

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO
DA NATUREZA

Yasmine Costa Moreira

**Abordagem funcional no estudo da comunidade de ciliados em uma estação de
tratamento de esgoto combinada UASB-lodo ativado**

Juiz de Fora

2021

Yasmine Costa Moreira

**Abordagem funcional no estudo da comunidade de ciliados em uma estação de
tratamento de esgoto combinada UASB-lodo ativado**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação da Natureza, Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre.

Orientador: Dr. Roberto Júnio Pedrosa Dias

Coorientadora: Dra. Simone Jaqueline Cardoso

Juiz de Fora

2021

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

MOREIRA, Yasmine.

Abordagem funcional no estudo da comunidade de ciliados em uma estação de tratamento de esgoto combinada UASB-lodo ativado /Yasmine MOREIRA. -- 2021.

113 p.

Orientador: Roberto Dias

Coorientadora: Simone Jaqueline Cardoso

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação da Natureza, 2021.

1. Lodos Ativados. 2. UASB. 3. Diversidade Funcional. 4. Ciliados. 5. ETE. I. Dias, Roberto, orient. II. Cardoso, Simone Jaqueline, coorient. III. Título.

Yasmine Costa Moreira

**Abordagem funcional no estudo da comunidade de ciliados em uma estação de
tratamento de esgoto combinada UASB-lodo ativado**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação da Natureza, Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre.

Aprovada em 31 de março de 2021.

BANCA EXAMINADORA



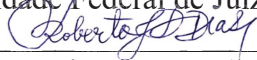
Dr. Roberto Júnio Pedroso Dias - Orientador
Universidade Federal de Juiz de Fora



Dra. Simone Jaqueline Cardoso - Coorientadora
Universidade Federal de Juiz de Fora



Dr. Edgard Henrique Oliveira Dias
Universidade Federal de Juiz de Fora



Dra. Maria Inês Zanoli Sato
Companhia Ambiental do Estado de São Paulo - CETESB

Dedico este trabalho aos meus pais pelo amor incondicional e por sempre apoiarem e incentivarem as minhas decisões.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar, à **Deus**, pela bênção do recomeço, pela oportunidade da presente caminhada na realização deste trabalho.

Agradeço à minha **família**, aos meus **pais, Antonio José e Fabiola** que me proporcionam momentos como este, com seu apoio e exemplo de dignidade, perseverança e confiança. Às minhas **irmãs, Andressa e Jessica**, por me incentivarem e serem portos seguros em que sempre poderei atracar. À minha **sobrinha Antonella**, que trouxe luz e alegria às nossas vidas. Ao meu **cunhado Gustavo**, por ser uma figura que me inspira dedicação e persistência. A todos que moram perto ou longe, mas que têm guardado seu espaço em meu coração. A todos minha eterna gratidão!

À **Dona Isabel Salomão de Campos**, exemplo de trabalhadora incansável e leal na seara do Evangelho de Jesus, modelo de moral e amor ao Cristo. Nos mostrando que “fazer o bem, faz bem” e que “não existe milagre, existe trabalho e progresso, felicidade é consequência”. Obrigada por tantos ensinamentos, pela presença forte e amorosa e por nos mostrar que Jesus é o Caminho, a Verdade e a Vida.

Agradeço ao meu **grande amigo** e também **orientador Roberto**, alma amiga e serena que sempre me motivou, acreditando no meu potencial e me fazendo compreender que podemos ser um ponto de luz onde quer que estejamos. Seu empenho em ser melhor a cada dia em todas as esferas da vida são motivo de minha admiração além de sua presença gentil e delicada. Obrigada pela amizade de tantos anos.

À minha **coorientadora Simone**, agradeço pela paciência, empenho e dedicação. Sem sua contribuição este trabalho não teria saído do papel. Seu carisma e simpatia contagiam a todos, sua vontade de ensinar é explícita e por tantas qualidades a tenho como um modelo de professora.

Aos **amigos, da Comunidade Espírita A Casa do Caminho**, pela presença carinhosa, incentivo e apoio constantes. Obrigada pelos momentos de aprendizado, de troca e convivência fraterna. De **infância**, que estão sempre presentes em todos os momentos, que aguentam minhas indecisões e exigências com muita alegria e diversão. Muito obrigada por compartilharem esta existência comigo, a caminhada fica mais suave e a vida mais leve. Aqueles que foram surgindo no caminho e ganharam um espaço enorme na minha trajetória, muito obrigada!

Agradeço aos **colegas de laboratório (LabProto)**, pela paciência em me ensinar o básico, pela disposição e alegria em cada reunião, pelo conhecimento transmitido com excelência, pelas brincadeiras e risos e por fazermos parte dessa história.

À **Dra. Isabel Siqueira-Castro**, grande pesquisadora que gentilmente nos permitiu usar os dados já publicados por ela para realização do presente trabalho. Obrigada pela simpatia e presteza com que nos recebeu carinhosamente.

Aos queridos **companheiros da turma de mestrado de 2019** que dividiram comigo algumas disciplinas, seminários, qualificação e sentimentos compartilhados durante todo esse tempo.

As **secretárias do PPG**, em especial **Rosi** e **Priscila** pela alegria contagiante, pela presteza na realização de suas funções e pela paciência e auxílio sempre necessário. Obrigada meninas!

Ao **vice-coordenador do PPG Nathan Barros**, pela figura firme na posição que ocupa, sempre preocupado com os discentes e suas necessidades. Agradeço pelo empenho a cada um de nós, tudo isso faz diferença!

Aos **professores** que ministraram as disciplinas que cursei e que foram fundamentais no processo de desenvolvimento deste trabalho.

A todos que de alguma forma fizeram parte da minha trajetória neste período, meu muito obrigada! Cada um de vocês me ajudou a construir essa dissertação.

“A inspiração nasce no momento em que assumimos responsabilidade com o trabalho que estamos executando.”

Isabel Salomão de Campos

PREÂMBULO

A presente dissertação foi desenvolvida baseada no uso e aplicação de técnicas biológicas para avaliação da eficiência/qualidade do tratamento de esgoto nas estações de tratamento. Levando em consideração que os mais empregados no mundo são os biológicos, nada mais coerente que utilizar uma ferramenta que possa estimar esses parâmetros de qualidade. Apesar de já existirem algumas métricas com relação a essa avaliação, se torna muito específico para aplicar regularmente na planta da estação. Com isso, a ideia foi utilizar a abordagem funcional com vistas às características morfológicas, fisiológicas e comportamentais dos indivíduos para estimar o andamento da qualidade/eficiência do tratamento do esgoto, de forma mais generalizada facilitando a aplicação por operadores de qualquer formação. Seu objetivo é difundir a metodologia aplicada neste trabalho para que possa ser utilizada em vários sistemas, de variadas conformações e em diversas estações no Brasil e no mundo.

RESUMO

Estudos utilizando abordagem funcional têm crescido nos últimos anos, entretanto, não existem estudos neste âmbito usando a comunidade de microeucariotos ciliados em estações de tratamento biológico de esgotos. O presente trabalho possui como objetivo geral aplicar uma abordagem funcional no estudo da comunidade de protistas ciliados em uma estação de tratamento de esgoto que opera em sistema UASB com lodos ativados como pós-tratamento e como objetivos específicos: ¹investigar a composição e diversidade taxonômica e funcional da comunidade de ciliados, bem como apresentar dados de sua dinâmica temporal; ²investigar a correlação entre os índices usados na diversidade taxonômica e funcional; ³avaliar a relação entre a composição e os traços funcionais da comunidade de ciliados e as condições ambientais; e ⁴investigar quais traços da diversidade funcional podem ser usados como indicadores da eficiência em ETE's. Foram registradas 21 espécies de ciliados ao longo das 37 amostras coletadas, valor mais baixo quando comparado a outras estações, no entanto já esperado visto que se trata de um sistema combinado anaeróbico seguido de aeróbico (UASB+Lodos Ativados). Justamente por possuir esta conformação, há a ocorrência de um fenômeno entendido como filtro ambiental, proporcionando uma composição funcional temporalmente mais homogênea que aquela taxonômica, visto que diversas espécies possuem a mesma característica funcional. As relações entre os índices foram significativas entre as riquezas taxonômica e funcional, indicando que a comunidade é funcionalmente redundante e apresenta, dessa forma, uma complementaridade de nicho. E essa redundância indica um sistema estável, comprovado pela alta eficiência constante da estação em termos de remoção de poluentes. O perfil funcional da comunidade foi o esperado para estações de tratamento de esgoto, sendo representado por espécies bacterívoras e formadoras de floco, traço este específico e importante em ETE's com caráter inovador e com possibilidade de ser uma importante característica para entendimento da eficiência do sistema. Estudos futuros irão ampliar o conhecimento sobre a diversidade funcional em sistemas de tratamento biológico de esgoto, sendo este um primeiro passo na aplicação inédita desta metodologia em ecossistemas artificiais.

Palavras-chave: Atributos funcionais. Ciliophora. Diversidade funcional. ETE. Lodos ativados. UASB.

ABSTRACT

Studies using a functional approach have been growing in the past years, however, there are no studies in this scope utilizing the ciliated microeukaryotes community located in biological wastewater treatment plants. This research is focused on applying a functional approach to the study of the ciliated protists community located in a wastewater treatment plant that operated in a combined Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB)-activated sludge system, with the following purposes: ¹investigate the composition and the taxonomic and functional diversity of the ciliated community, as well as presenting data of its time dynamics; ²investigate the correlation between the indices used in taxonomic and functional diversity; ³assess the connection between composition and the functional traits of the ciliated community and the environmental conditions; and ⁴investigate which traits of the functional diversity could be used as indicators of the wastewater treatment plants' efficiency. 21 ciliated species were registered from 37 samples collected, a lower number when compared to other plants, although expected considering that it is a combined system of anaerobic followed by aerobic (UASB + activated sludge). Due to this, it is identified the occurrence of a phenomenon similar to an environmental filter, creating a temporary functional composition more homogenous than the taxonomic composition, considering that several species have the same functional trait. The relations between the indexes were significant between the functional and taxonomic diversities, indicating that the community is functionally redundant and therefore presents a niche complementarity. This redundancy indicates a stable system, confirmed by the plant's constant high efficiency in removing pollutant components. The community's functional profile was the expected for the wastewater treatment plants, represented by flake-forming and bacterivores species. The flake-forming trait is a specific and important trait in wastewater treatment plants with an innovative philosophy and with the possibility of being an important characteristic in understanding the system's efficiency. Future studies will broaden the knowledge on wastewater treatment systems and on the functional diversity in biological wastewater treatment systems, this being the first step towards the unprecedented application of this methodology in artificial ecosystems.

Keywords: Functional traits. Ciliophora. Functional Diversity. Wastewater treatment plants. Activated sludge. UASB.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Funcionamento do reator UASB.....	23
Figura 2	Sistema combinado anaeróbio-aeróbio do tipo UASB seguido de lodos ativados.....	24
Figura 3	Conformação dos sistemas contínuos de lodos ativados. 1- convencional, 2- aeração prolongada.....	27
Figura 4	Relações filogenéticas entre as classes e subclasses de representantes do filo Ciliophora proposta por Gao et al. (2016).....	32
Figura 5	Esquema com vista superior da ETE Piçarrão em Campinas (SP).....	48
Figura 6	Fotomicrografias in vivo da microfauna presente no tanque de aeração em lodos ativados na ETE Piçarrão, Campinas.....	52
Figura 7	Abundância das diferentes espécies de ciliados registradas ao longo de 37 amostragens em uma estação de tratamento de esgoto no Brasil.....	57
Figura 8	Valor do CWM dos diferentes traços escolhidos para os ciliados registrados ao longo de 37 amostragens em uma estação de tratamento de esgoto no Brasil, ETE Piçarrão.....	60
Figura 9	Média \pm desvio padrão do CWM, apresentando e resumindo as características funcionais mais importantes na comunidade ciliada.....	61
Figura 10	Comparação entre os traços taxonômicos e funcionais da comunidade de ciliados em uma estação de tratamento de esgotos no Brasil. A: Riqueza, B: Equidade, C: índices de Simpson e RaoQ, D: Diversidade de Shannon e CWM.....	63
Figura 11	Comparação entre os valores de divergência funcional e IBL ao longo das coletas.....	64
Figura 12	Análise de Componentes Principais (PCA). A – variáveis, B- unidades amostrais.....	66
Figura 13	Eficiência de remoção de DBO, DQO e ST.....	67
Figura 14	Análise de Redundância. A - espécies e variáveis ambientais; B - traços e variáveis ambientais.....	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Vantagens e desvantagens das variantes do sistema de lodos ativados.....	28
Tabela 2	Métricas da microfauna em sistemas de tratamento de esgoto, principalmente lodos ativados.....	34
Tabela 3	Tabela bidirecional para determinação do Índice Biótico do Lodo (IBL) baseado nos grupos dominantes, densidade e número de unidades taxonômicas.....	39
Tabela 4	Tabela de conversão do valor do IBL para as classes de qualidade do sistema, bem como obter descrição sobre funcionamento do lodos ativados.....	40
Tabela 5	Abundância e frequência absoluta e relativa dos ciliados ativos encontrados na ETE Piçarrão durante o período de 37 amostragens.....	58
Tabela 6	Correlação entre os traços funcionais atribuídos à comunidade de ciliados em uma ETE no Brasil e os dados ambientais.....	70

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ETE	Estação de Tratamento de Esgoto
UASB	<i>Upflow Anaerobic Sludge Blanket</i>
pH	Potencial hidrogeniônico
IBL	Índice Biótico do Lodo
CETESB	Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
OMS	Organização Mundial de Saúde
LAC	Lodos Ativados Convencional
LAAP	Lodos Ativados com Aeração Prolongada
UNICEF	Fundo das Nações Unidas para a Infância
IVL	Índice Volumétrico do Lodo
SS	Sólidos Suspensos
DBO5	Demanda Bioquímica de Oxigênio a 5 dias
TDH	Tempo de Detenção Hidráulica

LISTA DE SÍMBOLOS

$<$	Menor
$>$	Maior
\leq	Menor ou igual a
\geq	Maior ou igual a
μ	micro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1	SANEAMENTO.....	19
2.1.1	Tratamento de esgoto.....	20
2.1.1.1	<i>Sistema UASB.....</i>	22
2.1.1.2	<i>Pós-tratamento de sistema UASB.....</i>	23
2.2	MICROORGANISMOS EM SISTEMAS DE TRATAMENTO DE ESGOTO.....	28
2.2.1	Ciliophora.....	31
2.2.1.1	<i>Ciliados e monitoramento de ETE's.....</i>	33
2.2.1.2	<i>IBL.....</i>	38
2.3	DISTINTAS ABORDAGENS DE DIVERSIDADE.....	40
2.3.1	Diversidade funcional.....	41
2.3.2	Diversidade funcional em estudos com Ciliophora.....	43
2.3.2.1	<i>Perspectivas futuras para aplicação em ETE's.....</i>	45
3	OBJETIVOS.....	46
3.1	OBJETIVO ESPECÍFICO.....	46
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	47
4.1	ÁREA DE ESTUDO E AMOSTRAGEM.....	47
4.2	PARÂMETROS AMBIENTAIS.....	48
4.3	CILIADOS: QUANTIFICAÇÃO, IDENTIFICAÇÃO E TRAÇOS TAXONÔMICOS E FUNCIONAIS.....	49
4.4	IBL: ÍNDICE BIÓTICO DO LODO.....	52
4.5	ÍNDICES DE DIVERSIDADE TAXONÔMICA E FUNCIONAL.....	53
4.6	ANÁLISE DOS DADOS.....	54
5	RESULTADOS.....	56
5.1	COMPOSIÇÃO TAXONÔMICA.....	56
5.2	COMPOSIÇÃO FUNCIONAL.....	58

5.3	DIVERSIDADE TAXONÔMICA E FUNCIONAL.....	62
5.4	FATORES AMBIENTAIS.....	65
5.5	RELAÇÃO FATORES AMBIENTAIS E COMPOSIÇÃO TAXONÔMICA E FUNCIONAL.....	68
6	DISCUSSÃO.....	73
6.1	COMPOSIÇÃO TAXONÔMICA.....	73
6.2	COMPOSIÇÃO FUNCIONAL.....	74
6.3	ABORDAGEM TAXONÔMICA VERSUS FUNCIONAL.....	77
6.4	FATORES AMBIENTAIS.....	78
7	CONCLUSÃO.....	80
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS.....	81
	REFERÊNCIAS.....	82
	APÊNDICE A – Traços escolhidos, significado e aplicação em estação de tratamento de esgoto.....	108
	APÊNDICE B - Composição de espécies de protistas ciliados presentes em sistemas de tratamento de esgotos e seus respectivos traços funcionais.....	109

1 INTRODUÇÃO

O tratamento de esgoto mais utilizado no mundo é o biológico, sendo um dos mais conhecidos o lodos ativados (METCALF & EDDY, 2003). No entanto, com o passar dos anos, pesquisas na área de tratamento evoluíram e novas conformações de tratamento foram desenvolvidas, como é o caso do reator anaeróbio de fluxo ascendente (UASB) (VON SPERLING & CHERNICHARO, 2001). Entretanto, estes reatores não cumprem com a maioria dos padrões de lançamento exigentes nas legislações aplicáveis (CHERNICHARO, 1997, VON SPERLING & CHERNICHARO, 2005; OWAES et al., 2020), sendo assim, uma forma de solucionar esta questão e otimizar o tratamento foi adicionar um pós-tratamento a esses reatores. Pode-se citar alguns benefícios da combinação dos sistemas anaeróbios seguidos dos aeróbios, como menor consumo de energia, menor geração de lodo excedente e estabilização do mesmo, e maior simplicidade operacional (VON SPERLING & CHERNICHARO, 1998; VON SPERLING & CHERNICHARO, 2005; NOYOLA et al., 2012; MMONTSHI et al., 2019; VINARDELL et al., 2020).

Visto a abrangência do sistema de lodos ativados, são cada vez mais necessários os estudos sobre sua composição biológica, como riqueza de espécies, dinâmica espacial/temporal e uso de microrganismos para verificação do desempenho dos sistemas. Os microeucariotos unicelulares heterótrofos (protozoários), em especial, têm sido registrados nos sistemas biológicos desde a criação do termo “lodo ativado”, cunhado por Arder & Lockett (1914), mas o conhecimento sobre a importância destes microrganismos no processo de purificação não foi inicialmente compreendida (CURDS, 1963, 1965; CURDS & VANDYKE, 1966). Atualmente, são conhecidas distintas funções dos protozoários, principalmente os ciliados (Alveolata, Ciliophora), nestes sistemas, tais como: predação de bactérias dispersas e a consequente purificação do efluente final (CURDS et al., 1968; CURDS, 1973; MADONI, 2003), bem como o uso desses organismos como bioindicadores da qualidade do efluente (CURDS & COCKBURN, 1970b) e sua correlação com a redução da densidade de *Escherichia coli* no sistema (CURDS & FEY 1969).

Historicamente, segundo Foissner (2016), é possível dividir em três períodos o uso dos protistas como indicadores em sistemas de tratamentos de esgotos. A era da Descoberta e Exploração (1914-1950), quando se reconheceu importância da presença destes microrganismos no processo de purificação do esgoto em lodos ativados; a era do Bloom (1950-2000), quando houve avanço no entendimento do papel dos protistas nestes sistemas e sua ampliação prática como bioindicadores; a era do Declínio (2000-2016), quando houve

diminuição de artigos e de taxonomistas dedicados ao estudo destes ecossistemas artificiais. Embora possa haver uma saturação no campo dos estudos de levantamento e riqueza de espécies de ciliados nestes sistemas, faltam dados ecológicos e moleculares nestes ecossistemas artificiais para melhor entendimento do papel e uso aplicado dos ciliados.

Nos estudos mais modernos, têm-se falado sobre a abordagem integrativa, incluindo a ecologia integrativa e, mais especificamente, a ecologia funcional, que permite melhor entendimento dos aspectos multidimensionais dos ecossistemas (CLAMP & LYNN, 2017), incluindo os sistemas artificiais. Sendo conhecida como diversidade funcional, liga as propriedades das espécies aos processos do ecossistema por meio de características funcionais (WEISSE, 2017). A facilidade de identificação dos organismos pelas suas características morfológicas, fisiológicas ou comportamentais relacionadas ao desempenho e às relações dos organismos com as condições bióticas e abióticas do meio (MCGILL et al., 2006; VIOLLE et al., 2007) é uma vantagem de se utilizar este componente da diversidade, o que facilitaria aplicação desta abordagem em estações de tratamento de esgoto por profissionais não especialistas em taxonomia e identificação de ciliados, visto que seria necessário apenas observar o tamanho, formato do corpo e forma de locomoção por exemplo para inferir acerca de algum dado de eficiência/qualidade.

Na chamada “Era da Integração” (CLAMP & LYNN, 2017), com foco nos estudos sobre sistemática e ecologia integrativa, neste trabalho, objetivamos trazer uma nova visão sobre a ecologia funcional dos ciliados em uma estação de tratamento de esgoto com sistema de lodos ativados como pós-tratamento de reatores UASB com foco na diversidade funcional, abordagem inédita neste ecossistema artificial, ampliando a visão trazida por inúmeros autores sobre papel e uso destes organismos neste ambiente (PILLAI et al., 1942; JENKINS, 1942; PILLAI et al., 1944; WATSON, 1945; NEVILLE, 1946; CURDS, 1963; CURDS, 1965; CURDS & COCKBURN, 1970a, 1970b; CURDS, 1973; MADONI et al., 1993; MADONI, 1994; SALVADÓ et al., 1995; MARTÍN-CERECEDA et al., 1996; PAULI & BERGER, 2001; BENTO et al., 2005; LIU et al., 2008; PÉREZ-UZ et al., 2009; ARÉVALO et al., 2009; ARREGUI et al., 2010; PAPADIMITRIOU et al., 2010; DUBBER & GREY, 2011; MADONI, 2011; FOISSNER, 2016).

Siqueira-Castro et al. (2016) avaliaram, recentemente no Brasil, os ciliados no lodo ativado de um sistema anaeróbio-aeróbio combinado, bem como relacionaram estes dados com as variáveis físicas e químicas da estação com foco na composição/abundância de ciliados e sua correlação com dados ambientais. A presente proposta possui foco na diversidade funcional. Foram utilizados dados de um trabalho anterior (SIQUEIRA-CASTRO et al., 2016), assim

como novos dados coletados no mesmo período, para realizar estudo inédito sobre diversidade funcional de ciliados em estação de tratamento de esgoto.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 SANEAMENTO

O saneamento que conhecemos hoje é resultado do avanço milenar que ocorreu entre as civilizações desde 3000 aC. Em Creta e Hellas, na Grécia, foram erguidos os primeiros sistemas sofisticados de drenagem e saneamento básico (YANNOPOULOS et al., 2017). Na era medieval os cursos d'água eram utilizados como descarga de esgotos e drenos para abastecimento, as fossas próximas às moradias eram foco de contaminação e o lixo gerado era acumulado dentro das muralhas proliferando vetores transmissores de doenças (YANNOPOULOS et al., 2017) e, assim, só após a Primeira Guerra Mundial no início do século 20, as tecnologias modernas de esgoto foram se desenvolvendo (ANGELAKIS, 2016).

Atualmente, saneamento básico é definido como acesso e uso seguros de instalações e serviços para eliminação de urina e fezes humanas (WHO, 2018), no entanto, vai além disto quando da Lei brasileira nº 11445 de 05/01/2007 (BRASIL, 2017), que afirma ser o saneamento básico o conjunto de serviços, infraestruturas e instalações operacionais de abastecimento de água potável, esgotamento sanitário, limpeza urbana e manejo de resíduos sólidos, drenagem e manejo de águas pluviais urbanas, e a consequente preservação da saúde, do bem-estar físico e mental e qualidade de vida da população (WHO, 2018).

A adequação dos serviços de saneamento é essencial para conferir condições de preservação do meio ambiente, redução da incidência de doenças, higiene e moradias dignas (IBGE, 2017). A dependência de rios e lagos para o despejo de águas residuárias é uma fragilidade dos sistemas de tratamento (HOLETON et al., 2011). Ao longo da história, a degradação do rio Tâmsa (GAMESON & WHEELER, 1977 apud HOLETON et al., 2011) e a disseminação do cólera no século 19 (HEMPEL, 2013; SHIODE et al., 2015) são exemplos da nociva falta de saneamento adequado, ocasionando doenças como a febre tifoide, hepatite A, cólera e diarreia, sendo esta uma das principais causas de morte de crianças menores de cinco anos em países de baixa renda (HELLER et al., 2003, PRÜSS-ÜSTÜN et al., 2016). Inclusive, foi relatada a detecção do RNA viral de SARS-CoV-2 no esgoto (Medema et al., 2020; Ahmed et al., 2020; Heller et al., 2020), abrindo campo para uma possível transmissão feco-oral, causando mais preocupação às entidades sanitárias. Silva et al. (2020) concluíram que o tratamento de esgoto está inversamente correlacionado com o número de casos de COVID-19. Este resultado apresenta as desigualdades do saneamento, regiões sem o tratamento adequado

geralmente estão mais expostas ao adoecimento, pelas condições precárias em que os habitantes vivem.

O tratamento de esgoto está inversamente correlacionado com o número de casos de COVID-19 causado pelo vírus SarsCov2 (SILVA et al., 2020), entretanto, deve-se notar que ainda não foi comprovado que isso tenha qualquer papel nas infecções humanas com coronavírus (WARTECKI & RZYMSKI, 2020). Em 2012, a OMS demonstrou que a cada um dólar (\$) investido em saneamento básico há um retorno de 5,50 dólares (\$5.5) em redução de custos de saúde e menos mortes prematuras (WHO, 2018).

Além de danos à saúde humana, o despejo de efluentes nas águas superficiais tem potencial degradador dos habitats aquáticos, interferindo no funcionamento e desenvolvimento da biota. Alguns exemplos são a depleção de oxigênio, eutrofização, aumento da temperatura, modificação das cadeias alimentares e do funcionamento do ecossistema. Por conter produtos químicos na sua composição, podem, ainda, contaminar a biota e causar bioacumulação de metais, compostos orgânicos e inorgânicos (HOLETON et al., 2011).

De acordo com o relatório *Progress on drinking water, sanitation and hygiene: 2017 update and Sustainable Development Goal baselines* (WHO/UNICEF, 2017), da Organização Mundial da Saúde (OMS) e do Fundo das Nações Unidas para a Infância (UNICEF) juntamente com o Programa de Monitoramento Conjunto (JMP, em inglês), cerca de 4,5 bilhões de pessoas não têm acesso a um saneamento seguro e 2,3 bilhões ainda carecem de serviços básicos de saneamento no mundo. Em um dos itens da Agenda 2030 como essenciais para o desenvolvimento sustentável está o objetivo 6 “Assegurar a disponibilidade e gestão sustentável da água e saneamento para todos”, estabelecendo a melhoria da qualidade da água, redução da poluição, eliminação de despejo e minimização da liberação de produtos químicos e materiais perigosos, reduzindo à metade a proporção de águas residuais não tratadas (UN General Assembly, 2015). Os benefícios adquiridos com a implementação e melhoria do saneamento, incluem além da redução de risco de doenças, redução da desnutrição, promoção da dignidade e segurança, aumento da frequência escolar e qualidade de vida com um meio ambiente harmônico e funcional (WHO, 2018).

2.1.1 Tratamento de esgoto

O tratamento de efluentes possui grande importância na manutenção da qualidade ambiental e da saúde humana. É possível descrevê-lo através de seus níveis, sendo eles: preliminar, primário, secundário e terciário. O tratamento preliminar é a fase em que ocorre a

remoção de ordem física, com o objetivo de reter os sólidos grosseiros em suas grades e peneiras protegendo as bombas e tubulações subsequentes, e também removendo a areia e evitando abrasão dos equipamentos. O tratamento primário tem como objetivo remover os sólidos em suspensão sedimentáveis através de tanques de sedimentação, em que o esgoto lentamente flui pelo tanque utilizando o princípio da densidade das partículas, sendo mais densas que o líquido elas tendem a sedimentar no fundo da unidade e assim são removidas por tubulações ou raspadores mecânicos. Agora, o principal tratamento é o secundário, lugar em que, de fato, ocorre a degradação da matéria orgânica, principal poluente em corpos hídricos e objetivo desta etapa. Este tratamento é a forma mais rápida e controlada do que acontece de forma natural no meio ambiente através da autodepuração, marcada como uma etapa biológica. Nesta etapa biológica há microrganismos envolvidos no processo, tais como bactérias, protozoários, fungos, algas e micrometazoários realizam a decomposição da matéria orgânica através de reações bioquímicas. O tratamento terciário, realizado quando há a necessidade de remover algum poluente em específico que o convencional não foi capaz de realizar, ainda é pouco utilizado pelos elevados custos de implantação e operação (VON SPERLING, 1997, 2014; IBGE, 2017).

Há diversas variações dos sistemas de tratamento, algumas delas são lagoas de estabilização e variantes, lodos ativados e variantes, sistemas anaeróbios, reatores aeróbios com biofilmes, filtros percoladores, wetlands e sistemas de disposição no solo (VON SPERLING, 2014). A escolha do sistema está diretamente relacionada com as necessidades e com as limitações de área, orçamento, população atendida, porcentagem de eficiência de tratamento, tipo do efluente e sua biodegradabilidade, entre outras. Sendo assim, não há um tratamento melhor ou pior, mas sim, um que atende ou não as exigências determinadas (HE et al., 2017).

Por possuir um custo elevado a implantação de sistemas complexos de tratamento, atualmente, estima-se que 1,9 bilhão de pessoas que possuem conexões de esgoto podem ser classificadas como tendo serviços de saneamento administrados com segurança, ou seja, a nível secundário de tratamento. Existem, ainda, em torno de 750 milhões de pessoas conectadas a estações que não atingem os requisitos de efluentes e que não apresentam tratamento eficiente (WHO/UNICEF, 2017; RITCHIE, 2019). Na América Latina e no Caribe, 86% da população possui pelo menos acesso a serviços básicos de saneamento, desses, 23% apenas têm acesso a um saneamento seguro (NOYOLA et al., 2012; WHO/UNICEF, 2017; WHO/UNICEF, 2019). Já no Brasil, cerca de 55% da população possui atendimento adequado de esgotamento sanitário, sendo solução individual com fossa séptica (12%) e esgotos coletados e tratados de forma coletiva (43%) (ANA, 2017; IBGE, 2017; IAS, 2020; DIEP et al., 2020).

Os tratamentos de águas residuais mais empregados no Brasil são os biológicos, que apresentam como elemento principal os microrganismos na remoção da matéria orgânica (METCALF & EDDY, 2003; ANA, 2017). O sistema mais utilizado por número de Estações de Tratamento de Esgoto é o de lagoa anaeróbia seguida de lagoa facultativa e em segundo lugar os reatores anaeróbios de alta taxa, um exemplo é o reator Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB). No entanto, o sistema de lodos ativados convencional é o que mais abrange população atendida, cerca de 16,5 milhões de pessoas (24%) (ESGOTOS, 2017; PASSOS et al., 2020). Os lodos ativados, por apresentarem uma alta eficiência, flexibilidade operacional e possibilidade de remoção de nutrientes, constituem o sistema mais conhecido (GAVRILESCU & MACOVEANU, 1999), todavia possuem alto custo de implantação e operação caso seja o único sistema empregado, resultando numa restrição aos países de baixa renda (KASSAB et al., 2010).

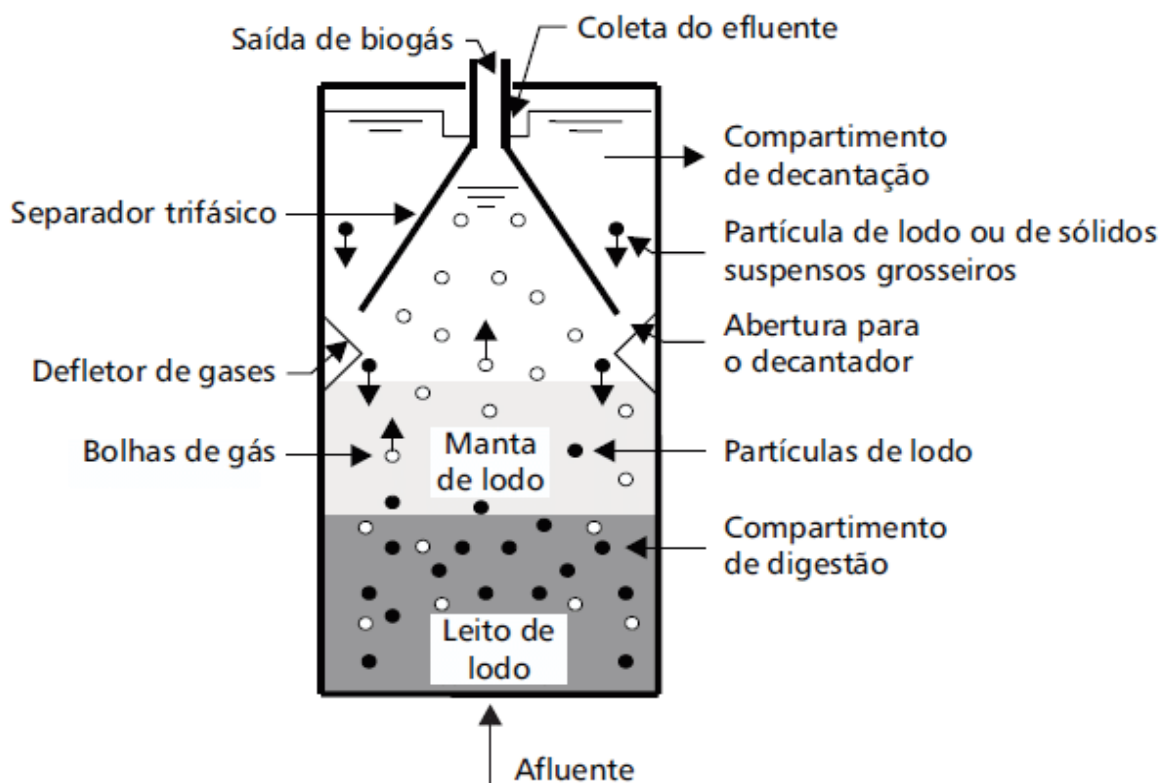
2.1.1.1 Sistema UASB

O reator anaeróbio de fluxo ascendente e de manta de lodo (UASB) é composto apenas pelo reator sem a necessidade de decantadores primários e secundários, e tem sido amplamente empregado no Brasil e no mundo (ANA, 2017; PASSOS et al., 2020). Apresenta, em média, eficiência de remoção de matéria orgânica de 70%, considerado um pouco abaixo dos outros processos de tratamento, portanto, é usualmente utilizado em conjunto com um pós-tratamento, sendo ele anaeróbio ou aeróbio (VON SPERLING, 1997).

