



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
CURSO DE GRADUAÇÃO
BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS COM ÊNFASE EM CIÊNCIAS
AMBIENTAIS

RYAN FERREIRA DE MELO

**POTENCIAL DE LENTILHA D'ÁGUA (LEMNA SP.) PARA A BIORREMEDIAÇÃO
DE EFLUENTES DERIVADOS DE BIODIGESTORES**

Recife

2023

RYAN FERREIRA DE MELO

**POTENCIAL DE LENTILHA D'ÁGUA (LEMNA SP.) PARA A BIORREMEDIAÇÃO
DE EFLUENTES DERIVADOS DE BIODIGESTORES**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado ao Bacharelado em Ciências Biológicas com ênfase em Ciências Ambientais da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de bacharel.

Orientador: Aldo Torres Sales

Coorientador: Emmanuel Damilano Dutra

Recife

2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Ferreira De Melo, Ryan .

POTENCIAL DE LENTILHA D'ÁGUA (LEMNA SP.) PARA A
BIORREMEDIAÇÃO DE EFLUENTES DERIVADOS DE BIODIGESTORES /
Ryan Ferreira De Melo. - Recife, 2023.

52

Orientador(a): Aldo Torre Sales

Coorientador(a): Emmanuel Damilano Dutra

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de
Pernambuco, Centro de Biociências, Ciências Biológicas /Ciências
Ambientais - Bacharelado, 2023.

1. Biofertilizante. 2. Lemna aequinoctialis. 3. biogas. 4. biorremediação. 5.
fitorremediação . I. Torre Sales, Aldo. (Orientação). II. Damilano Dutra,
Emmanuel. (Coorientação). IV. Título.

570 CDD (22.ed.)

RYAN FERREIRA DE MELO

POTENCIAL DE LENTILHA D'ÁGUA (LEMNA SP.) PARA A PRODUÇÃO DE BIOCOMBUSTÍVEIS

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado ao Bacharelado em Ciências Biológicas com ênfase em Ciências Ambientais da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de bacharel.

Aprovada em: ___/___/___

COMISSÃO EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 ALDO TORRES SALES
Data: 04/10/2023 20:48:01-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Professor Dr. Aldo Torres Sales/UFPE

Documento assinado digitalmente
 LUCAS CARVALHO DE FREITAS
Data: 05/10/2023 13:19:03-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Ms. Lucas Carvalho de Freitas /UFPE

Documento assinado digitalmente
 JOSE MOGAHID FECHINE
Data: 05/10/2023 12:42:48-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Ms. José Mogahid Fechine /UFPE

Recife

2023

Dedico este trabalho a todos os amantes da vida, aos curiosos incansáveis e aos que encontram beleza na complexidade e diversidade do mundo natural. Este trabalho de conclusão de curso (TCC) é dedicado àqueles que, assim como Carl Linnaeus, têm a paixão pela Biologia e buscam compreender e preservar a incrível teia da vida que nos cerca. Que esta dedicação seja um lembrete de que a natureza é intrincada e sutil, e que cada descoberta científica nos aproxima de desvendar seus mistérios mais profundos. Que este TCC seja uma celebração da diversidade da vida, da importância da conservação e da necessidade contínua de pesquisar, aprender e proteger nosso planeta.

AGRADECIMENTOS

Expresso minha profunda gratidão à minha família pelo apoio constante, em especial a minha mãe, Joseane Maria De Melo, aos meus irmãos Emily e Lindemberg, meus avós, minhas tias, em especial Wiane Barbosa Ferreira, que sempre me acolheu, e aos demais que sempre demonstraram seu amor incondicional e paciência durante todos os estágios desta graduação. Seus incentivos foram a força que me impulsionou em momentos desafiadores.

Gostaria de expressar meus agradecimentos especiais a meu orientador, pela orientação, paciência e conhecimento compartilhado ao longo deste trabalho. Sua dedicação e orientação foram fundamentais para a realização deste projeto.

Agradeço a todos os professores, em especial ao professor Tercilio, e membros do corpo docente que contribuíram para a minha formação acadêmica. Seus insights e feedback foram essenciais para o meu crescimento como estudante e pesquisador.

Minha gratidão à Universidade Federal de Pernambuco por fornecer o ambiente e os recursos necessários para a realização deste trabalho. A qualidade da educação que recebi aqui é evidente neste projeto.

Aos meus colegas de classe e amigos, em especial, Gisele Oliveria, Paloma Maria e Aline, agradeço por compartilharmos atividades, risos, trabalhos, desafios e aprendizados ao longo desta jornada. Suas contribuições e apoio tornaram essa experiência mais rica e significativa.

Gostaria de agradecer sinceramente a todos os participantes da pesquisa (José, Lucas e Ithalo) por dedicarem seu tempo e compartilharem informações valiosas. Sem a colaboração de vocês, este estudo não teria sido possível.

Agradeço a todos os amigos e mentores que me ajudaram com conselhos, discussões e insights ao longo desta jornada. Seus pontos de vista contribuíram significativamente para a qualidade deste trabalho.

Agradeço a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para este trabalho, fornecendo informações, apoio moral ou qualquer forma de colaboração. Vocês são parte integrante deste sucesso.

Por fim, dedico este trabalho à minha paixão pela Biologia, que sempre me acolheu e me deu condições para ser quem sou hoje, e à minha dedicação pessoal em buscar conhecimento e crescimento. Essa jornada foi enriquecedora e este trabalho é o resultado do compromisso que coloquei em cada etapa.

"Sapere aude."

Horácio

RESUMO

A lentilha-d'água se mostra como matéria-prima promissora para a produção de biocombustíveis, apresentando características vantajosas, como exemplo, alto teor de amido, baixa quantidade de lignina na parede celular. O presente trabalho busca analisar e verificar o potencial de crescimento e produção de biomassa de lentilha d'água em diferentes concentrações de biofertilizante derivado do processo de biodigestão de resíduos sólidos urbanos, e determinar o potencial de produção de biogás de biomassa de lentilha d'água (*Lemna aequinoctialis*). Ao avaliar o efeito dos níveis crescentes de biofertilizantes no rendimento em biomassa, observamos que a introdução desses compostos promoveu um aumento inicial no crescimento da lentilha-d'água. No entanto, conforme os níveis de biofertilizantes aumentaram, houve uma inversão nesse efeito, levando à mortalidade das plantas em concentrações excessivas. Isso indica que, embora o biofertilizante tenha o potencial de estimular o crescimento, existe um ponto crítico onde seu excesso pode ser prejudicial. É evidente que há um notável potencial teórico para a produção de biogás a partir da quantidade de lentilha d'água (lemna). Com suas características favoráveis, como alta taxa de crescimento, capacidade de absorção de nutrientes e adaptação a diversas condições ambientais, a lemna apresenta-se como uma fonte promissora para a produção de biogás por meio de processos de digestão anaeróbica. Considerando os resultados e as informações disponíveis, foi possível concluir que o potencial teórico para a produção da biomassa de lemna e conseqüentemente para a produção biogás a partir da quantidade de biomassa obtida da lentilha-d'água sob condições ideais, necessita de um ambiente com pH em torno de 5.8 e uma concentração de biofertilizante de 5% a partir da quantidade de água estabelecida para o cultivo.

Palavras-chave: Lemna. Biofertilizante. Biodigestor. Energia renovável. Bioremediação.

ABSTRACT

Duckweed appears to be a promising raw material for the production of biofuels, presenting advantageous characteristics, such as high starch content and low amount of lignin in the cell wall. This work seeks to analyze and verify the potential for growth and production of lentil biomass from water in different concentrations of biofertilizer derived from the biodigestion process of urban solid waste, and to determine the potential for production of biogas from lentil biomass (*Lemna aquinoctialis*). When evaluating the effect of two increasing levels of biofertilizers on biomass yield, we observed that the introduction of these compounds promotes an initial increase in duckweed growth. However, as biofertilizer levels increase, there is a necessary investment, increasing plant mortality in excessive concentrations. This indicates that even if a biofertilizer has the potential to stimulate growth, there is a critical point where its excess can be harmful. It is evident that there is a notable theoretical potential for the production of biogas from the amount of duckweed (*lemna*). With its favorable characteristics, such as high growth rate, nutrient absorption capacity and adaptation to different environmental conditions, it presents itself as a promising source for the production of biogas through anaerobic digestion processes. Considering the results and available information, it was possible to conclude that the theoretical potential for the production of *lemna* biomass and consequently for the production of biogas from the amount of biomass obtained from duckweed under ideal conditions requires a comfortable environment environment, pH around 5.8 and biofertilizer concentration of 5% of the amount of water established for the culture.

Keywords: Lemna. Biofertilizer. Biodigester. Renewable energy.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Biodigestor Indiano	20
Figura 2 –	Biodigestor chines	20
Figura 3 –	Biodigestor canadense	21
Figura 4 –	Biodigestor da BERSO	26
Figura 5 –	Tratamentos	27
Figura 6 –	Experimento casualizado	28
Figura 7 –	Montagem do experimento	31
Figura 8 –	dinâmica de crescimento da lemna	33
Figura 9 –	médias do números de frondes	35
Figura 10 –	lemnas esbranquiçadas	36
Figura 11 –	experimento	37
Figura 12 –	experimento	38
Gráfico 2 –	taxa de crescimento	40
Figura 13 –	resultado do teste de PH	43
Figura 14 –	resultado da análise PH feita na água e no biofertilizante.	44
Figura 15 –	resultado da análise de condutividade dos tratamento t1 a t5.	45
Figura 16 –	resultado da análise de condutividade da água e do biofertilizante	46
Figura 17 –	resultado da análise de nitrogênio nos 5 tratamentos feitos.	47
Figura 18 –	resultado da análise de sólidos totais.	48

LISTA DE SIGLAS E SÍMBOLOS

TCR	TAXA DE CRESCIMENTO RELATIVO
ETES	ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTO
RB	RENDIMENTO BIOMASSA
ODS	OBJETIVOS DE DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL
ONU	ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS
EMBRAPA	EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA
DNA	ÁCIDO DESOXIRRIBONUCLEICO
UV	RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA
CO ₂	DIÓXIDO DE CARBONO
CH ₄	METANO
N	NITROGÊNIO
H	HIDROGÊNIO
H ₂ S	SULFETO DE HIDROGÊNIO
LGPP	LABORATÓRIO DE GENÔMICA E PROTEÔMICA DE PLANTAS
BERSO	BIORREFINARIA EXPERIMENTAL DE RESÍDUOS SÓLIDOS ORGÂNICOS
RU	RESTAURANTE UNIVERSITÁRIO
APHA	AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION
H ₂ O	ÁGUA
T1	TRATAMENTO 1
T2	TRATAMENTO 2
T3	TRATAMENTO 3
T4	TRATAMENTO 4
T5	TRATAMENTO 5

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	OBJETIVOS.....	16
2.1	Objetivos gerais.....	24
2.2	Objetivos específicos.....	16
3.	REVISÃO DE LITERATURA.....	17
4.	MATERIAL E MÉTODOS.....	24
4.1	Material vegetal e condições de cultivo VEGETAL.....	24
4.2	Biodigestor.....	25
4.3	Da produção de biofertilizante.....	26
4.4	DETERMINAÇÃO DAS DILUIÇÕES DE BIOFERTILIZANTE...	26
4.4.1	Experimento 1.....	26
4.4.1.2	Coleta, isolamento e propagação in vitro de lentilhas-d'água.....	27
4.4.1.3	Manutenção e condições de cultivo in vitro.....	29
4.4.1.4	Variáveis.....	29
4.4.1.5	Análise estatística.....	29
4.4.2	Experimento 2.....	30
4.4.2.1	Localização do experimento.....	30
4.4.2.2	Montagem do experimento.....	30
4.4.2.3	Manutenção do experimento.....	31
4.4.2.4	Variáveis químicas mensuradas.....	31

5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
5.1	Avaliação do Crescimento e Rendimento em Meio Utilizando Biofertilizante.....	32
5.1.1	Experimento 1.....	32
5.1.2	Experimento 2.....	34
5.2	TAMANHO DAS FRONDES.....	37
5.2.1	Experimento 1.....	37
5.2.2	Experimento 2.....	37
5.3	TAXA DE CRESCIMENTO RELATIVO.....	37
5.3.1	Experimento 1.....	37
5.3.2	Experimento 2.....	39
6.	CONCLUSÕES.....	39
7.	REFERÊNCIAS.....	40

1. INTRODUÇÃO

A Revolução Industrial, ocorrida inicialmente na Inglaterra durante o século XVIII, trouxe grande inovação e aumento da produção e com isso a grande demanda pela produção de energia. Concomitantemente a tal fato histórico, cresceu a problemática da imprudência quanto às questões ambientais, haja vista que para que a produção fosse ampliada houve uma extração em massa de recursos naturais e excessiva poluição. Na atualidade, a situação não é diferente: A demanda de energia está aumentando à medida que o desenvolvimento econômico no mundo vem crescendo, e com isso, a preservação do meio ambiente ainda é um tema deixado de lado, sobretudo pelas indústrias, que tendem a priorizar somente o lucro financeiro. Logo, possivelmente, buscar alternativas sustentáveis ajudaria na busca de estratégias para incrementar a oferta global de energia. (CARVALHO *et. al.*, 2014).

As fontes de combustível convencionais (aqueles comumente utilizados, como o petróleo, carvão e elementos radioativos) são finitos e limitados e estão diminuindo globalmente e não são adequadas para mitigar os altos requisitos de energia por conta própria. Usar a energia convencional de forma eficaz e focar em outras fontes potenciais de energia é uma solução alternativa. O combustível convencional em combinação com novas fontes de energia renovável, como plantas aquáticas, pode abrir um novo horizonte para as demandas futuras de energia. A produção de energia renovável é um dos objetivos de desenvolvimento sustentável (ODS) propostos pela Agenda 2030 da Organização das Nações Unidas (ONU) para o desenvolvimento sustentável. Dentre o leque de opções, os biocombustíveis são fonte de energia sustentável e acessível. Além disso, é também uma opção alternativa aos combustíveis fósseis, contribuindo efetivamente para a redução das emissões e das alterações climáticas (KUNZ, Ailton *et al.*, 2018)

Os combustíveis fósseis são grandes responsáveis pela degradação ambiental na atualidade, citando problemas como o efeito estufa e o aquecimento global. Entretanto, os biocombustíveis, podem atuar como uma alternativa tanto aos problemas ambientais quanto à escassez de recursos não renováveis. Atuando junto às alternativas sustentáveis, o processo de produção de biogás, a partir do biodigestor, já é conhecido há muito tempo, mas sua importância, como a de qualquer outra fonte de energia alternativa, só passou a ser encarada com seriedade no ocidente após a crise de energia (CARVALHO *et. al.*, 2014).

