

II-097 - ANÁLISE MICROSCÓPICA DA DIVERSIDADE FITOPLANCTÔNICA DE LAGOAS DE ESTABILIZAÇÃO

Anna Patrícia Florentino de Souza Silva

Bióloga pela Universidade Estadual do Ceará. Mestre em Saneamento Ambiental pela Universidade Federal do Ceará. Doutoranda em Microbiologia na Wageningen University.

Mayara Carantino Costa

Engenheira Civil pela Universidade Federal do Ceará (UFC). Mestre em Saneamento Ambiental pela UFC. Doutora em Saneamento Ambiental pela UFC. Pesquisadora pós-doc (Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental - UFC).

Alexandre Colzi Lopes

Engenheiro Civil pela Universidade Federal do Ceará (UFC). Mestre em Engenharia Hidráulica e Saneamento pela Universidade de São Paulo. Doutor em Engenharia Química e Tecnologia do Meio ambiente pela Universidad de Valladolid. Pesquisador pós-doc (Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental - UFC).

André Bezerra dos Santos⁽¹⁾

Engenheiro Civil pela Universidade Federal do Ceará (UFC). Mestre em Saneamento Ambiental pela UFC. Doutor em Saneamento Ambiental pela Wageningen University. Professor Adjunto IV do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental na UFC.

Endereço⁽¹⁾: Avenida Mister Hull S/N - Campus do Pici - Bloco 713 - Pici.- Fortaleza – Ceará – CEP: 60455-900 – Brasil - Tel: (85) 3366-9490 - e-mail: andre23@ufc.br

RESUMO

Em lagoas de estabilização, as microalgas representam a maior biodiversidade, constituindo uma fonte de matéria orgânica, N, P e sólidos suspensos no ambiente. Os gêneros e espécies predominantes nesses tipos de sistemas de tratamento de esgotos são função das características das lagoas e do efluente que estas recebem. Este trabalho analisou a diversidade de microalgas, ao nível de gênero, de lagoas de estabilização para estabelecer uma comparação entre os parâmetros físico-químicos apresentados pelos respectivos efluentes. Para analisar as correlações existentes entre os parâmetros físico-químicos dos efluentes e o número de organismos ocorrentes por gênero de microalga detectada, empregou-se a análise de correlação simples bivariada. Foram identificados organismos fitoplanctônicos de 21 gêneros. Embora os efluentes tenham sido originados de estações com configurações diferentes, a diversidade fitoplanctônica pode ser considerada homogênea quanto à distribuição dos gêneros no período do estudo. Os *blooms* ocorrentes nas amostras analisadas dificultaram a análise da diversidade nos efluentes e as correlações entre os parâmetros físico-químicos e os organismos. Cinco dos gêneros identificados nos efluentes analisados nunca foram reportados em estudos de identificação microscópica do fitoplâncton das lagoas de estabilização no nordeste do Brasil: *Aphanocapsa*, *Kirchineriella*, *Aulacoseira*, *Cymbella* e *Neidium*. Os gêneros de fitoplâncton que predominaram nos efluentes de lagoas analisados pertenciam às classes Chlorophyceae, Cyanophyceae e Euglenophyceae, que possuem, por sua vez, a capacidade de produção de lipídios e ácidos graxos predominantemente saturados, que podem ser utilizados para finalidades de bioenergética, com a produção de biodiesel.

PALAVRAS-CHAVE: Microalgas, Microscopia, Condições Ambientais.

INTRODUÇÃO

Embora não possua valor taxonômico, o termo microalga é amplamente difundido e engloba um grupo heterogêneo de micro-organismos (algas e cianofíceas) dotados de clorofila-a e outros pigmentos fotossintetizantes, capazes de realizar fotossíntese oxigênica, sendo os representantes fitoplanctônicos dos ambientes marinhos ou dulcícolas (DERNER *et al.*, 2006; MATA *et al.* 2010).

