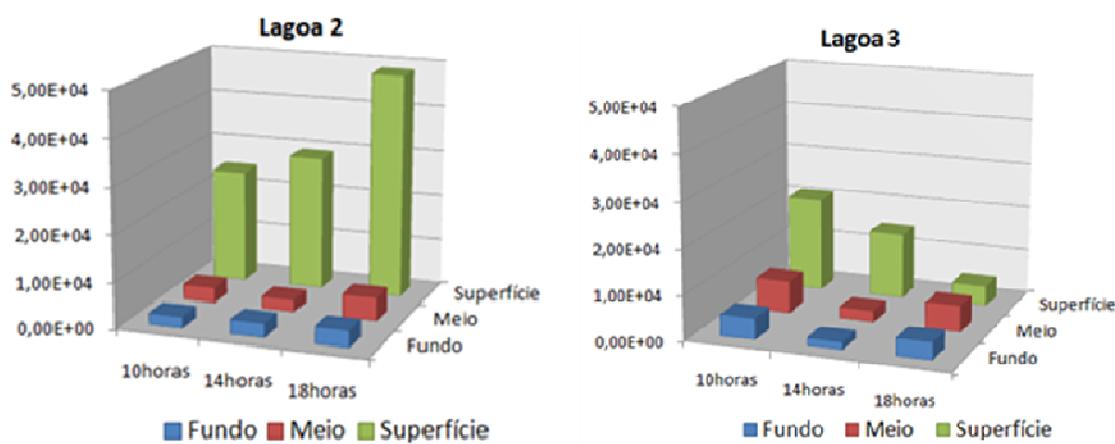


Figura 43 - Contagem de células algais totais em L2 e L3.

Verifica-se que um maior número de células/mL foi encontrado na superfície, em todos os períodos de monitoramento, nas duas unidades experimentais. Contudo, comportamentos diferenciados podem ser observados para cada lagoa onde, em L2, o período de maior incidência fitoplanctônica corresponde ao horário das 18 horas enquanto que para L3, o de maior incidência algal corresponde ao período das 10 horas. Esta incidência elevada de algas em L2, no período noturno, pode ser resultante do metabolismo da alga de maior abundância (*Chlamydomonas*), a qual apresenta-se como organismo químico-autotrófico, podendo utilizar ácidos orgânicos para o seu crescimento, na ausência de luz (LEE, 1999).

Quanto à redução fitoplanctônica em L3 ao longo do dia, esta pode ser justificada pela sua menor profundidade o que desfavoreceria a permanência do fitoplâncton após o período de maior incidência de radiação solar, correspondente ao horário da tarde. Já em L2, por esta ser mais profunda, e pelo fato do gênero fitoplanctônico de maior registro ser *Chlamydomonas* seguido das *Cryptomonas* (ambas dotadas de motilidade), garantiria a possibilidade de migração destas,

ao longo ao longo da coluna d'água, nos períodos de alta radiação sem, no entanto, ocorrer fotoinibição celular.

Estes dois gêneros apresentaram-se presentes em todos os períodos monitorados, tendo sido dominante o gênero *Chlamydomonas*. A Figura 44 apresenta a distribuição desses organismos ao longo do dia em L2 e L3.

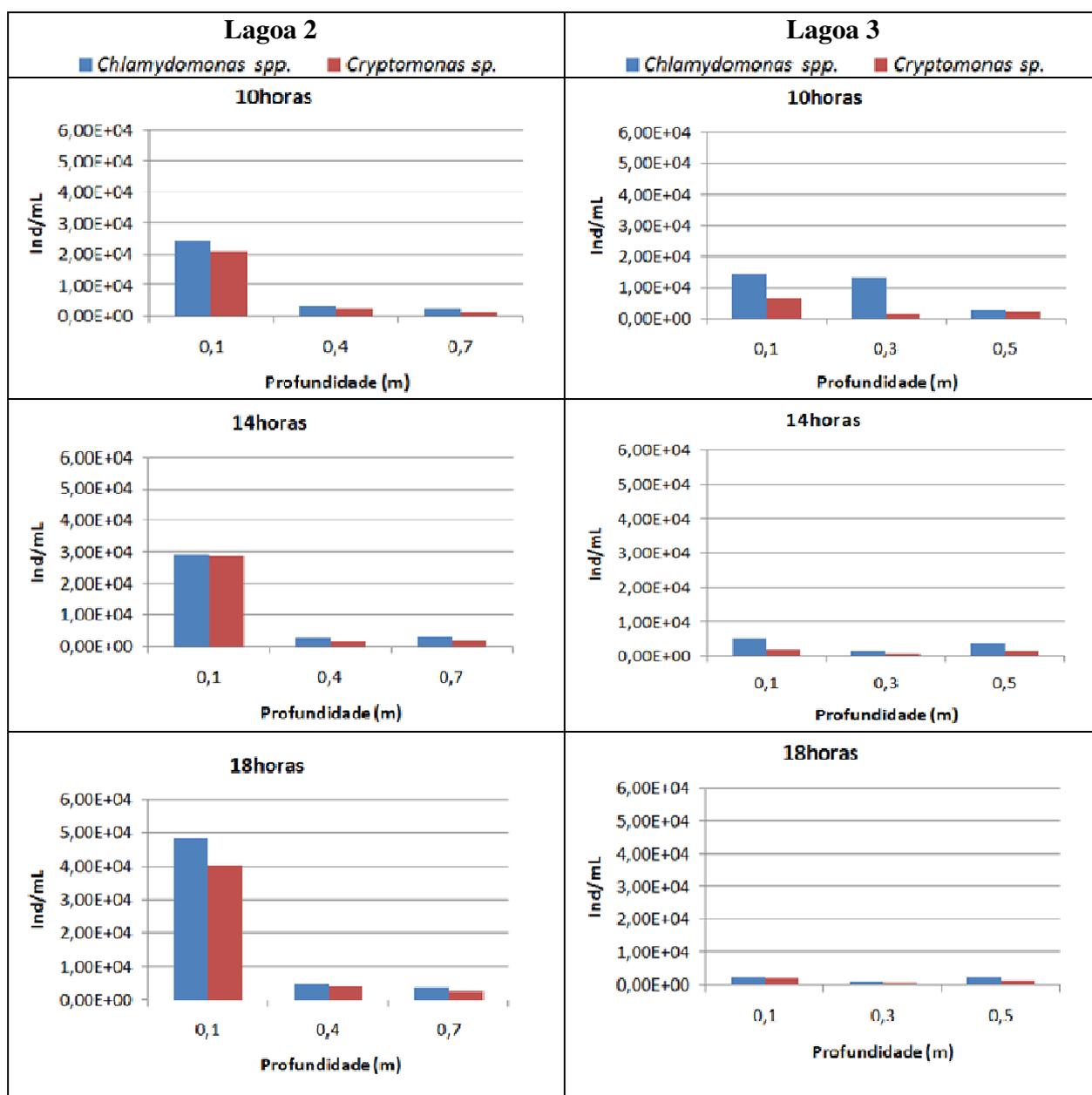


Figura 44: Incidência algal (Indivíduos/ml) nas lagoas 2 e 3, ao longo do dia: 10 horas, 14 horas e 18 horas.

De acordo com os gráficos, pode-se concluir que, em L2, os grupos fitoplanctônicos concentram-se majoritariamente na superfície, ao longo de todos os períodos do dia, enquanto que em L3, estes, encontram-se melhor distribuídos ao longo da coluna d'água. Esta diferenciação entre os sistemas, provavelmente tenha decorrido da menor profundidade de L3.

Os gêneros flagelados são predominantes em condições de alta carga, mostrando grande habilidade de competição já que estes apresentam condições de se mover ao longo da coluna d'água conforme as condições de luz e nutrientes (BRANCO, 1986; MENDONÇA, 2000).

De acordo com Pearson (2005) em lagoas com alta carga orgânica, ocorre a diminuição da biomassa algal, bem como da diversidade de espécies nas lagoas, sendo este impacto ainda maior em lagoas rasas, quando comparada as lagoas mais profundas. Esta elevada carga orgânica leva à “monocultura” de população algal do gênero *Chlamydomonas*, as quais revelam-se como um grupo extremamente tolerante às altas cargas.

Segundo LEE (1999), membros da Família Chlamydomonadaceae, são abundantes em corpos d'água com alta concentração de compostos nitrogenados. Assim, verificou-se a elevada incidência de organismos do gênero *Chlamydomonas* em ambas as lagoas. Estes organismos apresentam-se, com grande habilidade adaptativa, podendo crescer na presença de luz (como organismo fotossintetizante) assim como podem, também, assumir funções heterotróficas. Uma abordagem mais detalhada sobre os grupos taxonômicos documentados neste estudo será apresentada no item 4.3.2.

4.1.8 Perfil Tridimensional - Lagoas L2 e L3

O software SURFER 8.0, usado para representar a distribuição tridimensional da biomassa algal nas lagoas 2 e 3, foi aplicado utilizando valores médios de Clorofila *a*, conforme o período de monitoramento. Estes resultados, foram categorizados por estação do ano (Primavera, Verão e Outono), profundidade na coluna d'água (0,10m, 0,40m e 0,7m para a L2; 0,10m, 0,30m e 0,5m para a L3) e local de coleta (9 pontos), conforme apresentado no item 3.2.3. As Figuras 45 e 46 apresentam a distribuição espacial do fitoplâncton nas L2 e L3, respectivamente, ao longo das estações.

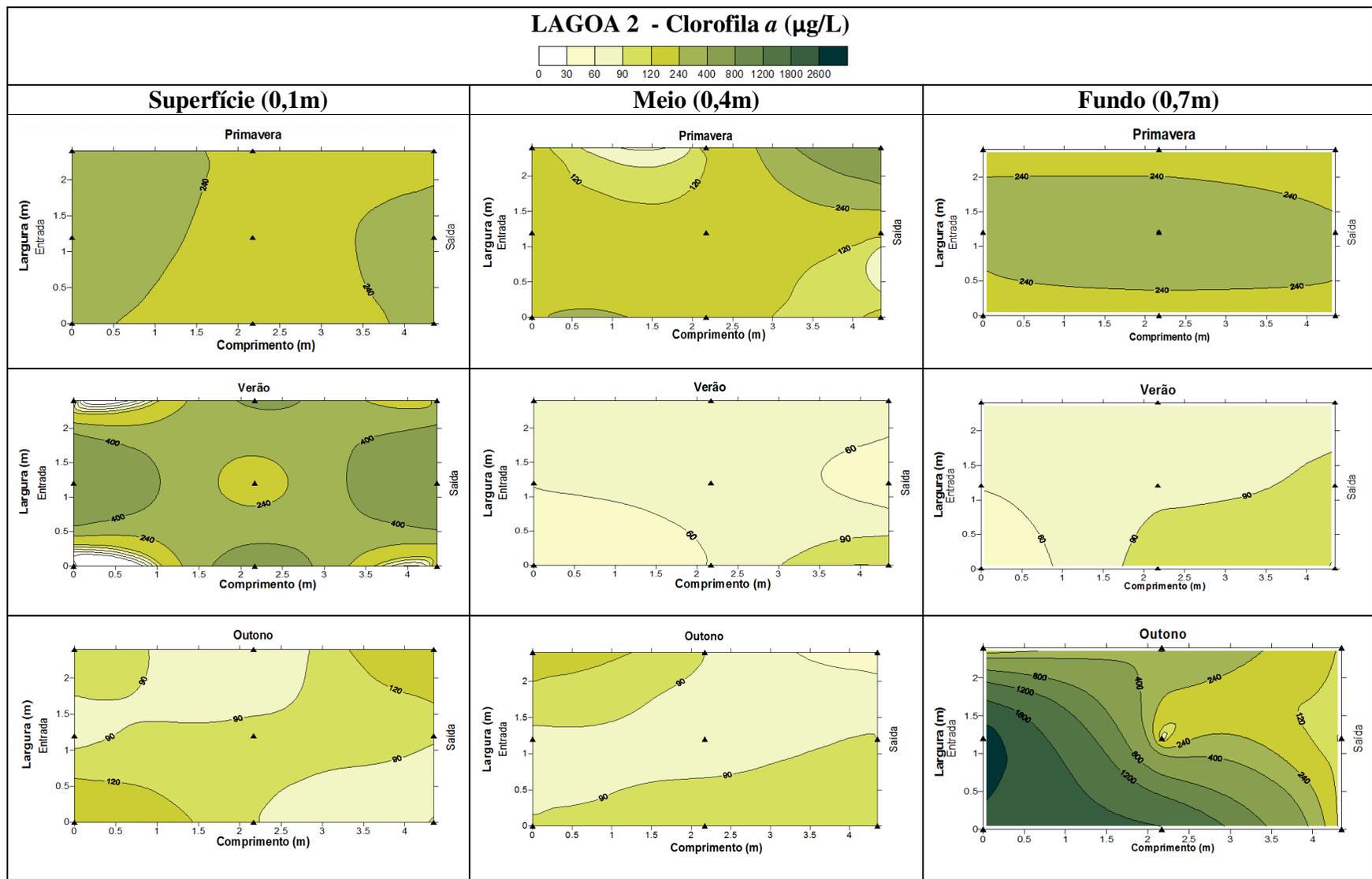


Figura 45: Distribuição tridimensional do fitoplâncton (clorofila *a*) ao longo de três estações do ano, na L2.

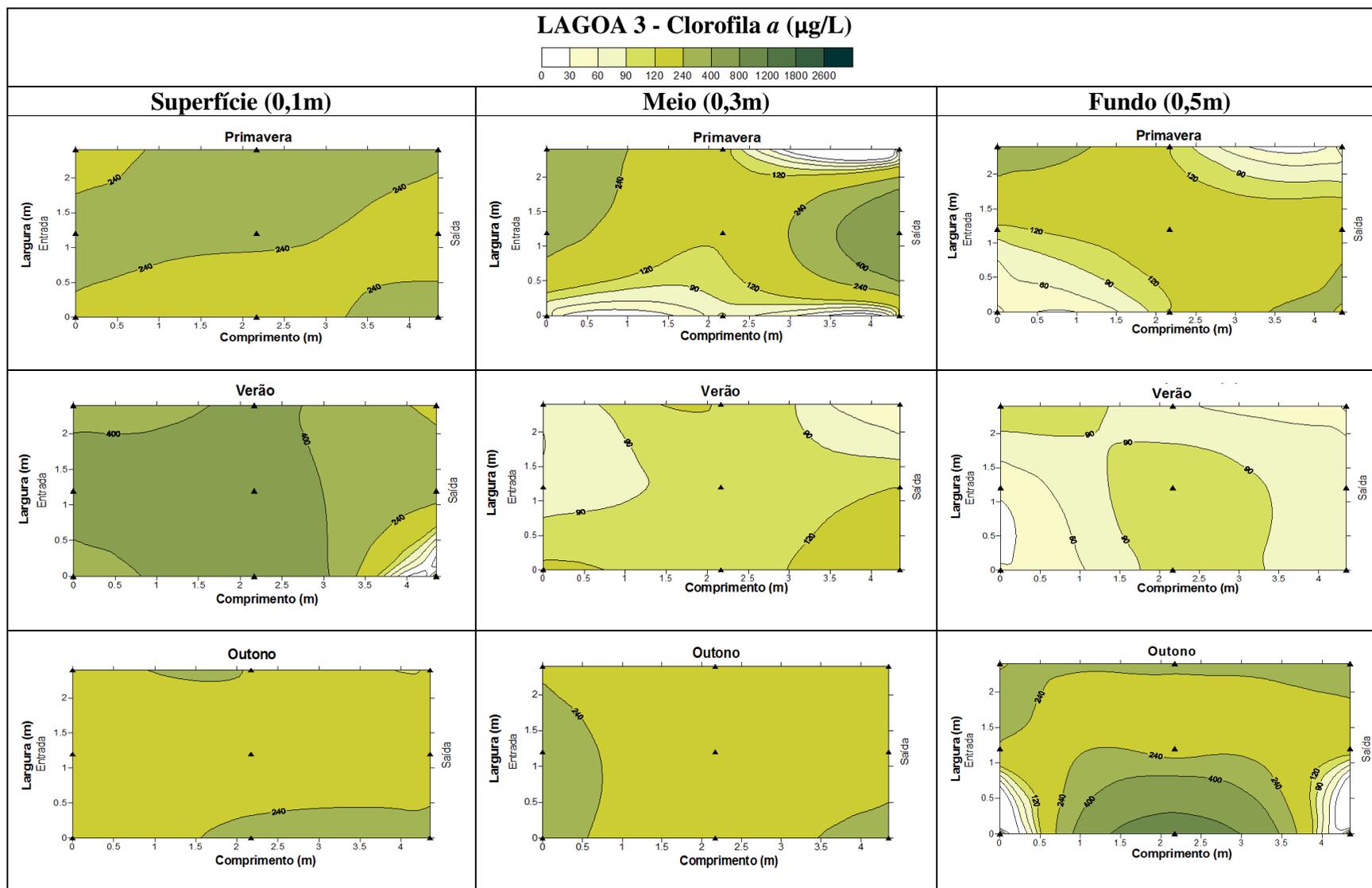


Figura 46: Distribuição tridimensional do fitoplâncton (clorofila *a*) ao longo de três estações do ano, na L3.

O parâmetro Clorofila *a*, foi utilizado para avaliar a dinâmica algal ao longo das estações, no perfil horizontal, para cada profundidade ao longo das unidades experimentais. Conforme apresentado na Figura 45, na L2, a clorofila *a*, na estação da primavera, apresentou distribuição horizontal homoganeamente distribuída para todos os estratos amostrados. Na estação seguinte, correspondente ao verão, devido à maior incidência luminosa, houve maior estratificação entre as profundidades de coleta, sendo que na superfície foi verificada a maior incidência fitoplanctônica quando comparado às demais profundidades.

Esta estratificação apresentou valores inversos no outono, onde foram registrados valores máximos para o estrato mais profundo (0,7m), enquanto valores menores e bem distribuídos foram observados nos demais estratos (0,1m e 0,4m). Esta variação de estratificação e abundância fitoplanctônica, provavelmente deve-se a presença de algas flageladas com grande motilidade, como as *Chlamydomonas*, capazes de migrar para o fundo da lagoa, distribuindo-se próximas ao sedimento. Além disso, um fator que pode ter contribuído para estes valores acentuados no estrato mais profundo, seria a deposição das células mortas nesta região, levando a resultados *outliers*.

De acordo com König (1990) algas flageladas, tendem a se movimentar ao longo da coluna, permanecendo na superfície durante os períodos de maior insolação e deslocando-se para o fundo da lagoa nos períodos de menor intensidade luminosa, ou ainda quando as condições de temperatura não são adequadas, justificando esse aumento da concentração de clorofila *a* na estação de outono a 0,7m. Este fato está de acordo também com os resultados de Diniz e colaboradores (2003), os quais também obtiveram maiores concentrações de clorofila *a* nos estratos superficiais e durante os períodos mais quentes. Nos estratos mais profundos houve diminuição da biomassa algal devido à atenuação da luz solar.

Já em L3 (Figura 46), a distribuição tridimensional apresentou valores mais baixos que em L2, porém, estas apresentaram mais homogêneos ao longo das estações e nas profundidades amostradas. No verão este sistema apresentou maior incidência fitoplanctônica na superfície (0,1m), ao passo que no outono este fato ocorreu no fundo (0,5m), seguindo o padrão de distribuição descrito em L2. As algas não sedimentam com facilidade devido ao seu pequeno tamanho e a sua condição de motilidade (*Chlamydomonas*). Entretanto, em lagoas com condições de alto pH e elevada temperatura (como foi o caso das unidades estudadas), pode ocorrer a

formação de flocos de algas e bactérias (autofloculação) promovendo condições ideais para a sedimentação (NURDOGAN; OSWALD, 1995). Neste sistema, os valores de pH foram superiores a 9,0 para todas as estações, proporcionando tais condições de sedimentação.

4.2 Etapa II – Avaliação Planctônica das Lagoas L2 e L3 com Aeração Artificial em L2

Após o período de monitoramento das L1, L2 e L3, foi iniciado um período de acompanhamento das lagoas aeróbias, após início da aeração artificial em L2. Este período, referentes aos meses de agosto a outubro de 2008, visou uma verificação da dinâmica microbiológica do sistema, quando o oxigênio fosse inserido na lagoa por meio artificial, por um período de 12 horas (início às 20 horas e término às 08 horas do dia seguinte). Desta forma, foram acompanhados os pontos centrais das lagoas (ponto E), nas três profundidades e ao longo do dia sendo: manhã (10horas); tarde (14horas) e noite (18horas).

