

**RESPIROMETRIA COM AMOSTRAS INDEFORMADAS:
UMA METODOLOGIA INOVADORA PARA INVESTIGAÇÃO DE
PARÂMETROS CINÉTICOS EM LEITOS DE *WETLANDS* CONSTRUÍDOS
HORIZONTAIS SUBSUPERFICIAIS EM ESCALA REAL**

**RESPIROMETRY WITH UNDISTURBED SOIL SAMPLES:
AN INNOVATIVE RESEARCH METHOD TO OBTAIN KINETIC
PARAMETERS IN WETLANDS HORIZONTAL SUBSURFACE AT REAL
SCALE**

André Baxter Barreto*

Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte - MG, Brasil
Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental
andrebarreto@gmail.com

Gabriel Rodrigues Vasconcellos

Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte - MG, Brasil
Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental
gabrielvasconcellos183@hotmail.com

Marcos von Sperling

Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte - MG, Brasil
Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental
marcos@desa.ufmg.br

Resumo

O objetivo da presente pesquisa é apresentar uma metodologia inovadora para ensaios respirométricos em amostras indeformadas de leitos de sistemas alagados construídos (SAC) de escoamento horizontal subsuperficial em escala real. O método compila adaptações do reator de leito fixo (*Planted Fixed Bed Reactor*) desenvolvido no UFZ (Alemanha) e do método respirométrico com colunas de escoamento descendente, além de inovações propostas pelos presentes autores para obtenção de amostras indeformadas. Foram realizados ensaios respirométricos utilizando amostras indeformadas de SAC em escala real maduro, plantadas com duas espécies (*Typha latifolia* e *Canna x generalis*). As taxas de respiração endógena nas amostras de *Typha latifolia* ($1 \text{ mgO}_2/\text{L.h}^{-1}$) foram inferiores às de *Canna x generalis* (3 a $4 \text{ mgO}_2/\text{L.h}^{-1}$). Os resultados validam o método para ensaios respirométricos com amostras indeformadas de SAC e sugerem influência espécie específica nas taxas de respiração e comunidades microbianas no leito.

Palavras-chave: *Wetlands* construídos. Respirometria. Consumo de oxigênio. Rizosfera.

Abstract

The aim of this research is to present an innovative methodology for respirometric tests on undisturbed samples of wetlands (SAC) at horizontal subsurface runoff in real scale. The method compiles adaptations of the planted fixed bed reactor developed at UFZ (Germany) and the

respirometric method with downflow columns, besides innovations proposed by the authors to obtain soil samples. Respirometric tests were performed using undisturbed soil samples of SAC in mature real scale, and planted with two species (*Typha latifolia* and *Canna x generalis*). The endogenous respiration rates in the samples of *Typha latifolia* ($1 \text{ mgO}_2 / \text{Lh}^{-1}$) were lower than *Canna x generalis* (3 to $4 \text{ mgO}_2 / \text{Lh}^{-1}$). The results validate the respirometric tests method at undisturbed samples of SAC and suggest influence specific-species in respiration rates and microbial communities in wetlands.

Keywords: Constructed *wetlands*. Respirometry. Oxygen consumption. Rhizosphere

1 Introdução

Devido à complexa natureza dos SAC, a quantificação direta das taxas de transferência e consumo de oxigênio tem sido uma barreira ao entendimento das dinâmicas deste elemento nestes sistemas. Os SAC são sistemas particularmente complexos neste sentido devido à presença da vegetação e suas interações com o ambiente subsuperficial do leito suporte.

As plantas transferem ar (oxigênio) para seu sistema radicular (BRIX, 1997; STOTTMEISTER *et al.*, 2003) e formam camadas aeróbias ao redor da raiz, criando gradientes de oxirredução (KADLEC e WALLACE, 2009; WIESSNER *et al.*, 2002; MÜNCH *et al.*, 2005). Como resultado, a rizosfera apresenta um mosaico de condições redox com vários nichos ecológicos e ocorrência de diversos processos microbiológicos simultaneamente. Isso influencia as comunidades microbianas predominantes, aumentando a densidade, diversidade e atividade microbiológica (MÜNCH *et al.*, 2005; GAGNON *et al.*, 2007). Como, de maneira geral, a distância média entre as raízes é de 35 mm, a influência da zona de raiz pode se estender por todo o leito do SAC (MÜNCH *et al.*, 2005).

