



ESTUDOS PRELIMINARES SOBRE A UTILIZAÇÃO DE BIOFILME NA REDUÇÃO DA EUTROFIZAÇÃO EM AMBIENTE LÓTICO COM CARACTERÍSTICAS MEDITERRÂNICAS

Flávia Martins Franco de Oliveira
Universidade Federal da Paraíba

Maria Cristina Crispim
Universidade Federal da Paraíba

Ana Maria Antão-Geraldes
Instituto Politécnico de Bragança

RESUMO

A eutrofização é um dos principais problemas que afetam os corpos aquáticos ocasionando alterações na qualidade da água e na biota existente e devido a isso, pesquisas biotecnológicas que visem reduzir essas alterações tem aumentado. O objetivo da presente pesquisa foi avaliar se a colocação de uma plataforma que permita o aumento do biofilme em um trecho de um ecossistema lótico em Bragança-Portugal, contribui para melhoria da qualidade da água. Foram inseridas 5 estruturas no rio Fervença para servir de substrato para o biofilme e realizadas análises químicas e físicas a montante e a jusante das estruturas. Os resultados mostraram que a jusante ocorreu aumento no pH e no oxigênio e redução do nitrato e nitrogênio total na maioria dos meses analisados, sugerindo a interferência positiva do biofilme. O biofilme agregado às estruturas de biorremediação estavam bem verde em apenas duas semanas e sua análise revelou que em todos os meses o peso livre de cinzas esteve sempre superior as cinzas, sendo caracterizado como orgânico-inorgânico (25% - 50%). O biofilme evidenciou ser de natureza heterotrófica-autotrófica ou heterotrófica. A classe Bacillariophyceae superou a chlorophyceae em todos os meses, com maior densidade para o gênero *Nitzschia* sp na maioria dos meses. Em relação aos macroinvertebrados bentônicos, os chironomídeos foram quantitativamente mais numerosos a montante e os Hirudíneos a jusante na maioria dos meses sugerindo a ocorrência de poluição orgânica. A técnica com a utilização de plásticos mostrou-se eficiente na criação de habitats para o biofilme, visto que em apenas 15 dias o biofilme já se encontrava com boa colonização, entretanto, sugere-se a utilização de material permanente (como cerâmica, tijolo, vidro, dentre outros) que não liberem substâncias tóxicas de forma a criar habitats permanentes no local. A utilização do biofilme mostrou alterações a montante e a jusante em relação a algumas análises, sugerindo-se aumentar a quantidade de estruturas no local de estudo para maior eficiência do biofilme no melhoramento da qualidade de água

Palavras-chave: Biorremediação, Biofilme, Substratos artificiais, Qualidade da água, Eutrofização.

Preliminary studies on the use of biofilm in reducing eutrophication in a lotic environment with Mediterranean characteristics

ABSTRACT

A eutrofização é um dos principais problemas que afetam os corpos aquáticos, ocasionando alterações na qualidade da água e na biota existente, como consequência, pesquisas que visem reduzir essas alterações têm aumentado. Biotecnologias são métodos eficientes e de menor custo para reverter esse problema. O objetivo da presente pesquisa foi avaliar se a colocação de uma plataforma que permita o aumento do biofilme natural em um trecho de um ecossistema lótico em Bragança-Portugal, contribui para melhorar a qualidade da água. Foram inseridas 5 conjuntos de estruturas (módulos) no Rio Fervença para servir de substrato para o biofilme e foi avaliada a sua eficácia. Os resultados mostraram que a jusante ocorreu aumento no pH e no oxigênio e redução do nitrato e nitrogênio total na maioria dos meses analisados, sugerindo a interferência positiva do biofilme. O biofilme agregado às estruturas de biorremediação estava verde em apenas duas semanas e sua análise revelou que em todos os meses o peso livre de cinzas esteve sempre superior ao de cinzas, sendo caracterizado como orgânico-inorgânico (25% - 50%). O biofilme evidenciou ser de natureza heterotrófica-autotrófica ou heterotrófica. A classe Bacillariophyceae superou a Chlorophyceae em todos os meses, com maior densidade para o gênero *Nitzschia* na maioria dos meses. Em relação aos macroinvertebrados bentônicos, os Chironomidae foram quantitativamente mais numerosos a montante e os Hirudineae a jusante na maioria dos meses, sugerindo a ocorrência de poluição orgânica mais forte a montante. A técnica com a utilização de plásticos mostrou-se eficiente na criação de habitats para o biofilme, visto que em apenas 15 dias o biofilme já se encontrava com boa colonização, entretanto, sugere-se a utilização de material permanente (como cerâmica, tijolo, vidro, dentre outros) que não seja degradável, de forma a criar habitats permanentes no local. A utilização do biofilme mostrou alterações a jusante em relação a algumas análises, melhorando a qualidade de água, mas sugere-se aumentar a quantidade de estruturas para maior eficiência do biofilme.

Keywords: Biorremediation, Biofilm, Artificial substrates, Water quality, Eutrophication

INTRODUÇÃO

Como é do conhecimento geral, a degradação dos ecossistemas aquáticos tem-se intensificado muito nas últimas décadas devido ao mau ordenamento do território, às más práticas agrícolas e florestais e ao aumento da poluição em parte devida ao mau funcionamento das Estações de Tratamento de Esgoto (ETE/ETAR). Consequentemente a capacidade de auto-depuração destes ecossistemas tem sido afetada drasticamente. Devido ao mencionado anteriormente os processos de eutrofização tem sido também fortemente acelerado.

O fósforo é um nutriente limitante, influenciando, a produção primária. Assim, a redução/prevenção dos efeitos da eutrofização passa pela diminuição deste nutriente e também do nitrogênio (nutriente co-limitante da produção primária) nos ecossistemas aquáticos (Wetzel, 2001). Em vista disso, pesquisas visando a restauração da capacidade de auto-depuração dos ecossistemas aquáticos tem aumentado e processos relacionados com a biorremediação vêm ganhando destaque, principalmente em ambientes eutrofizados.

Uma das metodologias de biorremediação que pode ser utilizada é o aumento da área de ocupação do biofilme, utilizando substratos artificiais, com o objetivo de promover o crescimento e o aumento da biomassa desta comunidade (Crispim *et al.*, 2009; Morashashi *et al.*, 2019), incrementando, assim, a capacidade de autodepuração dos ecossistemas aquáticos.

O biofilme é um consórcio de organismos autotróficos e heterotróficos que coexistem numa matriz extracelular hidratada constituída por substâncias extracelulares poliméricas. Os principais componentes biológicos do biofilme são as microalgas e cianobactérias (autotróficos) e bactérias fungos e protozoários como heterotróficos (Freixa *et al.*, 2023).

Dadas estas características, diversos autores têm enfatizado as vantagens do biofilme em comparação com outras tecnologias, em relação à sua constituição por vários tipos de organismos no qual ocorrem processos de produção, consumo e decomposição, tornando o tratamento mais eficaz pelo fato de ser encontrado em qualquer zona do curso de água e de ter um papel importante no processo de reciclagem e transferência de nutrientes; a fixação a um dado substrato e ser facilmente incorporado em bioreactores, além de ser uma tecnologia de baixo custo e ecológica, fazem com que o biofilme possa vir a ser uma ferramenta interessante para promover a biorremediação de sistemas aquáticos eutrofizados (Vymazal, 1988; Crispim *et al.*, 2009; Lu *et al.*, 2014; Wu *et al.*, 2014; 2017; Ma *et al.*, 2018). Por outro lado, a colocação de substratos artificiais nos cursos de água ao promover um aumento da área do biofilme também melhora o habitat de outros grupos como macroinvertebrados e peixes, podendo incrementar a biodiversidade existente (Crispim *et al.*, 2009; Morashashi *et al.*, 2019).

Na Europa, em alguns trabalhos de investigação pioneiros, realizados na Alemanha e Polónia (Jöbgen *et al.*, 2004; Szlauer-Lukaszewska, 2007) foram colocadas em lagos bandas de polietileno (plástico) e polipropileno com o objetivo de aumentar o habitat disponível para o biofilme. Estes revelaram resultados promissores na melhoria da qualidade da água destes ecossistemas.

No Brasil, mais propriamente em rios localizados no estado da Paraíba, têm sido realizadas abordagens semelhantes às mencionadas por Jöbgen *et al.* (2004), e; Szlauer-Łukaszewska (2007), evidenciando resultados promissores no que diz respeito à melhoria da qualidade da água e da integridade dos ecossistemas visados por estas pesquisas (Pérez, 2015; Souza, 2015; Vieira, 2018; Oliveira, 2020; SOUSA, 2020; Sousa *et al.*, 2023).