Na Figura 47 são apresentados os resultados de clorofila *a* durante o monitoramento, em L2 e L3, nos três horários ao longo do dia. Neste período, observou-se que a distribuição deste parâmetro na L2, sofreu drástica redução com o início da aeração artificial, caracterizando esta como uma fase de diminuição da biomassa algal na coluna d'água em todos os períodos monitorados ao longo do dia (10, 14 e 18 horas). Já a L3, nos períodos iniciais do monitoramento apresenta valores também reduzidos de clorofila *a*, tendendo a um aumento gradativo ao longo do monitoramento.

De forma geral, a concentração da biomassa algal foi menor durante as fases iniciais de aeração, provavelmente pelo revolvimento do lodo de fundo, ocorrido nos períodos iniciais de aeração. Segundo Von Sperling (1996), em águas com elevada turbidez (seja pela concentração de sólidos em suspensão ou pela desagregação das partículas do fundo) a presença de luz, necessária aos organismos fotossintetizantes, torna-se menor e, portanto, um fator limitante, levando a diminuição destes no meio. Além disso, por ter ocorrido um superávit de oxigênio neste período devido à aeração artificial (valor médio em $4,26 \pm 1,6$ mg/L em L2), o desenvolvimento dos organismos heterotróficos foi favorecido.

Contudo, após um mês de monitoramento, na L3 observou-se um aumento na concentração de clorofila *a*, com valores máximos registrados no período da tarde, no estrato mais profundo. Já

L2, apenas inicia uma fase de aumento da biomassa fitoplancônica, na última semana de monitoramento, com valores máximos registrados no período noturno, no estrato mais profundo.

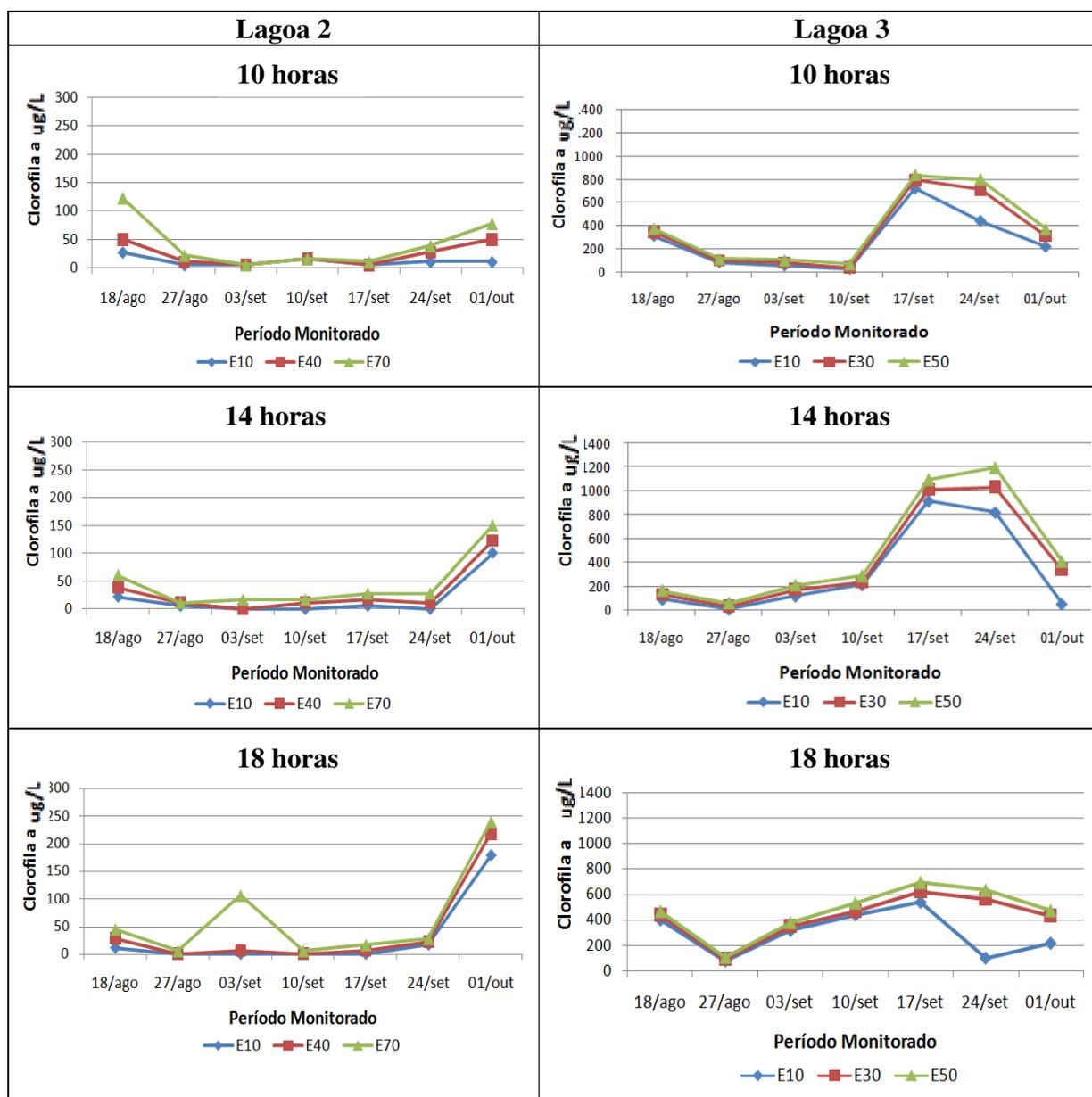


Figura 47: Distribuição da biomassa algal ($\mu\text{g/L}$) ao longo do dia em L2 e L3, no período após aeração.

A diminuição do fitoplâncton em L2 e L3, avaliados pela a concentração de clorofila *a*, foi melhor investigada, através da análise qualitativa das amostras, ao longo do dia.

Verificou-se desta forma, que as unidades experimentais, nesta etapa, apresentaram elevada incidência de organismos ciliados, livres natantes, os quais, no período sem aeração, não apresentavam ocorrência neste sistema. Os ciliados, segundo Streble e Krauter (1985) alimentam-se de bactérias, flagelados, algas, outros ciliados, rotíferos, grânulos de amido e gotas de gordura, desempenhando importante papel na mineralização no meio aquático. Contudo, por serem seres dotados de grande atividade locomotora, tendem a diminuir caso haja minimização de alimento, uma vez que demandam quantidades extraordinariamente grandes de energia (BRANCO, 1986).

Além dos ciliados, os grupos fitoplanctônicos registrados na fase sem aeração, continuavam presentes embora, nesta etapa, em número bastante reduzido. Assim, organismos pertencentes ao gênero *Chlamydomonas* e *Cryptomonas* foram também encontrados.

Os resultados obtidos, através da avaliação microscópica e contagem em Câmara de Sedgewick-Rafter, destes organismos no sistema, são apresentados na Figura 48. O gráfico representa o número total de organismos (indivíduo/mL), nos horários das 10horas, 14horas e 18horas, durante todo o período de monitoramento (agosto a outubro de 2008), nas diferentes profundidades, para as L2 e L3

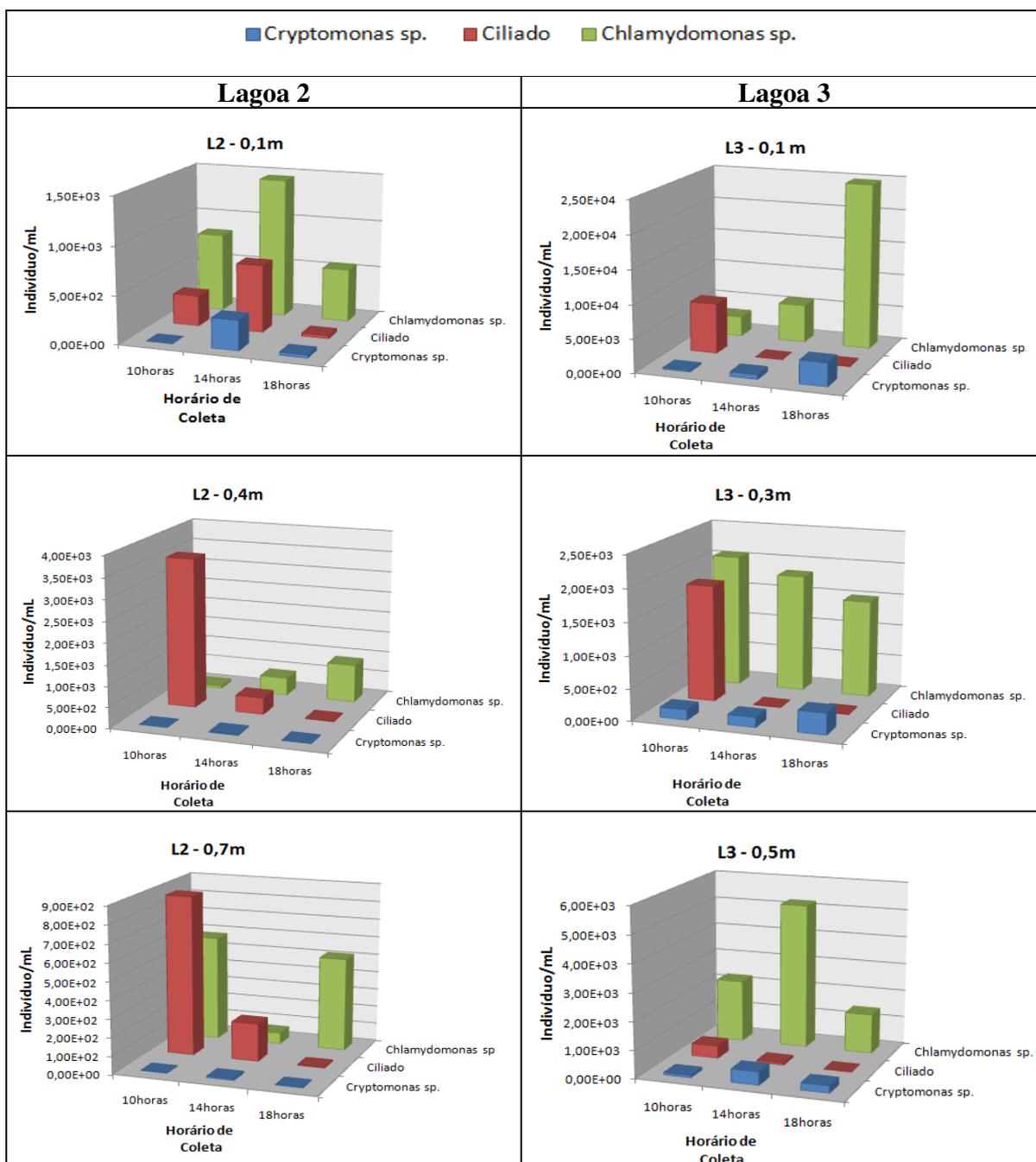


Figura 48: Incidência plancônica (Indivíduos/ml) em L2 e L3, ao longo do dia, no período após aeração.

Através da análise dos gráficos da Figura 48, é possível verificar, na L2, que durante os períodos de maior incidência luminosa (14 horas), na superfície (0,1m), há um maior número de organismos do gênero *Chlamydomonas*, enquanto que nos estratos mais profundos, principalmente no horário da manhã, tornam-se mais recorrentes os ciliados, os quais tendem a

diminuir ao longo do dia (período referente a 14 e 18 horas). Este fato pode ter decorrido, uma vez que a aeração apenas ocorria no período noturno, o que provavelmente levava à readaptação dos ciliados, os quais haviam sido reduzidos no período anterior. Quanto às *Cryptomonas* presentes na L2, estas, embora em número significativamente menor que de *Chlamydomonas* apresentaram-se também em maiores concentrações no horário das 14 horas (maior incidência luminosa) no estrato mais superficial (0,1m).

Já em L3 observou-se, ao longo do dia, quantidades crescentes de *Chlamydomonas*, tendo sido registrada maior ocorrência a 0,1m (chegando a apresentar 1 unidade de *log* à mais de células por mL, que as demais profundidades). Os ciliados encontraram-se, assim como em L2, em maior número no período da manhã, com valores máximos obtidos no estrato intermediário (0,3m). O gênero algal *Cryptomonas* apresentou maior ocorrência a 0,1m, no período noturno.

4.3 Diversidade Taxonômica – Análises Microscópicas

4.3.1 Lagoa Anaeróbia (L1)

Na lagoa 1 foi detectada presença do bacterioplâncton e ausência dos demais grupos planctônicos, uma vez que seu funcionamento ocorre em anaerobiose além de não apresentar incidência de luminosidade (pois funciona exclusivamente coberta). Análises microscópicas foram realizadas também nesta lagoa, a fim de observar a morfologia dos microrganismos presentes, conforme mostrado na Figura 49 A, B, C e D.

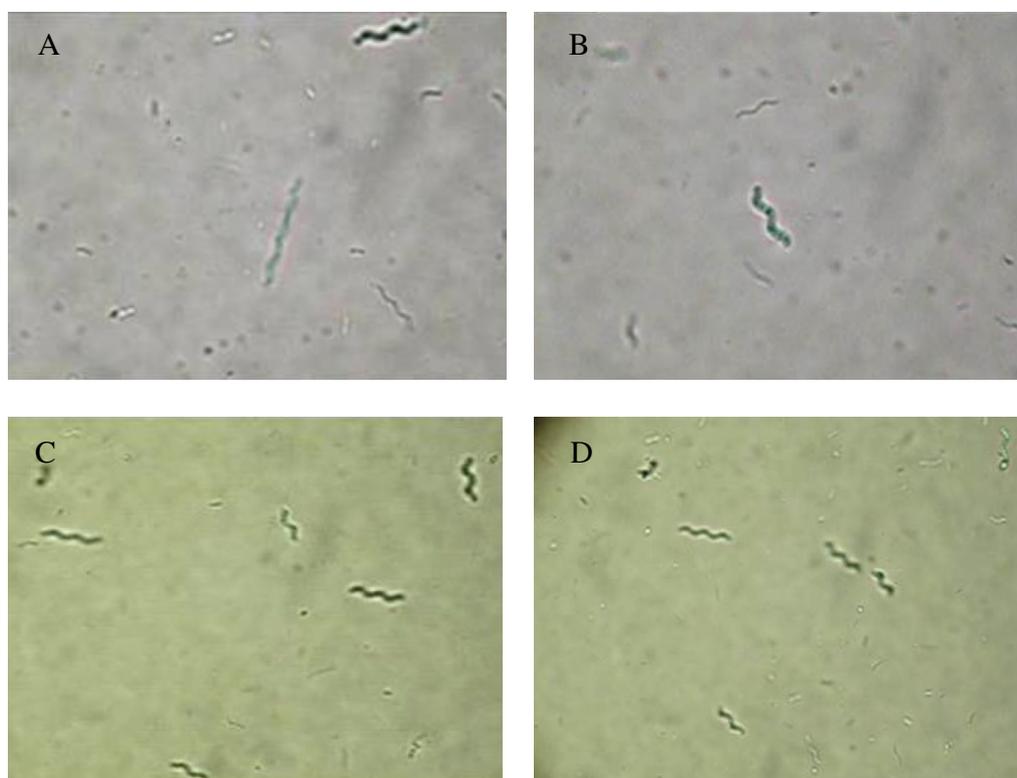


Figura 49: Microrganismos encontrados na lagoa 1. A e B) Microrganismos coletados na superfície (0,1m) e C e D) Microrganismos de fundo (0,7m). Microscopia óptica (1000X).

Conforme apresentado, pode-se verificar em ambos os estratos amostrais, grande número de células bacterianas cilíndricas ou bastonetes (bacilos), as quais ocorriam ocasionalmente em pares (diplobacilos) ou em cadeias (estreptobacilos). Estes padrões muitas vezes não constituem características morfológicas, mas sim, refletem a etapa de crescimento ou condições do meio.

Bactérias espiraladas foram também recorrentes, ocorrendo predominantemente como células isoladas, com variações no comprimento, número e amplitude das espirais. Organismos curtos, com espiras incompletas (vibriões) foram também encontrados.

4.3.2 Lagoas Aeróbias (L2 e L3)

As unidades aeróbias componentes do sistema de tratamento se apresentaram, no contexto taxonômico, formados por uma comunidade fitoplânctônica de baixa diversidade, composta de 5 *taxa* principais, entre gêneros e espécies, sendo 2 da classe Chlorophyceae, 1 Cryptophyceae e 2 Bacillariophyceae.

Dentre os organismos presentes nas lagoas, estão os pertencentes à Divisão Bacillariophyta. Estes foram ocorrentes nos períodos iniciais (após estabilização do sistema), representados por indivíduos pertencentes ao gênero *Navícula* sp. e *Nitzschia* sp., tendo sua presença diminuída, gradativamente, com conseqüente desaparecimento deste gênero nas unidades de tratamento.

Organismos pertencentes à esta Divisão, são utilizadas como indicadoras, auxiliando nas investigações a longo prazo, em ambientes perturbados ecologicamente por fatores tais como mudança climática, acidificação da água e eutrofização. De acordo com Kobayasi e Mayama (1989), as diatomáceas podem ser bioindicadores ideais também em locais poluídos, por serem organismos bastante sensíveis às variações quanto a composição química da água, fato este que justifica sua diminuição ao longo da estabilização do sistema, tendo sido apenas registrados nos períodos iniciais (onde a carga orgânica era de 75%), não tolerando as etapas subseqüentes de carga orgânica no sistema. Segundo Mendonça (2000), o gênero *Navícula* e *Nitzschia* apresentam ocorrência significativa em lagoas eutróficas. Na Figura 50 (A e B) são apresentados os grupos acima citados.

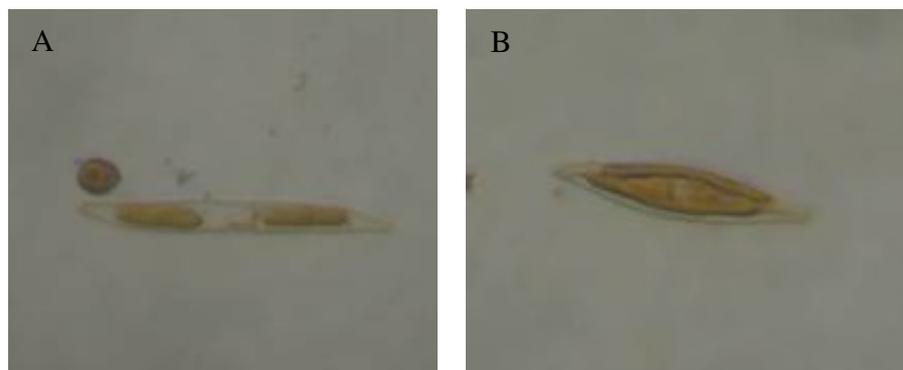


Figura 50: Grupos de diatomáceas presentes nas fases iniciais do tratamento. A) *Nitzschia* sp. presente na lagoa 3, e F) *Navicula* sp. presente em ambas as unidades.

Os demais organismos, presentes nas unidades do sistema de lagoas, pertencem ao grupo dos fitoflagelados (flagelados pigmentados ou cloroflagelados). Destes, foram também recorrentes organismos pertencentes à Divisão Cryptophyta (*Cryptomonas* sp.), os quais, segundo Streble e Kauter (1985) habitam águas estancadas e contaminadas. Cryptophytas são freqüentemente sujeitos à migrações verticais com uma baixa amplitude (<5 metros). Segundo Lee (1999) são comuns em pequenos lagos espécies de *Cryptomonas* com fototactismo, migrarem, no período da manhã, para a camada superior, auxiliando na depleção de fósforo. Mais tarde, as células afastam-se da camada superior da água, evitando altos níveis de irradiação, avançando para o hipolímínio. Na Figura 51 são apresentados estes organismos.

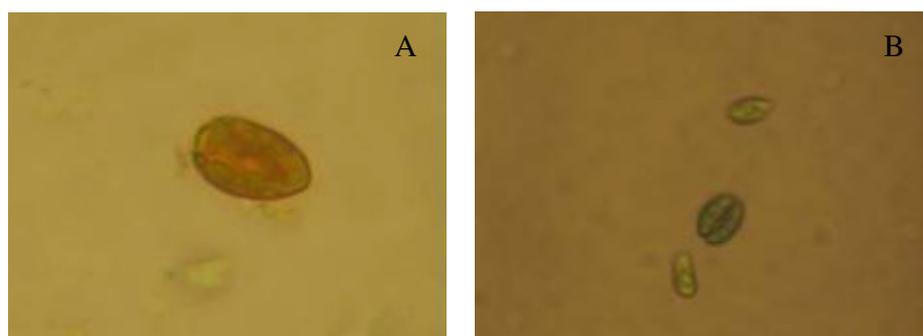


Figura 51 - Presença de *Cryptomonas* sp. nas unidades aeróbias do sistema. Microscopia óptica: A) Aumento 1000X e B) Aumento 400X.