O papel das microalgas em lagoas de estabilização pode ser duplamente viável, uma vez que estes micro-organismos fornecem oxigênio para o processo de tratamento de efluentes, bem como podem gerar biomassa para a produção de biocombustíveis concomitante ao sequestro de dióxido de carbono. A utilização de

esgotos, além de ser uma alternativa ecologicamente correta, pode compensar o custo de fertilizantes comerciais normalmente necessários para as receitas de produção de algas em sistemas de cultivo tradicionais (CHRISTENSON; SIMS, 2011).

Na maioria dos trabalhos, a identificação das microalgas em ambientes de lagoas de estabilização é limitada ao nível de gênero. Esta limitação é justificada pela grande diversidade de espécies existentes; por exemplo, são quase 200 espécies de *Euglena* e mais de 400 espécies de *Chlamydomonas*. Além disso, estudos baseados em técnicas de microscopia convencionais para analisar pequenos organismos como bactérias e microalgas (variando de 0,5 a 2 µm de tamanho, como as microalgas comumente encontradas em efluentes de lagoas de estabilização) podem dar resultados errôneos, uma vez que estes organismos carecem de marcadores morfológicos para identificação precisa, mudam frequentemente de tamanho e forma durante o seu ciclo de vida e muitos não permitem o cultivo (GROBEN; MEDLIN, 2005).

Os gêneros e espécies de microalgas predominantes em cada sistema são função das características das lagoas e do efluente que estas recebem (PEARSON, 2008). Esta diversidade influenciará, consequentemente, o teor de óleos e graxas da biomassa obtida de cada sistema. As microalgas têm sido alvo de pesquisas de bioenergética, uma vez que conseguem acumular lipídios, variando de 2 a 77%, dependendo da espécie (CHISTI, 2007; MATA *et al.*, 2010).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a diversidade de microalgas, ao nível de gênero, de lagoas de estabilização para estabelecer uma comparação entre os parâmetros físico-químicos apresentados pelos respectivos efluentes.

MATERIAIS E MÉTODOS

Coleta e concentração das amostras

O trabalho foi delineado para estabelecer a comparação entre efluentes de sistemas de tratamento de esgotos por lagoas de estabilização. Seis estações de tratamento de esgotos (ETE), localizadas em Fortaleza-Ceará, foram selecionadas e, segundo os tipos de lagoas, agrupadas, conforme mostrado na tabela 1.

Tabela 1: Configurações das ETE onde foram realizadas as coletas.

Grupos	ETE	Descrição
1	Araturi	2 Lagoas Facultativas em paralelo
	Nova Metrópole	1 Lagoa Facultativa
2	José Walter	1 Lagoa Facultativa + 2 Lagoas de Maturação em série
	Tabapuá	1 Lagoa Facultativa + 2 Lagoas de Maturação em série
3	Tupã-mirim	1 Lagoa Aerada Facultativa + 1 Lagoa Facultativa + 2 Lagoas de Maturação (série)
	Aquiraz	1 Lagoa Anaeróbia + 1 Lagoa Facultativa + 2 Lagoas de Maturação em série

As amostras foram coletadas em período de seca na saída do efluente final dos sistemas de lagoas envolvidos no escopo do trabalho por meio de uma rede de plâncton de 20 µm de abertura e, em seguida, depositadas em um recipiente estéril e fixadas com solução *Transeau* (6 partes de água, 3 partes de etanol 95% e 1 parte de formol) em uma proporção de 1:1 (efluente: *Transeau*). Foram passados na rede 20 L de amostra e estocados 150 mL do filtrado.

Identificação e contagem

A identificação dos gêneros dominantes nas amostras foi realizada em quintuplicata com um microscópio óptico trinocular (L-1000T, Bioval, Brasil) e com o auxílio de guias e chaves de identificação disponíveis (BELLINGER; SIGEE, 2010; HUYNH; SEREDIK, 2006).

Caracterização físico-química

Foram analisados os parâmetros pH, oxigênio dissolvido (OD), temperatura, turbidez, clorofila-a, nitrito, nitrato, nitrogênio amoniacal, fósforo total, DBO, DQO e alcalinidade das amostras de efluentes coletadas, de

acordo com os métodos descritos no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2008).