Contrariamente, em Portugal, são desconhecidos estudos similares aos mencionados. Assim, o objetivo da presente investigação é testar a eficácia desta metodologia num trecho eutrofizado de um rio urbano localizado em Bragança (Portugal). Para atingir o objetivo proposto foram avaliados: (1) a evolução da colonização e características do biofilme e (2) a qualidade da água a montante e a jusante das estrutura.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de Estudo

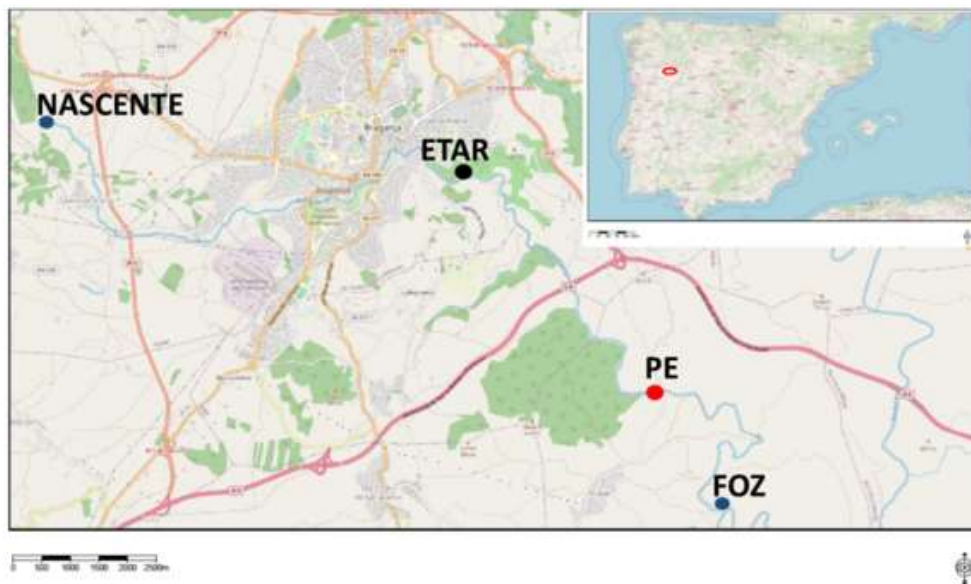
O Rio Fervença pertence à Bacia Hidrográfica do Rio Douro; nasce na Serra da Nogueira (Aldeia de Fontes Barrosas- 41°48'N; 6°50'W), a 1300 m de altitude, percorre cerca de 25 Km, atravessa a cidade de Bragança, sendo, por isso, classificado como um rio urbano e desagua no Rio Sabor, cerca de 7 Km a jusante de Bragança (Fig. 1). Esta região apresenta clima mediterrânico, com as fortes variações intra e inter-anuais de precipitação (IPMA, 2018). Consequentemente, o rio desenvolve um regime hidrológico torrencial, com grandes variações de caudal em consonância com o regime de precipitações.

Na sub-bacia hidrográfica do Rio Fervença existem fontes de contaminação difusa e pontual. No interior da cidade, observa-se um aumento da contaminação orgânica proveniente de fontes pontuais, sendo este fenómeno particularmente forte a jusante da Estação de Tratamento de Águas Residuais (ETAR), onde as águas residuais da cidade após tratamento secundário são lançadas diretamente no rio.

Foi selecionado um local de amostragem a jusante da ETAR denominado PE o qual localiza-se próxima da aldeia de Alfaião (41°46'33"N; 6°43'09"; altitude 513 m) nas coordenadas 41°48'05"N e 06°44'47"W. É importante salientar, que neste local verifica-se a presença de mata ciliar degradada.

A profundidade da água do rio varia entre 0,3 a 1,0 m, sendo que as zonas de menor profundidade são predominantemente colonizadas pelas espécies de macrófitas aquáticas *Alisma lanceolatum*, *Potamogeton natans* e *Potamogeton* sp. Relativamente ao estado do canal, a aplicação do Índice do Grau de Qualidade do Canal - GQC (CORTES *et al.*, 1999) indica a ocorrência de alterações importantes, sobretudo devido à acumulação de sedimentos finos (assoreamento) que provocam a colmatção do leito do rio, impedindo a normal instalação de biofilme daí que este trecho tenha sido escolhido para implantar estas estruturas que facilitam a colonização do biofilme. Neste trecho de rio não foram detectadas espécies piscícolas.

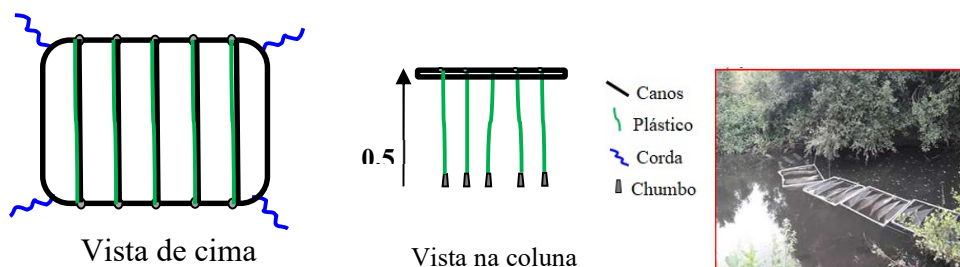
Figura 1. Localização do Curso do Rio Fervença, Portugal (azul), evidenciando a localização do ponto PE (círculo vermelho) e da ETAR (círculo preto). (mapa criado em <https://snig.dgterritorio.gov.pt/>)



Instalação de Estruturas Fixadoras de Biofilme

Foram construídas 5 estruturas feitas com plástico cristal de espessura 0,30, canos de PVC, cordas de nylon e pedras pequenas. As estruturas são quadradas e medem 1,5m de largura x 1,5m comprimento e contêm 6 cortinas de plástico de 1,5m de comprimento. Cada plástico possui uma pedra pequena ou chumbo de pesca em cada extremidade para possibilitar a verticalidade do plástico no rio, visto que por se tratar de um rio, deve-se levar em conta a correnteza e o fato do plástico tender a flutuar. As estruturas estão demonstradas na Figura 2.

Figura 2: Esquema das cortinas de plástico utilizadas como substrato para a instalação de biofilme, no Rio Fervença, Portugal, como ferramenta de biorremediação e estruturas inseridas no Rio (direita).



Fonte: Elaborado pela autora.

COLONIZAÇÃO DAS ESTRUTURAS PELO BIOFILME

Avaliação da natureza trófica e orgânica/inorgânica da comunidade do biofilme

Foram realizadas coletas e análises do biofilme bimensais. A área do biofilme recolhida para análise foi de 50 cm² (25cm² de frente e 25 cm² do verso), foi raspada com uma escova e foi diluído em 100ml de água destilada. Fizeram-se 3 réplicas. A amostra foi homogeneizada sendo retirado 25 ml da diluição para a análise da densidade do fitoplâncton, correspondendo a uma área de 12,5 cm², 25ml da diluição para a análise da biomassa através da determinação da concentração clorofila *a* e 25ml para a quantificação peso seco livre de cinzas.

Para a determinação da clorofila *a*, utilizou-se 25ml da diluição mencionada acima que foi filtrada em filtros GF/C e seguiu-se a metodologia da acetona 90% segundo a fórmula proposta por Lorenzen (1967). Para a quantificação do peso seco livre de cinzas, utilizou-se 25ml da diluição mencionada acima, filtrada em filtros GF/C e seca em estufa a 105°C (aproximadamente 3 dias) até atingir peso constante. Após, utilizou-se a mufla a 550°C (combustão) por cerca de 2h até que a matéria orgânica estivesse queimada e eliminada, restando apenas cinzas.

A diferença do peso inicial e o peso após a combustão constitui o peso livre de cinzas (Hambrook-Berkman e Canova, 2007; Schwarzbald 1990 e APHA (EATON *et al.*, 2005). Os valores obtidos de clorofila *a* permitiram estimar o índice autotrófico (IA). Este índice é o quociente entre os valores do peso livre de cinzas e de clorofila *a*, permitindo a avaliação da natureza trófica da comunidade do biofilme. Por seu turno, o peso livre de cinzas permitiu avaliar se a comunidade é do tipo inorgânica/orgânica (Rodrigues *et al.*, 2001; Esteves e Fernandes 2003 (Tabela 1).

Tabela 1. Classificação do biofilme (perifiton) em relação as variações da biomassa

Tipo	Conteúdo de Cinzas	(%)
I	perifiton tipo inorgânico	> 75
II	perifiton tipo inorgânico-orgânico	50 – 75
III	perifiton tipo orgânico-inorgânico	25 – 50
IV	perifiton tipo orgânico	< 25
Conteúdo de clorofila <i>a</i>		
I	perifiton tipo autotrófico	> 0.60
II	perifiton tipo auto-heterotrófico	0.25 – 0.60
III	perifiton tipo hetero-autotrófico	0.10 – 0.25
IV	perifiton tipo heterotrófico	< 0.10

Fonte: Rodrigues *et al.*, 2001.

Determinação da densidade e identificação dos principais grupos da comunidade fitoplanctônica do biofilme

As amostras de biofilme foram coletadas de forma aleatória a cada 2 meses e foram preservadas com lugol. Para análise da densidade fitoplanctônica foram realizadas contagens das amostras utilizando-se o microscópio invertido, seguindo-se a metodologia de Utermohl (1958) e as densidades foram expressas em Ind.L-1. Para a identificação dos principais grupos taxonômicos utilizaram-se as seguintes chaves dicotômicas: GERMAIN (1981) para Bacillariophyceae, DESIKACHARY (1959) para Euglenophyceae KUMAR (1961) para Chlorophyceae.

AValiação da qualidade da água

Determinação da qualidade física e química da água a montante e a jusante das estruturas

Com o objetivo de aferir se o crescimento do biofilme teria impacto na qualidade da água as variáveis físicas e químicas avaliadas no presente estudo foram determinadas a montante (água não tratada) e a jusante (água que passou previamente pelas cortinas que serviram de substrato ao biofilme) mensalmente. Antes da instalação das estruturas a qualidade da água foi avaliada neste ponto de amostragem.

