

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO**

Gracieli Fernandes

**CARACTERIZAÇÃO DE BIOFILMES EPILÍTICOS OCORRENTES NA
BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO GUAPORÉ**

Santa Maria, RS
2018

Gracieli Fernandes

**CARACTERIZAÇÃO DE BIOFILMES EPILÍTICOS OCORRENTES NA BACIA
HIDROGRÁFICA DO RIO GUAPORÉ**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Ciência do Solo**.

Orientador: Prof. Dr. Danilo Rheinheimer dos Santos

Santa Maria, RS
2018

Fernandes, Gracieli
Caracterização de biofilmes epilíticos ocorrentes na
bacia hidrográfica do Rio Guaporé / Gracieli Fernandes.-
2018.
158 p.; 30 cm

Orientador: Danilo Rheinheimer dos Santos
Coorientador: Tales Tiecher
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós
Graduação em Ciência do Solo, RS, 2018

1. Caracterização 2. Composição química 3. Biofilmes
epilíticos I. Rheinheimer dos Santos, Danilo II.
Tiecher, Tales III. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

© 2018

Todos os direitos autorais reservados a Gracieli Fernandes. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte.

E-mail: gracieligfer@gmail.com

Gracieli Fernandes

**CARACTERIZAÇÃO DE BIOFILMES EPILÍTICOS OCORRENTES NA BACIA
HIDROGRÁFICA DO RIO GUAPORÉ**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Ciência do Solo**.

Aprovado em 28 de fevereiro de 2018:



Danilo Rheinheimer dos Santos, Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)



Marília Camotti Bastos, Dr^a. (IUT/Yutz) - Videoconferência



Virginia Carolina Aparicio, Dr^a. (INTA) - Videoconferência

Santa Maria, RS
2018

Dedico aos meus pais Juarez e Ines pelo amor e carinho. E aos meus irmãos Marcelo, Danieli e Rodrigo pela amizade e compreensão.

AGRADECIMENTOS

“Em tempos em que quase ninguém se olha nos olhos, em que a maioria das pessoas pouco se interessa pelo que não lhe diz respeito, só mesmo agradecendo àqueles que percebem nossas descrenças, indecisões, suspeitas, tudo o que nos paralisa, e gastam um pouco da sua energia conosco, insistindo.”

À Deus, por ter me dado força e coragem para alcançar mais este objetivo.

A Universidade Federal de Santa Maria e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo pela qualidade do curso de Mestrado.

A Universidade Regional Integrada – URI, campus de Frederico Westphalen pela concessão da licença no início do mestrado e por todo aprendizado em solos.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa no primeiro semestre do Mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão de auxílio financeiro para o desenvolvimento de parte dessa dissertação, por meio do Projeto Universal.

A Financiadora de Estudos e Projetos – FINEP e Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária – Fepagro, por meio do projeto MAIS ÁGUA.

À l'Université de Poitiers, à l'Institut de Chimie des Milieux et Matériaux de Poitiers, pour les analyses de caractérisation des biofilms.

Aos laboratórios de Pesquisa da UFSM, coordenados pelos professores Renato Zanella, Sandro Giacomini e José Laerte Nörenberg; da UFRGS em Porto Alegre e da Unipampa, em São Gabriel, pelo espaço, disponibilidade de equipamentos e auxílio na liofilização das amostras.

Ao professor Danilo Rheinheimer dos Santos pela orientação, pela confiança, pelo incentivo, pelos ensinamentos acadêmicos e políticos, pela contribuição na realização deste trabalho e por todo apoio durante esses dois anos.

Ao professor Tales Tiecher pela amizade, pelos ensinamentos, por me incentivar na realização do Mestrado e por toda ajuda desde que nos conhecemos na URI, durante a Especialização e agora durante o Mestrado.

A professora Maria Alice Santana pela amizade, pelas conversas e pelo auxílio durante esta etapa.

Aos demais professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo pelo acolhimento e pelos ensinamentos.

Ao Heverton Heinz, secretário do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo por toda ajuda e presteza, desde o processo de seleção.

Ao Diovane Freire Moterle pelo auxílio na realização de algumas análises, pelas conversas e conhecimentos transmitidos.

Aos professores da UFSM, Robert Burrow, Marco Mosteiro, Maria Angélica Oliveira, Luciano Dornelles, Nilo Zanatta, Clarissa Piccinin Frizzo, Edson Muller, Osmar Damian Prestes e demais que, de uma forma ou de outra, me auxiliaram nas discussões sobre biofilmes e na busca de metodologias de análise adequadas.

À Jérôme Labanowski, Laurent Caner, Leslie Mondamert, Thibaut le Guet et Elodie Aubertreau pour toute la contribution à ce travail.

A Virginia Aparicio y José Luis Costa por la oportunidad de hacer una pasantía en el INTA BALCARCE, por toda ayuda para que eso fuera posible, por la acogida en Balcarce, por las conversaciones y por la convivencia.

A Eduardo De Gerónimo, Eliana Soledad Gonzalo Mayoral, Laura Ines Mas y Agustin Mosca por las enseñanzas, por las conversaciones en español y por los almuerzos al aire libre.

A José Augusto Monteiro de Castro Lima e Marília Camotti Bastos, meus “co-orientadores de biofilmes”, pela amizade, pelo apoio, pela insistência e por toda ajuda na discussão das análises, durante as coletas e no desenvolvimento da escrita.

Ao Diego Estival pela presença, pelo companheirismo, pela ajuda e por todos os momentos compartilhados.

A Elci Gubiani pela amizade desde o início do mestrado, pelas conversas, risadas e almoços, pelos conselhos, pela presença nos momentos de dificuldade e pela confiança.

Ao Fabiano Halmenschlager e Qamar Sarfaraz pela amizade e boa convivência.

Ao Gilmar Luiz Schaefer e Mayara Regina Fornari pela ajuda e convivência no primeiro ano de mestrado.

Aos bolsistas de iniciação científica: Uilian Pavanatto Rodrigues, Eduardo Alves e Pedro Bolzan Parisi que não mediram esforços me auxiliando na realização desse trabalho, muito obrigada pela persistência e garra de vocês.

Aos demais bolsistas e colegas que estiveram ou estão no grupo de pesquisa: Jocelina Paranhos Rosa de Vargas, André Somavilla, Roque Junior Belinasso, Vanessa Dias, Viviane Capoane, Ivan Krolow, Daniela Krolow, Fabiana Medeiros, Lueni Terra, Veronica Fuzer Guarienti, Eder Souza, Diogo Alves, Jonatan Seibert e Luiza Rodrigues pela ajuda e convivência.

A Ana Paula de Lima Rodrigues pela amizade, pelas risadas, apoio, boa convivência e por me aguentar falando em dissertação nos últimos meses.

Ao Tiago Junior Cherobini por todo apoio, pela amizade, por sempre me incentivar e não deixar desistir, pela presença nos momentos bons e ruins. Obrigada por tudo!

As minhas amigas de apartamento: Samara Decezaro, Cristiane Graepin, Nathana Swarowski, Joceane Azolim, Ivanice Buzatto e Giovana Ghisleni Ribas, pela amizade e boa convivência. Samara, obrigada por toda ajuda e pela presença nos momentos tristes e alegres.

Ao Gian Carlos Poletto pelas conversas e pela companhia nas caminhadas.

Ao Nilton Carlos Cáceres pela ajuda, apoio e incentivo para a realização das disciplinas e das análises.

A Bruna Kuhn, Juliana Ferreira da Silva, Michele Stéfani Peters Enders, Fabrício Bublitz, Bruno Hennemann e Gustavo Ugalde por toda ajuda nas análises, pelas explicações e pela paciência.

A todos os demais amigos, colegas e professores que de, uma forma ou de outra, estiverem presentes nessa caminhada!

Muito obrigada!

Merci beaucoup!

Muchas gracias!

*“Quando nada parece ajudar, eu vou e olho o cortador de pedras, martelando uma rocha.
Talvez cem vezes sem que uma rachadura apareça. No entanto, na centésima primeira
martelada, a pedra se abre em duas, e eu sei que não foi a última martelada que conseguiu,
mas todas as que vieram antes.”*

Jacob Riis

**“...Pois nessa vida é preciso semear
Para depois colher...”**

Pala Velho

RESUMO

CARACTERIZAÇÃO DE BIOFILMES EPILÍTICOS OCORRENTES NA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO GUAPORÉ

AUTORA: Gracieli Fernandes

ORIENTADOR: Danilo Rheinheimer dos Santos

Os biofilmes epilíticos dominam a vida microbiana em córregos e rios, conduzem processos ecossistêmicos cruciais e contribuem para fluxos biogeoquímicos globais. Porém, a intensificação das atividades humanas expõe continuamente os recursos hídricos a diferentes fontes de contaminação e pode ocasionar alterações na composição orgânica e mineral dessas comunidades. Dessa forma, a caracterização química dos biofilmes é de fundamental importância para melhor compreender a sua dinâmica no ambiente aquático. Objetivou-se com o presente trabalho caracterizar biofilmes epilíticos ocorrentes em uma bacia hidrográfica rural do estado do Rio Grande do Sul quanto à composição orgânica e mineral. Foram selecionados nove pontos de amostragem distribuídos na sub-bacia hidrográfica do Rio Capingui e na sub-bacia hidrográfica do Arroio Marau, ambos afluentes do Rio Guaporé, e no curso principal da bacia hidrográfica do Rio Guaporé. Os biofilmes epilíticos foram amostrados no outono e na primavera, a partir da coleta e escovação manual do material aderido à fragmentos de rochas submersas. A composição orgânica foi avaliada pelas análises de carbono orgânico total e nitrogênio total, porcentagem de minerais e material orgânico, pirólise acoplada a cromatografia gasosa e espectroscopia de massas, infravermelho com refletância total atenuada e ressonância magnética nuclear 2D. A composição mineral dos biofilmes foi obtida a partir das análises de granulometria, teores pseudo-total e total de elementos e difratometria de raios-X. Os resultados demonstram que os biofilmes epilíticos são constituídos principalmente por minerais (62,14 a 84,45%). Os pontos de coleta com menor influência da ação antrópica apresentaram maior quantidade de biofilme sobre as rochas. Por outro lado, as concentrações de carbono orgânico (36,0 a 44,6%) e nitrogênio orgânico (5,2 a 7,2%) mostraram-se pouco variáveis dentro da biomassa dos biofilmes. As técnicas espectrométricas demonstraram que os biofilmes epilíticos são constituídos principalmente por polissacarídeos, compostos contendo nitrogênio, lipídios e estruturas aromáticas e fenólicas, os quais apresentam grupos funcionais característicos de álcool, éster, éter e amida. A composição quantitativa dessas biomoléculas variou em virtude da variação da “contaminação” com minerais e, conseqüente variação dos teores de material orgânico. A oxidação da matéria orgânica propiciou o aumento da porcentagem de partículas na fração argila, evidenciando que a fração argila presente nos biofilmes possui forte interação físico-química com o material orgânico. No entanto, a maior proporção de partículas acumuladas nos biofilmes encontra-se no tamanho de silte (67,18 a 83,44%). Os biofilmes epilíticos bioacumulam quantidades expressivas de elementos, com destaque para Al, Fe, Mn, Ca e Mg, oriundos do material de origem e, principalmente das atividades antrópicas. A análise de difratometria de raios-X destacou a presença de quartzo e illita e, a possibilidade de neoformação de minerais nos biofilmes. Assim, a conectividade dos processos erosivos com a rede fluvial do Rio Guaporé é responsável pela adsorção de compostos orgânicos e contaminação dos biofilmes com elementos e nutrientes das áreas de lavoura. As técnicas espectrométricas utilizadas possibilitaram aprofundar a investigação sobre a constituição química dos biofilmes epilíticos.

Palavras-chave: Caracterização. Composição orgânica e mineral. Biofilmes epilíticos.

ABSTRACT

CHARACTERIZATION OF EPILITHIC BIOFILMS OCCURRING IN THE GUAPORÉ RIVER CATCHMENT

AUTHORA: Gracieli Fernandes
ADVISOR: Danilo Rheinheimer dos Santos

Epilithic biofilms dominate microbial life in streams and rivers, lead to crucial ecosystem processes and contribute to global biogeochemical fluxes. However, the intensification of human activities continually exposes water resources to different sources of contamination and may cause alterations in the organic and mineral composition of these communities. In this context, the chemical characterization of biofilms is of great importance to better understand their dynamics in the aquatic environment. The present study aimed to characterize epilithic biofilms occurring in an agricultural catchment of Rio Grande do Sul State in terms of organic and mineral composition. Nine sampling points were selected in the sub-catchment of Capingui River, in the sub-catchment of Marau Stream, both tributaries of the Guaporé River, and in the main course of the Guaporé River catchment. Epilithic biofilms were sampled in the fall and spring, from the collection and manual brushing of the material adhered to fragments of submerged rocks. The organic composition was evaluated by the analyzes of total organic carbon and total nitrogen, percentage of minerals and organic material, pyrolysis coupled to gas chromatography and mass spectroscopy, attenuated total reflectance infrared and 2D nuclear magnetic resonance. The mineral composition of the biofilms was obtained from the analysis of granulometry, pseudo-total and total elements contents and X-ray diffractometry. The results demonstrate that epilithic biofilms are constituted mainly by minerals (62.14 to 84.45%). The collection points with less influence of the anthropic action presented greater amount of biofilm on the rocks. On the other hand, the concentrations of organic carbon (36.0 to 44.6%) and organic nitrogen (5.2 to 7.2%) showed little variation within the biofilm biomass. Spectrometric techniques have demonstrated that epilithic biofilms are mainly composed of polysaccharides, nitrogen-containing compounds, lipids and aromatic and phenolic structures, which have functional groups characteristic of alcohol, ester, ether and amide. The quantitative composition of these biomolecules varied due to the variation of the contamination with minerals and consequent variation of the organic material contents. The oxidation of the organic matter caused the increase of the percentage of particles in the clay fraction, evidencing that the clay fraction present in the biofilms has a strong physical-chemical interaction with the organic material. However, the highest proportion of particles accumulated in biofilms is found in silt size (67.18 to 83.44%). Epilithic biofilms bioaccumulate expressive amounts of elements, especially Al, Fe, Mn, Ca and Mg, originating from the source material, and mainly from the anthropic activities. The X-ray diffractometry analysis highlights the presence of quartz and illite and the possibility of mineral neof ormation in epilithic biofilms. Thus, the connectivity of the erosive processes with the fluvial network of the Guaporé River is responsible for the adsorption of organic compounds and the contamination of the biofilms with elements and nutrients of the cultivated areas. The spectrometric techniques used allowed to deepen the investigation on the chemical constitution of the epilithic biofilms.

Keywords: Characterization. Organic and mineral composition. Epilithic biofilm.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Biodiversidade das comunidades de biofilmes	28
Figura 2 – Estrutura e composição de biofilmes obtidos por microscopia eletrônica com microscopia de epifluorescência.....	29
Figura 3 – Diferentes compartimentos de um biofilme, incluindo uma bactéria gram-negativa (esquerda) e uma gram-positiva (direita).....	30
Figura 4 – Matriz de EPS em diferentes dimensões.....	32
Figura 5 – Mecanismo de desenvolvimento de um biofilme.....	33
Figura 6 – Processos de adsorção, reflexão e transformação de substâncias orgânicas e nutrientes na matriz de biofilmes.....	35
Figura 7 – Espectros de FTIR (A) e RMN-C (B) de EPS de biofilmes de minas ácidas	41
Figura 8 – Imagens de MEV com interação minerais/microrganismos em biofilmes	42
Figura 9 – Mapa de localização da bacia hidrográfica do Rio Guaporé, RS, Brasil	44
Figura 10 – Mapa litológico simplificado da área monitorada na bacia do Rio Guaporé, RS ..	45
Figura 11 – Mapa de relevo da área monitorada na bacia do Rio Guaporé, RS, Brasil	46
Figura 12 – Mapa de declividade da área monitorada na bacia do Rio Guaporé, RS, Brasil...	47
Figura 13 – Mapa hipsométrico da área monitorada na bacia do Rio Guaporé, RS, Brasil	48
Figura 14 – Mapa pedológico simplificado da área monitorada na bacia do Rio Guaporé, RS	49
Figura 15 – Mapa de uso da terra da área monitorada na bacia do Rio Guaporé, RS, Brasil ..	51
Figura 16 – Imagens das áreas de captação da sub-bacia do Rio Capingui (a esquerda) e da sub-bacia do Arroio Marau (a direita), na bacia hidrográfica do Rio Guaporé, RS, Brasil	53
Figura 17 – Mapa de localização dos pontos de amostragem na sub-bacia do Rio Capingui e sub-bacia do Arroio Marau situados na bacia do Rio Guaporé, RS	63
Figura 18 – Pontos de amostragem de biofilmes na sub-bacia do Capingui (C1, C2, C3, C4), na sub-bacia do Arroio Marau (M1, M2, M3, M4) e no curso principal da bacia (G1)	64
Figura 19 – Imagens da etapa de amostragem de biofilmes epilíticos na bacia hidrográfica do Rio Guaporé, RS, Brasil	65
Figura 20 – Extração dos compostos orgânicos do biofilme com metanol.....	68
Figura 21 – Composição orgânica dos biofilmes na BHRG: distribuição relativa de biopolímeros (superior); (b) massa de C em 100 g de biofilme (inferior)	79
Figura 22 – PI-CG/EM das amostras de biofilmes da bacia hidrográfica do Rio Guaporé, RS	81
Figura 23 – Relação entre a componente principal 1 (eixo 1) e a componente principal 2 (eixo 2), dos biopolímeros e entre os pontos amostrados na bacia hidrográfica do Rio Guaporé – RS.....	84
Figura 24 – Espectros de IV obtidos na coleta realizada no outono (A) e na primavera (B)...	86
Figura 25 – Estrutura de um polissacarídeo	87
Figura 26 – Estrutura de uma amida primária	88
Figura 27 – Relação entre o componente principal 1 (Eixo 1) e o componente principal 2 (Eixo 2) na ACP entre os pontos amostrados no outono e primavera, na bacia hidrográfica do Rio Guaporé – RS.....	90
Figura 28 – Peso de cada número de onda em cada componente principal	91
Figura 29 – Espectros 2D de HSQC de carbono e hidrogênio para biofilmes da sub-bacia do Rio Capingui.....	92

Figura 30 – Espectros 2D de HSQC de carbono e hidrogênio para biofilmes da sub-bacia do Arroio Marau.....	93
Figura 31 – Espectro 2D de HSQC de carbono e hidrogênio para biofilmes do curso principal do Rio Guaporé	94
Figura 32 – Estrutura dos lipídios	96
Figura 33 – Mapa de localização dos pontos de amostragem na sub-bacia do Rio Capingui e sub-bacia do Arroio Marau situados na bacia do Rio Guaporé, RS.....	106
Figura 34 – Alteração da granulometria com a destruição dos biopolímeros para biofilmes da sub-bacia do Rio Capingui, normal (esquerda) e ampliado (direita), na estação primavera	114
Figura 35 – Alteração da granulometria com a destruição dos biopolímeros para biofilmes da sub-bacia do Arroio Marau, normal (esquerda) e ampliado (direita), na estação primavera	115
Figura 36 – Alteração da granulometria com a destruição dos biopolímeros para biofilmes do curso principal do Rio Guaporé, normal (esquerda) e ampliado (direita), na estação primavera	116
Figura 37 – Box-plot das concentrações de elementos totais da fração mineral dos biofilmes epilíticos na sub-bacia do Rio Capingui (BHRC) e na sub-bacia do Arroio Marau (BHAM), para a primavera	129
Figura 38 – Box-plot das concentrações de elementos totais da fração mineral dos biofilmes epilíticos da primavera, comparando pontos sob influência de rochas vulcânicas ácidas, rochas vulcânicas básicas e de ambos os tipos de rochas	130
Figura 39 – Difratoograma de raios-X da análise mineralógica do biofilme na forma de pó desorientado, obtido no ponto C1 na bacia hidrográfica do Rio Guaporé, RS	135
Figura 40 – Difratoograma de raios-X da análise mineralógica do biofilme na forma de depósito em lâmina orientada, obtido no ponto C1 na bacia hidrográfica do Rio Guaporé, RS	136