O funcionamento ocorre com o esgoto bruto sendo bombeado para o topo do reator, e então, através de tubulações descendentes adentra pela parte inferior do mesmo, conforme Figura 1. Na primeira camada ao fundo do reator, intitulada leito de lodo, se encontra a biomassa, responsável por adsorver grande parte da matéria orgânica. Pelo fluxo ser ascendente, o líquido vai encontrando outras regiões à medida que vai subindo, sendo elas a região de manta de lodo, onde ainda ocorre a digestão da matéria orgânica, no entanto em menores proporções, a região de sedimentação composta por um separador trifásico onde as partículas mais densas vão descendo e retornando ao fundo do reator e em seguida o efluente clarificado sai por tubulações perfuradas ou vertedores em direção ao pós-tratamento ou corpo receptor. Por ser um processo anaeróbio há a formação de gases dentro do reator, estes gases ascendem e são direcionados pelo separador trifásico a uma tubulação para queima, purificação ou utilização. O separador trifásico é de extrema importância, visto que é o responsável pela separação do sólido, líquido e gás resultantes do tratamento. Sendo um tratamento de fluxo contínuo, a

produção da biomassa continua em crescimento, e, portanto, se faz necessária a remoção de parte dessa biomassa em tempos determinados, no entanto, uma vantagem é que essa biomassa (lodo) já está estabilizada (CAMPOS, 1999; AYUK et al., 2006).

Figura 1: Funcionamento do reator UASB.



Fonte: von Sperling (1997).

2.1.1.2 Pós-tratamento de sistema UASB

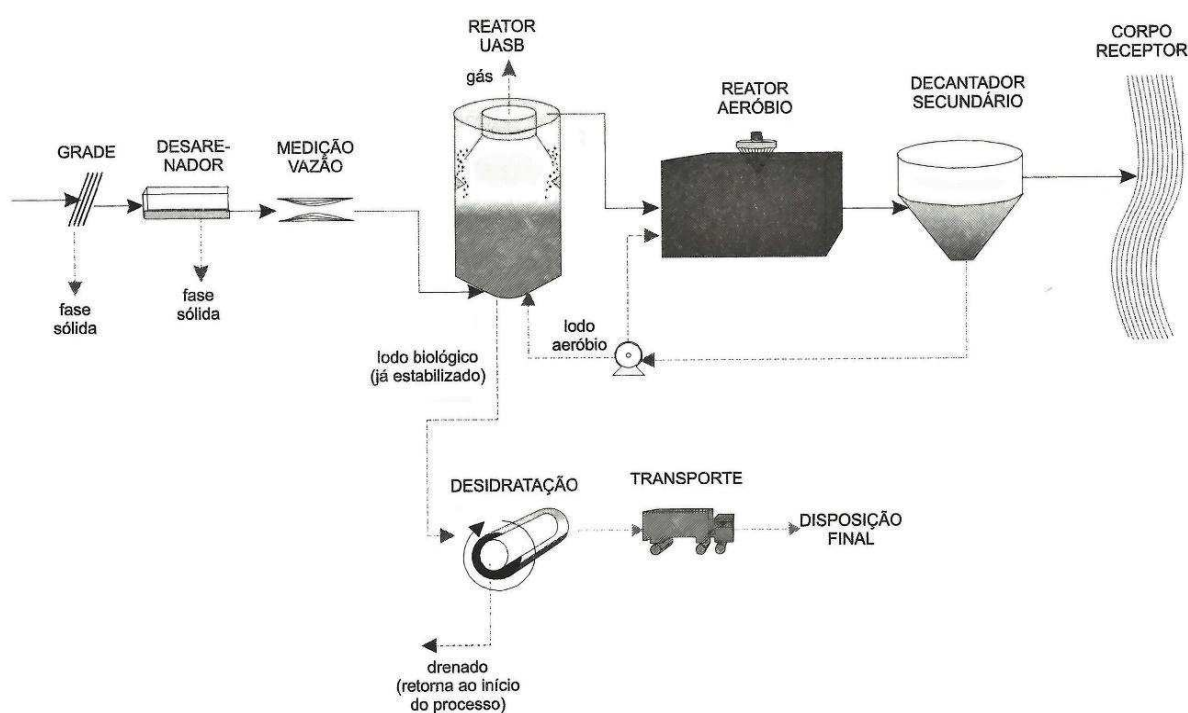
Os efluentes do UASB raramente cumprem os padrões de emissão de lançamento (CHERNICHARO, 1997; VERSTRAETE & VANDEVIVERE, 1999; VON SPERLING & CHERNICHARO, 2005; AYUKI et al., 2006; OWAES et al., 2020). Assim sendo, alguns sistemas podem ser utilizados como pós-tratamento deste reator, na busca do cumprimento dos padrões e otimização dos sistemas de tratamento de efluentes. É possível citar exemplos de pós-tratamento utilizados no Brasil como, lagoa de polimento, aplicação no solo, filtro biológico percolador, lodos ativados, flotação por ar dissolvido, entre outros (CHERNICHARO, 1997).

A utilização do sistema de lodos ativados como pós-tratamento de efluentes UASB é uma realidade (VON SPERLING & CHERNICHARO, 1998; VON SPERLING & CHERNICHARO, 2005; VINARDELL et al., 2020), sendo uma opção para regiões de clima

tropical (VON SPERLING, 1997). Este sistema se caracteriza por apresentar idade do lodo variando de 6 a 10 dias e tempo de detenção (TDH) hidráulica de 3 a 5 horas.

O sistema se assemelha ao lodos ativados convencional, no entanto, no lugar do tratamento primário com decantadores é utilizado o reator anaeróbico de alta taxa. Essa modificação traz mudanças estruturais na ETE, como menor área e gasto energético no tanque de aeração e digestão do lodo realizada dentro do UASB, sendo considerada uma ótima opção (Figura 2) (VON SPERLING & CHERNICHARO, 1998; VON SPERLING & CHERNICHARO, 2005).

Figura 2: Sistema combinado anaeróbico-aeróbico do tipo UASB seguido de lodos ativados.



Fonte: von Sperling (1997).

O lodo ativado é o floco biologicamente ativo composto e produzido por uma população de bactérias e outros organismos agregados, no esgoto bruto ou decantado, na presença de oxigênio, que degradam o substrato simples ou complexo e retornam, em parte, outros flocos previamente formados (JORDÃO & PESSOA, 2011; SILVA et al., 2012).

O seu desenvolvimento e utilização inicial ocorreram no final do século XIX e início do século XX, em Manchester na Inglaterra. Cientistas da época acreditavam que o oxigênio contribuía como um catalisador, acelerando a oxidação dos contaminantes do esgoto e também propunham que o “humos” sólido resultado da decantação fosse recirculado para o início do processo, mantendo a atividade celular (JORDÃO & PESSOA, 2011).

É um dos sistemas mais empregados mundialmente no tratamento de águas residuárias domésticas (BENTO et al., 2005; PÉREZ-ELVIRA et al., 2006; LI & STENSTROM, 2016; SEMBLANTE et al., 2016). Tal sucesso se dá pela alta eficiência de remoção de matéria orgânica, elevada qualidade do efluente e baixos requisitos de área quando comparado com outros sistemas (VON SPERLING, 1997). Estudo realizado analisando 166 ETE's nos estados de Minas Gerais e São Paulo afirma que ao considerar a remoção de matéria orgânica, o lodo ativado é o sistema com maior desempenho no tratamento de esgoto doméstico (OLIVEIRA & VON SPERLING, 2005).

As principais variações no sistema de lodos ativados são baseadas no fluxo e na idade do lodo (tempo em que a biomassa permanece no sistema). O primeiro se divide em contínuo e intermitente e o segundo em convencional (Figura 3₁) e aeração prolongada (Figura 3₂) (METCALF & EDDY, 2003).

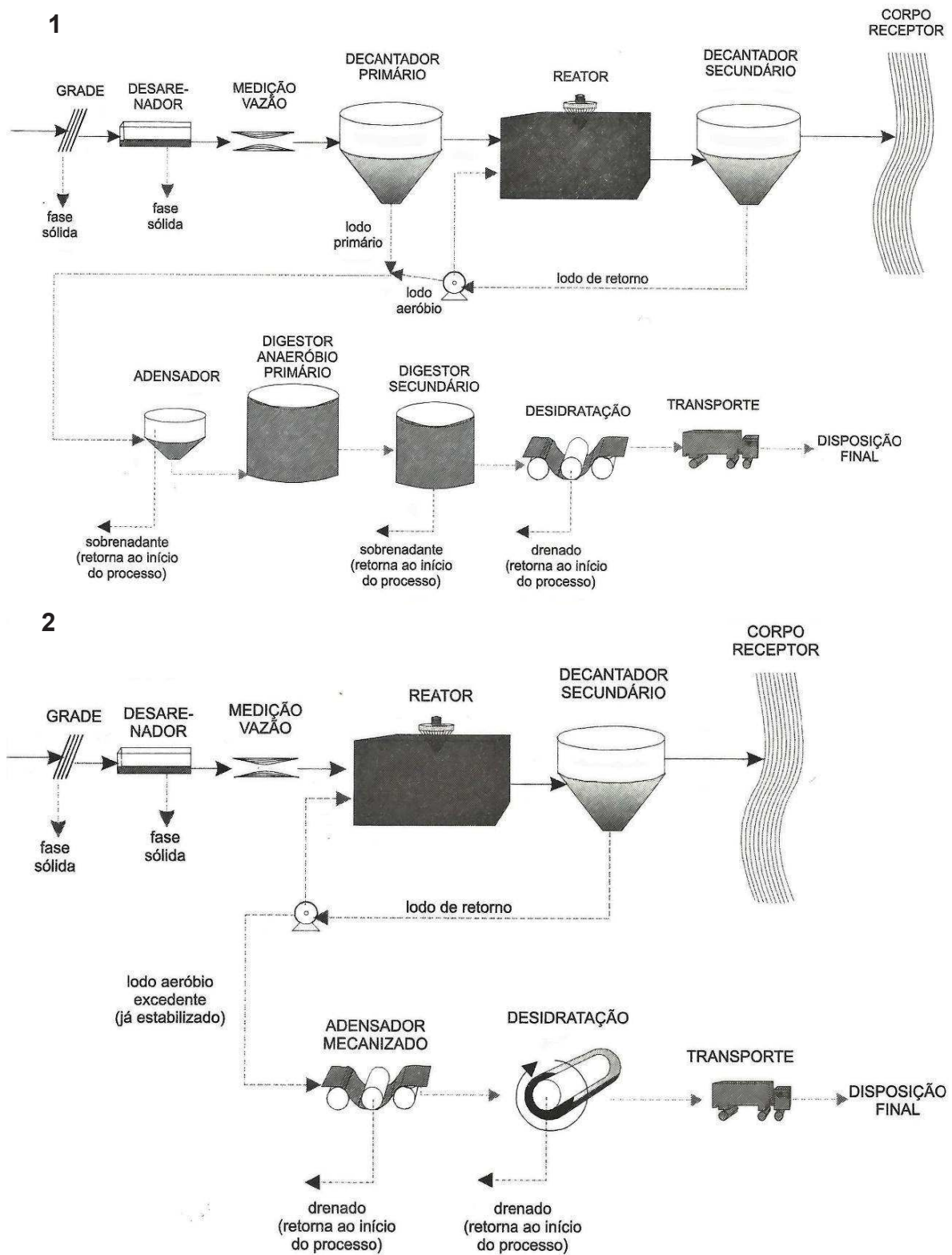
O processo de lodos ativados por fluxo contínuo ocorre, de forma generalizada e resumida, da seguinte forma: após passar pelo processo preliminar (remoção de sólidos grosseiros e areia) e em alguns casos pelo primário (decantador primário), o afluente adentra no tanque de aeração onde ocorre a mistura completa com a biomassa ativa, cujo objetivo é a metabolização do material orgânico resultando no chamado liquor misto, em seguida é encaminhado para o decantador secundário onde as partículas com densidade maior que o líquido sedimentam com o objetivo de clarificação do efluente, por fim, o mesmo é encaminhado através de canaletas para o corpo receptor (efluente final). O material sólido resultante da sedimentação no decantador secundário é, em parte, retornado para o tanque de aeração (lodo ativo) para manter a concentração adequada dos microrganismos, e o restante (lodo em excesso) é encaminhado para tratamento e destinação final juntamente com o lodo resultante do decantador primário (caso a estação possua) (JORDÃO & PESSOA, 2011).

Quando a diferença é na idade do lodo, o sistema de Lodos Ativados Convencional (LAC) apresenta um valor de 4 a 10 dias, enquanto no sistema de Lodos Ativados com Aeração Prolongada (LAAP) de 18 a 30 dias (VON SPERLING, 1997), ocasionando implicações na conformação da ETE. No sistema LAC é muito comum a presença de decantador primário, o tempo de detenção hidráulica (tempo que os despejos líquidos permanecem no sistema) é considerado baixo, na ordem de 6 a 8 horas, implicando num volume reduzido para o tanque de aeração. Além disso, há a necessidade de tratar o lodo excedente e o lodo proveniente do decantador primário pois ainda não estão estabilizados, ou seja, ainda há um elevado teor de matéria orgânica na composição das células, e para isto é utilizado uma série de etapas que inclui adensador, digestor anaeróbio, desidratação, transporte e destinação final (ANDREOLI

et al., 2014). Se tratando do sistema LAAP, a maior idade do lodo requer um volume maior para o reator, visto que seu tempo de detenção hidráulica varia de 16 a 24 horas, em decorrência, possui também uma maior quantidade de biomassa. Portanto, a matéria orgânica se apresenta em menor disponibilidade para os microrganismos resultando num processo endógeno, em que as bactérias utilizam da própria matéria orgânica presente em suas células para realizar a respiração, convertendo-a em gás carbônico e água. Todo esse processo é realizado dentro do tanque de aeração resultando na estabilização da biomassa, ou seja, não necessitando da digestão do lodo como ocorre no sistema convencional. Visto esta funcionalidade, os sistemas de aeração prolongada geralmente não possuem decantador primário, para evitar a digestão do lodo primário (VON SPERLING, 1997).

Algumas vantagens e desvantagens destes sistemas estão listados na Tabela 1.

Figura 3: Conformação dos sistemas contínuos de lodos ativados. 1- convencional, 2- aeração prolongada.



Fonte: von Sperling (1997).

Tabela 1 – Vantagens e desvantagens das variantes do sistema de lodos ativados.

Sistema	Vantagens	Desvantagens	Referências
Convencional	<ul style="list-style-type: none"> - Menor área utilizada - Alta eficiência na remoção de matéria orgânica, turbidez e material em suspensão - Possibilidade de remoção de nutrientes como nitrogênio e fósforo - Flexibilidade operacional 	<ul style="list-style-type: none"> - Elevado custo energético, de instalação e operação - Grande produção de biomassa - Necessidade de digestão do lodo - Relativamente sensível a cargas tóxicas 	1, 2, 3
Aeração prolongada	<ul style="list-style-type: none"> - Sistema com maior eficiência remoção de DBO - Menor geração de lodo - Estabilização do lodo no próprio reator 	<ul style="list-style-type: none"> - Elevados custos de implantação e operação - Sistema com maior consumo de energia - Elevado índice de mecanização 	1, 2
Pós tratamento de efluentes anaeróbios	<ul style="list-style-type: none"> - Redução na produção de lodo - Menor consumo de energia - Operação simplificada - Menos equipamentos necessários 	<ul style="list-style-type: none"> - Menor remoção de nutrientes 	12, 13, 14, 15, 16

(1) von Sperling, 1997; (2) Jordão & Pessoa, 2011; (3) Moretti et al., 2016; (4) Dutta & Sarkar, 2015; (5) Metcalf & Eddy, 2003; (6) Chiemchaisri et al., 1993; (7) Kolega et al., 1991; (8) Chaize & Huyard, 1991; (9) Visvanathan et al., 2000; (10) Zhang et al., 2013; (11) Rusten et al., 2006; (12) von Sperling & Chemicharo, 1998; (13) von Sperling & Chemicharo, 2005; (14) Noyola et al., 2012; (15) Mmontshi et al., 2019; (16) Vinardell et al., 2020.

Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

2.2 MICRORGANISMOS EM SISTEMAS DE TRATAMENTO DE ESGOTO

Os tratamentos biológicos têm como premissa a utilização de microrganismos na degradação/decomposição de matéria orgânica e nutrientes, podendo ser divididos em aeróbios e anaeróbios (GUIMARÃES & NOUR, 2001).

Os principais microrganismos envolvidos no processo são os decompositores como bactérias, fungos e arqueias, e os consumidores como protozoários e micrometazoários (MADONI, 1994). De acordo com a fonte de energia que utilizam podem ser classificados como fototróficos (energia luminosa) e quimiotróficos (energia de reações químicas), sendo os quimiotróficos os mais comuns em sistemas de lodos ativados, visto baixa quantidade de luz no líquido de tratamento. Podem, ainda, serem classificados de acordo com a fonte de carbono como autótrofos (utilizam o gás carbônico) e heterótrofos (utilizam a matéria orgânica) (HOGG, 2005; VON SPERLING, 2011).

No tratamento anaeróbio, como é o caso de reatores UASB, o processo de conversão da matéria orgânica em subprodutos como metano, gás carbônico, gás sulfídrico e água é realizado por um conjunto de microrganismos trabalhando em sinergia, principalmente pelas bactérias e

arqueias, e pode ser dividido em quatro etapas: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese (VAN HAANDEL & LETTINGA, 1994; CHERNICHARO, 1997).

Na hidrólise ocorre a quebra da matéria orgânica complexa em material mais simples e é realizada por bactérias fermentativas através de exo-enzimas, além de ser um processo lento e dependente de muitas variáveis como temperatura, pH, tempo de residência do substrato no reator, concentração dos produtos da hidrólise (ácidos orgânicos voláteis). Estes produtos são fermentados junto com açúcares e aminoácidos por bactérias do tipo anaeróbia obrigatória e também por fermentativas acidogênicas gerando compostos mais simples, os ácidos orgânicos, álcoois, ácido lático, dióxido de carbono e hidrogênio, fase conhecida como acidogênese. Já na acetogênese ocorre a oxidação dos produtos da fase anterior como os ácidos orgânicos a acetato, hidrogênio e dióxido de carbono por bactérias acetogênicas, sendo que nesse processo há a liberação de grande quantidade de H₂, ocasionando na queda do pH. Por fim, é na metanogênese que ocorre a conversão dos compostos orgânicos em metano e dióxido de carbono, em que os principais microrganismos responsáveis são as arqueias metanogênicas acetotróficas (redução do ácido acético) e hidrogenotróficas (redução do dióxido de carbono) (CAMPOS, 1999).

Os protozoários, em especial os ciliados, contribuem no processo controlando a população bacteriana através da sua alimentação, abrigando bactérias metanogênicas como simbioses, consumindo matéria orgânica e excretando compostos estimulantes que aumentam a atividade bacteriana (CURDS, 1982; MADONI, 2011).

No sistema de lodos ativados caracterizado por ser um tratamento aeróbio, a biomassa pode crescer aderida formando os biofilmes ou grânulos, ou estar suspensa com formação de flocos, sendo estas estruturas fundamentais para o sucesso do tratamento (VON SPERLING, 2011).

O floco biológico é contido de material orgânico adsorvido, células ativas e inativas, material inerte dos esgotos e polímeros extracelulares (WILÉN et al., 2008). São complexos e constituídos de bactérias, protozoários, fungos e micrometazoários, que estão em constante relação uns com os outros e com o meio externo, portanto, sua composição exata não é universal (METCALF & EDDY, 2003). As bactérias são o organismo mais fundamental no processo, se encontram em cerca de 95% da população total da microbiota, sendo responsáveis pela degradação da matéria orgânica, estruturação e formação dos flocos (bactérias filamentosas e formadoras de floco) e nitrificação (JENKINS et al., 2003). As bactérias formadoras de floco produzem uma matriz gelatinosa de polímeros extracelulares que permite com que as bactérias filamentosas possibilitem a aderência de outros microrganismos, modificando seu tamanho e estrutura. Dessa forma, a relação entre elas precisa ser de equilíbrio, pois caso ocorra a

predominância de uma sobre a outra, fenômenos que causam problemas de eficiência na ETE podem estar presentes, sendo eles o intumescimento filamentososo ou *bulking* que não permite a sedimentação do lodo ativo e o *pin-point floc* que dificulta a formação de um floco rígido, causando má sedimentabilidade (VON SPERLING, 2011). Alguns exemplos de bactérias comumente encontradas nos sistemas de tratamento de esgoto são dos gêneros *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter*, *Nitrosomonas* e *Nitrobacter* (CORDI, 2013).

Além das bactérias, os protozoários também possuem papel importante no tratamento através do controle da população bacteriana, sendo constituídos pelos ciliados, flagelados e rizópodes (amebas). Os rizópodes podem ser divididos didaticamente em dois grupos, as amebas nuas e as tecamebas, que possuem uma carapaça (ZHOU et al., 2008; CORDI, 2013). Os flagelados se locomovem através de um ou mais flagelos e estão presentes geralmente no início do tratamento (MADONI, 1994). Os ciliados são caracterizados por possuírem cílios que utilizam para se locomover e se alimentar, são os mais complexos dos protistas em sua organização e possuem características únicas que os diferenciam tais como, dimorfismo nuclear e reprodução sexuada por conjugação. São comumente utilizados como bioindicadores e por isso serão o foco deste estudo. É possível citar, ainda, alguns gêneros mais comuns nestes ambientes como *Vorticella*, *Paramecium*, *Euplotes*, *Colpidium*, *Chilodonella* (MADONI, 2011; FOISSNER, 2016). Por fim, é importante salientar a presença de micrometazoários como os rotíferos, que auxiliam na remoção de bactérias e outras partículas contribuindo para a clarificação do efluente e também constituem os flocos biológicos (CORDI, 2013).

Os componentes da microfauna, dessa forma, são de extrema importância na manutenção e equilíbrio do sistema de tratamento. A sua modificação por alterações físicas, químicas e relações inter e intraespecíficas são indicativos de mudanças na ETE, alterando a eficiência e a qualidade do tratamento. Desse modo, podem ser utilizados como bioindicadores (FOISSNER 2016). Curds et al. (1970a, b) associam um sistema sapróbio para protistas (FOISSNER & BERGER, 1996) às características físico-químicas das ETE's. Bassin et al. (2011) afirmam a necessidade de informações sobre a ecologia microbiana acerca da sua relação com os chamados “poluentes emergentes”, ambos objetivando uma correta operação e manutenção das unidades de tratamento, buscando a otimização e melhoria na eficiência e na qualidade do efluente.

2.2.1 Ciliophora

Descobertos no final do século XVII, os protozoários ciliados são microeucariotos especializados, diversificados e com a organização mais complexa dentre os microeucariotos unicelulares (PUYTORAC, 1994; HICKMANN, 2001). São chamados assim por possuírem cílios em pelo menos um estágio evolutivo do ciclo de vida, sendo utilizados para locomoção e alimentação (PUYTORAC, 1994). Entretanto, as sinapomorfias do grupo são: dimorfismo nuclear, reprodução sexuada por conjugação, complexa infraciliatura e fragmentação cromossômica (LYNN & CORLISS, 1991; GAO et al., 2016).

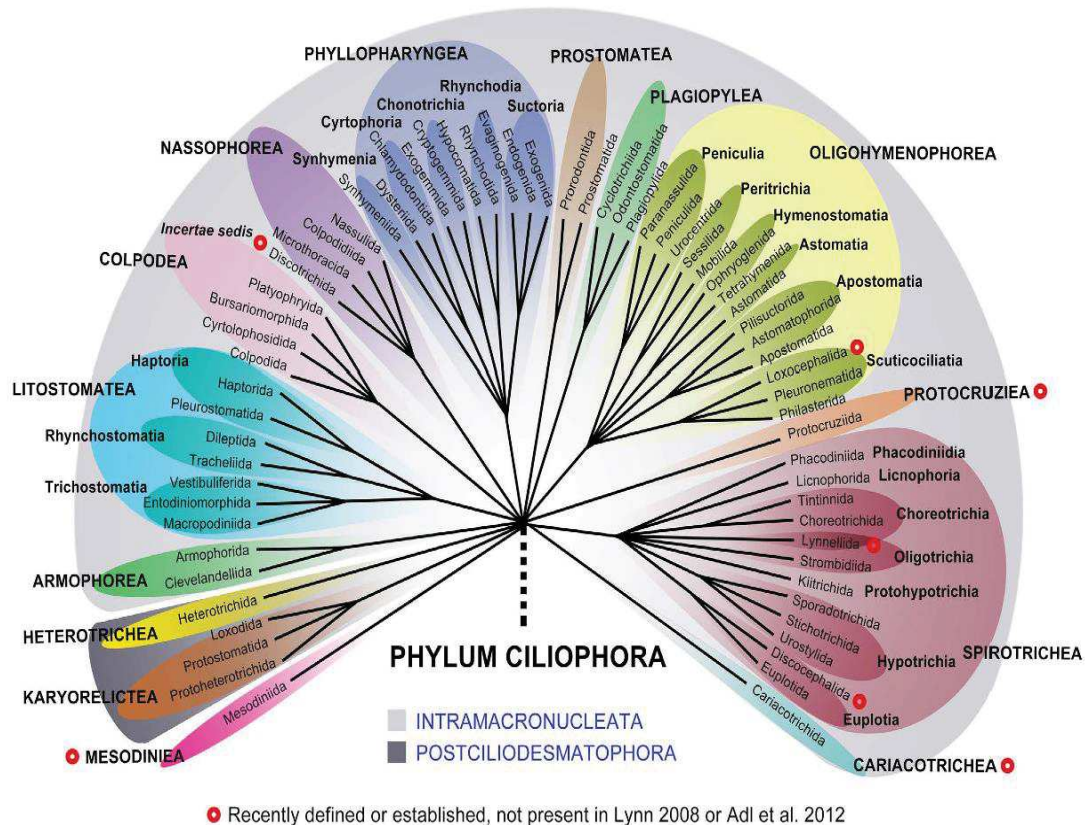
São organismos unicelulares, heterotróficos, com tamanho variando de 10 µm a 4.500 µm, forma do corpo variando de esférica a alongada, região ventral plana e dorsal abaulada. Possuem muita importância no funcionamento de teias alimentares (CORLISS, 1979; GAO et al., 2016) atuando como mediadores da transferência de matéria e energia entre os diferentes níveis tróficos (XU et al., 2014), operando como predadores de bactérias, cianobactérias, algas, fungos, outros ciliados e amebas (CURDS, 1973; PRATT & CAIRNS, 1985; MADONI 1994; VERNI & GUALTIERI, 1997; MADONI, 2011; FOISSNER, 2016).

O filo Ciliophora é composto por aproximadamente 8.000 espécies (GAO et al., 2016) possuindo distintos hábitos de vida, tais como vida livre, mutualistas, comensais ou parasitos. Habitam diversos ambientes, tais como o marinho, dulcícola, terrestre (solo, musgos, líquens) e o interior de bromélias (LYNN & CORLISS, 1991; LYNN, 2008). Essa adaptabilidade aos diversos ambientes ocorre por serem tolerantes às condições físico-químicas adversas e por realizarem o encistamento. Se as condições ambientais como temperatura, pH, oxigênio dissolvido forem favoráveis, a abundância desses microrganismos dependerá da disponibilidade de recursos alimentares; caso as condições sejam desfavoráveis podem se apresentar na forma encistada. O encistamento é uma estratégia de sobrevivência utilizada por diversos protozoários ciliados, podendo resistir à falta de alimento, ao estresse do ambiente e a predação (TAYLOR, 1981). Quando em culturas (meios de cultivo), as condições são favoráveis e as espécies encistadas tornam-se ativas, sendo possível registrar um número maior de espécies (TAYLOR, 1981; FOISSNER, 2004; LYNN, 2008).

Atualmente, as espécies de ciliados estão organizadas em 2 subfilos: Posticiliodesmatophora e Intramacronucleata, e 15 classes: Armophorea, Colpodea, Heterotrichea, Karyorelictea, Litostomatea, Muranotrichea, Nassophorea, Odontostomatea, Oligohymenophorea, Parablepharisma, Phyllopharyngea, Plagiopylea, Prostomatea, Protocruzia e Spirotrichea (GAO et al., 2016; FERNANDES et al., 2018). Na Figura 4 há uma

representação das relações filogenéticas e sistemática do filo Ciliophora, proposta por Gao et al. (2016).

Figura 4: Relações filogenéticas entre as classes e subclasses de representantes do filo Ciliophora proposta por Gao et al. (2016).



Fonte: Gao et al. (2016).

Os ciliados são considerados bons bioindicadores da qualidade da água (MADONI, 1994; SALVADÓ et al., 1995; FOISSNER & BERGER, 1996; MADONI, 2005; MADONI, 2011; FOISSNER, 2016), visto que respondem a impactos em um curto período de tempo, possuem curto ciclo de vida, alta taxa reprodutiva, ampla distribuição geográfica de grande parcela da diversidade conhecida, além de serem altamente sensíveis a contaminantes e cargas tóxicas (GRÓLIERE, 1990; MADONI, 1994). Dessa forma, foi proposto um sistema de classificação conhecido como sistema sapróbio (KOLKWITZ & MARSSON, 1909) para avaliação da qualidade da água, que consiste na divisão de zonas de poluição com base no teor de oxigênio dissolvido e na quantidade de matéria orgânica em que os ciliados são indicadores (FOISSNER & BERGER, 1996). As zonas de poluição foram divididas em oligosapróbia (não ou levemente poluída), alfa e beta-mesosapróbia (muito e medianamente poluída, respectivamente), e polisapróbia (extremamente poluída) (FOISSNER & BERGER, 1996).

Este uso inicial dos ciliados na investigação da qualidade de águas continentais se tornou a base teórica para posterior aplicação na avaliação da eficiência de estações de tratamento de esgoto com tratamento biológico (CURDS, 1973).

2.2.1.1 *Ciliados e monitoramento de ETE's*

Segundo Foissner (2016) os protistas começaram a ter importância no tratamento de esgoto quando do advento do lodo ativado em 1914 por Ardern e Lockett (1914) e essa concepção durou até a década de 50, na chamada “era da descoberta e exploração”. De 1950 até os anos 2000, “era do bloom”, alguns modelos e sistemas foram desenvolvidos e autores como Curds e Cockburn (1970a,b) os aplicaram em sistemas de tratamento de águas residuárias, obtendo resultados importantes para a comunidade científica no que tange a dominância das espécies e sua importância no tratamento, indicando possíveis eficiências do sistema de tratamento. Neste período, o número de artigos cresceu em diversas localidades no globo, aprimorando e desenvolvendo técnicas e índices em diversos sistemas de tratamento e com maior ou menor remoção de nutrientes, matéria orgânica, entre outros.

Os estudos sobre ciliados como indicadores da operação de ETE's se detinham na identificação das espécies e correlação de suas abundâncias com parâmetros físico e químicos da água em diferentes estações de tratamento de esgoto (CURDS, 1965; 1966; 1969; 1973; CURDS & COCKBURN, 1970a, 1970b; MADONI et al., 1993; MADONI, 1994; SALVADÓ et al., 1995; BENTO et al., 2005; ARÉVALO et al., 2009; PÉREZ-UZ et al., 2009; PAPADIMITRIOU et al., 2010; DUBBER & GRAY, 2011). Além das correlações usando as espécies de ciliados, foram investigadas as correlações de grupos de espécies, unidos por distintos atributos tais como locomoção (livre-natante, rastejante ou sésil) e hábito alimentar (bacterívoro, algívoro, carnívoro), dessa forma, ampliando a criação de índices para avaliação do funcionamento e eficiência desses sistemas, tal como relatado Tabela 2.

Tabela 2 – Métricas da microfauna em sistemas de tratamento de esgoto, principalmente lodos ativados.

Informação	Situação	Performance	Referência
Maior porcentagem de <i>Vorticella microstoma</i>	Lodo mal aerado	-	(1)
Maior porcentagem de <i>Opercularia</i>	Associado a altas concentrações de DBO5 no efluente final	-	(1)
Presença de <i>Metopetum</i>	Condições anaeróbias, problemas hidráulicos e putrefação	Pobre	(2)
Presença de <i>T. minuta</i>	Boas condições de nitrificação, boa sedimentação do lodo, efluentes de boa qualidade	-	(3)
Predominância de <i>Aspidisca costata</i>	Nitrificação	-	(4), (5)
Predominância de <i>Trachelophyllum</i>	Elevada idade do lodo	-	(5)
Subpredominância de <i>Acinera uncinata</i>	Instabilidade do lodo, possibilidade de baixa concentração de oxigênio e remoção de nutrientes	Medíocre	(2)
Subpredominância de <i>Aspidisca cicada</i>	Boa remoção de DBO5 e DQO, baixo teor de oxigênio e nitrato	Boa	(2)
Subpredominância de <i>Chilodonella uncinata</i>	Boa qualidade de efluente, baixa concentração de oxigênio	Boa	(2)
Subpredominância de <i>Coleps hirtus</i>	Nitrificação eficaz com boa remoção de nitrogênio amoniacal no efluente	Boa	(2)
Subpredominância de <i>Enchelyomorpha vermicularis</i>	Baixo desempenho na remoção de DBO5, problemas hidráulicos	Pobre	(2)
Subpredominância de <i>Euplotes aediculatus</i>	Toxicidade de águas poluídas por níquel	Medíocre	(2)
Subpredominância de <i>Euplotes mutabilis</i>	Alta tolerância a metais pesados	-	(2)
Subpredominância de <i>Euplotes patella</i>	IVL crescente (quando abundante e em associação com rotíferos) caso contrário, indica subcarga orgânica	Medíocre	(2)
Subpredominância de <i>Holophrya discolor</i>	Oxigenação intermitente e muito baixa, alta redução de nitrogênio	Medíocre	(2)
Subpredominância de <i>Litonotus lamella</i>	Lodo de baixa densidade	Pobre	(2)

(continuação...)