As concentrações dos nutrientes presentes na água foram determinadas através da análise dos compostos nitrogenados (nitrogênio total, amônia, nitrato e nitrito) e fosfatados (ortofosfato e fósforo total) e foram determinadas seguindo os padrões estabelecidos em APHA - Standard Methods for examination of water and wastewater (EATON *et al*, 2005).

Para além dos nutrientes, foram determinados “in-situ”, em todas as coletas os seguintes parâmetros: a temperatura ($^{\circ}\text{C}$), o oxigênio dissolvido (mg.L^{-1}), a condutividade elétrica ($\mu\text{S.cm}^{-1}$), o pH, os sólidos dissolvidos totais (ppm), utilizando para o efeito uma sonda multiparamétrica da marca HANNA HI9828. Também foi determinada a velocidade da água a montante e a jusante da estrutura, dentro da estrutura e fora da estrutura (lateral).

Determinação da qualidade biológica da água

Determinação da clorofila-a e feofitina

Para a determinação biológica da qualidade da água foi determinada a concentração da clorofila *a* e da feofitina. Mensalmente foram filtrados 800mL, e após, seguiu-se a metodologia da acetona a 90%, segundo a fórmula proposta por Lorenzen (1967). As análises foram realizadas em triplicas e as coletas foram mensais.

Caracterização da comunidade de Macroinvertebrados bentônicos

Complementarmente foram realizadas entre Maio e Novembro de 2018 a cada dois meses, as coletas de macroinvertebrados de forma a analisar potenciais alterações

na qualidade ecológica deste local após a colocação das estruturas para fixação do biofilme

A metodologia de amostragem dos macroinvertebrados bentônicos tem por base o protocolo estabelecido em Portugal no âmbito da implementação e transposição para o direito nacional da Directiva Quadro da Água (INAG 2008). As amostras coletadas foram inicialmente congeladas, posteriormente triadas, com o auxílio de uma bandeja iluminada e uma lupa e posteriormente mantidas em álcool a 70%.

A identificação dos indivíduos efetuou-se até ao nível taxonômico de Família, com exceção dos indivíduos pertencentes às Classes Oligochaeta e Hydracarina, A identificação realizou-se mediante o uso do microscópio estereoscópico OLYMPUS SZX10 de 10-230x. As chaves dicotômicas utilizadas foram as elaboradas por TACHET *et al.*, (1981; 2010).

Análise Estatística

Foi realizado o teste de normalidade Shapiro-Wilk para saber se os dados eram paramétricos ou não. Nas análises comparando os pontos a Montante e Jusante das estruturas da biorremediação, foi realizado o test T para dados paramétricos e quando os dados eram não paramétricos foram aplicados testes de Wilcoxon, através do programa RStudio (2018). O grau de confiabilidade é de 95%, sendo considerado diferença significativa quando o valor de $p \leq 0,05$.

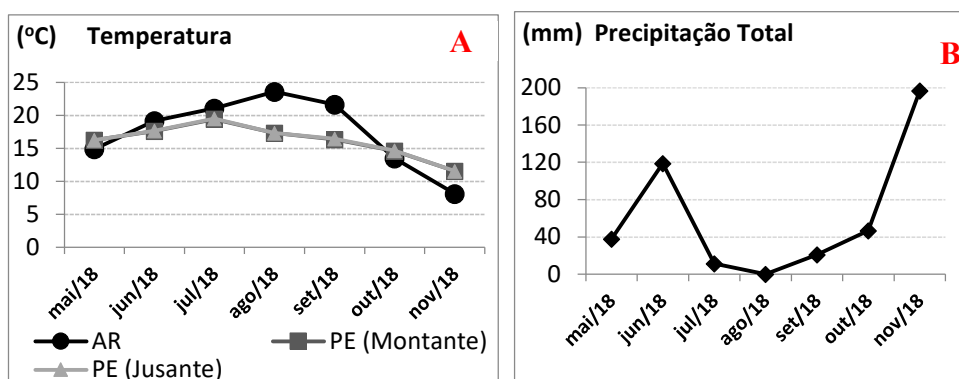
Os dados analisados na análise estatística foram: temperatura, o oxigênio dissolvido, a condutividade elétrica, o pH, os sólidos dissolvidos totais, nitrogênio total, amônia, nitrato, nitrito, fósforo total e ortofosfato.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Variação da temperatura do ar e da precipitação durante o período de estudo

No período em estudo, o maior valor da temperatura média do ar ocorreu em ago/18 com 23,6 °C, enquanto a mais baixa ocorreu em nov/18 com 8,1°C (Fig. 3 - A). Neste mesmo período verificou-se o inverso com a precipitação, não havendo ocorrência de chuvas em ago/18 e com a mais alta precipitação em nov/18 (196,9 mm) (Figura 3B), situação típica do clima mediterrâneo.

Figura 3. Média da Temperatura do Ar e da Água (Montante e Jusante) (A) e Precipitação total (B) em Bragança – Portugal, no período de mai/18 a nov/18.



Fonte: Temperatura do ar e precipitação (IPMA, 2018).

Dinâmica Temporal das características do biofilme

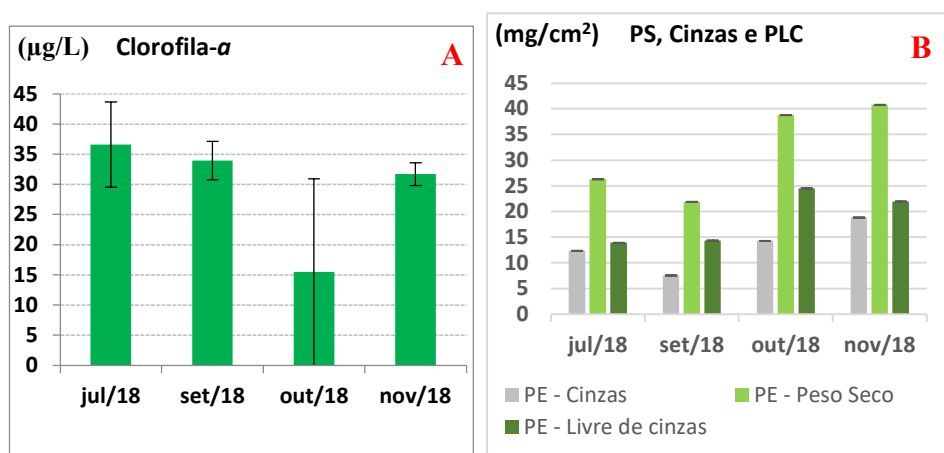
A colonização das estruturas pelo biofilme ocorreu em apenas duas semanas evidenciando um rápido processo de colonização demonstrando que o substrato utilizado é adequado para a fixação do biofilme (Figura 4). Os valores da clorofila *a* atingiram o maior valor em jul/18 com 36,6µg/L seguido de set/18 com 33,9 µg/L, tendo o menor valor ocorrido em out/18 com 15,5µg/L (Fig. 5 - A). A biomassa do biofilme foi classificada como hetero-autotrófico (tipo III) em relação ao conteúdo de clorofila-*a*, em todos os meses, exceto em out/18 que foi classificado como tipo IV (heterotrófico).

Figura 4. Biofilme aderido aos plásticos da estrutura de biorremediação em 15 dias de experimento.



Em relação ao peso livre de cinzas do biofilme, verificou-se que os menores valores ocorreram em jul/18 e set/18 com 14mg/cm² em ambos, aumentando em out/18 (25 mg/cm²) e tendo uma leve redução em nov/18 (22 mg/cm²) (Figura 5B). A biomassa do biofilme foi classificada como tipo III (orgânico-inorgânico) de acordo com o conteúdo de cinzas (Tab. 1) em todos os meses estudados, tendo jul/18 e nov/18 apresentado percentuais mais elevados com 46,15% e 46,34% de cinzas, respectivamente, enquanto que, em set/18 (36,36%) e out/18 (35,89%) apresentaram menores percentuais. O IA evidenciou que o biofilme possui associações heterotróficas em todos os meses, tendo menor valor de 388 ocorrido em jul/18 e o maior de 1.666 em out/18.

Figura 5: Variação média da clorofila-*a* (µg/L) do biofilme (A) e do peso seco-PS, Cinzas e peso livre de cinzas-PLC do biofilme (B) de Jul/18 a Nov/18.