Segundo Nivala *et al.* (2013), novos métodos vêm sendo desenvolvidos para aperfeiçoar a quantificação *in situ* da taxa de transferência e da taxa de consumo de oxigênio. Estão inclusos os métodos de traçador gasoso, estimando a transferência de oxigênio (TYROLLER *et al.*, 2010); inferência a partir de dados de qualidade de água e o método respirométrico, ambos estimando o consumo de oxigênio (ANDREOTTOLA *et al.*, 2007; ORTIGARA *et al.*, 2010). Segundo Langergraber e Šimůnek (2005), procedimentos para medição direta de parâmetros cinéticos da biomassa em SAC, como as taxas de respiração e concentração de biomassa, são raros.

A técnica de respirometria em amostras de leitos de SAC é uma ferramenta promissora para validação dos dados obtidos por modelos matemáticos, aperfeiçoamento de critérios de projeto, dentre outras aplicações. Uma vez empregada para leitos em escala real, esta técnica pode elucidar o metabolismo do meio suporte, como sugerem os modelos e teorias apresentados por Samsó e García (2013), Langergraber e Šimůnek (2012) e Faulwetter *et al.* (2009), que mostram uma heterogeneidade de microrganismos nos SAC e ainda influência da vegetação nesta distribuição.

Uma das dificuldades associadas a estes estudos é a obtenção de amostras do meio suporte original sem a deturpação ou ruptura do ambiente subsuperficial e do ecossistema estabelecido. Para contornar esta questão é necessário um dispositivo para obtenção de amostras indeformadas dos leitos. Outra necessidade é um reator que permita a realização dos ensaios sob condições controladas, recriando as condições da rizosfera em macroescala. Nesse caso, o Reator de Leito Fixo (*Planted Fixed Bed Reactor - PFR*, em inglês) destaca-se como importante ferramenta. Este reator foi desenvolvido no Centro Helmholtz para Pesquisas Ambientais (UFZ-Alemanha) como unidade universal para testes em solos plantados em escala laboratorial (KAPPELMEYER *et al.*, 2002).

O objetivo do presente trabalho é apresentar uma metodologia inovadora para realização de ensaios respirométricos em amostras indeformadas de leitos de SAC de escoamento horizontal subsuperficial em escala real, utilizando uma adaptação do Reator de Leito Fixo (PFR) como unidade respirométrica.

2 Metodologia

2.1 Região do estudo e configuração da unidade experimental

O estudo foi realizado no Centro de Pesquisa e Treinamento em Saneamento (CePTS) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) em parceria com a Companhia de Saneamento de Minas Gerais (COPASA). O CePTS localiza-se na Estação de Tratamento de Esgotos do Arrudas (ETE Arrudas - coordenadas 19°53'42" S e 43°52'42" W), que recebe esgotos sanitários das cidades de Belo Horizonte e Contagem, Brasil. A região apresenta clima tropical de altitude (Cwa) com altitude média de 858 m, com temperatura média anual de 21 °C.

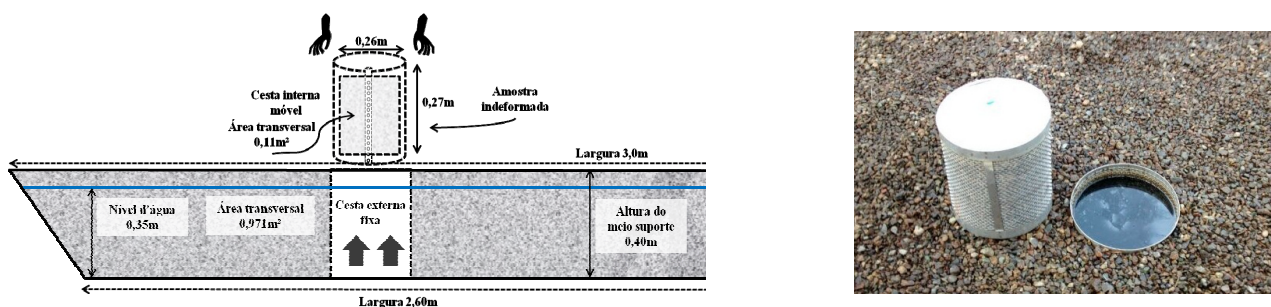
A presente pesquisa utilizou amostras indeformadas de SAC de escoamento horizontal subsuperficial (SAC-EHSS) recebendo efluentes sanitários após um reator tipo UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*). O esgoto, antes de ser encaminhado para as unidades de estudo, passa por tratamento preliminar, composto por sistema de gradeamento e desarenador. O reator UASB apresenta um volume útil de 22 m³, operando com vazão de 80 m³/d, resultando em Tempo de Detenção Hidráulica (TDH) médio de 6,6 horas. Parte do efluente do reator UASB é encaminhada para dois SAC horizontais, sendo uma unidade plantada com *Thypha latifolia* e outra unidade não plantada (controle), sendo que há alguns indivíduos de *Canna x generalis* presentes no leito plantado, além de espécies invasoras. Cada leito apresenta 25 m de comprimento, 3 m de largura, 0,4 m de altura, tendo como nível d'água de projeto 0,30 m. Ambas unidades utilizam escória de alto forno como meio suporte, com d₁₀ igual a 19 mm e coeficiente de uniformidade d₆₀/d₁₀ igual a 1,2. Os SAC-EHSS operam desde junho de 2007, em paralelo, e cada um recebe vazão de 7,5 m³/d,

