



**CONFORME SOLICITAÇÃO DO AUTOR, ESTA  
PRODUÇÃO INTELECTUAL POSSUI  
RESTRIÇÃO DE ACESSO**

**CAXIAS DO SUL  
2022**

**UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL**  
**ÁREA DE CONHECIMENTO CIÊNCIAS DA VIDA**  
**INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

**CARACTERIZAÇÃO SAZONAL DA MICROBIOTA**  
**PROCARIOTE DE REATORES ANAERÓBIOS DO TIPO UASB**  
**EM ESCALA REAL TRATANDO ESGOTO DOMÉSTICO NO SUL**  
**DO BRASIL**

**Juliano Gaio**

**CAXIAS DO SUL**

**2022**

Juliano Gaio

**CARACTERIZAÇÃO SAZONAL DA MICROBIOTA  
PROCARIONTE DE REATORES ANAERÓBIOS DO TIPO UASB  
EM ESCALA REAL TRATANDO ESGOTO DOMÉSTICO NO SUL  
DO BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul, como parte dos requisitos para a obtenção de grau de Mestre em Biotecnologia.

**Orientadora:** Profa. Dra. Suelen O. Paesi

**CAXIAS DO SUL**

**2022**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Universidade de Caxias do Sul  
Sistema de Bibliotecas UCS - Processamento Técnico

G143c Gaio, Juliano

Caracterização sazonal da microbiota procarionte de reatores anaeróbios do tipo UASB em escala real tratando esgoto doméstico no sul do Brasil [recurso eletrônico] / Juliano Gaio. – 2022.

Dados eletrônicos.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de Caxias do Sul, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, 2022.

Orientação: Suelen Osmarina Paesi.

Modo de acesso: World Wide Web

Disponível em: <https://repositorio.us.br>

1. Digestão anaeróbia. 2. Biotecnologia. 3. Esgotos. I. Paesi, Suelen O., orient. II. Título.

CDU 2. ed.: 628.336.5.098.4

Catalogação na fonte elaborada pela(o) bibliotecária(o)  
Márcia Servi Gonçalves - CRB 10/1500

**CARACTERIZAÇÃO SAZONAL DA MICROBIOTA  
PROCARIONTE DE REATORES ANAERÓBIOS DO TIPO UASB  
EM ESCALA REAL TRATANDO ESGOTO DOMÉSTICO NO SUL  
DO BRASIL**

Juliano Gaio

Dissertação submetida à banca examinadora designada pela coordenação do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul, como parte dos requisitos para obtenção de grau de Mestre em Biotecnologia.

Aprovada em \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de  
2022

**Banca Examinadora**

---

Orientador: Profa. Dra. Suelen Osmarina Paesi  
Universidade de Caxias do Sul – UCS

---

Prof. Dr. Aldo José Pinheiro Dillon  
Universidade de Caxias do Sul – UCS

---

Profa. Dra. Maria Bernadete Amâncio Varesche  
Universidade de São Paulo – USP

---

Profa. Dra. Claudia Etchebehere  
Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, agradeço a minha esposa Rebeca pelo companheirismo, incentivo e apoio em todas as etapas deste árduo trabalho, mesmo diante de constantes e entediantes diálogos sobre os assuntos suscitados pelo presente pesquisador. Expresso também meus agradecimentos aos colegas do Laboratório de Diagnóstico Molecular pela paciência e apoio prestado na realização de análises e eventuais discussões sobre campos de interesse, sobretudo à colega Naline pelo trabalho, montagem de ensaios e preparo de soluções e à professora Suelen, minha orientadora de mestrado, pelo acolhimento no laboratório, apoio e confiança despendida.

Aproveito para agradecer também aos colegas do SAMAE pela ajuda na realização de coletas e fornecimento de dados de interesse, mas principalmente aos amigos lotados na ETE Pena Branca pelo auxílio e disponibilidade, salientando a ajuda fornecida pelo colega Miguel nas ideias para montagem dos equipamentos utilizados no teste de AME.