Análise dos dados

Para analisar as correlações existentes entre os parâmetros físico-químicos dos efluentes e o número de organismos ocorrentes por classe de microalga detectada, empregou-se a análise de correlação simples bivariada. Foi utilizado o coeficiente de correlação de Spearman, dentro de um nível de significância ($-\alpha/2$), mínimo de 0,05, uma vez que este coeficiente de correlação assume uma normalização linear e exponencial. O coeficiente de correlação de Spearman (ρ) mede o grau de associação entre duas variáveis numéricas. Este coeficiente varia de -1 a 1, quanto mais próximo estiver de 1 ou -1, mais forte é a associação, quanto mais próximo estiver de zero, mais fraca é a relação entre as duas variáveis. O coeficiente negativo expressa uma relação inversa entre as duas variáveis.

RESULTADOS

Em análises realizadas nas amostras dos seis efluentes de sistemas de lagoas de estabilização, foram identificados organismos fitoplancônicos de 21 gêneros (Tabela 2).

Tabela 2: Gêneros de microalgas encontrados nas lagoas de estabilização estudadas.

Gênero	ETE					
	NM	AQ	TM	TB	CJW	AR
<i>Aphanocapsa</i>	+	++++	+	++	++	-
<i>Microcystis</i>	-	-	-	+++	++	-
<i>Oscillatoria</i>	++	++	+	+	+	-
<i>Planktothrix</i>	+	++++	+	++++	++	-
<i>Spirulina</i>	-	+	-	-	-	-
<i>Chlorella</i>	++++	-	++	++	+++	+
<i>Oocystis</i>	-	-	+	-	++	+
<i>Coelastrum</i>	-	-	-	+	+	-
<i>Micractinium</i>	-	-	-	++	-	-
<i>Eudorina</i>	-	-	+	+	-	-
<i>Pandorina</i>	-	-	++	-	-	-
<i>Euglena</i>	+++	-	+++	++	++++	++++
<i>Hyalophacus</i>	-	-	-	++	+	-
<i>Kirchineriella</i>	-	-	-	-	-	+
<i>Phacus</i>	++	++	-	+	-	-
<i>Aulacoseira</i>	-	++	+	-	-	-
<i>Cymbella</i>	-	-	-	-	-	+
<i>Cyclotella</i>	-	-	++	-	+	-
<i>Navicula</i>	-	-	+	-	+	+
<i>Neidium</i>	-	-	-	+	-	-
<i>Closterium</i>	+	-	-	-	-	-

Legenda: - Não Observado; + observados menos de 50 ind.L⁻¹; ++ observados mais de 50 e menos de 500 ind.L⁻¹; +++ observados mais de 500 e menos de 5000 ind.L⁻¹; ++++ observados mais de 10000 ind.L⁻¹. NM: Nova Metrópole; AQ: Aquiraz; TM: Tupã-Mirim; TB: Tabapuá; CJW: Conjunto José Walter; AR: Araturi.

De uma forma geral, a distribuição dos gêneros de microalgas presentes no período de coleta pode ser considerada homogênea. Embora os efluentes tenham sido originados de estações com configurações diferentes, a diversidade fitoplanctônica não variou das lagoas facultativas para as lagoas de maturação, precedidas de lagoas facultativas apenas ou de lagoas facultativas e anaeróbias ou aeradas facultativas.

Observou-se *blooms* dos gêneros *Aphanocapsa*, *Planktothrix*, *Chlorella* e *Euglena* em amostras dos efluentes analisados, ilustrados na figura 1. Algumas pesquisas apontam os gêneros *Chlorella* e *Euglena* como viáveis à produção de biodiesel, uma vez que apresentam elevado teor lipídico (MATA *et al.*, 2010; AHMAD *et al.*, 2011; PRABAKARAN; RAVIDRAN, 2011). No presente estudo, os gêneros *Euglena* e *Chlorella* foram encontrados em frequências relativamente elevadas em cinco dos seis efluentes analisados. O não aparecimento desses gêneros na ETE Aquiraz pode ser justificado pelos *blooms* simultâneos das cianofíceas *Aphanocapsa* e *Planktothrix*, que, em elevada frequência, ocasionam a diminuição da diversidade de microalgas de outras classes (CHELLAPPA; COSTA, 2006).