com TDH de 1,41 e 1,36 dias para o plantado e não plantado, respectivamente (de Paoli e von Sperling, 2010). Cada unidade foi dimensionada para um equivalente populacional de 50 habitantes e foram objeto de vários estudos científicos. Os trabalhos de Costa *et al.* (2013), de Paoli e von Sperling (2013) e von Sperling e de Paoli (2013) apresentam diversas informações sobre o sistema. Atualmente ambos os leitos encontram-se em avançado processo de colmatação.

2.2 Dispositivo para obtenção de amostras indeformadas

Nesta pesquisa foi desenvolvido um método para obtenção de amostras indeformadas de leitos de SAC, que permite a remoção e reposicionamento das amostras e garante a preservação da biomassa sob as condições originais no meio suporte (Figura 1 e Figura 3, esquerda). Com esta abordagem é possível remover as amostras indeformadas do leito real, posicioná-las nos reatores PFR, realizar as investigações de interesse e reposicionar as amostras no leito. Este procedimento pode ser realizado periodicamente, permitindo um acompanhamento de longo prazo da evolução do meio suporte e da rizosfera. O dispositivo consiste em uma cesta interna móvel (30 cm de altura e 28 cm de diâmetro) com capacidade para 18 L, encaixada dentro de uma cesta externa fixa no leito (30 cm de altura e 30 cm de diâmetro) que mantém o meio suporte estruturado, ambas armadas com tela de aço inoxidável com malha de 0,5 cm x 0,5 cm.

Figura 1 – Corte ilustrativo da seção transversal no SAC apresentando o dispositivo para obtenção de amostras indeformadas (esquerda) e foto do dispositivo removido do leito (direita)



Fonte: Autoria própria (2014)

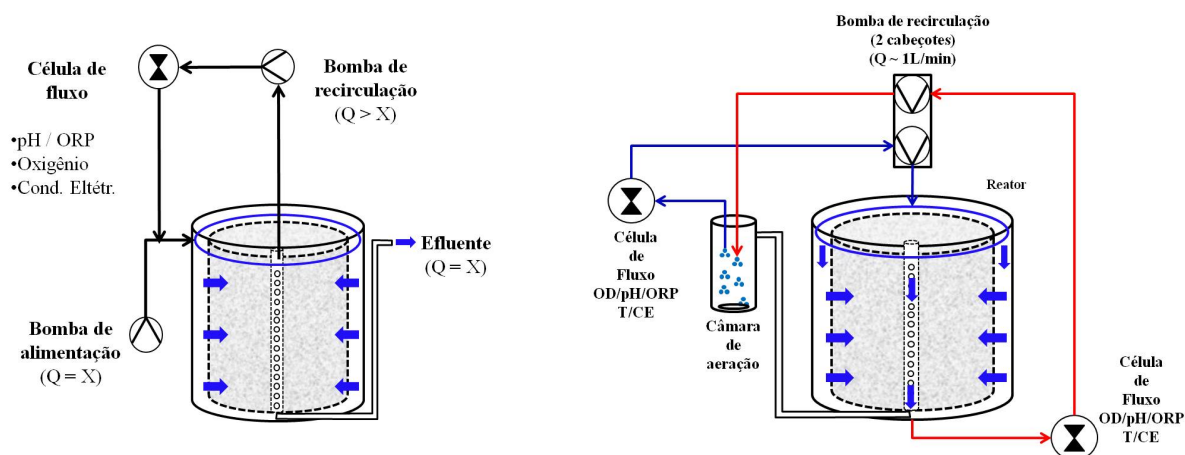
2.3 Adaptação do PFR para respirometria em amostras indeformadas de SAC