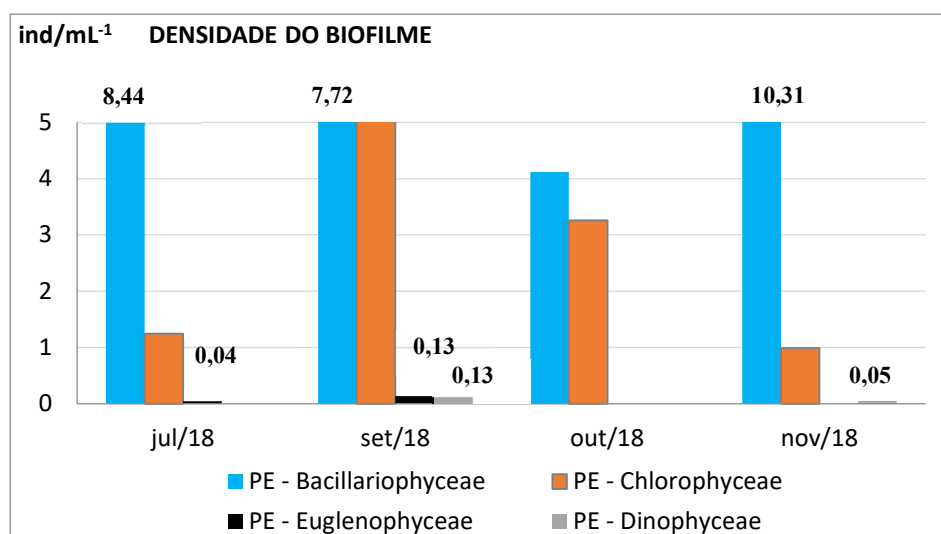
Fonte: Elaborados pela autora

Vários fatores como a hidrologia (PAN et al 2021) e a disponibilidade de nutrientes (FERNANDES e ESTEVES 2003; FREIXA *et al*, 2023) interferem no tipo de biofilme. Devido ao elevado input de nutrientes provenientes da ETAR seria de esperar que os organismos atróficos fossem predominantes à semelhança dos resultados obtidos por (FERNANDES e ESTEVES, 2003). No entanto, os resultados obtidos no presente trabalho mostram que os organismos autotróficos não são dominantes, sendo provavelmente dominantes os fungos e bactérias. De fato, dadas as características mediterrâneas da região onde decorreu o presente estudo, verifica-se a ocorrência de caudais reduzidos nos meses de verão (junho-setembro) devido à quase ausência de precipitação (Fig. 1), ocorrendo assim um cenário de baixos caudais e composto essencialmente por águas residuais provenientes da ETAR.

Calapez et al. (2020) construíram experimentalmente um cenário semelhante ao descrito e verificaram que nestas condições o biofilme é constituído por 31% de algas, por 28% de fungos e 41% de bactérias. Assim é plausível que a constituição do biofilme que colonizou as estruturas colocadas no Fervença seja semelhante.

Em outubro, com o início das primeiras chuvas a componente heterotrófica do biofilme foi ainda mais favorecida. Em relação à composição fitoplanctônica do biofilme, verificou-se a predominância das *Bacillariophyceae* em todos os meses analisados com um total de 16 gêneros, sendo observado a menor densidade em out/18 ($4,12 \text{ ind/mL}^{-1}$) e maior em nov/18 com $10,31 \text{ ind/mL}^{-1}$, seguida das *Chlorophyceae* em todos os meses com apenas 3 gêneros (Figura 6).

Figura 6. Variação média da densidade fitoplanctônica do biofilme, por classe taxonômica de Jul/18 a Nov/18.



Fonte: Elaborados pela autora

O gênero com maior densidade da classe *Bacillariophyceae* em jul/18 e nov/18 foi *Nitzschia* com $2,25 \text{ ind.mL}^{-1}$ e $2,81 \text{ ind.mL}^{-1}$, respectivamente e com *Meridion* em set/18 ($2,58 \text{ ind.mL}^{-1}$) e *Surirella* em out/18 ($0,19 \text{ ind.mL}^{-1}$). Dentre as *Chlorophyceae*, o gênero com maior densidade foi *Chlorococcum sp* com $6,24 \text{ ind.mL}^{-1}$ em Set/18 (Tabela 2).

De acordo com Feio et al (2022) as diatomáceas são o grupo de algas mais ubíquo, abundante e diversificado nos rios europeus temperados e por isso são utilizados no monitoramento ecológico. As densidades mais elevadas desta classe em Jul/18 e Nov/18 coincidem com valores mais baixos da condutividade (até $430 \mu\text{S.cm}^{-1}$), de TDS (até 215) e valores baixos para o nitrogênio total e compostos fosfatados, revelando que este grupo é beneficiado em águas com menos nutrientes. Em outros estudos envolvendo biofilmes também se verificou a dominância das *Bacillariophyceae* (Pan et al., 2021)

Tabela 2. Densidade fitoplanctônica do biofilme por espécie de jul/18 a nov/18.

IND/mL	Jul/18	Set/18	Out/18	Nov/18
Bacillariophyceae				
<i>Achnanthes</i> (Bory, 1822)	0,17	0,37	0,05	0,39
<i>Amphora</i> (Ehrenberg) Kützing)	0,17	0,15	0,08	-
<i>Cocconeis</i> (Ehrenberg)	2,18	-	-	-
<i>Cymbella</i> (Agardh)	0,01	-	-	-
<i>Diatoma</i> sp	0,04	-	-	-
<i>Diploneis</i> (Ehrenberg) Cleve	0,61	0,07	0,04	0,95
<i>Fragillaria</i> Isp	0,01	-	-	-
<i>Frustulia</i> (Rabenhorst)	0,55	0,37	0,18	1,01
<i>Gomphonema</i> (Ehrenberg)	0,19	0,94	1,12	0,49
<i>Meridion</i> sp	0,69	2,58	0,86	1,65
<i>Navicula</i> (Bory de Saint-Vincent)	0,04	0,34	0,18	1,35
<i>Nitzschia</i> (Hassall)	2,25	1,21	1,14	2,81
<i>Pinnularia</i> (Ehrenberg)	-	-	0,01	0,57
<i>Stauroneis</i> (Ehrenberg)	0,84	1,35	0,11	0,60
<i>Stephanodiscus</i> sp	0,22	-	0,16	-
<i>Surirella</i> (Turpin)	0,45	0,34	0,19	0,49
Total	8,44	7,72	4,12	10,31
Chlorophyceae				
<i>Chlorococcum</i>	0,88	6,24	3,17	0,99
<i>Rhoicosphenia</i>	0,14	0,02	-	-
<i>Scenedesmus</i>	0,22	0,24	0,09	-
TOTAL	1,24	6,49	3,26	0,99
Euglenophyceae				
<i>Phacus</i> sp	0,014	0,05	-	-
<i>Trachelomonas</i>	0,028	0,09	-	-
Total	0,043	0,13	-	-
Dinophyceae				
<i>Cystodinium</i> sp	-	0,13	-	0,05
TOTAL	-	0,13	-	0,05
Total	9,72	14,47	7,38	11,35

Variáveis ambientais e caracterização dos parâmetros físicos e químicos da água a jusante e a montante das estruturas

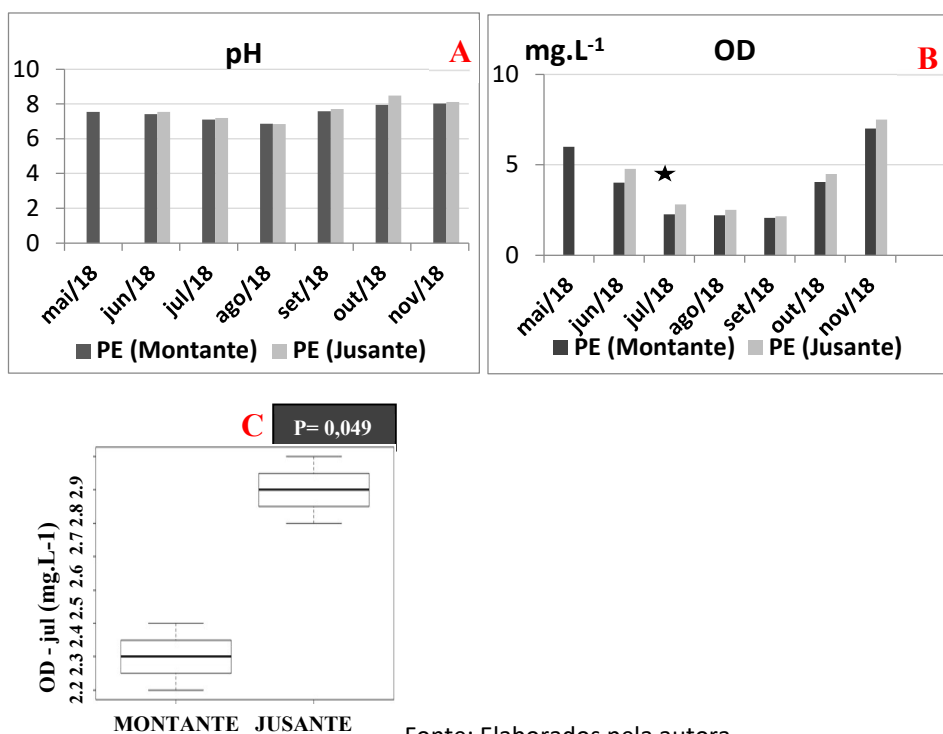
Em relação a temperatura da água, não se verificou diferenças a montante e a jusante das estruturas da biorremediação variando entre 19,4 °C (Jul/18) e 11,5 °C (Nov/18) e entre 19,5 °C (Jul/18) e 11,5 °C (Nov/18) respectivamente. A velocidade média da água a montante das estruturas foi de $0,04 \pm 0,01$ m/s, a jusante $0,100 \text{ m s}^{-1}$, na zona lateral $0,04 \pm 0,01$ m/s e no interior das estruturas a velocidade média foi sempre 0,005 m/s. Assim, velocidade da água dentro das estruturas é menor do que fora e essa particularidade é importante, tendo em vista que com maior tempo de contato entre a água e o biofilme, o biotratamento será mais eficaz. O fato da

velocidade da água ser muito reduzida no interior das estruturas poderá facilitar a absorção de nutrientes por parte da comunidade de biofilme estabelecida nas bandas de polietileno (Mariñelarena e di Giorgi, 2001).