(continuação...)

Subpredominância de <i>Litonotus obtusus</i>	Elevados valores de IVL, indicando lodo de baixa densidade	Pobre	(2)
Subpredominância de <i>Metopus</i> spp.	Condições anaeróbias, problemas hidráulicos	Pobre	(2)
Subpredominância de <i>Opercularia articulata</i>	Altamente tolerante a NaCl	-	(2)
Subpredominância de <i>Opercularia coarctata</i>	Baixa qualidade do efluente e toxicidade (associada a alta DBO5 no efluente)	Pobre	(2)
Subpredominância de <i>Plagiocampa rouxi</i>	Oxigenação intermitente e muito baixa, alta redução de nitrogênio	Medíocre	(2)
Subpredominância de <i>Spirostomum teres</i>	Oxigenação intermitente e muito baixa, alta redução de nitrogênio e toxicidade por metais pesados, pesticidas ou fenóis	Medíocre	(2)
Subpredominância de <i>Stylonychia mytilus</i>	Remoção do íon Pb(+2) do lodo	-	(2)
Subpredominância de <i>Tetrahymena pyriformis</i> – complex	Relacionado a baixa idade do lodo	Pobre	(2)
Subpredominância de <i>Trimyema compressum</i>	Baixo desempenho na remoção de DBO5, problemas hidráulicos	Pobre	(2)
Subpredominância de <i>Trithymostoma cucullulus</i>	Sensibilidade à amônia e fosfato	Boa	(2)
Subpredominância de <i>Trochilia minuta</i>	Indicativo de boas condições nitrificantes	Boa	(2)
Subpredominância de <i>Uronema nigricans</i>	Baixa qualidade do efluente em termos de DBO5 e SS	Pobre	(2)
Subpredominância de <i>Zoothamnium procerius</i>	Boa eficiência de depuração da matéria orgânica	Boa	(2)
Subpredominância de <i>Vorticella campanula</i>	Alta qualidade do efluente em termos de DBO5 e do IVL	Boa	(2)
Subpredominância de <i>Vorticella convallaria</i>	Deficiência de nitrificação	Medíocre	(2)
Subpredominância de <i>Vorticella convallaria</i> e <i>Arcella hemisphaerica</i>	Elevada idade do lodo e subcarga	Boa	(2)

(continuação...)

(continuação...)

Subpredominância de <i>Vorticella microstoma/infusionum</i> e <i>Opercularia</i> sp.	Baixa eficiência de purificação, especialmente quando associado com alta abundância de flagelados, elevado IVL e baixa concentração de oxigênio	Pobre	(2)
Presença de <i>Vorticella microstoma/infusionum</i> e <i>Vorticella campanula</i>	Lodo bem estabilizado	Boa	(2)
Predominância de <i>Vorticella microstoma</i> e baixa concentração de ciliados livres	Efluente de má qualidade em termos de DBO5	-	(5)
Subpredominância de <i>Vorticella striata</i> – complex	Associação com elevados valores de DBO5 no efluente final, refletindo uma má qualidade do efluente	Pobre	(2)
Presença de ciliados carnívoros como <i>Litonotus lamella</i> , <i>Amphileptus</i>	Baixa sedimentação do lodo	Pobre	(2)
Presença de <i>Aspidisca cicada</i> , <i>Chilodonella</i> spp., <i>Vorticella striata</i>	Elevada idade do lodo	-	(2)
Presença de <i>Epistylis plicatilis</i> e <i>Vorticella striata</i>	Indicam o início do aumento de lodo quando sua abundância aumenta nitidamente e alto IVL	Decaindo	(2)
Presença de <i>Acineta tuberosa</i> , <i>Euplotes</i> sp. e <i>Zoothamnium</i>	Baixos valores de DBO5 e SS indicando uma elevada qualidade do efluente	-	(6)
Presença de <i>Uronema nigricans</i> , <i>Vorticella microstoma</i> e <i>Opercularia coarctata</i>	Valores altos de DBO5 e SS no efluente, indicando uma menor qualidade do efluente	-	(6)
<i>Aspidisca cicada</i> , <i>Vorticella convallaria</i> , <i>V. striata</i> , <i>octava</i> , <i>Epistylis plicatilis</i> e <i>Trochilia minuta</i>	Representativas da comunidade principal	-	(7), (1)

(continuação...)

(continuação...)

Subpredominância de pequenos flagelados, amebas nuas, enxames de ciliados peritríqueos, muitas bactérias dispersas	Lodo instável, influências tóxicas	Pobre	(2)
Maior porcentagem de pequenos flagelados heterotróficos (principalmente bodonídeos) e pequenas amebas	Remoção aprimorada de nitrogênio	-	(8), (2)
Presença de ciliados livre natantes	Frequentemente predomina em estações com TDH baixo, efluente desaparece após choque de pH	Medíocre	(2)
Pequenos ciliados livre natantes	TDH baixo, lodo mal aerado	Medíocre	(9)
Grandes ciliados livre natantes	Carga orgânica elevada, lodo mal aerado	Medíocre	(9)
Ciliados rastejantes	-	Boa	(9)
Presença de ciliados rastejantes e livre natantes	Quando altamente diverso, indicativo de lodo estável, mas qualidade insuficiente do efluente	Medíocre	(2)
Ciliados sésseis	Fenômeno transitório	Decaindo	(9)
Presença de ciliados rastejantes e sésseis	Comunidade rica em espécies, fase de lodos ativados propriamente dita	Boa	(9), (1)
Ciliados sésseis e rastejantes e quase sem flagelados	Estação eficiente	-	(9)
Dominância de Peritríqueos e Hipotríqueos	Bom funcionamento da estação de lodos ativados	-	(1)
Diminuição de Hipotríqueos	Carga orgânica alta	-	(1)
Presença de Peritríqueos	Crescem em variedades de carga orgânica	-	(1)
Presença de ciliados bacterívoros livre natantes	Início do sistema (esgoto bruto)	-	(1)
Predominância de ciliados carnívoros e livre natantes	Baixa capacidade de sedimentação do lodo	-	(10)
Predominância de ciliados carnívoros	Sedimentação deficiente do lodo	-	(10)
Densidade de ciliados predadores de flocos / ciliados sésseis	Razão igual ou superior a 0,5 indica efluente de melhor qualidade	-	(11), (5)

(continuação...)

(continuação...)

Maior densidade de organismos	Maior concentração de sólidos suspensos	-	(5)
Diminuição da densidade de organismos	Baixa depuração da matéria orgânica no tanque de aeração	-	(9)
Maior Riqueza	Maior estabilidade nas funções ecológicas	-	(10)
Menor Riqueza	Baixa depuração da matéria orgânica e baixo desempenho da estação	-	(9)
Menor diversidade de ciliados	Águas residuárias com alta concentração de amônio do que em sistemas convencionais.	-	(12), (2)
Não dominância de nenhuma espécie por um fator maior que 10	Estação eficiente	-	(9)
Elevado número de ciliados (>10 ⁶ org./L)	Bom funcionamento da estação de lodos ativados	Boa	(9), (2)
Baixo número de ciliados (<10 ⁴ org./L)	Baixa depuração da matéria orgânica	-	(2)
Abundância muito baixa	Bom desempenho de nitrificação	-	(8)

* (1) Madoni, 2011; (2) Foissner, 2016; (3) Dubber & Grey, 2011; (4) Figueiredo et al., 1997; (5) Bento et al., 2005; (6) Salvadó et al., 1995; (7) Madoni & Ghetti, 1981; (8) Pérez-Uz et al., 2010; (9) Madoni, 1994; (10) Liu et al., 2008; (11) Bedgoni et al., 1991; (12) Canals et al., 2013.

Fonte: Adaptado de Foissner (2016).

Embora haja vários relatos de correlações de espécies e ou grupos de espécies com alguns parâmetros de eficiência e funcionamento das ETE's, o papel desempenhado por esses microrganismos e suas relações e interações no processo de tratamento são complexos, variando muito entre distintas formas de tratamento (BENTO et al., 2005).

2.2.1.2 Índice Biótico do Lodo - IBL

Na tentativa de compilar informações e trazer novas reflexões sobre uso de microeucariotos para o entendimento do funcionamento e eficiência de ETE's, Madoni (1994) propôs o índice biótico do lodo (IBL). Neste estudo foram analisadas 44 estações de tratamento de esgoto do tipo lodos ativados na Itália por um período de 20 anos. O índice é baseado na sensibilidade e abundância de alguns grupos de microeucariotos (principalmente ciliados) aos

parâmetros físico-químicos e operacionais do sistema. Consiste numa tabela bidirecional que contém os grupos dominantes e a densidade total da microfauna na entrada horizontal (sucendo da parte superior para a inferior da tabela uma qualidade biológica cada vez pior do lodo) e a entrada vertical composta pelo número total de unidades taxonômicas e a densidade de pequenos flagelados (da esquerda para direita a qualidade biológica do lodo é cada vez pior)(ver Tabela 3).

Tabela 3 – Tabela bidirecional para determinação do Índice Biótico do Lodo (IBL) baseado nos grupos dominantes, densidade e número de unidades taxonômicas.

Grupo dominante	Densidade (ind./L)	Número total de unidades taxonômicas e número de pequenos flagelados (F) contados ao longo da câmara de Fuchs-Rosenthal							
		> 10		8 - 10		5 - 7		< 5	
		F < 10	10 < F < 100	F < 10	10 < F < 100	F < 10	10 < F < 100	F < 10	10 < F < 100
Ciliados rastejantes + sésseis* e/ou ameoba tecada	≥ 10 ⁶	10	8	9	7	8	6	7	5
	< 10 ⁶	9	7	8	6	7	5	6	4
Ciliados sésseis* > 80%	≥ 10 ⁶	9	7	8	6	7	5	6	4
	< 10 ⁶	8	6	7	5	6	4	5	3
<i>Opercularia</i> spp	≥ 10 ⁶	7	5	6	4	5	3	4	2
	< 10 ⁶	6	4	5	3	4	2	3	1
<i>Vorticella microstoma</i>	≥ 10 ⁶	6	4	5	3	4	2	3	1
	< 10 ⁶	5	3	4	2	3	1	2	0
Ciliados bacterívoros livre natantes	≥ 10 ⁶	5	3	4	2	3	1	2	0
	< 10 ⁶	4	2	3	1	2	0	1	0
Pequenos flagelados natantes (>100)**	≥ 10 ⁶		4		3		2		1
	< 10 ⁶		3		2		1		0

* *Opercularia* spp e *Vorticella microstoma* não abundantes; ** ao longo da diagonal na câmara de Fuchs-Rosenthal.

Fonte: Adaptado de Madoni (1994).

Após o cruzamento das informações (grupos dominantes, densidade total da microfauna, número total de unidades taxonômicas e densidade de flagelados) conforme indicado na Tabela 3, o índice obtido (varia entre 0-10) é possível fazer a conversão do valor para classes de qualidade do lodo (ver Tabela 4), com informações sobre funcionamento e eficiência do sistema.

Tabela 4 – Tabela de conversão do valor do IBL para as classes de qualidade do sistema, bem como obter descrição sobre funcionamento do lodos ativados.

Valor do IBL	Classe	Descrição
8-10	I	Lodo muito bem colonizado e estável, excelente atividade biológica; muito bom desempenho
6-7	II	Lodo bem colonizado e estável, atividade biológica em diminuição; Boa performance
4-5	III	Depuração biológica insuficiente no tanque de aeração; desempenho medíocre
0-3	IV	Má depuração biológica no tanque de aeração; baixa performance

Fonte: Adaptado de Madoni (1994).

Para fins de contabilizar o número de unidades taxonômicas encontradas, são considerados os seguintes grupos de microrganismos: flagelados, ciliados, amebas tecadas, rotíferos e nematóides. As espécies de ciliados e amebas tecadas são contabilizadas, no entanto, por ser de difícil identificação os flagelados, rotíferos e nematóides contabilizam apenas uma unidade taxonômica cada. Em relação aos grupos dominantes, apenas os ciliados bacterívoros são analisados, sejam eles livre natantes, rastejantes ou sésseis; os carnívoros vão contribuir apenas para a densidade e diversidade totais da microfauna. Os protozoários flagelados, contados em câmara de Fuchs-Rosenthal, não são contabilizados no cálculo de densidade total (MADONI, 1994).

2.3 DISTINTAS ABORDAGENS DE DIVERSIDADE

A diversidade biológica engloba toda uma variabilidade dos organismos vivos, em diversos ambientes, escalas temporais e espaciais, sendo representada por métricas de diversidade, sendo essenciais na descrição de padrões (MAGURRAN & MCGILL, 2011). A partir da década de 90, ecólogos vêm buscando mensurar a dimensionalidade da biodiversidade, ou seja, a quantidade mínima de informações para descrever a mesma, vislumbrando uma visão integrada, dado que as métricas são apenas fragmentos de um todo, deixando de lado descritores incompletos para buscar suas múltiplas dimensões (SOUZA et al., 2019). Ricotta (2005) define a biodiversidade como “um conjunto de medidas estatísticas utilizadas para quantificar diferentes aspectos da estrutura de comunidades”, no entanto, isso ainda é um desafio segundo

Devictor et al. (2010) e Chao et al. (2014), visto que devem seguir um critério de complementaridade (SAITO et al., 2015).

Com o progresso da ciência no âmbito da ecologia aumentou a compreensão da filogenia e características das espécies na funcionalidade dos ecossistemas, evoluindo conceitos e medidas que apenas assumem que todas as espécies são equivalentes, isto é, que independe do tamanho, biomassa e posição na cadeia alimentar (MAGURRAN, 2005). Esta última, conhecida como diversidade taxonômica tem sido utilizada como apenas um componente da biodiversidade, pois negligencia as diferenças funcionais e filogenéticas (DEVICTOR et al., 2010). Somada a ela há também a diversidade filogenética, com a premissa de explicar a história biogeográfica na estrutura e composição da comunidade (WEBB et al., 2002), predizendo que deve ser ampla a divergência nos traços ecológicos, todavia estudos recentes mostram que muitas linhagens apresentam traços que se mantêm ao longo da evolução (PRINZING et al., 2001; ACKERLY, 2003). A terceira componente, a diversidade funcional, objetiva a explicação do funcionamento do ecossistema (HOOPER et al., 2005), entretanto, o conhecimento de quais e quantos traços utilizar, quais funções são importantes e como variam entre as espécies e no espaço, são ainda campos abertos para estudo (MAZEL et al., 2018). Assim, estimar cada uma dessas componentes da biodiversidade é importante para compreender a estrutura, composição e dinâmica das comunidades (WEBB et al., 2002).

2.3.1 Diversidade funcional

O conceito funcional surgiu há mais de 30 anos quando se buscou compreender as funções que as espécies realizam na comunidade ou ecossistema em que se encontram (WEISSE, 2017). Estudos na área foram se desenvolvendo na última década, englobando de procariotos a vertebrados (STEVENS et al., 2004). A diversidade funcional foi definida por Tilman (2001) e utilizada por diversos autores como “o alcance e o valor das espécies e características orgânicas que influenciam o funcionamento do ecossistema”. As avaliações funcionais se baseiam nas características morfológicas, fisiológicas ou comportamentais relacionadas ao desempenho e às relações dos organismos com as condições bióticas e abióticas do meio (MCGILL et al., 2006; VIOLLE et al., 2007). Estas características, também chamadas de atributos ou traços (“traits”) funcionais, são medidas em nível individual e são majoritariamente aquelas que impactam o fitness dos organismos através de seus efeitos sobre o crescimento, reprodução e sobrevivência (VIOLLE et al., 2007). De maneira geral, a abordagem funcional baseada nestes atributos representa uma forma de mensurar o

funcionamento dos ambientes, uma vez que, a perda ou adição destes atributos pode resultar em alterações nas funções ecossistêmicas (“atributos de efeito”, VIOLLE et al. 2007). Por outro lado, estes atributos podem estar relacionados às respostas dos organismos às interações com outros organismos ou às condições ambientais (“atributos de resposta”, SUDING et al., 2008).

A escolha e quantidade dos traços é essencial na análise de diversidade funcional, quanto maior o número, maior a contribuição individual das espécies, e pelo contrário, quanto menor o número, mais semelhantes são as espécies na comunidade e, assim, maior é a redundância funcional (DÍAZ & CABIDO, 2001; PETCHEY & GASTON, 2002).

A diversidade funcional é mensurada através de índices, que atualmente vem causando uma discussão na comunidade acadêmica acerca de quais são mais adequados e representativos (MOUCHET et al., 2010). Os mais utilizados são a riqueza funcional (Fric), que é o volume do espaço multidimensional ocupado por todas as espécies em uma comunidade dentro do espaço funcional, a uniformidade funcional (Feve), que é a regularidade da distribuição e abundância relativa de espécies no espaço funcional para uma dada comunidade e a divergência funcional (Fdiv), que é a proporção da abundância total suportada por espécies com os valores de característica mais extremos dentro de uma comunidade (MOUILLOT et al., 2013). Além destas, são utilizadas a entropia quadrática de Rao que de acordo com Weigelt et al. (2008) é uma medida que inclui informações a respeito da uniformidade da distribuição de características funcionais dentro de uma determinada comunidade, sendo considerada uma medida de diversidade funcional e o valor do CWM (*Community Weighted Mean*) dos atributos funcionais das comunidades, que indica mudanças nos valores médios das características ponderadas pela abundância relativa das espécies dentro das comunidades (RICOTTA & MORETTI, 2011).

Em estudos limnológicos a diversidade funcional tem sido utilizada como uma importante ferramenta preditora para elaborar estratégias de conservação e proteção de habitats (MAGRINI et al., 2011; SEGOVIA et al., 2016; SODRÉ et al., 2020; SETUBAL & RICCARDI, 2020), visto que o ecossistema límnic têm sofrido com ações antropogênicas como descargas de esgoto industrial e doméstico não tratados e contaminantes provenientes de atividades agropecuárias (VILAS-BOAS et al., 2021). Cardoso et al. (2017) estudaram uma planície de inundação na Amazônia e a importância da morfometria dos lagos, condições físicas e químicas da água e da diversidade zooplânctônica para a diversidade taxonômica e funcional do fitoplâncton durante os períodos de águas altas (cheias) e baixas (vazantes), contribuindo para elucidar como as espécies e seus traços funcionais respondem à mudanças do ambiente. Li et al. (2017) investigaram se as propriedades do solo durante a secagem de áreas alagadas (“*wetlands*”) são influenciadas pelas características funcionais das plantas que compõem a

vegetação e comprovaram que os traços funcionais fornecem informações sobre o funcionamento do ecossistema. Estudos envolvendo peixes na região Neotropical têm mostrado uma alta diversidade funcional permitindo uma maior contribuição aos processos e serviços ecossistêmicos (TOUISSAINT et al., 2016). Ainda, Setubal et al. (2020) contribuíram para a compreensão da importância da diversidade funcional do zooplâncton, organismos resposta das mudanças nos ecossistemas de água doce, nos processos do ecossistema com vistas às mudanças causadas pelo aumento da salinidade, concluindo que comunidades com maior diversidade funcional foram mais produtivas mesmo sob estresse salino.

2.3.2 Diversidade funcional em estudos com Ciliophora

De acordo com Weisse (2017) a pesquisa sobre diversidade funcional aplicada aos ciliados ainda está nos seus primórdios, pois são necessárias muitas informações para estabelecer os traços para estes organismos que ainda são desconhecidos. Estudos foram realizados em diferentes ecossistemas, como no solo por Coûteaux & Darbyshire (1998), em águas costeiras (XU, H. et al., 2016; ZHAO et al., 2016; ZHONG et al., 2017; AL et al., 2018a; XU, G. et al., 2018b; BAI & XU, 2019; BAI et al., 2019; GUO & XU, 2019; XU & SOININEN, 2019; ZHONG et al., 2019; GUI et al., 2020; GUO et al., 2020), em áreas alagadas “wetlands” (XU, Y. et al., 2018a; XU, Y. et al., 2018b; LIU et al., 2019; XU, Y. et al., 2020) e no oceano ártico (XU, G. et al., 2018a), sendo a maioria em ambientes aquáticos tratando do papel trófico dos ciliados.

Os traços usualmente utilizados nesses estudos foram baseados em uso de recursos (bacterívoro, algívoro, onívoro, carnívoro), tamanho corporal (comumente segmentado em classes) e forma de locomoção (sésil, rastejante ou livre natante), visto já serem utilizados em pesquisas clássicas sobre os ciliados e responderem muito sobre as relações tróficas do habitat, no entanto, conforme o objetivo da pesquisa, outros traços puderam ser observados tais como, formação de cistos, formato da célula, grau de flexibilidade, sociabilidade (solitário ou colonial), tipo de respiração (anaeróbio ou aeróbio) (PRATT & CAIRNS, 1985; MADONI, 1994, DUBBER & GREY, 2011; WEISSE, 2017; ZHONG, et al. 2017; XU, Y. et al., 2018b).

Partindo da premissa que mudanças no meio ambiente resultam em variações na composição funcional da comunidade de protistas ciliados, Xu, H. et al. (2016) utilizaram a abordagem funcional espacialmente para viabilizar o uso de traços funcionais para a comunidade de ciliados na bioavaliação da qualidade da água em ambientes marinhos. Al et al. (2018b) assumindo que a disponibilidade de alimento é diferente ao longo da coluna d'água,

preveem que os padrões trófico-funcionais da comunidade de ciliados podem sofrer influência e assim indicarem o estado da qualidade da água. De acordo com Xu, Y. et al. (2018b) a diversidade funcional é considerada um bom componente para estudar e entender os processos do ecossistema, porque as espécies não são iguais nas suas respostas à variação do meio ambiente, visto isso o uso de índices como Fric, Feve e Fdiv tem o potencial de indicar as relações entre as condições do meio ambiente e a biodiversidade. No seu estudo, eles avaliaram a diversidade funcional de ciliados bentônicos e sua relação com as condições ambientais, assumindo o alto potencial de monitoramento do status ecológico marinho, na região estuarina que, segundo os autores, é uma das mais produtivas mas também uma das mais exploradas. Xu, Y. et al. (2018a) resgatam a relação entre a diversidade clássica e a funcional, afirmando que uma abordagem integrativa combinando as duas provavelmente é mais informativa e proporciona uma maior compreensão das relações entre a estrutura da comunidade ciliada e as funções do ecossistema. Os autores estudaram no ambiente marinho como a distribuição das características funcionais e a composição das espécies de ciliados variaram ao longo de gradientes ambientais e, ainda, utilizaram os índices de diversidade clássica e funcional combinados para compreender melhor as relações que ligam as comunidades de ciliados ao seu ambiente.

De forma geral, alguns outros estudos utilizaram a diversidade funcional ou as características funcionais para entender a relação dos indivíduos com a variação de propriedades do meio ambiente tais como gradientes de poluição, diferenciação espacial e temporal. Sendo os protistas ciliados os indivíduos escolhidos por possuírem propriedades únicas que os caracterizam como bons bioindicadores (e.g sensibilidade às mudanças ambientais, ampla distribuição geográfica, grandes abundâncias, curto tempo de geração celular, papéis-chave na cadeia alimentar microbiana). A partir da compreensão dessas relações incitar o uso desses organismos como indicadores da qualidade ambiental, principalmente em ambientes aquáticos (XU, G. et al., 2018; BAI & XU, 2019; BAI et al., 2019; GUO & XU, 2019; XU & SOININEN, 2019; XU, Y. et al., 2020). Além disso, pouco ou nada se sabe sobre a estrutura funcional da comunidade de protistas ciliados em ETE's e suas relações com as mudanças ambientais desse ecossistema, assim, ainda há necessidade de investigar a diversidade funcional dos ciliados em diversos ambientes, quantificando suas características funcionais (XU, Y. et al. 2018b).

2.3.2.1 *Perspectivas futuras para aplicação em ETE's*

Por apresentarem determinadas peculiaridades, os ciliados são tidos como bons bioindicadores da qualidade ambiental sendo utilizados em estações de tratamento de esgoto para verificação da eficiência do tratamento através da sua identificação e correlação com parâmetros físico-químicos, todavia a escassez de conhecimento técnico acerca da taxonomia destes organismos dificulta sua identificação nas estações. Em vistas disto, a possibilidade da utilização de características morfológicas, fisiológicas e comportamentais amplas e de fácil compilação surge como uma opção para otimização e disseminação deste uso aplicado.

Segundo Weisse (2017), há ainda algumas lacunas na utilização da diversidade funcional em protistas ciliados como a falta de um banco de dados consistente acerca das características funcionais, a necessidade de aumentar a quantidade de estudos em diferentes ecossistemas e com ciliados funcionalmente diferentes para construir um arcabouço teórico e robusto, a carência de informações sobre a interação entre os traços funcionais dos ciliados e parâmetros abióticos dos ecossistemas estudados. Todas essas lacunas são desafios para uso da abordagem funcional usando ciliados (WEISSE, 2017). Dessa forma, se faz necessário ampliar os estudos sobre este tema, desenvolvendo a teoria e elucidando questões relacionadas ao funcionamento do ecossistema, relações tróficas e composição funcional. O campo a ser explorado é extenso e aplicado.

A diversidade funcional tem uma capacidade de aplicação em diversos setores do conhecimento. A compreensão acerca das mudanças do meio ambiente e sua relação com os indivíduos presentes no ecossistema através “do que eles fazem” é de extrema importância no desenvolvimento de medidas preditoras de contaminação e de desastres ecológicos, de elaboração de políticas públicas para preservação e conservação de determinado ambiente, no manejo de áreas de proteção e no uso de recursos e além disso na avaliação da qualidade da água, estações de tratamento e status ecológico em ambientes marinhos através do uso de organismos bioindicadores. Visando um objetivo único, o equilíbrio nas relações humanas e ecológicas em vistas de um desenvolvimento sustentável.

3 OBJETIVOS

O presente trabalho possui como objetivo geral aplicar uma abordagem funcional no estudo da comunidade de protistas ciliados em uma estação de tratamento de esgoto que opera em sistema de lodos ativados como pós-tratamento de reatores UASB.

3.1 OBJETIVO ESPECÍFICO

Nossos objetivos específicos foram: ¹investigar a composição e diversidade taxonômica e funcional da comunidade de microeucariotos ciliados em estação de tratamento de esgoto lodos ativados como pós-tratamento de reatores UASB, bem como apresentar dados de sua dinâmica temporal; ²investigar a correlação entre índices e atributos usados na diversidade taxonômica e funcional da comunidade de ciliados neste ecossistema artificial bem como comparar a divergência funcional com o IBL; ³avaliar a relação entre a composição e os traços funcionais da comunidade de ciliados e as condições ambientais no sistema de tratamento de esgoto ao longo de dois anos de monitoramento (37 amostras); e ⁴investigar quais traços da diversidade funcional podem ser usados como indicadores da eficiência do tratamento nesta estação, bem como discutir as futuras aplicações desta metodologia em outras estações de tratamento.

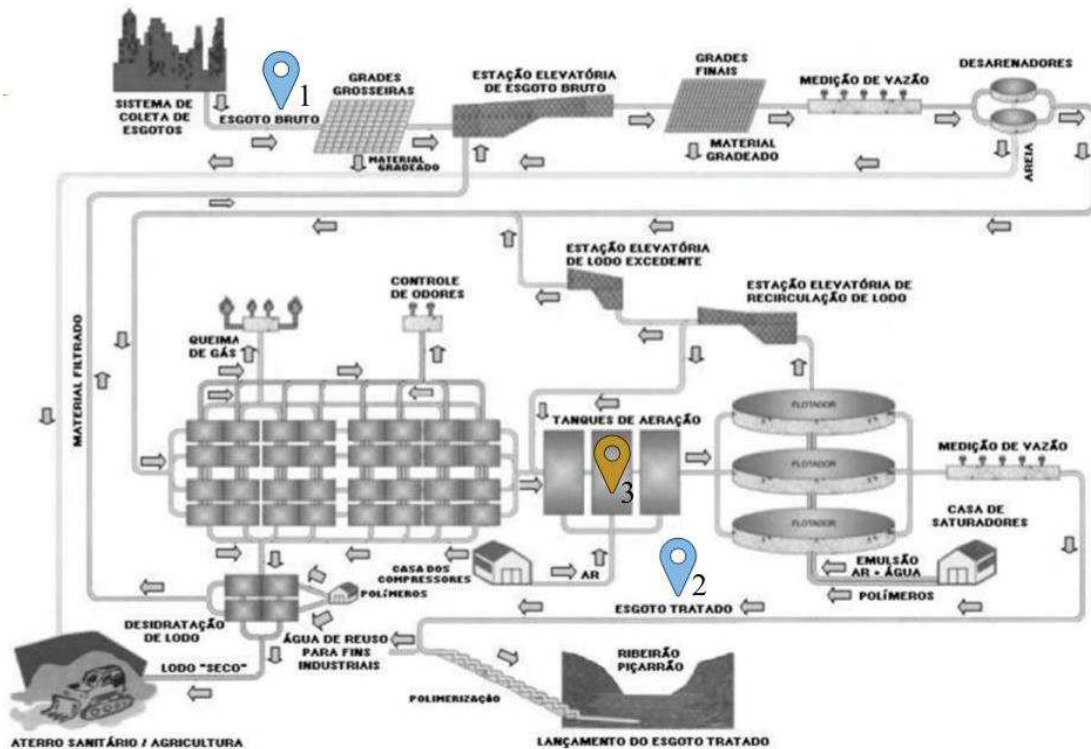
4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ÁREA DE ESTUDO E AMOSTRAGEM

Os dados utilizados neste estudo foram coletados na Estação de Tratamento de Efluentes Piçarrão, localizada na cidade de Campinas (São Paulo, Brasil) (22°53'58"S e 47°08'57"O), um sistema combinado anaeróbio-aeróbio constituído por três tecnologias distintas, um reator de alta taxa (UASB) e lodos ativados modificado com flotores de ar dissolvido em substituição ao decantador secundário (Figura 5). A ETE Piçarrão atende uma população de aproximadamente 200 mil pessoas (19% da população total) e é capaz de tratar 0,56 m³/s de esgoto doméstico e possui volume do líquido misto dentro do tanque de aeração de 9.385,2 m³, tempo de retenção de lodo de 4 dias (para maiores detalhes ver Siqueira-Castro et al., 2016).

O período de coleta durou 24 meses entre abril de 2010 e março de 2012 e foram realizadas 37 amostragens. Para coleta de água com a finalidade de realizar análises físicas e químicas, as amostras foram coletadas (1) na entrada da ETE (esgoto bruto) antes da passagem pelo gradeamento e (2) na saída da mesma (esgoto tratado) após passagem pelo flotor de ar dissolvido (Figura 5). Para a coleta com a finalidade de acessar a diversidade de ciliados, as amostras foram coletadas no tanque de aeração (3) (para maiores detalhes ver Siqueira-Castro et al., 2016).

Figura 5: Esquema com vista superior da ETE Piçarrão em Campinas (SP).



Fonte: Greinert-Goulart (2013).

4.2 PARÂMETROS AMBIENTAIS

A companhia de saneamento da cidade de Campinas (SANASA) foi a responsável por realizar as análises físicas e químicas da entrada (esgoto bruto) e da saída (esgoto tratado). Nestas foram mensurados os seguintes parâmetros: demanda bioquímica de oxigênio (DBO_5), demanda química de oxigênio (DQO), nitrogênio kjeldahl total (NTK), nitrogênio nitrito ($N-NO_2$), nitrogênio nitrato ($N-NO_3$), fosfato total (PT), alcalinidade total, turbidez, pH, temperatura, óleos e graxas, sulfato, sulfeto, sólidos totais (ST), sólidos totais fixos (SF), sólidos totais voláteis (SV), sólidos dissolvidos totais (SDT), sólidos dissolvidos fixos (SDF), sólidos dissolvidos voláteis (SDV), sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos fixos (SSF), sólidos suspensos voláteis (SSV), e sólidos sedimentáveis (SS) (Siqueira-Castro et al., 2016).

A eficiência global (entrada e saída) da estação de tratamento também foi calculada, utilizando a equação (1).

$$E = \frac{S_0 - S_f}{S_0} * 100 \quad (1)$$

Onde:

E = eficiência de remoção em %

S₀ = concentração inicial

S_f = concentração final

* as concentrações inicial e final precisam estar na mesma unidade.

4.3 CILIADOS: QUANTIFICAÇÃO, IDENTIFICAÇÃO E TRAÇOS TAXONÔMICOS E FUNCIONAIS

A estimativa dos valores de abundância dos ciliados in vivo foi realizada por microscopia óptica (DIC), em câmara de Sedgwick-Rafter (CETESB, 2009), com observação dos microrganismos em aumento de 200x em tempo menor que 3h após a coleta do tanque de aeração. As amostras foram diluídas com água mineral na proporção de 1:2-1:3 (evitando que os flocos atrapalhassem a visualização). As contagens seguiram padrão de 100 campos de 1 mm² de área, distribuídos aleatoriamente até visualizar a câmara toda (CETESB, 1985). Os resultados foram expressos em número de indivíduos por mililitro de líquido misto (CETESB, 2009) através da equação (2).

$$N^{\circ} \text{ de microrganismos/mL} = \frac{C * 1000 \text{ mm}^3/\text{mL} * \text{fator de diluição}}{A * D * F} \quad (2)$$

Onde

C = número de micro-organismos contados;

A = área de um campo em mm²;

D = profundidade da câmara em mm;

F = número de campos contados.