O projeto do PFR, segundo a concepção original de Kappelmeyer *et al.* (2002), foi simplificado e reconstruído, permitindo o controle e manipulação de condições operacionais com precisão (Figura 2, esquerda e Figura 3, centro e direita). Foi construído em PVC, tendo como dimensões 30 cm de altura e 30 cm de diâmetro. A alimentação do reator ocorre por uma bomba peristáltica e a distribuição do líquido se dá por uma mangueira que circunda o reator na parte superior. A saída do líquido se dá pelo tubo central, com diâmetro de 4 cm, instalado dentro da cesta com amostra indeformada do meio suporte, e pelo orifício no fundo do reator. O nível d'água

é controlado pelo tubo ajustável na parte externa do reator. Há a possibilidade de instalação de uma linha de recirculação para aumentar a mistura no reator. A configuração cria um reator de mistura completa (CSTR), com escoamento radial e elevada mistura, conforme o projeto original de Kappelmeyer *et al.* (2002). Maiores informações encontram-se em Barreto *et al.* (2015).

Para operação do reator como unidade respirométrica (Figura 2, direita e Figura 3, centro e direita), o PFR foi equipado com uma câmara de aeração externa, uma bomba peristáltica com dois cabeçotes e duas células de fluxo. Nesta configuração, o líquido deixa a câmara de aeração, entra na 1ª célula de fluxo, passa pela bomba peristáltica (cabeçote 1), entra no PFR, sai do PFR, entra na 2ª célula de fluxo, passa pela bomba peristáltica (cabeçote 2), retorna à câmara de aeração e reinicia o ciclo. São tomadas medidas de concentração de oxigênio dissolvido em ambas as células de fluxo em curtos intervalos de tempo. Para isso foram utilizadas duas sondas multiparamétricas (oxigênio dissolvido, pH, potencial REDOX, Temperatura, Condutividade Elétrica) YSI modelo 600 XLM equipadas com datalogger interno. É importante ressaltar que o sensor de oxigênio dissolvido nessa sonda foi um sensor ótico.

Figura 2 – Ilustração esquemática do PFR adaptado (esquerda) e foto do sistema em operação como respirômetro (direita)



Fonte: Autoria própria (2015)

2.4 Respirometria em amostras indeformadas

Foram realizados três ensaios respirométricos com duas amostras indeformadas do leito dos SAC horizontais, uma delas plantada com *Typha latifolia* e outra plantada com *Canna x generalis*, ambas espécies amplamente empregadas em SAC. Os ensaios tiveram duração de aproximadamente 48 horas. O objetivo desta abordagem foi investigar o comportamento das amostras através de respirogramas até alcançarem o estado endógeno de respiração e após um pulso de substrato.

As amostras foram removidas da região de saída (23 m de distância da entrada) dos SAC horizontais no CePTS após 300 dias de aclimação no leito. Em seguida, as amostras foram enxaguadas com água limpa em abundância para remoção do excesso de substrato e instaladas no

respirômetro. A Figura 3 apresenta a amostra plantada com *Canna x generalis* removida do leito (esquerda) e instalada no respirômetro (centro) e a amostra de *Typha latifolia* instalada no respirômetro (esquerda).

As amostras foram mantidas sob aeração e circulação constantes por períodos de 3 a 4 dias antes dos ensaios, de modo a trazer a biomassa ao estado endógeno. As concentrações de oxigênio dissolvido (entrada e saída) foram monitoradas a cada minuto. Estes valores foram aplicados na equação 1, resultando nas taxas de consumo de oxigênio e produzindo os respirogramas. Num primeiro momento, foram registradas as taxas de respiração endógena em ambas as amostras. Num segundo momento, a amostra plantada com *Canna x generalis* foi utilizada para um ensaio de respiração exógena, aplicando-se um pulso de substrato com efluente do reator UASB, produzindo uma concentração no reator da ordem de 85mgDQO/L.