A Eletrobras é pioneira na ideia de implantação de biodigestores para eletrificação rural visando, com isto, fixar o homem no campo, ao proporcionar-lhe mais conforto e condições para aproveitar ao máximo os recursos de sua propriedade. Esta Empresa firmou vários convênios com diversas Unidades da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária ,

objetivando estudar a utilização de diferentes fontes de resíduos na produção e utilização do gás, bem como de biofertilizante.(EMBRAPA)

O gênero *Lemna* sp. compreende espécies de angiospermas aquáticas da família Araceae, e são consideradas as menores plantas vasculares do mundo. Conhecidas comumente como “duckweeds” (erva-de-pato), “lentilhas d’água” ou somente “Lemna”. É uma planta pequena, com folhas ovais e achatadas que flutuam na superfície da água. Esses organismos encontram-se distribuídos em ecossistemas lênticos como lagos, lagoas e corpos de água salobros por várias regiões dos continentes, exceto no Ártico e Antártica. As macrófitas aquáticas, em destaque a *Lemna aequinoctialis*, objeto de estudo deste trabalho, são organismos flutuantes que apresentam diversas vantagens para uso biotecnológico, como a fitorremediação de efluentes e águas contaminadas, e a associação com a piscicultura. Elas reduzem a penetração da luz solar na água, pois crescem rapidamente e podem cobrir a superfície do corpo hídrico em pouco tempo, reduzindo o crescimento de algas e microalgas e a possibilidade de eutrofização. (Appenroth et al., 2013; Cheng & Stomp, 2009; Hillman et al., 1978; Les et al., 2002)

A biorremediação é uma tecnologia que se baseia na utilização de microrganismos, enzimas, algas ou plantas para eliminar contaminantes do meio ambiente, especialmente da água e do solo. Esses organismos vivos são empregados para metabolizar, transformar ou remover substâncias poluentes, com o objetivo de restaurar o ecossistema afetado à sua condição original, promovendo assim o restauro do sistema ambiental (Shan et al, 2009).

Os procedimentos de biorremediação podem ser realizados diretamente no local contaminado, conhecido como biorremediação in situ, ou em uma localização distinta, chamada de biorremediação ex situ, conforme descrito (Prasad et al, 2011).

Junto com o conceito de biorremediação, surge o conceito de fitorremediação, uma técnica cada vez mais empregada para resolver problemas de contaminação ambiental. A fitorremediação envolve o uso de plantas que, por meio de processos biológicos, têm a capacidade de remover, decompor e/ou acumular contaminantes. É uma abordagem eficaz e viável para descontaminar tanto sistemas terrestres quanto aquáticos, uma vez que aproveita um conjunto específico de espécies de plantas em um processo natural (Prasad et al, 2011).

Além disso, a lentilha-d'água se mostra como matéria-prima promissora para a produção de biocombustíveis. As características vantajosas incluem: crescimento clonal rápido como pequenas plantas flutuantes em água rica em nutrientes; adaptabilidade em ampla gama de climas; alto teor de proteína; alto teor de amido induzível; e baixa ou nenhuma lignina, o que permite outros produtos de valor agregado (Barbosa Neto et al., 2019).

Tais plantas aquáticas são, portanto, fonte emergente de energia biorrenovável porque: (a) não estão competindo no campo de cultivos ou florestas; (b) são um uso sustentável dos recursos naturais; (c) são uma fonte de energia limpa; (d) açúcar e amido podem ser gerados; (e) possuem características de regeneração e crescimento agressivo, e (f) são facilmente degradáveis e conversíveis e, como resultado, podem ser facilmente convertidas em energia renovável (De Moraes et al., 2019; Arefin, Md Arman; 2021.).

Assim, torna-se relevante encontrar métodos de geração de energia a partir de macrófitas aquáticas flutuantes. As plantas aquáticas têm um alto potencial de se tornarem uma excelente matéria-prima para a produção de biocombustíveis para a próxima geração (Arefin, Md Arman; 2021).

Portanto, o presente trabalho busca analisar e verificar o potencial de crescimento e produção de biomassa de lentilha d'água em diferentes concentrações de biofertilizante derivado do processo de biodigestão de resíduos sólidos urbanos, e determinar o potencial teórico, ou seja, a partir das suas condições e variáveis, para a produção de biogás de biomassa de lentilha d'água (*Lemna aequinoctialis*).

1. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral:

- Avaliar o efeito de níveis crescentes de biofertilizantes oriundo de biodigestores como meio de cultivo para o rendimento de biomassa e analisar propriedades químicas do meio de cultivo da lentilha-d'água (*Lemna aequinoctialis*).

2.2. Objetivos Específicos:

- Verificar o rendimento de biomassa da lentilha-d'água (*Lemna aequinoctialis*) quando submetidos a diferentes substratos com diferentes doses de biofertilizante;
- Analisar quimicamente a produção de lentilha-d'água submetida a doses crescentes de biofertilizante;
- Verificar o potencial teórico de produção de biogás de biomassa de lentilha d'água.

3. REVISÃO DE LITERATURA

A crescente demanda por fontes de energia renovável tem impulsionado a busca por alternativas sustentáveis para a produção de biocombustíveis. Nesse contexto, a planta aquática *Lemna aequinoctialis*, também conhecida como lentilha d'água, tem atraído interesse

como uma potencial matéria-prima para a geração de biocombustível devido às suas características favoráveis.

A Lemna aequinoctialis, é uma espécie de planta angiosperma aquática da família Araceae, essa família é considerada uma das menores plantas vasculares do mundo (imagem 1). As Lentilhas de água constituem uma pequena família de plantas aquáticas (Lemnaceae) composta por 37 espécies em cinco gêneros (Appenroth *et al.* 2013). Conhecidas comumente como “duckweeds” (erva-de-pato), “lentilhas d’água” ou somente “Lemna”. É uma planta pequena, com folhas ovais e achatadas que flutuam na superfície da água. Esses organismos encontram-se distribuídos em ecossistemas lênticos como lagos, lagoas e corpos de água salobros por várias regiões dos continentes, exceto no Ártico e Antártica. (DiTomaso, J.M., G.B. Kyser *et al.* 2013.)

Evidências apontam que Carl von Linné (1707-1778) foi o primeiro botânico a coletar duckweeds e a descrever, provavelmente, quatro espécies pertencentes ao gênero *Lemna* (Les *et al.*, 2002). Apesar do hiato temporal, hodiernamente muitos pesquisadores estiveram e estão envolvidos nas pesquisa que envolvem as pequenas macrófitas aquáticas, em especial, lentilha-d'água, estudos esses que vem incluindo a identificação de novas espécies de lentilha-d'água (Landolt, 1986 ; Les *et al.*, 2002 ; Appenroth *et al.*, 2013).

O grupo foi categorizado em cinco gêneros e 37 espécies, principalmente com base na morfologia (Landolt, 1986 ; Appenroth *et al.*, 2013). Entretanto, sabe-se que atualmente estudos moleculares são necessárias, uma vez que, devido à redução das estruturas morfológicas que esses indivíduos apresentam, a classificação das lentilhas-d'água com base exclusivamente na morfologia não é confiável, especialmente para gêneros com um grande número de espécies relacionadas (Barbosa Neto, *et al.*, 2019).

Como consequência dessa dificuldade em descrever com precisão esse grupo, a classificação das lentilhas-d'água foi e pode ser bastante conflitante em diferentes estudos (Les *et al.*, 2002). Por sua vez, a maioria da classificação de lentilhas de água passou a ser baseada em métodos integrativos, incluindo marcadores morfológicos, flavonoides, isoenzimáticos e de DNA. O código de barras do DNA com base em diversos números de loci foi investigado para resolver essas deficiências que o grupo apresenta (Wang *et al.*, 2010 ; Bog *et al.*, 2013). Tendo isso em campo de visão, afirma-se que hoje, cinco gêneros e 37 espécies foram identificados e esta é a classificação mais amplamente aceita da família das lentilhas-d'água, Lemnaceae (Appenroth *et al.*, 2013).

Uma das características marcantes de *Lemna* é o seu crescimento rápido e alta capacidade de proliferação. Estudos relatam que essa planta pode dobrar sua biomassa em

períodos de 2 a 3 dias em condições favoráveis de luz, temperatura e nutrientes (Dhote et al., 2015). Sua rápida taxa de reprodução e por conseguinte de acumulação de biomassa é um fator que tem atraído o olhar de pesquisadores para o potencial uso dessa biomassa como fonte para biocombustíveis.

A composição química da biomassa de *Lemna aequinoctialis* é um fator importante a ser considerado para avaliar seu potencial na produção de biocombustíveis. Estudos têm demonstrado que *Lemna* possui teores significativos de proteínas, lipídios, carboidratos, além de minerais como nitrogênio e fósforo (Rojas-Valencia et al., 2019). Essa composição rica em nutrientes permite que *lemna* seja analisado como biomassa para biocombustíveis sob diferentes perspectivas de bioprocessos a serem possivelmente aplicados a essa biomassa.

Além disso, estudos têm demonstrado que *Lemna aequinoctialis* apresenta teor relativamente alto de lipídios em sua biomassa. Estudos relatam que os lipídios em *Lemna aequinoctialis* podem variar de 4% a 12% em base seca (Lopes, et al. 2017). Além disso, *Lemna aequinoctialis* também possui teor significativo de proteínas, que podem variar de 20% a 45% em base seca (MORAIS, et al., 2019). Quanto aos carboidratos, *Lemna aequinoctialis* contém uma proporção considerável de amido e açúcares solúveis, contribuindo para seu potencial como fonte de energia renovável.

O biodigestor é uma estrutura que abriga matéria orgânica e facilita sua degradação por meio de bactérias anaeróbias fermentativas, em um processo bioquímico. Seu propósito é criar um ambiente livre de oxigênio molecular para a produção de biofertilizantes. Diversos modelos de biodigestores são classificados de acordo com o método de alimentação, sendo contínuos ou descontínuos (batelada). Eles podem ser construídos com materiais como alvenaria, concreto e plástico. O modelo de batelada envolve alimentação intermitente, podendo consistir em uma ou mais câmaras de fermentação em sequência. Nesse formato, a câmara é carregada com substrato que é removido após a conclusão da biodigestão. (Manfrom et al., 1991)

Uma definição concisa de biodigestor é uma máquina para conter biomassa e seu subproduto, o biogás. Como afirmou Barrera (1993, p. 11), o conceito do biodigestor é notável por sua simplicidade. Ele cria as condições ideais para um grupo específico de bactérias, as metanogênicas, degradarem a matéria orgânica e liberam o gás metano. Embora haja diversos tipos de biodigestores, todos essencialmente possuem duas partes principais: um tanque para a digestão da biomassa e um gasômetro para armazenar o biogás. A seleção do tipo de biodigestor depende de fatores como localização, tipo de substrato e considerações de custo-benefício.

No que tange ao sistema de abastecimento, é possível categorizar os biodigestores da seguinte forma:

- Batelada: Este sistema é simples e requer pouca intervenção operacional. A carga de material é inserida de uma única vez, e a retirada do material ocorre após a produção completa do biogás. Geralmente, é mais aplicado em granjas avícolas de corte e Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs).
- Contínuo: Biodigestores contínuos são projetados para receber material orgânico diariamente, permitindo que a entrada do substrato orgânico seja acompanhada pela saída do material já processado. Esse tipo de abordagem é mais utilizado em locais onde a criação de bovinos e suínos fornece uma fonte regular de dejetos.
- Semi-contínuo: Possui características semelhantes ao sistema contínuo, mas o abastecimento ocorre em intervalos mais espaçados e, algumas vezes, de maneira menos regular em termos de tempo.

Além disso, vale salientar que o biodigestor também pode ser caracterizado de acordo com seu modelo. O modelo de biodigestor indiano é uma estrutura engenhosa projetada para a produção de biogás a partir da decomposição anaeróbica de resíduos orgânicos. Esta abordagem particular se destaca por sua eficiência e simplicidade, sendo frequentemente adotada em diversas partes do mundo, especialmente em comunidades rurais.

O funcionamento do biodigestor indiano é baseado na pressão gerada pelo biogás. Conforme o biogás é gerado e se acumula sob a campânula, ela se eleva, criando uma pressão positiva dentro da câmara de digestão. Isso facilita a circulação do material orgânico em decomposição, melhorando a eficiência do processo.

Uma das vantagens do modelo indiano é a sua capacidade de manter uma pressão constante, o que favorece a produção contínua de biogás. No entanto, é importante realizar manutenções regulares na campânula, pois o material de construção pode sofrer oxidação ao longo do tempo. O modelo de biodigestor indiano é uma solução prática para a gestão de resíduos orgânicos e a produção de biogás, contribuindo para a redução de desperdícios e fornecendo uma fonte de energia renovável em comunidades rurais e áreas onde os recursos são limitados.

Por outro lado, o biodigestor chinês é um tipo de sistema anaeróbio projetado para a decomposição de resíduos orgânicos e a produção de biogás. É caracterizado por sua construção principalmente em alvenaria e por operar com base no princípio da prensa hidráulica.

Somando a esses tipos de biodigestor, o biodigestor canadense é um sistema inovador de decomposição anaeróbica de resíduos orgânicos, caracterizado por sua abordagem modular e eficiente. Este modelo apresenta uma estrutura de compartimentos interconectados que permitem a separação de diferentes estágios de decomposição, resultando em uma produção contínua de biogás.

O biodigestor canadense é altamente adaptável a diferentes tipos de resíduos orgânicos, desde dejetos de animais até resíduos agrícolas, oferecendo benefícios ambientais ao reduzir a geração de resíduos e ao mesmo tempo gerar energia renovável.