A identificação dos ciliados em nível específico foi realizada com base em observações in vivo, impregnações pela prata, e imagens em microscopia eletrônica de varredura (FOISSNER, 2014). Os principais guias e artigos usados na identificação foram Foissner et al. (1991, 1992, 1994, 1995), Foissner & Berger (1996), Berger (1999, 2006, 2011), Lynn & Small (2002), Berger & Foissner (2004), e Serrano et al. (2008). Dados completos do checklist e imagens das espécies de ciliados encontradas estão disponíveis em Siqueira-Castro et al. (2016).

Foram selecionados oito traços funcionais subdivididos em 21 categorias (apêndice A), sendo eles morfológicos, comportamentais e fisiológicos. Todos os traços afetam a aptidão

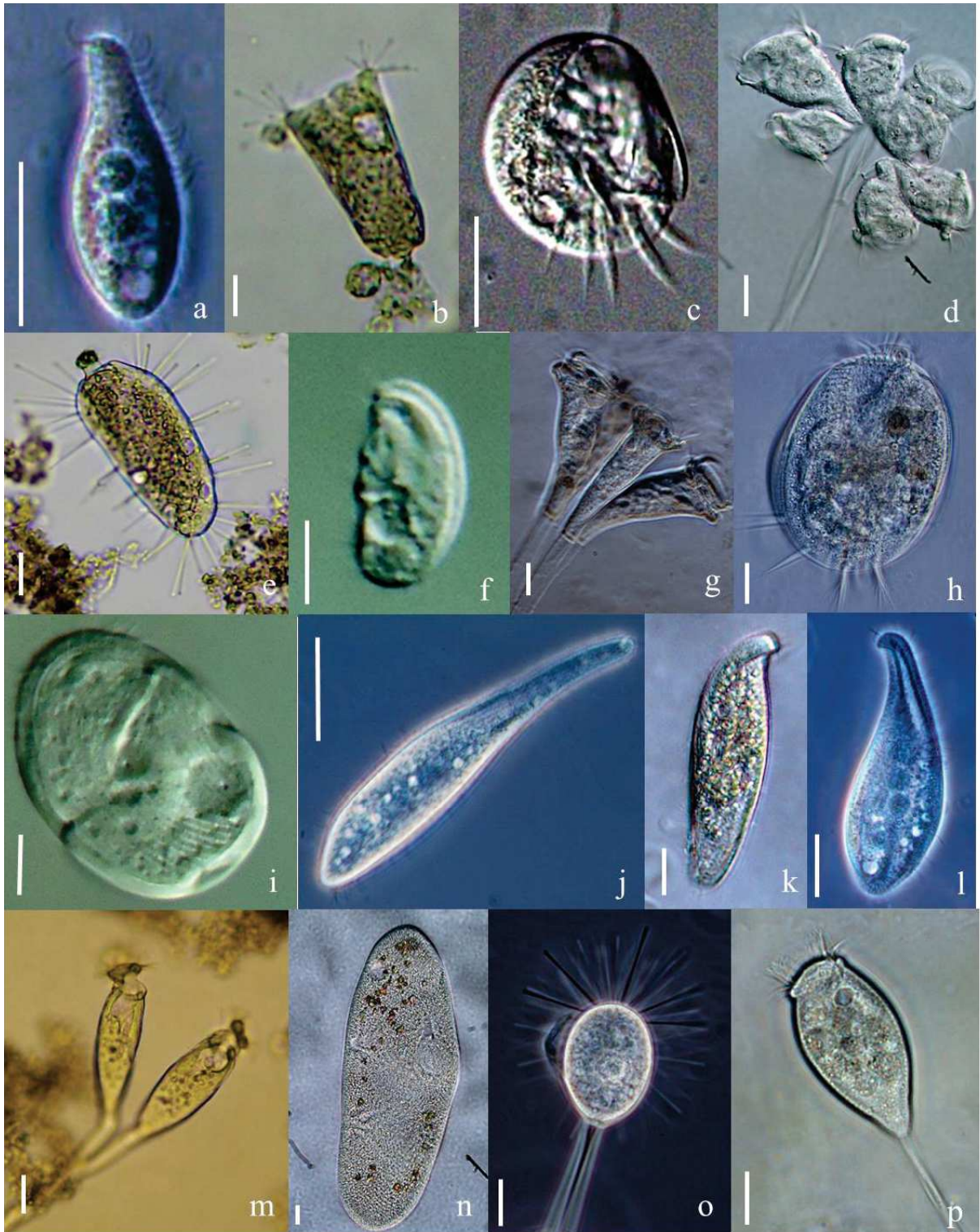
através de efeitos sobre o crescimento, reprodução, sobrevivência e impactando ou sendo impactados por fatores ambientais, sendo classificados em traços de efeito que dizem respeito ao efeito que um organismo é capaz de gerar no funcionamento de um sistema ecológico e em traços de resposta que correspondem à reação de um organismo a uma mudança nas variáveis ambientais (VIOLLE et al., 2007; BORICS et al., 2021). Os traços receberam ponderação igualitária, sendo eles: preferência alimentar (bacterívoro, carnívoro, onívoro), tamanho do corpo (<50µm - pequeno, 50-150µm - intermediário, >150µm - grande), forma de locomoção (livre natante, sésil, rastejante), flexibilidade do corpo (flexível ou não flexível), geometria corporal (cilíndrico e dorsoventralmente achatado) respiração (aeróbia e anaeróbia), formação de floco (formam ou não formam), formato do corpo (alongado - comprimento duas vezes maior que a largura, oval/arredondado, pedunculado com tentáculo, pedunculado sem tentáculo) (Figura 6) (MADONI et al., 1993; MADONI, 1994; MADONI & BASSANINI, 1999; FOISSNER, 2016; ZHONG et al., 2017; WEISSE, 2017; XU, Y. et al., 2018a, 2018b; XU, G. et al., 2018b; ZHONG et al., 2019; XU et al., 2020; XU & SONINEN, 2020). Essas características foram escolhidas por representarem o comportamento (preferência alimentar, forma de locomoção, formação de floco), a morfologia (tamanho do corpo, flexibilidade do corpo, geometria corporal e formato do corpo) e a respiração. Em sua revisão sobre diversidade funcional de Ciliophora, Weisse (2017) apresenta informações importantes na escolha dos traços, servindo de ponto de partida para utilizar, melhorar e desenvolver novas características para o grupo.

A classificação dos ciliados em seus respectivos traços foi retirada da literatura (PRATT & CAIRNS, 1985; FOISSNER et al., 1991, 1992, 1994, 1995, 1996, 2002; LYNN, 2008; LYNN & SMALL, 2002; XU, Y. et al., 2018b) e dos conhecimentos e observações dos autores sobre o assunto.

Figura 6 (a-p): Fotomicrografias in vivo da microfauna presente no tanque de aeração em lodos ativados na ETE Piçarrão, Campinas. Legenda: a – *Acinertia uncinata* (1b; 2d; 3h; 4j; 5m; 6n; 7p; 8r); b- *Acineta* sp. (1b; 2e; 3g 4k; 5m; 6n; 7p; 8t); c – *Aspidisca cicada* (1a; 2d; 3h; 4k; 5m; 6n; 7p; 8s); d – colônia de *Charchesium polypinum* (1a; 2e; 3g; 4j; 5l; 6n; 7p; 8u); e – *Discoprhya* sp. (1b; 2e; 3g 4k; 5l; 6n; 7p; 8t); f – *Drepanomonas revoluta* (1a; 2d; 3h; 4j; 5m; 6n; 7p; 8r); g – *Epistylis plicatilis* (1a; 2e; 3g; 4j; 5l; 6n; 7p; 8u); h – *Euplotes aediculatus* (1c; 2e; 3h; 4j; 5m; 6n; 7p; 8r); i – *Gastronauta aloisi* (1a; 2e; 3h; 4j; 5m; 6n; 7p; 8s); j – *Litonotus* sp.. (1b; 2e; 3i; 4j; 5m; 6n; 7q; 8r); k – *Metopus* sp. (1c; 2e; 3i; 4k; 5m; 6o; 7q; 8r); l – *Loxophyllum* sp. (1b; 2e; 3i; 4j; 5m; 6n; 7q; 8r); m – *Opercularia* sp. (1a; 2e; 3g; 4j; 5l; 6n;

7p; 8u); n – *Paramecium aurelia* (1a; 2f; 3i; 4k; 5m; 6n; 7q; 8r); o – *Podophrya fixa* (1b; 2d; 3g 4k; 5l; 6n; 7p; 8t); p – *Vorticella* sp. (1a; 2e; 3g; 4j; 5l; 6n; 7p; 8u). Barras: 20 µm.

Legenda dos traços: 1: tipo de alimentação (a – bacterívoro, b – carnívoro, c – onívoro); 2: tamanho corporal (d - pequeno, e – intermediário, f - grande); 3: locomoção (g – séssil, h – rastejante, i – livre natante); 4: flexibilidade (j – flexível, k – não flexível); 5: geometria corporal (l – cilíndrico, m – dorsoventralmente achatado); 6: respiração (n – aeróbia, o – anaeróbia); 7: formação de floco (p – formam floco, q – não formam floco); 8: formato do corpo (r – alongado, s – oval/arredondado, t – pedunculado com tentáculo, u – pedunculado sem tentáculo).



Fonte: Imagens cedidas pela Dra. Isabel Cristina Vidal Siqueira-Castro e Dra. Juliane Araújo Greinert-Goulart (2020).

4.4 IBL: ÍNDICE BIÓTICO DO LODO

O cálculo do IBL foi elaborado conforme proposta de Madoni (1994). As amostras coletadas no tanque de aeração e que foram contadas através da câmara de Sedgewick Rafter

resultaram na abundância da microfauna (excluindo pequenos flagelados) e dos pequenos flagelados. Adicionando a identificação dos ciliados e amebas tecadas obteve-se o grupo dominante em cada amostra, visto que flagelados, rotíferos e nematóides são mais complexos de identificar em nível de espécie.

Com os dados obtidos, foi possível utilizar a tabela de duas entradas (Tabela 3) (ver detalhes em MADONI, 1994) para obter o valor do índice. Na entrada vertical, somente os ciliados bacterívoros foram considerados dentro dos grupos funcionais (sésseis, livre natantes e rastejantes), os ciliados carnívoros foram utilizados apenas na abundância total de organismos. O grupo dominante e a densidade completam a entrada vertical e a entrada horizontal é composta pelo número total de unidades taxonômicas que constituem o lodo ativado e o número de pequenos flagelados. Com a posse de todas as informações é obtido um número de 0 a 10 indicativo da qualidade biológica do lodo. Estes números foram convertidos em classes: classe 1 (8-10) – muito bom desempenho; classe 2 (6-7) – boa performance; classe 3 (4-5) – performance medíocre; classe 4 (0-3) – baixo desempenho (Tabela 4).

4.5 ÍNDICES DE DIVERSIDADE TAXONÔMICA E FUNCIONAL

A diversidade taxonômica, ou seja, a diversidade de taxa (unidade de um sistema de classificação científica, p. ex. família, gênero, espécie...) dos protozoários ciliados foi calculada utilizando a riqueza de espécies (número de espécies diferentes na unidade de estudo) (MAGURRAN, 2005), índice de Shannon (leva em consideração a abundância além das espécies diferentes, seu valor em si é abstrato e dá peso maior às espécies raras) (SHANNON & WEAVER, 1949; MAGURRAN, 2005), índice de Simpson (probabilidade de dois indivíduos de uma mesma comunidade, pertencerem à mesma espécie) (SIMPSON, 1949; MAGURRAN, 2005) e equidade de espécies (mede a dominância/uniformidade de uma comunidade, ou seja, o quão bem distribuídas estão as abundâncias em relação às espécies) (PIELOU, 1975; MAGURRAN, 2005).

Na caracterização da diversidade funcional das comunidades, foram utilizados os índices de diversidade funcional (PETCHEY et al., 2002; VILLÉGER et al., 2008; LALIBERTÉ & LEGENDRE 2010): riqueza funcional (FRic) (quantidade de espaço funcional ocupado por espécies em determinada comunidade), equidade funcional (regularidade da distribuição do traço) (FEve) e divergência funcional (distância dos traços ao centróide, média ponderada dos traços) (FDiv), a partir do método de dissimilaridade de Gower modificado por Pavoine (2009). Estes índices baseiam-se nos traços das espécies da comunidade e expressam

as diferenças funcionais entre as espécies no espaço multidimensional (VILLÉGER et al., 2008; MOUCHET et al., 2010). Sendo o Índice de dispersão ou divergência do traço, importante ao contribuir na compreensão das consequências da perda de espécies através de informações sobre a abundância das mesmas e das distâncias entre os traços (LEPS et al., 2006; PETCHEY & GASTON 2006; RICOTTA & MORETTI, 2011; WONG & DOWD, 2015). Além destes, a entropia quadrática de Rao (probabilidade de encontrar espécies funcionalmente semelhantes em uma comunidade por acaso) (RAO, 1982) também foi utilizada.

A composição funcional foi avaliada através do valor do CWM (quantidade que cada traço contribui na manutenção da comunidade) (*Community Weighted Mean value*; PLA et al., 2011) dos traços funcionais das comunidades. O CWM é calculado como uma média dos valores dos traços, ponderada pela abundância relativa das espécies (RICOTTA & MORETTI, 2011). Utilizou-se a soma dos valores do CWM (CWM total) para cada traço durante os 37 períodos amostrais, com a finalidade de avaliar a importância desses traços para a comunidade.

4.6 ANÁLISE DOS DADOS

O teste de Shapiro-Wilk, que é um teste de normalidade ($p < 0,05$), foi aplicado com os índices taxonômicos e funcionais, com os parâmetros físico-químicos e com o CWM dos traços. Em seguida, correlações de Pearson (teste paramétrico, usualmente utilizado quando as variáveis estão dentro da normalidade) foram realizadas entre a equidade taxonômica e funcional (Feve) e entre alguns parâmetros físico-químicos e CWM dos traços. Correlações de Spearman por sua vez (teste não-paramétrico, usualmente utilizado quando as variáveis ou apenas uma, não seguem uma distribuição normal) foram realizadas entre a riqueza de espécies e a riqueza funcional (FRic), a relação entre o CWM e o índice de Shannon, a relação entre o índice de RaoQ e índice de Simpson e a relação entre o IBL e a divergência funcional (FDiv), além dessas, também foram utilizadas para gerar uma tabela de correlação entre os parâmetros ambientais e o CWM dos traços.

Uma análise de componentes principais (PCA) foi conduzida para reduzir as variáveis físicas e químicas em indicadores, capazes de sintetizar grande parte da variabilidade das variáveis entre si. Além dessas, com a finalidade de quantificar qual a proporção da variação na composição de espécies e traços entre as coletas pode ser explicada pelos dados ambientais utilizou-se uma análise de redundância (RDA) seguida de uma análise de variância (ANOVA) do resultado desta RDA para verificar se o modelo foi significativo.

Todas as análises foram realizadas no software R versão 3.2.2 (R Core Team 2015) utilizando os pacotes `ade4`, (CHESSEL et al., 2004), `vegan` (OKSANEN et al., 2012) e `FD` (LALIBERTÉ & LEGENDRE, 2010; LALIBERTÉ et al., 2014), com exceção dos índices de diversidade taxonômica que foram gerados no PAST (HAMMER et al., 2001).

5 RESULTADOS

5.1 COMPOSIÇÃO TAXONÔMICA

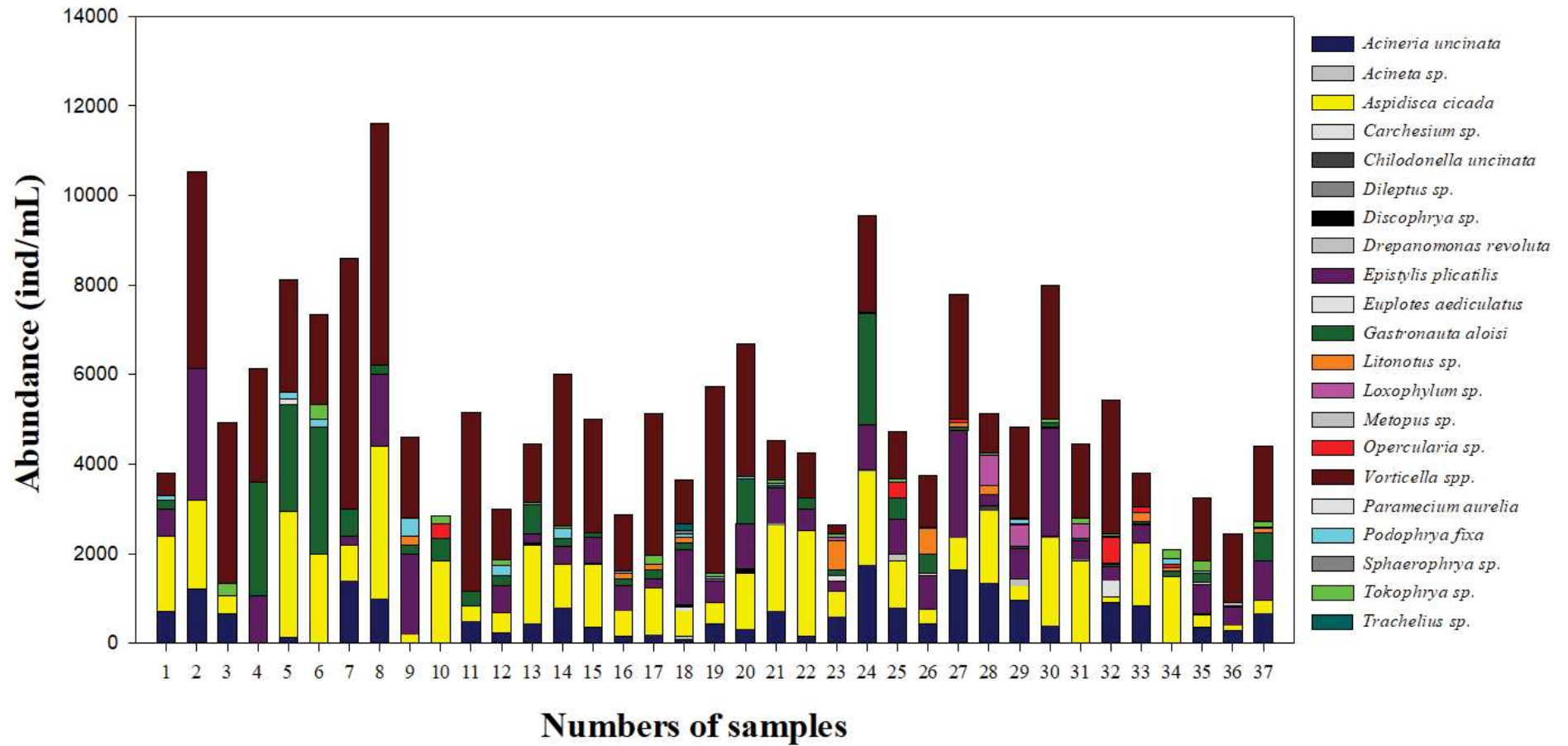
Um total de 21 espécies de ciliados ativos foram encontradas nas amostras durante a análise das 37 amostras coletadas nos sistema combinado anaeróbio-aeróbio ETE Piçarrão, Campinas, São Paulo, Brasil. Em estudo anterior no mesmo sistema, Siqueira-Castro (2016) registraram 36 espécies pois contabilizaram as espécies cultivadas em laboratórios dias após as coletas, visto que havia foco na caracterização morfológicas dos ciliados para realização de um checklist mais detalhado. No presente estudo foram contabilizados apenas espécimes ativos e analisados no dia da coleta, visto que o encistamento poderia mascarar a função destes organismos neste sistema.

A abundância e a diversidade das espécies que compõem cada unidade amostral oscilaram temporalmente (Figura 7). Ao observar as unidades amostrais é possível perceber que no início da amostragem, até a de número oito, os valores de abundância total foram ligeiramente mais elevados quando comparados ao restante, no entanto, apresentaram uma menor diversidade de espécies (Figura 7). Inclusive, os picos de riqueza de espécies estavam relacionados a valores de abundâncias absolutas relativamente baixos (Figura 10a).

As espécies mais abundantes e representativas da comunidade de ciliados foram *Vorticella* spp. (40%) e *Aspidisca cicada* (21%) que somadas chegam a mais da metade de toda a comunidade. Elas representam o grupo dos sésseis e rastejantes, respectivamente, que foram responsáveis por co-dominar o sistema durante o período de amostragem, com 54% e 32% de representatividade (Tabela 5).

Com elevada heterogeneidade, apenas 29% da ciliatofauna esteve presente em pelo menos 50% das amostras, espécies como *Acinertia uncinata* (84%), *Aspidisca cicada* (97%), *Epistylis plicatilis* (84%), *Gastronauta aloisi*, *Tokophrya* sp. (51%) e *Vorticella* spp. (95%) foram as mais frequentes (Tabela 5). As espécies citadas fazem parte dos grupos funcionais sésseis, rastejantes, presentes em todas as amostras, e, os ciliados carnívoros foram observados em 97% das amostras.

Figura 7: Abundância das diferentes espécies de ciliados registradas ao longo de 37 amostragens em uma estação de tratamento de esgoto no Brasil.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2021).

Tabela 5 – Abundância e frequência absoluta e relativa dos ciliados ativos encontrados na ETE Piçarrão durante o período de 37 amostragens.

Classificação		Abundância (Ind./mL)		Abundância relativa (%)	Frequência (%)
		Média	Máximo		
Taxa	<i>Acineria uncinata</i>	555,95 ± 478,71	1760	10,43	83,78
	<i>Acineta</i> sp.	2,16 ± 13,15	80	0,04	2,70
	<i>Aspidisca cicada</i>	1143,70 ± 844,45	3400	21,46	97,30
	<i>Carchesium</i> sp.	11,89 ± 60,27	360	0,22	5,41
	<i>Chilodonella uncinata</i>	5,41 ± 21,42	120	0,10	8,11
	<i>Dileptus</i> sp.	3,24 ± 11,07	40	0,06	8,11
	<i>Discophrya</i> sp.	8,92 ± 25,58	120	0,17	13,51
	<i>Drepanomonas revoluta</i>	8,65 ± 36,68	160	0,16	5,41
	<i>Epistylis plicatilis</i>	707,49 ± 710,57	2930	13,27	83,78
	<i>Euplotes aediculatus</i>	7,57 ± 22,78	120	0,14	13,51
	<i>Gastronauta aloisi</i>	474,32 ± 771,92	2833	8,90	86,49
	<i>Litonotus</i> sp.	67,03 ± 143,62	640	1,26	35,14
	<i>Loxophylum</i> sp.	44,32 ± 142,61	680	0,83	16,22
	<i>Metopus</i> sp.	3,24 ± 14,54	80	0,06	5,41
	<i>Opercularia</i> sp.	43,69 ± 121,20	560	0,78	18,92
	<i>Paramecium aurelia</i>	3,59 ± 21,87	133	0,07	2,70
	<i>Podophrya fixa</i>	49,43 ± 87,18	400	0,93	43,24
	<i>Sphaerophrya</i> sp.	2,16 ± 13,15	80	0,04	2,70
	<i>Tokophrya</i> sp.	64,70 ± 87,96	333	1,21	51,35
	<i>Trachelius</i> sp.	4,32 ± 26,30	160	0,08	2,70
<i>Vorticella</i> spp.	2119,38 ± 1418,72	5600	39,76	94,59	
Grupos					
Bacterívoro				85,01	100
	Séssil	720,61 ± 699,38	-	54,06	100
	Rastejante	327,93 ± 384,87	-	30,76	100
	Livre-natante	3,36 ± 0,16	-	0,19	16,22
Carnívoro				14,99	97,30
	Séssil	25,48 ± 25,27	-	2,39	70,27
	Rastejante	555,95 ± 0	-	10,43	83,78
	Livre-natante	38,56 ± 22,82	-	2,17	45,95

Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2021).

5.2 COMPOSIÇÃO FUNCIONAL

A proporção e representatividade dos traços registrados para a comunidade de ciliados apresentaram uma homogeneidade temporal. A grande maioria dos traços ocorreu em todo o período amostral (Figura 8). Percebe-se que as amostras 10 e 34 foram as que apresentaram menor valor de CWM, principalmente por apresentarem pouca representatividade de indivíduos

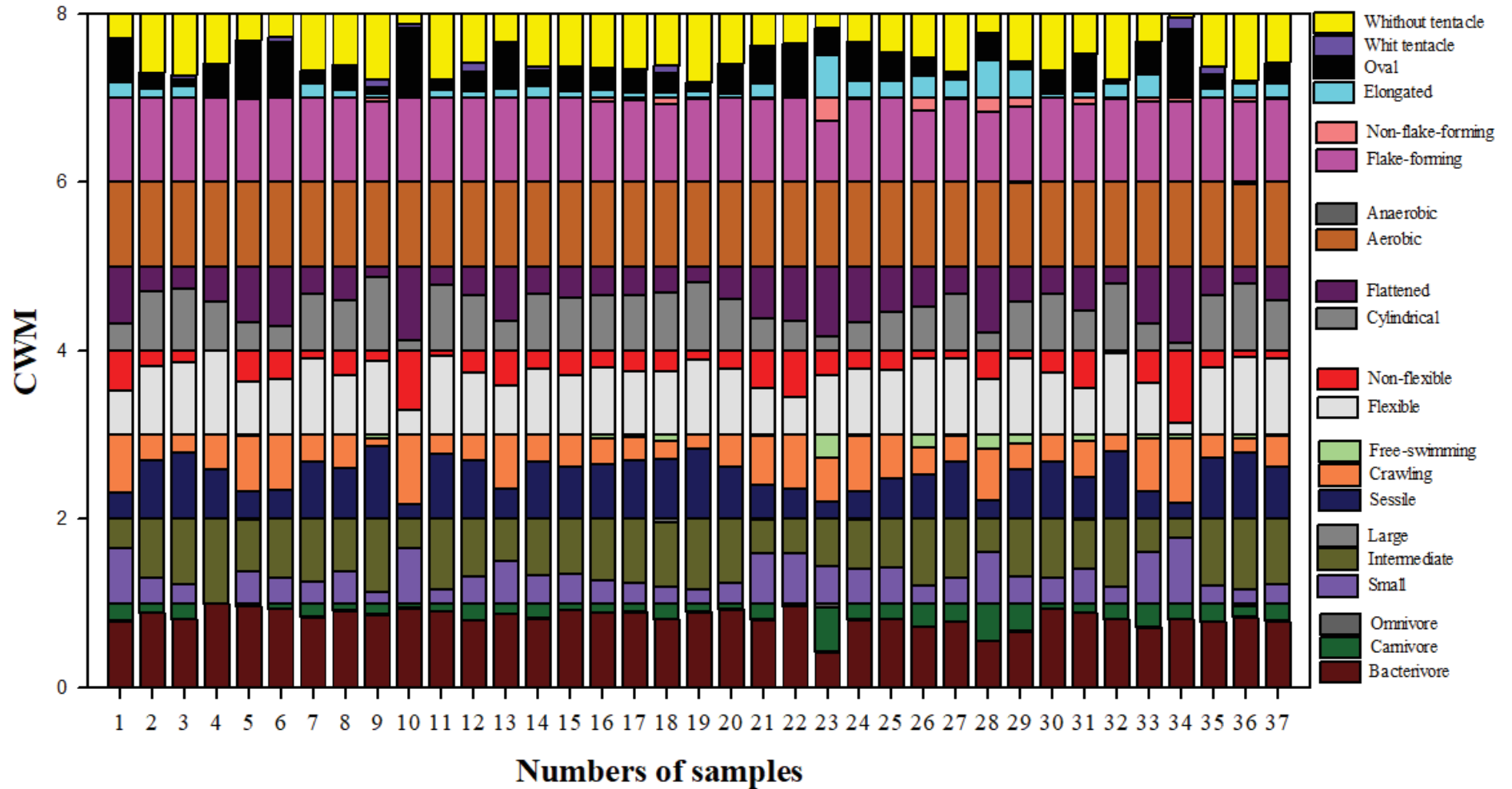
do traço “flexível”, estando mais sujeitas à predação (Figura 8). Este fato é confirmado quando se observa a abundância taxonômica destas amostras (Figura 7).

O sistema varia e ocorre mudança de espécies e traços. Todavia, por ser temporalmente mais homogêneo, os traços amortecem o impacto dessa mudança, pois várias espécies podem realizar a mesma função e ocupar o mesmo nicho, ou seja, possuindo papéis semelhantes (Figura 8).

Dentre os traços observados, aquele que predomina é o aeróbio, pelo fato de 95% da comunidade ser composta por espécies aeróbias. No entanto, a sua utilização é importante no sistema estudado pelo tratamento ser composto inicialmente por sistema anaeróbio seguido de aeróbio, sendo possível alguma alteração na comunidade. Os traços mais constantes ao longo das 37 unidades amostrais foram: respiração aeróbia, formação de floco e tipo de alimentação bacterívoro.

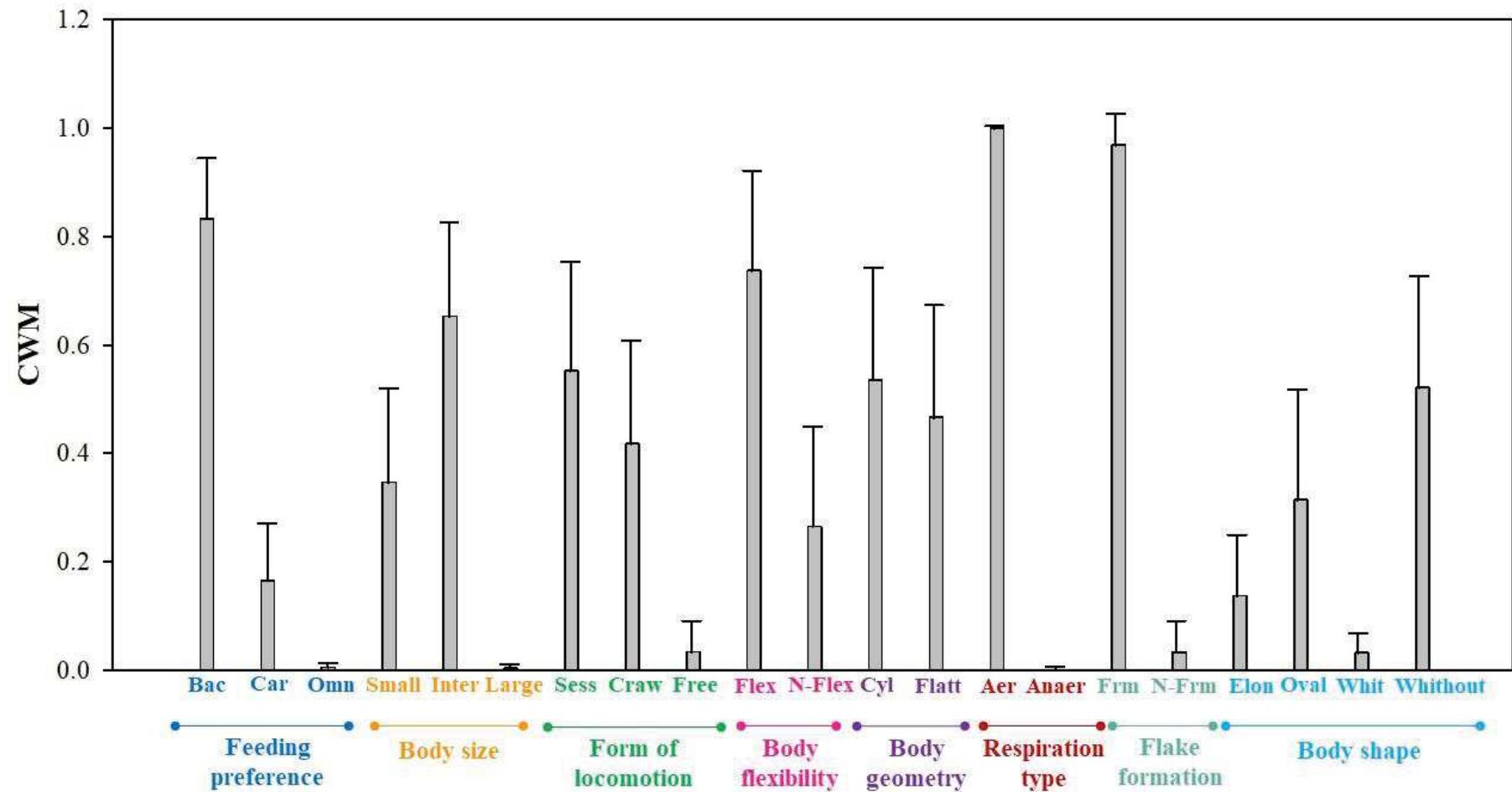
O perfil da comunidade pode ser traçado de acordo com o gráfico da Figura 9: predominância de espécies sésseis sem tentáculos, de tamanho intermediário com predileção à alimentação de bactérias, flexíveis, cilíndricas e formadoras de flocos. Na tabela (apêndice A) estão listados os traços funcionais das espécies registradas neste estudo (em negrito), bem como para uma ampla lista de espécies de ciliados que ocorrem em distintos sistemas de tratamento de esgoto ao redor do mundo com objetivo de estimular futuras aplicações da investigação funcional em sistemas de tratamento biológicos.

Figura 8: Valor do CWM dos diferentes traços escolhidos para os ciliados registrados ao longo de 37 amostragens em uma estação de tratamento de esgoto no Brasil, ETE Piçarrão.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2021).

Figura 9: Média \pm desvio padrão do CWM, apresentando e resumindo as características funcionais mais importantes na comunidade ciliada.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2021).