Figura 3- Amostra indeformada plantada com *Canna x generalis* retirada do leito (esquerda) e respirômetro montado com amostra de *Canna x generalis* (centro) e *Typha latifolia* (direita)



Fonte: Autoria própria (2015)

Para determinar a taxa de consumo de oxigênio utilizou-se a equação 1 sugerida por Andreottola *et al.* (2007) e Ortigara *et al.* (2010). Esta equação assume que o coeficiente de transferência de oxigênio (kLa) é nulo, uma vez que são monitoradas as concentrações de entrada e saída no respirômetro, sendo desnecessária a contabilização deste parâmetro.

$$TCO (mgO_2/L.h^{-1}) = \frac{OD_{entrada} - OD_{saída}}{TDH} \quad (1)$$

Onde:

TCO = taxa de consumo de oxigênio (mgO₂/L.h⁻¹)

OD_{entrada} = concentração de oxigênio dissolvido na entrada do respirômetro (mg/L)

OD_{saída} = concentração de oxigênio dissolvido na saída do respirômetro

TDH = tempo de detenção hidráulica teórico no sistema (h)

Neste experimento o tempo de detenção hidráulica foi calculado em 0,3 h, obtido com vazão de 60 L/h e volume de 11 L.

As taxas de consumo de oxigênio são afetadas pelas variações diurnas de temperatura, que influenciam tanto a concentração de saturação do oxigênio quanto a taxa de atividade microbiana. Por isso, conforme Ortigara *et al.* (2010), é necessário excluir a influência das variações de temperatura nos respirogramas usando uma referência para 20°C, conforme a equação 2 a seguir:

$$TCO_{20^{\circ}C} (mgO_2/L.h^{-1}) = \frac{TCO_t}{\theta^{(T-20^{\circ}C)}} \quad (2)$$

Onde:

$TCO_{20^{\circ}C}$ = taxa de consumo de oxigênio ($mgO_2/L.h^{-1}$) corrigida para 20°C

TCO_t = taxa de consumo de oxigênio ($mgO_2/L.h^{-1}$) em determinado tempo

Θ = coeficiente de conversão (1,08)

T = Temperatura da água (°C)

3 Resultados e discussão

Os ensaios de respirometria revelaram que o aparato experimental proposto aplica-se adequadamente a testes respirométricos em amostras indeformadas de leitos de SAC. O reator apresentou condições operacionais estáveis permitindo a realização dos testes por longos períodos sob condições controladas. Os resultados coletados pelas sondas mostram-se precisos e confiáveis, fato exemplificado pelas flutuações nas concentrações de oxigênio dissolvido em função da variação da temperatura da água. Sabe-se que a temperatura influencia a solubilidade dos gases na água, o que pode ser observado nas curvas das figuras 4, 5 e 6.