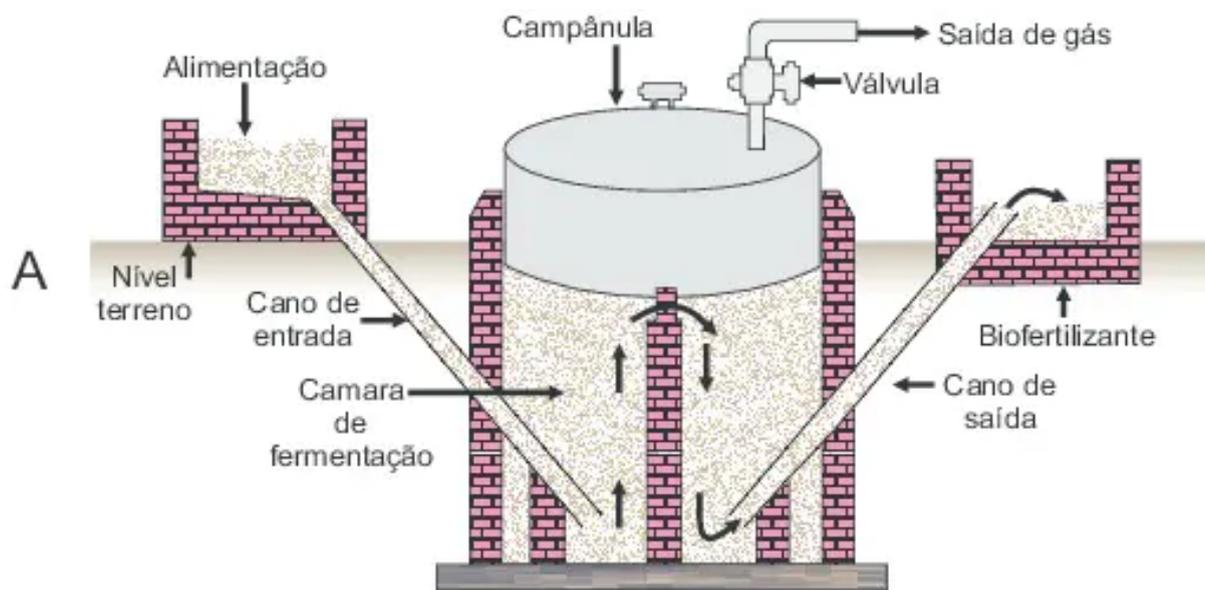


Figura 1. biodigestor indiano.

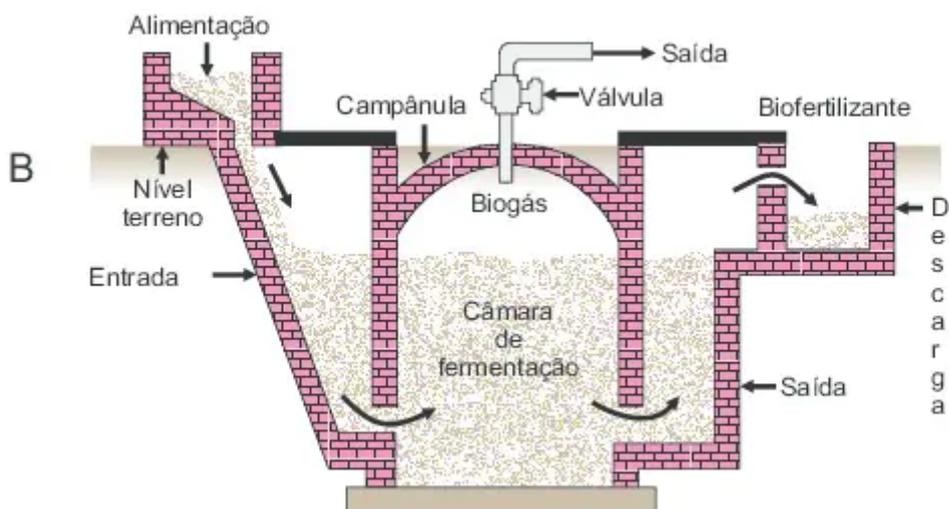


Figura 2. biodigestor chinês.

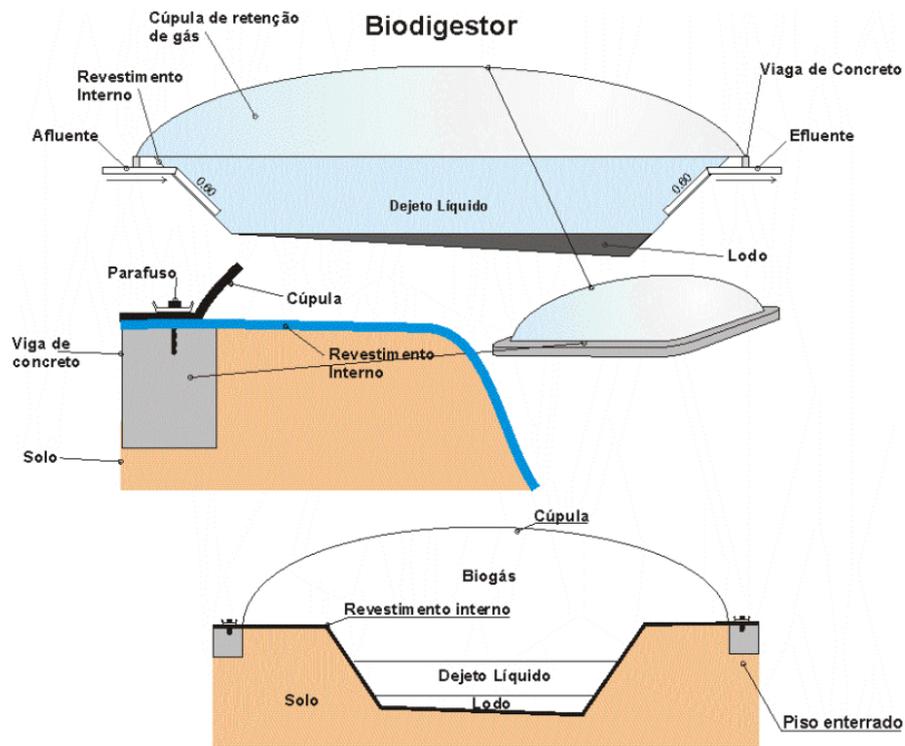


Figura 3. biodigestor canadense.

Uma vez estabelecidas as razões para escolha do modelo, é possível apresentar as especificações necessárias para a instalação e funcionamento do digestor escolhido e assim definição da biomassa que será processada.

Sendo assim, o termo "biomassa" refere-se a qualquer material que possa ser decomposto por processos biológicos, ou seja, pela atividade de diversas bactérias. A decomposição da biomassa através da ação de bactérias metanogênicas (que produzem metano) resulta na geração de biogás em diferentes quantidades, devido a vários fatores, incluindo temperatura, pH, relação entre carbono e nitrogênio, presença ou ausência de oxigênio, nível de umidade, proporção entre a quantidade de bactérias e o volume de biomassa, entre outros.

Uma vez que o objeto de estudo desta monografia é a produção de biogás e biofertilizante a partir da biomassa de lemna, estes serão considerados a matéria-prima a ser utilizada pelos biodigestores mencionados ao longo da pesquisa. Evidentemente, outros materiais (bovinos, caprinos, muares, bufalinos, aves) podem ser utilizados, sendo que alguns podem apresentar um rendimento maior, em determinados aspectos.

No entanto, é crucial realizar uma análise minuciosa em cada situação, uma vez que, para ilustrar, os dejetos provenientes de aves podem conter quantidades de resíduos de antibióticos. Quando esses resíduos são introduzidos nos biodigestores, eles têm a capacidade de impactar negativamente a produção de biogás, e até mesmo diminuir ou eliminar completamente a população de bactérias metanogênicas, devido à sua natureza bactericida.

Resultado da atividade digestiva das bactérias metanogênicas, o biogás é constituído principalmente por dióxido de carbono (CO_2) e metano (CH_4), embora contenha pequenas quantidades de nitrogênio (N), hidrogênio (H) e sulfeto de hidrogênio (H_2S). Sua formação ocorre mediante a decomposição da matéria orgânica (biomassa) em ambientes carentes de oxigênio.

De acordo com Seixas (1980), a decomposição anaeróbica segue três fases distintas: a) Fase de hidrólise: Nesse estágio, as bactérias liberam enzimas extracelulares no ambiente anaeróbico, catalisando a hidrólise das partículas orgânicas. Isso resulta na quebra das moléculas em unidades menores e solúveis. b) Fase de acidificação: Nesta etapa, as bactérias que produzem ácidos decompõem proteínas, gorduras e carboidratos em ácidos orgânicos (como ácido láctico e butírico), bem como em substâncias como etanol e gases, incluindo amônia, hidrogênio e dióxido de carbono. c) Fase de metanogênese: As bactérias metanogênicas entram em ação nesta fase, transformando hidrogênio e dióxido de carbono em metanol (álcool metílico).

Seixas (1980) sublinha também que a produção satisfatória de biogás requer a observância de critérios essenciais para o sustento dos micro-organismos anaeróbios (bactérias), tais como a impermeabilidade do ambiente metagênico ao contato com o ar atmosférico, temperatura apropriada, suprimento suficiente de nutrientes orgânicos, ausência de substâncias tóxicas para os organismos anaeróbios e um nível adequado de umidade.

Existem várias tecnologias disponíveis para realizar a conversão energética do biogás. O termo "conversão energética" refere-se ao processo que transforma um tipo de energia em outro. No caso do biogás, a energia química presente em suas moléculas é convertida em energia mecânica através de um processo de combustão controlada. Essa energia mecânica, por sua vez, é empregada para acionar um gerador que a transforma em energia elétrica.

Para obter biogás de qualidade, é essencial realizar uma purificação, pois a presença de elementos não combustíveis, como água e dióxido de carbono, prejudica o processo de queima, resultando em menor eficiência. Além disso, outros contaminantes podem estar presentes, como o gás sulfídrico (H_2S), que pode provocar corrosão prematura, reduzindo tanto o desempenho quanto a vida útil do motor térmico utilizado.

A produção de biogás a partir de *Lemna aequinoctialis* é um processo promissor para a geração de biocombustíveis. Alguns trabalhos têm demonstrado que a digestão anaeróbica da biomassa de *Lemna aequinoctialis* pode resultar na produção de biogás, principalmente metano (CH₄) e dióxido de carbono (CO₂). A composição do biogás pode variar de acordo com as condições de digestão e o teor de nutrientes da biomassa (Silva, Olga Eliza Rocha *et al.*, 2020)

A digestão anaeróbica é amplamente reconhecida como um método eficiente para a conversão de biomassa em biogás. Esse processo envolve a decomposição microbiológica da matéria orgânica em um ambiente sem a presença de oxigênio. Algumas pessoas têm investigado a aplicação da digestão anaeróbica na conversão da biomassa de *Lemna aequinoctialis* em biogás. a digestão anaeróbica de *Lemna aequinoctialis* pode resultar em altas taxas de degradação de matéria orgânica e produção de biogás, indicando que esse processo é viável para a conversão de *Lemna aequinoctialis* em biocombustível.

Para maximizar a produção de biogás a partir de *Lemna aequinoctialis*, vários estudos têm sido realizados para otimizar os processos de digestão anaeróbica. Esses estudos investigaram diferentes parâmetros, como relação carbono/nitrogênio, tempo de retenção hidráulica, pH e temperatura. Por exemplo, em um estudo de otimização realizado por (Hoyos, Nestor *et. all*), foi demonstrado que a relação carbono/nitrogênio afetou significativamente a produção de biogás a partir de *Lemna aequinoctialis*. Os resultados indicaram que uma relação carbono/nitrogênio de aproximadamente 25:1 resultou na máxima produção de biogás.

Além da produção de biogás, *Lemna aequinoctialis* também apresenta potencial para a produção de biometano e energia elétrica. O biometano é uma forma mais purificada do biogás, que pode ser injetado na rede de gás natural ou utilizado como combustível veicular. Estudos têm investigado a purificação do biogás produzido a partir de *Lemna aequinoctialis* para a obtenção de biometano de alta qualidade (Marder, Munique *et al.* 2020). Além disso, a utilização do biogás para a geração de energia elétrica por meio de sistemas de cogeração tem sido considerada como uma opção viável.

A avaliação da viabilidade técnica e econômica da produção de biocombustível a partir de *Lemna aequinoctialis* é fundamental para determinar a sua aplicabilidade em larga escala. Diversos estudos têm abordado essa questão, considerando aspectos como custos de produção, rendimento de biogás, eficiência de conversão e viabilidade econômica. Por exemplo, em um estudo realizado por (MACHADO, C. R. *et al.*), foi conduzida uma análise de viabilidade técnico-econômica para a produção de biogás a partir de *Lemna aequinoctialis*.

Os resultados mostraram que o processo de conversão apresentava uma alta taxa de retorno e um curto período de payback (é um indicador usado para calcular o período de retorno do valor que você investiu, seja em empresas, projetos, sociedades ou outros tipos de aplicações.), demonstrando o potencial econômico da utilização de *Lemna aequinoctialis* como fonte de biocombustível.

A aplicação de melhorias genéticas em *Lemna aequinoctialis* tem sido investigada como uma estratégia para aumentar a produção de biomassa e, conseqüentemente, o potencial de biocombustível. Estudos têm explorado a seleção de características desejáveis e a modificação genética de *Lemna aequinoctialis* para aumentar sua eficiência fotossintética, tolerância a estresses ambientais e teor de nutrientes. o uso de técnicas de engenharia genética para aumentar a eficiência fotossintética de *Lemna aequinoctialis*, resultando em um aumento significativo na produção de biomassa. Esses avanços genéticos promissores mostram o potencial de otimizar *Lemna aequinoctialis* para melhorar sua adequação como fonte de biocombustível.

As tecnologias de pré-tratamento desempenham um papel importante na melhoria da eficiência da conversão de biomassa em biocombustíveis. Estudos têm investigado diferentes métodos de pré-tratamento para maximizar a extração de compostos orgânicos de *Lemna aequinoctialis* e facilitar a conversão subsequente. avaliou-se a eficácia de diferentes técnicas de pré-tratamento, como tratamento térmico, tratamento enzimático e tratamento com ácidos, para aumentar a solubilidade dos compostos orgânicos de *Lemna aequinoctialis*. Os resultados demonstraram que o pré-tratamento com ácidos resultou em uma maior eficiência de conversão de biomassa em biogás. Essas tecnologias de pré-tratamento oferecem perspectivas promissoras para melhorar a eficiência da conversão de *Lemna aequinoctialis* em biocombustível.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAL VEGETAL E CONDIÇÕES DE CULTIVO

Foram utilizados os isolados M1 da espécie *Lemna aequinoctialis* (clone RDSC5570), proveniente da coleção de Lemnoideae pertencente ao Laboratório de Genômica e Proteômica de Plantas (LGPP), situado na Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

Os isolados foram coletados na região metropolitana do Recife, Pernambuco, fora de áreas de proteção ambiental. Esses uma vez coletado foram mantidos em condições *in vitro*, sob cultivo asséptico, utilizando meio de cultura do tipo SH 0,5X (Basal Salt Mixture,

SIGMA) no laboratório de Laboratório de Genômica e Proteômica de Plantas da Universidade Federal de Pernambuco.

O meio ao qual as lemnas foram conservadas é composto de sacarose (10 g/L), inositol (0,1 g/L) e uma solução de vitaminas contendo tiamina e piridoxina (1 mL/L), com um pH ajustado para 5,8. Os clones são mantidos em sala de crescimento com controle da intensidade luminosa ($57,2 \mu\text{mol.m}^{-2} .\text{s}^{-1}$), fotoperíodo (18h/6h – luz/escuro) e temperatura (23°C).