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Estudos envolvendo caracterização de biofilmes	38
Tabela 2 – Descrição dos locais de amostragem na bacia hidrográfica do Rio Guaporé, RS ..	52
Tabela 3 – Quantidade de rochas, área por pedra e área total de rochas escovadas para extração dos biofilmes epilíticos nos diferentes pontos de monitoramento dos cursos d'água na bacia hidrográfica do Rio Guaporé, RS	66
Tabela 4 – Profundidade média e velocidade média do rio, valores de pH, temperatura e oxigênio dissolvido na água nos diferentes locais de coleta de biofilmes epilíticos na bacia hidrográfica do Rio Guaporé, RS	70
Tabela 5 – Concentrações de COT e NT e relação C/N nos biofilmes da bacia hidrográfica do Rio Guaporé, RS	72
Tabela 6 – Porcentagem de minerais e material orgânico, densidade de biofilmes escovados, porcentagens de C e N orgânico e quantidade real de biofilme obtidos na bacia hidrográfica do Rio Guaporé, RS	74
Tabela 7 – Identificação das cores dos biofilmes conforme Sistema Munsell de Cores.....	78
Tabela 8 – Extração de componentes principais para o conjunto de biopolímeros, com as respectivas correlações entre as variáveis e fatores, autovalores e variância acumulada.....	83
Tabela 9 – Características das bandas de absorção detectadas pelo IV.....	85
Tabela 10 – Características dos deslocamentos de C e H detectados pela RMN - HSQC.....	95
Tabela 11 – Concentrações de COT antes e depois da oxidação da matéria orgânica dos biofilmes	110
Tabela 12 – Resultados da análise granulométrica para o outono na bacia hidrográfica do Rio Guaporé – RS.....	112
Tabela 13 – Resultados da análise granulométrica para a primavera na bacia hidrográfica do Rio Guaporé – RS.....	113
Tabela 14 – Teores pseudo-totais dos elementos analisados nos biofilmes epilíticos da bacia hidrográfica do Rio Guaporé, RS	120
Tabela 15 – Teores totais dos elementos analisados nos biofilmes epilíticos da bacia hidrográfica do Rio Guaporé, RS	123
Tabela 16 – Teores de elementos pseudo-totais relacionados à fração mineral de biofilmes epilíticos da bacia hidrográfica do Rio Guaporé	125
Tabela 17 – Teores de elementos totais relacionados à fração mineral de biofilmes epilíticos da bacia hidrográfica do Rio Guaporé, RS	126
Tabela 18 – Correlação Ordinal de Spearman para granulometria, atributos da paisagem e concentrações de elementos pseudo-totais da fração mineral dos biofilmes epilíticos da primavera, na bacia hidrográfica do Rio Guaporé.....	132
Tabela 19 – Correlação Ordinal de Spearman para granulometria, atributos da paisagem e concentrações de elementos totais da fração mineral dos biofilmes epilíticos da primavera, na bacia hidrográfica do Rio Guaporé.....	133

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACP	Análise de Componentes Principais
ASE	Área superficial específica
ATR	Refletância Total Atenuada
BHAM	Sub-bacia hidrográfica do Arroio Marau
BHRC	Sub-bacia hidrográfica do Rio Capingui
BHRG	Bacia hidrográfica do Rio Guaporé
CDE	Compostos disruptores endócrinos
COT	Carbono orgânico total
DMV	Diâmetro médio volumétrico
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DRX	Difratometria de raios-X
DTP	Distribuição do tamanho de partículas
EPS	Substâncias poliméricas extracelulares
FLONA	Floresta Nacional de Passo Fundo
FTIR	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier
ICP-OES	Espectroscopia de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado
IV	Espectroscopia de Infravermelho
MEV	Microscópio eletrônico de varredura
NT	Nitrogênio total
OD	Oxigênio dissolvido
PI-CG/EM	Pirólise acoplada a cromatografia gasosa e espectroscopia de massas
RMN	Ressonância magnética nuclear
SBCS	Sistema Brasileiro de Classificação de Solos
SPD	Sistema plantio direto
UPF	Unidades de produção familiar

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	HIPÓTESES	21
3	OBJETIVOS	23
3.1	OBJETIVO GERAL.....	23
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	23
4	REVISÃO DE LITERATURA	25
4.1	CONTAMINAÇÃO AMBIENTAL.....	25
4.2	BIOFILMES EPILÍTICOS.....	27
4.2.1	Definição e composição dos biofilmes epilíticos	27
4.2.2	Desenvolvimento dos biofilmes epilíticos	33
4.2.3	Importância ambiental dos biofilmes epilíticos	34
4.2.4	Biofilmes epilíticos como indicadores de contaminação	36
4.3	CARACTERIZAÇÃO DE BIOFILMES EPILÍTICOS	37
5	CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO	43
5.1	LOCALIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO	43
5.2	CLIMA	43
5.3	LITOLOGIA.....	43
5.4	RELEVO E DECLIVIDADE.....	46
5.5	SOLOS	49
5.6	USO DA TERRA	50
6	APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS	55
6.1	CARACTERIZAÇÃO DA COMPOSIÇÃO ORGÂNICA DE BIOFILMES EPILÍTICOS DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO GUAPORÉ.....	57
6.1.1	Introdução	57
6.1.2	Material e Métodos	59
6.1.2.1	<i>Amostragem</i>	59
6.1.2.2	<i>Procedimentos analíticos</i>	65
6.1.2.2.1	Determinação de carbono orgânico total e nitrogênio total.....	66
6.1.2.2.2	Porcentagem de material orgânico	66
6.1.2.2.3	Pirólise acoplada a cromatografia gasosa e espectroscopia de massas	66
6.1.2.2.4	Espectroscopia na Região do Infravermelho com Reflexão Total Atenuada.....	67
6.1.2.2.5	Ressonância Magnética Nuclear.....	68
6.1.2.3	<i>Tratamento Estatístico</i>	68
6.1.3	Resultados e Discussão	69
6.1.3.1	<i>Fatores ambientais e desenvolvimento dos biofilmes epilíticos</i>	69
6.1.3.2	<i>Distribuição relativa de biopolímeros</i>	78
6.1.3.3	<i>Constituintes orgânicos e distribuição dos grupos funcionais</i>	84
6.1.3.4	<i>Comparação das técnicas espectrométricas</i>	97
6.1.4	Conclusões	98
6.2	CARACTERIZAÇÃO DA COMPOSIÇÃO MINERAL DE BIOFILMES EPILÍTICOS DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO GUAPORÉ.....	101
6.2.1	Introdução	101
6.2.2	Material e Métodos	103
6.2.2.1	<i>Amostragem</i>	103
6.2.2.2	<i>Procedimentos analíticos</i>	107
6.2.2.2.1	Granulometria.....	107
6.2.2.2.2	Quantificação da composição inorgânica pseudo-total e total por ICP-OES.....	108

6.2.2.2.3	Caracterização mineralógica por difração de Raio-X	108
6.2.2.3	<i>Tratamento Estatístico</i>	109
6.2.3	Resultados e Discussão	109
6.2.3.1	<i>Granulometria dos biofilmes epilíticos</i>	110
6.2.3.2	<i>Quantificação dos teores pseudo-total e total dos elementos</i>	119
6.2.3.3	<i>Mineralogia dos biofilmes epilíticos</i>	134
6.2.4	Conclusões	138
7	CONCLUSÕES GERAIS	139
8	PERSPECTIVAS DE ESTUDOS FUTUROS	141
	REFERÊNCIAS	143

1 INTRODUÇÃO

No Sul do Brasil, a maioria das regiões é constituída por pequenas unidades de produção familiar (UPF), baseadas na intensificação e concentração dos sistemas produtivos de grãos, suínos, aves e bovinocultura de leite. Nos últimos anos, estes sistemas tornaram-se mais concentrados (PELEGRINI; PELLEGRINI; HILLESHEIM, 2015), impactando na qualidade dos recursos hídricos. Inúmeras atividades humanas acarretam impactos negativos no corpo receptor, tais como a retirada de vegetação das cabeceiras e margens dos rios, o cultivo de lavouras e pastagens e a criação de animais em locais inapropriados, a aplicação de agrotóxicos e a disposição inadequada de resíduos sólidos e efluentes líquidos domésticos (MADRUGA et al., 2008). São essas atividades diárias em torno dos rios que geram poluição por fontes pontuais e difusas, provocando desequilíbrio ambiental na qualidade da água, maximizando a concentração de poluentes no curso hídrico (SOUZA; GASTALDINI; ARAÚJO, 2015).

A poluição resultante das atividades exercidas no entorno de ambientes aquáticos afeta não somente a qualidade da água desses ambientes, mas também as comunidades que os habitam (SILVA, 2014). Os córregos e os rios formam redes densas que moldam a superfície da Terra e, seus sedimentos e rochas, fornecem uma superfície imensamente grande para o crescimento microbiano. Os biofilmes epilíticos constituem um exemplo de comunidade microbiológica presente nesse ecossistema. Eles dominam a vida microbiana em córregos e rios, conduzem processos ecossistêmicos cruciais e contribuem substancialmente para fluxos biogeoquímicos globais (BATTIN et al., 2016), uma vez que se desenvolvem utilizando elementos minerais e orgânicos da água ou das rochas (JULIEN et al., 2014). A magnitude da ação antrópica pode afetar as populações de biofilmes epilíticos, tanto na sua constituição química quanto na diversidade e quantidade de espécies constituintes.

O estudo da ecologia e da biogeoquímica de biofilmes epilíticos desenvolveu-se lentamente com o passar dos anos. Ao contrário dos biofilmes cultivados em laboratório, os biofilmes epilíticos desenvolvidos em meio natural estão continuamente expostos ao fluxo dinâmico da corrente de água, constituindo-se em estruturas intrinsecamente complexas e variáveis, conforme as alterações e processos que ocorrem no ecossistema aquático. Nos córregos e rios, os biofilmes são sítios chaves da atividade enzimática, participando da ciclagem de matéria orgânica, respiração ecossistêmica e produção primária, ou seja, formam a base da cadeia alimentar nesses ecossistemas (FINDLAY, 2010; BATTIN et al., 2003; ROMANÍ et al., 2008). Da mesma forma, estes biofilmes adsorvem, retêm e transformam substâncias orgânicas e nutrientes em sua matriz, assim como acumulam substâncias que, no fluxo de água seriam

altamente diluídas, como carbono orgânico dissolvido ou contaminantes (FLEMMING; WINGENDER, 2010).

Os estudos utilizando biofilmes epilíticos como matriz de adsorção de contaminantes são recentes. A literatura tem valorizado a relação de alguns contaminantes na alteração de atributos dos biofilmes (PROIA et al., 2013; ANCIÓN et al., 2014; LIN et al., 2014; CEGELSKY, 2015; SABATER et al., 2016a). Porém, via de regra, esses estudos são majoritariamente realizados sob condições controladas. Assim, pouco se sabe sobre a relação da composição química dos biofilmes epilíticos com a capacidade de adsorver contaminantes com diferentes propriedades físico-químicas. Devido à grande diversidade de comunidades microbianas que formam os biofilmes, bem como dos diferentes ambientes que as mesmas habitam é difícil fazer generalizações sobre a estrutura dos biofilmes (JIAO et al., 2010). Para utilizar biofilmes epilíticos como indicadores da contaminação ambiental faltam estudos visando a avaliação em escala regional mais ampla (ex.: grandes bacias hidrográficas), do impacto das ações antrópicas no desenvolvimento e constituição dessas comunidades.

A natureza dos biofilmes epilíticos e os ecossistemas são inerentemente complexos e heterogêneos e, por isso, é imperativo maximizar as pesquisas sobre a temática. A sensibilidade dos biofilmes de córregos e rios às mudanças climáticas e ao aquecimento global, por exemplo, começou a ser reconhecida recentemente (ZEGLIN, 2015; PIGGOTT et al., 2015). Essas mudanças incluem alterações nos padrões de precipitação, represamento e desvio de água que alteram profundamente o regime hidrológico. Além disso, o aumento das áreas agrícolas nas bacias hidrográficas, favorecendo a entrada de contaminantes e nutrientes nos corpos d'água, também propicia o desmatamento concomitante da vegetação, deslocando o regime de luz e alterando a geomorfologia dos canais (BATTIN et al., 2016).

A grande maioria das bacias hidrográficas rurais do Rio Grande do Sul (RS) é composta por arranjos produtivos locais pluriativos e multifuncionais, combinando operações com atividades agrícolas e não agrícolas para a geração de renda. Nesse sentido, a bacia hidrográfica do Rio Guaporé (BHRG) foi escolhida para pesquisa por apresentar múltiplos usos do solo, sendo representativa das diversas atividades antrópicas praticadas no estado do RS. Essa bacia engloba duas sub-bacias, localizadas no terço superior. Na sub-bacia do Rio Capingui (BHRC) predomina o sistema de produção de grãos de sequeiro, caracterizado pelo uso intensivo de fertilizantes e agrotóxicos, principalmente com as monoculturas de soja e de milho (CASTRO LIMA, 2017). Já a sub-bacia do Arroio Marau (BHAM) destaca-se pelo sistema integrado de criação de frangos e suínos e também pela agricultura. Nessa região, as aplicações dos dejetos animais (bovinos, aves e suínos) nas lavouras são frequentes e ocorrem em maior volume no

entorno das áreas de criação. Ela também recebe os efluentes oriundos de algumas cidades, sendo que a maior delas é Marau, com 41.059 habitantes (IBGE, 2017), a qual não possui nenhuma estação de tratamento de esgoto e, mesmo assim, tem-se nesse manancial hídrico a principal fonte para o abastecimento da sua população urbana.

Dessa forma, a caracterização dos biofilmes epilíticos é de fundamental importância para melhor compreender a composição química e a dinâmica das comunidades de biofilmes epilíticos no ambiente aquático e como ocorre o processo de adsorção de contaminantes nessa matriz, visto que os biofilmes atuam como integradores naturais de poluentes, acumulando-os ao longo do tempo. Além disso, os resultados poderão ser úteis em estudos posteriores, fomentando a discussão sobre as formas de minimizar o impacto da ação antrópica sobre os ecossistemas hídricos.

2 HIPÓTESES

Os biofilmes contêm a maior parte dos organismos envolvidos na transferência de energia e matéria no rio e suas alterações de composição ou propriedades químicas e funcionais podem indicar mudanças temporárias ou irreversíveis no ambiente aquático. Nos trabalhos publicados até então, os biofilmes são apresentados genericamente e podem ser incomparáveis entre si dentro do mesmo trabalho, devido as capacidades diferenciadas de adsorção/dessorção ou de transformação das moléculas. Assim, as diferentes ações antrópicas desenvolvidas nas bacias hidrográficas rurais, principalmente a agricultura e as áreas urbanas, agregam constituintes orgânicos à estrutura dos biofilmes epilíticos e alteram significativamente a sua composição mineral.

As ações antrópicas modificam e degradam cadeias ecológicas, ocasionando inúmeros prejuízos ao meio ambiente. Monitorar e interpretar o efeito desses impactos nos ecossistemas é um grande desafio para a ciência e, por isso, a utilização de métodos biológicos de monitoramento, em conjunto com métodos físicos e químicos, possibilita a avaliação da qualidade das águas correntes. O monitoramento da qualidade da água a partir de biofilmes epilíticos oferece informações de efeitos ambientais prolongados e reflete situações (presença de contaminantes, de nutrientes e de matéria orgânica) não mais existentes no momento da verificação e sim originados a partir de um processo de maturação da comunidade epilítica. Dessa forma, a composição química dos biofilmes epilíticos pode ser determinada a partir de técnicas de análise estrutural e espectrométricas, possibilitando a caracterização dessas comunidades.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste estudo foi caracterizar biofilmes epilíticos ocorrentes em uma bacia hidrográfica rural quanto à composição orgânica e mineral.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- i. Conhecer a composição química orgânica e as propriedades dos grupos funcionais responsáveis pela adsorção de poluentes nos biofilmes epilíticos e relacioná-las com os usos do solo;
- ii. Identificar a composição química mineral e as características granulométricas e mineralógicas dos biofilmes epilíticos capazes de diferenciar ambientes com diferentes ações antrópicas.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 AÇÕES ANTRÓPICAS E CONTAMINAÇÃO AMBIENTAL

Assegurar a preservação da água doce é, mundialmente, um dos grandes desafios para a manutenção da qualidade dos ecossistemas e para o abastecimento da população humana (ONU, 2015). Porém, os rios são receptores de diversos contaminantes químicos de origem antropogênica, como matéria orgânica, nutrientes inorgânicos em excesso, como fósforo (P) e nitrogênio (N), e muitos micropoluentes de origem orgânica como agrotóxicos, medicamentos de uso veterinário e humano ((MEYBECK, 2004; SABATER et al., 2016a; SCHREINER et al., 2016; BASTOS et al., 2018) ou produtos industriais. Na maioria das vezes estes produtos se encontram em pequenas concentrações ($\mu\text{g L}^{-1}$ a ng L^{-1}) e são difíceis de serem detectados com as técnicas analíticas tradicionais. Consequentemente, essas técnicas possuem baixa capacidade de assegurar a qualidade da água para fins de preservação ambiental e de segurança alimentar (CASTRO LIMA, 2017).

Nas bacias hidrográficas agrícolas, caracterizadas por altos coeficientes de escoamento e perdas de sedimentos, os processos erosivos dos solos contribuem de forma significativa para a contaminação hídrica e, dessa forma, precisam ser controlados para evitar a degradação irreversível da qualidade do solo e da água (CASÃO JUNIOR; ARAÚJO; LLANILLO, 2012). Na maior parte das áreas cultivadas, a erosão do solo é maximizada pela ausência de estratégias para controlar o escoamento superficial. Além disso, nos solos compactados pelo trânsito intenso de máquinas agrícolas a infiltração de água diminui, com conseqüente aumento do escoamento superficial, propiciando a transferência de camadas de solo ricas em nutrientes e agrotóxicos para os corpos d'água (MERTEN et al., 2015). No entanto, a morfologia da paisagem, a distribuição das fontes de contaminação, as plantas de cobertura, o tipo de solo e a natureza dos eventos pluviométricos são fatores que influenciam na capacidade de transporte e no tempo de alcance dos recursos hídricos. Assim, em bacias hidrográficas, além dos fatores ambientais que interferem nessa dinâmica, existe ainda a heterogeneidade da gestão das terras (CASTRO LIMA, 2017).

A complexidade do sistema hidrossedimentológico da vertente aos corpos hídricos promove, de forma diferenciada, o aporte de contaminantes às águas superficiais e, desse modo é possível que haja ao longo de um evento ou inter-eventos pluviométricos plumas de maior ou menor intensidade e concentração dos poluentes. Então, o impacto das atividades agrícolas no sistema fluvial afeta a contaminação e a eutrofização das bacias hidrográficas e, desse modo, a

qualidade da água dos rios que abastecem a população. Soma-se a isso a reduzida presença de matas ciliares e o ordenamento paisagístico das vertentes em relação a distribuição das áreas de florestas, lavouras e estradas, que contribuem para o aumento da conectividade das lavouras com a rede fluvial, através dos processos erosivos. Por isso, em bacias hidrográficas rurais deve-se buscar alternativas para minimizar o fornecimento de nutrientes e poluentes para os rios, como a interceptação do escoamento em terras agrícolas (TIECHER et al., 2017), rotação de culturas, manejo adequado da integração lavoura-pecuária (MERTEN et al., 2015) e a redução do uso de agrotóxicos (CASTRO LIMA, 2017).

Embora a agricultura seja uma fonte substancial de entrada de nutrientes e poluentes no sistema hídrico (BUNCH; BERNOT, 2010), as atividades antrópicas urbanas como os hospitais ou tratamentos hospitalares, a urbanização, o transporte e a indústria ocasionam danos ambientais e produzem numerosos poluentes (FAURE; BONIN; DURAN, 2015), tais como medicamentos (BASTOS, 2017), produtos de beleza e retardadores de chama (WILLE et al., 2012). Nas zonas urbanas, mesmo que as águas fornecidas aos usuários passem por estações de tratamento, os medicamentos, por exemplo, podem alcançar os cursos de água devido ao limitado potencial de descontaminação (KÜMMERER, 2009).

Outros fatores ambientais também podem ocasionar o estresse no meio: alteração de habitat, interrupção do regime do fluxo de água e aumento da temperatura da água, prejudicando a sobrevivência e o ciclo de vida de organismos, principalmente dos mais sensíveis e, diminuindo a biodiversidade (DUDGEON, 2010). Cada grupo de organismos fornecerá respostas específicas aos contaminantes, relacionadas com seu ciclo de vida particular e habitat que ocupam. Os organismos com ciclo de vida curto, como as bactérias, podem responder às rápidas mudanças que ocorrem no ambiente do rio, físicas, químicas ou biológicas. Assim, os organismos que habitam os corpos d'água são expostos a uma baixa, porém constante concentração de poluentes químicos que alteram o seu comportamento em níveis diferentes, com consequências que ainda precisam ser entendidas (BOXALL, 2004; SABATER et al., 2007; BERNIER; SURETTE, 2013).

É importante compreender que as substâncias orgânicas de origem antropogênica podem chegar à água doce e afetar as comunidades biológicas (BEKETOV et al., 2013). Além disso, muitas dessas substâncias podem bioacumular-se e propagar-se pela cadeia trófica (ARNOT; GOBAS, 2004). Os organismos, de acordo com seu tamanho e ciclo de vida, respondem de forma diferente às mudanças rápidas ou cumulativas (SEGNER; SCHMITT-JANSEN; SABATER, 2014). Os biofilmes (produtores e heterotróficos primários), por ocuparem a interface entre água e sedimentos, podem ser considerados os mais sensíveis a estas

mudanças e às variações de nutrientes inorgânicos e de alguns micropoluentes inorgânicos. A resposta dessas comunidades de organismos pode evidenciar o impacto de várias perturbações no ecossistema do rio, inclusive definir situações e períodos em que estes efeitos são mais evidentes (SABATER et al., 2007).