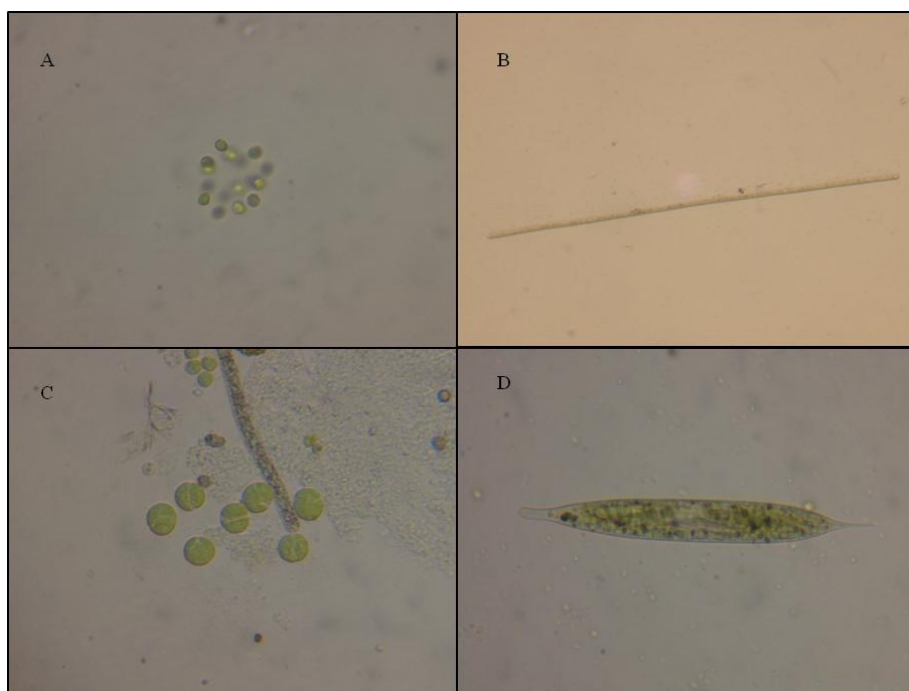


Figura 1: Fotografias de amostras de organismos observados em *blooms*
Legenda: A: *Aphanocapsa*; B: *Planktothrix*; C: *Chlorella*; D: *Euglena*.

Não foram relatados, em estudos anteriores de identificação microscópica do fitoplâncton das lagoas de estabilização no nordeste do Brasil, cinco dos gêneros identificados nos efluentes analisados: *Aphanocapsa*, *Kirchineriella*, *Aulacoseira*, *Cymbella* e *Neidium*. Na figura 2, está ilustrado um organismo do gênero *Aulacoseira*, que estava presente nos efluentes das ETE Aquiraz e Tupã-Mirim, bem como a fotografia de um organismo do gênero *Cymbella*, observado no efluente da ETE Araturi.

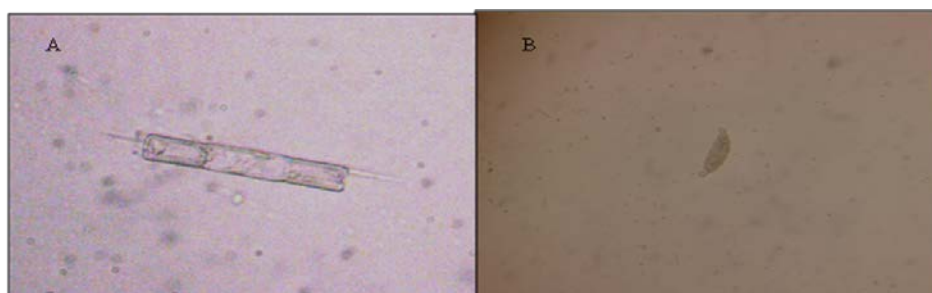


Figura 2: Fotografias de amostras de organismos
Legenda: A: *Aulacoseira*; B: *Cymbella*

Na tabela 3, encontram-se os resultados das análises físico-químicas dos efluentes das seis lagoas de estabilização selecionadas no estudo. Os valores de clorofila-a variaram de 422,9 a 1043,4 $\mu\text{g.L}^{-1}$, indicando a presença de microalgas nos ambientes.