5.3 DIVERSIDADE TAXONÔMICA E FUNCIONAL

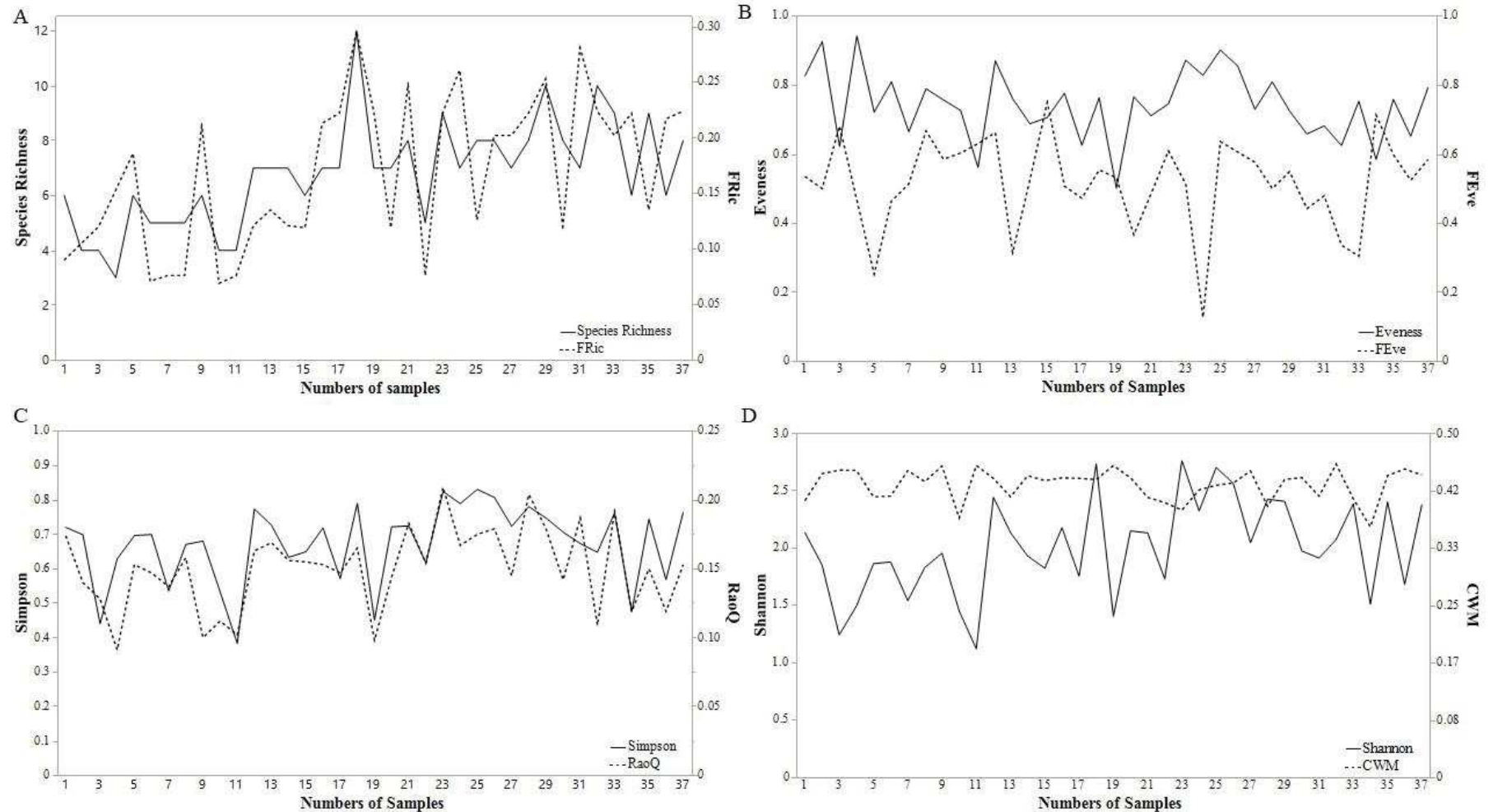
A riqueza de espécies variou de 3 a 12 espécies durante o período de amostragem, enquanto a riqueza funcional variou de 0,07 a 0,3 (Figura 10a). Houve correlação positiva entre os valores de riqueza taxonômica e funcional ao longo das 37 coletas (correlação de Spearman 0,66; $p < 0,001$).

Houve correlação negativa, mas não significativa (correlação de Pearson -0,07; $p > 0,05$), entre os dados de equidade taxonômica e funcional ao longo das 37 amostragens (Figura 10b). Em relação aos dados de índice de Simpson e índice de Rao, houve correlação positiva e significativa (correlação de Spearman 0,73; $p < 0,001$) (Figura 10c). Entre os índices de Shannon e CWM, houve correlação negativa, mas não significativa (correlação de Spearman -0,3; $p > 0,05$) ao longo das 37 amostragens (Figura 10d).

Apresentando um valor médio de $0,87 \pm 0,07$ (Figura 11) a divergência funcional apresenta valores elevados, com mínimo de 0,7 e máximo de 0,98. Não houve correlação significativa entre os valores de IBL e a divergência funcional (correlação de Spearman 0,01; $p > 0,05$) (Figura 11).

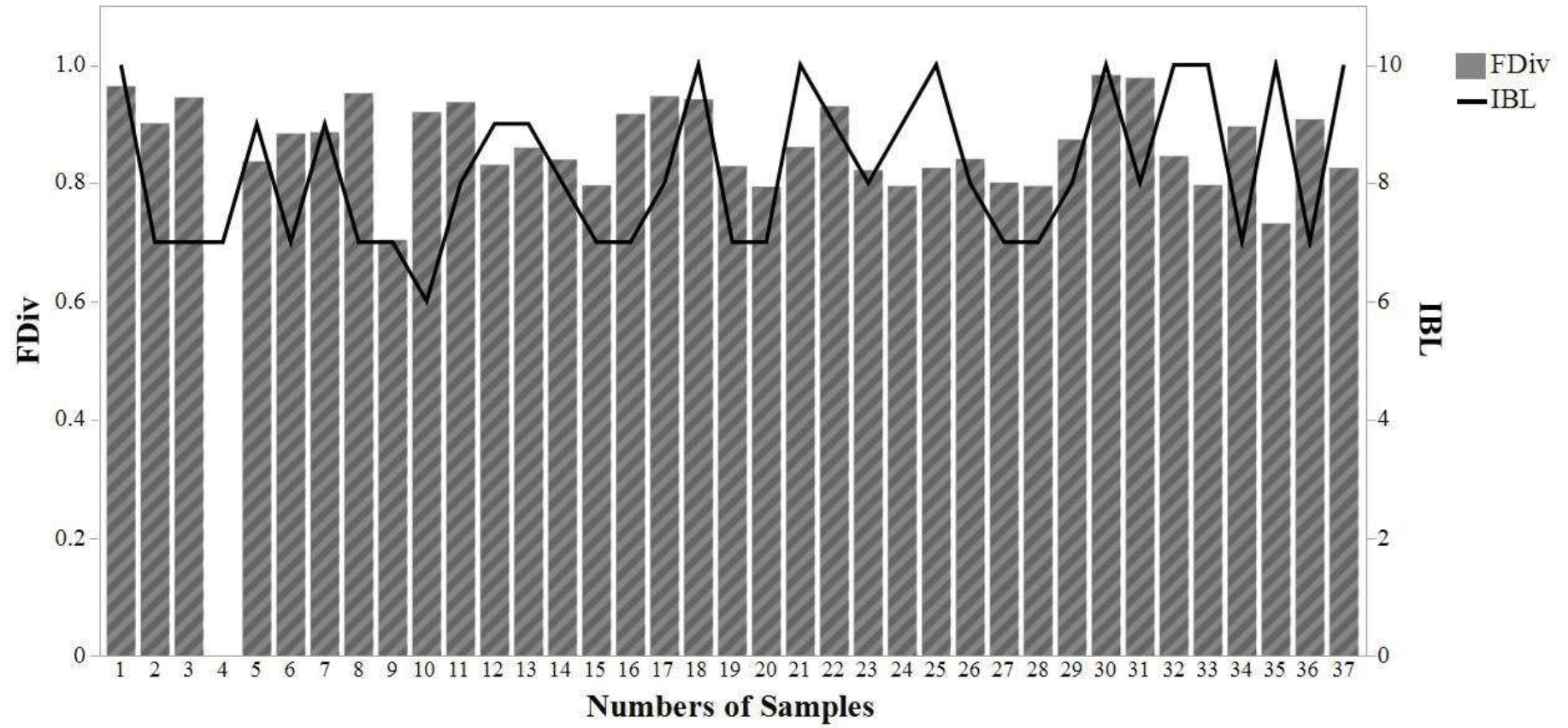
Figura 10: Comparação entre os traços taxonômicos e funcionais da comunidade de ciliados em uma estação de tratamento de esgotos no Brasil.

A: Riqueza, B: Equidade, C: índices de Simpson e RaoQ, D: Diversidade de Shannon e CWM.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2021).

Figura 11: Comparação entre os valores de divergência funcional e IBL ao longo das coletas.



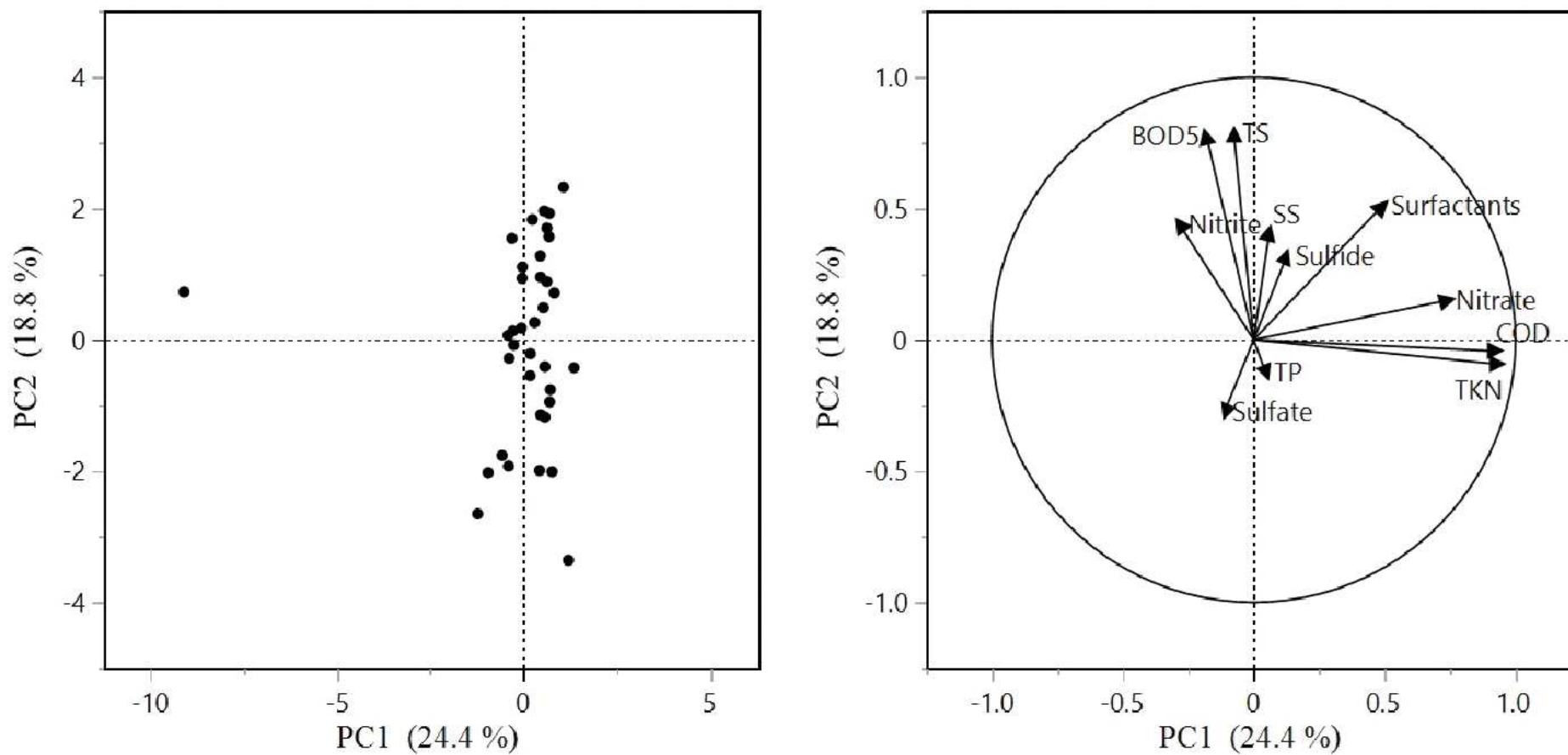
Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2021).

5.4 FATORES AMBIENTAIS

Os dois primeiros componentes da PCA realizada com os dados abióticos responderam a 43,2% da variância total (PC1 = 24,4% e PC2 = 18,8%, Figura 12a,b). As variáveis que mais contribuíram para o primeiro componente foram NTK, DQO e N-NO₃. No entanto, não foi observado nenhum padrão considerando as unidades amostrais. Em relação ao segundo componente, as variáveis que mais contribuíram foram ST, Surf e DBO₅, ocorreu um padrão em que um gradiente de sólidos totais foi observado.

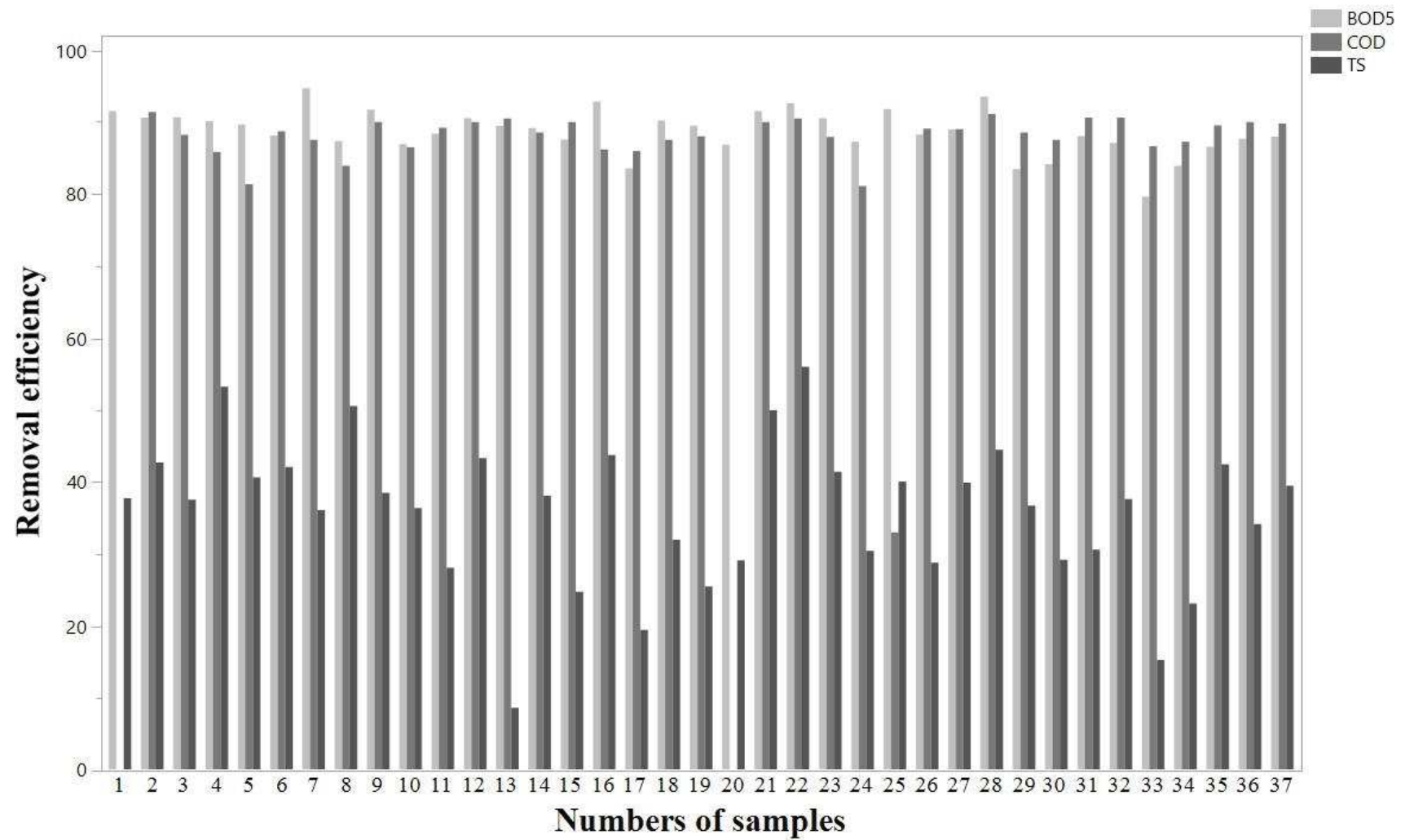
Alguns parâmetros de eficiência foram extraídos dos dados físico-químicos da estação em questão (Figura 13). A eficiência média de remoção da DBO foi de 88% enquanto a DQO foi de 86%, se mantendo constante ao longo das unidades amostrais. Todavia, os ST apresentaram oscilação com uma amplitude de 47%. Em geral, os dados de remoção apresentados na figura 13 ressaltam homogeneidade ao longo das 37 coletas realizadas.

Figura 12: Análise de Componentes Principais (PCA). A - variáveis, B - unidades amostrais.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2021).

Figura 13: Eficiência de remoção de DBO, DQO e ST.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2021).

5.5 RELAÇÃO FATORES AMBIENTAIS E COMPOSIÇÃO TAXONÔMICA E FUNCIONAL

A relação dos dados ambientais com composição taxonômica dos ciliados foi apresentada por Siqueira-Castro et al. (2016). Foi observado que as espécies apresentaram um número maior de correlação com variáveis ambientais quando comparado com a correlação dos traços funcionais e dados físico e químicos da água (Tabela 6).

As análises realizadas com os dados de eficiência apresentam uma limitação, o fato de a eficiência ser global, ou seja, de toda a estação e a amostragem da comunidade ciliada estar localizada no tanque de aeração do lodos ativados. O ideal seria realizar amostras físico-químicas na entrada, dentro e na saída do tanque de aeração, no entanto, não foi possível obter esses dados.

Os bacterívoros, traço importante na comunidade, estavam correlacionados negativamente com a eficiência de remoção de sólidos sedimentáveis, já o traço de tamanho intermediário foi correlacionado positivamente com nitrato no efluente final. Os sésseis e os rastejantes apresentaram correlação com mais de um dado ambiental, sendo eles: NTK, nitrato e OD no efluente final e eficiência de remoção de NTK (Tabela 6).

Na avaliação da RDA da composição taxonômica explicada pelos dados ambientais, não houve relação significativa entre a distribuição e abundância das espécies e as variáveis ambientais ($p > 0,05$), através da análise de variância ANOVA (Figura 14a). Neste caso, 35% de variação da abundância das espécies nas coletas é explicada pelas variáveis ambientais, sendo que o primeiro eixo da RDA explica 20% e está relacionado positivamente com as variáveis eficiência de remoção de fósforo total (47%), eficiência de remoção de sólidos sedimentáveis (38%) e negativamente com a eficiência de remoção de nitrito (-31%) e NTK (-19%). O segundo eixo com explicação de 10% está relacionado fortemente com a eficiência de remoção de nitrato (41%).

Na RDA da composição funcional que é explicada pelos dados ambientais foram utilizadas as características funcionais pelos valores do CWM e as variáveis ambientais, o modelo não apresentou significância (Figura 14b), isto é justificado pela redundância funcional que a comunidade apresenta, as características funcionais das espécies são parecidas, ou seja, os traços são redundantes. Nesta análise, 31% de variação do valor do CWM nas coletas é explicada pelas variáveis ambientais. O primeiro eixo da RDA explica 27% e está relacionado positivamente com a eficiência de remoção de sólidos sedimentáveis (28%) e negativamente com a eficiência de remoção de nitrato (-48%). O segundo eixo explica 4% e está relacionado

positivamente com eficiência de remoção de sólidos sedimentáveis (68%) e negativamente com a eficiência de remoção de nitrito (-68%).

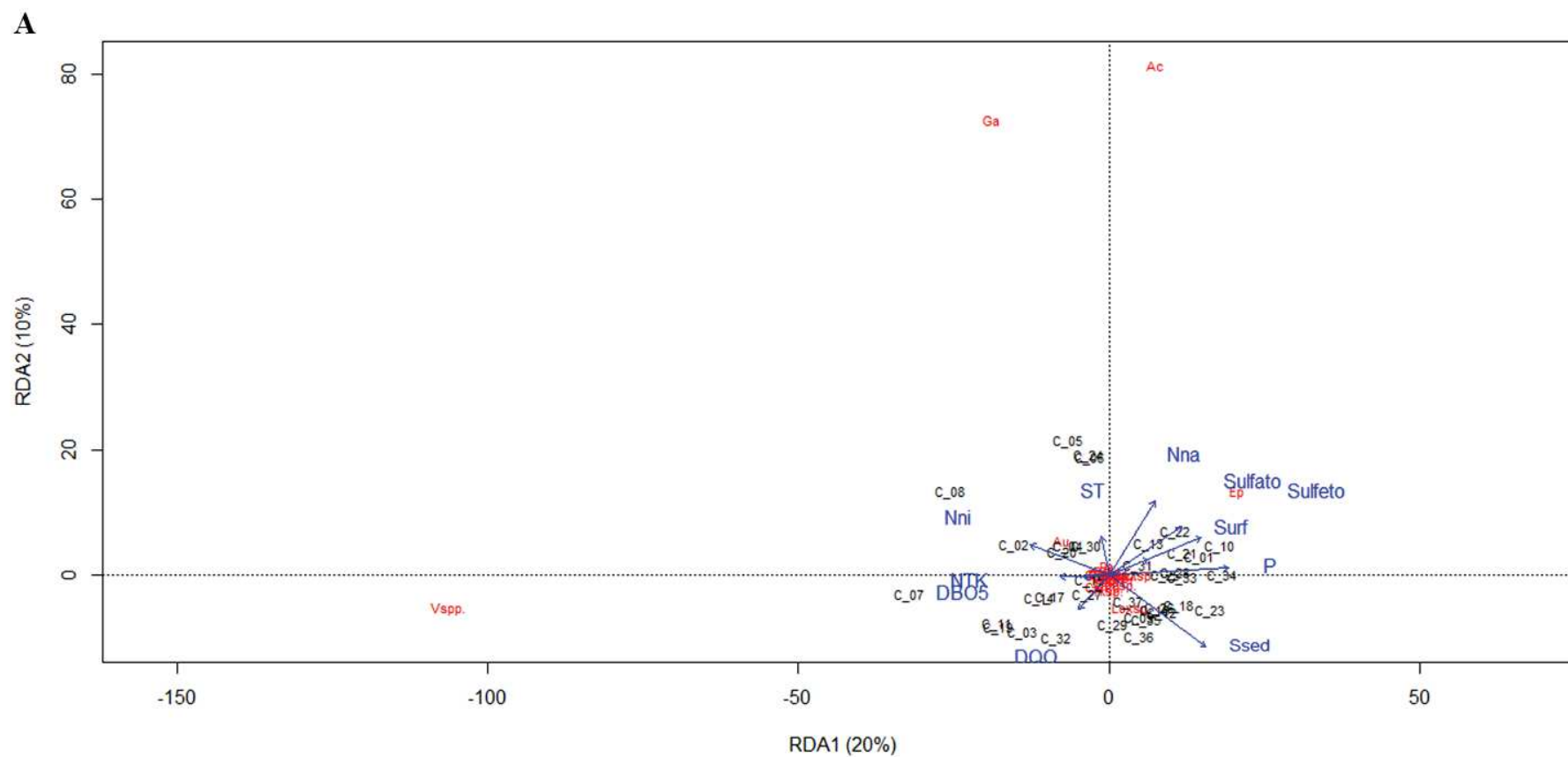
Em ambas as composições taxonômica e funcional, os modelos calculados explicam pouco a variabilidade dos dados, o que reflete a homogeneidade dos dados físico-químicos da ETE e um sistema operacional experimental controlado.

Tabela 6 – Correlação entre os traços funcionais atribuídos à comunidade de ciliados em uma ETE no Brasil e os dados ambientais. **p<0.01 (correlação significativa), *p<0.05 (correlação significativa)

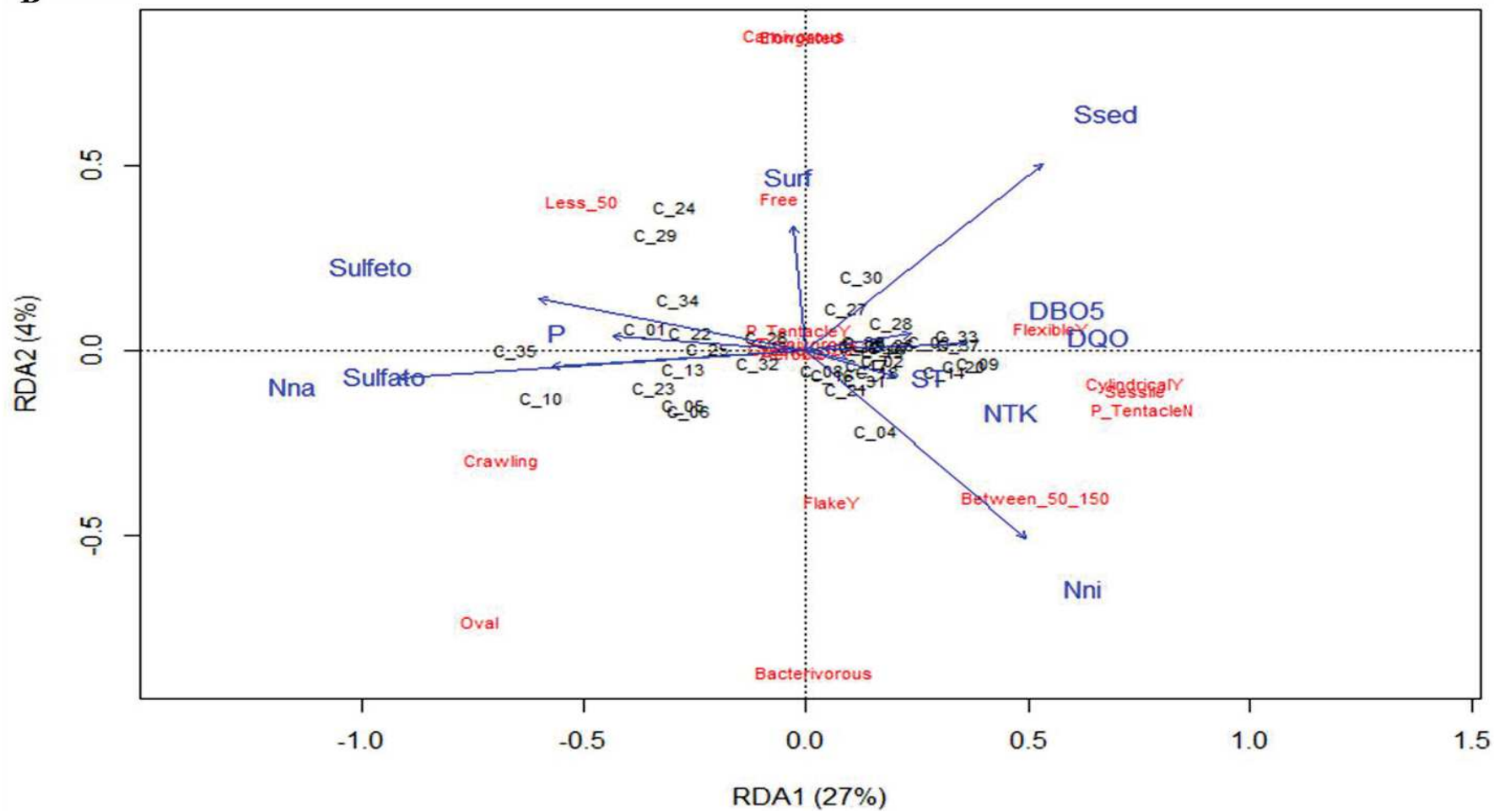
		Functional traits																					
		Feeding preference			Body size			Form of locomotion			Body flexibility		Body geometry		Respiration type		Flake formation		Body shape				
		Bacterivore	Carnivore	Omnivore	Small	Intermediate	Large	Sessile	Crawling	Free	Flexible	Non-flexible	Cylindrical	Dorsoventrally flattened	Aerobic	Anaerobic	Forming	Non-forming	Elongated	Oval	Whit Tentacle	Without Tentacle	
Final effluent	pH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0.336*	-	
	Turbidity	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	TP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	BODs	-	-	0.358*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	COD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	TKN	-	-	-	-	-	-	-	0.350*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Nitrate	-	-	-	-0.376*	0.357*	-	0.387*	-0.432**	-	0.367*	-0.367*	0.361*	-0.361*	-	-	-	-	-	-0.416*	-	0.393*	-
	Nitrite	-	-	-	-	-	-	-	-	0.564**	-	-	-	-	-	-	-0.564**	0.564**	-	-	-	-	-
	TS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	SS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sulfate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sulfide	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0.354*	-	-	-
	Surfactants	-	-	-0.353*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	DO	-	-	-	-	-	-	-0.403*	0.369*	-	-	-	-0.376*	0.376*	-	-	-	-	-	-	-	-	-0.373*
Removal efficiency	TP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	BODs	-	-	-0.332*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	COD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	TKN	-	-	-	-	-	-	-	-0.334*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.334*	-	
	Nitrate	-	-	-	-	-	-	-	-	-0.417*	0.417*	-	-	-	-	-	-	-	-	0.384*	-	-	
	Nitrite	-	-	-	-	-	-	-	-	-0.641**	-	-	-	-	-	-	0.641**	-0.641**	-	-	-	-	
	TS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	SS	-0.430**	0.413*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Sulfate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Sulfide	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.361*	-	-	
Surfactants	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		

Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2021).

Figura 14: Análise de Redundância. A - espécies e variáveis ambientais; B - traços e variáveis ambientais.



B



Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2021).

6 DISCUSSÃO

6.1 COMPOSIÇÃO TAXONÔMICA

O número de espécies (21 espécies) de ciliados registradas neste estudo é menor que aqueles de outros estudos em águas continentais visto que em sistemas de tratamento biológico de esgoto há uma seleção de indivíduos pela característica do ambiente. O restrito e particular ambiente dos lodos ativados, principalmente em ETE's onde há um sistema combinado anaeróbio (UASB) e aeróbio (lodos ativados), pode ser entendido como um filtro ambiental (condições ambientais que selecionam os organismos). A teoria sobre filtro ambiental tem sido questionada em estudos com dados observacionais da ocorrência de espécies, pelo fato de ignorar os processos ecológicos e a interação deles. De fato, há uma dificuldade de separar o filtro ambiental e os mecanismos como dispersão e competição, sendo assim, uma definição mais simples desse processo poderia ver o ambiente como um filtro atuando na sobrevivência e reprodução das espécies e uma consequente alteração na presença ou ausência e na abundância das mesmas (CADOTTE & TUCKER, 2018). Segundo Pianka (1996) a hipótese da heterogeneidade ambiental diz que a maior diversidade de habitats implica numa maior riqueza de espécies.

Embora a riqueza de espécies de ciliados nas águas continentais em sistemas naturais (rios, riachos, córregos, lagos) seja elevada (> 60 taxa) (MADONI, 1993, 2005; SOLA et al., 1996; FOISSNER, 1997; MADONI & ZANGROSSI, 2005; YANG et al., 2012; BASURI et al., 2020), em ETE's, principalmente aquelas que operam por lodos ativados, a riqueza de espécies é geralmente menor (< 40 espécies) (MADONI et al., 1993; MARTIN-CERECEDA et al., 1996; DUBBER & GREY, 2011). No Brasil, houve alguns estudos sobre riqueza e descrição de espécies de ciliados em ETE's que operam por lodos ativados (SILVA & SILVA-NETO, 2001; PAIVA & SILVA-NETO, 2004; BENTO et al., 2005; GINORIS et al., 2007; CASTRO, 2008; SIQUEIRA-CASTRO et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2009; FERNANDES & SILVA-NETO, 2013). No nosso estudo era esperado menor número de taxa visto que se trata de um sistema combinado anaeróbio seguido de aeróbio (UASB+Lodos Ativados), ou seja, apesar da amostragem ter sido feita no reator aeróbio, o seu antecessor anaeróbio pode influenciar na composição da comunidade, e também o uso de produtos químicos no flotor por ar dissolvido, e, ainda, que não levou em conta as espécies encistadas mantidas em cultivos no laboratório.

As 21 espécies de ciliados ativas neste estudo em comparação com as 36 espécies registradas por Siqueira-Castro et al. (2016) na mesma ETE foi a exclusão dos taxa mantidos

em laboratório dias após a coleta, provavelmente encistados nas amostras analisadas no dia da coleta. Segundo Priya et al. (2008), os ciliados anaeróbios possuem menor eficiência de crescimento do que os organismos aeróbios, e a composição e disponibilidade do substrato constituem importantes fatores que influenciam a riqueza de espécies de ciliados em ETE's. Como exemplo, pequenas alterações na faixa de pH resultam na formação de cistos de ciliados do gênero *Metopus* (NARAYANAN et al., 2007).

A dinâmica temporal da diversidade, abundância e frequência das espécies encontradas no presente estudo foi heterogênea, tal qual relatado em estudos anteriores. Embora haja estudos analisando a comunidade de ciliados por meses e até anos (CERECEDA et al., 1996; MADONI et al.; 1993; SALVADÓ et al., 1995; BENTO et al., 2005; ARÉVALO et al., 2009), raros são os estudos que analisaram a dinâmica temporal da comunidade em detalhe. A heterogeneidade temporal da comunidade de ciliados em ETE's se dá principalmente pela oscilação das condições ambientais e das relações ecológicas e tróficas neste sistema.

Os dados bióticos obtidos através do IBL variaram entre as classes I e II neste estudo (59% e 41%), muito bom desempenho e boa performance do sistema, respectivamente, e as eficiências de remoção da estação se mantiveram elevadas em todo o estudo para os parâmetros exigidos na legislação brasileira, indicando, tal como citado por Siqueira-Castro et al. (2016), um bom funcionamento da ETE. Ainda, a densidade de ciliados neste estudo com média superior a 106 ind./L, indica, de acordo com Madoni (1994), um funcionamento adequado da ETE.