4.2 BIOFILMES EPILÍTICOS

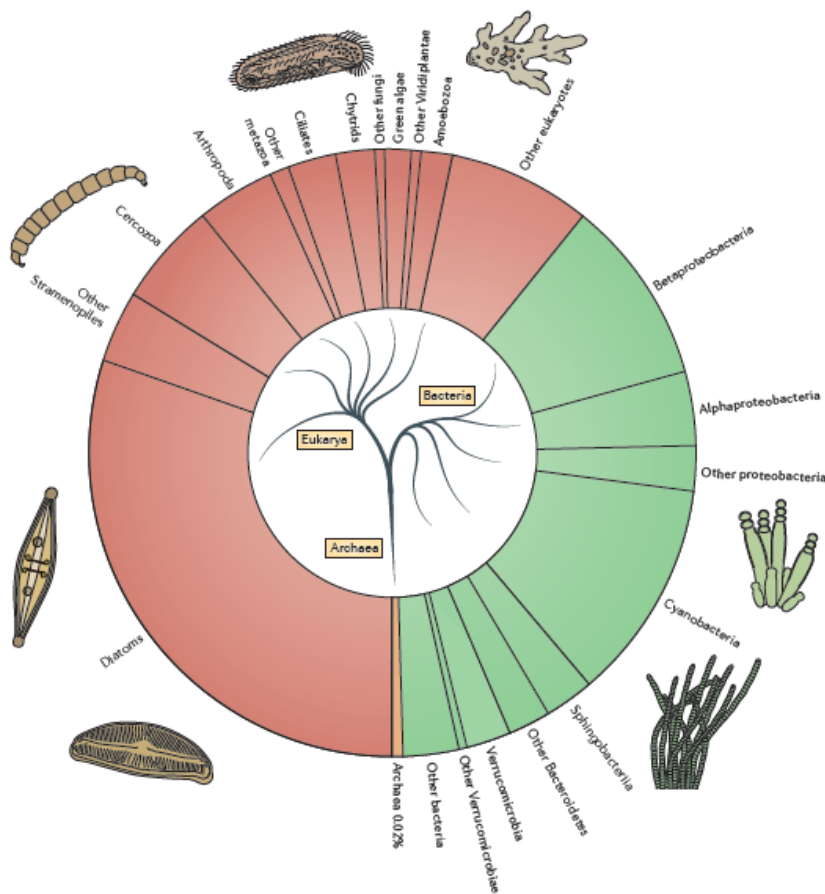
4.2.1 Definição e composição dos biofilmes epilíticos

Os biofilmes são comunidades de células microbianas de maior ou menor complexidade, tanto eucariontes (com predominância de bactérias) quanto procariontes (microalgas, como por exemplo, as diatomáceas ou algas verdes e as cianobactérias, e fungos) (GAYLARDE; GAYLARDE, 2000; ZACHEUS et al., 2001), além de protozoários (CORSARO et al., 2010) e vírus (RINTA-KANTO et al., 2004; TEUNIS et al., 2009). Eles prevalecem na maioria dos ambientes aquáticos tais como rios, lagos e oceanos, aderidos em uma superfície inerte (rocha ou pedras e, nesse caso, são denominados biofilmes epilíticos) ou viva (plantas) (Figura 1).

Assim, contrariamente a alguns biofilmes estudados pelos cientistas em laboratório, os biofilmes epilíticos são muito heterogêneos. A flora microbiana de um rio, por exemplo, pode ser constituída por até 90% dessas comunidades, integrando organismos autótrofos e heterótrofos (LAURENT, 2013). Todo esse pequeno mundo se desenvolve junto nas superfícies submersas (BRIANDET et al., 2012).

Além dos microrganismos, os biofilmes são constituídos de água, substâncias poliméricas extracelulares (EPS) de origem microbiana e resíduos do ambiente colonizado. A água é a fração mais significativa podendo compor 97% da matriz do biofilme. Já os microrganismos representam cerca de 2 a 5% dessa matriz. Estes, porém, excretam substâncias poliméricas predominantes na matéria orgânica da massa seca do biofilme. As bactérias são os microrganismos presentes em maior quantidade nos biofilmes, em condições favoráveis e, até mesmo em condições extremas. Isso ocorre devido a seu reduzido tamanho, elevadas taxas de reprodução, grande capacidade de adaptação e de produção de substâncias e estruturas extracelulares protetoras (SUTHERLAND, 2001; CAPELLETTI, 2006; MIGUEL, 2007).

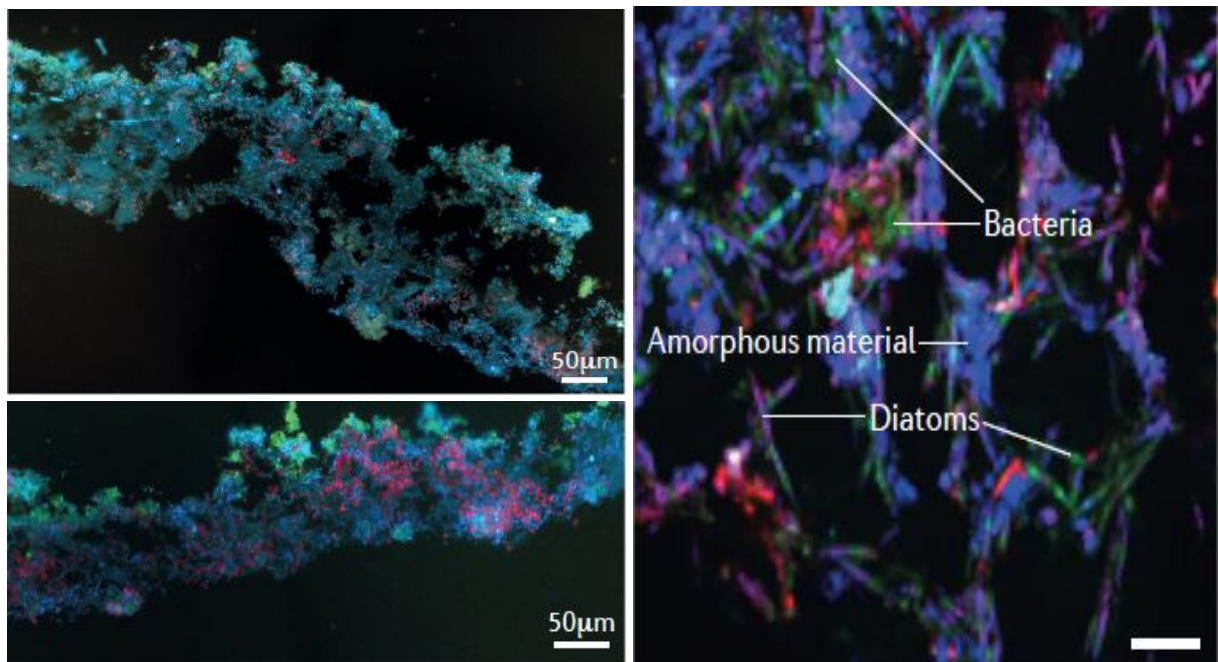
Figura 1 – Biodiversidade das comunidades de biofilmes



Fonte: (BATTIN et al., 2016).

A Figura 2 ilustra a complexidade estrutural e composicional dos biofilmes de rio, onde as diatomáceas são mostradas por autofluorescência (em vermelho) e as bactérias por coloração DAPI (químico 4-6-diamidino-2-fenilindol, em azul). Dependendo da disponibilidade de luz, os biofilmes podem incluir abundantes diatomáceas alongadas e EPS que coexistem com bactérias (BATTIN et al., 2016). A organização dos microrganismos nos biofilmes pode resultar em maior resistência contra as ações dos agentes físicos e químicos (OLIVEIRA; BRUGNERA; PICCOLI, 2010) e, conseqüentemente, fornece proteção contra as condições adversas do ambiente e agentes antibacterianos químicos e biológicos (HÄUBLER, 2004).

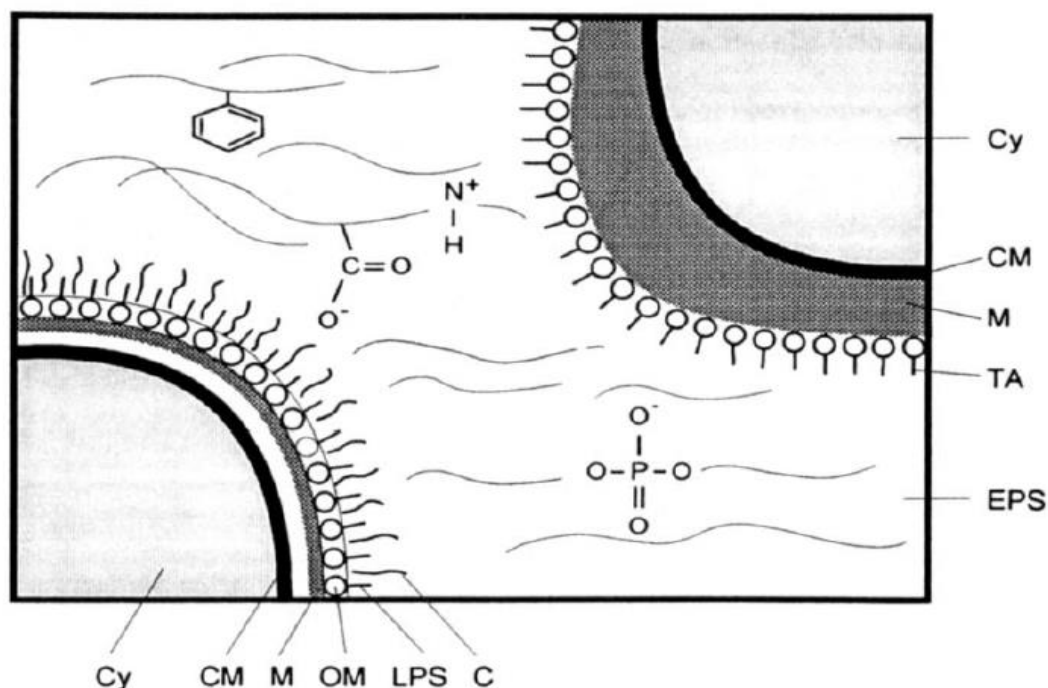
Figura 2 – Estrutura e composição de biofilmes obtidos por microscopia eletrônica com microscopia de epifluorescência



Fonte: (BATTIN et al., 2016).

Flemming (1995) caracteriza a estrutura do biofilme, de forma superficial, dividindo-o em regiões: (i) EPS, que apresentam grupos catiônicos em amino açúcares e proteínas (como - NH^+); grupos aniônicos em ácidos urônicos e proteínas (como por exemplo, - COO^- ; HPO_4^-); grupos apolares de proteínas (aminoácidos aromáticos); grupos com alto potencial de ligação com hidrogênio (tais como polissacarídeos); (ii) membrana externa e lipopolissacarídeos de células gram-negativas, com suas membranas lipídicas, e os ácidos lipoteicóicos em células gram-positivas; (iii) membrana citoplasmática, com uma região lipofílica; (iv) citoplasma que consiste em uma fase aquosa separada da água circundante (Figura 3).

Figura 3 – Diferentes compartimentos de um biofilme, incluindo uma bactéria gram-negativa (esquerda) e uma gram-positiva (direita)



Fonte: (Flemming, 1995).

CY – Citoplasma; CM – Membrana citoplasmática; M - Mureína; OM – Membrana externa; LPS – Lipossacarídeos; C – Cápsula; TA – Ácido lipoteicoico; EPS – Substâncias poliméricas extracelulares.

Os biofilmes possuem propriedades de adsorção (água, solutos orgânicos, solutos inorgânicos e partículas) nas EPS, nas paredes celulares (grupos carboxila e fosforil), nas membranas celulares (acúmulo de substâncias lipofílicas) e no citoplasma da célula. Cada um desses sítios apresenta diferentes preferências, capacidades e propriedades de adsorção. Muitas vezes, o biofilme pode responder fisiologicamente às substâncias sorvidas, alterando sua capacidade de adsorção (a absorção de tolueno, por exemplo, pode formar ácidos urônicos nas EPS aumentando a capacidade de adsorção de cátions). Se a biomassa do biofilme se decompõe liberando as substâncias adsorvidas, a remobilização dos poluentes pode contaminar a água subterrânea nos casos em que o solo não conseguir mantê-las retidas em suas cargas (FLEMMING, 1995).

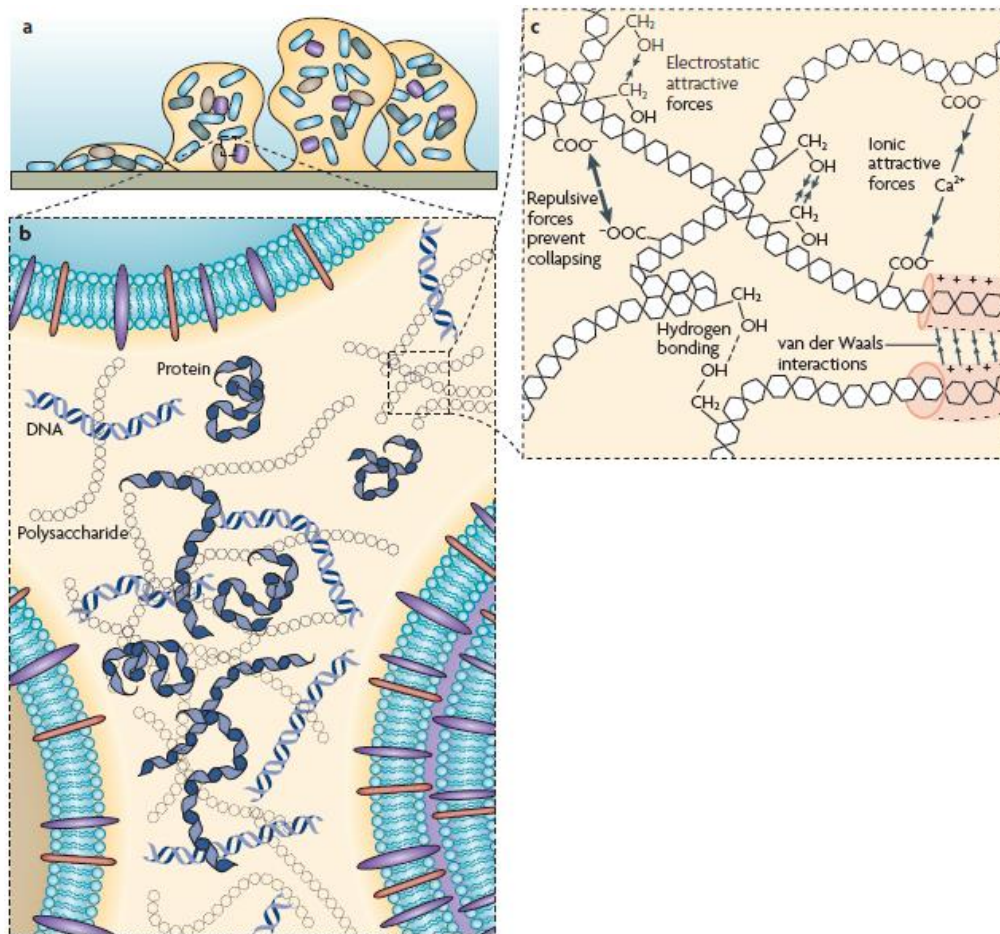
Assim, o biofilme é um ambiente de reações químicas. Devido à presença dos grupos aniônicos (grupos carboxilas e sulfatos, por exemplo) ocorre a formação de um potencial de troca catiônica na matriz. A fixação de compostos (ex.: poluentes) e metais nos biofilmes depende da competição destes com o H^+ , ou seja, é influenciada pelo pH do meio e da viscosidade das EPS, capazes de reter metais pesados, como zinco (Zn^{2+}), cádmio (Cd^{2+}), níquel

(Ni²⁺). A retenção de metais pesados acontece por meio de ligações nas paredes das células das bactérias envolvendo mecanismos de trocas aniônicas, precipitação e complexação (SUTHERLAND, 1984; FERRIS et al., 1989; WUERTZ et al., 2001).

Além disso, os minerais (destaque para calcita, óxidos e os óxido-hidróxidos de ferro, manganês e alumínio e os silicatos) estão presentes na composição dos biofilmes, desde o início da sua formação, combinados com a matriz orgânica. Eles funcionam como uma armadilha química que se liga e concentra substâncias químicas (DRURY; STEWART; CHARACKLIS, 1993). A ocorrência de minerais na matriz orgânica é essencialmente devido à precipitação *in situ*, dentro da matriz orgânica ou em agregados bacterianos e por meio de mecanismos de deposição (HIERNAUX, 2005). Como o leito do rio pode conter mais do que um tipo de rocha (granito, calcário, rochas carbonáceas), a composição mineral dos biofilmes também pode variar dependendo do tipo de rocha (LAURENT, 2013).

A matriz de EPS é a estrutura unificadora e protetora dos biofilmes sendo constituída em parte pelas próprias células e em parte por componentes do ambiente como polissacarídeos (principalmente), proteínas, ácido desoxirribonucleico extracelular (eDNA), glicoproteínas e fosfolipídios. Os componentes dessa matriz principal são distribuídos entre as células em um padrão não homogêneo, estabelecendo diferenças entre as regiões da matriz. O eDNA funciona como um reservatório de genes para transferência horizontal. As proteínas, como as enzimas extracelulares, são responsáveis por um sistema externo digestivo versátil que produz um sequestro de nutrientes dissolvidos na fase aquosa permitindo seu uso como fonte nutricional e de energia (Figura 4). Essa matriz apresenta cargas de superfície e propriedades hidrófilas e hidrofóbicas que possibilitam a associação com outras substâncias como íons metálicos, cátions divalentes e até mesmo macromoléculas como as substâncias húmicas (MCDUGALD et al., 2012; D'ABZAC et al., 2010; CAPELLETTI, 2006; LUCCHESI, 2006; FLEMMING; WINGENDER, 2010).

Figura 4 – Matriz de EPS em diferentes dimensões



Fonte: (FLEMMING; WINGENDER, 2010).

(a) Modelo de biofilme bacteriano ligado a uma superfície sólida. (b) Componentes da matriz principal (polissacarídeos, proteínas e DNA). (c) Classes de interações físico-químicas fracas e emaranhamento de biopolímeros que dominam a estabilidade da matriz EPS.

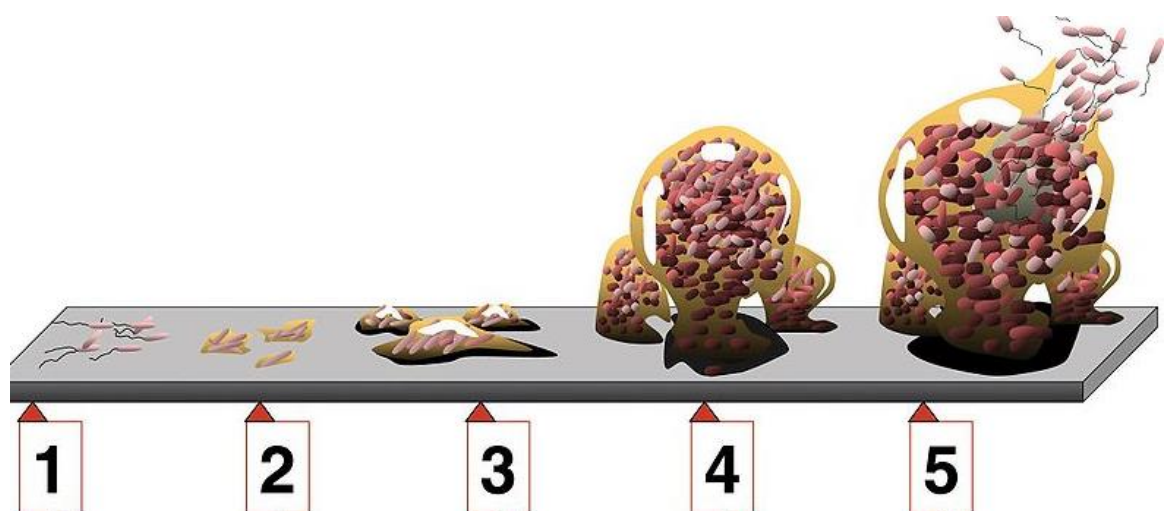
As EPS dos biofilmes podem variar de uma comunidade para outra, visto que dependem dos microrganismos presentes, das forças de cisalhamento experimentadas, da temperatura e da viabilidade de nutrientes no meio (FLEMMING; WINGENDER, 2010). Elas funcionam como uma barreira defensiva, protegendo as células do arraste, das condições de estresse múltiplo, como a diminuição de nutrientes e água, das radiações ultravioleta, alterações de pH, choques osmóticos, da presença de contaminantes (como medicamentos veterinários e agrotóxicos), das condições ambientais e de alguns protozoários herbívoros (BOARI et al., 2009; CAIXETA et al., 2012). Assim, não há biofilme sem matriz de EPS, visto que são essenciais para a formação dos biofilmes e tornam possível um estilo de vida completamente diferente do planctônico (FLEMMING; WINGENDER, 2010).

Alguns autores observaram relações significativas nas comunidades de biofilmes. Costerton et al. (1994) e Capelletti (2006), por exemplo, afirmam que os biofilmes possuem estrutura porosa altamente hidratada, conectada, constituindo um sistema de circulação, responsável pelo fornecimento de nutrientes e pela remoção de substâncias tóxicas oriundas do metabolismo. Vu et al. (2009) observaram gradientes de oxigênio, de substratos e pH importantes no interior dos espaços porosos presentes nos biofilmes e que, segundo Watnick e Kolter (2000), podem atuar sobre a estrutura das comunidades bacterianas conforme sua capacidade metabólica e fisiológica. Assim, distintas comunidades de biofilmes também podem interagir entre si através de relações simbióticas.