Porém, organismos da Divisão Chlorophyta, representaram o grupo com maior número de indivíduos, ou seja, dominantes, tomando-se os conceitos de dominância propostos por Lobo e Leighton (1986), os organismos do gênero *Chlamydomonas* (Divisão Chlorophyta, Classe

Chlorophyceae, Ordem Volvocales, Família Chlamydomonadaceae), uma vez que se apresentam com uma ocorrência numérica superior a 50% do número total de indivíduos amostrados.

O gênero *Chlamydomonas* abrange organismos isolados, biflagelados, móveis, com mais de 600 espécies, formadas por indivíduos de maior dimensão, ocorrendo em solos e habitats aquáticos. Este gênero foi relatado comum em ambientes altamente eutróficos ou em corpos d'água com elevado nível de nutrientes (nitrato, amônia e fosfato).

Os gêneros flagelados como *Chlamydomonas*, são predominantes em condições de alta carga, apresentando grande tolerância à ambientes contaminados, uma vez que suportam ambientes ricos em matéria orgânica em decomposição ou altamente mineralizados por esta (BRANCO,1986). Dentre outras adaptações seletivas, a motilidade destes organismos, caracteriza excelente vantagem adaptativa, pois possibilita a movimentação ao longo da coluna d'água, conforme as condições de luz e nutrientes, por exemplo.

De acordo com Athayde e colaboradores (2000), em um estudo de diversidade algal em lagoas de estabilização tratando esgoto doméstico, quando a matéria orgânica afluyente no sistema era máxima (~500kg.DBO₅/ha.d), somente quatro gêneros tornaram-se freqüentes, sendo eles: *Euglena*, *Oscillatoria*, *Chlamydomonas* e *Pyrobotrys*. Ainda para este mesmo autor citando Palmer (1969), a poluição por matéria orgânica é o fator de maior influência sobre a flora algal no meio aquático, estando o gênero *Chlamydomonas* entre os 5 principais gêneros algais tolerantes à elevada poluição, incluindo tolerância à poluição por amônia.

Quanto à característica e densidade do gênero *Chlamydomonas*, segundo Streble e Krauter (1985), tem-se organismos que habitam águas estancadas e também contaminadas, podendo em um litro de água ser encontrados 100 milhões de células. Na Figura 52, são apresentadas imagens destes organismos nas lagoas 2 e 3.

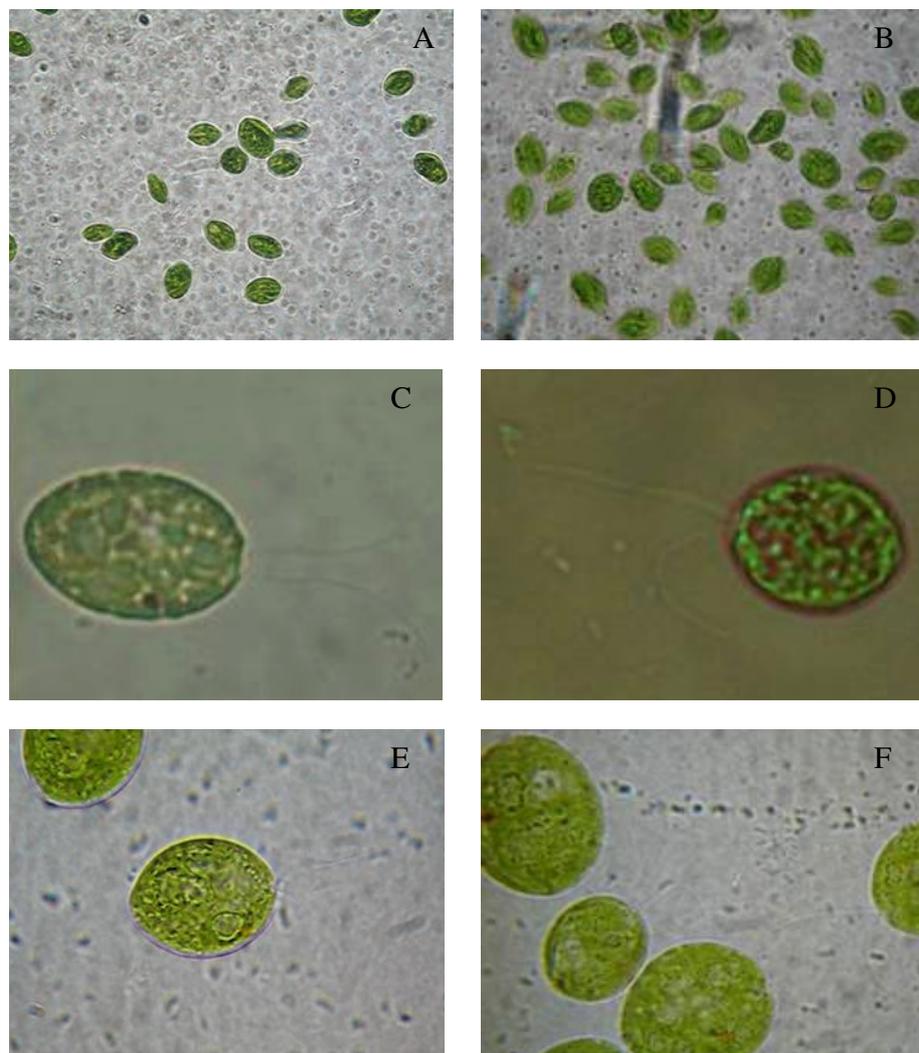


Figura 52 - Presença de *Chlamydomonas* sp. nas unidades aeróbias do sistema. (Microscopia óptica: A e B) Amostra L2 e L3 respectivamente (400X), C, D, E e F) *Chlamydomonas* sp. presente em L2 e L3 (1000X).

Nestas unidades aeróbias, foram encontrados, muito frequentemente, organismos do gênero *Chlamydomonas* em fase de reprodução, indicando alta produtividade em ambas as unidades de tratamento. Os volvocídios reproduzem-se por métodos assexuados, sendo comum a formação de cistos (produção de esporos assexuados precedido por divisão mitótica do núcleo, e pela divisão do protoplasma). Porém, pode ocorrer ainda a permanência destes cistos (Figura 53), formados por clivagem longitudinal, por certo tempo, depois da divisão, dentro da parede celular parental, podendo se observar nitidamente, de quatro a oito pequenas células filhas dentro da membrana parental (HOEK; MANN; JAHNS, 1995). Além deste procedimento reprodutivo, comum deste

grupo, células em processo de divisão longitudinal foram também encontradas, em ambas as lagoas, conforme apresentado na Figura 54 (A e B) e Figura 55.

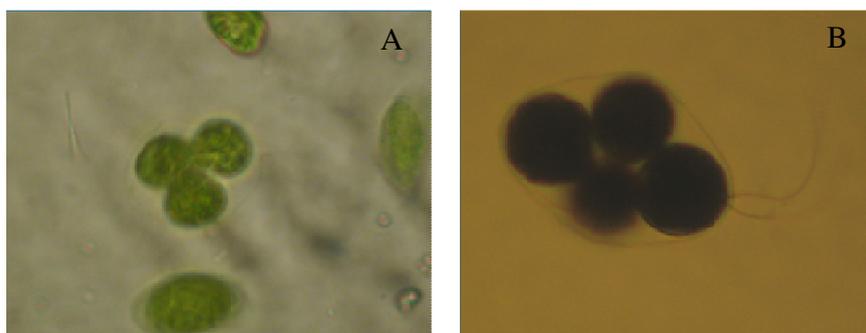


Figura 53 - Presença de *Chlamydomonas* sp. em divisão assexuada. Microscopia óptica: A) amostra fresca (200X) e B) Amostra fixada (400X).

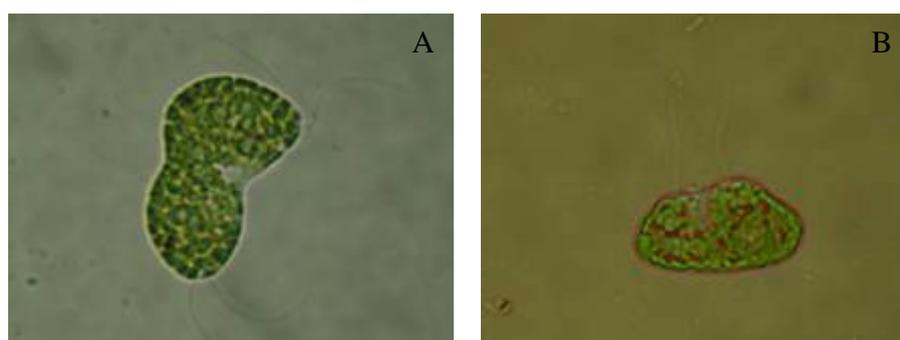


Figura 54 - *Chlamydomonas* sp. em processo de divisão longitudinal da célula; A) amostra L2 B) amostra L3.

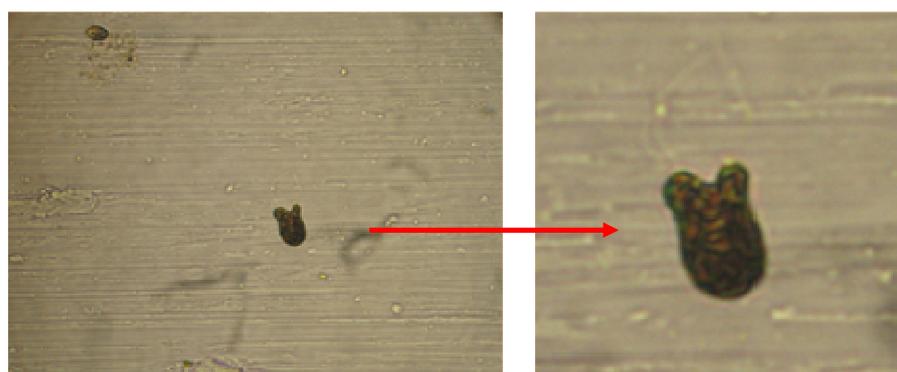


Figura 55 - *Chlamydomonas* sp. em processo de divisão longitudinal da célula em amostra fixada. Microscopia óptica 200X.

Reprodução sexuada faz-se também presente nesse grupo, porém, quando neste processo, após a troca de material genético, as células se agrupam e ocorre a perda temporária do flagelo. No sistema estudado, estes conglomerados reprodutivos foram encontrados preponderantemente nas

profundidades 0,4m (no caso da L2) e 0,3m (no caso da L3), apontando uma preferência destes organismos pelo estrato intermediário, provavelmente pela menor incidência luminosa nesse ambiente, o que evitaria a fotoinibição das células pela radiação solar. Na Figura 56 (A e B) são apresentadas imagens de alguns conglomerados reprodutivos acima citados.

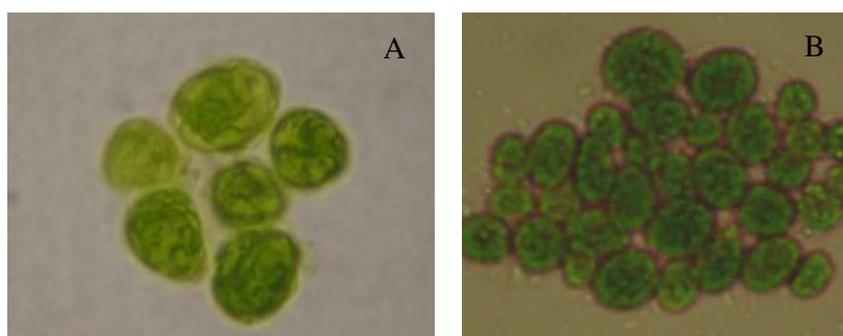


Figura 56: *Chlamydomonas* sp. em processo reprodutivo (agrupamento das células e perda dos flagelos); A) amostra L2 B) amostra L3.

A elevada densidade de organismos de mesmo grupo se deve, provavelmente, por estes serem mais bem adaptados às condições extremas de contaminação, como é o caso das lagoas em estudo, levando assim a exclusão dos demais grupos. O princípio da Exclusão Competitiva, proposta por Hardin (1960) apud Laudares (1987), preconiza que as modificações geradas internamente, quando operam em uma comunidade, tendem a levá-la a uma situação de equilíbrio sendo que, o conceito de equilíbrio aqui proposto, prediz que a competição poderia selecionar as espécies melhor adaptadas em detrimento das demais. Assim, a competição, baseada em recursos, entre espécies, em culturas mistas, geralmente resulta na dominância de uma única espécie.

Segundo Branco (1986) as águas poluídas, ao contrário das não poluídas, tendem a apresentar pequeno número de espécies, as quais, estando livres de concorrentes e dispostas de grandes quantidades de alimentos no meio, tendem a reproduzir-se rapidamente, desenvolvendo um grande número de indivíduos. A este fato, acrescenta-se ainda que a diversidade de espécies em uma lagoa deve-se a uma série de fatores, dentre os quais a carga orgânica aplicada e as condições climáticas locais. Assim, de maneira geral, quanto menor a diversidade e maior a abundância de organismos, pior a qualidade do efluente produzido, indicando que no meio líquido existem elevadas concentrações de substratos orgânicos (nível sapróbio) que induzem ao crescimento acelerado de determinadas espécies.

O crescimento maciço das espécies fitoplanctônicas na L2 resultou em florações (*blooms* algais) nos períodos de janeiro a março de 2008, uma vez que as algas envolvidas comportavam-se como as únicas capazes de produzir um volume necessário de material, distribuída por volume de água. Segundo Lee (1999) florações estão muito relacionadas com altas temperaturas, sendo mais comuns em períodos do final do verão, onde a temperatura torna-se bastante elevada.

No sistema estudado, foram verificadas florações ocorrentes no verão e outono, com a formação de uma espuma viscosa e espessa na superfície da lagoa, com alguns centímetros de profundidade. A Figura 57 (A, B, C e D) apresenta imagens desse processo, ocorrido inicialmente na L2 (Etapa I).

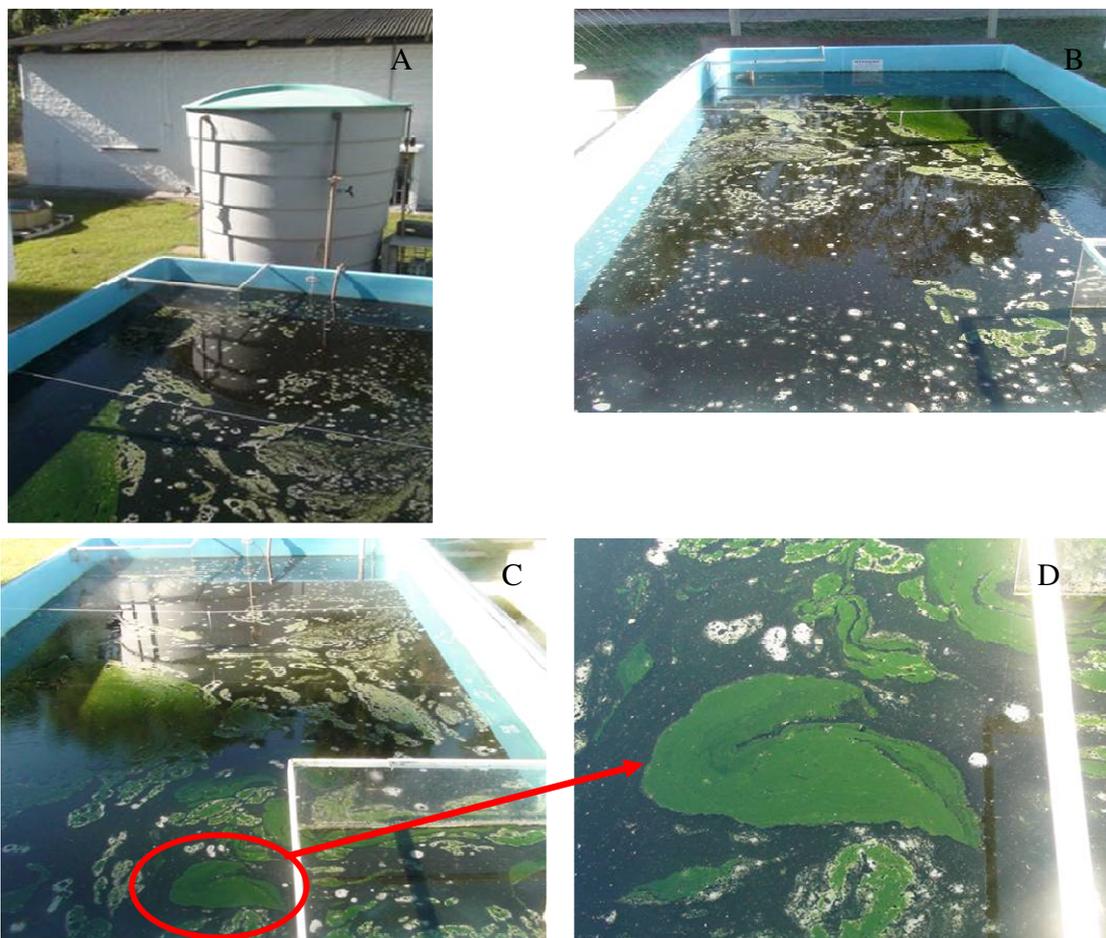


Figura 57: Floração da biomassa algal na L2 (Etapa 1). A e B) Vista superior de L2. C) Biomassa fitoplanctônica formando uma “pasta viscosa” e D) Vista em aumento, tornando visível além das biomassa algal, bolhas de oxigênio liberadas para a superfície.

Para a L3, o mesmo processo pode também ser observado, durante este mesmo período de monitoramento. No entanto, este sistema apresentou com *blooms* do fitoplâncton bastante recorrentes, no período após a aeração de L2 (Etapa II - agosto a outubro de 2008). Este aumento na incidência de florações em L3 e diminuição das florações em L2 após a aeração devem-se provavelmente ao fato de L2, através da aeração mecânica, ocasionar o revolvimento do lodo de fundo promovendo desta forma, maior mistura da coluna d'água, e conseqüentemente aumento dos sólidos suspensos.

Além disso, a aeração mecânica, por disponibilizar com eficiência o oxigênio ao meio líquido, faz com os demais grupos de microrganismos heterotróficos se desenvolvam, aumentando sobremaneira a competição interespecífica. Desta forma, observou-se um longo período após início da aeração, até que os grupos fitoplanctônicas se restabelessem em quantidades suficientes para ocasionar novos eventos de florações algais. Quando atingido este equilíbrio (fase esta final do monitoramento da Etapa II) tornou-se possível observar florações em L2, com muitos flocos celulares aparentes na superfície (Figura 58, A e B), bem como a presença de larvas de dípteros, os quais serão detalhados posteriormente, no item 4.4.



Figura 58: Floração da biomassa algal na L2 (Etapa 2). A) Vista superior de L2 com flocos bacterianos. B) Vista em aumento da biomassa e flocos superficiais. No detalhe, presença de dípteros.

Além das algas, organismos ciliados, tornaram-se recorrentes no sistema de tratamento, em grande quantidade, principalmente após aeração (etapa II), onde a ocorrência numérica era comparável ao das espécies algais, tendo sua presença após quase dois meses de aeração

gradativamente diminuída (final de setembro e outubro de 2008), provavelmente devido à estabilização da unidade aerada.

O ciliado encontrado foi classificado, segundo Sleigh (1989), baseado em uma revisão publicada por Puytorac e colaboradores (1974) o qual organiza os filos em três classes, de acordo com a organização da estrutura oral. Assim, o organismo presente na L2 e L3, foi classificado como pertencente ao Filo Ciliophora, Classe Kinetofragminophora, Sub Classe Vestibulifera (Figura 59 A e B).

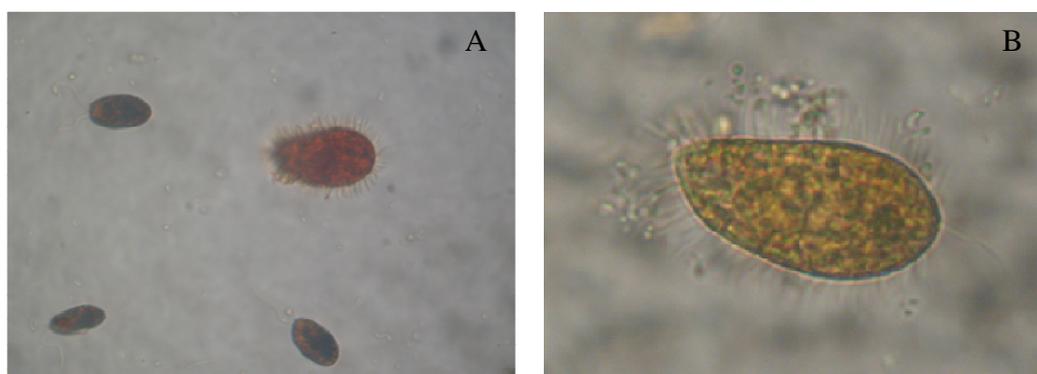


Figura 59: Ciliado encontrado em L2 e L3. A) Em amostra fixada em lugol provinda da L3 (200X). B) Ciliado em amostra fresca provinda da L2 (400X).