6.2 COMPOSIÇÃO FUNCIONAL

A composição observada através dos traços funcionais é mais homogênea que aquela taxonômica visto que diversas espécies possuem a mesma característica funcional, ou seja, realizam papel semelhante no funcionamento do ecossistema, ocupando nichos semelhantes. Os traços funcionais mais significativos neste estudo e sua relação com a dinâmica do sistema combinado UASB-lodos ativados explicam a elevada eficiência da ETE. São exemplos desta relação traços/eficiência: o traço hábito alimentar bacterívoro, indicando o controle de bactérias pelos ciliados com consequente efluente final mais clarificado; o traço formação de floco, indicando grande frequência de ciliados auxiliando na floculação da ETE; e o traço aeróbio, indicando aeração contínua e adequada do sistema ao longo das 37 amostragens. Dentre os traços atribuídos no presente estudo, a formação de floco aparece como traço inovador e

específico destes ecossistemas artificiais e pode representar importante ferramenta para entendimento da eficiência do sistema.

O conhecimento dos traços funcionais possibilita investigação e entendimento de diferentes níveis de organização biológica, do indivíduo (morfologia e fisiologia) até a dinâmica dos ecossistemas (VIOLLE et al., 2007), tal como realizado no ecossistema artificial UASB-lodos ativados. A escolha dos traços é importante fase do estudo, tendo influência direta nas interpretações e extrapolações aplicadas (PETCHEY & GASTON, 2006), sendo importante determinar traços/características que direcionem respostas das espécies ou da comunidade à mudança ambiental e, ainda, o efeito das espécies ou da comunidade sobre as funções ecossistêmicas (SUDING et al., 2008; WEISSE, 2017). Muitos dos traços usados neste estudo foram baseados em pesquisas envolvendo ciliados límnicos e marinhos, no entanto, por serem influenciados pelo ecossistema, houve reflexão sobre estas orientações apresentadas por Suding et al., 2008 e Weisse, 2017 na aplicação dos mesmos, levando em consideração o ambiente e os objetivos do estudo.

O traço hábito alimentar (CURDS, 1970a,b) está relacionado com recursos de alimentação, ciclagem de nutrientes, interações da rede alimentar como controle top-down e bottom-up e fluxo de energia (PRATT & CAIRNS, 1985; LITCHMAN et al., 2013). Este traço apresentou correlação com a remoção de DBO5 e sólidos sedimentáveis (Tabela 6).

O tamanho do corpo, traço com implicações nas relações da cadeia alimentar (AZAM et al., 1983; WEISSE, 2017), está proporcionalmente relacionado com tamanho da presa, taxa de crescimento, metabolismo basal, mortalidade, excreção, biomassa, todos afetando os fluxos do ecossistema (LITCHMAN et al., 2013; HÉBERT et al., 2017). Em águas costeiras na China (Mar Amarelo), Zhao et al. (2016) utilizaram o tamanho do corpo e o hábito alimentar e obtiveram como resultado variações sazonais no tamanho corporal dos ciliados em quatro estações de amostragem com diferença de temperatura, pH, nutrientes e outras variáveis ambientais. No mesmo ambiente, Xu et al. (2016) afirmaram que o espectro corporal pode ser utilizado como importante métrica no biomonitoramento da qualidade da água.

A forma de locomoção é um traço que vem sendo utilizado em estudos de ciliados em estações de tratamento de esgoto (CURDS, 1973; MADONI et al., 1993), e reflete nas distintas taxas metabólicas entre as espécies de ciliados (JACKSON & BERGER, 1984; FENCHEL, 1987). Em nosso estudo, apresentou correlação com distintas variáveis ambientais (Tabela 6). Embora o hábito alimentar e a forma de locomoção já tenham sido utilizados em estudos sobre eficiência do sistema de tratamento de esgoto (NEVILLE, 1946; CURDS & VANDYKE, 1966; CURDS, 1970A,B, 1973; PRATT & CAIRNS, 1985; MADONI et al., 1993; MADONI, 1994;

MARTÍN-CERECEDA, 1996; LIU et al., 2008; ARÉVALO, 2009; DUBBER & GREY, 2011), não foram encontrados dados na literatura com diversidade funcional usando índices e análises funcionais.

O formato, a geometria e a flexibilidade do corpo estiveram relacionados com as variáveis ambientais ligadas aos nutrientes, como nitrito e nitrato (Tabela 6). Grande parte das espécies (95%) encontradas ativas neste estudo são aeróbias. Em sistemas aeróbios (lodos ativados) este traço poderia parecer redundante, entretanto, em sistema combinado anaeróbio-aeróbio se fez interessante a sua utilização.

A formação de floco é uma característica importante em sistemas biológicos de tratamento de esgoto, age como um indicativo da qualidade do sistema, pois a formação do floco é princípio essencial neste sistema de tratamento (ARREGUI et al., 2010), motivação principal para utilização de tal traço, novo em estudos de diversidade funcional de ciliados por apresentar característica exclusiva de sistemas de tratamento de esgoto que necessitam de sedimentação ou floculação, como é o caso do lodos ativados. Interessante ressaltar a relação deste com o nitrito no efluente final (Tabela 6), indicando uma maior remoção deste nutriente quanto maior a presença deste traço no sistema, possivelmente por conter bactérias nitrificantes na estrutura do floco biológico.

A busca por traços funcionais adequados tem ocorrido para distintos grupos taxonômicos, havendo investigação de traços mais representativos e com claras relações com as variáveis ambientais. A diversidade funcional tem se apresentado como importante ramo da pesquisa sobre biodiversidade, sendo a mais eficiente na detecção de efeito e resposta da biodiversidade no funcionamento do ecossistema (DÍAZ et al., 2007; SUDING et al., 2008; LAURETO et al., 2015; HÉBERT et al., 2017). Este estudo deixa claro a maior homogeneidade dos traços funcionais ao longo das unidades amostrais quando comparado aos dados taxonômicos, em consonância com os dados ambientais homogêneos de eficiência relatados para a ETE. Com o intuito de aplicações futuras desta abordagem funcional em estudos de estações de tratamento biológico de esgoto, foi organizada uma ampla lista de espécies de ciliados nestes ecossistemas, bem como seus atributos funcionais (apêndice B).

Os estudos com abordagem funcional usando protistas em ambientes aquáticos estão se ampliando nos últimos anos, tendo como foco temas contemporâneos tais como ciclagem global de energia e nutrientes, e ainda, o papel de espécies mixotróficas no ciclo biogeoquímico (WEISSE, 2017). A abordagem funcional proporciona melhor compreensão sobre o funcionamento de diversos ambientes, usando distintos grupos de organismos, tais como bactérias marinhas (FUHRMAN, 2009), fitoplâncton (CARDOSO et al., 2017), plantas

(COHEN, 2014), e zooplâncton (SETUBAL et al., 2020), sendo os dados com ciliados em ecossistemas límnicos escassos (XU, Y. et al., 2018a, 2018b; LIU et al., 2019; XU, Y. et al., 2020).

6.3 ABORDAGEM TAXONÔMICA VERSUS FUNCIONAL

A composição e estrutura taxonômica e funcional foram diferentes ao longo do período amostral, tendo se mantido mais homogênea a abordagem funcional. Dentre os índices e parâmetros analisados, a riqueza de espécies e a riqueza funcional foram correlacionadas positiva e significativamente, visto o baixo número de espécies de ciliados e o grande número de traços atribuídos. Em estudos em ETE's operadas por lodos ativados, com maior número de espécies de ciliado ativas (CURDS & COCKBURN, 1970a, 1970b; MADONI et al., 1993; SALVADÓ et al., 1995; MARTÍN-CERECEDA et al., 1996; ZHOU et al., 2007; DUBBER & GREY, 2011), haverá potenciais novos resultados, tal como demonstrado em outros estudos sobre a comunidade de ciliados em ambiente límnicos e marinhos (XU et al., 2016; ZHONG et al., 2017; AL et al., 2018a, 2018b; XU, Y. et al., 2018a, 2018b; BAI & XU, 2019, LIU et al., 2019; XU & SONINEN, 2019; ZHONG et al., 2019; GUI et al., 2020; XU et al., 2020). Os valores baixos e pouco variáveis de diversidade funcional apresentados em nosso estudo ressaltam maior redundância e uma comunidade estável (WEISSE, 2017), tal como indicaram os dados de remoção de DBO e DQO, ocupando, assim, um menor volume no espaço funcional multidimensional (VILLÉGER et al., 2008).

As equidades, taxonômica e funcional, e diversidade, através dos índices de Shannon e CWM, foram negativamente correlacionadas, demonstrando um novo olhar e interpretação futura possível para a estrutura e composição da ciliatofauna. Já a relação linear entre o índice de Simpson e Rao sugere que a perda da diversidade taxonômica resultou também em uma perda de diversidade funcional. Os baixos valores obtidos para o índice de Rao reforçam a ideia de seleção de espécies (LEPS et al., 2006). A baixa riqueza de espécies ativas de ciliados registradas neste estudo ressalta uma potencial redundância funcional desta comunidade, no entanto, desempenham papel essencial no funcionamento do ecossistema.

Os valores de divergência funcional ou complexidade funcional não apresentaram correlação com os dados do IBL. Como o IBL utiliza outros componentes bióticos do ecossistema, é necessário ampliar as métricas funcionais para toda biota do lodo ativado para melhor comparação entre essas métricas. A biodiversidade e os processos do ecossistema estão relacionados não somente através do número de espécies, mas também por suas interações. As

medidas clássicas de diversidade partem do pressuposto que todos os indivíduos têm papéis ecológicos semelhantes, entretanto, isso não ocorre numa comunidade (LAWTON, 1994). Os índices de riqueza de espécies, diversidade de Shannon e Simpson baseiam-se em proposições que não ocorrem na prática: todas as espécies são iguais; todos os indivíduos são iguais, independente do tamanho; a unidade e avaliação da abundância das espécies é igual e correta (MAGURRAN, 2005). Os índices baseados na taxonomia (identificação dos taxa) apresentam relações unimodais ou indiossincráticas, enquanto os baseados em características apresentam relações monotônicas em situação de perturbação (SMETI et al., 2019). Por estes motivos a biodiversidade deve ser estudada no contexto das medidas clássicas e também da estrutura e funcionamento da comunidade (FRAINER et al., 2014). Observando a função, é possível levar em consideração características morfológicas, comportamentais e ecológicas dos indivíduos, proporcionando bons parâmetros para avaliar processos e influência de distúrbios (VILLÉGER et al. 2010).

Os estudos sobre a abordagem funcional da comunidade de ciliados em estações de tratamento de esgoto são antigos, e utilizavam principalmente a forma de locomoção e o hábito alimentar como atributos importantes para se entender a eficiência e o funcionamento das ETE's que operam por lodos ativados (NEVILLE, 1946; CURDS & VANDYKE, 1966; CURDS, 1970a, 1970b, 1973; PRATT & CAIRNS, 1985; MADONI et al., 1993; MADONI, 1994; MARTÍN-CERECEDA, 1996; LIU et al., 2008; ARÉVALO, 2009; DUBBER & GREY, 2011, MADONI, 2011; FOISSNER, 2016). A clara compreensão dos atributos funcionais relacionados ao funcionamento e à eficiência de remoção de sistemas de tratamento de esgoto é ferramenta valiosa para otimização do tratamento, com reflexos diretos para a área de saneamento.

6.4 FATORES AMBIENTAIS

A análise de componentes principais demonstrou uma elevada contribuição do nitrogênio, que apesar de não apresentar padrões com as unidades amostrais, têm influência sobre o crescimento e desenvolvimento dos organismos, como bactérias, por exemplo. Dois traços apresentaram correlação com este nutriente, quando a eficiência de remoção aumenta o número de ciliados com tentáculos também cresce e na mesma proporção decaem os rastejantes (tabela 6), ou seja, é possível inferir dessa análise que a presença em elevado grau desses traços podem ser indicativos da eficiência de remoção deste nutriente. O presente sistema não é voltado à remoção de nutrientes, apesar de removê-los em pequenas quantidades necessárias à

estabilidade e funcionamento do sistema, visto que desequilíbrios na proporção de nitrogênio, nitrito e nitrato pode comprometer o tratamento e clarificação do efluente final (VON SPERLING, 2011).

As análises de componentes principais e de redundância demonstraram que a ETE Piçarrão apresenta pouca variabilidade nas características físicas e químicas, com eficiências de remoção global elevadas durante todo estudo, tal como relatado por outros autores sobre o uso de reatores aeróbios como pós-tratamento de anaeróbios (SOUZA & FORESTI, 1996; COLETTI et al., 1997; VON SPERLING & CHERNICHARO, 2001). O tratamento secundário tem início no UASB e segue para o reator aeróbio seguido de flotor com recirculação do lodo (lodo ativado) (SIQUEIRA-CASTRO et al., 2016). Isto indica a presença de um filtro ambiental selecionando as espécies e traços funcionais presentes neste ambiente. Visto que a abordagem através das funções é mais homogênea, pois que diversas espécies podem possuir os mesmos atributos funcionais, o sistema é particularmente redundante. Os poucos registros de correlação entre os traços funcionais e os componentes abióticos (Tabela 6), ressaltam a necessidade de se realizar novas pesquisas utilizando um maior número amostral de estações, e ainda estações com características mais heterogêneas, assim como apresentado no estudo de Madoni (1994) que investigou 44 estações de tratamento de esgoto do tipo lodos ativados na Itália, heterogêneas em eficiência e perfil de remoção.

7 CONCLUSÃO

As principais conclusões deste estudo são: (1) a composição e a estrutura da comunidade de ciliados na ETE Piçarrão oscilaram ao longo do período amostral, sendo a composição taxonômica mais heterogênea que a composição funcional; (2) a comunidade de ciliados na ETE Piçarrão (UASB-lodos ativados) é funcionalmente redundante, o que pode proporcionar estabilidade ao sistema e ao tratamento de esgoto; (3) os índices e métricas taxonômicas e funcionais apresentaram correlação, entretanto, mais estudos são necessários visto baixo número de espécies ativas e elevado número de atributos funcionais listados para esta comunidade; (4) não foi possível estabelecer uma clara relação entre a composição e os traços funcionais da comunidade de ciliados e as condições ambientais no sistema de tratamento de esgoto ao longo de dois anos de monitoramento, possivelmente devido à grande homogeneidade dos dados físicos e químicos mensurados; (5) a abordagem funcional se apresentou como promissora para aplicações futuras visto que o CMW foi homogêneo tal qual os dados ambientais na ETE Piçarrão ao longo das 37 amostras analisadas (6) os traços mais promissores em relação à eficiência da ETE foram o traço hábito alimentar bacterívoro, o traço formação de floco e o traço aeróbio, indicando aeração contínua e adequada do sistema ao longo das 37 amostragens.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

As relações entre traços funcionais, variáveis ambientais e medidas de eficiência biológica implica em identificação de padrões, com consequências na predição do sistema. Em ETE 's a predição se torna essencial para evitar possíveis danos ao tratamento e comprometimento do resultado final, infringindo as normativas legais. No entanto, a identificação de espécies não é algo simples, dessa forma, utilizar métricas taxonômicas pode inviabilizar a predição no sistema. Com vistas a esta questão, foi proposto neste artigo utilizar a diversidade funcional e os traços funcionais como forma de identificação e predição em tal ecossistema de forma a facilitar ao operador da estação o seu gerenciamento de forma otimizada. Estudos com outros grupos biológicos demonstraram que a estrutura funcional da comunidade fornece condição para detecção de diferentes tipos de distúrbios. Estudos futuros com esta abordagem em ETE's irão propiciar melhor entendimento da eficiência e funcionamento de sistemas de tratamento biológico de esgoto.

Os ciliados possuem funções importantes no tratamento de esgoto, tal como a clarificação do efluente final, a indicação de oxigenação adequada, e a redução da densidade de *Escherichia coli* no sistema. Desde a criação e desenvolvimento do processo de lodos ativados, os especialistas, operadores, e pesquisadores perceberam a importância dos protistas no sistema. Um entrave ao uso e aplicação destes organismos na detecção da eficiência da ETE's se deu pela dificuldade de identificação taxonômica das espécies, entretanto, a abordagem funcional pode trazer significativos avanços para a aplicação deste conhecimento, visto que grande parte dos atributos funcionais são facilmente identificáveis. As características como forma de locomoção, tamanho e formato do corpo, hábito alimentar e capacidade de floculação podem ser identificadas por não especialistas/taxonomistas.

Como perspectivas futuras tem-se a investigação de novas ETE's com amplitude maior de variação de dados abióticos e heterogeneidade na remoção, bem como a composição e estrutura funcional da comunidade de ciliados para atestar esta hipótese de ampla sincronia entre a função da microbiota e os dados ambientais. Outra perspectiva que se apresenta é o desenvolvimento de um índice multimétrico futuro envolvendo o histórico de atributos da microbiota relacionados aos dados ambientais, bem como a inclusão dos atributos funcionais, descritos e apresentados pela primeira vez nesta presente Dissertação.

REFERÊNCIAS

- ACKERLY, D. D.. Community Assembly, Niche Conservatism, and Adaptive Evolution in Changing Environments. **International Journal Of Plant Sciences**, v. 164, n. 3, p. 165-184, 2003. <http://dx.doi.org/10.1086/368401>.
- AESCHT, E.; FOISSNER, W.. Biology of a high-rate activated sludge plant of a pharmaceutical company. **Archiv für Hydrobiologie. Supplementband. Untersuchungen des Elbe-AEstuars**, v. 90, n. 2, p. 207-251, 1992.
- AHMED, W.; ANGEL, N.; EDSON, J.; BIBBY, K.; BIVINS, A.; O'BRIEN, J. W.; ...; MUELLER, J. F.. First confirmed detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewater in Australia: a proof of concept for the wastewater surveillance of COVID-19 in the community. **Science of the Total Environment**, v. 728, p. 138764, 2020.
- AIYUK, S.; FORREZ, I.; LIEVEN, De K.; VAN HAANDEL, A.; VERSTRAETE, W.. Anaerobic and complementary treatment of domestic sewage in regions with hot climates— A review. **Bioresource Technology**, v. 97, n. 17, p. 2225-2241, 2006. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2005.05.015>.
- AL, M. A.; FORRUQ, R. M.; AKHTAR, A.; ALAM, M. W.; SIKDER, M. N. A.; WARREN, A.; XU, H.. Seasonal Shift in Community Structure of Periphytic Ciliates in Estuarine Waters in the Northern Bay of Bengal, Bangladesh. **Ocean Science Journal**, v. 53, n. 4, p. 707-718, 2018a. <http://dx.doi.org/10.1007/s12601-018-0048-5>.
- AL, M. A.; GAO, Y.; XU, G.; WANG, Z.; WARREN, A.; XU, H.. Trophic-functional patterns of biofilm-dwelling ciliates at different water depths in coastal waters of the Yellow Sea, northern China. **European Journal Of Protistology**, v. 63, p. 34-43, 2018b. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejop.2018.01.003>.
- ANA. Atlas Esgotos: despoluição de bacias hidrográficas. Agência Nacional de Águas, Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental, **Brasília**, 2017.
- ANGELAKIS, A. N. Evolution of urban waste-and storm-water management through the centuries focusing on Hellenic civilizations. In: **Proceedings of the 13th IWA Specialized Conference on Small Water and Wastewater Systems (SWWS) and the 5th IWA Specialized Conference on Resources-Oriented Sanitation (ROS)**, p. 14-16, 2016.
- ANDREOLI, C. V.; VON SPERLING, M.; FERNANDES, F. Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias: **Lodo de esgotos: tratamento e disposição final**, v. 6, 2a edição, Editora UFMG, Belo Horizonte, 2014.

- ARDERN, E.; LOCKETT, W. T.. Experiments on the oxidation of sewage without the aid of filters. **Journal Of The Society Of Chemical Industry**, v. 33, n. 10, p. 523-539, 1914. <http://dx.doi.org/10.1002/jctb.5000331005>.
- ARÉVALO, J.; MORENO, B.; PÉREZ, J.; GÓMEZ, M. A.. Applicability of the Sludge Biotic Index (SBI) for MBR activated sludge control. **Journal Of Hazardous Materials**, v. 167, n. 1-3, p. 784-789, 2009. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.01.057>.
- ARREGUI, L., PÉREZ-UZ, B., ZORNOZA, A., & SERRANO, S.. A new species of the genus *Metacystis* (Ciliophora, Prostomatida, Metacystidae) from a wastewater treatment plant. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 57, n. 4, p. 362-368, 2010. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.2010.00484.x>
- ARREGUI, L., LIÉBANA, R., CALVO, P., PÉREZ-UZ, B., SALVADÓ, H., & SERRANO, S.. Bioindication in activated sludge wastewater treatment plants. In: **Handbook of wastewater treatment**. Hauppauge, New York: Nova Science Publishers, 2013. p. 277-291.
- AZAM, F., FENCHEL, T., FIELD, J. G., GRAY, J. S., MEYER-REIL, L. A., & THINGSTAD, F.. The ecological role of water-column microbes in the sea. **Marine ecology progress series**, p. 257-263, 1983.
- BAI, X.; XU, H.. Indication of spatial variations in annual cycle of functional traits of periphytic ciliates to environmental heterogeneity in coastal waters. **Ecological Indicators**, v. 98, p. 193-199, 2019. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolind.2018.10.043>.
- BAI, X.; GUO, C.; XU, H.. An approach to identifying homogeneity in community functioning of periphytic ciliates in colonization surveys for marine bioassessment. **Ecological Indicators**, v. 102, p. 394-400, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.02.063>
- BANINA, N. Peritricha Sessilida fauna in the activated sludge biocenosis. **Protozoa of activated sludge.-Protozoology**, v. 8, p. 87-116, 1983.
- BASSIN, J.P.; DEZOTTI, M.; ROSADO, A. “*Técnicas de Biologia Molecular Aplicadas ao Estudo da Diversidade Microbiana de Sistemas de Tratamento de Efluentes*”. **Processos biológicos avançados para tratamento de efluente e técnicas de biologia molecular para o estudo da diversidade microbiana**. Rio de Janeiro: Interciência, 2011.
- BASURI, C. K.; PAZHANIYAPPAN, E.; MUNNOORU, K.; CHANDRASEKARAN, M.; VINJAMURI, R. R.; KARRI, R.; MALLAVARAPU, R. V.. Composition and distribution of planktonic ciliates with indications to water quality in a shallow hypersaline lagoon (Pulicat Lake, India). **Environmental Science And Pollution Research**, v. 27, n. 15, p. 18303-18316, 2020. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-020-08177-6>.

- BAYERISCHES LANDESAMT FÜR WASSERWIRTSCHAFT. **Das mikroskopische Bild bei der biologischen Abwasserreinigung.** Informationsberichte des Bayerischen Landesamtes für Wasserwirtschaft 1/90, 1–101 & Anhang I, II, 1992.
- BAYERISCHES LANDESAMT FÜR WASSERWIRTSCHAFT. **Das mikroskopische Bild bei der biologischen Abwasserreinigung.** Informationsberichte des Bayerischen Landesamtes für Wasserwirtschaft 1/99, 1–166, 1999.
- BECARES, E.; FOISSNER, W. **Redescription of *Chilodonatella minuta* DRAGESCO 1966 (Protozoa, Ciliophora).** na, 1994.
- BEDOGNI, G.; FALANELLI, A.; PEDRAZZI, R. Evaluation of the abundance ratio between crawling and attached ciliates in the management of an activated sludge sewage treatment plant. **Biological Approach to Sewage Treatment Process: Current Status and Perspectives**, p. 229-233, 1991.
- BENTO, A. P.; SEZERINO, P. H.; PHILIPPI, L. S.; REGINATTO, V.; LAPOLLI, F. R.. Caracterização da microfauna em estação de tratamento de esgotos do tipo lodos ativados: um instrumento de avaliação e controle do processo. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 10, n. 4, p. 329-338, 2005. <http://dx.doi.org/10.1590/s1413-41522005000400009>.
- BERGER, H.. Monograph of the Oxytrichidae (Ciliophora, Hypotrichia). **Monogr Biol**, v. 78, p. 1–1080, 1999.
- BERGER, H.. Monograph of the Urostyloidea (Ciliophora, Hypotrichia). **Monogr Biol**, v. 85, p. 1–1303, 2006.
- BERGER, H.. Monograph of the Gonostomatidae and Kahliellidae (Ciliophora, Hypotrichia). **Monogr Biol**, v. 90, p. 1–741, 2011.
- BERGER, H.; FOISSNER, W.. Illustrated guide and ecological notes to ciliate indicator species (Protozoa, Ciliophora) in running waters, lakes, and sewage plants. **Handbuch Angewandte Limnologie: Grundlagen - Gewässerbelastung - Restaurierung - Aquatische Ökotoxikologie - Bewertung - Gewässerschutz**, p. 1-160, 2004. <http://dx.doi.org/10.1002/9783527678488.hbal2003005>.
- BORICS, G.; ABONYI, A.; SALMASO, N.; PTACNIK, R.. Freshwater phytoplankton diversity: models, drivers and implications for ecosystem properties. **Hydrobiologia**, v. 848, n. 1, p. 53-75, 2020. <http://dx.doi.org/10.1007/s10750-020-04332-9>.
- CABRAL, A. F.; BUOSI, P. R. B.; SEGÓVIA, B. T.; VELHO, L. F. M.; BINI, L. M.. Taxonomic sufficiency in detecting hydrological changes and reproducing ordination patterns: a test using planktonic ciliates. **Ecological Indicators**, v. 82, p. 227-232, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolind.2017.07.008>.

- CADOTTE, M. W.; TUCKER, C. M.. Should Environmental Filtering be Abandoned? **Trends In Ecology & Evolution**, v. 32, n. 6, p. 429-437, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tree.2017.03.004>.
- CAMPOS, I. S.. **Rosas do Meu Jardim**. Juiz de Fora: Herculano Pires, 1999.
- CAMPOS, J.R. (coord.). **Tratamento de esgotos sanitários por processo anaeróbio e disposição controlada no solo**. 464p. PROSAB, ABES, Rio de Janeiro, 1999.
- CANALS, O.; SALVADÓ, H.. Description of *Epistylis camprubii* n. sp., a Species Highly Tolerant to Ammonium and Nitrite. **Acta Protozoologica**, v. 55, n. 1, 2016.
- CANALS, O.; SALVADÓ, H.; AUSET, M.; HERNÁNDEZ, C.; MALFEITO, J.J.. Microfauna communities as performance indicators for an A/O Shortcut Biological Nitrogen Removal moving-bed biofilm reactor. **Water Research**, v. 47, n. 9, p. 3141-3150, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2013.03.017>.
- CARDOSO, S. J.; NABOUT, J. C.; FARJALLA, V. F.; LOPES, P. M.; BOZELLI, R. L.; HUSZAR, V. L. M.; ROLAND, F.. Environmental factors driving phytoplankton taxonomic and functional diversity in Amazonian floodplain lakes. **Hydrobiologia**, v. 802, n. 1, p. 115-130, 2017. <http://dx.doi.org/10.1007/s10750-017-3244-x>.
- ČECH, J. S.; HARTMAN, P.; MACEK, M. Bacteria and protozoa population dynamics in biological phosphate removal systems. **Water Science and Technology**, v. 29, n. 7, p. 109-117, 1994. <https://doi.org/10.2166/wst.1994.0320>
- CETESB. Manual técnico da microbiologia para sistemas de lodos ativados operando com esgotos domésticos. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, **São Paulo**, SP, 1985.
- CETESB. Microbiologia de Lodos Ativados. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, **São Paulo**, SP, 2009.
- CHERNICHARO, C.A.L.. Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias: **Reatores Anaeróbios**. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, UFMG, v. 5, p. 1-246, 1997.
- CHEssel, D., DUFOUR, A.B., THIOULOUSE, J.. The ade4 package - I: One-table methods. **R News**, v. 4, n. 1, p. 5–10, 2004. <https://cran.r-project.org/doc/Rnews/>
- CHAIZE, S.; HUYARD, A.. Membrane Bioreactor on Domestic Wastewater Treatment Sludge Production and Modeling Approach. **Water Science And Technology**, v. 23, n. 7-9, p. 1591-1600, 1991. <http://dx.doi.org/10.2166/wst.1991.0613>.

- CHAUDHRY, R.; SHAKOORI, A. R.. A new subspecies of a ciliate *Euplotes musicola* isolated from industrial effluents. **Pakistan Journal of Zoology**, v. 44, n. 3, 2012.
- CHAO, A.; CHIU, C.; JOST, L.. Unifying Species Diversity, Phylogenetic Diversity, Functional Diversity, and Related Similarity and Differentiation Measures Through Hill Numbers. **Annual Review Of Ecology, Evolution, And Systematics**, v. 45, n. 1, p. 297-324, 2014. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-120213-091540>.
- CHIEMCHAISRI, C.; YAMAMOTO, K.; VIGNESWARAN, S.. Household Membrane Bioreactor in Domestic Wastewater Treatment. **Water Science And Technology**, v. 27, n. 1, p. 171-178, 1993. <http://dx.doi.org/10.2166/wst.1993.0041>.
- CINGOLANI, L.; COSSIGNANI, M.; MILIANI, R. The role of microfauna in the prediction and control of the activated sludge disfunctions of a municipal plant. **Biological approach to sewage treatment process: current status and perspectives**, p. 93-96, 1991.
- CLAMP, J. C.; LYNN, D. H.. Investigating the biodiversity of ciliates in the 'Age of Integration'. **European Journal Of Protistology**, v. 61, p. 314-322, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejop.2017.01.004>.
- COHEN, J. S.; RAINFORD, S-K. D.; BLOSSEY, B.. Community-weighted mean functional effect traits determine larval amphibian responses to litter mixtures. **Oecologia**, v. 174, n. 4, p. 1359-1366, 2014. <http://dx.doi.org/10.1007/s00442-013-2856-8>.
- COLETTI, F. J.; POVINELLI, J.; DANIEL, L. A.. Pós-tratamento por lodos ativados de efluentes provenientes de processos anaeróbios de tratamento de esgoto sanitário; Determinação de constantes cinéticas. In: **Anais: 19o Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental**. 1997.
- CORDI, L., ASSALIN, M. R., PONEZI, A. N.; DURÁN, N.. Identification of microbiota for activated sludge acclimated by paper mill effluent Kraft E1 bioremediation. **Journal of Bioremediation and Biodegradation**, v. 3, n. 12, 2012. <https://doi:10.4172/2155-6199.1000169>.
- CORLISS, J.O.. The ciliated protozoa. Permagon Press, London, 455 p., 1979.
- COÛTEAUX, M.; DARBYSHIRE, J. F.. Functional diversity amongst soil protozoa. **Applied Soil Ecology**, v. 10, n. 3, p. 229-237, 1998. [http://dx.doi.org/10.1016/s0929-1393\(98\)00122-x](http://dx.doi.org/10.1016/s0929-1393(98)00122-x).
- CURDS, C R.. The Ecology and Role of Protozoa in Aerobic Sewage Treatment Processes. **Annual Review Of Microbiology**, v. 36, n. 1, p. 27-28, 1982. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.mi.36.100182.000331>.

- CURDS, C. R.. The Flocculation of Suspended Matter by *Paramecium caudatum*. **Journal Of General Microbiology**, v. 33, n. 3, p. 357-363, 1963. <http://dx.doi.org/10.1099/00221287-33-3-357>.
- CURDS, C. R.; VANDYKE, J. M.. The Feeding Habits and Growth Rates of Some Fresh-Water Ciliates Found in Activated-Sludge Plants. **The Journal Of Applied Ecology**, v. 3, n. 1, p. 127-137, 1966. <http://dx.doi.org/10.2307/2401669>.
- CURDS, C.R.; FEY, G.J.. The effect of ciliated protozoa on the fate of *Escherichia coli* in the activated-sludge process. **Water Research**, v. 3, n. 11, p. 853-867, 1969. [http://dx.doi.org/10.1016/0043-1354\(69\)90054-2](http://dx.doi.org/10.1016/0043-1354(69)90054-2).
- CURDS, C.R; A COCKBURN,. Protozoa in biological sewage-treatment processes—I. A survey of the protozoan fauna of British percolating filters and activated-sludge plants. **Water Research**, v. 4, n. 3, p. 225-236, 1970. [http://dx.doi.org/10.1016/0043-1354\(70\)90069-2](http://dx.doi.org/10.1016/0043-1354(70)90069-2).
- CURDS, C.R; A COCKBURN,. Protozoa in biological sewage-treatment processes—II. Protozoa as indicators in the activated-sludge process. **Water Research**, v. 4, n. 3, p. 237-249, 1970. [http://dx.doi.org/10.1016/0043-1354\(70\)90070-9](http://dx.doi.org/10.1016/0043-1354(70)90070-9).
- CURDS, C. R.. An Ecological Study of the Ciliated Protozoa in Activated Sludge. **Oikos**, v. 15, n. 2, p. 282-289, 1965. <http://dx.doi.org/10.2307/3565125>.
- CURDS, C. R.. The Role of Protozoa in the Activated-Sludge Process. **American Zoologist**, v. 13, n. 1, p. 161-169, 1973. <http://dx.doi.org/10.1093/icb/13.1.161>.
- CURDS, C. R. An experimental study of the role the ciliated protozoa in the activated-sludge process. **Wat. Pollut. Control**, v. 67, p. 312-329, 1968.
- DIAS, R. J. P.; SOUZA, P. M. de; ROSSI, M. F.; WIELOCH, A. H.; SILVA-NETO, I. D. da; D'AGOSTO, M.. Ciliates as bioindicators of water quality: a case study in the neotropical region and evidence of phylogenetic signals (18s-rDNA). **Environmental Pollution**, v. 268, p. 115760-115760, 2021. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115760>.
- DÍAZ, S.; CABIDO, M.. Vive la différence: plant functional diversity matters to ecosystem processes. **Trends In Ecology & Evolution**, v. 16, n. 11, p. 646-655, 2001. [http://dx.doi.org/10.1016/S0169-5347\(01\)02283-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0169-5347(01)02283-2).
- DÍAZ, S., LAVOREL, S., DE BELLO, F., QUÉTIER, F., GRIGULIS, K., ROBSON, M. T.. Incorporating plant functional diversity effects in ecosystem service assessments. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 104, p. 20684–20689, 2007.