4.2 BIODIGESTOR

A BERSO está equipada com um biodigestor análogo ao modelo canadense (ilustrado na imagem 3), um sistema de digestão anaeróbica que transforma resíduos orgânicos em biogás e biofertilizante. O procedimento de geração de biofertilizante no biodigestor canadense envolve uma série de fases, incluindo a carga inicial dos Resíduos. Nesse contexto, para dar início ao experimento, a matéria-prima originou-se do Refeitório Universitário (RU), sendo os resíduos alimentares depositados no biodigestor. Após os processos necessários e obtém-se o produto final. Sendo assim, esse biofertilizante é empregado na condução experimental da produção de lemna, instigando o começo do processo de geração de biomassa.



Figura 4. biodigestor da BERSO.

4.3 DA PRODUÇÃO DE BIOFERTILIZANTE

Foi selecionado o biofertilizante produzido pela Biorrefinaria Experimental de Resíduos Sólidos Orgânicos (BERSO) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Este material é proveniente de degradação anaeróbica da matéria orgânica, que nesse caso é derivada do resíduo orgânico gerado pelo restaurante universitário da UFPE e assim destina a biorrefinaria. Este material foi o mesmo para ambos experimentos e o mesmo foi analisado quimicamente.

4.4 DETERMINAÇÃO DAS DILUIÇÕES DE BIOFERTILIZANTE

4.4.1. Experimento 1 (Experimento em condições controladas - Laboratório)

Foi estabelecido um delineamento experimental inteiramente casualizado em ambiente controlado (laboratório), o qual envolveu a implementação de cinco níveis distintos de diluição, considerados como tratamentos, com 3 repetições cada e dois grupos de controle.

Os grupos de controle consistiram de um biofertilizante desprovido de material vegetal (denominado controle negativo) e uma solução composta por água contendo o material em estudo. As diluições de biofertilizante foram configuradas em proporções específicas, nomeadamente 100%, 50%, 20%, 15%, 10% e 5%. Com a estrutura experimental assim definida, procedeu-se à montagem do experimento, cuja observação e avaliação estenderam-se ao longo de um período de doze dias.

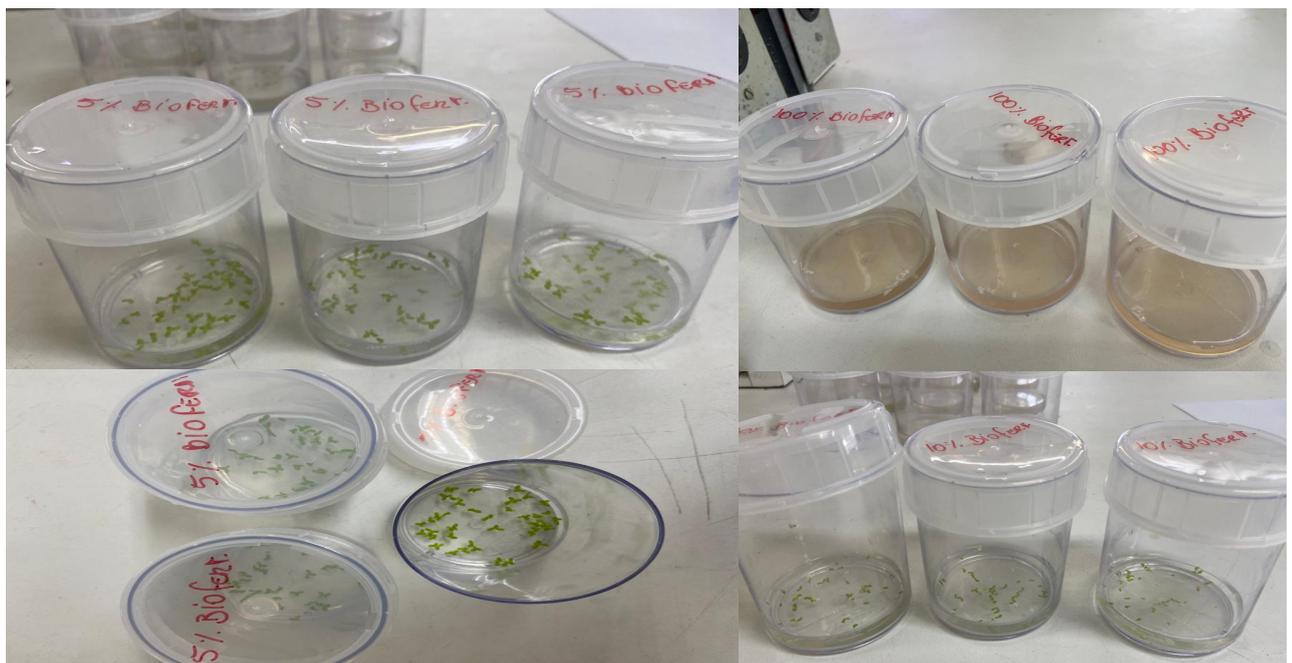


Figura 5: tratamento de 5%, 10%, 15% e 100% de biofertilizantes e suas respectivas repetições.

4.4.1.2 Coleta, isolamento e propagação in vitro de lentilhas-d'água

O estudo empregou isolados M1 da espécie *Lemna aequinoctialis* (clone RDSC5570) obtidos da coleção de Lemnoideae do Laboratório de Genômica e Proteômica de Plantas (LGPP), do Departamento de Genética, Centro de Biociências, UFPE. O biofertilizante empregado, coletado em biodigestor da BERSO, foi levado ao laboratório onde passou por um processo de filtragem e em seguida de exposição à radiação ultravioleta (UV) com a finalidade de realizar a degradação de microrganismos.

A exposição direta à radiação UV, particularmente à faixa UV-C, apresenta a capacidade de induzir danos aos microrganismos não benéficos, como exemplo: algas, que poderiam competir com nosso material e seriam prejudiciais ao material que estavam presentes no biofertilizante. Esse efeito pode resultar na redução da viabilidade dos microrganismos que potencialmente poderiam contaminar o meio de cultivo, tais como algas, bactérias e fungos.

O procedimento experimental consistiu em colocar o material de estudo em recipientes de plástico contendo água mineral. O biofertilizante foi diluído nas concentrações apropriadas e introduzido nos potes, totalizando um volume final de 200 ml em cada recipiente. Subsequentemente, dez frondes da planta *lemna* foram alocadas em cada pote.

Esses sistemas experimentais foram então casualizados (figura 6) e submetidos ao fotoperíodo de 12h por 12 dias. O experimento buscou avaliar os efeitos da exposição ao biofertilizante tratado com radiação UV na resposta de crescimento e desenvolvimento das frondes de *lemna* ao longo do período de análise.

A escolha de utilizar a radiação UV visou não apenas a degradação de microrganismos presentes no biofertilizante, mas também a potencial minimização dos efeitos adversos de contaminação no ambiente de cultivo das plantas. Os resultados obtidos contribuirão para o entendimento dos impactos dessa abordagem na interação entre o biofertilizante tratado e o crescimento da *lemna*, bem como na mitigação dos riscos associados à presença de microrganismos indesejados.

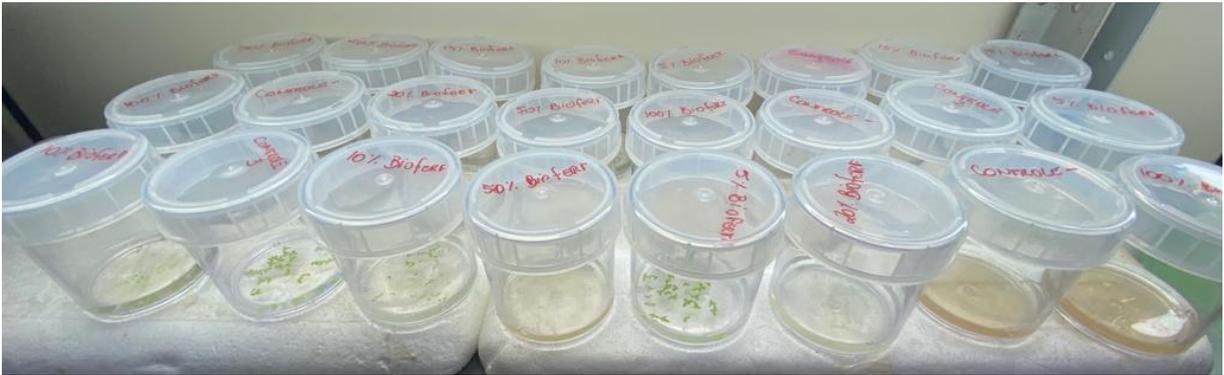


Imagem 6: Vista geral do experimento.

4.4.1.3 Manutenção e condições de cultivo in vitro

O experimento mencionado foi conduzido ao longo de um período de observação de 12 dias, sendo realizado leituras a cada 3 dias, durante os quais as condições previamente descritas foram mantidas consistentes.

Durante esse período, as frondes de lemna foram submetidas a um ciclo de iluminação alternado de 12 horas de luz e 12 horas de escuridão. Essa abordagem de monitoramento ao longo de um período estendido permitiu a observação contínua do crescimento e desenvolvimento das plantas sob a influência do biofertilizante tratado com radiação ultravioleta (UV).

A extensão do período de monitoramento para 12 dias teve como objetivo capturar possíveis alterações graduais que ocorreram nas frondes de lemna ao longo do tempo, em resposta à exposição ao biofertilizante tratado.

A escolha de um período mais longo de observação é crucial para avaliar a resposta das plantas de forma abrangente, considerando potenciais efeitos a curto e médio prazo. Essa abordagem temporal oferece uma visão mais completa das adaptações das plantas em resposta à exposição ao biofertilizante tratado, permitindo insights mais robustos sobre os efeitos do tratamento ao longo do tempo e sua influência no crescimento e desenvolvimento da lemna.

4.4.1.4 Parâmetros de crescimento e rendimento em meio com biofertilizante.

Para avaliar os parâmetros de crescimento das frondes de lemna, podem ser medidas diversas características, como número de frondes. Isso foi realizado através de observações regulares (a cada 3 dias) ao longo do período de 12 dias, pode-se acompanhar a evolução do tamanho das frondes e identificar tendências de crescimento.

Técnicas de imagem, como fotografias, podem ser utilizadas para registrar visualmente as mudanças morfológicas ao longo do tempo. Além disso, análises estatísticas podem ser aplicadas para identificar diferenças significativas entre os grupos de plantas expostos ao biofertilizante tratado e aqueles não expostos.

O rendimento em meio com biofertilizante refere-se à produção ou ao desempenho das plantas sob influência desse fertilizante. Pode ser avaliado quantitativamente pela medição da característica mencionada anteriormente. A comparação entre o grupo exposto ao biofertilizante tratado e o grupo controle (não exposto) permitirá avaliar se há um aumento significativo no rendimento das plantas tratadas. Os dados coletados foram submetidos a testes estatísticos para determinar a diferença entre os grupos.

A coleta de dados ao longo do período de 12 dias, combinada com técnicas de análise estatística, proporcionará uma visão abrangente do impacto do biofertilizante tratado nas variáveis de interesse. Isso permitirá compreender melhor como a exposição ao biofertilizante influencia o crescimento e o rendimento das frondes de lemna, fornecendo insights valiosos para a pesquisa.

4.4.1.5 Análise estatística

Os dados referentes às taxas de crescimento, foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância, utilizando o software GraphPad Prisma 9.

4.4.2 Experimento 2 (Experimento em condições de campo - Casa de vegetação)

4.4.2.1 Localização do experimento (Condições climáticas médias, local do experimento)

Este experimento foi realizado na Biorrefinaria experimental de resíduos sólidos orgânicos, parte do Departamento de Energia Nuclear, da Universidade Federal de Pernambuco.

As temperaturas médias em Recife Pernambuco em junho variam entre junho entre 22°C e 29°C durante o dia. As noites podem ser mais frescas, com temperaturas caindo para a faixa de 18°C a 22°C.

4.4.2.2 Montagem do experimento (Desenho experimental e tratamentos)

O experimento foi instalado em uma casa de vegetação. Para tal ensaio, foram utilizados 5 tratamentos com 4 repetições cada, em bandejas de 20 x 15 cm com total de 1000 ml por bandeja.

O biofertilizante foi empregado nas seguintes concentrações: para o tratamento 1, foi empregado um total de 0% de biofertilizante; no tratamento 2, foi empregado cerca de 20% de biofertilizante, sendo assim para os tratamentos de 50%, 75% e 100%. A proporção para somar o volume de 1000 ml foi utilizada água da chuva filtrada.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados que abrangeu cinco diferentes tratamentos, cada um com quatro repetições, além de um grupo placebo. Para dar início ao ensaio, 20 frondes do material isolado foram distribuídos em cada bandeja, servindo como base para avaliar o desempenho das plantas sob a influência do biofertilizante. A evolução dessas plantas foi meticulosamente monitorada ao longo de um período de 30 dias.

Dentro deste ensaio, foram estabelecidos diferentes níveis de diluição do biofertilizante para compreender seu impacto. Esses níveis foram definidos em proporções distintas: 0%, 25%, 50%, 75% e 100% de biofertilizante como visto na imagem 7. Durante a duração do experimento, uma atenção cuidadosa foi dedicada aos detalhes do crescimento, à produção de biomassa e ao rendimento da lenha em resposta aos diferentes níveis de biofertilizante.

O uso de múltiplos tratamentos e repetições visou garantir a confiabilidade e a robustez dos resultados obtidos. O enfoque em condições ambientais similares às naturais contribuiu para a relevância e aplicabilidade dos insights derivados deste estudo experimental.



Figura 7: Fotos após montagem do experimento na casa de vegetação da BERSO, experimento exposto a condições naturais do ambiente, aqui também se vê as bandejas dispostas de modo casualizadas.

4.4.2.3 Manutenção do experimento

As visitas ocorreram de forma regular ao longo do período experimental, visando assegurar a integridade das condições do estudo e a precisão dos resultados obtidos. Em caso de identificação de carência de recursos nos tratamentos, o reabastecimento foi conduzido seguindo os parâmetros iniciais, garantindo a continuidade das condições controladas do experimento. Além disso, foram armazenadas em tubos, água T0 (tempo zero) e biofertilizante T0 (tempo zero) juntamente com amostras de, T1, T2, T3, T4, T5 para a realização de análises químicas.

4.4.2.4 Variáveis químicas mensuradas

Foram realizados métodos para determinação de sólidos totais (matéria seca) conforme APHA (1998) APHA - American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environmental Federation. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.

Sendo então realizada a determinação de sólidos totais através da equação:

$$\%ts = M - MC/MI \times 100$$

TSsólidos totais, MSMassa sólidos totais, MFmassa final, MCmassa do cadinho, MI massa inicial.