4.4 Análises de Biologia Molecular

4.4.1 Análise de FISH (Hibridização Fluorescente in situ)

A técnica de FISH foi realizada nas amostras da lagoa anaeróbia (L1) a fim de elucidar com maior especificidade as bactérias presentes nesta unidade inicial de tratamento. Os resultados são referentes ao período de agosto de 2007 a maio de 2008. Foi encontrado um grande número de Eubactérias (razão de células hibridizadas com EUB Mix e de células coradas com DAPI) sendo estas células, na sua maioria, bacilares, coloniais e homoganeamente dispostas no meio.

Nos primeiros meses (até dezembro de 2007), observou-se a concentração de Eubactérias (Figura 60) em torno de 80% (EUB/DAPI = 80/100). Nos períodos subsequentes, esta porcentagem diminuiu para cerca de 30%. Esta relação (EUB/DAPI) indica uma baixa na atividade metabólica das bactérias presentes no sistema de tratamento biológico (AMANN et al., 1995).

Bactérias nitrificantes (*Nitrosomonas*, *Nitrobacter* e beta-proteobacteria), foram encontradas em pequena porcentagem, com valores máximos de 10% em fevereiro de 2008, mantendo-se a partir daí com rara ocorrência. Este fato, provavelmente tenha sido relatado devido à baixa concentração de OD (próximo ou igual à 0 mg/L) nesta unidade ou ainda, devido ao alto pH encontrado (9,2), ocasionando aumento da concentração de amônia livre e inibição de organismos nitrificantes (BOOTHE; SMITH; GATTIE, 2001).

Archaea e grupos de Archaea metanogênicas (*Methanosarina*, *Methanosaeta* e outros grupos Methanomicrobiales), foram encontrados em concentrações de até 35% (mês de janeiro de 2008). Metanogênicas são anaeróbias estritas, que partilham uma complexa bioquímica para síntese de metano como parte de seu metabolismo energético. Morfologicamente, apresentam-se como cocos, espirilos e sarcinas irregulares. Podem apresentar-se como Gram-positivas ou Gram-negativas, ainda que em organismos pertencentes a um mesmo gênero (BEVERIDGE; SCHULTZE-LAM, 1996). A presença destes organismos foi coincidente com a baixa ocorrência de Eubactérias, determinando uma relação proporcionalmente inversa entre estes dois grandes grupos neste sistema.

O grupo de bactérias sulfato-redutoras (SRB) do gênero *Desulfobionaceae* foi também encontrado (Figura 61). Estes organismos realizam a redução do sulfato por via anaeróbia. As SRB necessitam de fontes de carbono orgânico (para a biomassa) e utilizam o sulfato como aceptor de elétrons para o seu metabolismo. Eles oxidam compostos orgânicos ou H_2 com a redução do sulfato, produzindo sulfeto. Geralmente, a SRB não se desenvolve bem em pH com valores inferiores a 5,5 preferindo níveis mais elevados de alcalinidade (GOVIND et al., 1999).

Os microrganismos anammox oxidam amônio (NH_4^+) diretamente a nitrogênio gasoso (N_2) sendo o nitrito (NO_2^-), o aceptor de elétrons. O processo é autotrófico, utilizando CO_2 como única fonte de carbono (STROUS et al., 1998). Organismos *Anammox*, não foram detectados neste sistema de lagoa pela técnica de FISH.

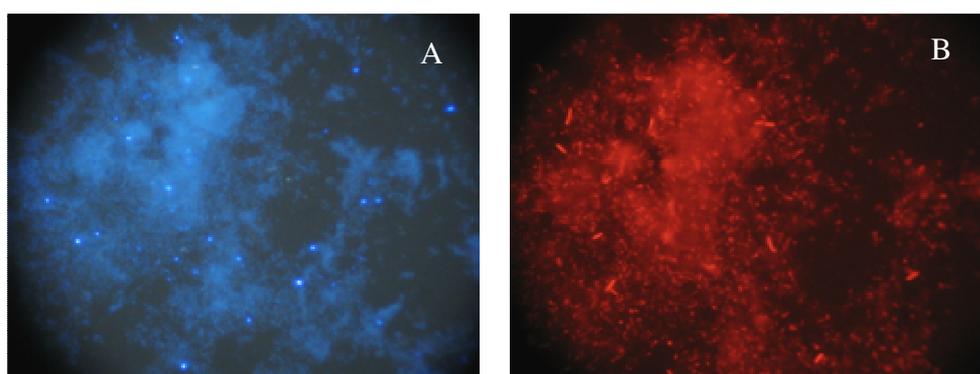


Figura 60: Células hibridizadas para análise de Eubactérias:
A) DAPI (100%) e B) EUB mix (\cong 70%).

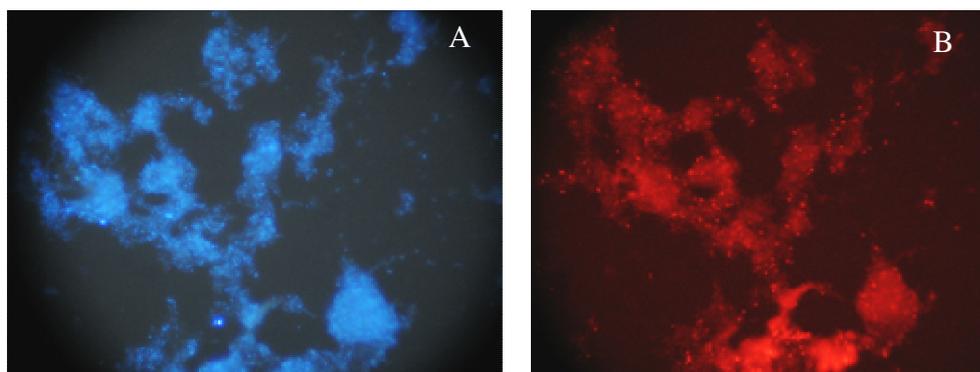


Figura 61: Células hibridizadas para análise de bactérias do gênero *Desulfobionaceae*:
(A) DAPI (100%) e B) DSV (\cong 20%).

4.4.2 PCR, Seqüenciamento e análise filogenética

A técnica de PCR permite que seja amplificado 2^{35} vezes o DNA alvo, garantindo resultados positivos caso os microrganismos estejam presentes na amostra. Para a realização da PCR, foram utilizadas amostras (período de maio a junho de 2008) provindas das lagoas L1 (0,1m), L2 (ponto E – 0,4m) e L3 (ponto E – 0,5m). As profundidades de coleta foram definidas, de acordo com os dados anteriormente obtidos quanto à L1 (homogeneização entre os estratos), e para L2 e L3, foram escolhidos os pontos mais profundos devido aos registros, anteriormente apresentados, de maior incidência do bacterioplâncton no estrato mais profundo. As amostras foram submetidas à amplificação de uma região do 16S. O resultado da amplificação pela PCR é apresentado na Figura 62.

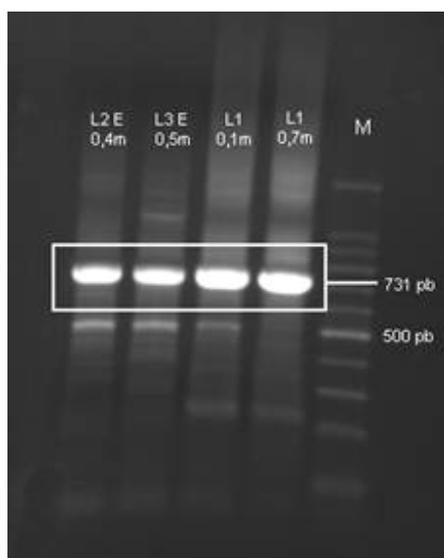


Figura 62: Imagem da eletroforese em gel de agarose 1% das amostras coletadas nas lagoas 1, 2 e 3.

Observações:

- L2 E 0,4m – Amostra do ponto E da lagoa 2 na profundidade 0,4m
- L3 E 0,5m – Amostra do ponto E da lagoa 3 na profundidade 0,5m
- L1 0,1m – Amostra do ponto central da lagoa 1 na profundidade 0,1m
- L1 0,7m – Amostra do ponto central da lagoa 1 na profundidade 0,7m
- M – Marcador utilizado de 100 pb.

Os fragmentos amplificados pela PCR foram submetidos ao seqüenciamento e análise filogenética. O seqüenciamento e a análise filogenética mostraram que organismos de L1, têm similaridade com o gênero *Pseudomonas* e organismos de L2 similaridade com o Filo Planctomycetes. Quanto à amostra provinda de L3, devido ao amplo poder de amplificação dos

primers (inespecíficos), diferentes sequencias de DNA foram amplificadas. Quando isso acontece, o seqüenciador não consegue fazer a leitura desse material, impossibilitando a identificação dos mesmos, o que acarretou na ausência da análise filogenética para esta unidade experimental.

Na Figura 63 está representada a árvore filogenética (neighbor-joining) resultante do seqüenciamento da amostra provinda da L1, baseada no 16S rDNA. As seqüências incluídas apresentam mais de 98% de similaridade com a amostra.

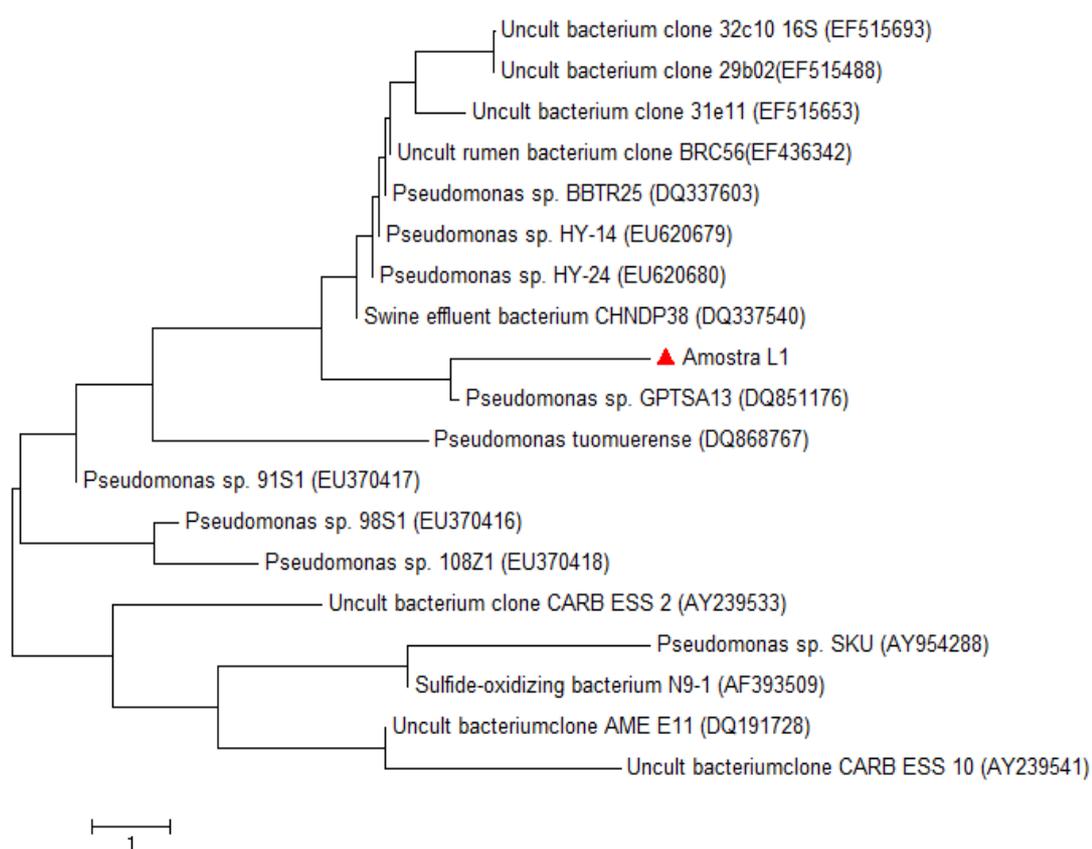


Figura 63. Árvore filogenética neighbor-joining, baseada no 16S rDNA, de amostra provinda da L1. A seqüência encontrada está representada por um triângulo (▲). Somente seqüências com mais de 98% de similaridade foram incluídas. O número de acesso no GenBank está indicado entre parênteses.

Na L2, unidade componente do sistema de lagoas, organismos *Planctomycetes* mostraram-se presentes nos períodos amostrados. A L2, conforme apresentado no item 4.3.2, apresentou por longo período de estudo, com fenômenos de florações algais recorrentes. Uma quantidade considerável de provas sugere que exista uma associação entre a ocorrência de florações algais e

o aumento no número de Planctomycetes de água doce. Muitos trabalhos verificaram um aumento no número de Planctomycetes (dentre as quais *Pl. bekefii*, *Pl. guttaeformis* e *Pl. stranskae*) após florações algais. Granberg (1969) apud Ward (2006) observou aumento no número de *Pl. bekefii* e *Pl. condensatus* com o aumento sazonal de fitoplâncton mixotrófico. Outra evidência para esta hipótese é assegurado pelo fato do enriquecimento de Planctomycetes em laboratório ser favorecido pela presença de luz ambiente e conseqüentemente de organismos fototróficos de água doce (STARR; SCHMIDT, 1989).

Apesar disso, pouco se esclareceu a respeito desta associação. Kristiansen (1971) sugere que a decomposição do fitoplâncton produz H₂S assim como o aumento das concentrações de ferro e manganês. Contudo, as provas dessa correlação são ainda insuficientes, necessitando de uma investigação mais detalhada, com medições de parâmetros físico-químicos, bem como quantificação e identificação das espécies Planctomycetes por microscopia e demais técnicas moleculares.

O resultado do seqüenciamento da amostra da L2, baseada no 16S rDNA resultou na árvore filogenética (neighbor-joining) representada na Figura 64, com as seqüências apresentando entre 94 e 95% de similaridade com a amostra.

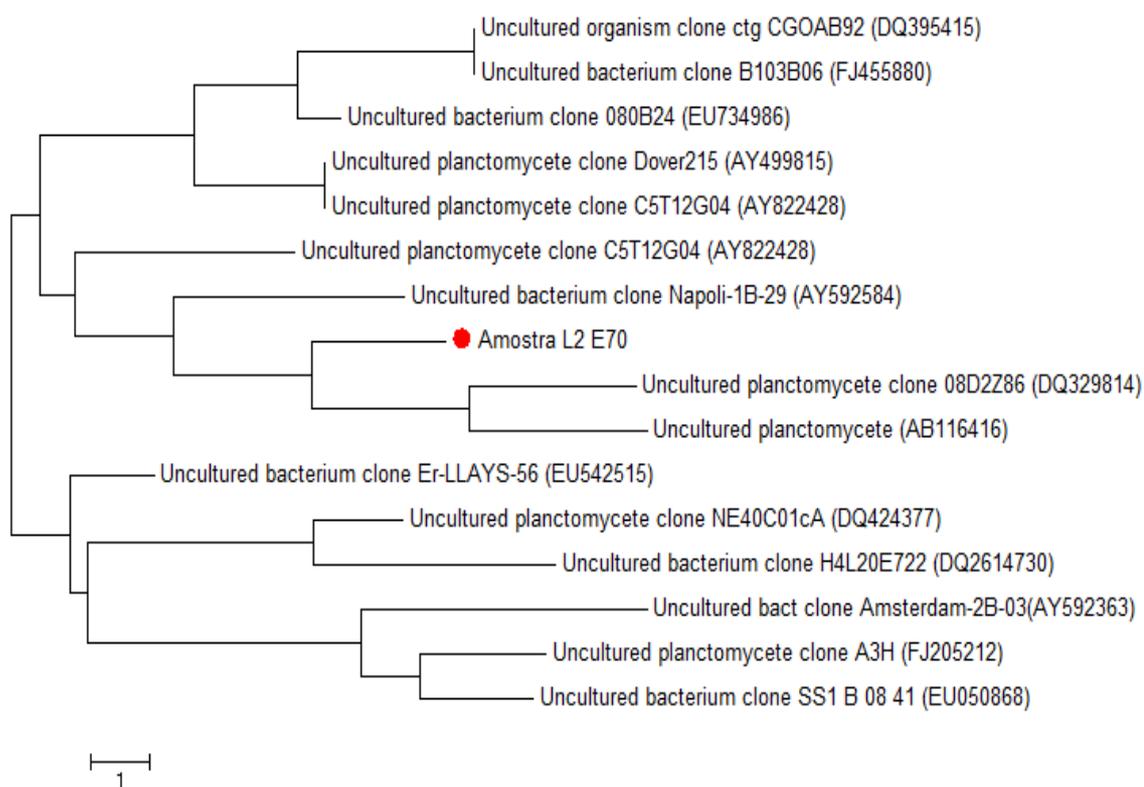


Figura 64. Árvore filogenética neighbor-joining, baseada no 16S rDNA, de amostra provinda da L2. A seqüência encontrada está representada por um círculo (●). Seqüências com de similaridade entre 94 e 95% foram incluídas. O número de acesso no GenBank está indicado entre parênteses.

4.5 Diversidade Taxonômica – Ocorrência de Dípteros nas L2 e L3

No sistema de lagoas estudado, tornou-se recorrente, a partir de outubro de 2007 dípteros acaliptrados, comumente conhecidos como moscas de praias (*shore flies*), pertencentes à família Ephydriidae. Na Figura 65 são apresentados os estágios do ciclo de vida dos dípteros encontrados no sistema.



Figura 65: Fases de desenvolvimento dos dípteros encontrados nas Lagoas 2 e 3. A) Estágio larval; B) Estágio de pupa; C) e D) Fase adulta.

Os Ephydriidae se desenvolvem em lugares úmidos como brejos, margens de lagoas, rios e litoral marinho além de possuírem um potencial elevado para a rápida colonização de habitats novos, apresentando tolerância a ambientes que possam causar um grande estresse fisiológico, tais como fontes termais sulfurosas altamente alcalinas, lagos salinos ou poças de petróleo cru. Dessa forma, esses dípteros apresentam ampla distribuição, ocorrendo em todas as regiões geográficas e em muitas ilhas oceânicas, com exceção do continente antártico. A maior parte das espécies é benéfica, servindo de alimento para outras espécies de animais, principalmente para aves aquáticas, que habitam ambientes onde essas moscas se desenvolvem.

Devido a esta versatilidade de habitats, esta família apresenta uma grande diversificação em relação a sua evolução adaptativa, apresentando grandes variações entre estruturas do corpo e ornamentações, o que torna difícil sua caracterização. Mais de 1660 espécies foram descritas e distribuídas acerca de 110 gêneros, sendo considerada uma das famílias mais diversas de dípteros dentro de Cyclorrhapha. Os gêneros e as tribos foram divididos em quatro subfamílias: Psilopinae, Hydrelliinae, Parydrinae e Ephydrinae, sendo essa a classificação mais utilizada pelos pesquisadores (MATHIS, 1982; WIRTH; MATHIS; VOCKEROTH, 1987).

Para os dípteros presentes nas unidades experimentais, através da análise das larvas em estereoscópio e microscópio, pôde-se observar que estas, alimentavam-se das algas presentes nestas unidades visto que apresentaram grande quantidade destas quando analisado o sistema digestório, fato este que justifica a presença contínua destes dípteros em ambas as unidades de ocorrência algal. Na Figura 66 (A e B) são apresentadas imagens dos dípteros na L2 e na Figura 67 os dípteros em L3, ressaltando sua grande incidência na entrada de L3 (local de entrada das algas de L2).

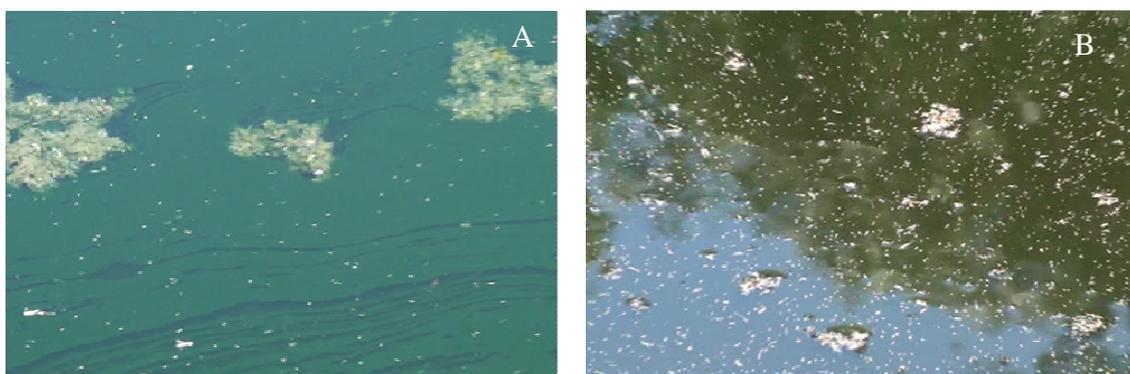


Figura 66: Dípteros presentes na L2. A) Dípteros em biomassa floclulada em floração algal. B) Dípteros na saída do sistema.