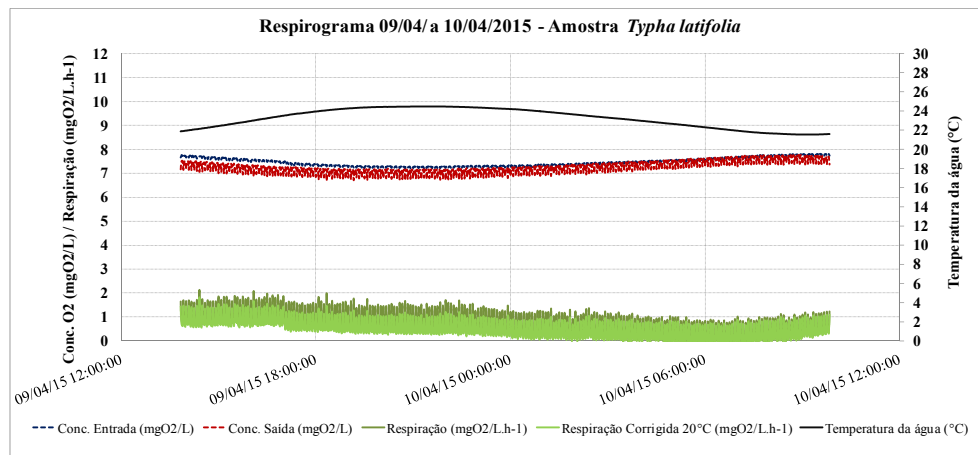
Os respirogramas endógenos (figura 4 e 5) sugerem um efeito espécie específico da vegetação na atividade e densidade microbiana, corroborando as teorias de Gagnon *et al.* (2007), Ruiz-Rueda *et al.* (2009), Faulwetter *et al.* (2009), Langergraber e Simunek (2012), Samsó e García (2013) e Lai *et al.* (2012). Na amostra plantada com *Typha latifolia* observaram-se taxas de respiração endógena da ordem de 1 $mgO_2/L.h^{-1}$, enquanto nas amostras plantadas com *Canna x generalis* observaram-se taxas de respiração endógena da ordem de 3 a 4 $mgO_2/L.h^{-1}$ (referente a valores corrigidos para 20°C usando a equação 2). Este fenômeno parece estar relacionado às maiores massas de biomassa heterotrófica e autotrófica nitrificante, favorecidas por uma zona radicular mais densa e desenvolvida na espécie *Canna x generalis*. Outro fato que pode explicar este fenômeno é a maior liberação de oxigênio pela zona radicular, aumentando a disponibilidade de micronichos aeróbios no meio suporte e a concentração de biomassa aeróbia. Há que se observar que a amostra plantada com *Typha latifolia* apresentava partes aéreas (folhas) menos desenvolvidas que as de *Canna x generalis* (Figura 3), fato que pode ter influenciado os resultados.

Com intuito exploratório, foi realizado um ensaio de respiração exógena simplificado, no reator contendo amostra plantada com *Canna x generalis*, aplicando-se um pulso de efluente que

trouxe ao reator uma concentração de aproximadamente 85mgDQO/L. A Figura 6 mostra o respirograma da respiração exógena, evidenciando que o sistema partiu de uma condição endógena ($\sim 3,5 \text{ mgO}_2/\text{L.h}^{-1}$) e alcançou um pico de $6,6 \text{ mgO}_2/\text{L.h}^{-1}$ (referente a valores corrigidos para 20°C usando a equação 2). Após o pulso de substrato, o sistema levou aproximadamente três horas para retornar ao estado endógeno.

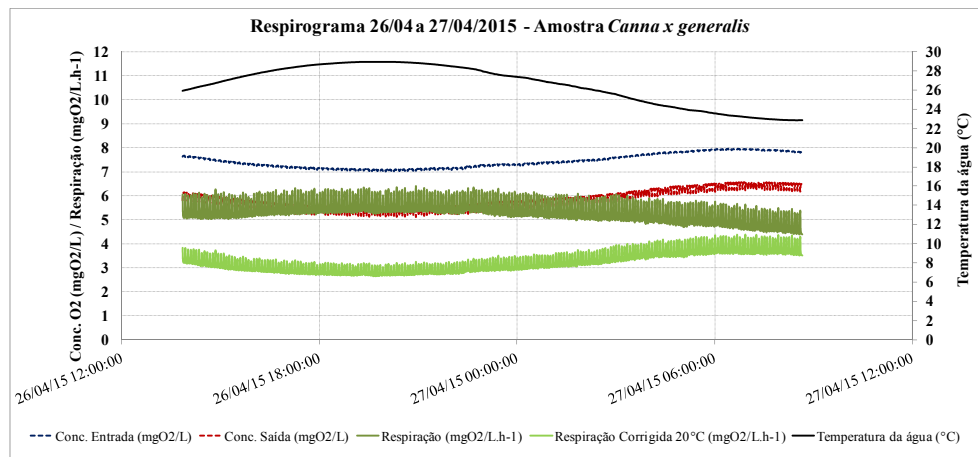
Apesar dos resultados ainda iniciais apresentados neste artigo (pesquisas em desenvolvimento), os autores destacam as inovações do aparato experimental aqui apresentado por compilar os princípios de funcionamento do PFR de Kappelmeyer *et al.* (2002), a metodologia de ensaios respirométricos de Andreottola *et al.* (2007) e Ortigara *et al.* (2010), além das inovações desenvolvidas pelos autores da presente pesquisa para obtenção de amostras indeformadas de leitos em escala real. O aparato permite a obtenção de amostras do leito sem que haja a sua ruptura ou deturpação, seja pela escavação ou pela remoção de biofilme aderido aos grãos do meio suporte. Outra vantagem é que os ensaios podem ser realizados com meio suporte aclimatado no leito original, diferentemente de outras metodologias que exigem a aclimatação do meio suporte em laboratório ou a remoção do biofilme aderido aos grãos do meio suporte.