4.2.2 Desenvolvimento dos biofilmes epilíticos

As comunidades que crescem em substratos minerais (pedras, rochas) são denominadas de biofilmes epilíticos. Nos ecossistemas aquáticos, a ampla distribuição dos biofilmes epilíticos ocorre devido ao modo de desenvolvimento, dividido em 5 etapas, conforme ilustrado na Figura 5.

Figura 5 – Mecanismo de desenvolvimento de um biofilme



Fonte: (MONROE, 2007).

A primeira etapa (1) do processo de formação dos biofilmes consiste na adesão reversível de um colonizador primário, contendo moléculas orgânicas como proteínas e fixação de bactérias em uma superfície sólida (COMPERE et al., 2001). A adesão pode ocorrer através de forças de Van der Waals, atração eletrostática e interações hidrofóbicas. Nessa etapa, a

bactéria muda a expressão de diversos genes e perde os flagelos (estrutura responsável pela locomoção), tornando-se imóvel. Na segunda etapa (2) ocorre a adesão irreversível com formação de ligações mais fortes (interações dipolo dipolo, ligações iônicas e covalentes, pontes de hidrogênio e interações hidrofóbicas) sob o efeito das EPS, que são sintetizadas. As fímbrias (estruturas poliméricas externas relacionadas com a capacidade de adesão) fixam a célula bacteriana ao substrato o que dificulta a remoção do biofilme (CAIXETA et al., 2012).

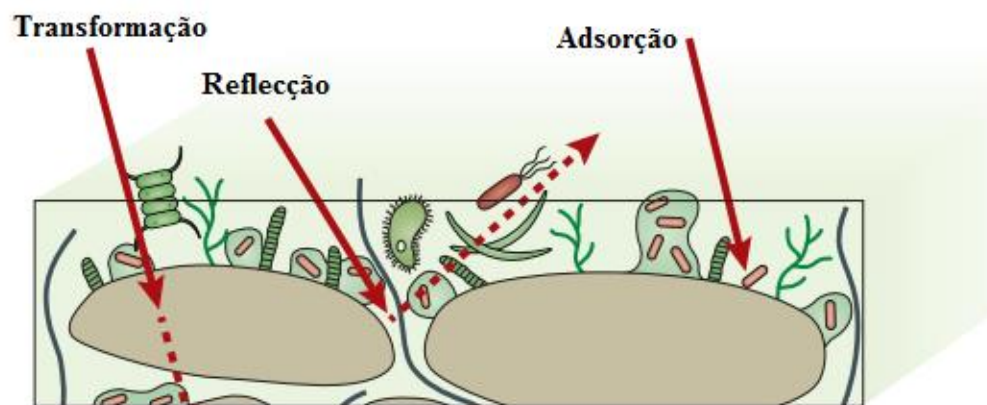
A terceira etapa (3) envolve o crescimento de microcolônias formadas através da combinação de bactérias (GARRETT; BHAKOO; ZHANG, 2008). A quarta etapa (4) representa a maturação e proliferação de microrganismos importantes na produção de EPS capazes de estabilizar o biofilme e melhorar a sua aderência à superfície (formação de macrocolônias) (COSTERTON, 1999). Na última etapa (5), devido à alguma perturbação no ambiente, pode ocorrer o desprendimento de uma porção do biofilme, cujas bactérias irão colonizar outros sítios, estendendo, dessa forma, a superfície de assentamento do biofilme (DUNNE, 2002). Para Caixeta et al. (2012), o desprendimento de material celular pode ocorrer por erosão superficial, descolamento, abrasão e ataque de predadores. Nessa etapa, se o meio não for favorável, as bactérias voltam a se tornar móveis e a desenvolver o flagelo.

4.2.3 Importância ambiental dos biofilmes epilíticos

A importância no estudo dos biofilmes epilíticos afirma-se no fato de que os organismos com ciclo de vida curto como as bactérias permanecem numa superfície, a partir da qual eles interagem com o ambiente e podem sofrer perturbações. Qualquer mudança, natural (eventos sazonais ou climáticos) ou antropogênica (poluição acidental, pressão das descargas urbanas), de natureza física (temperatura, salinidade, pH), química (abundância de nutrientes, disponibilidade de matéria orgânica) ou biológica exercida sobre os biofilmes aquáticos faz com que estes respondam rapidamente às mudanças ocorridas. As alterações na composição ou nas propriedades químicas e funcionais dos biofilmes podem indicar mudanças temporárias ou irreversíveis no ambiente (SABATER et al., 2007; LAURENT, 2013). As perturbações físicas ou químicas podem ser transcritas através de uma modificação ou rearranjo das populações de biofilmes (ROUBEIX et al., 2011). Em ambientes contaminados com petróleo, por exemplo, pode-se encontrar produção moderada de biofilmes, visto que nesse ambiente, o estresse ocasionado pela presença de petróleo desfavorece a produção dos biofilmes, tornando-os muito resistentes a este tipo de poluição (OLIVEIRA; FREITAS; VINAGRE, 2012).

Os biofilmes são importantes para o funcionamento global do ecossistema, visto que comunidades bacterianas participam do ciclo bioquímico do carbono (produção de carbono orgânico através da fotossíntese pelos biofilmes fototróficos) e participam na degradação de materiais orgânicos (restos de organismos animais e vegetais) em elementos simples (como CO₂, CH₄). Além disso, contribuem na transformação de compostos nitrogenados ou fosfatados (Figura 6) com papel fundamental na nitrificação (oxidação biológica de amônia em nitrito e, posteriormente em nitrato, em ambiente aeróbio) e desnitrificação (redução de nitritos e nitratos por bactérias anaeróbias facultativas) (PAERL; PINCKNEY, 1996; DAVEY; O'TOOLE, 2000; DODDS; JONES; WELCH, 1998; BATTIN et al., 2016).

Figura 6 – Processos de adsorção, reflexão e transformação de substâncias orgânicas e nutrientes na matriz de biofilmes



Fonte: (BATTIN et al., 2016).

Grande parte dos biofilmes estão adaptados às várias pressões químicas apresentando formas de defesa e proteção como a desintoxicação, biodegradação e tolerância a compostos tóxicos. Os biofilmes possuem diferentes mecanismos de desintoxicação quando expostos a poluentes tóxicos. Os sistemas de bomba de efluxo, por exemplo, permitem que bactérias gram negativas (ex.: *Escherichia coli*) possam se proteger de antibióticos. Estas bombas levam a substância tóxica para fora da célula através de proteínas transportadoras localizadas no citoplasma, sendo que as substâncias são expelidas através dos canais da membrana com manutenção da pressão osmótica intracelular (SOTO, 2013).

Quanto a biodegradação, microrganismos do biofilme são capazes de degradar todos os tipos de compostos (SINGH; PAUL; JAIN, 2006), mas esta capacidade varia em função das moléculas. A maioria das medições de biodegradabilidade são realizadas em reatores de tamanhos variados para limitar os fatores ambientais que podem influenciar no comportamento

e na formação de biofilmes (LAURENT, 2013). Das et al. (2012) e Vercaene-Eairmal et al. (2010), observaram a capacidade biodegradante dos biofilmes em pesticidas e metais. Os biofilmes também toleram a presença de poluentes na água, sendo que os poluentes provocam mudanças nas comunidades e algumas espécies tornam-se resistentes a eles (PESCE et al., 2010).

4.2.4 Biofilmes epilíticos como indicadores da contaminação

Atualmente, os biofilmes epilíticos são reconhecidos como comunidades complexas que abrigam imenso grau de biodiversidade em todos os três domínios da vida, conduzindo processos ecossistêmicos e ciclos biogeoquímicos (BATTIN et al., 2016). Essas características os tornam promissores indicadores da contaminação por compostos orgânicos e inorgânicos nos rios e riachos, visto que são os primeiros organismos a interagir com as substâncias dissolvidas (nutrientes, matéria orgânica e substâncias tóxicas) (SABATER et al., 2007). Assim, a abundância de diferentes organismos em uma comunidade é o resultado de uma resposta cumulativa às condições anteriores. Dessa forma, o uso de indicadores biológicos propicia um aspecto temporal mais abrangente do que as técnicas químicas e o monitoramento hidrológico tradicional (LEAR; LEWIS, 2009).

Diante das limitações referentes à variabilidade temporal no ambiente dos ecossistemas aquáticos, há muitos anos pesquisadores europeus estão estudando a viabilidade do uso de biofilmes para avaliar a qualidade ambiental de ecossistemas aquáticos (FLEMMING, 1995; FUCHS; HARITOPOULOU; WILHELMI, 1996; SABATER et al., 2002). Estes organismos são capazes de bioacumular (BERLIOZ-BARBIER et al., 2014; RAMIREZ et al., 2009) e/ ou participar do processo de biomagnificação (RUHÍ et al., 2016). Além disso, o acúmulo de moléculas ativas, como antibióticos, pode afetar a resistência bacteriana (AUBERTHEAU et al., 2017; BASTOS, 2017).

Mais recentemente, os biofilmes epilíticos passaram a ser utilizados como matriz para a adsorção de moléculas de contaminantes. Laurent (2013) encontrou concentrações de produtos farmacêuticos em biofilmes cerca de 1000 vezes mais elevadas do que na água de rios. Huerta et al. (2016) demonstraram que os biofilmes epilíticos podem acumular produtos farmacêuticos. Os autores desenvolveram uma metodologia analítica para análise simultânea de produtos farmacêuticos e compostos disruptores endócrinos (CDE) em biofilmes epilíticos e ainda, avaliaram a persistência, distribuição e bioacumulação desses contaminantes nos biofilmes afetados por estações de tratamento de águas residuais. Como resultado do estudo realizado

pela equipe de pesquisa espanhola, foram detectados sete produtos farmacêuticos (diclofenaco, diltiazem, gemfibrozil, verapamil, norverapamil, OH-CBZ e venlafaxina) e cinco CDEs (etilparabeno, metilparabeno, propilparabeno) em concentrações superiores a 100 ng g^{-1} .

Aubertheau et al. (2017) e Chonova et al. (2017) verificaram que as estações de tratamento de águas residuárias constituem uma das principais fontes de resíduos farmacêuticos nas águas superficiais e que os biofilmes epilíticos constituem uma matriz de adsorção adequada para avaliar os impactos dessa atividade no ambiente aquático circundante. Em todos os biofilmes, Aubertheau et al. (2017) verificaram a presença de vários compostos (5 a 11 dos 12 estudados), os quais estão entre os mais frequentes produtos farmacêuticos que ocorrem em águas naturais (carbamazepina, diclofenaco, propranolol, sulfametoxazol). Detectou-se também, a presença de vários antibióticos em concentrações superiores a 276 ng g^{-1} , o que fornece condições favoráveis para a manutenção da resistência aos antibióticos.

No Brasil, a avaliação da contaminação da água utilizando biofilmes epilíticos como matriz de adsorção foi realizada por Castro Lima (2017), Bastos (2017) e Bastos et al. (2018), no Rio Grande do Sul, demonstrando que os biofilmes possuem potencial elevado, enquanto matriz, de indicar a presença de agrotóxicos, fármacos humanos e veterinários nos ecossistemas aquáticos. Ambos os autores confirmaram o potencial de utilização dos biofilmes epilíticos como fonte de informação para estudos de poluição ambiental. Os resultados mostraram que as concentrações de agrotóxicos e medicamentos variaram de acordo com a fonte de poluição (agrícola e urbana) e a intensidade de uso do solo (mais ou menos antropizado).

4.3 CARACTERIZAÇÃO DE BIOFILMES EPILÍTICOS

Diversos estudos têm empregado biofilmes como indicadores da qualidade da água, avaliando alterações na comunidade biológica, capacidade fotossintética, capacidade depurativa, constituição, entre outros (PROIA et al., 2013; ANCIÓN et al., 2014; LIN et al., 2014; CEGELSKY, 2015; SABATER et al., 2016a), porém sem utilizar biofilmes epilíticos no seu ambiente natural e/ou sem aprofundar a investigação sobre sua constituição química. Cabe ressaltar que, no Brasil não há estudos com ênfase na caracterização de biofilmes epilíticos naturais. Mundialmente, a pesquisa ainda está muito restrita a sistemas experimentais controlados, conforme Tabela 1.

Tabela 1 – Estudos envolvendo caracterização de biofilmes

(continua)

LOCAL DE ESTUDO	PROCEDÊNCIA DO BIOFILME	ANÁLISES DE CARACTERIZAÇÃO	REFERÊNCIA
University of Cincinnati, USA	Laboratório	Determinação das concentrações de carboidratos, proteínas e DNA nas EPS	Zhang et al. (1999)
University of Girona/ University of Barcelona, Espanha	Laboratório/ambiente natural	Concentração de clorofila; densidade da comunidade de algas; densidade de bactérias; teores de C e N; teores de polissacarídeos e atividade das enzimas extracelulares	Romaní et al. (2004)
UR Qualité des Eaux, França	Laboratório	Biomassa total e de algas; extração de DNA; análise de pigmento por HPLC	Tlili et al. (2008)
Riou Mort River; Université Bordeaux; França	Laboratório/ ambiente natural	Determinação das concentrações de Cd e Zn; diversidade de espécies de diatomáceas	Morin et al. (2008)
Technische Universität München, Alemanha	Laboratório	Utilização de microscopia de varredura a laser e microscopia RAMAN para caracterização de EPS (polissacarídeos e proteínas) e ácidos nucleicos	Wagner et al. (2009)
Mina Richmond na Iron Mountain, Califórnia, EUA	Ambiente natural (minas ácidas)	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR); concentrações de proteínas, carboidratos, DNA, metais (Fe, Al, Mg, Zn, Ca, Na, Cu, Si, Mn, Co); ressonância magnética nuclear de carbono (RMN)	Jiao et al. (2010)
University of Girona, Espanha	Laboratório	Extração do DNA; abundância de bactérias; carbono orgânico dissolvido; consumo de oxigênio; atividades de enzimas extracelulares	Peter et al. (2011)
Charente, West France; Cemagref, UR MALY, França	Ambiente natural	Determinação da clorofila; proporção de diatomáceas, clorofíceas e cianobactérias; atividade fotossintética	Pesce et al. (2011)
Chongqing University, China	Laboratório	Determinação das concentrações de polissacarídeos, ácidos húmicos, proteínas, DNA e eficiência de floculação; RAMAN; FTIR	Chen et al. (2013)

Tabela 1 – Estudos envolvendo caracterização de biofilmes

(conclusão)

LOCAL DE ESTUDO	PROCEDÊNCIA DO BIOFILME	ANÁLISES DE CARACTERIZAÇÃO	REFERÊNCIA
The University of Auckland, Nova Zelândia	Ambiente natural	Determinação da concentração de metais e análise molecular	Ancion et al. (2013)
Chinese Academy of Science, China	Laboratório	Determinação das concentrações de polissacarídeos, proteínas, DNA extracelular; especiação de enxofre	Lin et al. (2014)
Université de Poitiers, França	Laboratório	Determinação das concentrações totais de Fe, Ca, Mn, Si e Al; microscopia eletrônica de varredura (MEV); pirólise acoplada a CG-EM	Julien et al. (2014)
Catalan Institute for Water Research, Girona, Espanha	Laboratório/ Ambiente natural	Biomassa total; concentração de clorofila; densidade bacteriana; composição de algas e bactérias; eficiência fotossintética	Corcoll et al. (2015)
Harz Mountains/ Helmholtz-Centre for Environmental Research-UFZ, Alemanha	Ambiente natural	Clorofila; fósforo total; carbono orgânico e nitrogênio total; metais (Cu, Mn, Fe, Pb, Zn e Sr) e As.	Kamjunke et al. (2015)
University Center for Analysis and Testing, China	Laboratório	Determinação das concentrações de polissacarídeos, proteínas, ácidos húmicos e DNA nas EPS	Zhang et al. (2015)
University of Girona/ University of Barcelona, Espanha	Ambiente natural	Determinação da composição e densidade de diatomáceas e determinação da atividade da fosfatase alcalina (APA)	Sabater et al. (2016a)
College of Water Resources and Civil Engineering, China	Laboratório/ Ambiente natural	Massa seca; polissacarídeos e proteínas; teores de Al, Fe e Mn; adsorção de N e P	Wang et al. (2016)
Rio Vienne/ University of Poitiers, França	Ambiente natural	Extração do DNA e análises de diversidade de bactérias	Aubertheau et al. (2017)

Fonte: Autor.

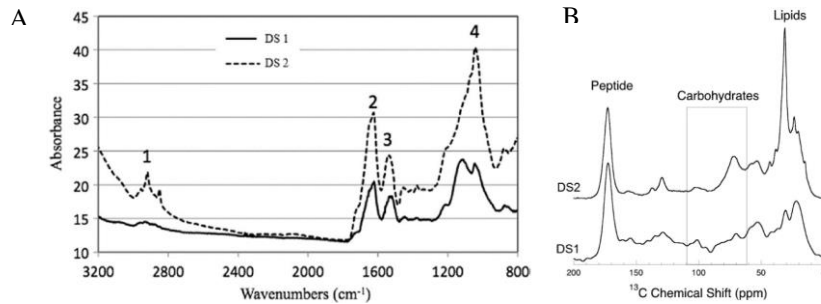
O funcionamento e o desempenho dos biofilmes no meio ambiente são fortemente afetados pela sua composição em termos de grupos microbianos (bactérias, cianobactérias e algas) e pela complexa arquitetura tridimensional (disposição espacial de células microbianas e EPS (BATTIN et al., 2016). A arquitetura dos biofilmes epilíticos se desenvolve a partir de sua composição química em termos de fração orgânica (grupos funcionais) e inorgânica. Porém, os cientistas ainda estão explorando esses sistemas dinâmicos para entender a complexidade das interações dentro dos biofilmes (VU et al., 2009).

Muitos estudos enfatizaram os fatores que regulam a composição macromolecular de biofilmes (STEINBERGER; HOLDEN, 2005; PRIESTER et al., 2006; CHANG et al., 2007). Da mesma forma, a caracterização a nível molecular das EPS foi realizada em estudos anteriores usando espectroscopia de raio-X, espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), microscopia Raman e microscopia de varredura a laser (BEECH; SUNNER, 2004; WAGNER et al., 2009; SAMEK; AL-MARASHI; TELLE, 2010; ZIPPEL; NEU, 2011).

As técnicas instrumentais modernas baseadas na espectroscopia de infravermelho (IV) permitem detectar uma variedade de grupos funcionais ativos (ex.: carboxílicos, fosfórico, aminas e hidroxila) presentes nas comunidades epilíticas, principalmente nas EPS. Esses grupos funcionais representam possíveis locais de ligação para a adsorção de metais e substâncias tóxicas, tais como Cd e cobre (Cu) (WEI et al., 2011), agrotóxicos e medicamentos veterinários e humanos. Além disso, a análise das composições a partir das técnicas de ressonância magnética nuclear (RMN) e espectroscopia de fluorescência tridimensional de excitação-emissão da matriz indica que as EPS de biofilmes em condições controladas possuem grandes quantidades de estruturas aromáticas, cadeias de lipídios insaturados e três redes dimensionais (SHENG; YU; LI, 2010), que podem interagir com moléculas contendo anéis aromáticos (ZHANG et al., 2015).

Nesse sentido, a Figura 7 exhibe espectros de FTIR e RMN de carbono (C) obtidos de EPS de biofilmes de minas ácidas, em dois estágios de desenvolvimento: estágio médio (DS1) e biofilme maduro (DS2). Os espectros de FTIR indicam a presença de vibrações em lipídios (Figura 7A: pico 1), proteínas (amida I e amida II, Figura 7A: picos 2 e 3, respectivamente) e carboidratos, DNA e RNA (Figura 7A: pico 4). Da mesma forma, os espectros de RMN-C (Figura 7B) indicam a presença de lipídios, álcoois secundários de carboidratos, carbonos glicosídicos de polissacarídeos e peptídeos (JIAO et al., 2010).

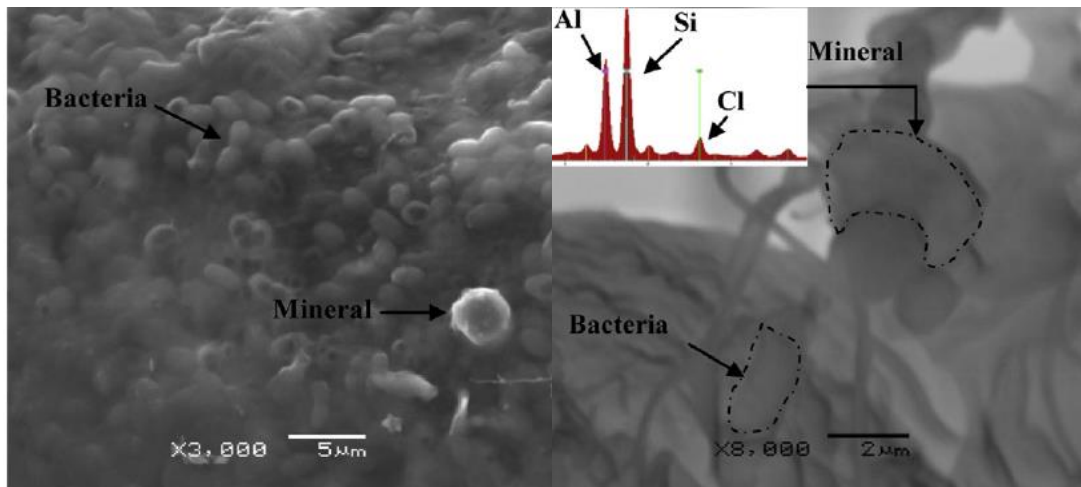
Figura 7 – Espectros de FTIR (A) e RMN-C (B) de EPS de biofilmes de minas ácidas



Fonte: (JIAO et al., 2010).