Figura 67: Dípteros presentes na L3. A) Visão geral da lagoa com conglomerados larvais na superfície. B) Grande quantidade de larvas aderidas na chicana de entrada. C) Visão mais focada na chicana de entrada e D) Larvas em grande quantidade na superfície da lagoa.

5. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

5.1 Conclusões

Avaliando-se os resultados obtidos, para as condições operacionais do sistema de lagoas de estabilização em série estudado, as seguintes conclusões foram obtidas:

- Os parâmetros indicadores de matéria orgânica (DQO, DBO e amônia), apresentaram maior redução de L1 pra L2 e conseqüente estabilização de redução em L3, com remoção para todo o sistema de 56,5% de DQOtotal, 83% DBO₅ e 82% amônia. No entanto, estas concentrações encontram-se ainda elevadas, impossibilitando o lançamento, no ambiente, do efluente, sem um tratamento complementar visando atender as especificações do CONAMA 357/05.
- Todas as lagoas apresentaram-se com variações sazonais nos parâmetros temperatura, OD, ORP, condutividade, pH e sólidos suspensos.
- A clorofila *a*, mostrou um comportamento com tendência à diminuição no sentido superfície → fundo, para as lagoas L2 e L3. No entanto, esta distribuição apresentou variações ao longo das estações (devido à modificação na incidência de radiação solar) na lagoa), bem como um padrão de homogeneização quando analisada L3 e maior estratificação quando analisada L2.
- Dentre os fatores ambientais tais como precipitação pluviométrica, radiação total e temperatura atmosférica mostraram que, ao longo de todo período monitorado em L2 e L3, a precipitação foi o fator preponderante na variação da concentração de Clorofila *a* em ambas as unidades, decaindo nos períodos mais chuvosos (ápice pluviométrico entre dezembro de 2007 e fevereiro de 2008).
- Observou-se um comportamento com tendência ao aumento nas concentrações de clorofila *a*, ao longo do dia, bem como de OD, na superfície e ao longo dos períodos monitorados.

- Através da aplicação da análise fatorial dos componentes principais (ACP) evidenciou-se, que para o efluente de L2 e de L3, as variáveis de maior relevância no processo foram OD, clorofila *a* e pH os quais apresentaram maiores coeficientes de correlação, indicando assim que o bom funcionamento das unidades aeróbias depende da constante manutenção destes parâmetros, de forma que condições ideais ocorrem mediante altas taxas de atividade fotossintética, resultando em pH e o OD elevados. Além disso, para o efluente de L1 e de L3 foi encontrado ainda como variável de grande relevância, DQO total, demonstrando que ainda há necessidade de melhoras na eficiência do sistema.
- O sistema apresentou baixa diversidade fitoplanctônica, com predomínio de poucos grupos algais, os quais foram abundantes em todo sistema. A riqueza de espécies apresentou-se nos meses iniciais de monitoramento, maior em L3 a qual após estabilização das unidades mostrou-se igual à L2. Assim, recorrentes na L2 e L3 estavam os fitoflagelados dos gêneros *Chlamydomonas* e *Cryptomonas* em todos os períodos estudados. Esta baixa diversidade é esperada em ambientes com alta carga poluidora, indicando que no meio líquido existem elevadas concentrações de substratos orgânicos que induzem ao crescimento acelerado de determinadas espécies, em detrimento das demais.
- Através da técnica de FISH, pode-se também avaliar os grupos bacterianos presentes na L1, o qual se apresentou formado por grupos de Eubactérias em concentrações elevadas, principalmente nos primeiros meses de monitoramento (até dezembro de 2007); pouca incidência de Archae bactérias (picos de ocorrência em janeiro de 2008); presença de bactérias sulfato redutoras em todo período experimental, e rara ocorrência de bactérias nitrificantes.
- Através do seqüenciamento e análise filogenética, foi constatada a presença do gênero *Pseudomonas* e *Planctomycetes* em L1 e L2, respectivamente, servindo como indicador ambiental para condições eutróficas.
- Por fim, tornaram-se recorrentes no sistema de lagoas estudado, a partir de outubro de 2007, dípteros acaliptrados, conhecidos como moscas de praias (*shore flies*) pertencentes à família Ephydriidae. Estes são comuns em lugares úmidos e apresentam tolerância a

ambientes que possam causar um grande estresse fisiológico. Os dípteros encontrados no sistema de lagoas alimentavam-se das algas presentes nestas unidades.

5.2 Recomendações

Em vista da continuação dos estudos desta pesquisa, sugerem-se as seguintes recomendações:

- Avaliar períodos de aeração da L2 superiores a 12 horas, bem como a recirculação do efluente final (saída da lagoa L3) visando melhoria no efluente, de forma a atender as exigências da legislação ambiental (Resolução CONAMA 357/05) para lançamento em corpos d'água receptores;
- Analisar a dinâmica planctônica e bacteriológica das lagoas submetidas a essas novas condições operacionais;
- Para a PCR e análise filogenética, sugere-se que as sequências do 16S amplificadas, sejam separadas, através da clonagem desses fragmentos, e então proceder-se a um sequenciamento e identificação dos grupos presentes nesse sistema.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABES – SC. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL – SEÇÃO SANTA CATARINA. *Relatório do Projeto de Verificação da Sustentabilidade do Programa Lixo Nosso de Cada Dia, do Ministério Público do Estado de Santa Catarina*. Projeto de Cooperação Técnico-Científica entre o Ministério do Meio Ambiente e a Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental – Seção Santa Catarina. Disponível em: << <http://www.abesc.org.br/novosite/programas/RelatoriodoProjetoDeVerificacaodoSustentabilidadeDoProgramaLixoNossoDeCadaDiadoMinisterioPublicodoEstadodeSantaCatarina.pdf> >> Acessado em: 10 de dezembro de 2008.
- ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. *NBR 10004: Resíduos sólidos – classificação*. São Paulo, p. 3, 2004.
- ABREU, A. A. V. *Identificação de bactérias filamentosas em processos de lamas ativadas através da técnica de Hibridização in situ Fluorescência (FISH)*. Dissertação (Mestrado) Departamento de Engenharia Biológica, Universidade do Minho, Portugal. 2004. 142p.
- ALBERTS, B. et al. *Biologia molecular da célula*. 4 ed. Porto Alegre: Artes Medicas, 2004.
- ALBERTS, B. et al. *Fundamentos de biologia celular*. 2 ed. Tradutora Ana Leonor Chies Santiago-Santos. Editora Artes Médicas, Porto Alegre, 2006.
- AMANN, R. I.; LUDWIG, W.; SCHLEIFER, K. H. Identification and *in situ* detection of individual bacterial cells. *FEMS Microbiology Letters*. 100: 45-50, 1992.
- 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.
- AMIM, R. S. *Avaliação de parâmetros cinéticos de uma cultura mista de microorganismos destinados à eliminação autotrófica de nitrogênio via oxidação de tiosulfato*. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.
- APHA. *Standard Methods for the examination of water and wastewater*. 21th Ed. Washington: American Public Health Association, 2005.
- ARAUJO, I. S. *Avaliação de lagoas facultativa aerada e de maturação, em escala real, como etapas secundária e terciária de tratamento de dejetos suínos*. Tese (Doutorado) Programa de Pós Graduação em Engenharia Ambiental. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.
- ARAUZO, M. Harmeful effects of unionized ammonia on the zooplankton community in a deep waste treatment pond. *Water Research*. v. 37, p. 1048-1054, 2003.
- ATHAYDE, S. T. S. et al. Algological study in waste stabilization ponds. In: *I Conferencia Latinoamericana en Lagunas de Estabilización y Reuso*. Santiago de Cali, Colombia, p. 132-139. 2000.
- BARNES, R. S. K.; CALOW; P. J. W. OLIVE, P. J. W. *Os invertebrados, uma nova síntese*. São Paulo, Atheneu Editora São Paulo, 1995. 526p.
- BASTOS, I. C. O. et al. Utilização de bioindicadores em diferentes hidrossistemas de uma indústria de papéis reciclados em Governador Valadares – MG. *Revista de Engenharia Sanitária e Ambiental*, v.11, p. 203-211, 2006.
- BARTHEL, L. *Lagoas de alta taxa, maturação e aguapés em sistema de tratamento de dejetos suínos: avaliação de desempenho e dinâmica planctônica*. Tese (Doutorado) Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental. Florianópolis, 2007.
- BARTHEL, L. et al. Plankton biomass in secondary ponds treating piggery waste. *Brazilian archives of biology and technology*. v. 51, n. 6, p.1287-1298, 2008.

- BENTO, A. P. *Tratamento de esgoto doméstico em lagoas de estabilização com suportes para o desenvolvimento de perifiton - biofilme*. Tese (Doutorado) Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental. - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.
- BEVERIDGE, T. J.; SCHULTZE-LAM, S. The response of selected members of the archae to the Gram stain. *Microbiology*. v. 142, p. 2887-2895, 1996.
- BICUDO, C. E. M.; BICUDO, R. M. T. *Algas de águas Continentais Brasileiras - Chave Ilustrada para Identificação de Gêneros*. Fundação Brasileira para o Desenvolvimento do Ensino de Ciências. São Paulo. 1970. 227p.
- BICUDO, C. E. M.; MENEZES, M. *Gêneros de algas de águas continentais do Brasil. Chave para identificação e descrição*. RiMa, São Carlos-SP, 508p. 2005.
- BIDONE, F. R. A.; POVINELLI, J. *Conceitos básicos de resíduos sólidos*. Projeto Reenge. EESC-USP, São Carlos, 1999. 120p.
- BOOTHE, D. D. H.; SMITH, M. C.; GATTIE, D. K. K. C. das. Characterization of microbial populations in landfill leachate and bulk samples during aerobic bioreduction. *Advances in Environmental Research*. v. 5, p. 285-294, 2001.
- BOUVIER, T.; GIORGIO, P. A. del. Factors Influencing the Detection of Bacterial Cells Using Fluorescence in Situ Hybridization (FISH): A quantitative review of published reports. *Microbiology Ecology*. v. 44, p. 3-15, 2003.
- BRAGA, B. et al. *Introdução à Engenharia Ambiental*. São Paulo: Prentice Hall, 2002. 305p.
- BRANCO, S. M. *Hidrobiologia aplicada à engenharia sanitária*. 3 ed., CETESB, São Paulo, SP, 1986. 616 p.
- BRITTO, E. R. *Introdução à biologia sanitária*. Rio de Janeiro: DTP, 1994. 200p.
- CAIRNS Jr. J.; PRATT, J. R. A history of biological monitoring using benthic macroinvertebrates. In: *Freshwater Biomonitoring and Benthic Macroinvertebrates*. New York: Chapman & Hall, p. 10-27, 1993.
- CALZIANI, R.; COSSU, R. Landfill Hydrology and Leachate Production. In: CHRISTENSEN T. H., COSSU, R., STEGMANN, R. *Sanitary Landfilling: Process, Technology and Environmental Impact*. Cornwall: Academic Press, p. 185-212, 1989.
- CAMPBELL, D. J. V. Environmental Management of Landfill Sites. *Journal IWEN*. n. 7, p. 170-174, 1993.
- CASTILHOS JR., A. B. et al. Principais processos de degradação de resíduos sólidos urbanos. In: CASTILHOS Júnior, A. B. (Coord.). *Resíduos Sólidos Urbanos: Aterro Sustentável para Municípios de Pequeno Porte*. Projeto PROSAB III. Rio de Janeiro: ABES, RiMa, 2003.
- CASTILHOS Jr., A. B. de. *Gerenciamento de resíduos sólidos urbanos com ênfase na proteção de corpos d'água: prevenção, geração e tratamento de lixiviados de aterro sanitário* / Coodenador: Castilhos JR, A. B. Projeto PROSAB. Rio de Janeiro: ABES, 2006.
- CHERNICHARO, C. A. L. SPERLING, M. V. Urban Wastewater Treatment Technologies and the Implementation of Discharge Standards in Developing Countries. *Urban Water*. v. 4, n. 1, p. 150-114, 2002.
- CHERNICHARO, C. A. L. *Reatores Anaeróbios*. v.5. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. UFMG. Belo Horizonte, 1997.
- CORLISS, J. O. *The ciliate protozoa. Characterization, classification and guide to the literature*. 2 ed. Pergamon Press. Oxford, 1979.
- COSTA, B. S. *A sociedade catarinense e o lixo. Resíduos sólidos, proposta de modelo de gestão*. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002.
- CRUZ, L. S. et al. Variações temporais do fitoplâncton e de parâmetros físico-químicos em lagoas de estabilização facultativas tratando esgotos sanitários em regime de batelada. In: *XXIII Congresso Brasileiro de engenharia Sanitária e Ambiental – ABES*, 1CD-ROM, Campo Grande, MS, 2005.
- CURTIS, T. P. et al. Light penetration in waste stabilization ponds. *Water Research*, v. 28, n. 5, p. 1031-1038. 1994.

- DINIZ, C. R.; et al. Ciclo nictemeral e vertical de variáveis ambientais no açude Epitácio Pessoa, semi-árido paraibano. In: XXII Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. *Anais...* Joinville, Brasil. 2003. CD-ROM.
- DOMITROVIC, Y. Z.; ASSELBORN, V. M.; CASCO, S. L. Variaciones espaciales y temporales del fitoplancton en un lago subtropical da Argentina. *Revista Brasileira de Biologia*. v. 58, n. 3, p. 359-382, 1998.
- EDUARDO, J. *Avaliação das características microbiológicas e físico-químicas do lixiviado (chorume) no processo de tratamento do aterro metropolitano de Gramacho (RJ-Brasil)*. Dissertação (Mestrado) Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade do Rio de Janeiro, RJ, 2007.
- ESTEVES, F. A. *Fundamentos de Limnologia*. 2ª edição. Editora Interciência, 1998. 602p.
- ETCHEBEHERE, C.; MENES, R. J. Caracterização, monitoramento e controle de processos: técnicas de caracterização microbiológica. In: *V Curso de Tratamento Biológico de Resíduos*. Florianópolis, 2005. 18 p.
- FERNANDES, F. et al. Tratamento biológico de lixiviados de resíduos sólidos urbanos. In: CASTILHOS Jr, A. B. (coord). *Gerenciamento de resíduos sólidos urbanos com ênfase na proteção de corpos d'água: prevenção, geração e tratamento de lixiviados de aterros sanitários*. FINEP - PROSAB, p. 224-229, 2006.
- FERREIRA, J. A.; GIORDANO, G.; RITTER, E. Revisão das Técnicas de Tratamento de Chorume e a Realidade do Estado do Rio de Janeiro. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 21, Joinville, 2003. *Anais. Joinville: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária*, 2003.
- FERREIRA, C. F. A. Avaliação da Partida de Sistema de Lagoas e Filtros Anaeróbios no Tratamento de Lixiviado de Aterro Sanitário. In: XXXI Congreso Interamericano AIDIS, 2008, Santiago, Chile. *Anais do XXXI Congreso Interamericano AIDIS*. Santiago, Chile, 2008.
- FINKLER, R. *Avaliação do efeito tóxico de líquidos percolados sobre o sistema reprodutivo de Daphnia magna*. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002.
- FONT QUER, P. *Diccionario de botánica*. 6 ed. Barcelona: Labor S.A, 1997. 1244p.
- FUJII, T. et al. Characterization of the microbial community in an anaerobic ammonium-oxidizing biofilm cultured on a nonwoven biomass carrier. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. v. 94. p. 412-418, 2002.
- FUERST, J. A. The planctomycetes: Emerging models for microbial ecology, evolution and cell biology. *Microbiology* v. 141, p. 1493-1506, 1995.
- FUERST, J. A. Planctomycetes – a phylum of emerging interest for microbial evolution and ecology. WFCC – World Federation of Culture Collections. *Newsletter*. v. 38. p. 1-11, 2004.
- GERBA, C. P. Microbial Pathogens in Municipal Solid Waste. In: *Microbiology of Solid Waste*. A. C. Palmisano and M. A. Barlaz (org). CRC Press. p. 155-173, 1996.
- GIORDANO, G. Análise e Formulação de Processos para Tratamento de Chorumes Gerados em Aterros de Resíduos Sólidos Urbano. Tese (Doutorado). Departamento de Ciências dos Materiais e Metalurgia. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro - RJ. 2003. 257p.
- GOLDBERG, J. B. et al. Pseudomonas 2007 Meeting Review. *Journal of Bacteriology*. v. 190, n. 8, p. 2649-2662, 2008.
- GOTARDO, J. T. *Perfil Longitudinal de uma lagoa facultativa de tratamento secundário de esgoto doméstico aplicada nas condições ambientais do sul do Brasil*. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental). Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.
- GOVINDO, R.; YONG, W.; TABAK, H. Studies on biorecovery of metals from acid mine drainage. In: *Bioremediation of metals and inorganic compounds*, A. Leeson and B. Allemans (eds), Battelle Press, Columbus, OH. 1999.
- HALL, T. A. *BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT*. v. 41, p. 95-98, 1999.

- HAMADA, J.; MATSUNAGA, I. Concepção do sistema de tratamento de chorume para o aterro sanitário de Ilhéus – BA. In: *IX Simpósio Luso-Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental*. Porto Seguro - BA. P.1515-1524, 2000.
- HOEK, C. VAN den; MANN, D. G; JAHNS, H. M. *Algae: an introduction to psychology*. Cambridge: Cambridge University Press, 1995. 623p.
- HOSSAKA, A. L. et al. Avaliação do processo de redução das concentrações de nitrogênio amoniacal em lixiviados de aterro sanitário por “stripping”, visando posterior tratamento biológico. In: XXXI Congresso Interamericano AIDIS, 2008, Santiago, Chile. *Anais do XXXI Congresso Interamericano AIDIS*. Santiago, Chile - AIDIS, 2008.
- HUGENHOLTZ, P. et al. Impact of culture-independent studies on the emerging phylogenetic view of bacterial diversity. *Journal Bacteriology*. v.180, p. 4765-477, 1998.
- IPT/CEMPRE. *Lixo Municipal: Manual de Gerenciamento Integrado*. 2 ed. São Paulo: IPT: CEMPRE, 2000.
- JETTEN, M. S. M. et al. 1994-2004: 10 years of research on the anaerobic oxidation of ammonium. *Biochemical Society Transactions*. v. 33, p. 119-123, 2005.
- JOHNSON, R. A.; WICHERN, D. W. *Applied multivariate statistical analysis*. 5th Ed. New Jersey: Prentice-Hall, 2005.
- JORDÃO, E. P.; PESSOA, C. A. *Tratamento de esgotos domésticos*. Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental. 4. ed. Rio de Janeiro: ABES, 2005.
- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. *Biologia Celular e Molecular*. 8 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.
- KELLNER, E.; PIRES E. C. Influence of the thermal stratification in the hydraulic behavior of stabilization ponds. In: *Conferência Latino Americana en Lagunas de Estabilizacion y Reuso*, 2000, Santiago de Cali, Colombia. Santiago de Cali, Colombia: [s.n], p.187-198, 2000.
- KIELING, D. D. *Estudo da remoção biológica de nitrogênio a partir de lodo nitrificante cultivado em meio autotrófico sob condições anóxica*. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina – Departamento de Engenharia Química e de Alimentos. Programa de Pós-graduação em Engenharia Química. Florianópolis, 2004. 106p.
- KJELDSEN P. I. et al. Present and long-term composition of MSW landfill leachate: a review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, v. 32, p. 297-336, 2002.
- KOBAYASI, H.; MAYAMA, S. *Evaluation of River Water Quality by Diatoms*. The Korean Journal of Phycology. v. 4, n. 2, p. 121-133, 1989.
- KOLKWTZ, R.; MARSSON, M. Oekologie der tierischen Saprobien. In: *International Reveu der Gesamten Hydrobiologie und Hydrographie*. v. 2, p. 126-152, 1990.
- KÖNIG, A. Biologia de lagoas de estabilização. In: MENDONÇA, S. R. (Coord.). *Lagoas de estabilização e aeradas mecanicamente: novos conceitos*. João Pessoa, PB. 1990. 388p
- KÖNIG, A. Biologia de las lagunas de estabilización: algas. In: MENDONÇA, S.R. (coord.). *Sistemas de lagunas de estabilization: como utilizar aguas residuales tratadas en sistemas de regadio*. Ed. McGrawHill, p. 44-67, 2000.
- KRISTIANSEN, J. On Planctomyces bekefii and its occurrence in Danish lakes and ponds. *Bot. Tidsskr.* v. 66, p. 293-392, 1971.
- LAACK, R. *Wastewater engineering design for unsewered areas*. 2 ed. Pennsylvania: Technomic Publishing Company, Inc., 1986. 171p.
- LAUDARES, R. S. Estudo taxonômico das diatomáceas (Bacillariophyceae) coletadas no Arroio do Faxinal (Sanga da Água Boa), Torres, Rio Grande do Sul, Brasil. *Insula - Boletim do Horto Botânico*, Florianópolis, n. 17, p. 1-184, 1987.
- LAWSON, E. A. Sewage treatment. In: *Aquatic pollution: an introductory text*. Wiley, New York. p. 125-156, 1993.
- LEÃO, S. C. et al. Identification of two novel Mycobacterium avium allelic variants in pig and human isolates from Brazil by PCR-Restriction enzyme analysis. *Journal of Clinical Microbiology*. v.37, p. 2592-2597, 1999.