Figura 4 – Respirograma da respiração endógena em amostra indeformada de SAC plantada com *Typha latifolia*.



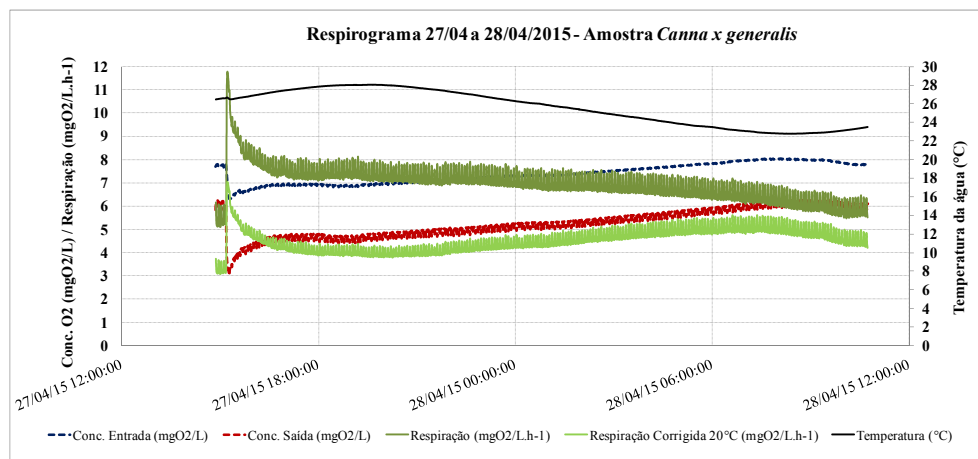
Fonte: Autoria própria (2015)

Figura 5 – Respirograma da respiração endógena em amostra indeformada de SAC plantada com *Canna x generalis*.



Fonte: Autoria própria (2015)

Figura 6 – Respirograma da respiração exógena em amostra indeformada de SAC plantada com *Canna x generalis*.



Fonte: Autoria própria (2015)

Esta metodologia contribui para o avanço das investigações sobre a dinâmica da comunidade microbiana no meio suporte de wetlands construídos, como recomendam Nivala *et al.* (2013), bem como sua interação com a comunidade vegetal. Permite ainda o acompanhamento da evolução do amadurecimento/colonização do leito. Coletando-se as amostras posicionadas em diferentes posições no leito e submetendo-as a ensaios respirométricos em intervalos de tempo determinados, é possível acompanhar o desenvolvimento das comunidades microbianas ao longo do tempo. Os resultados destas investigações podem ser comparados com modelagem matemática validando ou obtendo dados para o modelo. Outra aplicação deste método é o cultivo de amostras com diferentes espécies de plantas e a realização de ensaios respirométricos comparando as taxas de respiração endógena, heterotrófica e autotrófica nitrificante, o que pode indicar a relação entre o tipo de vegetação e a comunidade microbiana predominante no leito.

4 Conclusão

O aparato experimental proposto pela presente pesquisa revelou-se adequado para realização de ensaios respirométricos com amostras indeformadas de meio suporte de SAC em escala real. Foi possível observar as taxas de respiração endógena e exógena nas amostras plantadas com duas espécies de plantas. Os resultados sugerem um efeito espécie específico da vegetação nas taxas de respiração endógena, o que corrobora as teorias atuais sobre a influência da zona de raízes nas comunidades microbianas em SAC. Os autores destacam esta metodologia como uma importante ferramenta para o avanço dos estudos sobre o meio suporte em SAC horizontais.

Agradecimentos

Os autores do trabalho agradecem à CAPES, ao CNPq, à FINEP, à FUNASA, à COPASA, à FAPEMIG ao Dr. Jean-Luc Vassel (ULg – Bélgica), ao Dr. Uwe Kappelmeyer e ao Dr. Peter Kuschik (UFZ – Alemanha) por todo apoio e envolvimento nas distintas fases desta pesquisa.