Quanto à composição inorgânica, os biofilmes epilíticos se desenvolvem utilizando os elementos químicos oriundos dos minerais e de materiais orgânicos presentes na água ou superfícies (rochas), devido às atividades naturais e antrópicas, sendo que estes elementos são incorporados à sua estrutura. Vários componentes do biofilme (bactérias, compostos minerais, entre outros) podem interagir com as espécies químicas (moléculas) contidas na água, devido à presença de locais de ligação (na superfície de partículas inorgânicas ou grupos funcionais). Dessa forma, os biofilmes desempenham um papel importante na biogeoquímica dos elementos e oligoelementos, como o ferro (Fe) por exemplo, que é essencial para quase todos os organismos constituintes dos biofilmes (JULIEN et al., 2014) e, na distribuição de metais nos sistemas aquáticos. Outros elementos como o Cu e o Zn são essenciais em baixas concentrações, ao passo que chumbo (Pb) e Cd são sempre tóxicos. Assim, pode ocorrer o enriquecimento de metais em biofilmes em comparação com a água circundante (MAGES et al., 2006) e esses metais podem afetar a estrutura da comunidade de microrganismos (ANCION et al., 2013) e serem potencialmente tóxicos (MORIN et al., 2008), o que depende da disponibilidade de nutrientes. O tipo e as propriedades do substrato também podem afetar a composição dos biofilmes epilíticos. As bactérias, por exemplo, podem adaptar a composição de suas EPS secretadas conforme a rocha em que estão aderidas, visando obter o ambiente adequado para sua adesão e conseqüente formação de biofilme (CHEN et al., 2013). A Figura 8 exibe imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) que mostram a interação minerais/microrganismos em biofilmes.

Figura 8 – Imagens de MEV com interação minerais/microrganismos em biofilmes



Fonte: (JULIEN et al., 2014).

Estudos combinando análises químicas e biológicas de caracterização possibilitam a definição de padrões de distribuição das comunidades de biofilmes epilíticos. Isso pode ajudar a entender até que ponto a ocorrência dos contaminantes ou agentes estressores afeta a estrutura das comunidades de biofilmes (tanto produtor primário quanto heterótrofo) (SABATER et al., 2016a), visto que esses organismos são sensíveis à várias substâncias incluindo nutrientes inorgânicos (SABATER et al., 2002) e micropoluentes orgânicos, como agrotóxicos e antibióticos (PROIA et al., 2013; PESCE et al., 2011).

Porém, a caracterização detalhada de biofilmes epilíticos é trabalhosa e difícil, devido a sua complexidade, a qual é oriunda do grande número de classes químicas e componentes neles contidos (provenientes dos microrganismos, dos minerais e da matéria orgânica). As EPS, por exemplo, formam uma mistura complexa de proteínas, carboidratos, lipídios, DNA e substâncias de ácidos húmicos (FLEMMING; NEU; WOZNIAK, 2007), que podem estar envolvidos em diversas funções. Os carboidratos, embora tenham sido identificados como um dos principais componentes das SPE, possuem propriedades bioquímicas ainda não descritas em virtude de suas complexas estruturas e ligações (IRIE; PRESTON; YUK, 2006; MORIKAWA et al., 2006; LIMA et al., 2008). Além disso, a incorporação de partículas em suspensão e de matéria dissolvida na matriz do biofilme altera ainda mais a composição química do mesmo (KAMJUNKE et al., 2015).

5 CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO

5.1 LOCALIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO

A área em estudo está inserida na bacia hidrográfica do Rio Guaporé (BHRG), localizada no nordeste do estado do Rio Grande do Sul (RS), nas coordenadas planas 6874357,63 mN; 6843322,87 mS; 372305,09 mW e 398901,22 mE (Figura 9). A mesma recobre parte das regiões fisiográficas do Planalto Central, ou seja, o terço superior da bacia, compreendendo a sub-bacia hidrográfica do Rio Capingui (BHRC) e a sub-bacia hidrográfica do Arroio Marau (BHAM). A área de drenagem é de 531,27 km² abrangendo 7 municípios: Marau (41.059 habitantes), Mato Castelhano (2.574 habitantes), Gentil (1.705 habitantes), Vila Maria (4.407 habitantes), Água Santa (3.841 habitantes), Passo Fundo (198.799 habitantes) e Santo Antônio do Palma (2.196 habitantes) (IBGE, 2017). Quanto aos limites, a área limita-se ao norte-nordeste com a bacia do Rio Apuaê-Inhandava; a noroeste com a bacia do Rio Passo Fundo, a oeste com as bacias dos Rios Forqueta e Baixo Taquari-Antas; a leste com a bacia do Rio Carreiro e ao sul-sudoeste com a bacia do Rio Alto Jacuí.

5.2 CLIMA

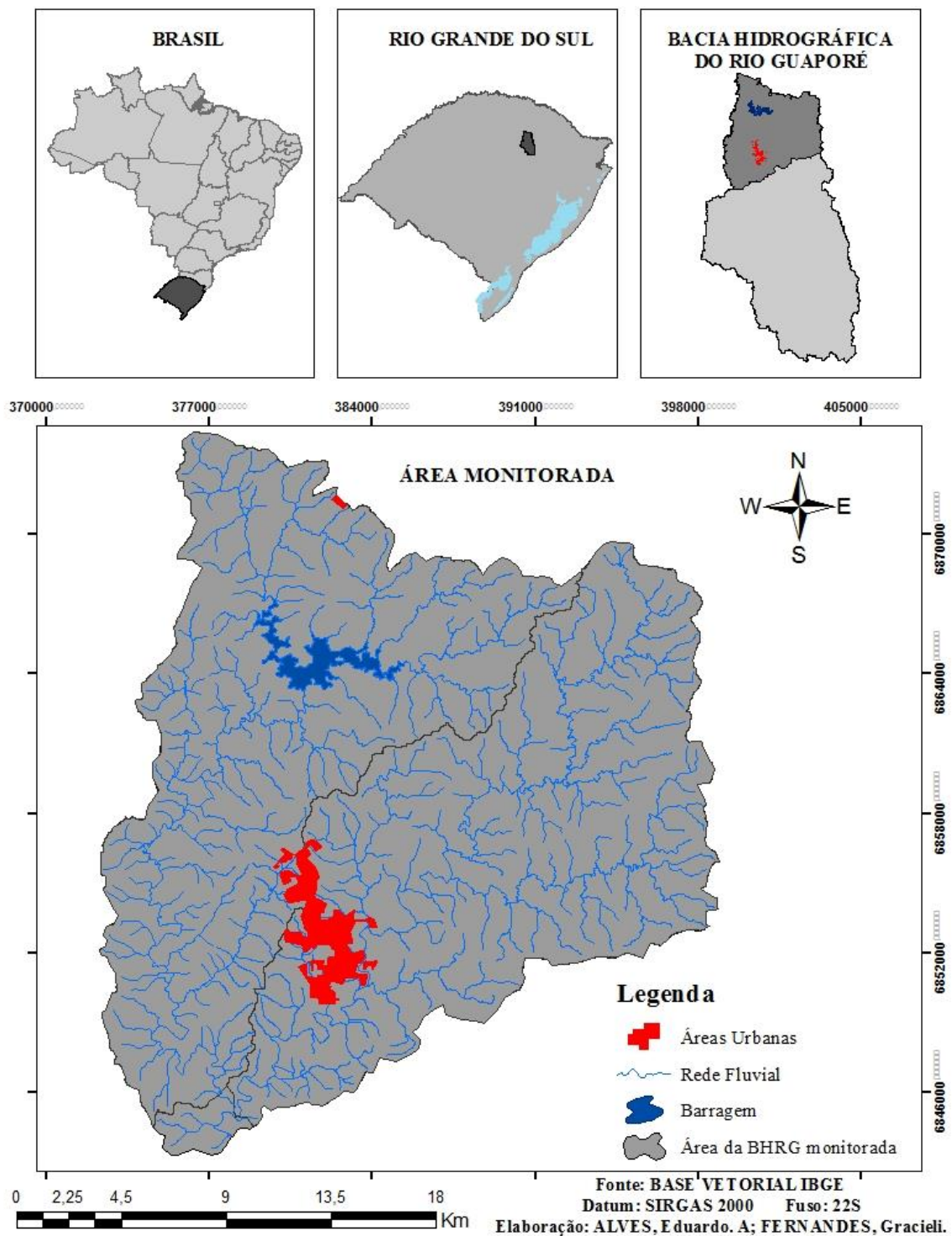
A classificação climática da região é Cfa (clima subtropical), de acordo com a classificação de Köppen, com precipitações médias anuais variando entre 1.400 e 1.700 mm e temperatura média anual de 17,9 °C. As temperaturas são superiores a 22 °C no verão e as chuvas são bem distribuídas durante o ano, com a ocorrência de mais de 30 mm de chuva no mês mais seco. A umidade relativa média anual é de 75%, sendo que os ventos são mais intensos no período da primavera (IBGE, 2017).

5.3 LITOLOGIA

Geologicamente, a bacia hidrográfica é caracterizada por fluxos de lava vulcânica da formação Serra Geral, sendo constituída tanto por rochas efusivas, como basalto e fenobasaltos, quanto por rochas vulcânicas ácidas, como os riodacitos, riolitos e dacitos félsicos. As *facies* Caxias, Paranapanema e Gramado cobrem 89,3% (474,42 km²), 6,3% (33,47 km²) e 4,4% (23,38 km²) da área total, respectivamente (Figura 10). A *facies* Caxias é constituída somente por rochas vulcânicas (basalto); a *facies* Paranapanema constitui-se numa mistura de rochas

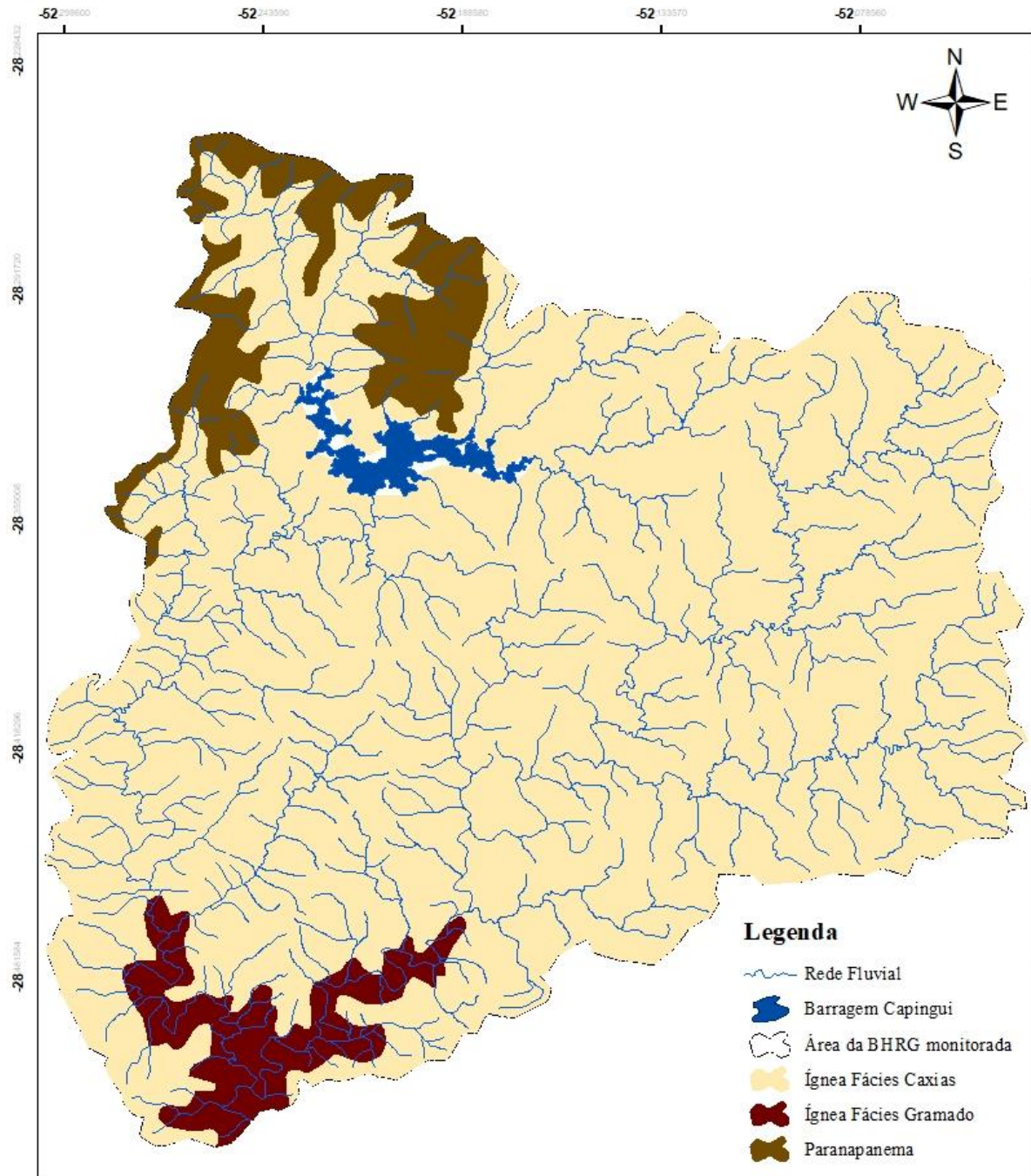
ígneas e sedimentares sendo a primeira de subclasse vulcânica e a segunda de subclasse clástica; Gramado é constituída de rochas ígneas com misturas de vulcânicas e plutônicas e presença de brechas magmáticas.

Figura 9 – Mapa de localização da bacia hidrográfica do Rio Guaporé, RS, Brasil

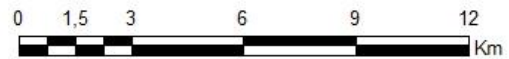


Fonte: Autor.

Figura 10 – Mapa litológico simplificado da área monitorada na bacia do Rio Guaporé, RS



Fonte: CPRM
 Datum: SIRGAS 2000 Fuso: 22S
 Elaboração: ALVES, E duardo. A; FERNANDES, Gracieli.



Fonte: Autor.

5.4 RELEVO E DECLIVIDADE

A caracterização do relevo e da declividade foi realizada utilizando imagens SRTM (*Shuttle Radar Topography Mission*) com resolução espacial de 30 metros, em ambiente digital do software ARCGIS 9.2. A classificação foi realizada de acordo com Ramalho Filho & Beek (1995). Verifica-se na Figura 11 e na Figura 12 que a região em estudo apresenta a predominância da classe de relevo suave ondulado e declividade entre 3 e 12%. Quanto à altitude, a área monitorada apresenta cotas altimétricas inferiores a 524 m e que se estendem até valores superiores a 746 m de altitude (Figura 13).

Figura 11 – Mapa de relevo da área monitorada na bacia do Rio Guaporé, RS, Brasil

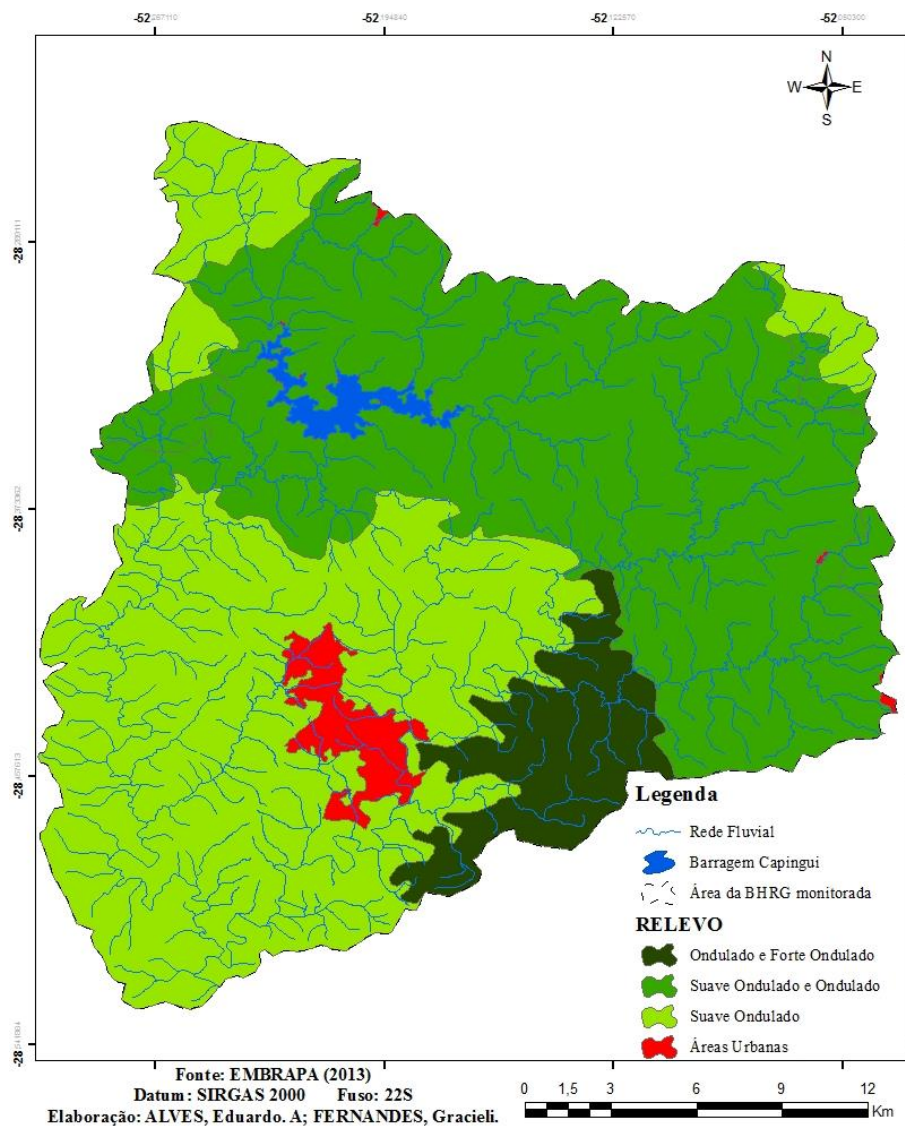
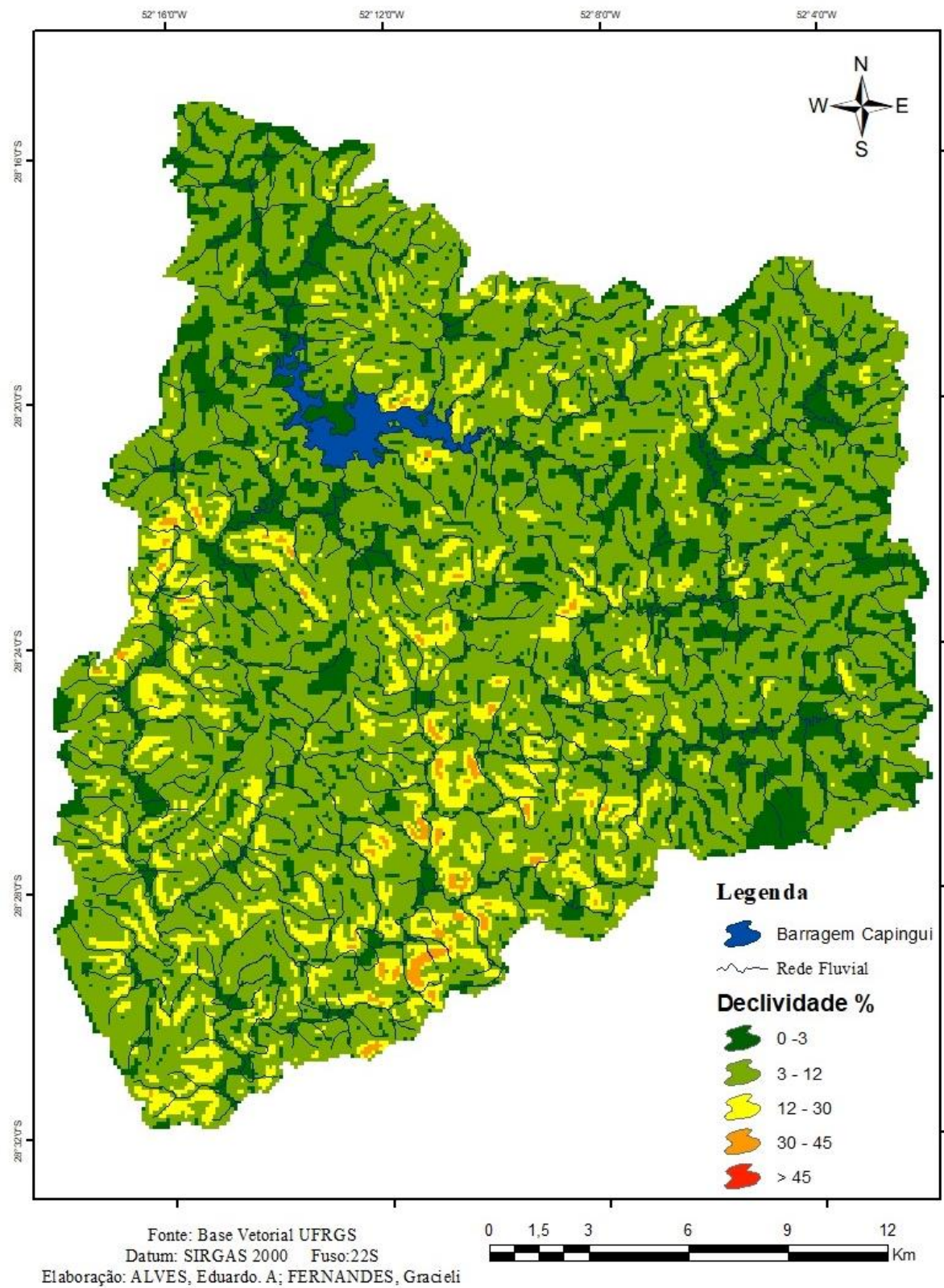
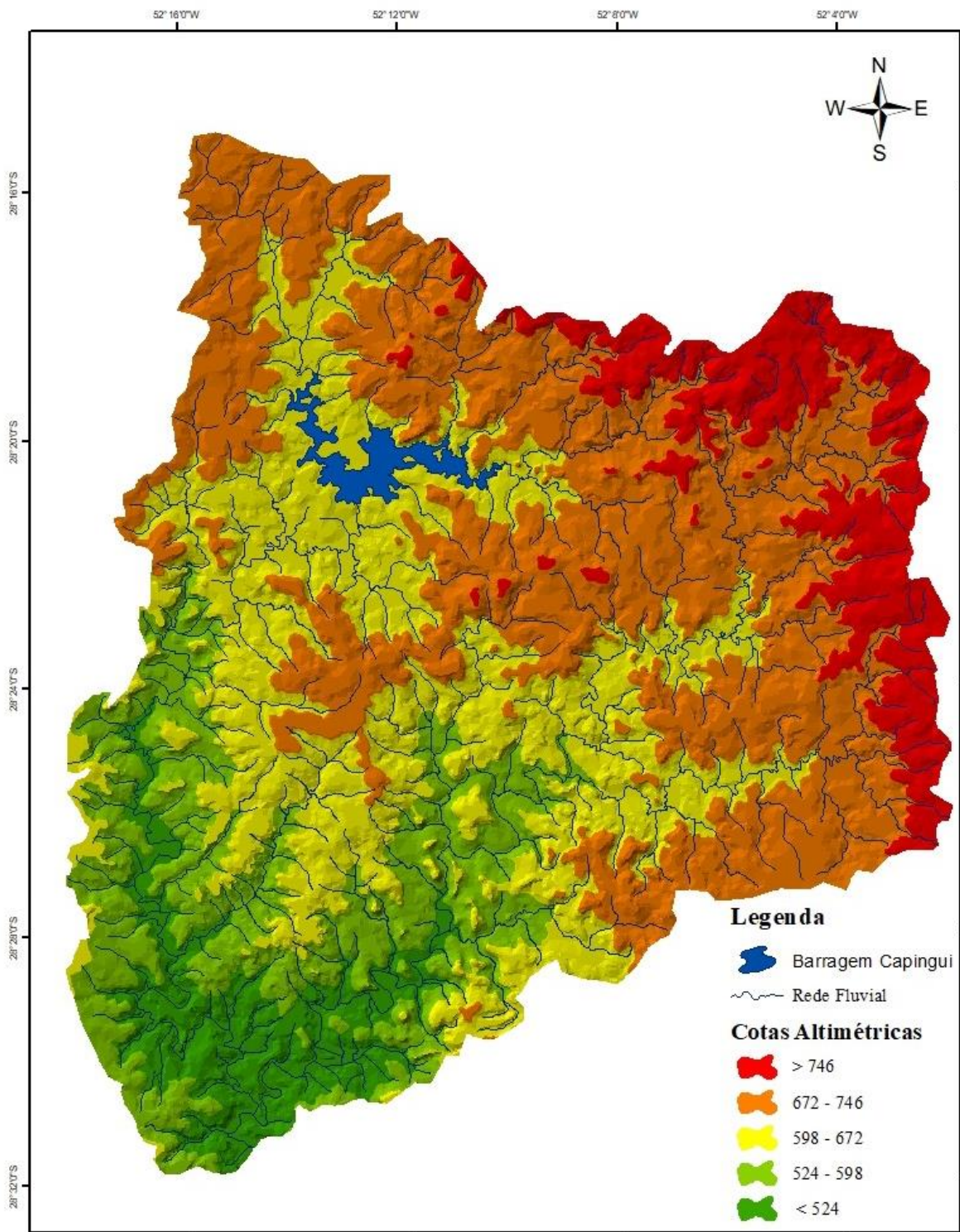