Foram analisados alguns parâmetros antes e após as estruturas, porém, os dados relacionados ao mês de mai/18 foi feita em apenas 1 ponto, visto que, sendo a coleta inicial, ainda não havia sido inserido o sistema da biorremediação. Na maioria dos meses foi observada diferenças entre os valores de pH a montante e a jusante das estruturas tendo na primeira, apresentado valores mais baixos do que na última na maioria dos meses, sendo observada a maior diferença entre eles no mês de out/18 com 8,0 a montante e 8,5 a jusante (Figura 7A).

As baixas concentrações de OD observadas durante o período de estudo podem ser uma consequência das elevadas taxas de decomposição, em virtude da grande carga orgânica que o rio recebe neste trecho, por receber o efluente da ETAR. Rodrigues (2013) em pesquisa realizada no Rio Fervença, também verificou diminuição do oxigênio a jusante da ETAR (no verão) não tendo sido registrado valor abaixo de $5,0 \text{ mg.L}^{-1}$, ao contrário dos valores registrados no presente estudo em que se registraram valores sempre abaixo de $3,0 \text{ mg.L}^{-1}$ no período de jul/18 a set/18 (altura em que se verificaram as menores concentrações) (Figura 7B). Houve diferença significativa apenas em jul/18 com $p=0,049$ (Figura 7C).

Figura 7: Variação do pH (A) e do OD (B) a montante e a jusante das estruturas de biorremediação de Mai/18 a Nov/18. A estrela mostra o mês em que ocorreu diferença significativa nos valores. Boxplot do OD em Jul/18 (C).



Fonte: Elaborados pela autora

A redução do OD ocorreu após as chuvas em jul/18, e se manteve a partir de ago/18 (sem chuvas) provavelmente devido à decomposição e entrada de nutrientes advindos da superfície, por escorrência, assim como do efluente da ETAR, que por ter menos água no rio, fica é menos diluído, o que é confirmada pelos valores de condutividade elétrica crescentes a partir de jul/18 ($353 \mu\text{S}/\text{cm}$) e com registro de $583 \mu\text{S}/\text{cm}$ em ago/18, assim como também pelos valores crescentes dos sólidos dissolvidos totais a partir de jul/18 (214ppm) e atingiu valores de 292ppm em ago/18.

Dados do Plano Verde de Bragança (2008) corroboram com os valores encontrados no presente estudo para este ponto, visto que a jusante da ETAR o mínimo foi de $360 \mu\text{S}.\text{cm}^{-1}$ e o máximo foi de $847 \mu\text{S}.\text{cm}^{-1}$) demonstrando a interferência dos efluentes da ETAR no aumento de sais minerais no Rio Fervença. No entanto, a jusante das estruturas observou-se sempre concentrações ligeiramente mais elevadas. Verificou-se que a maior diferença entre os pontos ocorreu em jun/18 com $4,01 \text{ mg}.\text{L}^{-1}$ a montante, enquanto que, a jusante foi de $4,77 \text{ mg}.\text{L}^{-1}$.

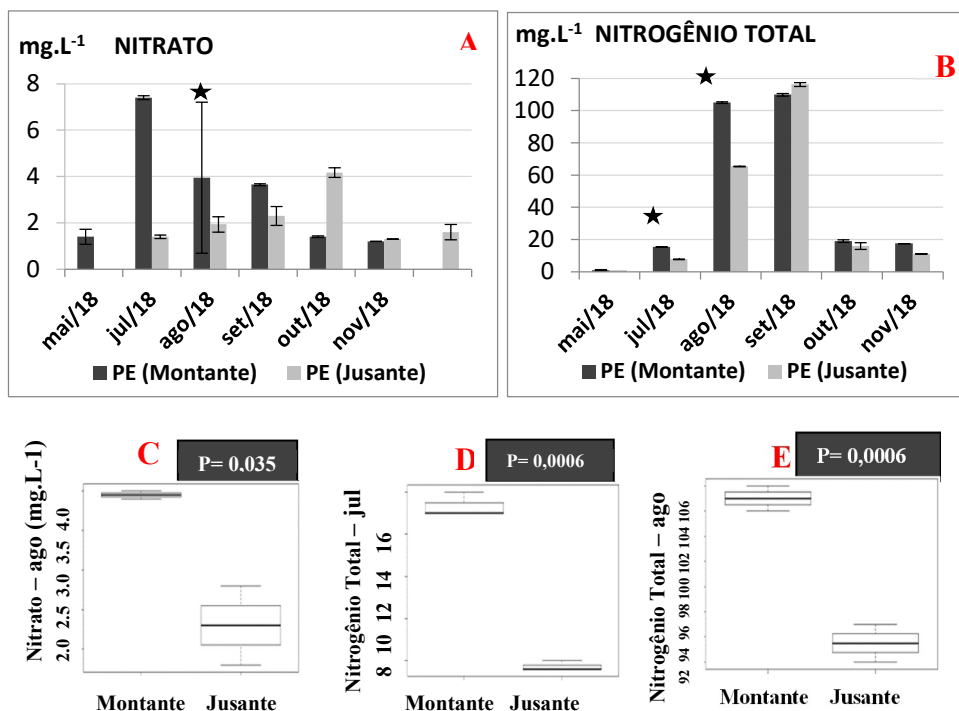
Foram observados valores mais elevados do nitrato (Na) a montante na maioria dos meses, sendo observada a maior diferença entre eles em jul/18 com $7,4 \text{ mg}.\text{L}^{-1}$ a montante e $1,93 \text{ mg}.\text{L}^{-1}$ a jusante, seguido de ago/18 no qual foi registrado $3,95 \text{ mg}.\text{L}^{-1}$ a montante e $2,3 \text{ mg}.\text{L}^{-1}$ a jusante do biofilme (Figura 8A). Ocorreu diferença significativa em ago/18 com $p=0,035$ (Fig. 8 - C).

O nitrogênio total (NT) registrou os menores valores sempre a jusante do biofilme em todos os meses, exceto em set/18, sendo a maior diferença, registrada em ago/18 com $105 \text{ mg}.\text{L}^{-1}$ a montante enquanto que, a jusante foi de $65,45 \text{ mg}.\text{L}^{-1}$ (Fig. 8 - B). Ocorreram diferenças significativas em jul/18 ($p=0,0006$) e ago/18 ($p=0,0006$) (Fig. 8 - D e E). A amônia registrou valores acima de $3 \text{ mg}.\text{L}^{-1}$ em todo o período.

No geral, em relação aos nutrientes verifica-se que as análises comparativas entre montante e jusante do biotratamento mostraram maior eficiência (com redução) nos meses de Julho e Agosto, verificando-se um aumento nas médias dos compostos nitrogenados e fosfatados após passar pelo sistema de biorremediação em outubro e novembro.

Isso pode ser o resultado de processos dinâmicos diferenciados no ecossistema aquático. Enquanto o fósforo é absorvido pelas plantas e depende das taxas fotossintéticas, o nitrogênio total depende de processos de decomposição e nitrificação, que são determinados por bactérias. Ou seja, em setembro, início do outono, havia menos insolação e as temperaturas estavam menos elevadas, o que afeta diretamente a fotossíntese, e consequentemente os processos afetados diretamente por ela, como as concentrações de fósforo e de nitrato, enquanto que os processos que são dependentes das bactérias dependem menos da luz, e podem manter efeitos positivos mesmo com o início do outono, como o nitrogênio total, que apesar de apresentar menos efeito da biorremediação em setembro, continuou mostrando efeito positivo em outubro e novembro.

Figura 8: Variação média do Na (A) e do NT (B) a montante e jusante das estruturas de biorremediação de Mai/18 a Nov/18. A estrela mostra os meses em que ocorreram diferenças significativas nos valores. Boxplot do Na em Ago/18 (C) e do NT em Jul/18 (D) e em Ago/18 (E).