Tabela 3: Caracterização físico-química dos efluentes de lagoas de estabilização.

Parâmetros		ETE					
		Aquiraz	Araturi	José Walter	N M	Tabapuá	Tupã-Mirim
pH	Média	7,83	8,79	7,76	7,64	8,1	7,75
	DPadrão	0,11	0,59	0,06	0,09	0,18	0,15
T (°C)	Média	29,2	32,7	31,3	32,3	29,7	31,0
	DPadrão	0,56	0,44	1,56	0,89	0,89	0,67
OD (mg.L^{-1})	Média	2,61	3,12	2,18	1,37	3,1	3,65
	DPadrão	0,52	1,04	0,49	0,46	1	0,67
DBO₅ (mg.L^{-1})	Média	110	175	182	212	132	116
	DPadrão	2,4	4,7	4,6	4,6	3,5	2,9
DQO (mg.L^{-1})	Média	178	425	332	389	219	207
	DPadrão	0,81	1,5	1,08	1,33	1,08	1,02
Amônia (mg.L^{-1})	Média	14,1	29,37	20,3	19,87	15,2	18,3
	DPadrão	0,93	0,59	0,73	0,78	1,07	0,53
Nitrato (mg.L^{-1})	Média	1,0	1,7	2,0	1,1	1,7	1,1
	DPadrão	0,05	0,03	0,17	0,05	0,07	0,05
Nitrito (mg.L^{-1})	Média	0,3	0,4	0,2	0,2	0,1	0,2
	DPadrão	0,01	0,02	0,01	0,01	0,02	0,02
P total (mg.L^{-1})	Média	5,5	4,93	4,67	6,85	4,4	3,79
	DPadrão	0,2	0,25	0,24	0,44	0,33	0,19
Chl-a ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Média	422,9	529,1	1043,4	853,9	474,8	742,9
	DPadrão	1,34	1,61	4,09	2,36	1,66	2,09
Feofitina ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Média	1354,1	1406,5	3231,7	2517,9	1206,5	2107,5
	DPadrão	1,22	1,05	1,34	2,17	0,55	1,25
Turbidez (UNT)	Média	205,7	911,3	760,0	704,7	329,7	164,3
	DPadrão	1,78	1,56	2,00	1,56	2,22	1,78
Alc. (mg.L^{-1} CaCO_3)	Média	186,7	160,57	182,07	95,8	346,9	143,82
	DPadrão	1,27	1,51	1,04	1,33	1,37	1,33
Relação N:P	Média	5,56	14,21	13,21	8,25	10,18	11,73
	DPadrão	0,22	0,59	0,94	0,53	0,84	0,69

Com o intuito de determinar que parâmetros poderiam estar relacionados com a predominância dos gêneros fitoplanctônicos nos ambientes estudados, foram realizadas correlações entre o número de organismos de cada gênero e os valores médios de cada parâmetro em todos os efluentes. Para a análise de correlação, apenas os 06 gêneros mais representativos dos 21 identificados foram considerados, conforme Tabela 4.

Tabela 4: Coeficientes de correlação de Spearmann (ρ) entre os gêneros de microalgas mais representativos e os principais parâmetros físico-químicos relacionados à incidência de microalgas.