Figura 12 – Mapa de declividade da área monitorada na bacia do Rio Guaporé, RS, Brasil



Fonte: Autor.

Figura 13 – Mapa hipsométrico da área monitorada na bacia do Rio Guaporé, RS, Brasil



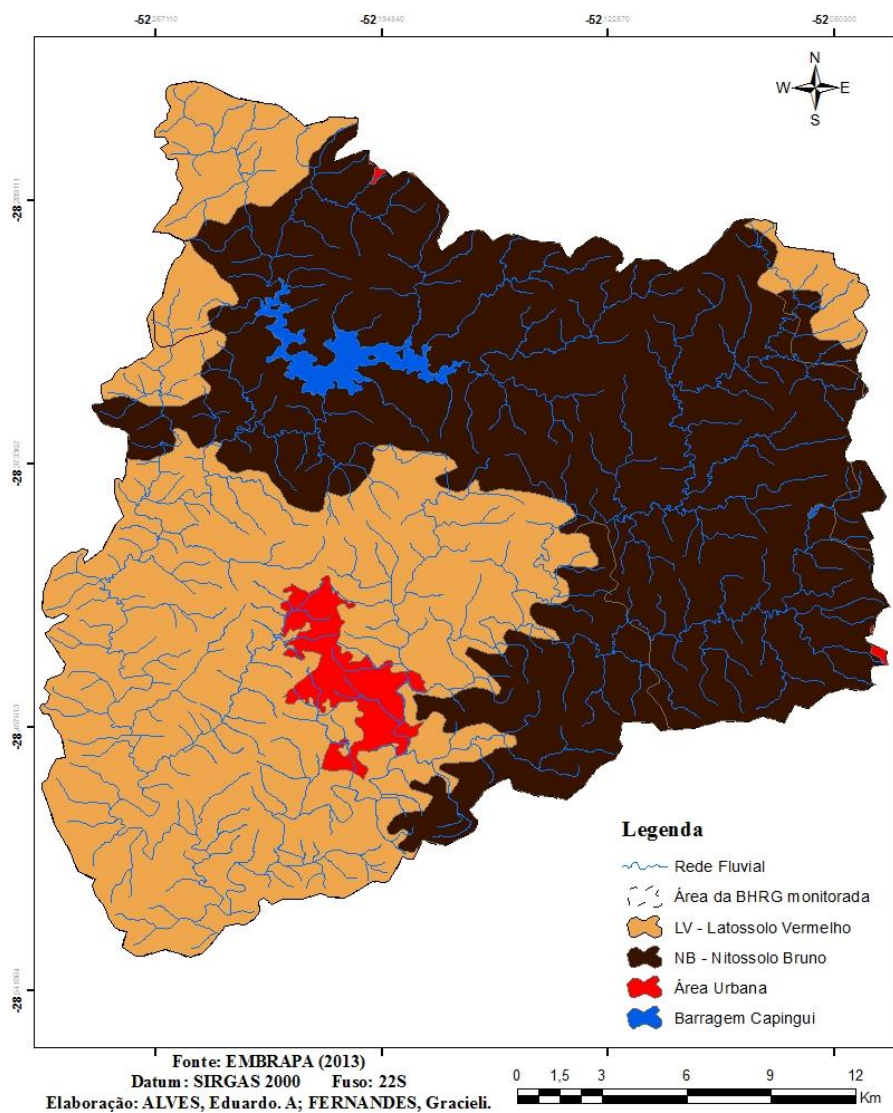
Fonte: Base Vetorial UFRGS
 Datum: SIRGAS 2000 Fuso:22S
 Elaboração: ALVES, Eduardo. A; FERNANDES, Gracieli

Fonte: Autor.

5.5 SOLOS

As informações referentes aos solos ocorrentes na BHRG estão limitadas às informações contidas no levantamento exploratório de solo na escala 1:750.000 do Projeto Radam Brasil (BRASIL, 1986). A atualização da legenda ao Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (SBCS) (EMBRAPA, 2013) demonstra que as principais classes de solos predominantes na área são Latossolo Vermelho e Nitossolo Bruno, correspondendo a 43,2% (229,62 km²) e 53,3% (283,01 km²) da área total, respectivamente (Figura 14). Estas classes predominam na porção norte da bacia devido à maior altitude.

Figura 14 – Mapa pedológico simplificado da área monitorada na bacia do Rio Guaporé, RS



Fonte: Autor.

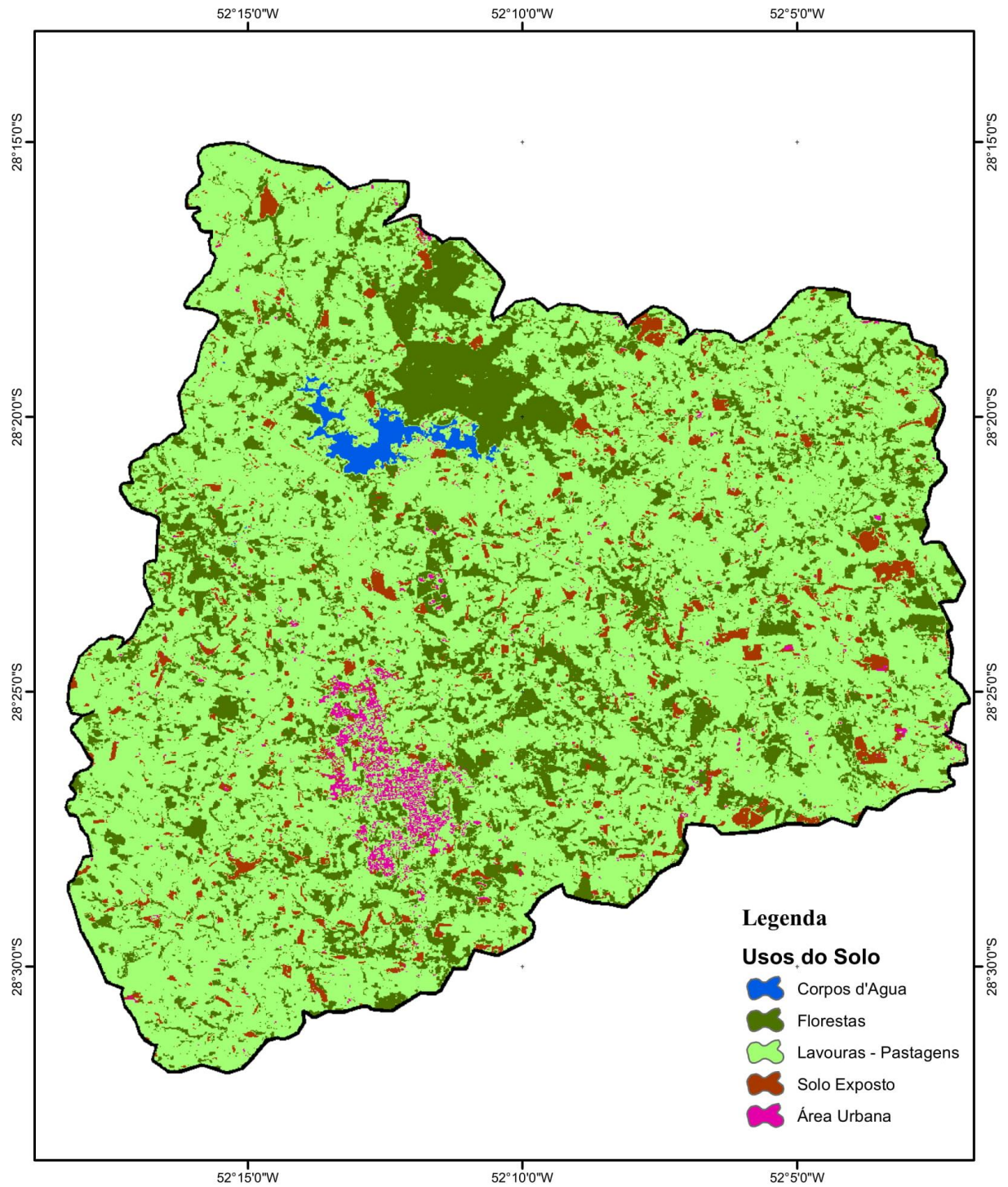
5.6 USO DA TERRA

Quanto ao uso da terra, o terço superior da BHRG é caracterizado pelo predomínio do sistema de produção de grãos de sequeiro, com destaque para a soja [*Glycine max* (L.) Merrill] e, em menor proporção, o cultivo de milho (*Zea mays*, L.), no período de primavera-verão e trigo (*Triticum aestivum* L.) durante o inverno, sob sistema de plantio direto. Os cultivos de grãos são comumente estabelecidos nessa porção pois as áreas apresentam relevo suave ondulado, com solos profundos. Além da agricultura, outros usos da terra estão presentes como criação de suínos e aves, gado leiteiro, agroindústrias e cidades (TIECHER, 2015; ZAFAR, 2015) (Tabela 2). Assim, essa bacia é representativa do tipo de impacto que as atividades agrícolas e de criação de animais podem ter nos cursos d'água do RS. O uso da área em monitoramento é composto por: 66,80% de lavouras e pastagens; 22,38% de florestas; 5,21% de solo exposto; 4,80% de áreas urbanas; 0,81% de corpos d'água (Figura 15).

A sub-bacia do Rio Capingui caracteriza-se pelo sistema de produção de grãos com uso intensivo de fertilizantes e agrotóxicos, principalmente com as monoculturas de soja e de milho (CASTRO LIMA, 2017). Porém, engloba também área de preservação permanente representada pela FLONA – Passo Fundo. Já a sub-bacia do Arroio Marau (BHAM) destaca-se pelo sistema integrado de criação de frangos e suínos e também pela agricultura. Nessa região, as aplicações dos dejetos animais (bovinos, aves e suínos) nas lavouras são frequentes e ocorrem em maior volume no entorno das áreas de criação. A sub-bacia recebe os efluentes oriundos de algumas cidades, sendo que a maior delas é Marau, a qual não possui nenhuma estação de tratamento de esgoto.

Delimitou-se a área de contribuição para cada ponto de amostragem utilizando o modelo digital de elevação obtido pelo processamento digital de imagens de radar SRTM, com resolução de 30 metros. As características de cada área de captação incluindo uso da terra com floresta e lavouras e declividade estão descritas na Tabela 2 (CASTRO LIMA, 2017). A Figura 16 exibe imagens digitais das áreas de captação amostradas na BHRC e na BHAM.

Figura 15 – Mapa de uso da terra da área monitorada na bacia do Rio Guaporé, RS, Brasil



Fonte da Imagem: Lansat-8, sensor OLI.

Órbita/Ponto: 222/080

Data da Imagem: 14 de Agosto de 2016

Datum: Sirgas 2000

Elaboração: ALVES, Eduardo.A ; FERNANDES, Gracieli



Fonte: Autor.

Tabela 2 – Descrição dos locais de amostragem na bacia hidrográfica do Rio Guaporé, RS

Pontos	Curso d'água	Sub-Bacia	Latitude	Longitude	Altitude	Área de captação	Uso da Terra		Declividade					
							Floresta	Lavouras	0-3	3-12	12-20	20-45	>45	
					m	km ²	----- % -----							
C1	Córrego João de Barro	Rio Capingui	28°19'07.8''	52°11'09.9''	649	1,3	100	0	5	49	35	12	0	
C2	Rio Capingui	Rio Capingui	28°21'24.7''	52°12'52''	604	123,2	28	64	10	60	22	8	0	
C3	Rio Capingui	Rio Capingui	28°27'56''	52°16'29.5''	485	201,4	24	69	9	59	23	9	0	
C4	Rio Capingui	Rio Capingui	28°30'10''	52°15'22.4''	464	267,1	23	71	8	58	23	10	0	
M1	Arroio Cestiado	Arroio Marau	28°25'18.7''	52°11'24.8''	546	13,4	22	72	6	56	25	13	0	
M2	Arroio Marau	Arroio Marau	28°26'05.8''	52°10'18.5''	522	165,0	20	74	7	60	23	9	0	
M3	Arroio Marau	Arroio Marau	28°28'50''	52°11'49.9''	495	226,6	21	72	6	57	24	12	1	
M4	Arroio Marau	Arroio Marau	28°30'57''	52°14'38.7''	457	256,4	22	72	6	56	24	13	1	
G1	Rio Guaporé	Rio Guaporé	28°31'15.4''	52°15'13.1''	455	541,7	22	70	7	57	24	11	1	

Fonte: (CASTRO LIMA, 2017).

Figura 16 – Imagens das áreas de captação da sub-bacia do Rio Capingui (a esquerda) e da sub-bacia do Arroio Marau (a direita), na bacia hidrográfica do Rio Guaporé, RS, Brasil



Fonte: Autor.

6 APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS

A caracterização dos biofilmes epilíticos ocorrentes na BHRG foi realizada a partir de análises da fração orgânica: carbono orgânico total (COT) e nitrogênio total (NT); IV com Refletância Total Atenuada (ATR); pirólise acoplada a cromatografia gasosa e espectroscopia de massas (PI-CG/EM) e ressonância magnética nuclear (RMN), e da fração inorgânica: teores pseudo-total e total dos elementos por espectroscopia de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES); granulometria e difração de raios-X (DRX). As amostragens foram realizadas no outono (maio de 2016) e na primavera (novembro de 2016), porém as análises de PI-CG/EM, RMN e DRX foram realizadas apenas nos biofilmes coletados no outono. Para a amostragem optou-se por pontos na bacia do Rio Guaporé que já estavam sendo monitorados nas pesquisas de Castro Lima (2017) e Bastos (2017), visando utilizar seus resultados como subsídio para futuras interpretações.

Diante do exposto, este trabalho encontra-se subdivido em dois estudos, os quais apresentam continuidade e relação entre os resultados encontrados:

1. Caracterização da composição orgânica de biofilmes epilíticos da bacia hidrográfica do Rio Guaporé.

2. Caracterização da composição mineral de biofilmes epilíticos da bacia hidrográfica do Rio Guaporé.

Nos estudos são utilizadas as variáveis ambientais e da paisagem, os parâmetros físico-químicos da água determinados nos locais de amostragem e em laboratório e as informações referentes à quantidade de pedras escovadas a fim de melhor analisar e interpretar os resultados. Finalmente, tem-se a conclusão geral sobre a composição de biofilmes epilíticos encontrados em ambientes submetidos a diferentes pressões antrópicas.

6.1 CARACTERIZAÇÃO DA COMPOSIÇÃO ORGÂNICA DE BIOFILMES EPILÍTICOS DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO GUAPORÉ

6.1.1 Introdução

Grande quantidade de contaminantes químicos orgânicos (ex.: agrotóxicos, medicamentos, hidrocarbonetos) e inorgânicos (ex.: elementos químicos), e contaminantes físicos (ex.: lixos) resultantes das atividades antrópicas (no meio urbano e rural) e de ações naturais como as chuvas e o escoamento superficial são descarregados nos corpos hídricos, contribuindo para a degradação da qualidade da água (BHUYAN et al., 2017). Assim, a intensificação das atividades humanas expõe continuamente os recursos hídricos a diferentes fontes de contaminação e pode induzir alterações na estrutura dos indivíduos presentes nas comunidades aquáticas que se desenvolvem nesses locais (SABATER et al., 2007; SCHNEIDER; LINDSTROM, 2011). Nos ambientes contaminados, os organismos colonizadores são os primeiros a entrarem em contato com os contaminantes e podem apresentar sinais iniciais de mudanças face às alterações do meio ambiente (SABATER et al., 2007).

Entre os organismos colonizadores, os biofilmes são comunidades de microrganismos compostas primariamente por células microbianas (principalmente bactérias, mas também por fungos, protozoários e algas), substâncias poliméricas extracelulares (EPS) e materiais inorgânicos (FLEMMING; NEU; WOZNIAK, 2007). Nos ambientes aquáticos, esses organismos crescem em associação e se fixam sob superfícies através das EPS. Quando essas colônias são formadas sob rochas submersas os biofilmes são denominados epilíticos (FLEMMING; NEU; WOZNIAK, 2007; LAURENT, 2013).