Referências

- ANDREOTTOLA, G. et al. Respirometric techniques for assessment of biological kinetics in constructed wetland. **Water Science and Technology**. v. 56, n. 3, p. 255–261, 2007.
- BARRETO, A. B. et al. Field application of a planted fixed bed reactor (PFR) for support media and rhizosphere investigation using undisturbed samples from full-scale constructed wetlands. **Water Science and Technology**. No Prelo. 2015.
- BRIX, H. Do macrophytes play a role in constructed treatment wetlands? **Water Science and Technology**, v. 35, p. 11-17, 1997.
- COSTA, J. F. et al. Performance and behaviour of planted and unplanted units of a horizontal subsurface flow constructed wetland system treating municipal effluent from a UASB reactor. **Water Science and Technology**, v.68, n. 7, p. 1495–1502, 2013.
- DE PAOLI, A. C.; VON SPERLING, M. Evaluation of clogging in planted and unplanted horizontal subsurface flow constructed wetlands: solids accumulation and hydraulic conductivity reduction. **Water Science and Technology**, v. 67, n. 6, p. 1345-1352, 2013.
- FAULWETTER, J. L. et al. Microbial processes influencing performance of treatment wetlands: A review. **Ecological Engineering**. v. 35, p. 987-1004, 2009.
- GAGNON, V. et al. Influence of macrophyte species on microbial density and activity in constructed wetlands. **Water Science and Technology**. v. 56, n. 3, p. 249-254, 2007.
- KADLEC, H. R.; WALLACE, S. **Treatment wetlands**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 2009.
- KAPPELMEYER, U. *et al.* Operation of a universal test unit for planted soil filters – Planted Fixed Bed Reactor. **Engineering and Life Sciences**. v. 2, p. 311-315, 2002.
- LAI, W. L. et al. Radial oxygen loss, photosynthesis and nutrient removal of 35 wetland plants. **Ecological Engineering**. v. 39, p. 24-30, 2012.
- LANGERGRABER G.; ŠIMŮNEK J. Modeling variably saturated water flow and multicomponent reactive transport in constructed wetlands. **Vadose Zone Journal**, v. 4, p. 924–938, 2005.
- LANGERGRABER, G.; SIMUNEK, J. Reactive transport modeling of subsurface flow constructed wetlands using the HYDRUS wetland module. **Vadose Zone Journal**. 11 (2), 2012.

MÜNCH, Ch. et al. Root stimulated nitrogen removal: only a local effect or important for water treatment? **Water Science and Technology**. v. 51, n. 9, p. 185 - 192, 2005.

NIVALA, J. et al. Oxygen transfer and consumption in subsurface flow treatment wetlands. **Ecological Engineering**. V.61, p. 544-554, 2013.

ORTIGARA, A.; FALADORI, P.; ANDREOTTOLA, G. Kinetics of heterotrophic biomass and storage mechanism in wetland cores measured by respirometry. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON WETLAND SYSTEMS FOR WATER POLLUTION CONTROL, 12, 2010, Veneza. **Anais...**Veneza: IWA, 2010. p. 760-768.

RUIZ-RUEDA, O. et al. Structure and function of denitrifying and nitrifying bacterial communities in relation to the plant species in a constructed wetland. **Microbial Ecology**. v. 67, p. 308-319, 2009.

SAMSÓ, R.; GARCÍA, J. Bacteria distribution and dynamics in constructed wetlands based on modeling results. **Science of the Total Environment**. v. 461-462, p. 430-440, 2013.

STOTTMEISTER, U. *et al.* Effects of plants and microorganisms in constructed wetlands for wastewater treatment. **Biotechnology Advances**, v. 22, p. 93-117, 2003.

TYROLLER, L. *et al.* Application of the gas tracer method for measuring oxygen transfer rates in subsurface flow constructed wetlands. **Water Research**, v. 44, n. 14, p. 4217-4225, 2010.

VON SPERLING, M.; DE PAOLI, A. C. First-order COD decay coefficients associated with different hydraulic models applied to planted and unplanted horizontal subsurface-flow constructed wetlands. **Ecological Engineering**, 57, 205-209, 2013.

WIESSNER, A. *et al.* Oxygen release by roots of *Thypha latifolia* and *Juncus effusus* in laboratory hydroponic systems. **Acta Biotechnologica**. v. 22, p. 209-216, 2002.