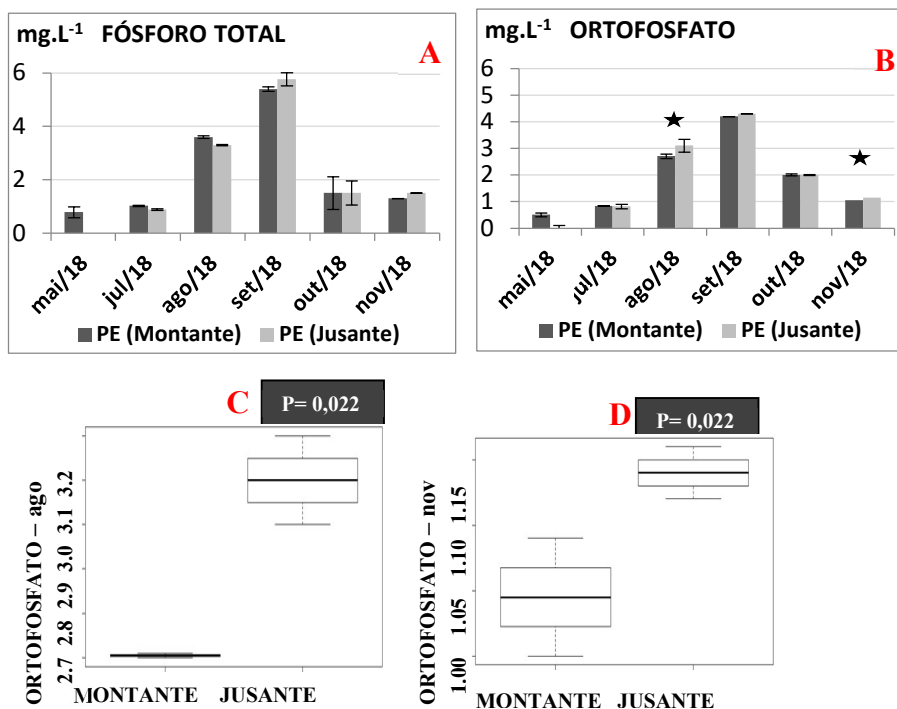
Fonte: Elaborados pela autora

Analisando o biofilme, verifica-se que o peso livre de cinzas aumentou nos meses de outubro e novembro, demonstrando que estaria mais rico em organismos vivos, que podem estar metabolizando estes nutrientes. Em outubro tinha menos concentrações de clorofila no biofilme, revelando que pelo menos neste mês o mesmo era mais rico em organismos heterotróficos.

O fósforo total (P) registrou o menor valor de 0,78mg.L⁻¹ em mai/18 em ambos os pontos e as concentrações mais elevadas ocorreram em set/18 tanto a montante (5,4 mg.L⁻¹) quanto a jusante (5,76 mg.L⁻¹) das estruturas de biorremediação. Verificaram-se diferenças entre os valores a montante e a jusante das estruturas na maioria dos meses, tendo a maior dela ocorrido em set/18 com 5,4mg.L⁻¹ (montante) e 5,8mg.L⁻¹ (jusante) (Fig. 9 - A).

O fósforo reativo (ortofosfato - PO) também registrou suas maiores concentrações em set/18 com 4,2 mg.L⁻¹ (montante) e 4,3 mg.L⁻¹ (jusante), entretanto foi observado valores mais elevados a jusante do biofilme na maioria dos meses, tendo ocorrido a maior diferença entre os pontos em set/18 com 2,7 mg.L⁻¹ a montante e 3,1 mg.L⁻¹ a jusante (Fig. 9 - B). Ocorreram diferenças significativas em ago/18 com p=0,022 e nov/18 com p=0,022 (Fig. 9 - C e D).

Figura 9: Variação média do P (A) e do PO (B) a montante e jusante das estruturas de biorremediação, entre mai/18 e nov/18. A estrela mostra os meses em que ocorreram diferenças significativas. Boxplot do PO em Ago/18(C) e Nov/18 (D).



Fonte: Elaborados pela autora.

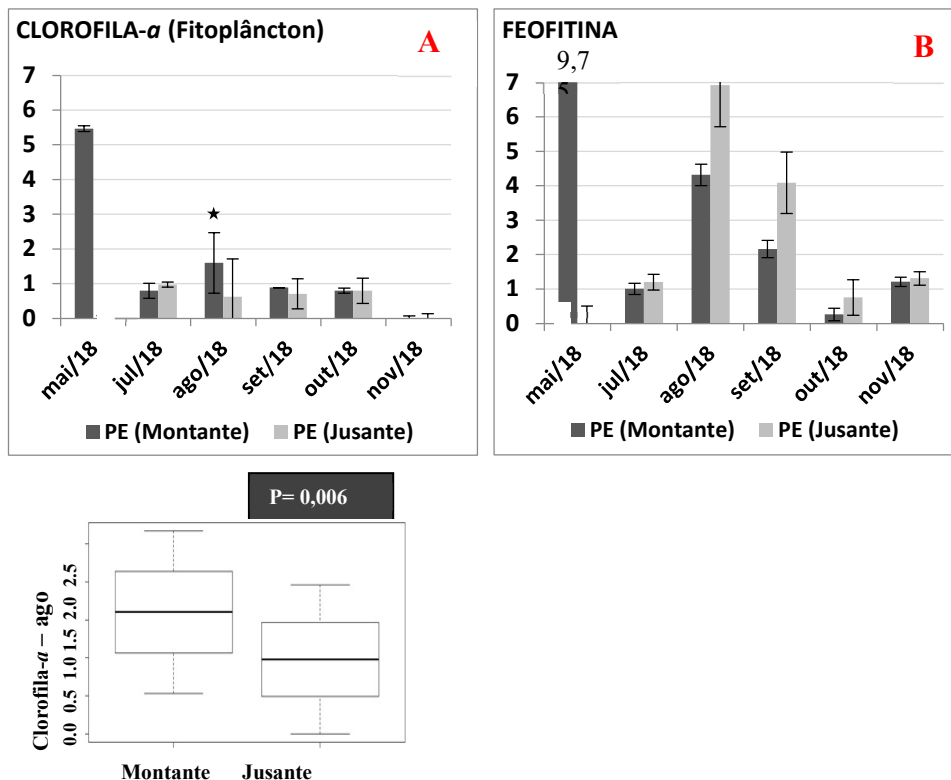
Em relação ao nitrogénio total e nitratos verifica-se, com exceção de setembro, uma redução das suas concentrações a jusante das estruturas. No caso do fósforo total e do ortofosfato essa redução não segue um padrão tão constante. Estes resultados poderão estar relacionados com a natureza mais heterotrófica do biofilme.

Biomassa do fitoplâncton presente na água

As concentrações da clorofila-*a* presentes na água foram baixas, tal como seria de esperar num sistema lótico, na maioria dos meses a montante e a jusante do ponto de amostragem, sendo o maior valor encontrado no mês de mai/18 com 5,46µg.L⁻¹, entretanto foi observado diferenças entre os 2 pontos, sendo a maior delas em ago/18 com 1,60µg.L⁻¹ a montante e 0,62µg.L⁻¹ a jusante (Figura 10A). Ocorreu diferença significativa na clorofila-*a* em ago/18 com p=0,006.

A feofitina, resultante da degradação da clorofila-*a* e que representa algas em senescência, registrou concentrações mais elevadas em mai/18, sendo importante salientar valores mais elevados a jusante, tendo o mês de ago/18 registrado a maior diferença entre eles com 4,32µg.L⁻¹ a montante e 6,92µg.L⁻¹ a jusante (Figura 10B).

Figura 10: Variação média da clorofila-*a* ($\mu\text{g/L}$) do Fitoplâncton (A) e da Feofitina ($\mu\text{g/L}$) (B) a montante e jusante das estruturas de biorremediação, entre mai/18 e nov/18. A estrela mostra o mês em que ocorreu diferença significativa nos valores. Boxplot da Clorofila-*a* (Ago/18) (abaixo).



Fonte: Elaborados pela autora

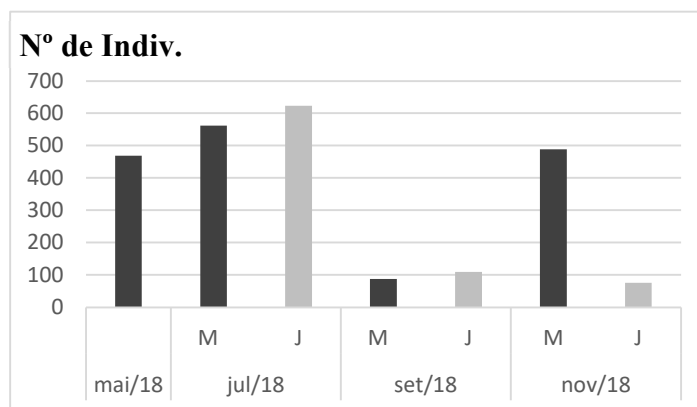
Diversidade da comunidade de macroinvertebrados

No que diz respeito aos macroinvertebrados bentônicos, verificou-se que a maior quantidade de organismos foi encontrada em julho tanto a montante das estruturas com 561 ind, quanto a jusante com 623 ind. (Figura 11). A maior abundância foi de diptera, da família Chironomidae, a montante, em todos os meses, exceto em set/18 quando foi ultrapassado pelos hirudíneos da família *Erpobdelidae* (79 ind.).

A maior abundância de chironomídeos a montante pode estar associada a uma pior qualidade de água neste ambiente, visto que estas larvas são indicadoras de águas mais eutrofizadas. Segundo o índice *Biological Monitoring Working Party* (BMWP) modificado por Junqueira e Campos (1998), os Chironomidae estão entre os grupos que indicam piores qualidades de água, recebendo pontuação 2, enquanto que Glossiphoniidae e Erpobdelidae apesar de serem também indicadores de águas poluídas, têm uma maior pontuação no índice BMWP, com pontuação 3 (Quadro 1), revelando que indicam águas menos poluídas. O quadro 2

apresenta a classificação da qualidade de água baseado no índice BMWP (SOUZA, 2020).

Figura 11: Variação do número de indivíduos totais das diferentes taxas de Macroinvertebrados observados a montante (M) e a jusante (J) do biotratamento entre mai/18 e nov/18.



Fonte: Elaborado pela autora

Quadro 1. Valores atribuídos às famílias de macroinvertebrados bentônicos a partir do índice *Biological Monitoring Working Party* (BMWP) modificado por Junqueira e Campos (1998).