Para análise de nitrogênio, foi realizada conforme THOMAS; SHEARD; MOYER, 1967 - THOMAS, R. L.; SHEARD, R. W.; MOYER, J. R. Comparison of conventional and automated procedures for nitrogen, phosphorus, and potassium analysis of plant material using a single digestion. Paralelo a isso, foi realizado o procedimento de análise de PH e condutividade.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliação do Crescimento e Rendimento em Meio Utilizando Biofertilizante

5.1.1 experimento 1

O experimento envolveu a aplicação de distintas concentrações de biofertilizante (figura 8) revelou transformações notáveis na trajetória de crescimento do clone M1 de lentilhas-d'água, conforme ilustrado na Figura 8. As diversas concentrações de biofertilizante aplicadas tiveram um impacto visível na resposta da planta, delineando um cenário complexo de interações entre a biomassa e os níveis do composto fertilizante.

A Galbiatti *et al.* (2011), SOARES *et al.* (2014), Busato, J. G. *et al.* (2023), relatam que a utilização de biofertilizantes, independente da sua origem, como fonte de fertilização e consequentemente de desenvolvimento de plantas. Logo a utilização de biofertilizante para o desenvolvimento de lemna seria então, algo propulsor de sucesso.

Entretanto, a análise dos resultados aponta para a influência direta do biofertilizante nas fases de crescimento da lentilha-d'água clone M1, evidenciando uma relação sensível entre as concentrações utilizadas e o desempenho da planta. A tabela 1 captura essas mudanças de forma visual, fornecendo uma compreensão imediata das diferentes trajetórias de crescimento resultantes das concentrações variadas de biofertilizante.

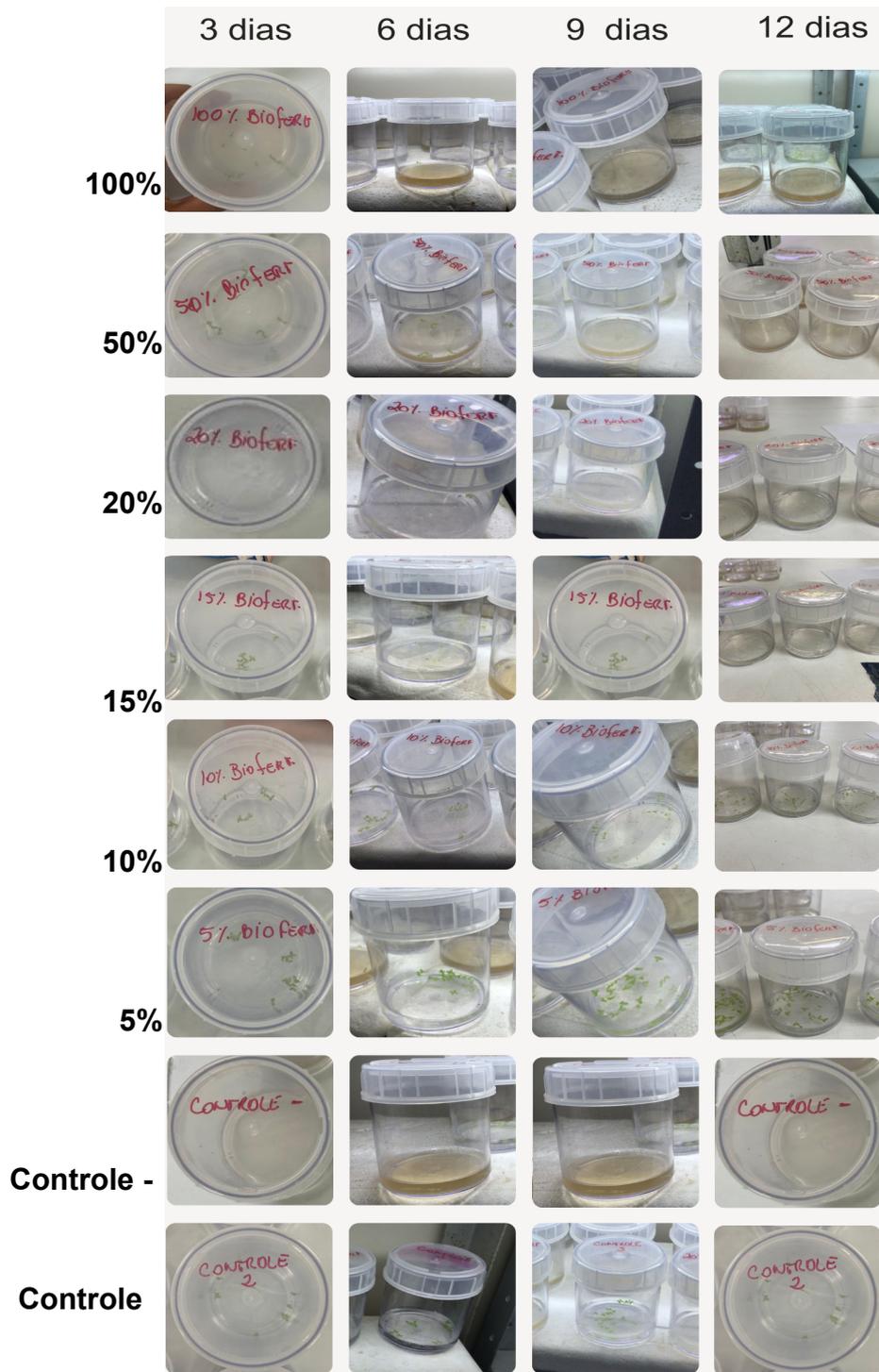


Figura 8. Dinâmica de crescimento (3,6,9 e 12 dias) do isolado RDSC5570 de *Lemna aequinoctialis* cultivado em ambiente com diferentes concentrações de biofertilizante até 12 dias.

A análise inicial da dinâmica de crescimento revelou-se uma efetiva forma de avaliar as concentrações ideais para o crescimento desta macrófita. Esse método de determinação de concentrações de biofertilizantes é visto na academia em diversos processos de desenvolvimento de sementes ou plantas, como visto em Rebouças Neto *et al.* (2016) que avaliou o crescimento inicial de plantas de milho em solo adubado com diferentes concentrações de biofertilizante bovino, bem como em Benicio L. P. *et al.* (2011) no qual objetivou testar diferentes concentrações de biofertilizante foliar na formação de mudas de quiabeiro.

Os resultados mostraram uma significativa diferença entre os tratamentos onde a concentração com maior proximidade a 5% de biofertilizante para o cultivo da *Lemna aequinoctialis* demonstrou promover o melhor desempenho no seu processo de desenvolvimento, indicando assim a concentração ideal para as análises subsequentes (figura 9) e (gráfico 1).

Os níveis de biofertilizante de 10%, promovendo a mortalidade das plantas, interrupção de sua capacidade de reproduzir-se, visualmente a *lemna* nesses tratamentos apresentou um intenso branqueamento (figura 10). O branqueamento é um fenômeno derivado derivada de uma desordem na síntese de carotenoides, que na maioria dos casos é derivada da inibição da deoxixilulose fosfato sintase (Sowinsk *et al.*, 2022).

Vale ressaltar que Araújo, *et al.* (2015), também realizaram teste em diversas concentrações para a análise do nível de toxicidade e desempenho do índice de germinação sementes de *Lactuca sativa* l. e foi visto a presença de determinada toxicidade a partir de uma certa porcentagem. Por sua vez, Paixão Filho *et al.* (2008) avaliaram diversas concentrações de biofertilizante e concluíram que o efluente não era tóxico. Eles observaram que o aumento da concentração do efluente não resultou na diminuição do índice de germinação das sementes de alface. Segundo Youg *et al.* (2012), o teste de toxicidade com *Lactuca sativa* L. (alface) permite avaliar a qualidade e a eficiência dos sistemas de tratamento de resíduos. Eles sugeriram que, uma vez confirmada a redução da toxicidade, o efluente pode ser utilizado para a irrigação do solo.

Além disso, Pelegrini (2008) acrescentou que esses testes representam uma abordagem prática, econômica e sensível para detectar a presença de substâncias tóxicas ou inibidores biológicos capazes de interferir na germinação e no desenvolvimento das sementes.

TRATAMENTO	Dia 0	Dia 12
Controle	10	0
Controle -	10	24
5%	10	40,33
10%	10	29
15%	10	0
20%	10	0
50%	10	0
100%	10	0

Figura 9. Média dos números de frondes no início do tratamento (zero dias) e no fim do tratamento (12 dias).



Figura 10: Indivíduos que, durante o ensaio experimental, apresentaram bleaching ("esbranquiçadas").

5.1.1.2 Experimento 2.

As diferentes concentrações de biofertilizante revelaram transformações notáveis na trajetória de crescimento do clone M1 de lentilhas-d'água, conforme ilustrado na Figura 11 e 12. As diversas concentrações de biofertilizante aplicadas tiveram um impacto visível na resposta da planta, delineando um cenário complexo de interações entre a biomassa e os níveis do composto fertilizante.

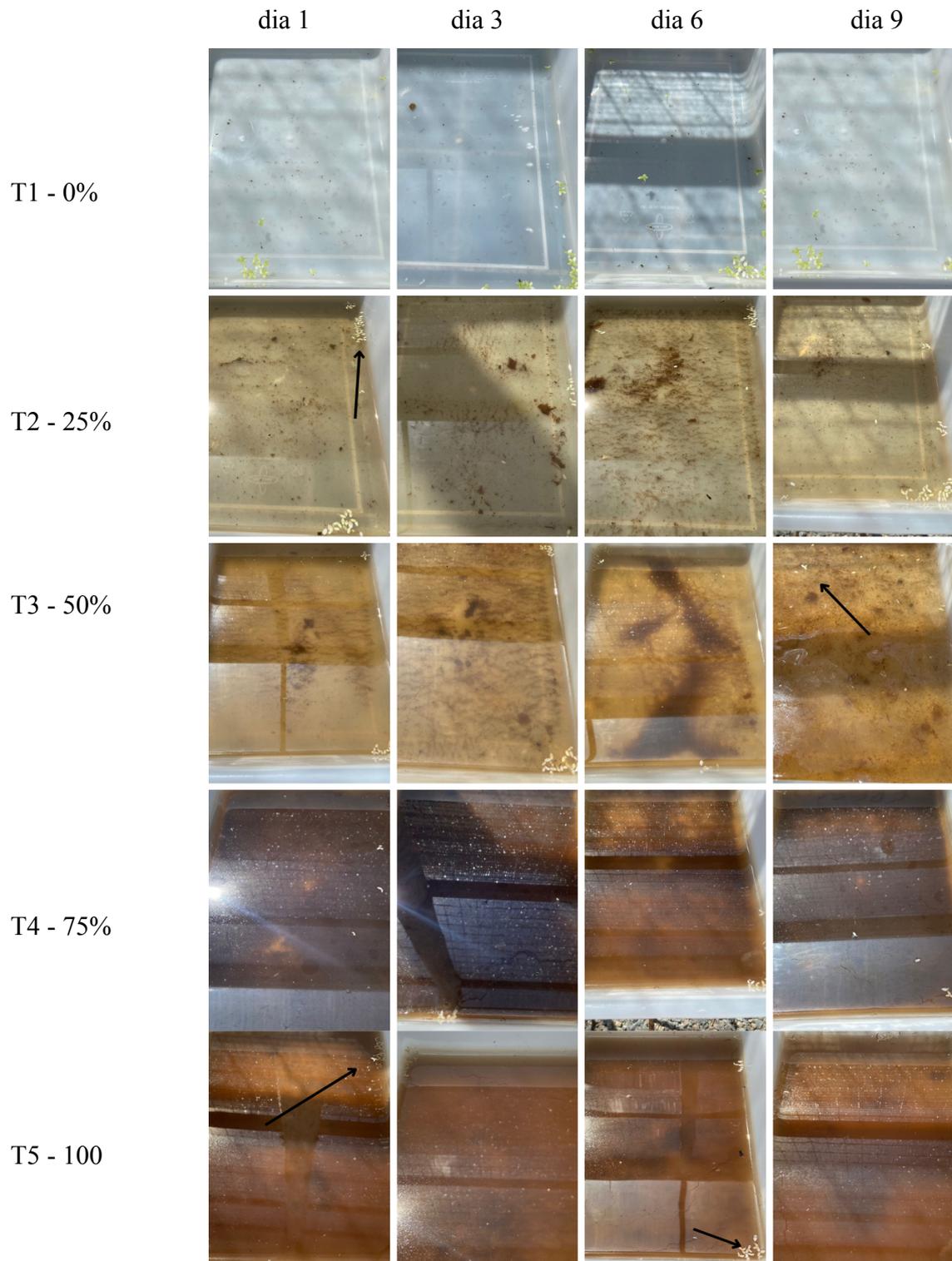


Figura 11: Observação feita após 4 dias do início do experimento. Nota-se neste momento que os tratamentos a partir de 50% de biofertilizante o material começa a esbranquiçar.