A estrutura do biofilme permanece unida através da matriz de EPS, que inclui polissacarídeos, proteínas, ácidos nucleicos, fosfolipídios e substâncias húmicas (FLEMMING; WINGENDER, 2010). As EPS podem representar 50 a 90% do carbono orgânico total (COT) presente nos biofilmes (FLEMMING; NEU; WOZNIAK, 2007). Essa matriz é responsável por conferir propriedades adesivas ao biofilme que permitem sua fixação nas superfícies e lhe confere estabilidade mecânica (WUERTZ; OKABE; HAUSNER, 2004). A heterogeneidade dos biofilmes e os processos metabólicos dos vários microrganismos constituintes dessas comunidades resultam em microzonas físico-químicas com gradientes de substratos e produtos metabólicos (STEWART; FRANKLIN, 2008). Nesse sentido, vários componentes do biofilme

(bactérias, EPS, compostos orgânicos e minerais) podem interagir com compostos químicos contidos na água (JULIEN et al., 2014).

A interação entre o biofilme e a água, com ênfase na adsorção e retenção de contaminantes e nutrientes na ‘matriz biofilme’ ocorre devido à presença de diversos grupos funcionais ativos, encontrados principalmente nas EPS (WEI et al., 2011). A determinação da estrutura molecular orgânica desses grupos funcionais pode ser realizada a partir de várias técnicas, dentre elas: (i) espectrometria de massas (EM); (ii) infravermelho (IV) e (iii) ressonância magnética nuclear (RMN). Pirocromatogramas obtidos a partir da pirólise acoplada a cromatografia gasosa (PI-CG/EM) podem indicar as distribuições médias de biopolímeros nos biofilmes (JULIEN et al., 2014). O estudo realizado em biofilmes de estações de tratamento de águas residuais da França, obteve distribuição de 33 a 38% de proteínas (características da atividade microbiana) e 30 a 37% de polissacarídeos (que confirmam a produção de EPS pelos biofilmes) (LAURENT, 2013). Proteínas, polissacarídeos e em menor quantidade, ácidos nucleicos são os componentes presentes em maior quantidade nos biofilmes, indicando que a formação de biofilmes está associada com a produção de EPS (ZHANG et al., 2015). Cabe ressaltar que existem diferentes composições macromoleculares nos biofilmes expostos à diferentes condições nutricionais (LIN et al., 2014), ou seja, ambientes com diferentes pressões antrópicas e usos do solo.

A aplicação da técnica de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) em biofilmes coletados em soluções de minas de drenagem ácida da Califórnia demonstrou a presença de polissacarídeos e ácidos nucleicos (carboidratos, DNA e RNA, na região de 1300 a 900 cm^{-1}), bem como de proteínas (1700 a 1500 cm^{-1}) e lipídios (2930 a 2860 cm^{-1}) (JIAO et al., 2010). Com o IV, esses autores verificaram a variabilidade da composição e quantidade de cada componente individual, em diferentes condições analisadas. Já a espectroscopia de RMN ^{13}C forneceu o detalhamento dos tipos e abundância de grupos funcionais associados a presença de diferentes biomacromoléculas.

As duas primeiras técnicas complementam a RMN na medida em que permitem a determinação direta da presença ou ausência de grupos funcionais e suas ligações características, bem como de sua disposição na estrutura geral. Dessa forma, a espectrometria de RMN não substitui nenhuma das outras técnicas, mas fornece um “mapa” do esqueleto das ligações C-H de uma molécula orgânica. Juntos, os três métodos possibilitam a determinação das estruturas de moléculas complexas (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2006).

Nas bacias hidrográficas, a variabilidade do habitat aquático pode, em parte, exercer controle sobre os processos ecológicos. Assim, as bacias são compostas por pequenas áreas

geográficas com diferentes vulnerabilidades químicas, físicas e/ou biológicas e, portanto, diferentes tolerâncias à pressão (LAURENT, 2013). Além disso, a tolerância e a resiliência dos ecossistemas aquáticos ao uso antrópico dependem de uma variedade de fatores espaciais e temporais (ex.: uso do solo, dose de poluente, tempo de exposição, tipo de espécie e sensibilidade, clima). Nesse sentido, a bacia hidrográfica do rio Guaporé (BHRG) é representativa do modelo agropecuário da região Sul do Brasil, com múltiplos usos do solo, principalmente lavouras com cultivo de milho, soja, trigo e pastagens e, criação de bovinos, suínos e aves. Essa condição faz com que 90% dos sedimentos em suspensão (parte dos quais podem ser retidos nas comunidades epilíticas) tenham suas origens nas áreas de lavouras (TIECHER, 2015), além de representar uma elevada taxa de escoamento de água (31% - DIDONÉ et al., 2014) e estar entremeada por várias pequenas aglomerações urbanas, cujas águas servidas não são tratadas (BASTOS et al., 2018).

Mundialmente, a pesquisa sobre a composição química dos biofilmes está principalmente direcionada a sistemas experimentais controlados. Trabalhos que reportam a caracterização de biofilmes são escassos, dificilmente utilizam biofilmes epilíticos no seu ambiente natural e/ou não aprofundam a investigação sobre sua constituição química. No Brasil estudos com ênfase na caracterização de biofilmes epilíticos naturais oriundos de bacias hidrográficas rurais jamais foram realizados. Nesse sentido, o objetivo do presente trabalho foi conhecer a composição química orgânica e as propriedades dos grupos funcionais presentes nos biofilmes epilíticos e responsáveis pela adsorção de poluentes e, relacioná-los com os usos do solo na região norte da BHRG.

6.1.2 Material e Métodos

6.1.2.1 Amostragem

A coleta de amostras de biofilmes epilíticos na rede fluvial do Rio Guaporé foi realizada no outono de 2016 entre os dias 26, 27 e 28 de maio e na primavera de 2016 entre os dias 12, 13 e 14 de novembro. Foram selecionados nove pontos distribuídos ao longo da sub-bacia hidrográfica do Rio Capingui (BHRC: C1, C2, C3 e C4), da sub-bacia hidrográfica do Arroio Marau (BHAM: M1, M2, M3 e M4) e no curso principal da BHRG (G1), após a confluência das duas sub-bacias. Segue a descrição de cada ponto conforme Castro Lima (2017) e sua localização na Figura 17, bem como as imagens dos locais de coleta (Figura 18).

- C1 - FLONA: ponto localizado na Floresta Nacional de Passo Fundo – FLONA, que é uma Unidade Federal de Conservação com 1300 hectares, criada na década de 1940, incluindo 450 hectares de floresta nativa pertencente ao bioma Mata Atlântica. Este ponto foi considerado como amostra de controle do experimento devido à baixa ação antrópica nessa área. Porém, cabe ressaltar que as águas de outros rios (Tingatu, Cachoeirinha, Capingui e Rio Branco) possuem influência direta sobre a FLONA. Este local de amostragem está situado no Córrego João de Barro, classificado como rio de 1ª ordem afluente do Rio Capingui. O ponto possui uma área de captação de 1,3 km², sendo que a mesma é recoberta por Araucárias (*Araucaria angustifolia* Kuntze), Eucalipto (*Eucalyptus* sp), Pinus (*Pinus elliotti* Engelm), Floresta Ombrófila e Mista. Apesar da não existência de lavouras nessa área, estradas não pavimentadas perpassam a área de captação, conectando as áreas de lavoura do entorno da FLONA com o Córrego João de Barro. Esse fato possibilita a contaminação das águas com agrotóxicos (CASTRO LIMA, 2017) e medicamentos veterinários (BASTOS, 2017).
- C2 – BARRAGEM CAPINGUI: ponto localizado 600 m a jusante do vertedouro da barragem do Rio Capingui. O ponto possui área de captação de 123 km² e o barramento limita o fluxo de água e sedimento em aproximadamente 95% da área antes de fluir para o ponto C2. A mata ciliar é restrita entre 15 e 60 m de largura, sendo margeada pelas lavouras manejadas em sistema plantio direto (SPD). As lavouras de soja e de milho na primavera/verão e da aveia e do trigo no outono/inverno ocupam 64% da área. Nessa região o criatório de aves e suínos é inexpressivo, porém tem-se a presença dos bovinos, embora de forma limitada. As estradas presentes nessa região canalizam o escoamento superficial diretamente para a rede fluvial. Atualmente, a barragem do Capingui é usada apenas para recreação e apresenta crescente aumento da ocupação humana no seu entorno, sem rede de coleta de resíduos, resultando em liberação de águas residuais diretamente na barragem.
- C3 - AGRICULTURA: compreende o segundo ponto amostrado no Rio Capingui e está situado a 17 km da barragem do Rio Capingui. A bacia de captação desse ponto corresponde a 201 km². Ao longo desse rio a mata ciliar possui comprimento de 15 m nas duas margens, sendo que não é possível visualizar zonas de amortecimento nas linhas de drenagem. As lavouras ocupam 69% da área e são manejadas em SPD com soja/milho na primavera/verão e aveia/trigo no outono/inverno. Nessa região, o cultivo do milho é mais acentuado do que nos demais pontos do Rio Capingui. Além

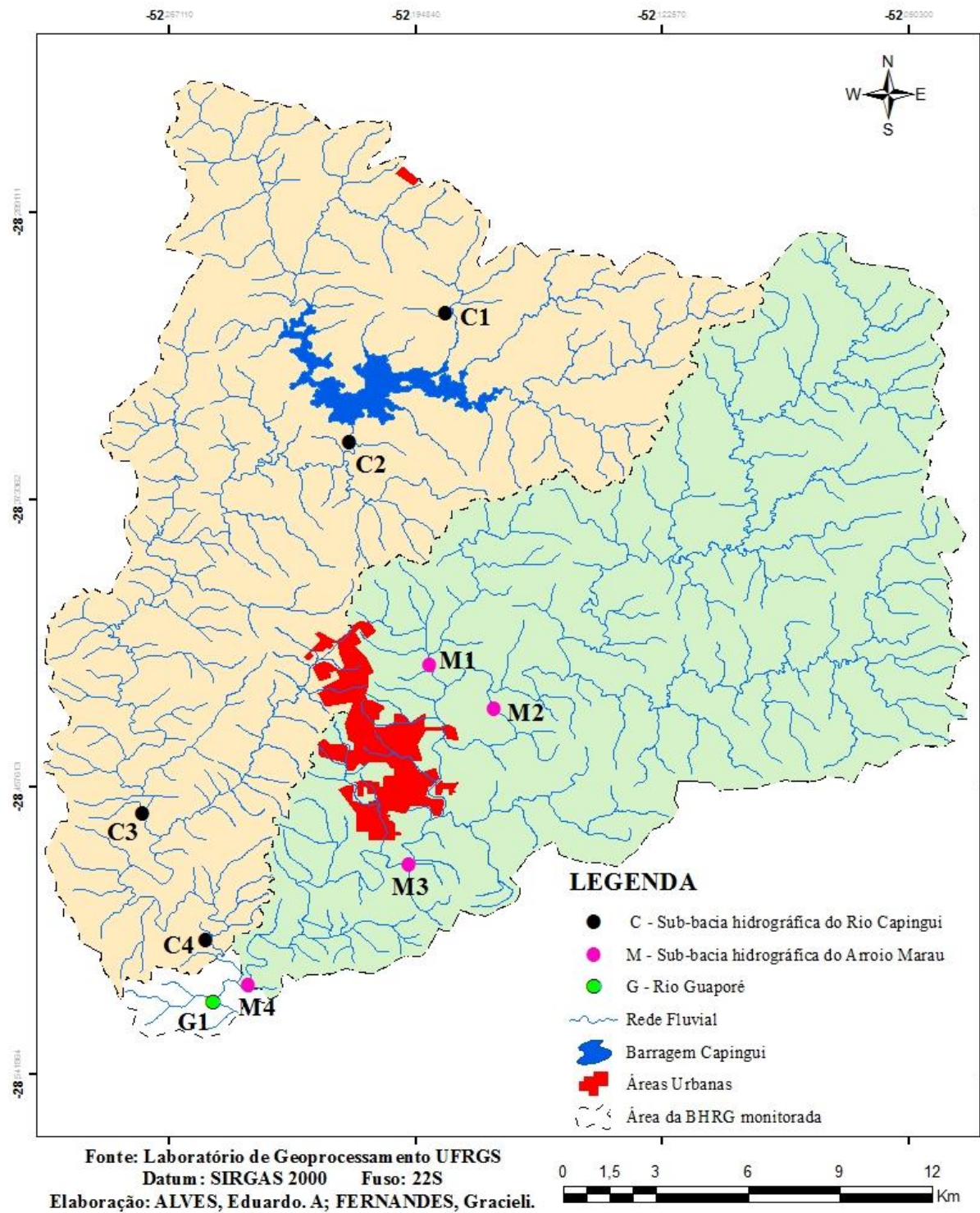
disso, destaca-se a criação de aves e suínos em sistemas integrados e a criação de bovinos. Neste ponto, observa-se ampla rede de sistemas de drenagem das áreas de várzeas e a presença de processos erosivos em sulcos, canalizando as águas e sedimentos para o Rio Capingui e seus afluentes.

- C4 - EXUTÓRIO CAPINGUI: ponto localizado no exutório do Rio Capingui, situado a 26 km da barragem e integrando área de 267 km². As lavouras ocupam 71% da área e a mata ciliar mantém-se restrita a 15 m de comprimento. O sistema de cultivo é semelhante ao do ponto C3, porém os sistemas de drenagem são menos perceptíveis. A criação animal possui menor expressividade que o ponto C3 e está voltada para a avicultura e a bovinocultura.
- M1 – MONTANTE MARAU ANIMAL: ponto situado à montante do perímetro urbano do município de Marau no Arroio Cestiado, afluente da margem oeste do Arroio Marau. Esse ponto tem 13,4 km² de área de captação, sendo que a distância entre o rio e as lavouras é restrita à presença de 15 m de mata ciliar em ambas as margens. A produção da soja e do milho é realizada na primavera/verão em SPD e em sucessão no outono/inverno é realizado o plantio da aveia/azevém para formação de pastagem para os bovinos leiteiros. A atividade agropecuária é desenvolvida em 72% da área, sendo que os sistemas de criação estão voltados para a produção de bovinos leiteiros, suínos e criação de aves em sistema integrado.
- M2 – MONTANTE MARAU GRÃOS: ponto situado à montante do perímetro urbano do município de Marau no Arroio Marau, a montante 3,5 km da confluência com Arroio Cestiado, com área de drenagem de 165 km². A mata ciliar está presente nas duas margens, porém em sua maioria não ultrapassa os 15 m de largura. Dentre as atividades agropecuárias destacam-se a criação de aves, a suinocultura e a bovinocultura, o cultivo em SPD da soja e do milho na primavera/verão e da aveia/azevém no outono/inverno. O cultivo da aveia destina-se ao pastejo e, além disso, destacam-se áreas com o plantio de milho para produção de grãos e silagem. Localizado a 3 km deste ponto está o sistema de captação de água, operado pela Corsan, para o abastecimento de 41.059 habitantes (IBGE, 2017) da cidade de Marau. Deste arroio são bombeados até 300 L/s para a estação de tratamento do tipo convencional.
- M3 – CIDADE DE MARAU: ponto localizado no Arroio Marau a 10 km do ponto M2, a jusante da área urbana de Marau, totalizando 227 km² de área drenada. Esse

ponto destaca-se por receber o lançamento dos efluentes industriais, pluviais e cloacais da cidade, a qual não possui sistema de tratamento de esgoto, resultando no aumento da poluição do rio decorrente da área urbana. O mesmo ocorre com as descargas oriundas das atividades agropecuárias das áreas localizadas na margem leste e ao norte. Essas atividades agropecuárias se assemelham àquelas representativas do ponto M2.

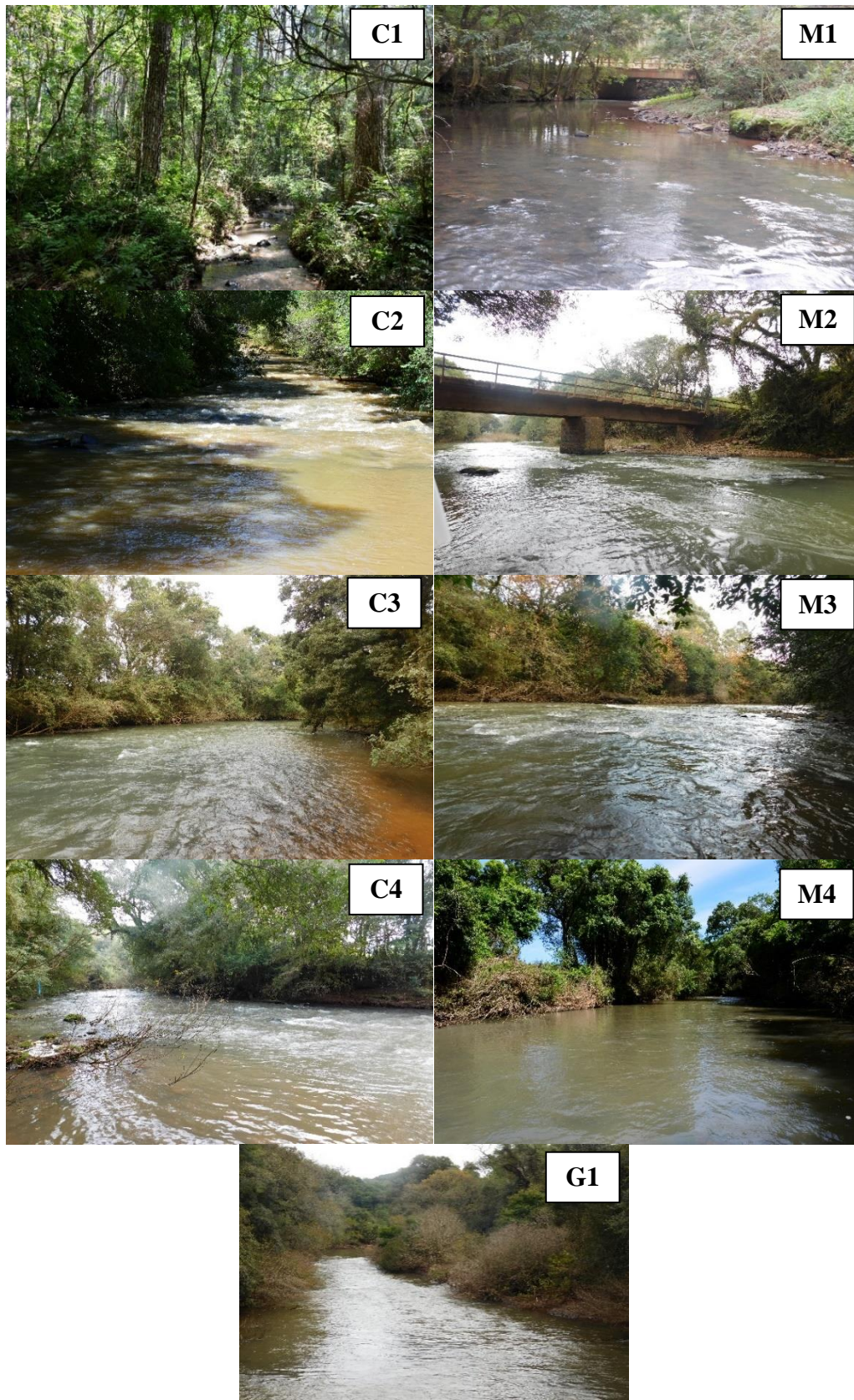
- M4 – EXUTÓRIO MARAU: ponto localizado no Arroio Marau, a 0,9 km da confluência com o rio Capingui e a 14 km da cidade de Marau. Compreende o exutório dessa bacia hidrográfica e drena 256 km². Às margens deste ponto existem áreas de soja e de milho cultivadas em SPD na primavera /verão, e áreas de aveia no inverno. As principais atividades agrícolas são a criação de gado leiteiro e a criação de aves em sistema integrado.
- G1 - CONFLUÊNCIA: ponto monitorado no Rio Guaporé a 1,2 km a jusante da confluência das sub-bacias do Rio Capingui e do Arroio Marau. Essa área integra as pressões antrópicas das duas sub-bacias hidrográficas, totalizando 542 km². Nas suas margens os sistemas de cultivo e de criatórios são semelhantes àqueles dos pontos C4 e M3, sendo que a área de mata ciliar se mantém com largura de 15 m.

Figura 17 – Mapa de localização dos pontos de amostragem na sub-bacia do Rio Capingui e sub-bacia do Arroio Marau situados na bacia do Rio Guaporé, RS



Fonte: Autor.

Figura 18 – Pontos de amostragem de biofilmes na sub-bacia do Capingui (C1, C2, C3, C4), na sub-bacia do Arroio Marau (M1, M2, M3, M4) e no curso principal da bacia (G1)



A amostragem consistiu na coleta e escovação manual do material aderido à fragmentos de rochas submersas, com auxílio de escovas de cerdas de nylon e 0,5 L de água deionizada (Figura 19) (AUBERTHEAU et al., 2017; CHONOVA et al., 2017; BASTOS et al., 2018). Em seguida, o material extraído foi envasado em recipientes de vidro, armazenado em caixas térmicas com gelo e transportado ao laboratório.

Figura 19 – Imagens da etapa de amostragem de biofilmes epilíticos na bacia hidrográfica do Rio Guaporé, RS, Brasil



Fonte: Autor.

Os parâmetros pH, oxigênio dissolvido (OD) e temperatura da água foram obtidos nos locais de coleta através do equipamento Multiparameter Meter HI 9829. A velocidade e a profundidade da água foram determinadas utilizando-se um medidor de fluxo de água Flow Probe. Além disso, contabilizou-se a quantidade de rochas escovadas em cada ponto de coleta e a área total dessas rochas (m^2), envolvendo-as com papel alumínio e, medindo-se posteriormente a área do papel alumínio usado para esse fim, conforme Tabela 3. A partir desses dados, calculou-se a densidade de biofilmes sobre as rochas.