FAMÍLIAS	VALOR
Siphonuridae, Gripopteridae, Odontoceridae, Helicopsychidae, Hidrosaphidae, Leptophlepiidae	10
Perlidae, Philopotamidae, Psephenidae, Microsporidae, Pyralidae, Noctuidae, Calopterygidae, Aeshnidae, Hebridae, Leptohyphidae	8
Polycentropodidae, Hydrobiosidae, Leptoceridae, Staphilinidae, Coenagrionidae, Vellidae, Glossomatidae, Hydroptilidae,	7
Nepidae, Abcylidae, Unlonidae, Dixidae, Hidropsychidae, Libelulidae*	6
Elmidae, Gomphidae, Naucoridae, Gerridae, Belostomatidae, Corixidae, Mesovelidae, Notonectidae*, Gyrinidae, Hydrophilidae, Dugeslidae, Simuliidae, Tipulidae, Baetidae	5
Dysticidae, Chrysomelidae, Corydalidae, Psicolidae, Ceratopogonidae, Empididae, Gelastocoridae, Polymirtacyidae*, Ampullariidae*	4
Physidae, Shaeridae, Planorbidae, Glossiphoniidae, Athericidae, Tabanidae, Erpobdelidae, Caenidae*, Thiaridae*	3
Chironomidae, Psychodidae, Stratiomyidae, Syrphidae, Ephidridae,	2
Oligochaeta (todos), Sciomyzidae, Culicidae	1

* Famílias de Macroinvertebrados bentônicos acrescentadas no presente trabalho.

Fonte: Adaptado de Junqueira e Campos (1998).

A maior quantidade de animais a jusante ocorreu em jul/18 com 401 indivíduos hirudíneos da família Glossiphoniidae (*Helobdella*) seguido pelos família

Erpobdellidae com 141 indivíduos. O fato de ter mais indivíduos destes dois grupos citados acima a jusante, é um sinal que a qualidade de água melhorou um pouco, após passar pelo sistema de biorremediação. Hirudinea do gênero *Glossiphonia* foram registrados apenas em nov/18.

Quadro 2. Qualidade da água de acordo com o valor obtido no índice BMWP

BMWP	CLASSIFICAÇÃO
>81	Excelente
80-61	Boa
60-41	Regular
40-26	Ruim
<25	Péssima

Fonte: Junqueira e Campos (1998).

Ao longo de todo o período também foram encontrados 1 Bivalve, 7 *Ancylidae*, 6 *Physidae* e 3 *Chydoridae*. Rodrigues (2013) e Portela (2014) verificaram igualmente uma predominância de grupos típicos de áreas com elevada degradação da qualidade da água e da sua integridade ecológica (Erpobdellidae, Hirudinae e Chironomidae) neste troço do rio, tendo classificado a qualidade biológica neste local como medíocre. De acordo com Esteves (1998), os *Chironomidae* conseguem suportar longos períodos em condições anaeróbias, estando, portanto, adaptados às baixas concentrações de OD registradas no presente estudo. Ao longo do período em que decorreu o estudo não se observou o aparecimento de taxa de macroinvertebrados indicadores de ambientes menos poluídos.

Vários autores têm reportado que promover o aumento do habitat do biofilme, utilizando substratos artificiais tem como efeito a redução do fósforo e de algumas formas de nitrogênio na coluna de água, tendo assim um impacto positivo na qualidade da água e, em última instância, na qualidade ecológica dos sistemas aquáticos (e.g. JÖBGEN et al., 2004; SZLAUER-ŁUKASZEWSKA, 2007; CRISPIM et al., 2009; CAO et al., 2012; HE et al., 2017; WU, 2017; MA et al., 2018). Os resultados obtidos no presente trabalho também indicam que a instalação de substratos para aumentar a densidade do biofilme contribuiu para a melhoria da qualidade da água e integridade ecológica no troço do Rio Fervença analisado, rio que tem características mediterrânicas afetadas por fenómenos de poluição orgânica.

CONCLUSÕES

A técnica com a utilização de plásticos mostrou-se eficiente na criação de habitats para o biofilme, visto que em apenas 15 dias o biofilme já se encontrava com boa colonização. Em relação à composição fitoplanctônica do biofilme, verificou-se a predominância das Bacillariophyceae em todos os meses analisados com um total de 16 gêneros, seguida das Chlorophyceae em todos os meses com apenas 3 gêneros. O biofilme foi caracterizado como hetero-autotrófico (tipo III) em relação ao conteúdo de clorofila-*a*, em todos os meses, exceto em out/18 que foi classificado como tipo IV (heterotrófico).

A biomassa do biofilme foi classificada como tipo III (orgânico-inorgânico) de acordo com o conteúdo de cinzas em todos os meses estudados. Esta pesquisa permitiu verificar a redução de nitrogênio total (com diferenças significativas em julho e agosto) e nitrato (com diferença significativa em agosto), na maior parte dos meses analisados, com exceção de setembro, quando se iniciaram as chuvas. Redução de clorofila-*a* (com diferença a partir de ago/18, com diferença significativa neste mês) e o aumento de concentração de oxigênio dissolvido em todos os meses analisados (com diferença significativa em julho).

Em relação à bioindicação por macroinvertebrados bentônicos todos os organismos registrados caracterizam ambientes aquáticos poluídos, mas foi possível verificar a presença em maior abundância de grupos que indicam menos poluição a jusante que a montante, revelando uma pequena melhoria na qualidade de água, após esta passar pelo sistema de biorremediação.

Sugere-se a inserção de mais estruturas organizadas de forma contínua de uma margem a outra e formando no mínimo 3 linha consecutivas, de forma a que possa haver mais contatos entre a água circundante e o biofilme, de forma a tornar esse efeito mais forte.

Apesar das cortinas de plástico terem sido eficientes, sugere-se a utilização de material permanente (como cerâmica, tijolo, vidro, dentre outros) que não liberem substâncias tóxicas, de forma a criar habitats permanentes no local. Outros materiais, não plásticos, como tecido de algodão, estão sendo testados pela equipe de pesquisa, para não haver degradação e inserção de nanopartículas de plástico no ambiente. No entanto, verificou-se que no período de 6 meses não ocorreu a degradação ou quebra das bandas de polietileno podendo ser usado sem risco de degradação por esse período.

AGRADECIMENTOS

Ao Sr Nélson Preto da Quinta das Poldras em Alfaião (Bragança-Portugal) por todas as facilidades concedidas. Os autores agradecem à Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT, Portugal) e aos fundos nacionais FCT/MCTES (PIDDAC) pelo apoio financeiro ao CIMO (UIDB/00690/2020 e UIDP/00690/2020) e SusTEC (LA/P/0007/2021). A FAPESQ pelo apoio financeiro

REFERÊNCIAS

- BARBOLA, Ivana F.; MORAES, Marcos F.P.G.; ANAZAWA, Tathiane M.; NASCIMENTO, Elynton A.; SEPKA, Everton R.; POLEGATTO, Cleber M.; MILLÉO, Julianne; SCHÜHLI, Guilherme S. Avaliação da comunidade de macroinvertebrados aquáticos como ferramenta para o monitoramento de um reservatório na bacia do rio Pitangui, Paraná, Brasil. **Iheringia, Sér. Zool.** vol.101 no.1-2 Porto Alegre, 2011.
- BARRETO, Luciano Vieira; BARROS, Flávia Mariani; BONOMO, Paulo; ROCHA, Felizardo Adenilson; AMORIM, Jhones da Silva. Eutrofização em Rios Brasileiros, **Enciclopédia biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.9, N.16, Bahia, 2013.
- CALAPEZ, Ana R., ELIAS, Carmen L., ALVES, Artur; ALMEIDA, Salomé F.; BRITO, António G., & FEIO, Maria J. Shifts in biofilms' composition induced by flow stagnation, sewage contamination and grazing. *Ecological Indicators*, 111, 106006, 2020.
- CAO, Wenping; ZHANG, Houhu; WANG, Yinmei; PAN, JiZheng. Bioremediation of polluted surface water by using biofilms on filamentous bamboo. **Ecological Engineering** 42 (2012) 146– 149, 2012.
- CORTES, Rui Manuel Vitor; TEIXEIRA, Amílcar António Teiga; CRESPI, A., OLIVEIRA, S., VAREJÃO, E. & PEREIRA, A. Plano de Bacia Hidrográfica do Rio Lima. 1ª Fase. Análise e Diagnóstico da Situação de Referência (Componente Ambiental). Min. do Ambiente. 257 pp., 1999.
- CRISPIM, Maria Cristina; VIEIRA, Ana Carolina Brito; COELHO, Saulo F. Miranda; MEDEIROS, Ana Maria A.. Nutrient uptake efficiency by macrophyte and biofilm: practical strategies for small-scale fish farming. **Acta Limnologica Brasiliensia**, vol.21, n.4, 2009.
- EATON, Andrew D.; CLESCERI, Lenore S.; RICE, E.W.; GREENBERG, Arnold E. (Ed.). **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21st ed. Washington: American Public Health Association, American Water Works Association and Water Environment Federation. 1368p., 2005.
- ESTEVES, Francisco de Assis.. **Fundamentos de limnologia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Interciência. 826 p, 2011
- HAMBROOK-BERKMAN, Julie A.; CANOVA, Michael G. **Algal Biomass Indicators**, Version 1.0 (8/2007) U.S. Geological Survey TWRI Book 9, 2007.
- FERNANDES, Valeria de Oliveira.; ESTEVES, Francisco A. The use of indices for evaluating the periphytic community in two kinds of substrate in Imboassica Lagoon, Rio de Janeiro, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, 63, 233-243, 2003.
- FREIXA, Ana; ORTIZ-RIVERO, Javier; SABATER, Sergi. Artificial substrata to assess ecological and ecotoxicological responses in river biofilms: Use and recommendations. *MethodsX*, 10, 102089, 2023.
- GERMAIN, Henry. **Flore des Diatomées: eaux douces et saumâtres**. Société Nouvelle des Éditions Boubée, Paris, 1981.