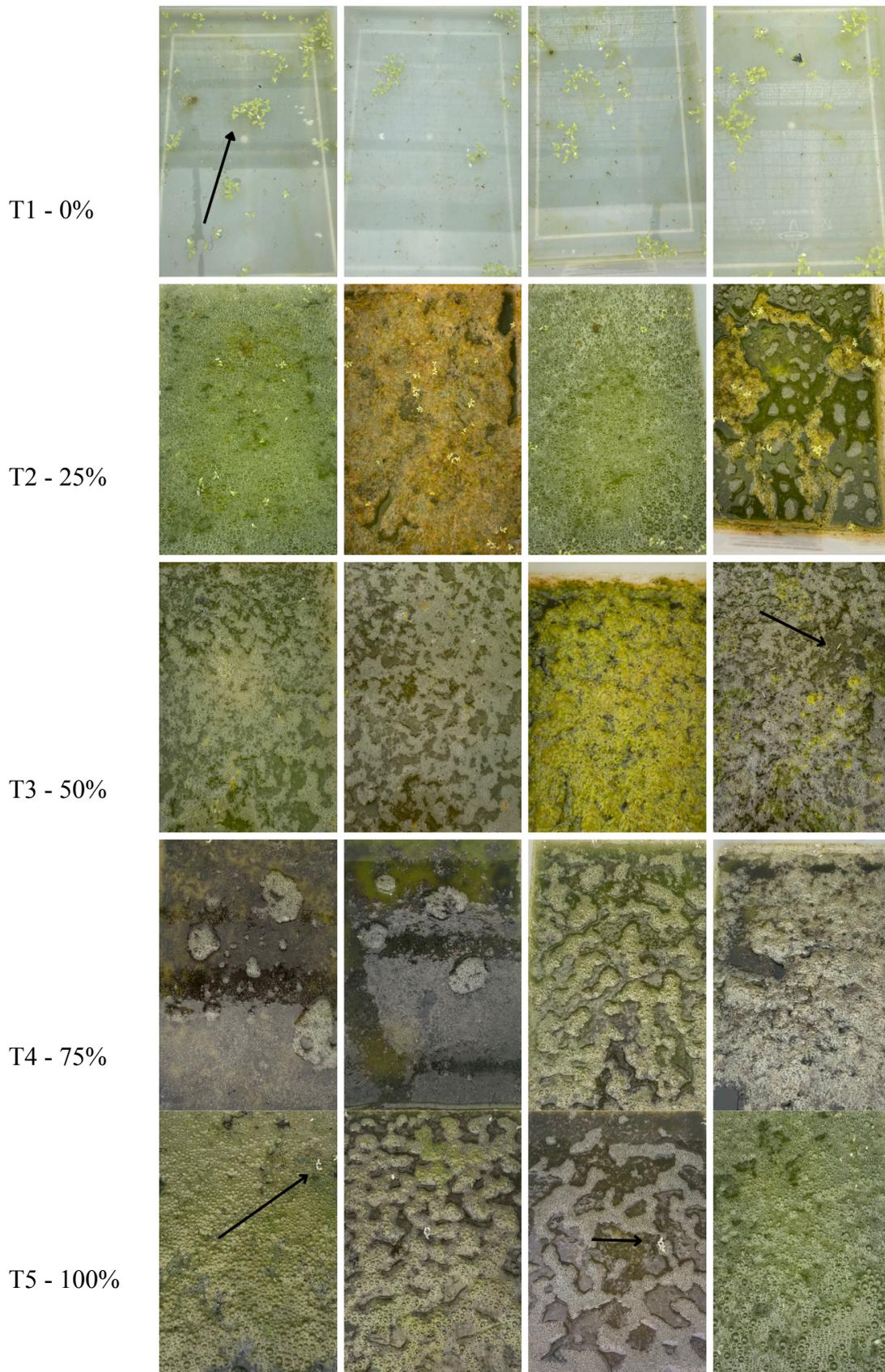


Figura 12: Observação feita após 8 dias do início do experimento. Nota-se neste momento que nos tratamentos a partir de 50% biofertilizante as plantas de *Lemna* morreram.

5.2. TAMANHO DAS FRONDES

5.2.1 Experimento 1

Foi observado uma significativa variação no tamanho das frondes de *Lemna aequinoctialis* submetidos a estresse de 5% de biofertilizante ao final do 12^a dia. Os tamanhos das frondes dos tratamentos foram comparados aos dos clones controle ao final do período experimental.

As populações clonais que cresceram na ausência de biofertilizante obtiveram tamanhos menores seguindo seu desenvolvimento, enquanto as populações que sofreram estresse por concentrações maiores tiveram um decréscimo de crescimento e ficaram esbranquiçadas, já as lemnas que estavam na concentração, que possivelmente podemos considerar ideal, 5% apresentou tamanho maior e seu desenvolvimento diferente dos demais.

Quando analisamos a exposição de *L. aequinoctialis* as concentrações variadas de biofertilizantes pode-se observar que a taxa de inibição do crescimento está diretamente ligada a concentração desse material no meio.

5.2.2 Experimento 2

O experimento teve um total de 30 dias, nesse período foi constatado que, embora as condições tenham sido configuradas para se assemelham ao ambiente natural dos indivíduos em estudo, os resultados foram opostos ao que era esperado. Contrariamente às expectativas, o processo de replicação vegetativa, que normalmente levaria a uma rápida proliferação das plantas e à formação de populações densas em corpos d'água, não ocorreu conforme o previsto, mesmo em condições ambientais favoráveis ao crescimento e à reprodução.

No entanto, ao longo do experimento, os frondes de lemna não demonstraram alterações positivas no tamanho durante o período observado. Isso pode ser atribuído a uma série de variáveis que influenciam o comportamento das plantas em seu ambiente. Entre essas variáveis, destacam-se a competição por recursos limitados, as flutuações nas condições de luz solar e nutrientes, a presença de predadores ou competidores naturais, e a possibilidade de fatores genéticos que podem afetar a taxa de crescimento. Essas interações complexas entre os elementos do ecossistema aquático podem ter levado a esse resultado inesperado, que difere das previsões iniciais.

Portanto, os frondes de lemna não apresentaram o aumento no tamanho que se esperava durante o período de observação, e isso pode ser atribuído a uma variedade de

influências que moldam o comportamento das plantas no ambiente aquático. Isso resultou em um cenário que divergiu das previsões iniciais.

5.3. TAXA DE CRESCIMENTO RELATIVO (TCR)

5.3.1 Experimento 1.

Ao comparar as populações que foram submetidas ao cultivo com biofertilizante na concentração menor que 10%, os clones dos tratamentos com 15%; 20%; 50% e 100% de biofertilizante, tiveram uma redução do potencial de crescimento.

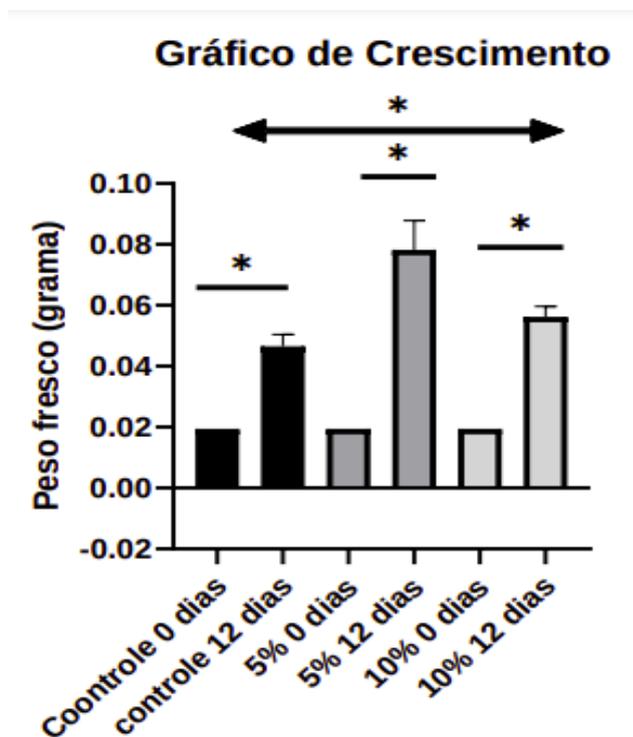


Gráfico 2: Taxa de crescimento relativo de *L. aequinoctialis* em resposta a diversas concentrações de biofertilizantes. O gráfico demonstra os valores de crescimento relativo dos tratamentos de 5% e 10% ao longo do período de 12 dias. Cada dado representa a média dos valores das triplicatas biológicas. Barras de erros indicam o desvio-padrão. Anova e teste T estabelecidos em $p < 0,05$.

A taxa de crescimento relativo (TCR) é utilizada com frequência para avaliar o crescimento da planta. Embora o Brasil apresenta condições favoráveis para seu cultivo, a água tem papel fundamental na germinação das sementes, sendo essencial na ativação dos diferentes processos metabólicos. Entretanto existem diversos fatores que podem limitar o desenvolvimento da cultura, entre eles o estresse hídrico. Para cada espécie existe um valor de potencial hídrico no solo abaixo do qual a germinação é nula, isso porque o estresse hídrico

geralmente contribui para a diminuição da velocidade e percentagem de germinação das sementes (ÁVILA et al. 2007). O percentual de inibição do crescimento é diretamente proporcional à concentração do biofertilizante no meio.

O valor de R^2 é 0,9659, o que sugere que cerca de 96,59% da variabilidade nos dados é explicada pela diferença entre as duas amostras. Portanto, com base nos resultados, pode-se concluir que há uma diferença estatisticamente significativa entre as duas amostras, com a (12 dias) exibindo uma média maior do que a amostra (0 dias).

Segundo Culley & Myers (1980) e Graça França (2008) as espécies desta família duplicam sua biomassa em dois a três dias em condições ótimas de crescimento, isto indica e corrobora com dois pontos apresentados neste trabalho, o primeiro ponto seria que, apesar de conter *Lemna aquinoctialis* em condições adversas, como no tratamento acima de 15%, não foi oferecidas as condições para um crescimento exponencial neste tratamento, possivelmente pela presença de algum componente na água. O segundo ponto visto, seria que, as condições ideais para *lemna*, como no tratamento de 5% mostrou, provavelmente o que culley e graças viram e relataram no seu trabalho.

5.3.2 Experimento 2

Após o oitavo dia de experimento, as frondes das *lemna* começaram a apresentar uma notável desaceleração em sua taxa de crescimento. Essa mudança comportamental das plantas aquáticas foi uma resposta direta às complexas interações que ocorreram no ambiente experimental.

Primeiramente, a competição entre as próprias *lemna* e outros organismos coexistentes desempenhou um papel crucial nessa diminuição de crescimento. A luta por recursos limitados, como luz solar, espaço e nutrientes, criou um ambiente altamente competitivo, levando as *lemna* a ajustarem suas estratégias de crescimento para sobreviver.

Além disso, a variação nos níveis de pH do meio aquático também influenciou negativamente o crescimento das *lemnas*. O pH desfavorável afetou a disponibilidade e a absorção de nutrientes essenciais, afetando diretamente o desenvolvimento saudável das plantas.

A disposição de nutrientes no ambiente de cultivo pode ter desempenhado um papel adicional na mudança de comportamento das *lemnas*. Flutuações na disponibilidade de nutrientes essenciais, como nitrogênio e fósforo, podem ter afetado a capacidade das *lemnas* de sustentar seu crescimento normal, contribuindo para a coloração esbranquiçada do material depositado.

Assim, a desaceleração no crescimento das lemna e a coloração esbranquiçada do material depositado foram o resultado de um complexo conjunto de fatores ambientais, incluindo a competição entre organismos, as flutuações no pH e a disponibilidade variável de nutrientes. Essas observações fornecem insights valiosos sobre a ecologia e a fisiologia das lemna em condições de competição e estresse ambiental.

5.3.3 Análise química *experimento 2

A análise dos valores de pH no início e fim do experimento realizada em amostras dos tratamentos aplicados revelaram variações significativas entre as diferentes condições de cultivo. No primeiro cadinho, contendo água pura (H₂O), o valor de pH medido foi de 6.90. Esse resultado indica que a água pura mantém um pH próximo à neutralidade, demonstrando levemente características ácidas.

O pH do biofertilizante (Biofer), foi de 7.86, permanecendo próximo à neutralidade com uma leve alcalinidade. À medida que avançamos para as diferentes condições T1, T2, T3, T4 e T5, houve uma progressão clara em direção a valores de pH mais alcalinos.

No terceiro frascos (T1), o pH medido foi de 8.52, seguido por 9.26 no quarto frascos (T2), 9.54 no quinto frascos (T3), 9.90 no sexto frascos (T4) e 9.96 no sétimo frascos (T5) (figura 13 e 14).

Esses resultados indicam uma tendência de aumento nos valores de pH à medida que as concentrações de biofertilizante avançam, com uma alcalinização gradual. Essa variação nos níveis de pH tiveram efeitos significativos na lemna, uma planta aquática sensível às condições do ambiente.

Embora a lemna prefira ambientes aquáticos com pH neutro a ligeiramente alcalino para um crescimento saudável, os valores alcalinos observados nas condições T2 a T5 excedem o intervalo ideal.

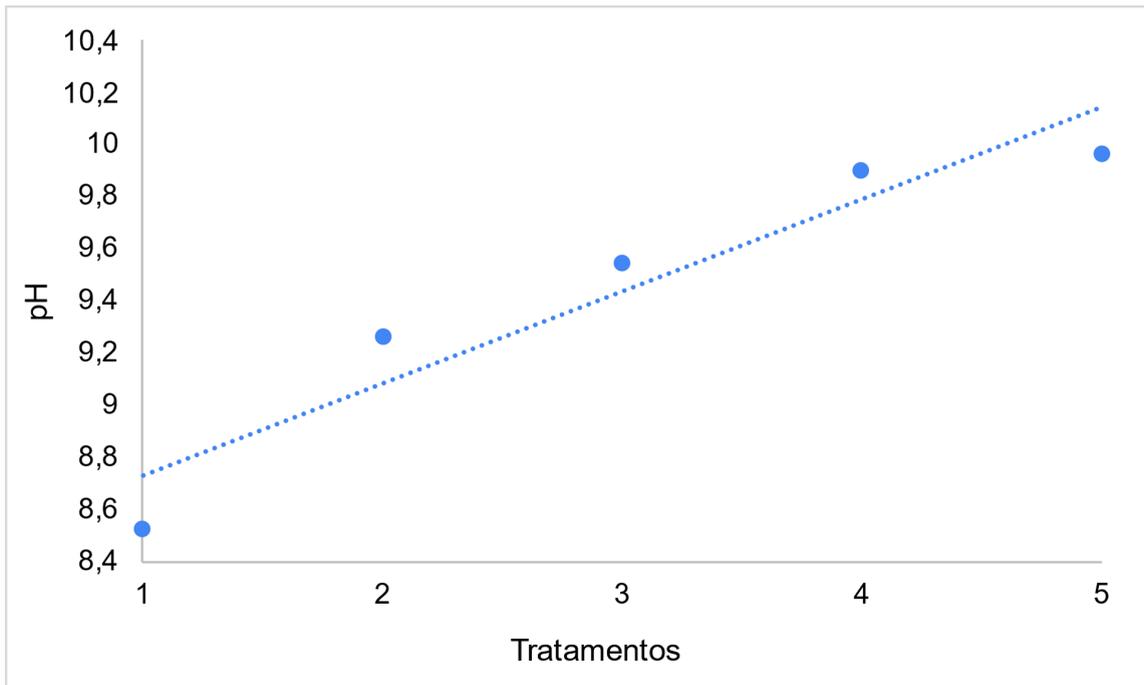


figura 13: Teste de pH realizado em amostras coletadas no meio líquido de crescimento da *L. aequinoctialis* com cinco níveis de inclusão de biofertilizante (100%, 75%, 50%, 25%, 0%) em condições de casa de vegetação em Recife, Pernambuco, Brasil .

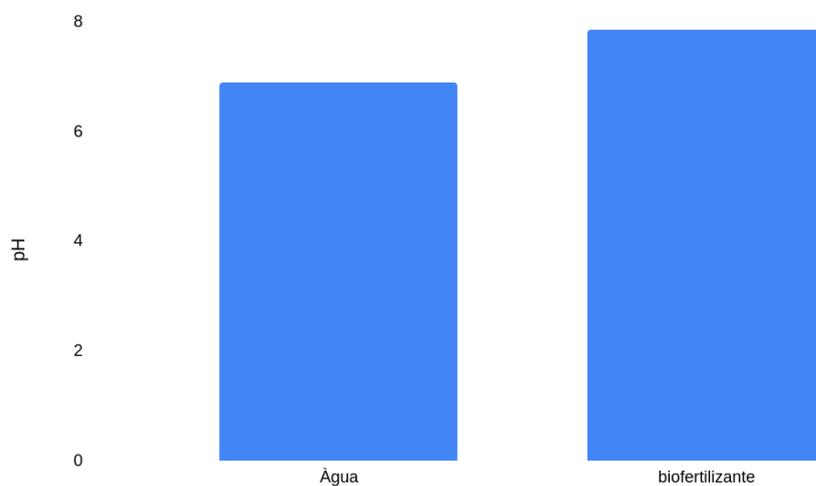


Figura 14: pH da água e do biofertilizante utilizados para crescimento da *L. aequinoctialis* em condições de casa de vegetação em Recife, Pernambuco, Brasil .