- DIEP, L.; MARTINS, F. P.; CAMPOS, L. C.; HOFMANN, P.; TOMEI, J.; LAKHANPAUL, M.; PARIKH, P.. Linkages between sanitation and the sustainable development goals: a case study of brazil. **Sustainable Development**, p. 1-14, 2020. <http://dx.doi.org/10.1002/sd.2149>.
- DE SOUSA, J. T.; FORESTI, E. Domestic sewage treatment in an upflow anaerobic sludge blanket-sequencing batch reactor system. **Water Science and Technology**, v. 33, n. 3, p. 73-84, 1996. [https://doi.org/10.1016/0273-1223\(96\)00323-X](https://doi.org/10.1016/0273-1223(96)00323-X)
- DEVICTOR, V.; MOUILLOT, D.; MEYNARD, C.; JIGUET, F.; THUILLER, W.; MOUQUET, N.. Spatial mismatch and congruence between taxonomic, phylogenetic and functional diversity: the need for integrative conservation strategies in a changing world. **Ecology Letters**, p. 1030-1040, 2010. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1461-0248.2010.01493.x>.
- DEZOTTI, M.; SANT'ANNA JR., G. L.; BASSIN, J.P. **Processos biológicos avançados para tratamentos de efluentes e técnicas de biologia molecular para o estudo da diversidade microbiana**. Rio de Janeiro: Interciência, 2011.
- DUBBER, D.; GRAY, N. F.. The influence of fundamental design parameters on ciliates community structure in Irish activated sludge systems. **European Journal Of Protistology**, v. 47, n. 4, p. 274-286, 2011. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejop.2011.05.001>.
- DUTTA, A.; SARKAR, S.. Sequencing Batch Reactor for Wastewater Treatment: recent advances. **Current Pollution Reports**, v. 1, n. 3, p. 177-190, 2015. <http://dx.doi.org/10.1007/s40726-015-0016-y>.
- FENCHEL, T.. **Ecology of Protozoa: The biology of free-living phagotrophic protists**. Berlin & Tokyo, Springer, 197p., 1987.
- FERNANDES, N. M.; SILVA NETO, I. D. da.. Morphology and 18S rDNA gene sequence of *Spirostomum minus* and *Spirostomum teres* (Ciliophora: heterotrichea) from rio de janeiro, brazil. **Zoologia (Curitiba)**, v. 30, n. 1, p. 72-79, 2013. <http://dx.doi.org/10.1590/s1984-46702013000100009>.
- FERNANDES, N. M.; VIZZONI, V. F.; BORGES, B. do N.; SOARES, C. A. G.; SILVA-NETO, I. D. da; PAIVA, T. da S.. Molecular phylogeny and comparative morphology indicate that odontostomatids (Alveolata, Ciliophora) form a distinct class-level taxon related to Armophorea. **Molecular Phylogenetics And Evolution**, v. 126, p. 382-389, 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ympev.2018.04.026>.
- FIGUEIREDO, M. G.; DOMINGUES, V. B.; COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. Microbiologia de lodos ativados. **CETESB–Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. São Paulo: CETESB**, 1997.
- FOISSNER, W.. Colpodea (Ciliophora). Fischer, Stuttgart, **Protozoenfauna** n. 4, 798 p., 1993.

- FOISSNER, W. Faunistic and taxonomic studies on ciliates (Protozoa, Ciliophora) from clean rivers in Bavaria (Germany), with descriptions of new species and ecological notes. **Limnologica**, v. 27, n. 2, p. 179-238, 1997.
- FOISSNER, W. Revision of the genera *Gastronauta* ENGELMANN in BÜTSCHLI, 1889 and *Paragastronauta* nov. gen. (Ciliophora: Gastronautidae). **Protozoological Monographs**, v. 1, p. 63-101, 2000.
- FOISSNER, W.. Neotypification of protists, especially ciliates (Protozoa, Ciliophora) Wilhelm Foissner. **Bulletin of zoological Nomenclature**, v. 59, n. 3, p. 165, 2002.
- FOISSNER, W.. **Some new ciliates (Protozoa, Ciliophora) from an Austrian floodplain soil, including a giant, red „Flagship“, *Cyrtohymena (Cyrtohymenides) aspoECKi* nov. subgen., nov. spec. na**, 2004.
- FOISSNER, W.. An update of ‘basic light and scanning electron microscopic methods for taxonomic studies of ciliated protozoa’. **International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology**, v. 64, n. 1, p. 271-292, 2014. <http://dx.doi.org/10.1099/ijs.0.057893-0>.
- FOISSNER, W.. Protists as bioindicators in activated sludge: identification, ecology and future needs. **European Journal Of Protistology**, v. 55, p. 75-94, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejop.2016.02.004>.
- FOISSNER, W.; BERGER, Helmut. A user-friendly guide to the ciliates (Protozoa, Ciliophora) commonly used by hydrobiologists as bioindicators in rivers, lakes, and waste waters, with notes on their ecology. **Freshwater Biology**, v. 35, n. 2, p. 375-482, 1996. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2427.1996.tb01775.x>.
- FOISSNER, W.; BERGER, H.; KOHMANN, F.. Taxonomische und ökologische Revision der Ciliaten des Saprobiensystems—**Band II: Peritrichia, Heterotrichida, Odontostomatida**. Informationsberichte des Bayer. Landesamtes für Wasserwirtschaft, 5/92, 1992.
- FOISSNER, W.; BERGER, H.; KOHMANN, F.. Taxonomische und ökologische Revision der Ciliaten des Saprobiensystems—**Band III: Hymenostomata, Prostomatida, Nassulida**. Informationsberichte des Bayer. Landesamtes für Wasserwirtschaft, 1/94 Landesamtes für Wasserwirtschaft, Heft 1/91, München, 1994.
- FOISSNER, W.; BERGER, H.; KOHMANN, F.. Taxonomische und ökologische Revision der Ciliaten des Saprobiensystems—**Band IV: Gymenostomatea, Loxodes, Suctorina**. Informationsberichte des Bayer. Landesamtes für Wasserwirtschaft 1/95, 1995.

- FOISSNER, W.; BLATTERER, H.; BERGER, H.; KOHMANN, F.. Taxonomische und ökologische Revision der Ciliaten des Saprobiensystems—**Band I: Cyrtophorida, Oligotrichida, Hypotrichia, Colpodea**. Informationsberichte des Bayer. Landesamtes für Wasserwirtschaft, 1/91, 1991.
- FOISSNER, W.; SKOGSTAD, A.; PRATT, J. R.. Morphology and Infraciliature of *Trochilopsis australis* N. Sp., *Pelagohalteria viridis* (Fromentel, 1876) NG, N. Comb., and *Strobilidium lacustris* N. Sp.(Protozoa, Ciliophora) 1. **The Journal of protozoology**, v. 35, n. 4, p. 489-497, 1988. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.1988.tb04135.x>
- FRAINER, A.; MCKIE, B. G.; MALMQVIST, B.. When does diversity matter? Species functional diversity and ecosystem functioning across habitats and seasons in a field experiment. **Journal Of Animal Ecology**, v. 83, n. 2, p. 460-469, 2013. <http://dx.doi.org/10.1111/1365-2656.12142>.
- FUHRMAN, J. A.. Microbial community structure and its functional implications. **Nature**, v. 459, n. 7244, p. 193-199, 2009. <http://dx.doi.org/10.1038/nature08058>.
- GABILONDO, R.; BLANCO, S.; FERNÁNDEZ-MONTIEL, I.; GARCÍA, D.A.; BÉCARES, E.. Ciliates as bioindicators of CO₂ in soil. **Ecological Indicators**, v. 85, p. 1192-1203, 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolind.2017.11.060>.
- GAMESON, A. L. H.; WHEELER, A. Restoration and recovery of the Thames Estuary [in England, pollution]. In: **International Symposium on the Recovery of Damaged Ecosystems. Charlottesville, Va.(USA). 23-25 Mar 1975**. 1977.
- GANNER, B., UNTERWEGER, A., JÄGER, P.. Die Biologie der Salzburger Kläranlagen im Zeitraum von 1991 bis 2000.Zur Evaluation der Beurteilungskriterien bei der mikroskopischen Belebtschlammuntersuchung kommunaler Kläranlagen mit Stickstoffelimination. **Amt der Salzburger Landesregierung.Gewässerschutz** 6, 115–170, 2002.
- GAO, F.; WARREN, A.; ZHANG, Q.; GONG, J.; MIAO, M.; SUN, P.; XU, D.; HUANG, J.; YI, Z.; SONG, W.. The All-Data-Based Evolutionary Hypothesis of Ciliated Protists with a Revised Classification of the Phylum Ciliophora (Eukaryota, Alveolata). **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 1-14, 2016. <http://dx.doi.org/10.1038/srep24874>.
- GAVRILESCU, M.; MACOVEANU, M.. Process engineering in biological aerobic wastewater treatment. **Acta Biotechnologica**, v. 19, n. 2, p. 111-145, 1999. <http://dx.doi.org/10.1002/abio.370190205>.
- GINORIS, Y.P.; AMARAL, A.L.; NICOLAU, A.; COELHO, M.A.Z.; FERREIRA, E.C.. Development of an image analysis procedure for identifying protozoa and metazoa typical of activated sludge system. **Water Research**, v. 41, n. 12, p. 2581-2589, 2007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2007.02.006>.

- GORI, F., GRECO, M., GUARNIERI, G., & MINELLI, L.. Microfauna analysis in performance evaluation of the activated sludge depuration plant in Foligno (Italy). In: **Biological Approach to Sewage Treatment Process: Current Status and Perspectives**. Centro Bazzucchi Perugia, 1991. p. 97-99.
- GREINERT-GOULART, J. A.. Estudo da remoção de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. e caracterização da microfauna em estações de tratamento de esgoto: instrumentos de avaliação e controle do processo. Tese de Doutorado, Universidade de Campinas. Campinas. 2013.
- GROLIÈRE, C.; CHAKLI, R.; SPARAGANO, O.; PEPIN, D.. Application de la colonisation d'un substrat artificiel par les Ciliés à l'Étude de la qualité des eaux d'une rivière. **European Journal Of Protistology**, v. 25, n. 4, p. 381-390, 1990. [http://dx.doi.org/10.1016/s0932-4739\(11\)80131-8](http://dx.doi.org/10.1016/s0932-4739(11)80131-8).
- GROVER, J. P.. INFLUENCE OF CELL SHAPE AND SIZE ON ALGAL COMPETITIVE ABILITY. **Journal Of Phycology**, v. 25, n. 2, p. 402-405, 1989. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1529-8817.1989.tb00138.x>.
- GUI, Y.; BAI, X.; ZHONG, X.; SIKDER, M. N. A.; XU, H.. Seasonal variability in biological trait pattern of biofilm-dwelling protozoa in colonization surveys for marine bioassessment. **Marine Pollution Bulletin**, v. 160, p. 111604-111604, 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111604>.
- GUIMARÃES, J.R.; NOUR, E. A. A. **Tratando nossos esgotos: Processos que imitam a natureza**. Cadernos Temáticos de Química Nova da Escola, Edição especial, Maio 2001.
- GUO, C.; XU, H.. Use of functional distinctness of periphytic ciliates for monitoring water quality in coastal ecosystems. **Ecological Indicators**, v. 96, p. 213-218, 2019.
- GUO, C.; GUI, Y.; BAI, X.; SIKDER, M. N. A.; XU, H.. Seasonal variation in biological trait distribution of periphytic protozoa in coastal ecosystem: a baseline study for marine bioassessment. **Marine Pollution Bulletin**, v. 160, p. 111593-111593, 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111593>.
- HAMMER, Ø.; HARPER, D. A.; RYAN, P. D.. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. **Palaeontologia electronica**, v. 4, n. 1, p. 9, 2001.
- HE, H.; CHEN, Y.; LI, X.; CHENG, Y.; YANG, C.; ZENG, G.. Influence of salinity on microorganisms in activated sludge processes: a review. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 119, p. 520-527, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.10.007>.

- HÉBERT, M.; BEISNER, B. E.; MARANGER, R.. Linking zooplankton communities to ecosystem functioning: toward an effect-trait framework. **Journal Of Plankton Research**, v. 39, n. 1, p. 3-12, 2017. <http://dx.doi.org/10.1093/plankt/fbw068>.
- HELLER, L.; COLOSIMO, E. A.; ANTUNES, C. M. de F.. Environmental sanitation conditions and health impact: a case-control study. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 1, p. 41-50, 2003. <http://dx.doi.org/10.1590/s0037-86822003000100007>.
- HEMPEL, S.. John Snow. **The Lancet**, v. 381, n. 9874, p. 1269-1270, 2013. [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(13\)60830-2](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(13)60830-2).
- HENZE, M., VAN LOOSDRECHT, M. C., EKAMA, G. A., & BRDJANOVIC, D.. **Biological wastewater treatment** IWA publishing. 2008.
- HICKMAN, C. P.; ROBERTS, L. S.; KEEN, S. L. **Princípios integrados de zoologia**. Grupo Gen-Guanabara Koogan, 2016.
- HOGG, S.. **Essential microbiology**. John Wiley & Sons, 2013.
- HOLETON, C.; CHAMBERS, P. A.; GRACE, L.. Wastewater release and its impacts on Canadian waters. **Canadian Journal Of Fisheries And Aquatic Sciences**, v. 68, n. 10, p. 1836-1859, 2011. <http://dx.doi.org/10.1139/f2011-096>.
- HOOPER, D. U.; CHAPIN, F. S.; EWEL, J. J.; HECTOR, A.; INCHAUSTI, P.; LAVOREL, S.; LAWTON, J. H.; LODGE, D. M.; LOREAU, M.; NAEEM, S.. EFFECTS OF BIODIVERSITY ON ECOSYSTEM FUNCTIONING: a consensus of current knowledge. **Ecological Monographs**, v. 75, n. 1, p. 3-35, 2005. <http://dx.doi.org/10.1890/04-0922>.
- IAS. Saneamento 2020: passado, presente e possibilidades de futuro para o Brasil. Instituto Água e Saneamento, **São Paulo**, SP, 2020.
- IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa Nacional de Saneamento Básico 2017: abastecimento de água e esgotamento sanitário. Rio de Janeiro. 2020.
- JACKSON, K. M.; BERGER, J.. Survival of ciliate protozoa under starvation conditions and at low bacterial levels. **Microbial Ecology**, v. 10, n. 1, p. 47-59, 1984. <http://dx.doi.org/10.1007/bf02011594>.
- JENKINS, S. H.. Role of Protozoa in the Activated Sludge Process. **Nature**, v. 150, n. 3812, p. 607-607, 1942. <http://dx.doi.org/10.1038/150607c0>.

- JENKINS, D., RICHARD, M. G.; DAIGGER, G. T.. **Manual on the causes and control of activated sludge bulking, foaming, and other solids separation problems**. Boca Raton, FL: Lewis publishers, 2004.
- JORDÃO, E.P.; PESSOA, C.A. **Tratamento de esgotos domésticos**. 6ª Ed., Rio de Janeiro: ABES, 2011.
- KASSAB, G.; HALALSHEH, M.; KLAPWIJK, A.; FAYYAD, M.; VAN LIER, J.B.. Sequential anaerobic-aerobic treatment for domestic wastewater – A review. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 10, p. 3299-3310, 2010. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2009.12.039>.
- KEY, T.; MCCARTHY, A.; CAMPBELL, D. A.; SIX, C.; ROY, S.; FINKEL, Z. V.. Cell size trade-offs govern light exploitation strategies in marine phytoplankton. **Environmental Microbiology**, v. 12, n. 1, p. 95-104, 2010. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1462-2920.2009.02046.x>.
- KOLKWITZ, R.; MARSSON, M.. Ökologie der tierischen Saprobien. Beiträge zur Lehre von der biologischen Gewässerbeurteilung. **Internationale Revue der Gesamten Hydrobiologie und Hydrographie**, v. 2, n. 1-2, p. 126-152, 1909.
- KOLEGA, M.; GROHMANN, G. S.; CHIEW, R. F.; DAY, A. W.. Disinfection and Clarification of Treated Sewage by Advanced Microfiltration. **Water Science And Technology**, v. 23, n. 7-9, p. 1609-1618, 1991. <http://dx.doi.org/10.2166/wst.1991.0615>.
- LALIBERTÉ, E.; ZEMUNIK, G.; TURNER, B. L.. Environmental filtering explains variation in plant diversity along resource gradients. **Science**, v. 345, n. 6204, p. 1602-1605, 2014. <http://dx.doi.org/10.1126/science.1256330>.
- LALIBERTÉ, E.; LEGENDRE, P.. A distance-based framework for measuring functional diversity from multiple traits. **Ecology**, v. 91, n. 1, p. 299-305, 2010. <http://dx.doi.org/10.1890/08-2244.1>.
- LAURETO, L. M. O., CIANCIARUSO, M. V., & SAMIA, D. S. M.. Functional diversity: an overview of its history and applicability. **Natureza & Conservação**, v. 13, n. 2, p. 112-116, 2015.
- LEE, S., BASU, S., TYLER, C. W., & WEI, I. W.. Ciliate populations as bio-indicators at Deer Island Treatment Plant. **Advances in Environmental Research**, v. 8, n. 3-4, p. 371-378, 2004. [https://doi.org/10.1016/S1093-0191\(02\)00118-1](https://doi.org/10.1016/S1093-0191(02)00118-1)
- LEPS, J.; DE BELLO, F.; LAVOREL, S.; BERMAN, S.. Quantifying and interpreting functional diversity of natural communities: practical considerations matter. **Preslia**, v. 78, n. 4, p. 481-501, 2006.

- LI, B.; STENSTROM, M. K.. A sensitivity and model reduction analysis of one-dimensional secondary settling tank models under wet-weather flow and sludge bulking conditions. **Chemical Engineering Journal**, v. 288, p. 813-823, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2015.12.055>.
- LI, W.; EPSTEIN, H. E.; WEN, Z.; ZHAO, J.; JIN, J.; JING, G.; CHENG, J.; DU, G.. Community-weighted mean traits but not functional diversity determine the changes in soil properties during wetland drying on the Tibetan Plateau. **Solid Earth**, v. 8, n. 1, p. 137-147, 2017. <http://dx.doi.org/10.5194/se-8-137-2017>.
- LIAO, W., CAMPELLO-NUNES, P. H., GAMMUTO, L., VIANA, T. A., MARCHESINI, R. O., PAIVA, T. S., ... & PETRONI, G.. Incorporating mitogenome sequencing into integrative taxonomy: the multidisciplinary redescription of the ciliate *Thuricola similis* (Peritrichia, Vaginicolidae) provides new insights into the evolutionary relationships among Oligohymenophorea subclasses. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, p. 107089, 2021.
- LIEBMANN, H.. Die Ciliatenfauna der Emscherbrunnen. **Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten**, v. 118, n. 5, p. 555-573, 1936. <https://doi.org/10.1007/BF02177991>
- LITCHMAN, E.; OHMAN, M. D.; KIØRBOE, T.. Trait-based approaches to zooplankton communities. **Journal Of Plankton Research**, v. 35, n. 3, p. 473-484, 2013. <http://dx.doi.org/10.1093/plankt/fbt019>.
- LIU, H. C.; PU, X. J.; LIU, J.; DU, W. H.. Studies on the diversity of ciliate species in Gahai Alpine Wetland of the Qinghai-Tibetan Plateau, China. **Community Ecology**, v. 20, n. 1, p. 83-92, 2019. <http://dx.doi.org/10.1556/168.2019.20.1.9>.
- LIU, J.; YANG, M.; QI, R.; AN, W.; ZHOU, J.. Comparative study of protozoan communities in full-scale MWTPs in Beijing related to treatment processes. **Water Research**, v. 42, n. 8-9, p. 1907-1918, 2008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2007.11.020>.
- LUNA-PABELLO, V. M., PLISSON-SAUNE, S., PAUL, E., & DURAN DE BAZUA, C.. Ciliatological characterization of a biological reactor that eliminates nitrogen with intermittent aeration. **Revista latinoamericana de microbiologia**, v. 38, n. 2, p. 89-96, 1996.
- LYNN, D.. **The ciliated protozoa: characterization, classification, and guide to the literature**. Springer Science & Business Media, 2008.
- LYNN, D.; CORLISS, J.O.. Ciliophora, In: HARRISON, W. (Ed.) **Microscopic anatomy of invertebrates**. Wiley-Liss, New York, 333-467, 1991.

- LYNN, D. H.; SMALL, E. B. Phylum Ciliophora In: Lee JJ, Bradbury PC, Leedale GF. **An Illustrated Guide to the Protozoa. Society of edn. Society of Protozoologists, Lawrence, KS**, p. 994-1022, 2002.
- MADONI, P.. Protozoa in wastewater treatment processes: a minireview. **Italian Journal Of Zoology**, v. 78, n. 1, p. 3-11, 2011. <http://dx.doi.org/10.1080/11250000903373797>.
- MADONI, P.. A sludge biotic index (SBI) for the evaluation of the biological performance of activated sludge plants based on the microfauna analysis. **Water Research**, v. 28, n. 1, p. 67-75, 1994. [http://dx.doi.org/10.1016/0043-1354\(94\)90120-1](http://dx.doi.org/10.1016/0043-1354(94)90120-1).
- MADONI, P.. Ciliated protozoa and water quality in the Parma River (Northern Italy): long-term changes in the community structure. **Hydrobiologia**, v. 264, n. 3, p. 129-135, 1993. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00007283>.
- MADONI, P.. Ciliated protozoan communities and saprobic evaluation of water quality in the hilly zone of some tributaries of the Po River (northern Italy). **Hydrobiologia**, v. 541, n. 1, p. 55-69, 2005. <http://dx.doi.org/10.1007/s10750-004-4667-8>.
- MADONI, P.. Protozoa as indicators of wastewater treatment efficiency. **Handbook Of Water And Wastewater Microbiology**, p. 361-371, 2003. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-012470100-7/50023-6>.
- MADONI, P.; BASSANINI, N.. Longitudinal changes in the ciliated protozoa communities along a fluvial system polluted by organic matter. **European Journal Of Protistology**, v. 35, n. 4, p. 391-402, 1999. [http://dx.doi.org/10.1016/s0932-4739\(99\)80048-0](http://dx.doi.org/10.1016/s0932-4739(99)80048-0).
- MADONI, P.; DAVOLI, D.; CHIERICI, E.. Comparative analysis of the activated sludge microfauna in several sewage treatment works. **Water Research**, v. 27, n. 9, p. 1485-1491, 1993. [http://dx.doi.org/10.1016/0043-1354\(93\)90029-h](http://dx.doi.org/10.1016/0043-1354(93)90029-h).
- MADONI, P.; GHETTI, P. F.. The structure of Ciliated Protozoa communities in biological sewage-treatment plants. **Hydrobiologia**, v. 83, n. 2, p. 207-215, 1981. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00008268>.
- MADONI, P.; ZANGROSSI, S.. Ciliated protozoa and saprobial evaluation of water quality in the Taro River (northern Italy). **Italian Journal Of Zoology**, v. 72, n. 1, p. 21-25, 2005. <http://dx.doi.org/10.1080/11250000509356648>.
- MAGRINI, M. J; FREITAS, A. V. L; UEHARA-PRADO, M.. The effects of four types of anthropogenic disturbances on composition and abundance of terrestrial isopods (Isopoda: oniscidea). **Zoologia (Curitiba)**, v. 28, n. 1, p. 63-71, 2011. <http://dx.doi.org/10.1590/s1984-46702011000100010>.

- MAGURRAN, A. E. Measuring biological diversity blackwell science. **Biological diversity: frontiers in measurement and assessment**. Oxford, v. 105, 2005.
- MAGURRAN, A. E.; MCGILL, B. J. (Ed.). **Biological diversity: frontiers in measurement and assessment**. Oxford University Press, 2011.
- MARTÍN-CERECEDA, M.; SERRANO, S.; GUINEA, A.. A comparative study of ciliated protozoa communities in activated-sludge plants. **Fems Microbiology Ecology**, v. 21, n. 4, p. 267-276, 1996. [http://dx.doi.org/10.1016/s0168-6496\(96\)00062-1](http://dx.doi.org/10.1016/s0168-6496(96)00062-1).
- MARTÍN-CERECEDA, M.; SERRANO, S.; GUINEA, A.. Biofilm communities and operational monitoring of a rotating biological contactor system. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 126, n. 3, p. 193-206, 2001. <https://doi.org/10.1023/A:1005291015122>
- MARTÍN-CERECEDA, M., GUINEA, A., BONACCORSO, E., DYAL, P., NOVARINO, G., & FOISSNER, W.. Classification of the peritrich ciliate *Opisthonecta matiensis* (Martín-Cereceda et al. 1999) as *Telotrochidium matiense* nov. comb., based on new observations and SSU rDNA phylogeny. **European Journal of protistology**, v. 43, n. 4, p. 265-279, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.ejop.2007.04.003>
- MAZEL, F.; PENNELL, M. W.; CADOTTE, M. W.; DIAZ, S.; RIVA, G. V.; GRENYER, R.; LEPRIEUR, F.; MOOERS, A. O.; MOUILLOT, David; TUCKER, Caroline M.. Prioritizing phylogenetic diversity captures functional diversity unreliably. **Nature Communications**, v. 9, n. 1, p. 1-9, 2018. <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-018-05126-3>.
- MCGILL, B; ENQUIST, B; WEIHER, E; WESTOBY, M. Rebuilding community ecology from functional traits. **Trends In Ecology & Evolution**, v. 21, n. 4, p. 178-185, 2006. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tree.2006.02.002>.
- MEDEMA, G.; HEIJNEN, L.; ELSINGA, G.; ITALIAANDER, R.; BROUWER, A.. Presence of SARS-Coronavirus-2 RNA in sewage and correlation with reported COVID-19 prevalence in the early stage of the epidemic in the Netherlands. **Environmental Science & Technology Letters**, v. 7, n. 7, p. 511-516, 2020.
- METCALF, E.; EDDY, E. Wastewater engineering: treatment and reuse, McGrawHill. **Inc., New York**, 2003.
- MORETTI, G.; MATTEUCCI, F.; ERCOLE, C.; VEGLIÒ, F.; GALLO, M.. Microbial community distribution and genetic analysis in a sludge active treatment for a complex industrial wastewater: a study using microbiological and molecular analysis and principal component analysis. **Annals Of Microbiology**, v. 66, n. 1, p. 397-405, 2015. <http://dx.doi.org/10.1007/s13213-015-1122-1>.

- MOUCHET, M. A.; VILLÉGER, S.; MASON, N. W. H.; MOUILLOT, D.. Functional diversity measures: an overview of their redundancy and their ability to discriminate community assembly rules. **Functional Ecology**, v. 24, n. 4, p. 867-876, 2010. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2435.2010.01695.x>.
- MOUILLOT, D.; GRAHAM, N. A.J.; VILLÉGER, S.; MASON, N. W.H.; BELLWOOD, D. R.. A functional approach reveals community responses to disturbances. **Trends In Ecology & Evolution**, v. 28, n. 3, p. 167-177, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tree.2012.10.004>.
- NARAYANAN, N.; PRIYA, M.; HARIDAS, A.; MANILAL, V.B.. Isolation and culturing of a most common anaerobic ciliate, *Metopus* sp. **Anaerobe**, v. 13, n. 1, p. 14-20, 2007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anaerobe.2006.10.003>.
- NEVILLE, A.. The ecology and function of Protozoa in sewage purification. **Annals Of Applied Biology**, v. 33, n. 3, p. 314-325, 1946. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1744-7348.1946.tb06320.x>.
- NOYOLA, A.; PADILLA-RIVERA, A.; MORGAN-SAGASTUME, J. M.; GÜERECA, L. P.; HERNÁNDEZ-PADILLA, F.. Typology of Municipal Wastewater Treatment Technologies in Latin America. **Clean - Soil, Air, Water**, v. 40, n. 9, p. 926-932, 2012. <http://dx.doi.org/10.1002/clen.201100707>.
- OBERSCHMIDLEITNER, R. A.; AESCHT, E.. **Taxonomische Untersuchungen über einige Ciliaten (Ciliophora, Protozoa) aus Belebtschlämmen oberösterreichischer Kläranlagen**. na, 1996.
- OKSANEN, J., KINDT, R., LEGENDRE, P., O'HARA, R.B.. Vegan: community ecology package version 2.0-5, 2012. Available at: <http://cran.r-project.org>
- OLIVEIRA, G. S. S.; ARAÚJO, C. V. de M.; FERNANDES, J. G. S.. Microbiologia de sistema de lodos ativados e sua relação com o tratamento de efluentes industriais: a experiência da cetrel. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 14, n. 2, p. 183-191, 2009. <http://dx.doi.org/10.1590/s1413-41522009000200006>.
- OLIVEIRA, S. M. A. C.; VON SPERLING, M.. Avaliação de 166 ETes em operação no país, compreendendo diversas tecnologias. Parte 1: análise de desempenho. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 10, n. 4, p. 347-357, 2005. <http://dx.doi.org/10.1590/s1413-41522005000400011>.
- OWAES, M.; GAUR, R. Z.; HASAN, M. N.; GANI, K. M.; KUMARI, S.; BUX, F.; KHAN, A. A.; KAZMI, A. A.. Performance assessment of aerobic granulation for the post treatment of anaerobic effluents. **Environmental Technology & Innovation**, v. 17, p. 100588-100588, 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eti.2019.100588>.

- PAERL, H. W.; DYBLE, J.; MOISANDER, P. H.; NOBLE, R. T.; PIEHLER, M. F.; PINCKNEY, J. L.; STEPPE, T. F.; TWOMEY, L.; VALDES, L. M.. Microbial indicators of aquatic ecosystem change: current applications to eutrophication studies. **Fems Microbiology Ecology**, v. 46, n. 3, p. 233-246, 2003. [http://dx.doi.org/10.1016/s0168-6496\(03\)00200-9](http://dx.doi.org/10.1016/s0168-6496(03)00200-9).
- PAIVA, T. D.; SILVA-NETO, I. D. D.. Description of *Parentocirrus brasiliensis* sp. n. (Ciliophora: spirotrichea), a new ciliate protist present in activated sludge. **Zootaxa**, v. 504, n. 1, p. 1-10, 2004. <http://dx.doi.org/10.11646/zootaxa.504.1.1>.
- PAPADIMITRIOU, C.A.; PAPTHEODOULOU, A.; TAKAVAKOGLU, V.; ZDRAGAS, A.; SAMARAS, P.; SAKELLAROPOULOS, G.P.; LAZARIDOU, M.; ZALIDIS, G.. Investigation of protozoa as indicators of wastewater treatment efficiency in constructed wetlands. **Desalination**, v. 250, n. 1, p. 378-382, 2010. <http://dx.doi.org/10.1016/j.desal.2009.09.060>.
- PASSOS, F.; BRESSANI-RIBEIRO, T.; REZENDE, S.; CHERNICHARO, C. A. L.. Potential Applications of Biogas Produced in Small-Scale UASB-Based Sewage Treatment Plants in Brazil. **Energies**, v. 13, n. 13, p. 3356-3356, 2020. <http://dx.doi.org/10.3390/en13133356>.
- PAULI, W.; JAX, K.; BERGER, S.. Protozoa in wastewater treatment: function and importance. In: **Biodegradation and persistence**. Springer, Berlin, Heidelberg, 2001. p. 203-252.
- PAVOINE, S.; VALLET, J.; DUFOUR, A.; GACHET, S.; DANIEL, H.. On the challenge of treating various types of variables: application for improving the measurement of functional diversity. **Oikos**, v. 118, n. 3, p. 391-402, 2009. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0706.2008.16668.x>.
- PÉREZ-ELVIRA, S. I.; DIEZ, P. Nieto; FDZ-POLANCO, F.. Sludge minimisation technologies. **Reviews In Environmental Science And Bio/technology**, v. 5, n. 4, p. 375-398, 2006. <http://dx.doi.org/10.1007/s11157-005-5728-9>.
- PÉREZ-UZ, B.; ARREGUI, L.; CALVO, P.; SALVADÓ, H.; FERNÁNDEZ, N.; RODRÍGUEZ, E.; ... ; SERRANO, S.. Efficiency of nitrogen removal and protist communities: the potential for introduction of novel biological index. In: **Proceedings of the International Workshop on Integrated vision of urban and agro-industrial wastewater treatment, monitoring and reclamation: key role played by the Wastewater Treatment Plant. ISRIM/LIFE**. 2009. p. 1-9.
- PÉREZ-UZ, B., FRANCO, C., MARTÍN-CERECEDA, M., ARREGUI, L., CAMPOS, I., SERRANO, S., ... & FERNÁNDEZ-GALIANO, D.. Biofilm characterization of several wastewater treatment plants with rotating biological contactors in Madrid (Spain). **Water Science and Technology**, v. 37, n. 4-5, p. 215-218, 1998.

- PETCHEY, O. L.; GASTON, K. J.. Functional diversity (FD), species richness and community composition. **Ecology Letters**, v. 5, n. 3, p. 402-411, 2002. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1461-0248.2002.00339.x>.
- PETCHEY, O. L.; GASTON, K. J.. Functional diversity: back to basics and looking forward. **Ecology Letters**, v. 9, n. 6, p. 741-758, 2006. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1461-0248.2006.00924.x>.
- PIANKA, E. R.. Latitudinal gradients in species diversity: a review of concepts. **The American Naturalist**, v. 100, n. 910, p. 33-46, 1966.
- PIELOU, E. C.. Ecological Diversity Wiley & Sons. **New York**, 1975.
- PILLAI, S. C.; SUBRAHMANYAN, V.. Role of Protozoa in the Activated Sludge Process. **Nature**, v. 150, n. 3809, p. 525-525, 1942. <http://dx.doi.org/10.1038/150525a0>.
- PILLAI, S. C.; SUBRAHMANYAN, V.. Role of Protozoa in the Aerobic Purification of Sewage. **Nature**, v. 154, n. 3901, p. 179-180, 1944. <http://dx.doi.org/10.1038/154179b0>.
- PLA, L.; CASANOVES, F.; DI RIENZO, J.. **Quantifying functional biodiversity**. Springer Science & Business Media, 2011.
- PRATT, J. R.; CAIRNS, J.. Functional Groups in the Protozoa: roles in differing ecosystems^{1,2}. **The Journal Of Protozoology**, v. 32, n. 3, p. 415-423, 1985. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1550-7408.1985.tb04037.x>.
- PRINZING, A.; DURKA, W.; KLOTZ, S.; BRANDL, R.. The niche of higher plants: evidence for phylogenetic conservatism. **Proceedings Of The Royal Society Of London. Series B: Biological Sciences**, v. 268, n. 1483, p. 2383-2389, 2001. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2001.1801>.
- PRIYA, M.; HARIDAS, A.; MANILAL, V. B.. Anaerobic protozoa and their growth in biomethanation systems. **Biodegradation**, v. 19, n. 2, p. 179-185, 2007. <http://dx.doi.org/10.1007/s10532-007-9124-8>.
- PRÜSS-ÜSTÜN, A.; WOLF, J.; CORVALÁN, C.; BOS, R.; NEIRA, M. **Preventing disease through healthy environments: a global assessment of the burden of disease from environmental risks**. World Health Organization, 2016.
- PUYTORAC, P.; BATISSE, A.; DEROUX, G.; FLEURY, A.; GRAIN, J.; LAVAL-PEUTO, M.; TUFFRAU, M.. Proposition of a new classification of the phylum of the protozoa Ciliophora Doflein, 1901. **Comptes rendus de l'Academie des sciences. Serie III, Sciences de la vie**, v. 316, n. 8, p. 716-720, 1994.