INAG. Manual para a avaliação biológica da qualidade da água em sistemas fluviais segundo a Directiva-Quadro da Água e a lei da água – Protocolo de amostragem e análise para o elemento de qualidade ecológica macrófitos. 2008.

IPMA. Boletins Climatológicos. Disponível em: <http://www.ipma.pt/pt/publicacoes/boletins.jsp?cmbDep=cli&cmbTema=pcl&idDep=cli&idTema=pcl&curAno=-1> (acessado em 03 de Setembro de 2024), 2018.

JÖBGEN Angelika M., PALM Anne & MELKONIAN Michael. Phosphorus removal from eutrophic lakes using periphyton on submerged artificial substrata. **Hydrobiologia** 528: 123–142, 2004.

JUNQUEIRA, M. V.; CAMPOS, S. C. M. Adaptation of the “BMWP” method for water quality evaluation to rio das Velhas watershed (Minas Gerais, Brasil.). **Acta Limnologica Brasiliensia**, 10(2): 125-135, 1998.

KUMAR, Krishan. **Cloroficeas**. Indian council of agricultura research, New Delhi. 1967.

LAKATOS, G., Composition of reed periphyton (biotecton) in the Hungarian part of lake Fertő. **Biol. Forschun. Für Burg.**, v. 71, p. 125-134. 1989.

LI, Li.; ZHENG, Binghui.; LIU, Lusan,. Biomonitoring and Bioindicators Used for River Ecosystems: Definitions, Approaches and Trends. **Procedia Environmental Sciences** vol.2, 1510–1524. 2010

LIBORIUSSEN. Lone., JEPPESEN Erik,. Structure, biomass, production and depth distribution of periphyton on artificial substratum in shallow lakes with contrasting nutrient concentrations. **Freshwater Biology**, 51 (1), 95. 2006.

LORENZEN, Carl .J., Determination Of chlorophyll and pheo-pigments: spectro photo metric equations. **Limnol. Ocenogr.** 12(1): 343-346. 1967.

LU, Haiying; YANG, Linzhang; ZHANG, shanqing; WU, Yonghong,. The Behavior of Organic Phosphorus under Non-Point Source Wastewater in the Presence of Phototrophic Periphyton. **PLoS ONE** 9(1): e85910. doi:10.1371/journal.pone.0085910. 2014.

MA, Diaoyuan ; CHEN, Shu; LU, Jing & SONG, Yani,. Study on the Effect of Periphyton on the Water Quality of Eutrophic Lakes. **Water Air Soil Pollut** 229: 209. 2018.

Mapa de localização do Fervença. Disponível em: <https://earth.google.com/web/@41.78497705,-6.73123829,606.07037541a,5077.27972397d,34.99999123y,0.00000001h,59.99974076t,0r/data=MicKJQoCiExeGdZeFRhMGZibWISUEY1MzJPekRueDJtY3FHRDJKVDA> Acessado em: 2022.

MARIÑELARENA, Alejandro J., & DI GIORGI, H. D., Nitrogen and phosphorus removal by periphyton from agricultural wastes in artificial streams. **Journal Freshwater Ecology**, 16, 347–353. 2001.

MORASHASHI, Cláudia Ana; JESUS, Tatiane Araújo; ROSA, Derval Santos; HARADA, Júlio; BICUDO, Denise Campos., Avaliação e comparação do acúmulo de fósforo por biofilme formado sobre lâminas de vidro e de filme polimérico biodegradável (Ecovio® modificado). **Rev. Bras. Cien., Tec. e Inov.** Uberaba, MG v. 4 n. 2 p. 131-145. 2019

OLIVEIRA, Flávia Martins Franco., Restauração de ecossistemas aquáticos a partir da biorremediação. **Tese de doutorado** apresentada à Pós-Graduação em Desenvolvimento e Meio Ambiente (PRODEMA) da Universidade Federal da Paraíba, Campus I, João Pessoa-PB, 230f.. 2020.

PAN, Mei; LIU, Xiang; MA, Weixing; LI, Xuan; LI, Haizong; DING, Cheng; CHEN, Yuxi; CHEN, Runze. The effect of hydrodynamics on the succession of autotrophic and heterotrophic organisms of biofilms in river ecosystems. **Water Science and Technology**, 83(1), 63-76. 2021.

PÉREZ, Jazaira Mantilla,. Biofilme e macrófitas como ferramenta de biorremediação em ecossistemas aquáticos e tratamento de esgotos. **Dissertação de Mestrado**. PRODEMA-UFPB. João Pessoa-PB. 2015.

PLANO VERDE BRAGANÇA,. Plano Verde da Cidade de Bragança. Camara Municipal de Bragança/Instituto Politécnico de Bragança. 2008.

PORTELA, Ana Carina Sousa., Contribuição para a avaliação da integridade ecológica do rio Sabor (Bacia do Douro, NE Portugal). **Dissertação de mestrado** apresentada à Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança para obtenção do grau em Tecnologia Ambiental. IPB. 2014.

RODRIGUES, Virgínia Conceição Ramos., Rio Fervença: efeitos da perturbação no ecossistema. **Dissertação de mestrado** apresentada à Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança para obtenção do grau em Tecnologia Ambiental. IPB. 2013.

RODRIGUES, Liliana; JATI, Susicley; PEREIRA, Sandro Roberto Silva., 2001. **Perifiton**. Disponível em : http://www.peld.uem.br/Relat2000/2_2_CompBioticoPerifiton.PDF Acessado em: Setembro/2024.

R-STUDIO. Development Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna: the R Foundation for Statistical Computing. Disponível em: <http://www.R-project.org> 2018.

SCHWARZBOLD, Albano., Métodos Ecológicos Aplicados ao Estudo do Perifiton. **Acta Limnológica Brasiliense**, Vol. III. 1990.

SOUSA, Artur Henrique Freitas Floriano., Avaliação da eficiência da biorremediação por perifiton em um rio urbano. **Tese de Doutorado**, PRODEMA-UFPB. 2020.

SOUSA, Artur Henrique Freitas Floriano; MARINHO, Randolpho Sávio; CRISPIM, Maria Cristina. Aplicação de biotratamento pelo perifiton na melhoria da qualidade

de água do rio jaguaribe. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**. ISSN 1519-5228, Vol. 23, Nº 1, 2023.

SOUSA, Cynthia Eustáquio., Avaliação de sistemas biorremediadores em efluentes da lagoa facultativa da estação de tratamentos de esgotos em Mangabeira, João Pessoa/PB. **Dissertação de Mestrado**, PRODEMA-UFPB. 2015.

SZLAUER-ŁUKASZEWSKA Agnieszka. Succession of periphyton developing on artificial substrate immersed in polysaprobic wastewater reservoir. **Polish J. of Environ. Stud.**. 16:753-762. 2007.

TACHET Henri; BOURNAUD Michel & RICHOUX Philippe. **Introduction à l'étude des macroinvertebrés d'eaux douces**. Univ. Claude Bernard et Assoc. de Limnol., Lyon. 1981.

TACHET Henri; RICHOUX Philippe., BOURNARD Michel & USSEGLIO-POLATERA Philippe. Invertébrés d'eaux douces. **Systématique, biologie, écologie**. CNRS Éditions, Paris. 2010.

TEMPERATURA DO AR E PRECIPITAÇÃO. Disponível em: <http://www.ipma.pt/pt/publicacoes/boletins.jsp?cmbDep=cli&cmbTema=pcl&idDep=cli&idTema=pcl&curAno=-1> 2018.

VIEIRA, Daniele Machado. Aquicultura familiar: contribuições para a sustentabilidade. **Tese de Doutorado** – PRODEMA/UFPB. 2018.

VYMAZAL, Jan. The use of periphyton communities for nutrient removal from polluted streams. **Hydrobiologia**, 166, 225–237. 1988.

WETZEL, Robert G. **Limnology - Lake and River Ecosystems**. AcademicPress, New York. 2001.

WU, Yonghong; XIA, Lizhong; YU, Zhiqiang. SHABBIR, Sadaf; KERR, Philip G., “In situ bioremediation of surface waters by periphytons”, **Bioresource Technology** 151 367–72. 2014.

WU, Yonghong.. **Periphyton: Functions and Application in Environmental Remediation**. Elsevier Inc. All. 2017.

YAKUBU, M. Bello. Biological approach to oil spills remediation in the soil. **African Journal of Biotechnology**, Nigeria, v. 6, n. 24, p. 2735-2739, Dec. 2007.

Contato com o autor: flaviamartins.bio@gmail.com

Recebido em: 11/09/2024

Aprovado em: 27/11/2025