A exploração das leituras de condutividade elétrica nos dez cadinhos distintos ofereceu uma análise profunda das propriedades químicas das soluções. Os valores de condutividade, expressos em microsiemens por centímetro ($\mu\text{S}/\text{cm}$), foram minuciosamente coletados e apresentados da seguinte maneira:

No frasco 1 (H₂O), uma condutividade de 99 $\mu\text{S}/\text{cm}$ foi observada. Isso sugere uma capacidade moderada de condução elétrica na água pura, indicando uma presença relativamente baixa de íons dissolvidos.

No frasco 2 (Biofer), a condutividade foi medida em 5.79 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Esse valor, embora superior ao do frasco 1, permaneceu em uma faixa considerada baixa, possivelmente denotando uma concentração controlada de íons no biofertilizante.

À medida que se avançou para as diferentes condições T1, T2, T3, T4 e T5, uma tendência crescente na condutividade elétrica tornou-se evidente. No (T1), a leitura atingiu 119.4 $\mu\text{S}/\text{cm}$, marcando um aumento significativo em relação às condições anteriores.

Essa tendência continuou nos cadinhos subsequentes: (T2) registrou 2.13 $\mu\text{S}/\text{cm}$, frasco (T3) apresentou 3.53 $\mu\text{S}/\text{cm}$, (T4) revelou 15.42 $\mu\text{S}/\text{cm}$ e (T5) exibiu 19.87 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (figura 15 e 16).

Destaca-se ainda a influência dos nutrientes orgânicos nos (P1), (P2), onde as leituras de condutividade foram respectivamente 148.8 $\mu\text{S}/\text{cm}$, 2.88 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

A relação entre os valores de condutividade elétrica e a lemna, uma planta aquática sensível, é notável. A condutividade elétrica está estreitamente ligada à concentração de íons dissolvidos na solução.

Nesse contexto, é importante considerar como os níveis de condutividade afetariam a lemna, uma vez que essa planta é altamente influenciada pela composição iônica do ambiente em que cresce.

À medida que os valores de condutividade aumentam nas condições T1 a T5, a capacidade da solução de conduzir eletricidade se intensifica, o que indica uma concentração mais elevada de íons dissolvidos.

Isso tem implicações diretas para a lemna, pois níveis elevados de condutividade podem afetar a absorção de água e nutrientes pelas suas raízes, impactando negativamente seu crescimento e saúde.

Considerando que a lemna é altamente sensível às alterações nas condições do ambiente, as variações significativas na condutividade elétrica podem desencadear respostas fisiológicas adversas, diminuindo sua capacidade de prosperar.

Assim, a relação entre a condutividade elétrica das soluções e a saúde da lemna é uma consideração vital para o cultivo bem-sucedido e a conservação dessas plantas aquáticas.

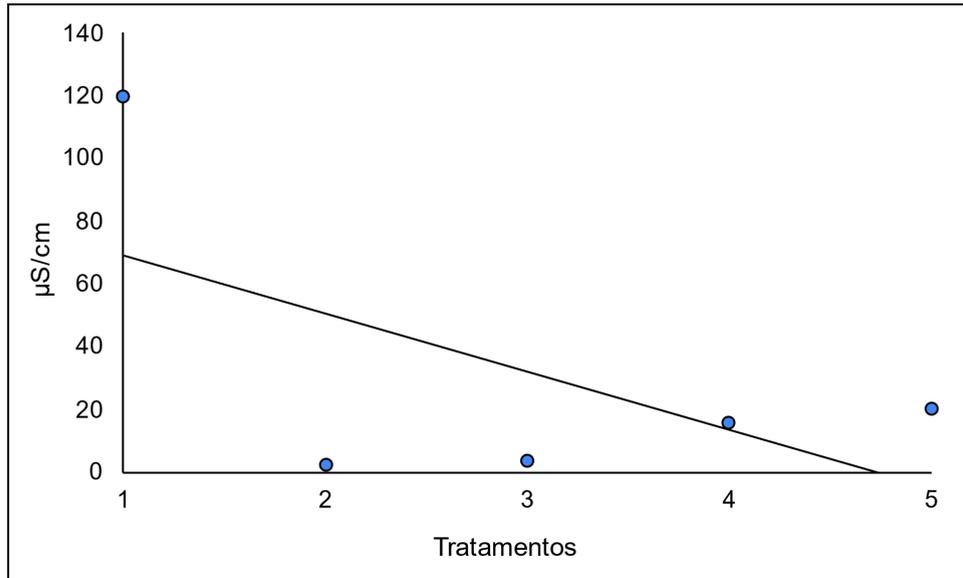


Figura 15: Condutividade elétrica em amostras coletadas no meio líquido de crescimento da *L. aequinoctialis* com cinco níveis de inclusão de biofertilizante (100%, 75%, 50%, 25%, 0%) em condições de casa de vegetação em Recife, Pernambuco, Brasil

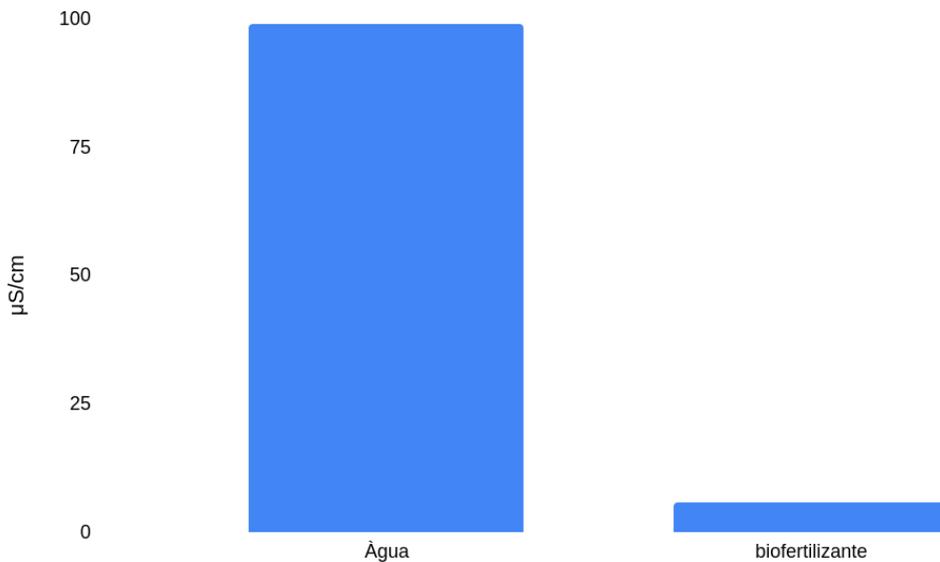


Figura 16: Condutividade elétrica da água e do biofertilizante utilizados para crescimento da *L. aequinoctialis* em condições de casa de vegetação em Recife, Pernambuco, Brasil .

Os resultados da análise de nitrogênio fornecem insights importantes sobre a composição química da solução de cultivo da lentilha-d'água (*Lemna aequinoctialis*). Inicialmente, a água pura (H₂O) exibiu uma leitura de nitrogênio de 0.12, o que era esperado, considerando a ausência de fontes externas de nitrogênio na água destilada. No entanto, a introdução do biofertilizante trouxe um aumento substancial na concentração de nitrogênio

para 5.36. Esse aumento significativo sugere que o biofertilizante é uma fonte rica em compostos nitrogenados, o que influenciou diretamente o teor de nitrogênio na solução de cultivo.

Analisando os diferentes tratamentos (t1 a t5), é possível observar variações ligeiras nas leituras de nitrogênio. As leituras para esses tratamentos variaram entre 0.14 e 0.32, indicando níveis variados de nitrogênio presente na solução de cultivo. Essas variações podem ser atribuídas a vários fatores, incluindo a interação complexa entre a biomassa de lentilha-d'água e os componentes do biofertilizante (figura 17 e 18).

Ao examinar a concentração de nitrogênio, torna-se evidente que o biofertilizante desempenha um papel crucial no fornecimento desse nutriente para as plantas. A lentilha-d'água depende do nitrogênio para seu crescimento e desenvolvimento saudável, tornando a qualidade do biofertilizante uma consideração fundamental. Esses resultados ressaltam a importância de avaliar e ajustar cuidadosamente as fontes de nutrientes, como o biofertilizante, para otimizar as condições de cultivo e promover o crescimento bem-sucedido da *lemna*.

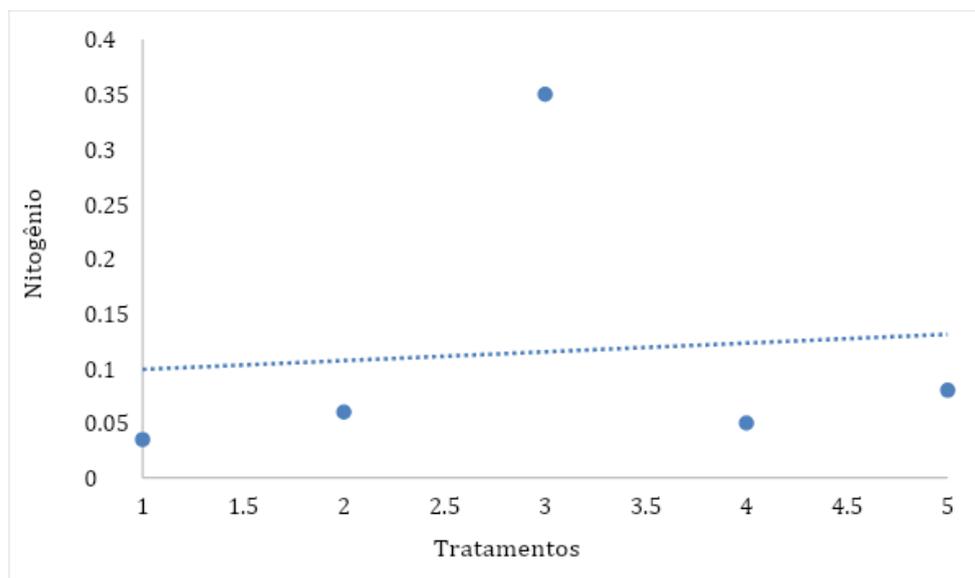


Figura 17: Nitrogênio (%) em amostras coletadas no meio líquido de crescimento da *L. aequinoctialis* com cinco níveis de inclusão de biofertilizante (100%, 75%, 50%, 25%, 0%) em condições de casa de vegetação em Recife, Pernambuco, Brasil

A análise dos resultados de sólidos totais proporciona insights significativos sobre a composição da solução de cultivo da lentilha-d'água (*Lemna aequinoctialis*), destacando a presença e as variações de substâncias sólidas dissolvidas.

No início, a água pura (H₂O) revelou uma porcentagem de sólidos totais de 0,18%. Essa leitura, compreensivelmente baixa, está de acordo com a pureza da água utilizada como base. A introdução do biofertilizante resultou em um aumento para 0,30% de sólidos totais. Esse aumento sugere a presença de compostos dissolvidos no biofertilizante que contribuíram para a concentração total de sólidos.

Analisando os diferentes tratamentos (t1 a t5), percebemos variações nas leituras de sólidos totais, com valores entre 0,27% e 2,80%. Essas variações indicam mudanças na concentração de substâncias sólidas na solução de cultivo. Essas mudanças podem ser atribuídas às interações complexas entre a biomassa da lentilha-d'água e os componentes do meio de cultivo.

Ao avaliar a concentração de sólidos totais, observa-se claramente a influência do biofertilizante na composição da solução. O aumento nas leituras de sólidos totais após a adição do biofertilizante sugere que ele contribui para a carga total de substâncias dissolvidas na solução de cultivo. Isso destaca a importância do biofertilizante como uma fonte adicional de nutrientes e compostos para a lenha.

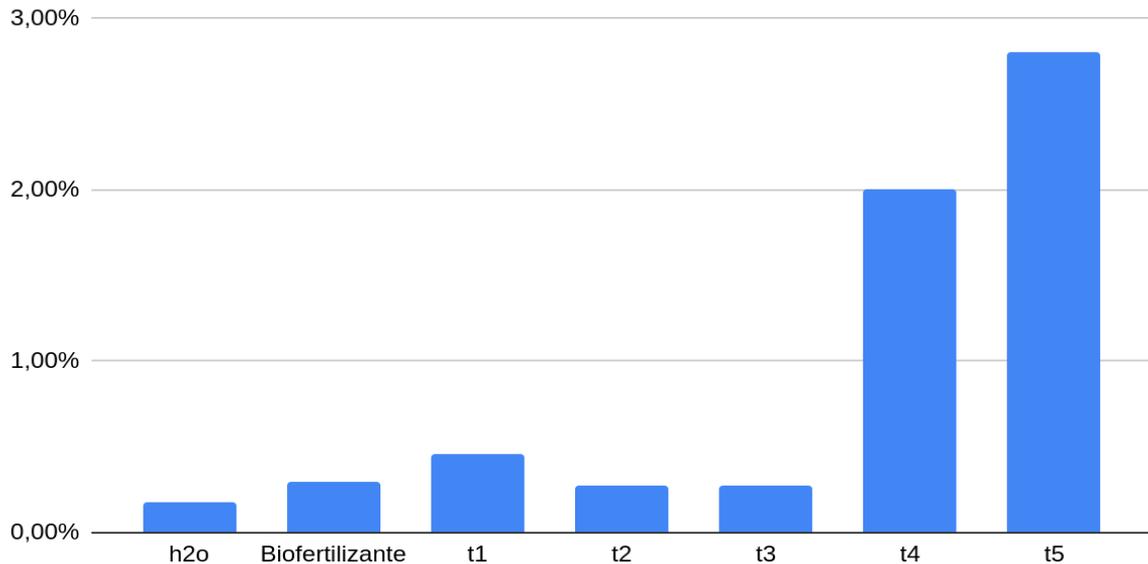


Figura 18: resultado da análise de sólidos totais.