- R CORE TEAM. R: **A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2015. Disponível em: URL <http://www.R-project.org/>.
- RAO, C. R.. Diversity and dissimilarity coefficients: a unified approach. **Theoretical Population Biology**, v. 21, n. 1, p. 24-43, 1982. [http://dx.doi.org/10.1016/0040-5809\(82\)90004-1](http://dx.doi.org/10.1016/0040-5809(82)90004-1).
- REHMAN, A.; SHAKOORI, F. R.; SHAKOORI, A. R. Heavy metal resistant ciliate, *Euplotes mutabilis*, isolated from industrial effluents can decontaminate wastewater of heavy metals. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v. 76, n. 6, p. 907-913, 2006. <https://doi.org/10.1007/s00128-006-1004-0>
- RICOTTA, C.. Through the Jungle of Biological Diversity. **Acta Biotheoretica**, v. 53, n. 1, p. 29-38, 2005. <http://dx.doi.org/10.1007/s10441-005-7001-6>.
- RICOTTA, C.; MORETTI, Marco. CWM and Rao's quadratic diversity: a unified framework for functional ecology. **Oecologia**, v. 167, n. 1, p. 181-188, 2011. <http://dx.doi.org/10.1007/s00442-011-1965-5>.
- RITCHIE, H.. "**Sanitation**". 2015. Published online at OurWorldInData.org. Retrieved from: 'https://ourworldindata.org/sanitation' [Online Resource]
- RUSTEN, B.; EIKEBROKK, B.; ULGENES, Y.; LYGREN, E.. Design and operations of the Kaldnes moving bed biofilm reactors. **Aquacultural Engineering**, v. 34, n. 3, p. 322-331, 2006. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaeng.2005.04.002>.
- SAITO, V. S.; SIQUEIRA, T.; FONSECA-GESSNER, A. A.. Should phylogenetic and functional diversity metrics compose macroinvertebrate multimetric indices for stream biomonitoring? **Hydrobiologia**, v. 745, n. 1, p. 167-179, 2014. <http://dx.doi.org/10.1007/s10750-014-2102-3>.
- SALVADÓ, H.; GRACIA, M.P.; AMIGÓ, J.M.. Capability of ciliated protozoa as indicators of effluent quality in activated sludge plants. **Water Research**, v. 29, n. 4, p. 1041-1050, 1995. [http://dx.doi.org/10.1016/0043-1354\(94\)00258-9](http://dx.doi.org/10.1016/0043-1354(94)00258-9).
- SALVADÓ, H., MAS, M., MENENDEZ, S., & GRACIA, M. P.. Effects of shock loads of salt on protozoan communities of activated sludge. **Acta Protozoologica**, v. 40, n. 3, p. 177-186, 2001.
- SANASA. www.sanasa.com.br, accessed 30 november 2012.

- SEGOVIA, B. T.; LANSAC-TOHA, F. M.; MEIRA, B. R. de; CABRAL, A. F.; LANSAC-TÔHA, F. A.; VELHO, L. F. M.. Anthropogenic disturbances influencing ciliate functional feeding groups in impacted tropical streams. **Environmental Science And Pollution Research**, v. 23, n. 19, p. 20003-20016, 2016. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-016-71850>.
- SEMBLANTE, G. U.; HAI, F. I.; BUSTAMANTE, H.; PRICE, W. E.; NGHIEM, L. D.. Effects of sludge retention time on oxic-settling-anoxic process performance: biosolids reduction and dewatering properties. **Bioresource Technology**, v. 218, p. 1187-1194, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.07.061>.
- SERRANO, S.; ARREGUI, L.; PEREZ-UZ, B.; CALVO, P.; GUINEA, A.. **Guidelines for the identification of ciliates in wastewater treatment plants**. IWA Publishing, 2008.
- SETUBAL, R. B.; RICCARDI, N.. Long-term effects of fish biomanipulation and macrophyte management on zooplankton functional diversity and production in a temperate shallow lake. **Limnology**, v. 21, n. 3, p. 305-317, 2020a. <http://dx.doi.org/10.1007/s10201-020-00617-z>.
- SETUBAL, R. B.; SODRÉ, E. de O.; MARTINS, T.; BOZELLI, R. L.. Effects of functional diversity and salinization on zooplankton productivity: an experimental approach. **Hydrobiologia**, v. 847, n. 13, p. 2845-2862, 2020b. <http://dx.doi.org/10.1007/s10750-020-04276-0>.
- SHANNON, C. E.. A mathematical theory of communication. **The Bell system technical journal**, v. 27, n. 3, p. 379-423, 1948. <https://doi.org/10.1002/j.1538-7305.1948.tb01338.x>
- SHIODE, N.; SHIODE, S.; ROD-THATCHER, E.; RANA, S.; VINTEN-JOHANSEN, P.. The mortality rates and the space-time patterns of John Snow's cholera epidemic map. **International Journal Of Health Geographics**, v. 14, n. 1, p. 1-15, 2015. <http://dx.doi.org/10.1186/s12942-015-0011-y>.
- SHIZHENG, W., ZHENGXUE, M.. *Propyxidium elongatum* n. sp. the ciliate of genus *Propyxidium* from industrial wastewater of Yinchuan, China. In: Asai, H., Naitoh, Y. (Eds.), **Proceedings of the 4th Asian Conference on Ciliate Biology and the International Symposium on Cell Motility and Cytogenesis**. Tokyo, pp.234–236, 1995.
- SIKDER, M. N. A.; BAI, X.; WARREN, A.; XU, H.. An approach to determining homogeneity in taxonomic breadth of periphytic ciliate communities in colonization surveys for bioassessment. **Ecological Indicators**, v. 107, p. 105671-105671, 2019. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.105671>.
- SIKOSANA, M. L.; SIKHWIVHILU, K.; MOUTLOALI, R.; MADYIRA, D. M.. Municipal wastewater treatment technologies: a review. **Procedia Manufacturing**, v. 35, p. 1018-1024, 2019. <http://dx.doi.org/10.1016/j.promfg.2019.06.051>.

- SILVA, M.C.L.; VERAS, S. T. S.; PONS, M. N.; SILVA, V. L.; ZOBY JR., L. C.. Aplicação Do Modelo Asml Na Simulação Das Condições Operacionais De Uma Estação De Tratamento De Efluentes Por Lodo Ativado. In: Xix Congresso Brasileiro De Engenharia Química, 2012, Búzios - Rj. **Anais Do Cobeq 2012**, 2012.
- SILVA, R. R. D.; SANTOS, M. B. D.; SANTOS, A. D. D., TAVARES, D. D. S.; & SANTOS, P. L. D. Coronavirus disease and basic sanitation: too early to be worried?. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 53, 2020. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0345-2020>
- SILVA, S.B., DA SILVA-NETO, I. D.. Morfologia dos protozoários ciliados presentes em um reator experimental de tratamento de esgoto por processo de lodos ativados. **Revista Brasileira de Zoociências**, v. 3, n. 2, p. 203-229, 2001.
- SIMPSON, E. H.. Measurement of Diversity. **Nature**, v. 163, n. 4148, p. 688-688, 1949. <http://dx.doi.org/10.1038/163688a0>.
- SIQUEIRA-CASTRO, I. C. V.; PAIVA, T. da S.; SILVA-NETO, I. D.. Morphology of *Parastrongylidium estevesi* comb. nov. and *Deviata brasiliensis* sp. nov. (Ciliophora: stichotrichia) from a sewage treatment plant in rio de janeiro, brazil. **Zoologia (Curitiba)**, v. 26, n. 4, p. 774-786, 2009. <http://dx.doi.org/10.1590/s1984-46702009000400024>.
- SIQUEIRA-CASTRO, I. C. V.; GREINERT-GOULART, J. A.; ROSSETTO, R.; GUIMARÃES, J. R.; FRANCO, R. M. B.. Ciliated protozoa community of a combined UASB-activated sludge system in southeastern Brazil. **Environmental Science And Pollution Research**, v. 23, n. 23, p. 23804-23814, 2016. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-016-7591-3>.
- SMETI, E.; VON SCHILLER, D.; KARAOUZAS, I.; LASCHOU, S.; VARDAKAS, L.; SABATER, S.; TORNÉS, E.; MONLLOR-ALCARAZ, L. S.; GUILLEM-ARGILES, N.; MARTINEZ, E.. Multiple stressor effects on biodiversity and ecosystem functioning in a Mediterranean temporary river. **Science Of The Total Environment**, v. 647, p. 1179-1187, 2019. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.105>.
- SODRÉ, E. de O.; LANGLAIS-BOURASSA, A.; POLLARD, A. I; BEISNER, B.. Functional and taxonomic biogeography of phytoplankton and zooplankton communities in relation to environmental variation across the contiguous USA. **Journal Of Plankton Research**, v. 42, n. 2, p. 141-157, 2020. <http://dx.doi.org/10.1093/plankt/fbaa002>.
- SOLA, A.; SERRANO, S.; GUINEA, A.. Influence of environmental characteristics on the distribution of ciliates in the River Henares (Central Spain). **Hydrobiologia**, v. 324, n. 3, p. 237-252, 1996. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00016396>.

- SOUZA, G.N. **Diversidade biológica: problemas, soluções e novas propostas**. 2019. 176 p. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2019.
- SOUZA, J.T.; FORESTI, E.. Domestic sewage treatment in an upflow anaerobic sludge blanket – sequencing batch reactor system. **Wat. Sci. Tech.**, v. 33, n. 3, p. 73–84, 1996.
- SPARAGANO, O.; GROLIÈRE, C.. Evaluation de la qualité des eaux d'une rivière avec les protozoaires ciliés comme bioindicateurs de pollution. Comparaison avec la physico-chimie. **Hydroécologie Appliquée**, v. 3, p. 43-62, 1991. <http://dx.doi.org/10.1051/hydro:1991103>.
- STEVENS, R. D.; WILLIG, M. R.; FOX, I. G.. Comparative community ecology of bats from eastern paraguay: taxonomic, ecological, and biogeographic perspectives. **Journal Of Mammalogy**, v. 85, n. 4, p. 698-707, 2004. <http://dx.doi.org/10.1644/bwg-128>.
- SUDING, K. N.; LAVOREL, S.; CHAPIN, F. S.; CORNELISSEN, J. H. C.; DÍAZ, S.; GARNIER, E.; GOLDBERG, D.; HOOPER, D. U.; JACKSON, S. T.; NAVAS, M.. Scaling environmental change through the community-level: a trait-based response-and-effect framework for plants. **Global Change Biology**, v. 14, n. 5, p. 1125-1140, 2008. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2486.2008.01557.x>.
- TAYLOR, W. D.. Temporal Heterogeneity and the Ecology of Lotic Ciliates. **Perspectives In Running Water Ecology**, p. 209-224, 1981. http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4684-1122-5_9.
- TILMAN, D.. Functional diversity. **Encyclopedia of biodiversity**, v. 3, n. 1, p. 109-120, 2001. <https://doi.org/10.1006/rwbd.1999.0154>
- TOMAN, M. J.. Biological assessment of wastewater treatment plant conditions using sludge biotic index. **Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie: Verhandlungen**, v. 28, n. 2, p. 692-694, 2002. <https://doi.org/10.1080/03680770.2001.11901802>
- TOUSSAINT, A.; CHARPIN, N.; BROSSE, S.; VILLÉGER, S.. Global functional diversity of freshwater fish is concentrated in the Neotropics while functional vulnerability is widespread. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 1-9, 2016. <https://doi:10.1038/srep22125>
- UN, General Assembly. **Transforming our world: the 2030 Agenda for Sustainable Development**, 21 outubro 2015, A/RES/70/1. Disponível em: <https://www.refworld.org/docid/57b6e3e44.html> [acessado em 19 de agosto de 2020].
- VAN HAANDEL, A. C.; LETTINGA, G.. Anaerobic sewage treatment. **Jhon wiley & sons, London, England**, 1994.

- VANDEVIVERE, P.. New and Broader Applications of Anaerobic Digestion. **Critical Reviews In Environmental Science And Technology**, v. 29, n. 2, p. 151-173, 1999. <http://dx.doi.org/10.1080/10643389991259191>.
- VILAS-BOAS, J. A.; ARENAS-SÁNCHEZ, A.; VIGHI, M.; ROMO, S.; BRINK, P. J. D.; DIAS, R. J. P.; RICO, A.. Multiple stressors in Mediterranean coastal wetland ecosystems: influence of salinity and an insecticide on zooplankton communities under different temperature conditions. **Chemosphere**, v. 269, p. 129381-129381, 2021. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.129381>.
- VILLÉGER, S.; MASON, N. W. H.; MOUILLOT, D.. New multidimensional functional diversity indices for a multifaceted framework in functional ecology. **Ecology**, v. 89, n. 8, p. 2290-2301, 2008. <http://dx.doi.org/10.1890/07-1206.1>.
- VINARDELL, S.; ASTALS, S.; PECES, M.; CARDETE, M.A.; FERNÁNDEZ, I.; MATA-ALVAREZ, J.; DOSTA, J.. Advances in anaerobic membrane bioreactor technology for municipal wastewater treatment: a 2020 updated review. **Renewable And Sustainable Energy Reviews**, v. 130, p. 109936-109936, 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2020.109936>.
- VIOLLE, C.; NAVAS, M.; VILE, D.; KAZAKOU, E.; FORTUNEL, C.; HUMMEL, I.; GARNIER, E.. Let the concept of trait be functional! **Oikos**, v. 116, n. 5, p. 882-892, 2007. <http://dx.doi.org/10.1111/j.0030-1299.2007.15559.x>.
- VISVANATHAN, C.; AIM, R. B.; PARAMESHWARAN, K.. Membrane Separation Bioreactors for Wastewater Treatment. **Critical Reviews In Environmental Science And Technology**, v. 30, n. 1, p. 1-48, 2000. <http://dx.doi.org/10.1080/10643380091184165>.
- VON SPERLING, M.. **Lodos ativados**. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 428p., 1997.
- VON SPERLING, M.. **Princípios básicos do tratamento de esgotos**. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.
- VON SPERLING, M.. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. Universidade Federal de Minas Gerais, 4ª Ed., Belo Horizonte, 2014.
- VON SPERLING, M.; CHERNICHARO, C. A. L. Selection of wastewater treatment systems in urban areas. Comparison between conventional aerobic systems (activated sludge) and anaerobic-aerobic systems (UASB-activated sludge). **Anais, V Taller-Seminario Latinoamericano de Digestion Anaerobia**, 1998.

- VON SPERLING, M.; FREIRE, V. H.; CHERNICHARO, C. A. L.. Performance evaluation of a UASB - activated sludge system treating municipal wastewater. **Water Science And Technology**, v. 43, n. 11, p. 323-328, 2001. <http://dx.doi.org/10.2166/wst.2001.0698>.
- VON SPERLING, M., CHERNICHARO, C.A.L.. **Biological wastewater treatment in warm climate regions**. IWA publishing, v. 1, p. 635, 2005.
- WARTECKI, A.; RZYMSKI, P.. On the Coronaviruses and Their Associations with the Aquatic Environment and Wastewater. **Water**, v. 12, n. 6, p. 1598-1598, 2020. <http://dx.doi.org/10.3390/w12061598>.
- WATSON, J. M.. Mechanism of Bacterial Flocculation caused by Protozoa. **Nature**, v. 155, n. 3931, p. 271-272, mar. 1945. <http://dx.doi.org/10.1038/155271b0>.
- WEBB, C. O.; ACKERLY, D. D.; MCPEEK, M. A.; DONOGHUE, M. J.. Phylogenies and Community Ecology. **Annual Review Of Ecology And Systematics**, v. 33, n. 1, p. 475-505, 2002. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.33.010802.150448>.
- WEIGELT, A.; SCHUMACHER, J.; ROSCHER, C.; SCHMID, B.. Does biodiversity increase spatial stability in plant community biomass? **Ecology Letters**, v. 11, n. 4, p. 338-347, 2008. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1461-0248.2007.01145.x>.
- WEISSE, T.. Functional diversity of aquatic ciliates. **European Journal Of Protistology**, v. 61, p. 331-358, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejop.2017.04.001>.
- WHO, WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines on sanitation and health**. 2018.
- WHO, UNICEF. **Progress on Drinking Water, Sanitation and Hygiene: 2017 Update and SDG Baselines**. World Health Organization, United Nations Children's Fund. Geneva, 2017.
- WHO, UNICEF. **Progress on household drinking water, sanitation and hygiene 2000-2017. Special focus on inequalities**. World Health Organization, United Nations Children's Fund. New York, 2019.
- WILÉN, B.; LUMLEY, D.; MATTSSON, A.; MINO, T.. Relationship between floc composition and flocculation and settling properties studied at a full scale activated sludge plant. **Water Research**, v. 42, n. 16, p. 4404-4418, 2008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2008.07.033>.
- WONG, M. C.; DOWD, M.. Patterns in Taxonomic and Functional Diversity of Macroinvertebrates Across Seagrass Habitats: a case study in atlantic canada. **Estuaries And Coasts**, v. 38, n. 6, p. 2323-2336, 2015. <http://dx.doi.org/10.1007/s12237-015-9967-x>.

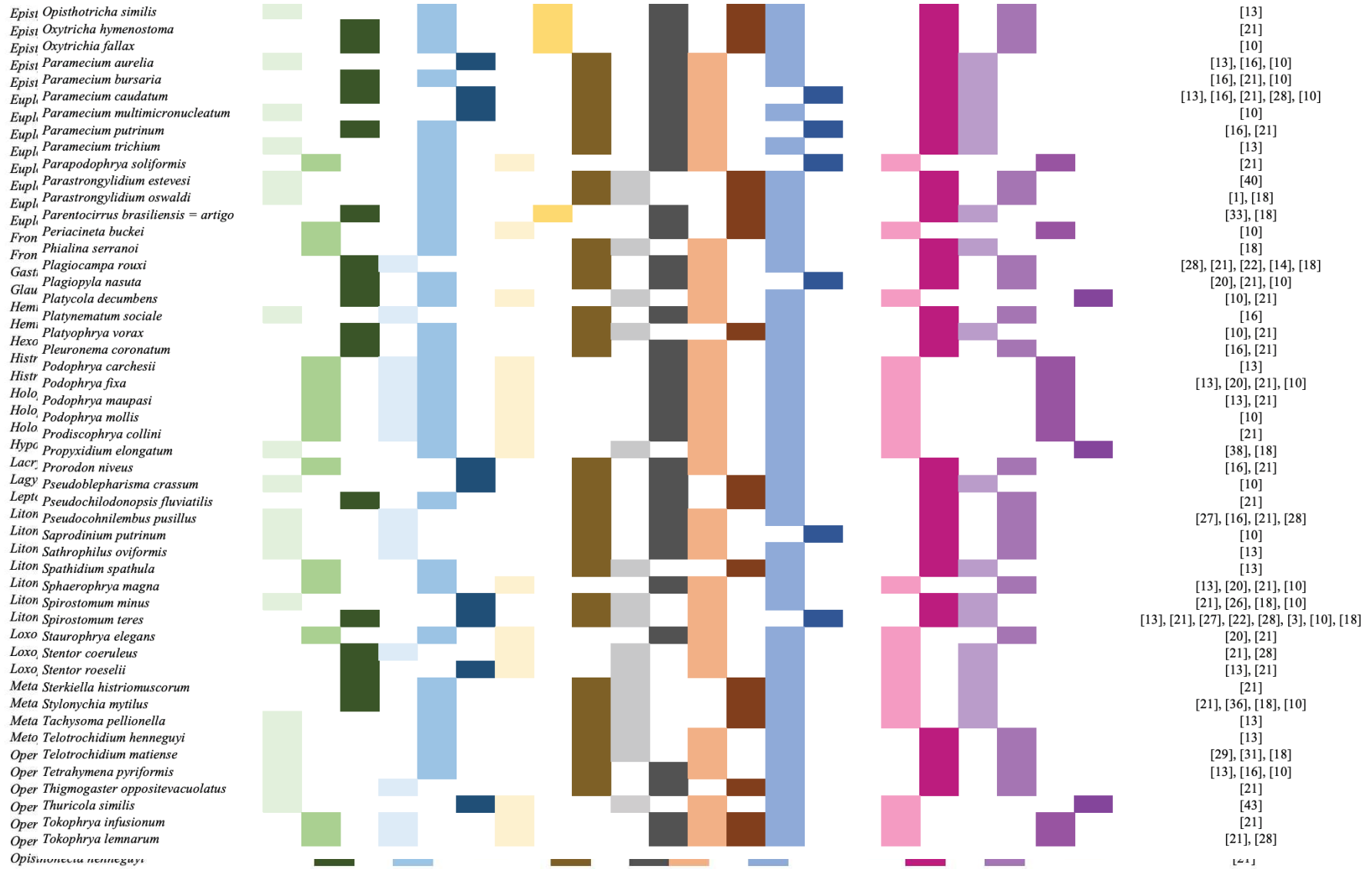
- XU, G.; YANG, E.; LEE, Y.; KANG, S.. Vertical shift in ciliate body-size spectrum and its environmental drivers in western Arctic pelagic ecosystems. **Environmental Science And Pollution Research**, v. 25, n. 19, p. 19082-19091, 2018a. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-018-2094-z>.
- XU, G.; ZHONG, X.; AL, M. A.; WARREN, A.; XU, H.. Identifying bioindicators across trait-taxon space for assessing water quality in marine environments. **Marine Pollution Bulletin**, v. 131, p. 565-571, 2018b. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.04.044>.
- XU, H.; YONG, J.; XU, G.. Bioassessment of water quality status using a potential bioindicator based on functional groups of planktonic ciliates in marine ecosystems. **Marine Pollution Bulletin**, v. 110, n. 1, p. 409-414, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.06.033>.
- XU, H.; ZHANG, W.; JIANG, Y.. Do early colonization patterns of periphytic ciliate fauna reveal environmental quality status in coastal waters? **Environmental Science And Pollution Research**, v. 21, n. 11, p. 7097-7112, 2014. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-014-2615-3>.
- XU, Y.; SOININEN, J. Spatial patterns of functional diversity and composition in marine benthic ciliates along the coast of China. **Marine Ecology Progress Series**, v. 627, p. 49-60, 2019. <http://dx.doi.org/10.3354/meps13086>.
- XU, Y.; YAO, S.; SOETAERT, K.; FAN, X. Effects of salt marsh restoration on eukaryotic microbenthic communities in the Yangtze Estuary. **Marine Ecology Progress Series**, v. 638, p. 39-50, 2020. <http://dx.doi.org/10.3354/meps13242>.
- XU, Y.; FAN, X.; WARREN, A.; ZHANG, L.; XU, H.. Functional diversity of benthic ciliate communities in response to environmental gradients in a wetland of Yangtze Estuary, China. **Marine Pollution Bulletin**, v. 127, p. 726-732, 2018a. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.12.068>.
- XU, Y.; STOECK, T.; FORSTER, D.; MA, Z.; ZHANG, L.; FAN, X.. Environmental status assessment using biological traits analyses and functional diversity indices of benthic ciliate communities. **Marine Pollution Bulletin**, v. 131, p. 646-654, 2018b. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.04.064>.
- YANG, J.; JIANG, Y.; HU, X.. The relationship between protistan community and water quality along the coast of Qingdao. **Acta Ecologica Sinica**, v. 32, n. 6, p. 1703-1712, 2012.
- YANNOPOULOS, S.; YAPIJAKIS, C.; KAIIFA-SAROPOULOU, A.; ANTONIOU, G.; ANGELAKIS, A. N.. History of sanitation and hygiene technologies in the Hellenic world. **Journal Of Water, Sanitation And Hygiene For Development**, v. 7, n. 2, p. 163-180, 2017. <http://dx.doi.org/10.2166/washdev.2017.178>.

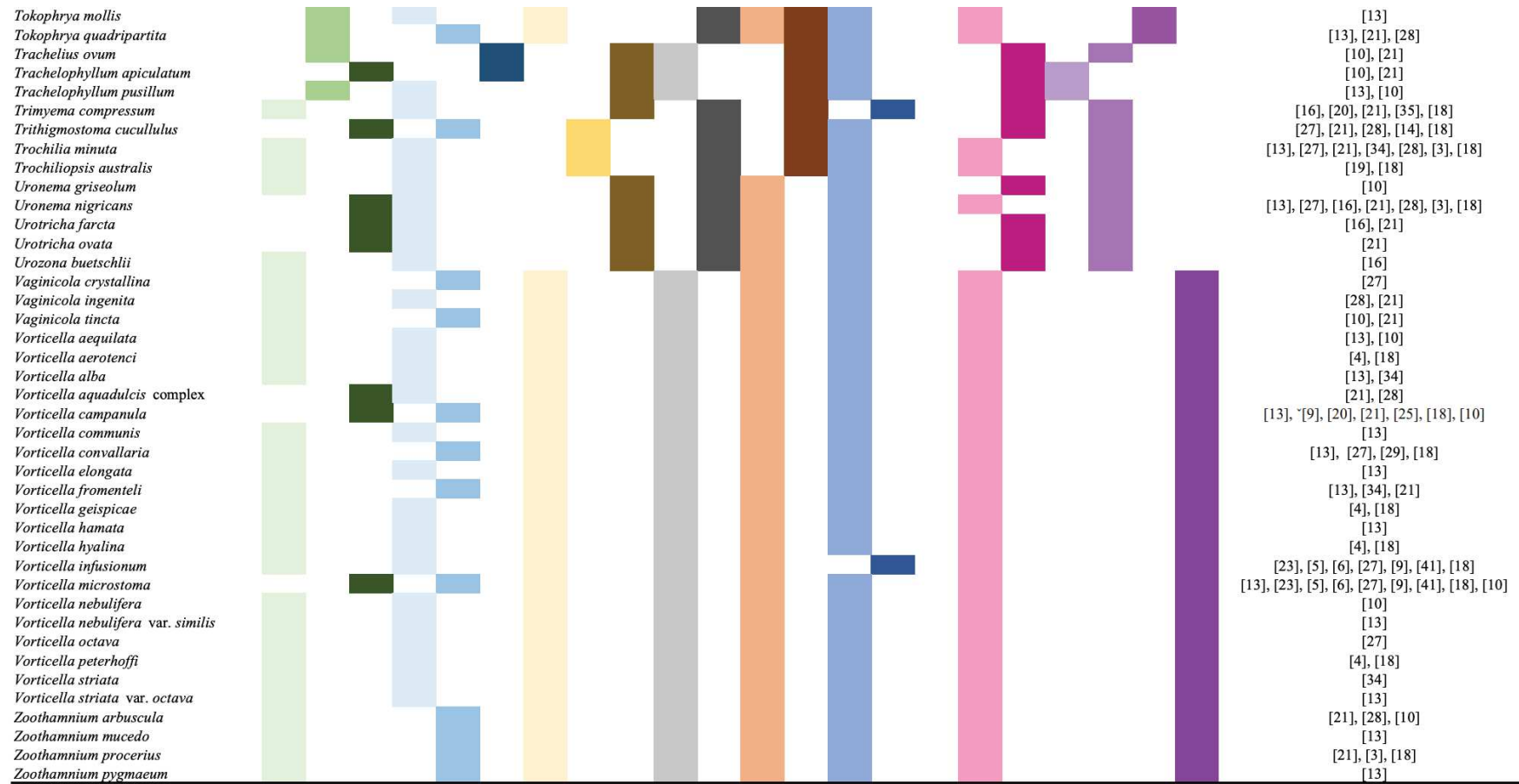
- ZHANG, S.; WANG, Y.; HE, W.; XING, M.; WU, M.; YANG, J.; GAO, N.; SHENG, G.; YIN, D.; LIU, S.. Linking nitrifying biofilm characteristics and nitrification performance in moving-bed biofilm reactors for polluted raw water pretreatment. **Bioresource Technology**, v. 146, p. 416-425, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2013.07.056>.
- ZHAO, L., XU, G., WANG, Z., XU, H.. Body-size spectra of biofilm-dwelling protozoa and their seasonal shift in coastal ecosystems. **Eur. J. Protistol.** v. 56, p. 32–40, 2016.
- ZHONG, X.; XU, G.; MIN, G.; KIM, S.; XU, H.. Insight into tidal disturbance on colonization surveys for marine bioassessment using periphytic ciliates based on biological trait analysis. **Marine Pollution Bulletin**, v. 149, p. 110584-110584, 2019. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.110584>.
- ZHONG, X.; XU, G.; XU, H.. Use of multiple functional traits of protozoa for bioassessment of marine pollution. **Marine Pollution Bulletin**, v. 119, n. 2, p. 33-38, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.03.043>.
- ZHOU, K., XU, M., DAI, J., & CAO, H.. The microfauna communities and operational monitoring of an activated sludge plant in China. **European journal of protistology**, v. 42, n. 4, p. 291-295, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.ejop.2006.07.005>
- ZHOU, K.; XU, M.; LIU, B.; CAO, H.. Characteristics of microfauna and their relationships with the performance of an activated sludge plant in China. **Journal Of Environmental Sciences**, v. 20, n. 4, p. 482-486, 2008. [http://dx.doi.org/10.1016/s1001-0742\(08\)62083-5](http://dx.doi.org/10.1016/s1001-0742(08)62083-5).

APÊNDICE A – Traços escolhidos, significado e aplicação em estação de tratamento de esgoto.

Traços	Categorias	Descrição
Preferência alimentar	Bacterívoro	Se alimenta de bactérias
	Carnívoro	Se alimenta flagelados e ciliados
	Onívoro	Se alimenta de bactérias e algas
Tamanho do corpo	Pequeno	Célula medindo <50µm
	Intermediário	Célula medindo entre 50 e 150µm
	Grande	Célula medindo >150µm
Forma de locomoção	Séssil	Permanece fixo
	Rastejante	Locomoção por rastejamento
	Livre Natante	Lomoção por livre natação
Flexibilidade do corpo	Flexível	Célula flexível, contrátil ou ambos
	Não flexível	Célula não flexível e não contrátil
Geometria corporal	Cilíndrico	Célula com formato cilíndrico
	Dorsoventralmente achatado	Célula dorsoventralmente achatada
Respiração	Aeróbia	Na presença de oxigênio
	Anaeróbia	Na ausência de oxigênio
Formação de floco	Formam floco	Possui apacidade de estruturar o floco biológico
	Não formam floco	Não possui capacidade de estruturar o floco biológico

APÊNDICE B – Composição de espécies de protistas ciliados presentes em sistemas de tratamento de esgotos e seus respectivos traços funcionais. 1 - tipo de alimentação: a- bacterívoro, b- carnívoro, c- onívoro; 2 – tamanho do corpo: d- <50µm, e- 50-150µm, f- >150µm; 3 – locomoção: g- sésil, h- rastejante, i- livre natante; 4 – flexibilidade do corpo: j- flexível, k- não flexível; 5 – volume/geometria corporal: l- cilíndrico, m- dorsoventralmente achatado; 6 – respiração: n – aeróbia, o- anaeróbia; 7 – formação de floco: p- formam, q- não formam; 8 – formato do corpo: r- alongado, s- oval/arredondado, t-pedunculado com tentáculo, u- pedunculado sem tentáculo.





[1] Aescht & Foissner, 1992; [2] Arregui et al., 2010; [3] Arregui et al., 2013; [4] Banina, 1983; [5] Bayerisches Landesamt für Wasserwirtschaft, 1992; [6] Bayerisches Landesamt für Wasserwirtschaft, 1999; [7] Becares & Foissner, 1994; [8] Berger & Foissner, 2004; [9] Cech et al., 1994; [10] Cetesb, 1985; [11] Chaudhry & Shakoobi, 2012; [12] Cingolani et al., 1991; [13] Curds, 1970b; [14] Dubber & Gray, 2011; [15] Foissner, 1993; [16] Foissner et al., 1994; [17] Foissner, 2000; [18] Foissner, 2016; [19] Foissner et al., 1988; [20] Foissner et al., 1995; [21] Foissner & Berger, 1996; [22] Ganner et al., 2002; [23] Gori et al., 1991; [24] Liebmann, 1936; [25] Lee et al., 2004; [26] Luna-Pabello et al., 1996; [27] Madoni, 1994; [28] Madoni, 2011; [29] Martin-Cereceda et al., 1996; [30] Martin-Cereceda et al., 2001; [31] Martin-Cereceda et al., 2007; [32] Oberschmidleitner & Aescht, 1996; [33] Paiva & Silva-Neto, 2004; [34] Pauli, 2001; [35] Pérez-Uz et al., 1998; [36] Rehman et al., 2006; [37] Salvadó et al., 2001; [38] Shizheng & Zhengxue, 1995; [39] Silva & Silva-Neto, 2001; [40] Siqueira-Castro et al., 2009; [41] Toman, 2002; [42] Zhou et al., 2006; [43] Liao et al., 2021; [44] Canals & Salvadó, 2016.