- LEE, R. E. *Phycology*. 3rd. ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1999. 614p.
- LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. *Princípios de bioquímica*. 3. ed. São Paulo: Sarvier, 2002. 975p.
- LIRA, M. C. de A.; MEDEIROS, P. R. P. Zooplâncton do Estuário do São Francisco - Alagoas (Brasil). In: *III Congresso Brasileiro de Oceanografia – CBO'2008 I Congresso Ibero-Americano de Oceanografia – I CIAO*. Fortaleza - CE, 2008.
- LINDSAY, M. R. et al. Cell compartmentalisation in planctomycetes: novel types of structural organization for the bacterial cell. *Archives of Microbiology*. v. 175, n.6, p.413-429, 2001.
- LOBO, E.; LEIGHTON, G. Estruturas comunitarias de las fitocenozes plaktonicas de los sistemas de desembocaduras y esteros de rios de la zona central de Chile. *Revista de biologia marina y oceanografia*. v. 22 (1), p. 1-29, 1986.
- MARA, D. D. Pond process design - a practical guide. In: SHILTON, A. *Pond Treatment Technology*. 2005. 479 p.
- MARA, D. D.; PEARSON, H. W. Design Manual for Waste Stabilization Ponds in Mediterranean Countries. Lagoon Technology International; Leeds, UK. 1998. In: SHILTON, A. *Pond Treatment Technology*. London, UK. 2005. 479 p.
- MARTINS, C. L. et al. O Uso Conjugado de Processos físico-químicos e biológicos para o tratamento de líquidos percolados gerados em aterros sanitários no estado de Santa Catarina. In: Congresso de Engenharia Sanitária e Ambiental. Campo Grande/MS, 2005. *Anais Campo Grande: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental*. CD-ROM, 2005.
- MARTINS, C. L. et al. Biodegradabilidade Aeróbia de Lixiviado de Aterro Sanitário. In: *6ª Congreso de la IV región de la Asociación Interamericana de Ingeniería Sanitaria y Ambiental*. Buenos Aires, 2007. La Organización para la Protección Ambiental y el Desafío del Desarrollo Sustentable, 2007.
- MARTINS, C. L. et al. Partida de sistema de lagoas de estabilização para tratamento de lixiviado de aterro sanitário. p. 1-8. In: XIII SILUBESA Simpósio Luso-Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2008, Belém, PA. *Anais XIII SILUBESA*. v.1. Rio de Janeiro, RJ:ABES, 2008.
- MATHEUS, C. E. et al. Estimativa da densidade fitoplanctônica em lagoas de estabilização através de leituras com o Disco de Sechi. *Revista DAE, SABESP, SP*. v. 51, p. 25-27, 1991.
- MATHIS, N. W. *Ephyridae. aquatic biota of Mexico, Central América and the West Indies*. San Diego State University, San Diego, California. p. 469-472, 1982.
- MAXIMO, V. A. *Tratamento de coagulação floculação dos lixiviados do aterro sanitário da região metropolitana de Florianópolis*. Dissertação (Mestrado) Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC. 2007. 186p.
- MEGLITSCH, P. A. *Zoologia de invertebrados*. 2ed. Madrid: Piramide, 1986. 906p.
- MENDONÇA, S. R. *Sistemas de lagunas de estabilización: como utilizar águas residuales tratadas em sistemas de regadío*. Colombia: McGraw Hill Interamericana, 2000.
- METCALF; EDDY, Inc. *Wastewater engineering: treatment, disposal, reuse*. 10 ed. McGraw-Hill. Boston, 2003.
- MIWA, A. C. P.; FREIRE, R. H. F.; CALIJURI, M. C. Dinâmica de nitrogênio em um sistema de lagoas de estabilização na região do Vale do Ribeira (São Paulo-Brasil). *Engenharia Sanitária e Ambiental*. v. 12, n.2, p. 169-180, 2007.
- MOERSIDIK, S. S. *Traitment des eaux usées par lagunage à haut rendement : gestion de l'écosystème et comparaison des performances épuratoires avec um lagunage traditionnel*. Thèse (Doctorat), Université Montpellier I, Montpellier, France, 1992.
- MONTEGGIA, O. P.; SOBRINHO P. A. Lagoas anaeróbias. In: CAMPOS, J. R. (coord). *Tratamento de esgotos sanitários por processos anaeróbios e disposição controlada no solo*. Rio de Janeiro: ABES, Projeto PROSAB, 1999. 464p.
- MORAVIA, W. G. *Estudo da caracterização, tratabilidade e condicionamento de lixiviados visando tratamento por lagoas*. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós Graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos da Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG. Belo Horizonte, 2007.

- MORENO, M. D. et al. Modeling the performance of deep waste stabilization ponds. *Wat. Res. Bull.* v. 24, n. 2, p. 377-386, 1988.
- NOGUEIRA, R. C.; ROCHA, S. M. Auditorias operacionais em aterros sanitários. In: *VI Simpósio Nacional de Auditoria de Obras Públicas (VI SINAOP)*. Florianópolis, 2001.
- NURDOGAN, Y.; OSWALD, W. J. Enhanced nutrient removal in high-rate ponds. *Water Science and Technology*. v. 31, n. 12, p. 33-43, 1995.
- ODUM, E. P. *Ecologia*. Ed. Guanabara, Rio de Janeiro, RJ, 1983. 434p.
- OGLIARI, P. J.; ANDRADE, D. F. *Estatística básica aplicada às ciências agrônômicas e biológicas: com noções de experimentação*. Apostila de aula. Florianópolis, SC. 2004. 352 p.
- OLIVEIRA, R.; SILVA FILHO, T. A. T.; MOREIRA, J. F. V. Análise fatorial de uma série de lagoas de estabilização rasas tratando esgoto doméstico no Nordeste do Brasil. In: 21º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. *Anais...* João Pessoa, PB. 2001.
- OSWALD, W. J. Large-scale algal culture systems (engineering aspects). In: *Micro-algal biotechnology*. ED. Borowitzka & Borowitzka, Cambridge University Press, Cambridge, Great Britain, p. 356-394, 1988.
- PATERSON, C.; CURTIS, T. Physical and chemical environments. In: SHILTON, A. *Pond treatment technology*. London, UK, 2005. 479 p.
- PEARSON, H. The influence of pond geometry and configuration on facultative and maturation waste stabilization pond - performance and efficiency. *Water Science Technology*, v. 31, n. 12, p. 129-139, 1995.
- PEARSON, H. Microbiology of waste stabilization ponds. In: SHILTON, A. *Pond treatment technology*. London, UK, 2005. 479 p.
- PELCZAR, M.; REID, R.; CHAN, E. C. S. *Microbiologia*. v. 1, São Paulo: McGraw-Hill, 1980. 1072 p.
- PELCZAR Jr. M. J. et al. *Microbiologia: conceitos e aplicações*, v. 1. Tradução Manuel Adolpho May Pereira, revisão técnica Maria Regina S. Borges. Editora MackGraw-Hill do Brasil, São Paulo, 1997. 566p.
- PENTON, C. R.; DEVOL, A. H.; TIEDJE, J. M. Molecular Evidence for the Broad Distribution of Anaerobic Ammonium-Oxidizing Bacteria in Freshwater and Marine Sediments. *Applied Environmental Microbiology*. v.72, p. 6829-6832, 2006.
- PERNTHALER, J. et al. Seasonal community and population dynamics of pelagic Bacteria and Archaea in a high mountain lake. *Applied Environmental Microbiology*. v.64, p. 4299-4306, 1998.
- PICOT, B. et al. Comparison of the purifying efficiency of high rate algal pond with stabilization pond. *Water Science and Technology*. v.25, n.12, p. 197-206, 1992.
- PIÑEDA, S. Manejo y disposición de residuos sólidos urbanos. *Asociación Colombiana de Ingeniería Sanitaria y Ambiental*. Panamericana Formas e Impresos, 1998.
- PRESCOTT, G. W. *The algae: a review*. Dehra Dun: Bishen Singh Mahendra Pal Singh, Koenigstein: O. Koeltz Science, 1984. 436 p.
- RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHORN, S. E. *Biologia Vegetal*. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 5 ed., 1996.
- REICHERT, G. A.; COTRIM, S. L. da S.; RODIGHERI, E. Geração de lixiviado em aterro sanitário municipal. In: *XXVIII Congresso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental*. Cancun, México, 2002.
- REINHART, D. R.; GROSH, C. J. *Analysis of Florida MSW landfill leachate quality data*. Report 97-3, Florida Center for Solid and Hazardous Waste Management, p. 31-53, 1998.
- RHEMAN, A. *Landfill leachate treatment using evaporation technology*. Dissertação (Mestrado) – Ottawa-Carleton Institute for Environmental Engineering, Carleton University, Ottawa, Ontário, Canadá, 2003.
- RICKLEFS, R. E. *A economia da natureza*. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 503p.
- ROBERTIS, E. de; HIB, J. *Bases da biologia celular e molecular*. Tradutor Antonio Francisco Dieb Paulo, revisão técnica por Jorge Mamede de Almeida. Editora Guanabara Koogan. Rio de Janeiro, 2006.

- ROCHA, E. M. R. *Desempenho de um sistema de lagoas de estabilização na redução da carga orgânica do percolado gerado no aterro da Muribeca (PE)*. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil). Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Civil, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2005.
- RODRIGUES, L., M. A. et al. Treatment of industrial leachate through stabilization ponds. In: *8th IWA Specialist Group Conference on Waste Stabilization Ponds - Belo Horizonte/MG*, 2009.
- ROMANO, M. R. *Análise de crescimento, produção de biomassa, fotossíntese, e biossíntese de aminoácidos em plantas transgênicas de tabaco (Nicotiana tabacum L.) que expressam o gene Lhcb1*2 de ervilha*. Dissertação (Mestrado) Programa de Pós-Graduação em Fisiologia e Bioquímica de plantas – Escola Superior de Agricultura Luíz de Queiroz – Universidade de São Paulo, 2001.
- RUPPERT, E. E.; FOX, R. S.; BARNES, R. D. *Zoologia de invertebrados – uma abordagem funcional evolutiva*. 7. Ed. Roca, São Paulo, 2005. 1145 p.
- SA, L. A. C. M. de; KIRCHNER, F. F.; LOCH, C. Resíduos sólidos: uma solução através do sensoriamento remoto, In: *Anais do VII Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto*, pp. 129-134, Curitiba, 1993.
- SAIKI, R. K. et al. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*. v. 239, p. 487-491, 1988.
- 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.
- SCHWOERBEL, J. *Métodos de hidrobiologia*. Madrid, Espanha, Hermann Blume ediciones, 1975. 255p.
- SILVA, S. A.; MARA, D. D. *Tratamentos biológicos de águas residuárias: lagoas de estabilização*. 1 ed. Rio de Janeiro: ABES, 1979. 140 p.
- SILVA, J. D. *Tratamento de lixiviados de aterro sanitário por lagoas de estabilização em série. Estudo em escala piloto*. Tese (Doutorado) Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.
- SLADECEK, A. *System of water quality from the biological point of view*. Archiv Fur Hydrobiologie Beiheft. Ergebnisse der Limnologie, 1973. 218 p.
- SLEIGH, M. *Protozoa and Other Protists*. 1 ed. London: Arnold, 1989. 342p.
- SOARES, H. M.; HIRATA, T. S. Práticas de laboratório. In: *III Curso de tratamento biológico de resíduos*. CBAB, MCT/CNPq, CPGEQ/UFSC, CDB. Florianópolis, 1997. 23 p.
- STARR, M. P.; SCHMIDT, J. M. Genus Planctomyces-Gimesi 1924. In: STALEY, J. T.; BRYANT, M. P.; PFENNIG, N.; HOLT, J. G. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Williams and Wilkins. Baltimore, MD. v. 3, p. 1946-1958, 1989.
- STREBLE, H.; KRAUTER, D. *Atlas de los microorganismos de agua dulce – La vida en una gota de agua*, 1985. 337p.
- STREIT, N. M. et al. As clorofilas. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.35, n.3, p. 748-755, 2005.
- STROUS, M. et al. The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium – oxidizing microorganisms. *Applied Microbiology Biotechnology*. v. 50, p. 589-596, 1998.
- SUEMATSU, G. L. Aspectos generales y principios básicos de los sistemas de lagunas de estabilización. In: *Seminário Internacional de Lagunas de Estabilización*, Colombia, p. 3-12, 1995.
- TADESSE, I.; GREEN, F. B.; PUHAKKI, J. A. Seasonal and diurnal variations of temperature, pH and dissolved oxygen in advanced integrated wastewater pond system treating tannery effluent. *Water Research*. v.38, p. 645-654, 2004.
- TAIZ, L.; ZIEGLER, E. *Fisiologia vegetal*. 3 ed. Porto Alegre : Artmed. (Trad. SANTARÉM, E.R. et al.), 2004. 69p.
- TEJO, C.; KÖNIG, A.; CEBALLOS, B. S. Matéria orgânica e nutrientes eutrofizantes da ETE de Guarabira – PB. In: 18º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. 1995. *Anais...* Salvador, 1995.

- THOMPSON, J. D.; HIGGINS, D. G.; GIBSON, T. J. Clustal W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*. v. 22, p. 4673-4680, 1994.
- UEHARA, M. Y.; VIDAL, W. L. *Operação e Manutenção de Lagoas Anaeróbias e Facultativas*. São Paulo: CETESB - Série manuais, 1989. 91 p.
- VAN HAANDEL, A. C.; LETTINGA, G. *Tratamento anaeróbio de esgotos – um manual para regiões de clima quente*. Universidade Federal da Paraíba, Campina Grande, 1994.
- VON SPERLING, M. *Princípios do tratamento biológico de águas residuárias: Lagoas de estabilização*. 2 ed. DESA-UFMG, 1996. 196p.
- VON SPERLING, M. *Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos*. Belo Horizonte: UFMG. 2002. 243p.
- VON SPERLING, M. et al. Evaluation and modelling of helminth eggs removal in baffled and unbaffled ponds treating anaerobic effluent. *Water Science & Technology*. v. 48, n. 2, p. 113-120, 2003.
- VIANNA, M. R. *Hidráulica aplicada às estações de tratamento de água*. 3ª ed. Minas Gerais: Imprimatur, Artes Ltda, 1997.
- VIEIRA, E. C.; GAZZINELLI, G. *Bioquímica celular e biologia molecular*. 2 ed. São Paulo: Atheneu, 1991. 360p.
- WAGNER M. et al. In situ analysis of nitrifying bacteria in sewage treatment plants. *Water Science and Technology*. v. 34, p. 237-244, 1996.
- WANG J. et al. Isolation of Gemmata-like and Isosphaera-like planctomycete bacteria from soil and freshwater. *Applied Environmental Microbiology*. v. 68, n. 1, p. 417-422, 2002.
- WARD, N., F. A. et. al. Unraveling the extent of diversity within the order Planctomycetales. *Applied Environmental Microbiology* v. 61, n. 6, p. 2270-2275, 1995.
- WARD, N. et al. The Order Planctomycetales, including the genera Planctomyces, Pirellula, Gemmata and Isosphaera and the Candidatus Genera Brocadia, Kuenenia and Scalindua. *Prokaryote*. v. 7, p. 757-793, 2006.
- WASHINGTON, H. G. Diversity biotic and similarity indices: A review special relevance to aquatic ecosystems. *Water Reserch*. v. 18, p. 653-694, 1984.
- WIRTH, W. W.; MATHIS, W. N.; VOCKEROTH, J. R. Ephydriidae. In: *Manual of nearctic diptera*. v. 2, 1987.
- YAN, Y.; JAMESON, G. J. Application of the Jameson cell technology for algae and phosphorus removal in maturation ponds. *International Journal Mineral Processing*. v. 73, n. 23-28. 2004.
- YAN, Y. et al. Nitrogen fixation island and rhizosphere competence traits in the genome of root-associated *Pseudomonas stutzeri* A150. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. v. 105, n. 21, p.7564-7569, 2008.
- ZANOTELLI, C. T. et al. Performance of a baffled facultative pond treating piggery wastes. *Water Science and Technology*. v. 45, n. 1, p. 49-53. 2002.
- ZANOTELLI, C. T. et al. Avaliação do desempenho de lagoas de estabilização no tratamento de dejetos suínos através da análise de componentes principais (ACP). In: XXII Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. 2003. *Anais...* Joinville, Brasil. CD-ROM. 2003.

7. APÊNDICES E ANEXOS

APÊNDICE 1

Valores Médios das Variáveis Físico-químicas Obtidos no Período Experimental na Lagoa 1

Os resultados médios, desvio padrão, mínimos e máximos obtidos, para as variáveis analisadas, durante os períodos de monitoramento em L1 (Tabela AP1.1). A tabela encontra-se organizada por profundidade de coleta, de acordo as médias obtidas durante todo o período experimental, sendo 0,1m e 0,7m.

Tabela AP1.1: Valores obtidos na L1, nas profundidades 0,1 e 0,7m, para as variáveis monitoradas. Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão e valores mínimos e máximos.

VARIÁVEIS	Média \pm Desvio Padrão (mínimo - máximo)	
	0,1m	0,7m
Temperatura (°C)	26,7 \pm 3,1 (21,76 - 32,6)	26,0 \pm 3,0 (20,7 - 31,9)
pH	9,16 \pm 0,1 (8,99 - 9,34)	9,2 \pm 0,1 (8,99 - 9,36)
Oxigênio Dissolvido (mg/L)	0,7 \pm 0,2 (0,36 - 1,01)	0,5 \pm 0,2 (0,33 - 0,99)
Condutividade (mS/cm)	17,8 \pm 1,1 (16,0 - 19,5)	17,8 \pm 1,1 (16,0 - 19,3)
Potencial Redox (mV);	-299 \pm 37 (-372 - -221)	-313 \pm 26 (-367 - -285)
Sólidos Suspensos (mg/L)	338 \pm 115 (130 - 620)	356 \pm 152 (80 - 690)

Valores Médios dos Parâmetros Físico-químicos Obtidos no Período Experimental nas Lagoas 2 e 3

Os resultados médios, desvio padrão, mínimos e máximos obtidos, para as variáveis analisadas, durante os períodos de monitoramento em L2 e L3 são apresentados nas tabelas AP1.2 e AP1.3. As tabelas encontram-se organizadas para cada lagoa, por profundidade de coleta, de acordo as médias obtidas durante todo o período experimental. Desta forma, 0,1m, 0,4m e 0,7m para L2 e 0,1m, 0,3m e 0,5m para L3, nas regiões A, E e I (entrada, meio e saída da lagoa, respectivamente).

Tabela API.2: Valores obtidos na L2, nas profundidades 0,1; 0,4 e 0,7m, em cada ponto de coleta. Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão e valores mínimos e máximos.