6. CONCLUSÕES

Através desta pesquisa, foi possível atingir uma compreensão mais profunda do impacto dos níveis crescentes de biofertilizantes no cultivo da lentilha-d'água (*Lemna aequinoctialis*). Foi possível observar a lemna como atuante na biorremediação como também, observar esse potencial teórico para a produção de biogás. Os objetivos delineados foram abordados de maneira abrangente, permitindo uma análise mais completa do efeito desses níveis de biofertilizantes no rendimento em biomassa e nas propriedades químicas da planta.

Ao avaliar o efeito dos níveis crescentes de biofertilizantes no rendimento em biomassa, observamos que a introdução desses compostos promoveu um aumento inicial no crescimento da lentilha-d'água.

No entanto, conforme os níveis de biofertilizantes aumentaram, houve uma inversão nesse efeito, levando à mortalidade das plantas em concentrações excessivas. Isso indica que, embora o biofertilizante tenha o potencial de estimular o crescimento, existe um ponto crítico onde seu excesso pode ser prejudicial.

Além disso, a análise química das propriedades do meio de cultivo, incluindo pH, condutividade elétrica, teor de nitrogênio e sólidos totais, forneceu insights adicionais sobre o impacto dos biofertilizantes.

A introdução do biofertilizante influenciou diretamente o pH e a condutividade elétrica, afetando as condições químicas do meio de cultivo. A presença significativa de nitrogênio nos biofertilizantes ressalta sua importância como fonte nutricional para a planta.

Ao analisarmos os dados de pH e condutividade elétrica, foi possível traçar um cenário plausível para a mortalidade das lentilhas. Os valores extremamente altos de condutividade associados às concentrações excessivas de biofertilizantes indicam um acúmulo de íons dissolvidos na solução de cultivo. Isso levou a uma diminuição acentuada no pH do meio de cultivo, criando um ambiente excessivamente ácido para as lentilhas.

O estudo também verificou o rendimento de biomassa da lentilha-d'água em diferentes meios de cultivos com doses variáveis de biofertilizante. Os resultados indicaram que, apesar de um aumento inicial no rendimento, as concentrações excessivas de biofertilizante levaram a consequências prejudiciais para o crescimento da planta.

É evidente que há um notável potencial teórico para a produção de biogás a partir da quantidade de lentilha d'água (lemna). Com suas características favoráveis, como alta taxa de crescimento, capacidade de absorção de nutrientes e adaptação a diversas condições

ambientais, a legumina apresenta-se como uma fonte promissora para a produção de biogás por meio de processos de digestão anaeróbica.

Entretanto, para concretizar esse potencial teórico na prática, são necessários estudos mais abrangentes e experimentos rigorosos. Dessa forma, enquanto os dados atuais permitem estimar um potencial teórico, é fundamental reconhecer que a dedução precisa desse potencial na prática exigirá uma pesquisa mais profunda, com avaliações práticas e experimentais em diferentes cenários. Essa abordagem assegurará uma compreensão holística e precisa do potencial de produção de biogás a partir da biomassa da lentilha-d'água.

Considerando os resultados e as informações disponíveis, é possível inferir que o ambiente ideal para o crescimento de biomassa da lentilha-d'água usando biofertilizante como meio nutritivo para a produção de biogás exige um pH em torno de 5.8 e uma concentração de biofertilizante de 5% a partir da quantidade de água estabelecida para o cultivo.

Em suma, esta pesquisa demonstrou que, embora os biofertilizantes tenham a capacidade de estimular o crescimento da lentilha-d'água, sua aplicação requer cautela. A otimização dos níveis de biofertilizantes é crucial para garantir o rendimento máximo de biomassa e manter as propriedades químicas favoráveis ao crescimento saudável da planta. O entendimento das interações entre a biomassa, os biofertilizantes e o meio de cultivo é fundamental para o desenvolvimento de práticas de cultivo sustentáveis e eficazes.

7. REFERÊNCIAS

- A GALBIATTI, João *et al.* Desenvolvimento do feijoeiro sob o uso de biofertilizante e adubação mineral. **Engenharia Agrícola**, [S.L.], v. 31, n. 1, p. 167-177, fev. 2011. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-69162011000100017>.
- APPENROTH, Klaus J.; BORISJUK, Nikolai; LAM, Eric. Telling duckweed apart: genotyping technologies for the Lemnaceae. **Chin. J. Appl. Environ. Biol**, v. 19, n. 1, p. 1-10, 2013.
- ARAÚJO, F. C. et al. Toxicidade de biofertilizante obtido pela co-digestão anaeróbia de cama de frango com água residuária da suinocultura.
- AREFIN, Md Arman; RASHID, Fazlur; ISLAM, Amirul. A review of biofuel production from floating aquatic plants: an emerging source of bio-renewable energy. **Biofuels, Bioproducts And Biorefining**, [S.L.], v. 15, n. 2, p. 574-591, 7 jan. 2021. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/bbb.2180>. Acesso em: 15 de junho de 2023.
- ÁVILA, Marizangela Rizzatti et al. Influência do estresse hídrico simulado com manitol na germinação de sementes e crescimento de plântulas de canola. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 1, p. 98-106, 2007.
- BENÍCIO, Luíz Paulo Figueredo; DE BORJA REIS, André Fróes; RODRIGUES, Hugo Valério Moreira. Diferentes concentrações de biofertilizante foliar na formação de mudas de quiabeiro. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 6, n. 5, p. 17, 2011.
- BENINCASA, M. ; ORTOLANI, A.F; LUCAS JR., J. Biodigestores Convencionais. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. **UNESP**,Jaboticabal, 25p. , 1990.
- BORISJUK, N. et al. Assessment, validation and deployment strategy of a two-barcode protocol for facile genotyping of duckweed species. **Plant Biology**, v. 17, p. 42-49, 2015.
- BUSATO, Jader Galba et al. Efeito do extrato húmico solúvel em água e biofertilizante sobre o desenvolvimento de mudas de *Calophyllum brasiliense*. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 36, n. 86, p. 161-168, 2016.
- CAMPOS, Alessandro Torres et al. Análise energética de biodigestores tubulares usando dejetos de suínos. **Proceedings of the 5th Encontro de Energia no Meio Rural**, 2004.
- CARVALHO, Joaquim Francisco de. Energia e sociedade. **Estudos avançados**, v. 28, p. 25-39, 2014. Acesso em: 15/04/2023.
- CHICONATO, Denise Aparecida et al. Resposta da alface à aplicação de biofertilizante sob dois níveis de irrigação. *Bioscience Journal*, v. 29, n. 2, 2013

- CUI, W.; CHENG, J. J.. Growing duckweed for biofuel production: a review. **Plant Biology**, [S.L.], v. 17, p. 16-23, 1 jul. 2014. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/plb.12216>. Acesso em: 11 de junho de 2023.
- CULLEY, D. D.; MYERS, R. W. Effect of harvest rate on duckweeds yield and nutrient extraction dairy waste lagoon. In: CULLEY, D. D. ; FRYE, J. B. (eds.) U. S. Department of Energy Final Report. School of Forestry and Wildlife Management, **Louisiana State University**, Baton Rouge, 1980.
- DE MORAIS, Marciana Bizerra et al. Estresse salino induz aumento no acúmulo de amido em lentilha-d'água (*Lemna aequinoctialis*, Lemnaceae): aspectos bioquímicos e fisiológicos. **Journal of Plant Growth Regulation** , v. 38, p. 683-700, 2019.
- DE OLIVEIRA ALVES, Marceluci et al. Biodigestores-fonte renovável de energia. **VII Mostra Interna de Trabalhos de Iniciação Científica 21a**, v. 24, 2014.
- DE OLIVEIRA, Arnald Pinho et al. Produção de biofertilizante em biodigestor e análise química de nitrogênio e fósforo no produto. **Recital-Revista de Educação, Ciência e Tecnologia de Almenara/MG**, v. 4, n. 2, p. 10-26, 2022.
- DEVIDE, Antonio Carlos Pries et al. Determinação do efeito fitotóxico de um biofertilizante bioensaios em casa-de-vegetação. 2000.
- DiTomaso JMand Kyser GB.(2013). Weed Control in Natural Areas in the Western United States, Weed Research and Information Center, **University of California**. 544 pp.
- DROST, Wiebke; MATZKE, Marianne; BACKHAUS, Thomas. Heavy metal toxicity to *Lemna aequinoctialis*: studies on the time dependence of growth inhibition and the recovery after exposure. **Chemosphere**, [S.L.], v. 67, n. 1, p. 36-43, fev. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.10.018>. acesso em 14 de junho de 2023.
- FECHINE, José Mogahid. **Proteômica diferencial de *Lemna aequinoctialis* sob estresse por cádmio**. 2020. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.
- FERNANDES, Josely Dantas et al. Formulação de biofertilizante utilizando a ferramenta Solver do Microsoft Office. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 6, n. 4, p. 17, 2011.
- FRANÇA, G. M. O. Efeito de doses de excremento de aves na produção e qualidade nutricional de *Lemna valdiviana* Phil (Araceae) para piscicultura. Cruz das Almas – Bahia. 2008. 69f.. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias)- **Universidade Federal do Recôncavo da Bahia**.
- FREITAS, Lucas Carvalho de. **Proteômica diferencial de *Lemna aequinoctialis* sob estresse por chumbo**. 2020. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.

- FRIGO, K. D. A. et al. Biodigestores: seus modelos e aplicações. **Acta Iguazu**, Cascavel, v. 4, n. 1, p. 57-65, 2015.
- GUSAIN, Rita; SUTHAR, Surindra. Potential of aquatic weeds (*Lemna gibba*, *Lemna aequinoctialis*, *Pistia stratiotes* and *Eichhornia* sp.) in biofuel production. **Process Safety And Environmental Protection**, [S.L.], v. 109, p. 233-241, jul. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.psep.2017.03.030>. acesso em: 15 de maio de 2023.
- KUNZ, Airton et al. Energia limpa e acessível: contribuições da Embrapa. 2018.
- KUNZ, Airton; STEIMETZ, Ricardo Luis Radis; AMARAL, André Cestonaro do. Fundamentos da digestão anaeróbia, purificação do biogás, uso e tratamento do digestato. Concórdia: Sbera, 2019.
- KUZNETSOVA, T *et al.* *Lemna aequinoctialis* Cultivation for Biofuel Production. **Iop Conference Series: Earth and Environmental Science**, [S.L.], v. 272, n. 2, p. 022058, 1 jun. 2019. IOP Publishing. <http://dx.doi.org/10.1088/1755-1315/272/2/022058>. Acesso em: 14 de maio de 2023.
- KUZNETSOVA, T; POLITAEVA, N; SMYATSKAYA, Yu; A IVANOVA,. *Lemna aequinoctialis* Cultivation for Biofuel Production. **Iop Conference Series: Earth and Environmental Science**, [S.L.], v. 272, n. 2, p. 022058, 1 jun. 2019. IOP Publishing. <http://dx.doi.org/10.1088/1755-1315/272/2/022058>. acesso em: 28 de março de 2023.
- LES, Donald H. et al. Phylogeny and systematics of Lemnaceae, the duckweed family. **Systematic Botany**, v. 27, n. 2, p. 221-240, 2002. <https://doi.org/10.1043/0363-6445-27.2.221>. acesso em: 15 de maio de 2023.
- LOPES, Ana Maria Beims et al. ACÚMULO DE AMIDO EM LEMNAS (*Landoltia punctata*) ATRAVÉS DO ENRIQUECIMENTO DE CO₂, VISANDO À PRODUÇÃO DE BIOETANOL. 2017.
- MANFRON, Melânia Palermo et al. BIODIGESTÃO ANAERÓBICA: uma alternativa para usinas de laticínios. *Ciência Rural*, [S.L.], v. 21, n. 1, p. 145-152, abr. 1991. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0103-84781991000100015>.
- MARDER, Munique. Identificação e caracterização de microrganismos visando maior eficiência na produção de biogás. 2020.
- NETO, Mario de Oliveira Rebouças et al. Crescimento inicial do milho sob diferentes concentrações de biofertilizante bovino. **Cadernos Cajuína**, v. 1, n. 3, p. 4-14, 2016.
- OLIVEIRA, Arnald Pinho de *et al.* Produção de biofertilizante em biodigestor e análise química de nitrogênio e fósforo no produto. **Recital - Revista de Educação, Ciência e**

Tecnologia de Almenara/Mg, [S.L.], v. 4, n. 2, p. 10-26, 1 nov. 2022. Instituto Federal do Norte de Minas Gerais. <http://dx.doi.org/10.46636/recital.v4i2.262>.

PRASAD, M.N.V, 2011. A state-of-the-art report on bioremediation, its applications to contaminated sites in India. Ministry of environment & forests. Government of India. 90pp.

SHAN, M., WANG, Y. & SHEN, X. (2009). Study on bioremediation of eutrophic lake. *Journal of Environment Sciences*: 21 (1): 16 – 18.

SILVA, Olga Eliza Rocha et al. Produção de biogás a partir da co-digestão anaeróbia de capim-elefante com vinhaça em reator em batelada. 2020.

SOARES, Edimar Rodrigues et al. Emergência e desenvolvimento inicial de plântulas de cupuaçu em substrato enriquecido com biofertilizante. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 9, n. 1, 2014.

SOUSA, Geocleber Gomes de et al. Crescimento inicial do milho sob diferentes concentrações de biofertilizante bovino irrigado com águas salinas. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, p. 237-245, 2012.

SOWISKI, E. E., Gilbert, S., Lam, E., & Carpita, N. C. (2019). Linkage structure of cell-wall polysaccharides from three duckweed species. *Carbohydrate polymers*, 223, 115119.

STUCHI, J. F. Biofertilizante: um adubo líquido de qualidade que você pode fazer. Embrapa Amapá-Fôlder/Folheto/Cartilha (INFOTECA-E), 2015.

TEIXEIRA, Sara Rita Madeira. Biorremediação de um efluente mineiro por Lemna Minor. 2012.

VAN HOECK, Arne *et al.* The first draft genome of the aquatic model plant Lemna aquinoctialis opens the route for future stress physiology research and biotechnological applications. **Biotechnology For Biofuels**, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 1-13, 25 nov. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s13068-015-0381-1>. Acesso em: 10 de junho de 2023.

XU, Yaliang et al. Species distribution, genetic diversity and barcoding in the duckweed family (Lemnaceae). **Hydrobiologia**, v. 743, p. 75-87, 2015.

YOUNG, B. J.; RIERA, N. I.; BEILY, M. E. Toxicity of the effluent from an anaerobic bioreactor treating cereal residues on lactuca sativa. *Ecotoxicology and environmental safety*, p.182-186, 2012. PAIXÃO FILHO, J. L.; PIRES, M. S. G.; GABRIELLI, G. Avaliação da toxicidade de efluentes sanitário de filtro anaeróbio com sementes de alface (lactuca sativa) para reuso agrícola. Faculdade de tecnologia, UNICAMP. 2008.