Deixo meu agradecimento à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo financiamento da bolsa (taxa escolar) na modalidade Programa de Suporte à Pós-Graduação de Instituições Comunitárias de Educação Superior (PROSUC).

E por fim, agradeço a minha família pelo apoio incondicional e suporte fornecido durante toda a minha breve existência neste vasto Cosmos.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AGV – Ácido Graxo Volátil.
- AME – Atividade Metanogênica Específica.
- ASV – *Amplicon Sequence Variant*.
- BLAST – *Basic Local Alignment Search Tool*.
- CSTR – Continuous Stirred-tank Reactor.
- DBO – Demanda Bioquímica de Oxigênio.
- DGGE – *Denaturant Gradient Gel Electrophoresis*.
- DQO – Demanda Química de Oxigênio.
- EC – *Enzyme Commission Numbers*.
- ETE – Estação de Tratamento de Esgoto.
- FISH – *Fluorescence in Situ Hybridization*.
- Gb – Gigabase.
- IMG – *Integrated Microbial Genomes*.
- KEGG – *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*.
- KO – *KEGG Orthology*.
- LCA – *Lowest Common Ancestor*.
- Mb – Megabase.
- NCBI – *National Center for Biotechnology Information*.
- NGS – *Next-generation Sequencing*.
- OD – Oxigênio Dissolvido.
- OTU – *Operational Taxonomic Unit*.
- pb – Pares de Base.
- PCR – *Polymerase Chain Reaction*.
- PICRUSt2 – *Phylogenetic Investigation of Communities by Reconstruction of Unobserved States*.
- QIIME – *Quantitative Insights into Microbial Ecology*
- RAFA – Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente
- rDNA – Sequência de DNA codificante para RNA ribossômico.
- RDP – *Ribosomal Database Project*.
- rRNA – RNA ribossômico.
- RT-PCR – *Reverse Transcriptase – Polymerase Chain Reaction*.
- SS – Sólidos Sedimentáveis.

SST – Sólidos Suspensos Totais.

SSV – Sólidos Suspensos Voláteis.

STV – Sólidos Totais Voláteis.

TDH – Tempo de Detenção Hidráulica.

UASB – *Upflow Anaerobic Sludge Blanket*.

UC – Unidade de Conservação.

WGS – *Whole Genome Shotgun*.

ZA – Zona de Amortecimento.



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores médios para parâmetros físico-químicos comumente avaliados em esgotos domésticos. ....	16
Tabela 2 – Constituição química de arqueias metanogênicas .....	25
Tabela 3 – Características de algumas plataformas de sequenciamento (NGS).....	37

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Etapas da digestão anaeróbia .....	18
Figura 2 – Esquema de um reator UASB .....	29
Figura 3 – Gene codificante para rRNA 16S, regiões conservadas e suas 9 regiões hipervariáveis.....	35