Parâmetros	<i>Aphanocapsa</i>	<i>Microcystis</i>	<i>Oscillatoria</i>	<i>Planktothrix</i>	<i>Chlorella</i>	<i>Euglena</i>
Alcalinidade	0,543	-0,135	0,771	0,314	0,200	-0,771
N-Total	-0,486	0,270	-0,829*	-0,029	0,086	0,314
DBO	-0,657	0,101	-0,886*	-0,371	-0,086	0,257
Temperatura	0,600	-0,270	0,943**	0,257	0,143	-0,429
P-Total	-0,257	-0,541	-0,371	-0,257	-0,829*	-0,257
OD	0,086	0,068	0,314	0,086	0,657	0,371
pH	-0,638	-0,394	-0,232	-0,580	0,725	0,522
Relação N:P	-0,200	0,439	-0,429	0,200	0,486	0,257

*Correlação significativa a um nível de 5% (bi-caudal)

**Correlação significativa a um nível de 1% (uni-caudal)

Os coeficientes mostram que os parâmetros nitrogênio total, DBO e temperatura foram os únicos que apresentaram relação significativa com a frequência relativa de aparecimento do gênero *Oscillatoria*, sendo que nitrogênio total e DBO interferem negativamente na incidência do referido gênero ($p < 0,05$) e a temperatura interfere positivamente ($p < 0,01$).

Para a *Chlorella*, apenas o fósforo total mostrou relação com o gênero, interferindo negativamente na incidência do mesmo ($p < 0,05$). Para todos os outros organismos, embora o coeficiente de Spearmann tenha variado, não houve correlação significativa e, portanto, não se pode inferir efeito dos parâmetros sobre os gêneros listados.

CONCLUSÕES

Os *blooms* ocorrentes dificultaram a análise da diversidade nos efluentes e as correlações entre os parâmetros físico-químicos e os organismos.

As classes de microalgas identificadas possuem a capacidade de produção de lipídios e ácidos graxos, predominantemente saturados, os quais podem ser utilizados para finalidades de bioenergética, com a produção de biodiesel.

AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer à Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Companhia de Água e Esgoto do Ceará (CAGECE), pelo financiamento da pesquisa e/ou bolsas de estudos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AHMAD, A. L.; YASIN, N.H.M.; DEREK, C.J.C.; LIM, J.K. Microalgae as a sustainable energy source for biodiesel production: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 15, p. 584–593, 2011.
2. APHA. Standard Methods for the examination of Water and Wastewater. Washington, DC: American Public Health Association, 2008.
3. BELLINGER, E. G.; SIGEE, D. C. Freshwater algae - identification and use as bioindicators. Great Britain: Wiley-Blackwell, 2010.
4. CHELLAPPA, N. T.; COSTA, M. A. M. Dominant and co-existing species of cyanobacteria from a eutrophicated reservoir of Rio Grande do Norte state, Brazil. *Acta Oecologica*, v. 24, n. 1001, p. 3-10, 2006.
5. CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*, v. 25, n. 3, p. 294-306, 2007.
6. CHRISTENSON, L.; SIMS, R. Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels, and bioproducts. *Biotechnology Advances*, v. 29, n. 6, p. 686-702, 2011.
7. DERNER, R. B. O. S.; VILLELA, M.; CARVALHO, S.M.; FETT, R. Microalgas, produtos e aplicações. *Ciência Rural*, v. 36, n. 6, p. 9, 2006.
8. GROBEN, R.; MEDLIN, L. K. In situ hybridisation of phytoplankton using fluorescently-labelled rna probes. In: ZIMMER, E. A.; ROALSON, E. (Ed.). *Methods in enzymology*. San Diego: Elsevier, 2005. cap. 14, p.15.
9. HUYNH, M.; SEREDIK, N. Algae identification - field guide. Canada: 40 p. 2006.
10. MATA, T. M.; MARTINS, A. A.; CAETANO, N. S. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 14, n. 1, p. 217-232, 2010.
11. PEARSON, H. Microbiology of waste stabilization ponds. In: IWA (Ed.). *Integrated environmental technology*. Londres, 2008. cap. 2, p.479.
12. PRABAKARAN, P.; RAVINDRAN, A. D. A comparative study on effective cell disruption methods for lipid extraction from microalgae. *Letters in Applied Microbiology*, v. 53, n. 2, p. 150-154, 2011.