Etapa 1 (n = 22)		Média \pm Desvio Padrão (mínimo- máximo)		
VARIÁVEIS	Entrada (A)			
	0,1m	0,4m	0,7m	
Temperatura (°C)	24,8 \pm 3,8 (17,6 - 30,6)	23,1 \pm 3,1 (17,5 - 27,76)	23 \pm 3,1 (17,8 - 27,7)	
pH	9,15 \pm 0,17 (8,89 - 9,52)	9,06 \pm 0,16 (8,74 - 9,47)	9,01 \pm 0,14 (8,78 - 9,30)	
Oxigênio Dissolvido (mg/L)	3,1 \pm 4,1 (0,5 - 17)	1,2 \pm 1,2 (0,3 - 6,2)	0,7 \pm 0,3 (0,2 - 1,4)	
Condutividade (mS/cm)	10,4 \pm 4,5 (1,6 - 18,1)	9,8 \pm 3,9 (4,2 - 18,7)	9,9 \pm 3,9 (4,6 - 17,5)	
Potencial Redox (mV);	-119 \pm 112 (-307 - 164)	-190,6 \pm 70,3 (-310 - 22)	-230 \pm 72 (-346 - -2)	
Clorofila (μ g/L)	439 \pm 206 (50 - 1297)	156 \pm 97 (50 - 419)	212 \pm 102 (45 - 816)	
Sólidos Suspensos (mg/L)	366 \pm 143 (130 - 640)	325 \pm 160 (30 - 760)	403 \pm 147 (180 - 750)	
VARIÁVEIS	Meio (E)			
	0,1m	0,4m	0,7m	
Temperatura (°C)	24,9 \pm 3,5 (17,8 - 30,6)	23,0 \pm 2,8 (17,1 - 23,7)	22,8 \pm 2,8 (17,8 - 26)	
pH	9,14 \pm 0,18 (8,93 - 9,56)	9,03 \pm 0,26 (8,09 - 9,49)	8,99 \pm 0,16 (8,7 - 9,27)	
Oxigênio Dissolvido (mg/L)	3,0 \pm 3,9 (0,6 - 17,1)	1,0 \pm 0,5 (0,5 - 2,9)	0,7 \pm 0,3 (0,3 - 1,4)	
Condutividade (mS/cm)	15,1 \pm 3,9 (7,2 - 20,7)	15,1 \pm 3,4 (7,4 - 19,1)	15,5 \pm 3,4 (7,1 - 19,4)	
Potencial Redox (mV);	-96 \pm 109 (-281 - 89)	-197,7 \pm 72,7 (-325 - -71)	-232 \pm 42 (-312 - -145)	
Clorofila (μ g/L)	354 \pm 167 (45 - 1273)	167 \pm 103 (45 - 620)	251 \pm 106 (33 - 518)	
Sólidos Suspensos (mg/L)	386 \pm 171 (140 - 930)	346 \pm 159 (110 - 830)	401 \pm 172 (140 - 750)	
VARIÁVEIS	Saída (I)			
	0,1m	0,4m	0,7m	
Temperatura (°C)	25,3 \pm 3,4 (18,3 - 29,8)	23,0 \pm 2,7 (17,5 - 26,9)	22,8 \pm 2,9 (17,8 - 26,7)	
pH	9,16 \pm 0,19 (8,88 - 9,59)	9,08 \pm 0,16 (8,80 - 9,51)	8,98 \pm 0,17 (8,71 - 9,26)	
Oxigênio Dissolvido (mg/L)	3,5 \pm 3,8 (0,6 - 14,9)	1,3 \pm 1,9 (0,5 - 9,7)	0,8 \pm 0,4 (0,3 - 1,8)	
Condutividade (mS/cm)	18,3 \pm 2,4 (14,4 - 23,7)	18,2 \pm 2,5 (15,0 - 23,6)	18,5 \pm 2,4 (15,1 - 23,6)	
Potencial Redox (mV);	-103 \pm 82 (-263 - 110)	-178 \pm 95,4 (-312 - 84)	-226 \pm 58 (-330 - -84)	
Clorofila (μ g/L)	520 \pm 210 (11 - 1118)	362 \pm 160 (45 - 1019)	476 \pm 96 (28 - 640)	
Sólidos Suspensos (mg/L)	345 \pm 144 (10 - 680)	389 \pm 221 (140 - 1210)	396 \pm 189 (120 - 830)	

Tabela API.3: Valores obtidos na L3, nas profundidades 0,1; 0,3 e 0,5m, em cada ponto de coleta. Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão e valores mínimo e máximo.

Etapa 1 (n = 22)		Média \pm Desvio Padrão (mínimo- máximo)		
VARIÁVEIS	Entrada (A)			
	0,1m	0,3m	0,5m	
Temperatura (°C)	24,6 \pm 3,4 (18,7 - 32,0)	22,8 \pm 3,0 (17,6 - 30,0)	22,5 \pm 2,8 (17,3 - 26,7)	
pH	9,17 \pm 0,18 (8,74 - 9,57)	9,12 \pm 0,19 (8,76 - 9,57)	9,02 \pm 0,23 (8,72 - 9,6)	
Oxigênio Dissolvido (mg/L)	2,1 \pm 2,3 (0,4 - 11)	1,0 \pm 0,5 (0,3 - 2,7)	0,8 \pm 0,5 (0,4 - 2,4)	
Condutividade (mS/cm)	10,1 \pm 2,1 (6,3 - 13,6)	11,6 \pm 2,7 (7,4 - 19,5)	12,7 \pm 3,2 (9,1 - 21,5)	
Potencial Redox (mV);	-122 \pm 69 (-256 - 15)	-178 \pm 82 (-334 - 13)	-209 \pm 75 (-338 - 11)	
Clorofila (μ g/L)	522 \pm 200 (95 - 1630)	219 \pm 156 (50 - 536)	320 \pm 159 (22 - 840)	
Sólidos Suspensos (mg/L)	363 \pm 153 (80 - 670)	354 \pm 139 (100 - 630)	347 \pm 134 (130 - 610)	
VARIÁVEIS	Meio (E)			
	0,1m	0,3m	0,5m	
Temperatura (°C)	25,1 \pm 3,1 (17,8 - 29,8)	22,4 \pm 2,6 (17,5 - 26,2)	22,4 \pm 2,6 (17,3 - 25,3)	
pH	9,17 \pm 0,20 (8,74 - 9,74)	9,13 \pm 0,18 (8,76 - 9,54)	9,03 \pm 0,25 (8,66 - 9,56)	
Oxigênio Dissolvido (mg/L)	1,8 \pm 1,4 (0,4 - 6,7)	0,9 \pm 0,3 (0,3 - 1,8)	1,1 \pm 1,7 (0,2 - 8,8)	
Condutividade (mS/cm)	9,9 \pm 2,0 (4,4 - 13,5)	11,5 \pm 2,8 (7,9 - 19,9)	12,7 \pm 3,0 (10 - 21,5)	
Potencial Redox (mV);	-103 \pm 75 (-257 - 79)	-184 \pm 78 (-337 - -21)	-206 \pm 76 (-321 - -24)	
Clorofila (μ g/L)	310 \pm 123 (33 - 1223)	203 \pm 104 (17 - 821)	167 \pm 91 (50 - 538)	
Sólidos Suspensos (mg/L)	389 \pm 161 (160 - 810)	320 \pm 107 (130 - 650)	308 \pm 103 (90 - 530)	
VARIÁVEIS	Saída (I)			
	0,1m	0,3m	0,5m	
Temperatura (°C)	25,3 \pm 3,2 (19,1 - 31,4)	22,6 \pm 2,8 (17,2 - 27,1)	22,3 \pm 2,9 (17,1 - 26,7)	
pH	9,16 \pm 0,18 (8,74 - 9,47)	9,13 \pm 0,19 (8,75 - 9,52)	9,04 \pm 0,22 (8,74 - 9,54)	
Oxigênio Dissolvido (mg/L)	2,1 \pm 2,0 (0,3 - 9,1)	1,1 \pm 0,8 (0,2 - 4,4)	0,9 \pm 0,5 (0,2 - 2,2)	
Condutividade (mS/cm)	10,0 \pm 2,4 (3,0 - 13,6)	11,4 \pm 2,8 (7,3 - 20,0)	12,4 \pm 3,2 (8,7 - 21,5)	
Potencial Redox (mV);	-72 \pm 107 (-259 - 92)	-145 \pm 96 (-330 - 80)	-195 \pm 83 (-324 - 73)	
Clorofila (μ g/L)	360 \pm 283 (56 - 1099)	176 \pm 134 (22 - 536)	145 \pm 114 (17 - 419)	
Sólidos Suspensos (mg/L)	395 \pm 149 (80 - 760)	281 \pm 123 (80 - 620)	325 \pm 133 (110 - 690)	

APÊNDICE 2

Comparação entre médias dos parâmetros ao longo da coluna d'água – ANOVA

Nas Tabelas AP2.1 e AP2.2 (L2 e L3, respectivamente) apresentam-se os resultados obtidos com o teste de Tukey.

Tabela AP2.1: Comportamento das variáveis, ao longo do ano, em L2 (Comparação de Médias - Teste de Tukey).

Valores médios ao longo do monitoramento - ENTRADA (n=22)							
Profundidade (cm)	Clorofila <i>a</i>	SST (mg/L)	Temp (°C)	pH	Cond (mS/cm)	ORP (mV)	OD (mg/L)
A10	438,82 b	366,36 a	24,83 a	9,14 b	10,431 b	-119,10 b	3,10 b
A40	156,24 a	325,45 a	23,05 a	9,06 ab	15,091 a	-190,61 a	1,16
A70	212,04 a	402,72 a	22,95 a	9,01 a	18,270 a	-229,9 a	0,67 a
Valores médios ao longo do monitoramento - MEIO (n=22)							
E10	353,83 a	386,36 a	24,89 a	9,14 b	9,809 b	-95,50 b	2,98 b
E40	166,79 a	346,36 a	23,01 a	9,02 a	15,099 a	-198,72 a	0,97 a
E70	250,84 a	400,90 a	22,81 a	8,99 a	18,225 a	-232,36 a	0,71 a
Valores médios ao longo do monitoramento - SAÍDA (n=22)							
I10	520,46 a	345,0 a	25,33 b	9,16 b	9,870 b	-102,99 b	3,52 b
I40	362,30 a	388,63 a	23,02 a	9,07 ab	15,450 a	-178,00 a	1,29 a
I70	475,98 a	396,36 a	22,77 a	8,97 a	18,450 a	-225,61 a	0,80 a

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

Verifica-se em L2, apenas diferenças significativas nas concentrações de clorofila *a*, pH, condutividade, ORP, e OD entre as profundidades no ponto de entrada da lagoa; diferenças entre os parâmetros pH, condutividade, ORP e OD no ponto central da lagoa (meio) e diferenças entre os parâmetros temperatura, pH, condutividade, ORP e OD, no ponto de saída da lagoa, estando esta variação mais acentuada quando comparada a profundidade 0,1m com os demais estratos (0,4 e 0,7m).

Tabela AP2.2: Comportamento das variáveis, ao longo do ano, em L3 (Comparação de Médias - Teste de Tukey).

Valores médios ao longo do monitoramento - ENTRADA (n=22)							
Profundidade (cm)	Clorofila <i>a</i>	SST (mg/L)	Temp (°C)	pH	Cond (mS/cm)	ORP (mV)	OD (mg/L)
A10	521,73a	363,18 a	24,63a	9,17b	10,148 b	-122,48b	2,10 b
A30	219,39a	353,63 a	22,80a	9,12ab	11,645 ab	-178,36a	0,99a
A50	320,29a	347,27 a	22,46a	9,02a	12,701 a	-208,99 a	0,82a
Valores médios ao longo do monitoramento - MEIO (n=22)							
E10	309,59a	388,63 a	25,11b	9,17a	12,661 b	-102,86b	1,81b
E30	203,16a	320,00 a	22,47a	9,13a	11,474 ab	-184,09 a	1,06 ab
E50	167,40a	308,18 a	22,39a	9,02a	9,946 a	-206,40 a	0,85 a
Valores médios ao longo do monitoramento - SAÍDA (n=22)							
I10	360,41b	394,55 b	25,26b	9,15a	9,96 b	-71,82 b	0,9 b
I30	175,77a	325,00ab	22,56a	9,12a	11,41ab	-145,03 a	1,07 a
I50	144,82a	280,90a	22,34a	9,03a	12,36a	-195,22 a	2,13 a

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

Na L3 verifica-se diferença nas concentrações de pH, condutividade, ORP, e OD no ponto de entrada da lagoa (A); diferenças entre os parâmetros temperatura, condutividade, ORP e OD no ponto central da lagoa (E) e diferenças entre os todos os parâmetros analisados com exceção do pH, no ponto de saída da lagoa (I), com significância estatística ao longo da coluna d'água, estando mais acentuada quando comparada a profundidade 0,1m com os demais estratos (0,3 e 0,5m).

APÊNDICE 3

Comparação entre médias das variáveis em perfil horizontal – ANOVA

O resultado da comparação entre as médias no perfil horizontal sentido entra → saída de L2 e L3, é apresentados nas Tabelas AP3.1, AP3.2 e AP3.3 (para L2) e nas Tabelas AP3.4, AP3.5 e AP3.6 (para L3), ao nível de significância de 0,05 (5%).

Tabela AP3.1: Comportamento das variáveis, ao longo das estações, no estrato superficial (0,1m) de L2 (Comparação de Médias - Teste de Tukey).

LAGOA 2 – SUPERFÍCIE (0,1m)							
Ponto amostral (cm)	Valores médios ao longo do monitoramento - INVERNO (n=6)						
	Clorofila <i>a</i> (µg/L)	SST (mg/L)	Temp (°C)	pH	OD (mg/L)	Cond (mS/cm)	ORP (mV)
A10	781 a	415 a	23,77 a	9,10 a	14,46 a	3,891 a	39,00 a
E10	653 a	450 a	22,99 a	9,01 a	13,78 a	5,169 a	-36,50 a
I10	538 a	325 a	23,22 a	9,05 a	13,24 a	5,416 a	-25,50 a
Valores médios ao longo do monitoramento - PRIMAVERA (n=9)							
A10	465 a	440 a	24,12 a	9,08 a	3,49 a	10,963 a	-97,00 a
E10	525 a	413 a	24,46 a	9,04 a	2,41 a	9,706 a	-117,67 a
I10	420 a	413 a	23,12 a	9,03 a	3,81 a	9,875 a	-80,67 a
Valores médios ao longo do monitoramento - VERÃO (n=27)							
A10	223 a	378 a	27,69 a	9,04 a	1,39 a	12,836 a	-152,02 a
E10	140 a	337 a	27,50 a	9,05 a	1,12 a	11,759 a	-135,78 a
I10	440 a	410 a	27,48 a	9,05 a	1,16 a	12,295 a	-157,09 a
Valores médios ao longo do monitoramento - OUTONO (n=24)							
A10	587 a	314 a	22,17 a	9,30 a	2,05 a	9,162 a	-129,88 a
E10	455 a	416 a	22,61 a	9,32 a	2,61 a	8,815 a	-56,63 a
I10	644 a	251 a	24,27 a	9,37 a	3,65 a	8,260 a	-69,88 a

Tabela AP3.2: Comportamento das variáveis, ao longo das estações, no estrato intermediário (meio – 0,4m) de L2 (Comparação de Médias - Teste de Tukey).

LAGOA 2 – MEIO (0,4m)							
Ponto amostral (cm)	Valores médios ao longo do monitoramento - INVERNO (n=6)						
	Clorofila <i>a</i> (µg/L)	SST (mg/L)	Temp (°C)	pH	OD (mg/L)	Cond (mS/cm)	ORP (mV)
A40	332 a	465 a	19,80 a	8,83 a	3,70 a	10,163 a	-59,50 a
E40	580 a	575 a	19,81 a	8,80 a	1,87 a	8,648 a	-114,50 a
I40	399 a	350 a	20,43 a	8,81 a	5,11 a	10,209 a	-85,00 a
Valores médios ao longo do monitoramento - PRIMAVERA (n=9)							
A40	193 a	353 a	22,59 a	8,91 a	1,27 a	15,651 a	-251,00 a
E40	208 a	363 a	22,69 a	8,67 a	1,06 a	14,033 a	-266,67 a
I40	172 a	333 a	22,72 a	8,96 a	1,30 a	14,665 a	-239,33 a
Valores médios ao longo do monitoramento - VERÃO (n=27)							
A40	135 a	323 a	25,79 a	9,04 a	0,96 a	17,341 a	-202,83 a
E40	112 a	336 a	25,50 a	9,04 a	0,76 a	17,341 a	-219,22 a
I40	642 a	469 a	25,30 a	9,05 a	0,75 a	17,720 a	-224,69 a
Valores médios ao longo do monitoramento - OUTONO (n=24)							
A40	123 a	283 a	20,97 a	9,19 a	0,72 a	13,583 a	-187,00 a
E40	109 a	295 a	21,14 a	9,20 a	0,98 a	14,590 a	-171,25 a
I40	110 a	329 a	21,21 a	9,22 a	0,94 a	14,509 a	-125,75 a

Tabela AP3.3: Comportamento das variáveis, ao longo das estações, no estrato profundo (fundo – 0,7m) de L2 (Comparação de Médias - Teste de Tukey).

LAGOA 2 – FUNDO (0,7m)							
Ponto amostral (cm)	Valores médios ao longo do monitoramento - INVERNO (n=6)						
	Clorofila <i>a</i> (µg/L)	SST (mg/L)	Temp (°C)	pH	OD (mg/L)	Cond (mS/cm)	ORP (mV)
A70	53 a	570 a	17,86 a	8,79 a	0,97 a	23,529 a	-279,50 a
E70	70 a	665 a	17,93 a	8,79 a	0,81 a	23,527 a	-303,00 a
I70	67 a	575 a	17,89 a	8,79 a	1,64 a	23,481 a	-245,50 a
Valores médios ao longo do monitoramento - PRIMAVERA (n=9)							
A70	153 a	393 a	24,05 a	9,00 a	0,61 a	18,870 a	-315,33 a
E70	123 a	390 a	23,40 a	8,85 a	0,76 a	17,932 a	-238,00 a
I70	90 a	447 a	22,78 a	8,85 a	1,16 a	19,645 a	-278,33 a
Valores médios ao longo do monitoramento - VERÃO (n=27)							
A70	143 a	432 a	25,29 a	8,95 a	0,77 a	19,043 a	-221,33 a
E70	156 a	394 a	25,03 a	8,94 a	0,71 a	19,088 a	-235,56 a
I70	541 a	366 a	25,25 a	8,90 a	0,75 a	19,170 a	-233,83 a
Valores médios ao longo do monitoramento - OUTONO (n=24)							
A70	337 a	331 a	21,19 a	9,15 a	0,51 a	15,862 a	-195,13 a
E70	466 a	346 a	21,31 a	9,16 a	0,69 a	16,040 a	-209,00 a
I70	650 a	368 a	21,23 a	9,16 a	0,54 a	15,948 a	-191,63 a

Tabela AP3.4: Comportamento das variáveis, ao longo das estações, no estrato superficial (0,1m) de L2 (Comparação de Médias - Teste de Tukey).

LAGOA 3 – SUPERFÍCIE (0,1m)							
Ponto amostral (cm)	Valores médios ao longo do monitoramento - INVERNO (n=6)						
	Clorofila <i>a</i> (µg/L)	SST (mg/L)	Temp (°C)	pH	OD (mg/L)	Cond (mS/cm)	ORP (mV)
A10	569 a	540 a	23,19 a	8,79 a	0,95 a	8,680 a	-157,00 a
E10	1018 a	715 a	23,99 a	8,76 a	0,75 a	7,716 a	-196,50 a
I10	586 a	425 a	24,70 a	8,75 a	0,76 a	6,964 a	-188,00 a
Valores médios ao longo do monitoramento - PRIMAVERA (n=9)							
A10	363 a	253 a	23,83 a	9,09 a	6,64 a	7,847 a	-77,33 a
E10	370 a	313 a	24,96 a	9,08 a	2,87 a	8,534 a	-67,00 a
I10	370 a	303 a	24,56 a	9,08 a	4,75 a	8,031 a	-73,00 a
Valores médios ao longo do monitoramento - VERÃO (n=27)							
A10	427 a	406 a	27,30 a	9,19 a	1,22 a	11,109 a	-125,08 a
E10	244 a	416 a	27,59 a	9,18 a	1,95 a	10,881 a	-112,56 a
I10	364 a	474 a	27,70 a	9,20 a	1,70 a	11,133 a	-70,24 a
Valores médios ao longo do monitoramento - OUTONO (n=24)							
A10	677 b	305 a	22,29 a	9,28 a	1,68 a	10,298 a	-127,88 a
E10	183 a	313 a	22,66 a	9,30 a	1,53 a	9,983 a	-82,00 a
I10	296 ab	331 a	22,92 a	9,24 a	1,99 a	10,122 a	-44,13 a

Tabela AP3.5: Comportamento das variáveis, ao longo das estações, no estrato intermediário (meio – 0,4m) de L2 (Comparação de Médias - Teste de Tukey).