## RESUMO

Processos de digestão anaeróbia têm sido empregados com sucesso na remoção de poluentes em águas residuárias e nesse contexto, reatores do tipo *Upflow Anaerobic Sludge Blanket* (UASB) são alternativas de tratamento utilizadas em diferentes partes do globo, entretanto em ambientes temperados estão sujeitos a forte influência sazonal. O monitoramento dessas unidades em Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs) é comumente realizado mediante análises físico-químicas, logo aspectos relativos à ecologia microbiana são controlados de forma indireta. Dessa forma, entender a dinâmica estrutural da microbiota nesses ambientes é fundamental para propor alternativas para melhorar a qualidade dos efluentes tratados. Neste estudo, durante um ano, sequenciamento de alto desempenho associado a ferramentas de bioinformática, para anotação taxonômica e predição funcional, foram utilizados na caracterização da comunidade microbiana presente no lodo de biodigestores em escala real, tratando esgoto doméstico em temperatura ambiente. Entre os filos mais representativos destacaram-se Desulfobacterota (20,21–28,64%), Proteobacteria (7,48–24,90%), Bacteroidota (10,05–18,37%), Caldisericota (9,49–17,20%) e Halobacterota (3,23– 6,55%). O gênero *Methanolinea* esteve vinculado à eficiência na remoção da Demanda Química de Oxigênio (DQO), *Bacteroidetes\_VadinHA17* à concentração de ácidos graxos voláteis (AGVs) e *CI75cm.2.12* ao aumento da temperatura. Por outro lado, *Desulfovibrio*, *Spirochaetaceae\_uncultured*, *Methanosaeta*, *Lentimicrobiaceae\_unclassified* e *ADurb.Bin063-1* apresentaram importância na formação da comunidade microbiana em rede de co-ocorrência. Entre as principais funções metabólicas associadas à comunidade, o metabolismo de proteínas e aminoácidos destacou-se (7,74–8,00%) e genes ligados ao metabolismo de AGVs apresentaram maior abundância relativa para os períodos de outono e inverno ( $15,36 \pm 5,46^{\circ}\text{C}$ ), coincidindo com a maior riqueza e equitatividade registrada. Apesar das diferenças de diversidade e composição taxonômica entre os períodos, não foram observadas alterações significativas na eficiência dos biodigestores. O presente estudo contribuiu para entender a dinâmica de comunidades microbianas que atuam na digestão anaeróbia de esgotos domésticos pouco concentrados sob influência de fatores sazonais, fornecendo indícios para potenciais aplicações do lodo, melhorias em processos operacionais e eficiência de tratamento.

**Palavras-chave:** Digestão anaeróbia; Atividade metanogênica específica; comunidade microbiana; rede de co-ocorrência; picrust2.

## ABSTRACT

Anaerobic digestion processes have been successfully used to remove pollutants in wastewater. In this context, Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) reactors are treatment alternatives used in different parts of the world; however, in temperate environments, they are subject to a strong seasonal influence. The operational control of these units in Wastewater Treatment Plants (WWTPs) is commonly done through physical-chemical analyses, so aspects related to microbial ecology are controlled indirectly. Thus, understanding the structural dynamics of the microbiota in these environments is essential to propose alternatives to improve the quality of treated effluents. In this study, for one year, high-performance sequencing, associated with bioinformatics tools for taxonomic annotation and functional prediction, was used to characterize the microbial community present in the sludge of biodigesters on full-scale, treating domestic sewage at ambient temperature. Among the most representative phyla stood out Desulfobacterota (20.21–28.64%), Proteobacteria (7.48–24.90%), Bacteroidota (10.05–18.37%), Caldisericota (9.49–17.20%), and Halobacterota (3.23–6.55%). The genus *Methanolinea* was linked to the efficiency in removing the Chemical Oxygen Demand (COD), *Bacteroidetes\_VadinHA17* to the concentration of volatile fatty acids (VFAs), and *CI75cm212* to the increase in temperature. In addition to these taxonomic elements, groups such as *Desulfovibrio*, Spirochaetaceae\_uncultured, *Methanosaeta*, Lentimicrobiaceae\_unclassified, and ADurb.Bin063-1 were important in shaping the microbial community in a co-occurrence network. Among the principal metabolic functions associated with the community, protein and amino acid metabolism stood out (7.74–8.00%), and genes linked to VFA metabolism showed higher relative abundance for the autumn and winter periods ( $15.36 \pm 5.46^{\circ}\text{C}$ ), coinciding with the highest richness and evenness recorded. Despite the differences in diversity and taxonomic composition between the periods, no significant changes were observed in the efficiency of the biodigesters. The present study contributed to understanding the dynamics of microbial communities that act in the anaerobic digestion of low-concentrated domestic sewage under the influence of seasonal factors, providing evidence for potential sludge applications, improvements in operational processes, and treatment efficiency.

**Keywords:** Anaerobic digestion; Specific methanogenic activity; Microbial community; co-occurrence network; picrust2;