LAGOA 3 – MEIO (0,3m)							
Ponto amostral (cm)	Valores médios ao longo do monitoramento - INVERNO (n=6)						
	Clorofila <i>a</i> (µg/L)	SST (mg/L)	Temp (°C)	pH	OD (mg/L)	Cond (mS/cm)	ORP (mV)
A30	209 a	470 a	19,05 a	8,77 a	0,61 a	18,409 a	-315,00 a
E30	296 a	320 a	18,84 a	8,77 a	0,51 a	19,009 a	-309,00 a
I30	564 a	430 a	19,26 a	8,76 a	0,57 a	18,352 a	-295,50 a
Valores médios ao longo do monitoramento - PRIMAVERA (n=9)							
A30	251 a	313 a	22,30 a	8,99 a	1,00 a	8,527 a	-122,67 a
E30	402 a	213 a	22,66 a	9,05 a	1,25 a	8,700 a	-159,00 a
I30	197 a	250 a	22,32 a	9,00 a	2,17 a	8,354 a	-127,67 a
Valores médios ao longo do monitoramento - VERÃO (n=27)							
A30	233 a	417 a	25,31 a	9,14 a	1,01 a	12,061 a	-191,78 a
E30	122 a	370 a	24,63 a	9,14 a	0,87 a	11,730 a	-212,22 a
I30	189 a	282 a	24,93 a	9,14 a	0,97 a	11,763 a	-155,87 a
Valores médios ao longo do monitoramento - OUTONO (n=24)							
A30	174 a	269 a	21,12 a	9,25 a	1,06 a	10,657 a	-151,50 a
E30	130 a	304 a	20,89 a	9,24 a	0,77 a	10,342 a	-129,13 a
I30	144 a	254 a	20,83 a	9,25 a	0,91 a	10,429 a	-101,75 a

Tabela AP3.6: Comportamento das variáveis, ao longo das estações, no estrato profundo (fundo – 0,5m) de L3 (Comparação de Médias - Teste de Tukey).

LAGOA 3 – FUNDO (0,5m)							
Ponto amostral (cm)	Valores médios ao longo do monitoramento - INVERNO (n=6)						
	Clorofila <i>a</i> (µg/L)	SST (mg/L)	Temp (°C)	pH	OD (mg/L)	Cond (mS/cm)	ORP (mV)
A50	112 a	555 a	18,29 a	8,78 a	0,68 a	21,321 a	-321,50 a
E50	78 a	455 a	18,42 a	8,78 a	0,68 a	21,070 a	- 308,50 ^a
I50	234 a	575 a	18,27 a	8,78 a	0,67 a	21,366 a	- 308,50 ^a
Valores médios ao longo do monitoramento – PRIMAVERA (n=9)							
A50	147 a	257 a	22,41 a	8,82 a	1,22 a	10,796 a	-197,33 a
E50	110 a	307 a	23,32 a	8,95 a	3,46 a	10,955 a	-176,33 a
I50	223 a	280 a	22,38 a	8,79 a	1,17 a	10,541 a	-181,33 a
Valores médios ao longo do monitoramento - VERÃO (n=27)							
A50	181 a	382 a	24,79 a	8,98 a	0,85 a	12,742 a	-224,20 a
E50	136 a	309 a	24,36 a	8,96 a	0,81 a	12,903 a	-237,33 a
I50	122 a	341 a	24,83 a	9,01 a	0,92 a	12,649 a	-209,89 a
Valores médios ao longo do monitoramento - OUTONO (n=24)							
A50	594 a	290 a	20,91 a	9,21 a	0,69 a	11,216 a	-168,13 a
E50	247 a	271 a	20,82 a	9,19 a	0,54 a	10,927 a	-157,38 a
I50	119 a	261 a	20,55 a	9,23 a	0,85 a	10,474 a	-155,63 a

APÊNDICE 4

Valores Médios das Variáveis Físico-químicas obtidos ao Longo do Dia nas Lagoas 2 e 3

Nas tabelas AP3.1 e AP3.2 estão apresentados os resultados médios, desvio padrão, mínimos e máximos obtidos durante os períodos de monitoramento em L2 e L3, respectivamente, no ponto central de cada lagoa (ponto E), e nas três profundidades. Os valores apresentam-se categorizados, sendo manhã = 10 horas, tarde = 14 horas e noite = 18 horas.

Tabela AP4.1: Valores obtidos em L2, nas profundidades 0,1; 0,4 e 0,7m, no monitoramento ao longo do dia. Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão e valores mínimos e máximos.

Etapa 2 (n = 14)		Média \pm Desvio Padrão (mínimo- máximo)		
VARIÁVEIS	10 horas			
	0,1m	0,4m	0,7m	
Temperatura (°C)	22,6 \pm 3,7 (16,5 – 27,1)	22,6 \pm 3,5 (16,4 – 26,8)	23,0 \pm 2,9 (18,2 – 26,3)	
pH	9,25 \pm 0,18 (9,06 – 9,62)	9,19 \pm 0,18 (9,03 – 9,58)	9,01 \pm 0,19 (8,82 – 9,39)	
Oxigênio Dissolvido (mg/L)	1,0 \pm 0,6 (0,5 – 2,9)	0,5 \pm 0,2 (0,3 – 1,1)	0,5 \pm 0,1 (0,1 – 0,7)	
Condutividade (mS/cm)	9,1 \pm 2,8 (4,8 – 14,4)	14,1 \pm 3,0 (9,2 – 18,8)	16,7 \pm 2,4 (10,8 – 19,2)	
Potencial Redox (mV);	-86 \pm 89 (-193 - 123)	-179 \pm 101 (-277 - 116)	-199 \pm 95 (-308 – 102)	
Clorofila (μ g/L)	346 \pm 224 (56 - 714)	108 \pm 54 (17 - 201)	340 \pm 257 (17 - 1309)	
Sólidos Suspensos (mg/L)	348 \pm 124 (90 – 600)	313 \pm 104 (80 - 500)	359 \pm 185 (50 - 760)	
VARIÁVEIS	14 horas			
	0,1m	0,4m	0,7m	
Temperatura (°C)	25,0 \pm 4,1 (17,8 – 30,6)	23,1 \pm 3,1 (17,1 – 27,3)	22,9 \pm 2,6 (18,6 – 26,0)	
pH	9,22 \pm 0,18 (9,02 – 9,56)	9,15 \pm 0,12 (9,03 – 9,49)	9,07 \pm 0,14 (8,87 – 9,27)	
Oxigênio Dissolvido (mg/L)	1,9 \pm 1,6 (0,8 – 5,8)	0,9 \pm 0,3 (0,5 – 1,7)	0,7 \pm 0,3 (0,3 – 1,4)	
Condutividade (mS/cm)	9,4 \pm 2,9 (4,7 – 14,6)	15,5 \pm 1,9 (10,9 – 18,1)	17,1 \pm 1,5 (15,0 – 19,6)	
Potencial Redox (mV);	-80 \pm 119 (-278 - 89)	-187 \pm 64 (-288 - -71)	-214 \pm 34 (-266 - -145)	
Clorofila (μ g/L)	320 \pm 393 (45 - 1373)	110 \pm 30 (45 - 145)	328 \pm 219 (33 - 1818)	
Sólidos Suspensos (mg/L)	375 \pm 198 (140 - 930)	300 \pm 99 (110 - 500)	359 \pm 171 (140 - 730)	
VARIÁVEIS	18 horas			
	0,1m	0,4m	0,7m	
Temperatura (°C)	25,1 \pm 3,9 (18,7 – 30,7)	23,2 \pm 3,1 (18,0 – 26,7)	23,0 \pm 2,6 (18,7 – 26,2)	
pH	9,25 \pm 0,16 (9,02 – 9,53)	9,13 \pm 0,10 (9,01 – 9,37)	9,12 \pm 0,08 (8,89 – 9,27)	
Oxigênio Dissolvido (mg/L)	2,0 \pm 2,1 (0,7 – 6,5)	0,8 \pm 0,4 (0,4 – 1,9)	0,5 \pm 0,2 (0,3 – 0,8)	
Condutividade (mS/cm)	9,6 \pm 3,2 (4,4 – 14,2)	15,3 \pm 2,0 (11,4 – 17,9)	16,8 \pm 1,3 (15,2 – 18,8)	
Potencial Redox (mV);	-98 \pm 131 (-293 - 92)	-175 \pm 87 (-281 - -47)	-230 \pm 53 (-291 - -128)	
Clorofila (μ g/L)	669 \pm 514 (17 - 1858)	115 \pm 35 (50 - 173)	175 \pm 158 (33 - 681)	
Sólidos Suspensos (mg/L)	365 \pm 178 (80 - 710)	279 \pm 94 (120 - 440)	292 \pm 100 (120 - 450)	

Tabela AP4.2: Valores obtidos em L3, nas profundidades 0,1; 0,3 e 0,5m, no monitoramento ao longo do dia. Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão e valores mínimos e máximos.

Etapa 2 (n = 14)			
VARIÁVEIS	Média \pm Desvio Padrão (mínimo- máximo)		
	10 horas		
	0,1m	0,3m	0,5m
Temperatura (°C)	22,7 \pm 3,4 (17,2 – 28,0)	22,2 \pm 3,0 (17,1 – 26,2)	22,4 \pm 3,1 (16,9 – 26,3)
pH	9,30 \pm 0,15 (9,16 – 9,61)	9,25 \pm 0,18 (9,02 – 9,61)	9,08 \pm 0,31 (8,60 – 9,61)
Oxigênio Dissolvido (mg/L)	1,1 \pm 0,7 (0,3 – 2,4)	0,6 \pm 0,5 (0,1 – 2,0)	0,5 \pm 0,4 (0,2 – 1,7)
Condutividade (mS/cm)	9,4 \pm 1,7 (6,6 – 13,0)	10,6 \pm 1,1 (9,0 – 13,1)	12,1 \pm 1,8 (10 – 15,5)
Potencial Redox (mV);	-82 \pm 115 (-288 - 88)	-133 \pm 113 (-272 - 73)	-173 \pm 97 (-314 - 15)
Clorofila (μ g/L)	273 \pm 127 (17 - 441)	186 \pm 158 (33 - 569)	131 \pm 85 (33 - 327)
Sólidos Suspensos (mg/L)	336 \pm 129 (90 – 550)	306 \pm 101 (110 – 480)	308 \pm 114 (170 - 620)
VARIÁVEIS	14 horas		
	0,1m	0,3m	0,5m
	Temperatura (°C)	24,6 \pm 3,3 (17,9 – 28,9)	22,6 \pm 2,8 (17,5 – 26,2)
pH	9,25 \pm 0,16 (9,09 – 9,54)	9,20 \pm 0,15 (9,00 – 9,54)	9,06 \pm 0,29 (8,66 – 9,56)
Oxigênio Dissolvido (mg/L)	1,4 \pm 0,7 (0,8 – 3,4)	0,8 \pm 0,2 (0,3 – 1,0)	0,6 \pm 0,2 (0,2 – 1,0)
Condutividade (mS/cm)	10,0 \pm 1,4 (7,6 – 13,4)	10,7 \pm 1,1 (8,8 – 13,1)	11,7 \pm 1,2 (10,0 – 13,4)
Potencial Redox (mV);	-95 \pm 81 (-188 - 79)	-161 \pm 71 (-249 - -21)	-186 \pm 69 (-280 - -24)
Clorofila (μ g/L)	220 \pm 178 (33 - 591)	120 \pm 82 (17 - 329)	192 \pm 247 (67 - 1038)
Sólidos Suspensos (mg/L)	352 \pm 122 (160 - 600)	329 \pm 68 (170 - 430)	295 \pm 92 (90 - 490)
VARIÁVEIS	18 horas		
	0,1m	0,3m	0,5m
	Temperatura (°C)	25,3 \pm 3,9 (19,7 – 31,1)	23,2 \pm 3,0 (18,7 – 27,0)
pH	9,29 \pm 0,14 (9,14 – 9,54)	9,22 \pm 0,13 (9,05 – 9,54)	9,15 \pm 0,18 (8,92 – 9,54)
Oxigênio Dissolvido (mg/L)	2,2 \pm 2,0 (0,9 – 8,3)	1,0 \pm 0,7 (0,3 – 3,3)	0,7 \pm 0,7 (0,2 – 2,9)
Condutividade (mS/cm)	9,5 \pm 1,5 (6,6 – 12,8)	10,6 \pm 1,1 (8,6 – 13,5)	11,3 \pm 0,9 (10,1 – 13,1)
Potencial Redox (mV);	-13 \pm 102 (-231 - 117)	-144 \pm 101 (-272 - 92)	-197 \pm 90 (-283 - 63)
Clorofila (μ g/L)	589 \pm 263 (240 - 982)	166 \pm 110 (45 - 458)	137 \pm 112 (28 - 430)
Sólidos Suspensos (mg/L)	320 \pm 145 (70 - 510)	229 \pm 97 (80 - 400)	232 \pm 66 (140 - 310)

ANEXO 1

Protocolo experimental para os parâmetros físico-químicos

- **Clorofila *a***

Para avaliar a concentração de Clorofila *a*, após serem coletadas, 50 mL de cada amostra era imediatamente filtrada (filtro de 25µm de porosidade), com auxílio de uma bomba a vácuo. Os filtros eram colocados em tubos de ensaio (previamente enrolados em papel alumínio para evitar entrada de luz), e guardados em congelador (-20°C) por até três meses. Após descongelados, foram adicionados 10mL de etanol (80%), levados em banho-maria (75°C – 5min). Após este período, os tubos eram colocados em recipiente com gelo (para o choque térmico) e então, finalmente levados à geladeira (permanecendo pelo menos por 6 horas). A leitura foi realizada em espectrofotômetro (665nm para determinação de clorofila e 750nm para determinação de feoftina) nas amostras com e sem ácido (1 gota de HCl 0,4N). Após a leitura em espectrofotômetro, realizavam-se as seguintes conversões, conforme as equações 1 e 2:

$$\text{Clorofila } a \text{ (}\mu\text{g/L)} = 27,9 \times (EB-EA) \times V \quad (\text{Equação 1})$$

$$\text{Feoftina (}\mu\text{g/L)} = 27,9 \times [(EA \times 1,7) - EB] \times V \quad (\text{Equação 2})$$

Onde:

27,9 = Fator de correção da absorvância;

EB = diferença das leituras entre absorvâncias (665-750) não acidificadas

EA = diferença das leituras entre absorvâncias (665-750) acidificadas

V = Volume do solvente / Volume filtrado x diâmetro da cubeta

- **Sólidos em Suspensão (SST)**

Sólidos em Suspensão (ou SST) são todos os sólidos presentes nas águas residuárias que podem ser retidos por filtração. Na análise de sólidos primeiramente, para a calibragem, filtrou-se uma membrana de acetato de celulose (Sartorium®) com 0,45µm de porosidade e 47 mm de diâmetro, com auxílio de bomba a vácuo, em 10mL de água destilada. Em seguida, a membrana foi encaminhada para uma estufa a 103–105 °C durante 20 minutos e resfriada em dessecador até

atingir a temperatura ambiente. A membrana foi então, pesada em balança de alta precisão, obtendo-se o P_0 . Após este procedimento, filtrou-se esta mesma membrana recém pesada, com 10 mL da amostra (volume padronizado previamente para as amostras providas do sistema de lagoas em estudo). A membrana foi recolhida (com o auxílio de uma pinça) e o procedimento estufa/dessecador repetido, para obtenção do P_1 .

Após recolhidos os dados, o seguinte cálculo foi realizado, conforme equação 3.

$$SST = (P_2 - P_1 / V) \times 10^{-6} \quad (\text{Equação 3})$$

Onde:

P_1 = peso da membrana previamente seca (g);

P_2 = peso da membrana após filtração (g);

V = volume da amostra (mL);

- **Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO)**

O teste da DBO determina qual a máxima quantidade de oxigênio dissolvido que a degradação biológica é capaz de retirar de um curso de água em determinado tempo (t). Desta forma, funciona como uma medida indireta da necessidade respiratória de uma população bacteriana para estabilização da matéria orgânica. O método utilizado para determinação foi o manométrico isento de mercúrio, diluído 20x para L1 e sem diluição para L2 e L3 (HACH® modelo track; faixa de leitura de 0-700mg/L; sensores eletrônicos de pressão com display digital). Para as análises, utilizou-se ainda a DBO₅ (ou seja, o tempo padrão de 5 dias) e as análises foram feitas semanalmente.

- **Demanda Química de Oxigênio (DQO)**

O teste da DQO determina, não só a carga orgânica biodegradável (como na DBO), mas também a matéria não-biodegradável. Realizado através do método colorimétrico de refluxo fechado, o método baseia-se na oxidação da matéria orgânica em meio fortemente ácido, com uma quantidade, em excesso e conhecida, de dicromato de potássio. A amostra (10x diluída em todos os pontos) era acidificada e levada no bloco de digestão por 2 horas a 150°C. Após este período, a

amostra era resfriada à temperatura ambiente, e o dicromato, agora reduzido, medido em espectrofotômetro (HACH®, modelo DR 2010) a 600nm, faixa de leitura de 0-900mg/L, utilizando uma curva analítica previamente calibrada.

- **Determinação de Nitrogênio Amoniacal**

Para a determinação do nitrogênio amoniacal, 100mL das amostra (sem diluição) foram tamponadas a pH 9,5 (com solução de NaOH 6N), e posteriormente adicionados 10mL de solução Tampão Borato. Após, iniciava-se a destilação (VELP) recolhendo-se o destilado em um erlenmeyer de 250mL contendo 50mL de solução de Acido Bórico. O destilado era titulado com H₂SO₄ (0,02N). Um branco era também feito através de mesmos procedimentos das amostras. Após a titulação, os seguintes cálculos eram realizados, conforme equação 4:

$$\text{Mg NH}_3\text{-N/L} = [(a-b) \times 280] / \text{volume da amostra (mL)} \quad (\text{Equação 4})$$

Onde:

a = mL de H₂SO₄ gastos com a amostra

b = mL de H₂SO₄ gastos com o branco

ANEXO 2

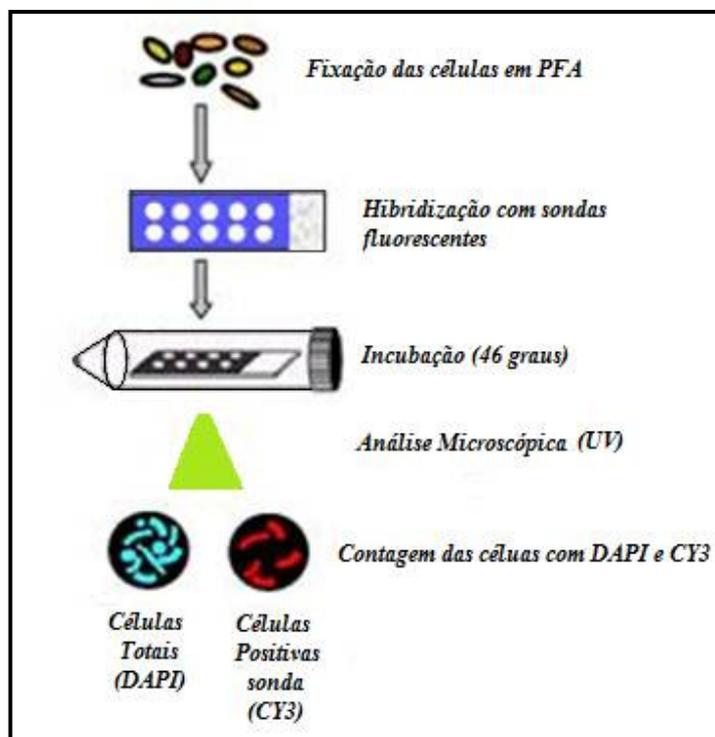


Figura A2.1: Representação esquemática simplificada, da técnica de FISH.
Fonte: Adaptado de KIELING, 2004.

Tabela A2.1: Descrição das sondas utilizadas na detecção dos microrganismos presentes na lagoa 1 pela técnica de FISH.

Sonda	Especificidade	Sequência (5' - 3')	Referência
EUB mix (I+II+III) ¹	Todas as bactérias	GCTGCCTCCCGTAGGAGT CAGCCACCCGTAGGTGT CTGCCACCCGTAGGTGT	¹ Polprasert e Sawaitayothin (2006)
NEU ¹	<i>Nitrosomonas</i> sp.	CCCCTCTGCTGCACTCTA	
AMX820 ¹	Anammox	AAAACCCCTCTACTTAGTGCC	
Eury 499 ¹	Grupos <i>Methanomicrobiales</i>	CGGTCTTGCCCGGCCCT	
DSV 407 ¹	<i>Desulfobionaceae</i>	CCGAAGGCCTTCTTCCT	
ARC 915	Todas Archae	GTGCTCCCCGCCAATTCCT	Stahl et al. (1991)
NIT 3	<i>Nitrobacter</i> sp.	CCTGTGCTCCATGCTCCG	Wagner et al. (1996)
NSO 190	Todas AOB beta	CGATCCCTGCTTTTCTCC	Mobarry et al. (1996)