6.1.2.2 Procedimentos analíticos

No Laboratório de Análise de Águas Rurais da Universidade Federal de Santa Maria, as amostras de biofilmes epilíticos foram transferidas para recipientes de poliestireno de alta densidade, armazenadas à -80°C e liofilizadas a -40°C (visando cessar a atividade microbiana e evitar degradação de moléculas orgânicas). Após liofilização, os biofilmes foram processados com o objetivo de retirar eventuais impurezas (ex.: folhas, galho, invertebrados) e homogeneizadas em grau de ágata a fim de obter uma amostra representativa.

Tabela 3 – Quantidade de rochas, área por pedra e área total de rochas escovadas para extração dos biofilmes epilíticos nos diferentes pontos de monitoramento dos cursos d'água na bacia hidrográfica do Rio Guaporé, RS

Pontos de Coleta	Quantidade de rochas		Área por pedra (m ²)		Área total (m ²)	
	Out.	Prim.	Out.	Prim.	Out.	Prim.
C1	28	33	0,08	0,08	2,10	2,55
C2	31	32	0,06	0,04	1,71	1,37
C3	49	45	0,05	0,11	2,49	4,77
C4	40	55	0,06	0,09	2,56	4,72
M1	40	96	0,09	0,07	3,44	6,52
M2	70	100	0,05	0,08	3,70	7,57
M3	15	33	0,11	0,12	1,66	3,87
M4	22	33	0,08	0,11	1,73	3,76
G1	23	25	0,07	0,12	1,59	2,94

Fonte: Autor.

6.1.2.2.1 Determinação de carbono orgânico total e nitrogênio total

A quantificação de carbono orgânico total (COT) e nitrogênio total (NT) foi realizada por combustão seca utilizando o analisador elementar modelo FlashEA 1112 (ThermoFinnigan, Milan, Itália), localizado no laboratório de Pesquisa em Biotransformações de Carbono e Nitrogênio (LABCEN), vinculado ao Departamento de Solos da UFSM. A metodologia utilizada foi aquela indicada pelo fabricante.

6.1.2.2.2 Porcentagem de material orgânico

Após prévia secagem dos cadinhos e das amostras de biofilmes em estufa a 105 °C, a porcentagem de material orgânico e material mineral foi determinada através de calcinação de uma massa conhecida de biofilme, em forno mufla a 550 °C durante 2 horas. A perda calculada de massa corresponde à fração orgânica contida na amostra.

6.1.2.2.3 Pirólise acoplada a cromatografia gasosa e espectroscopia de massas

A identificação dos principais compostos orgânicos dos biofilmes foi realizada por PI-CG/EM, apenas nas amostras de biofilme coletadas no outono, para dar suporte à interpretação das demais análises.

As análises foram realizadas na Plataforma Eaux da Université de Poitiers, na França. Cerca de 10 mg de amostra liofilizada e seca foram introduzidas em um pequeno tubo cilíndrico de quartzo em cujas extremidades adicionou-se lã de quartzo. O tubo foi colocado dentro de pirolisador Pyroprobe 2000 (CDS Analytical, Inc., Oxford, USA) equipado com filamento de platina. Em seguida, o filamento foi aquecido rapidamente (rampa de 20 °C ms⁻¹) a alta temperatura (200 a 650 °C, por 10 segundos). A separação e a análise dos produtos da decomposição térmica foram realizadas através de cromatógrafo gasoso (Hewlett-Packard® HP G1800A operando à EI = 70 eV, com varredura de 40 à 450 a.m.u. (unidades de massa atômica) a 1 varredura por segundo). O sistema é equipado com coluna capilar BP 20 (SGE Analytical Science) à base de sílica fundida (30 x 0,25 mm com espessura de filme de 1,0 µm). A temperatura do injetor permaneceu em 280 °C e a temperatura utilizada para o detector foi de 300 °C. O forno foi programado com temperatura inicial de 50 °C e a temperatura foi aumentada até 250 °C com uma rampa de 4 °C min⁻¹, mantida por 2 minutos. O hélio (He) foi utilizado como gás transportador a uma taxa de fluxo constante de 1,0 mL min⁻¹. Os produtos da decomposição térmica (fragmentos pirolíticos) foram identificados depois de examinar a biblioteca espectral de massa do NIST (Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia). Posteriormente, os fragmentos identificados foram agrupados em sete diferentes famílias de biopolímeros: compostos contendo N, polissacarídeos, compostos aromáticos, compostos fenólicos (polihidroxiaromáticos), ácidos graxos, lignina e outros compostos (BRUCHET; ROUSSEAU; MALLEVIALLE, 1990) e suas intensidades permitiram calcular a porcentagem relativa de cada família.

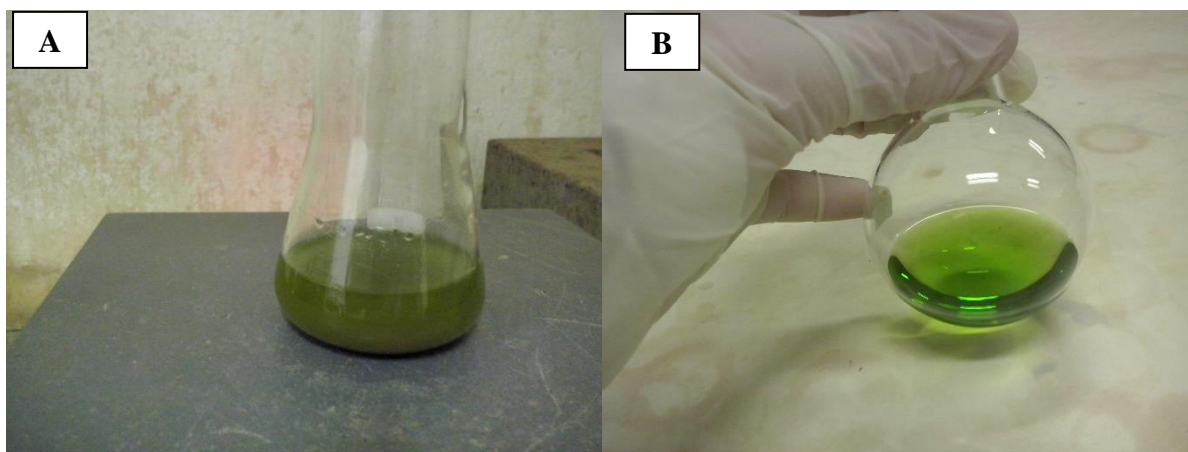
6.1.2.2.4 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Reflexão Total Atenuada

Para as análises de IV utilizou-se um espectrofotômetro Agilent Cary 630 FTIR da Agilent Technologies, com ATR horizontal empregando um cristal de diamante e óptica com janelas de seleneto de zinco (ZnSe). Os espectros foram obtidos na região de 4000 a 650 cm⁻¹, com resolução de 4 cm⁻¹ e 32 varreduras. Antes das leituras de cada amostra mediu-se o espectro de IV chamado “branco” empregando o cristal sem amostra. Posteriormente, cada amostra foi espalhada e compactada sobre a superfície do cristal de diamante do ATR e realizou-se a obtenção do espectro de refletância difusa, que foi convertido para absorbância pelo método de Kubelka-Munk, a partir da análise direta das amostras secas e liofilizadas, à temperatura ambiente. As análises foram realizadas no Laboratório de Materiais Inorgânicos do Departamento de Química da UFSM.

6.1.2.2.5 Ressonância Magnética Nuclear

A extração dos compostos orgânicos dos biofilmes ocorreu a partir de 2 g de amostra e 20 mL de metanol (CH_3OH). Essa solução permaneceu sob agitação por 24 horas e, após esse período procedeu-se a filtragem com papel de filtro qualitativo. Realizou-se três extrações em sequência, sendo que os três extratos obtidos foram acondicionados em balão de fundo redondo (Figura 20). O solvente foi evaporado em rotaevaporador até secagem total.

Figura 20 – Extração dos compostos orgânicos do biofilme com metanol



Fonte: Autor.

A. Amostra sob agitação; B. Extrato obtido após filtração.

Os espectros de RMN de C e H em 2D (HSQC) foram registrados em um espectrômetro BRUKER AVANCE III DPX de 600 MHz localizado no NAPO - UFSM. Foram utilizados tubos de 5 mm, na temperatura de 298 K, clorofórmio deuterado (CDCl_3) como solvente e tetrametilsilano (TMS) como referência interna.

6.1.2.3 Tratamento Estatístico

A análise de componentes principais (ACP) foi utilizada para buscar semelhanças e diferenças entre os pontos amostrados a partir das concentrações de biopolímeros, bem como das absorvâncias e dos números de ondas obtidos nos espectros de IV. Para IV, como resultado da ACP, selecionou-se os comprimentos de onda mais importantes para diferenciar as amostras, ou seja, quanto mais distante de 0 está o comprimento de onda, maior a contribuição dela para

explicar as diferenças entre as amostras. Para a execução dos procedimentos estatísticos e elaboração dos gráficos foi utilizado o programa STATISTICA 7.0.

6.1.3 Resultados e Discussão

A caracterização orgânica dos biofilmes epilíticos da bacia hidrográfica do Rio Guaporé foi realizada a partir da quantificação de carbono orgânico total e nitrogênio total, da determinação da porcentagem de material orgânico e material mineral e da utilização de três técnicas analíticas espectrométricas: pirólise acoplada a cromatografia gasosa e espectroscopia de massas, espectroscopia de infravermelho com reflexão total atenuada e ressonância magnética nuclear 2D. Além disso, foram determinados alguns parâmetros físico-químicos da água nos locais de coleta: profundidade média e velocidade média do rio, valores de pH, temperatura e OD da água. Dessa forma, os dados serão apresentados e discutidos em 4 tópicos: i) Fatores ambientais e desenvolvimento dos biofilmes epilíticos; ii) Distribuição relativa de biopolímeros; iii) Constituintes orgânicos e distribuição dos grupos funcionais e iv) Comparação das técnicas espectrométricas.

6.1.3.1 Fatores ambientais e desenvolvimento dos biofilmes epilíticos

A coluna de água dos locais utilizados para a amostragem das rochas variou de 9 cm (ponto C1 no outono) a 62 cm (ponto C4 na primavera). No curso d'água amostrado dentro da FLONA e naquele na montante Marau Animal (M1) este parâmetro apresenta tamanho inferior aos demais pontos amostrados e, em períodos de estiagem, não ultrapassam 20 a 30 cm de altura (Tabela 4). Nesses dois locais, a amostragem das rochas para posterior escovação foi realizada no ponto central dos rios para que fosse garantida a coleta de rochas que permanecessem constantemente imersas na água.

Tabela 4 – Profundidade média e velocidade média do rio, valores de pH, temperatura e oxigênio dissolvido na água nos diferentes locais de coleta de biofilmes epilíticos na bacia hidrográfica do Rio Guaporé, RS

Pontos	Profundidade média do rio		Velocidade média do rio		pH médio na água		Temperatura da água		Oxigênio dissolvido na água	
	cm		m s ⁻¹				°C		mg O ₂ L ⁻¹	
	Outono	Primavera	Outono	Primavera	Outono	Primavera	Outono	Primavera	Outono	Primavera
C1	9	14	0,2	0,2	7,10	6,93	13,0	15,5	4,1	4,8
C2	55	48	0,5	0,5	7,05	7,08	14,8	18,0	4,3	5,3
C3	48	29	0,7	0,9	7,20	7,26	14,6	17,3	4,9	5,0
C4	41	62	0,3	0,3	7,30	7,23	14,5	18,3	5,0	4,9
M1	15	18	0,4	0,3	7,08	7,05	14,0	15,5	4,3	4,5
M2	49	44	0,3	0,4	7,15	7,06	13,0	18,2	4,7	4,9
M3	36	31	0,5	0,3	7,19	6,84	13,8	16,3	4,8	4,7
M4	26	30	0,5	0,5	7,05	6,78	14,0	17,5	4,6	4,5
G1	44	37	0,2	0,2	7,40	7,05	14,8	18,8	5,1	4,8

Fonte: Autor.

Nos demais pontos monitorados, a amostragem de biofilmes epilíticos ocorreu em rochas submersas constantemente por coluna d'água variando de 26 a 62 cm de altura. Cabe ressaltar que a escolha dos pontos de amostragem (local onde os biofilmes seriam amostrados dentro do rio) foi realizada na estação de seca. A profundidade de amostragem visou garantir a exposição a luz solar e a realização da fotossíntese pelos microrganismos fototróficos presentes nos biofilmes. A velocidade da água no rio também variou pouco entre os pontos de monitoramento dos biofilmes, com mínima de 0,2 e máxima de 0,9 m s⁻¹ (Tabela 4).

O ponto de amostragem da FLONA está localizado em uma área natural, preservada (Floresta Nacional de Passo Fundo), com baixa ação antrópica atual. No passado, essa área teve seus solos ocupados pela agricultura até 1946 e exploração da madeira até o ano de 1968. No entanto, na década de 70, o local foi transformado em área de preservação caracterizada por ter parte da extensão ocupada por mata nativa e também pela presença de árvores exóticas plantadas pelo homem (SÁ; GERHARDT, 2016). A água do córrego João de Barro - amostrada dentro da FLONA – possuía coluna de água de 9 e 14 cm de profundidade, baixas temperaturas (variando de 13,0 e 15,5 °C) e baixa velocidade (0,2 e 0,2 m s⁻¹), no outono e primavera, respectivamente. O ponto G1 localizado a menos de 1 km da confluência entre o Rio Capingui e o Arroio Marau, apesar do rio ser profundo (44 e 37 cm), possuía águas calmas (0,2 e 0,2 m s⁻¹), o que pode ser comprovado tanto no outono quanto na primavera, respectivamente. As maiores correntezas foram observadas no ponto C3 (Agricultura), no Rio Capingui (0,7 m s⁻¹, no outono e 0,9 m s⁻¹ na primavera), o qual se situa muito próximo das áreas de lavoura, principalmente das culturas de soja e de milho.

Os valores de pH da água variaram de 7,05 nos pontos da barragem Capingui e exutório Marau a 7,40 na confluência, na estação outono. Na primavera, os valores médios de pH da água tenderam a valores inferiores, com variação de 6,78, também no exutório do Arroio Marau a 7,26 no ponto C3 (Agricultura). Valores de pH mais elevados podem estar associados à proliferação de vegetais em geral ou a presença de mata ciliar mais fechada sobre o rio (como observado na confluência), visto que com o aumento da fotossíntese há consumo de gás carbônico, diminuição do ácido carbônico da água e consequente aumento do pH (VON SPERLING, 2005). Além disso, os resíduos oriundos das aplicações de calcário no solo, podem alcançar os recursos hídricos através dos processos erosivos e, aumentar o pH da água. Isso pode influenciar na distribuição dos compostos orgânicos presentes nos biofilmes epilíticos.

A temperatura da água apresentou pouca variação entre os pontos de amostragem. No outono os valores variaram de 13,0 a 14,8 °C e na primavera de 15,5 a 18,8 °C. Sabe-se que a temperatura afeta a formação dos biofilmes epilíticos, na medida em que influencia nas espécies

de microrganismos presentes e nos tipos de compostos por eles produzidos, os quais irão compor as substâncias poliméricas extracelulares (TRAVAGIN, 2010).

Os teores de oxigênio dissolvido (OD) são muito semelhantes entre os pontos e variaram de 4,1 mg O₂ L⁻¹ (FLONA) a 5,1 mg O₂ L⁻¹ (Confluência), no outono e de 4,5 mg O₂ L⁻¹ (Exutório Marau) a 5,3 mg O₂ L⁻¹ (Barragem Capingui) na primavera. O OD é essencial para os organismos aeróbios, visto que durante a estabilização da matéria orgânica, as bactérias fazem uso do oxigênio nos seus processos respiratórios, o que pode ocasionar uma redução da concentração do mesmo no meio (VON SPERLING, 2005). Assim, os níveis de OD podem ter variações sazonais e em curtos períodos de tempo, variando inclusive com a profundidade e velocidade da água. Em rios não poluídos, os teores de OD situam-se entre 8,0 e 12,0 mg O₂ L⁻¹. Porém, valores superiores a 4,0 mg O₂ L⁻¹, como os observados nas águas dos locais de coleta, são considerados adequados para o desenvolvimento dos microrganismos aquáticos.

Os teores de COT variaram de 7,2 a 22,1% e os teores de NT de 1,0 a 4,1% (Tabela 5). Os dados mostram a presença de variação sazonal dos teores de COT e NT nos biofilmes dentro da bacia do Rio Guaporé, visto que as maiores concentrações foram encontradas nos biofilmes amostrados durante o outono. Levando em consideração os fatores ambientais, assim como em alguns estudos de ocorrência de medicamentos em água (LUQUE-ESPINAR et al., 2015; PEREIRA et al., 2015) e biofilmes epilíticos (BASTOS, 2017), as maiores concentrações de COT e NT podem estar relacionadas à não diluição desses compostos em estações secas, com consequente acúmulo nos biofilmes. A variação pode também estar associada a necessidade de proteção dos biofilmes, visto que a temperatura varia mais no outono.

Tabela 5 – Concentrações de COT e NT e relação C/N nos biofilmes da bacia hidrográfica do Rio Guaporé, RS

Amostra	COT (%)		NT (%)		Relação C/N	
	Outono	Primavera	Outono	Primavera	Outono	Primavera
C1	16,5	7,6	2,6	1,1	6,3	6,9
C2	12,6	10,3	1,9	1,5	6,5	6,7
C3	7,9	7,2	1,4	1,0	5,6	7,0
C4	13,8	9,9	2,3	1,7	6,0	5,9
M1	13,9	7,7	2,6	1,3	5,4	6,0
M2	10,2	6,5	1,9	0,9	5,5	7,4
M3	13,7	11,2	2,6	2,0	5,3	5,6
M4	22,1	16,4	4,1	3,0	5,4	5,4
G1	10,6	7,7	1,9	1,1	5,6	6,7

Por outro lado, como os biofilmes estudados foram coletados em ambiente natural e passaram por um processo de escovação para serem retirados das pedras, as diferenças observadas nos teores de COT e NT podem estar relacionadas ao processo de escovação e também à porosidade das rochas. Quanto mais porosa a rocha e maior a intensidade da escovação, maior será a matriz mineral extraída, com redução do teor de matéria orgânica e consequentemente, de COT e NT. A variabilidade no tamanho das pedras entre os pontos também deve ser considerada, visto que influencia a quantidade de biofilme aderente (LAURENT, 2013). Além disso, a ação humana através do uso e manejo do solo e os próprios fatores ambientais podem contribuir para uma maior deposição ou incorporação de sedimentos nos biofilmes epilíticos. A quantidade de sedimentos incorporados aos biofilmes epilíticos (e que altera a quantidade de mineral dentro dos mesmos) está relacionada com a ausência de barreiras mecânicas e ao baixo índice de cobertura do solo para o controle das perdas de nutrientes, junto com sedimentos e água via escoamento superficial, nos períodos de maior intensidade pluviométrica. Soma-se a isso, a maior proximidade e conectividade lateral das áreas de lavoura com a rede fluvial (DIDONÉ et al., 2014; TIECHER et al., 2015; CASTRO LIMA et al., 2017).

Para eliminar a influência da fração mineral dos biofilmes sobre os teores de C e N, determinou-se essas e outras variáveis levando em consideração apenas a fração orgânica (% material orgânico). Assim, a Tabela 6 exibe as porcentagens de material orgânico e minerais, a densidade e a densidade orgânica dos biofilmes escovados, os teores de C e N obtidos a partir do teor de material orgânico, bem como a relação C/N e as quantidades reais de biofilme sobre as rochas, expressas em mg de C por m² e mg de N por m².

A caracterização dos biofilmes indica que a porcentagem de material orgânico variou de 15,55% (Montante Marau Grãos, na primavera) a 37,86% (FLONA, no outono) (Tabela 6). Essa baixa porcentagem de material orgânico indica que os biofilmes epilíticos são compostos principalmente de minerais (62,14% na FLONA, no outono, a 84,45% na Montante Marau Grãos, na primavera). Os teores são coerentes com os encontrados na literatura, uma vez que Laurent (2013) encontrou composição orgânica similar, variando de 20 a 33%, em biofilmes coletados em rochas do Rio Vienne, na França.

Tabela 6 – Porcentagem de minerais e material orgânico, densidade de biofilmes escovados, porcentagens de C e N orgânico e quantidade real de biofilme obtidos na bacia hidrográfica do Rio Guaporé, RS

Pontos de Coleta	Minerais		Material orgânico		Densidade de biofilme		Densidade orgânica		C orgânico		N orgânico		Relação C/N		Quantidade de biofilme	
	-----	%	-----	-----	-----	g m ⁻²	-----	-----	-----	%	-----	-----	-----	-----	mg C m ⁻²	mg N m ⁻²
Outono																
C1	62,14		37,86		2,05		0,78		43,7		7,0		6,3		339,1	54,1
C2	69,76		30,24		2,50		0,76		41,7		6,4		6,5		315,0	48,8
C3	78,03		21,97		1,72		0,38		36,0		6,4		5,6		136,2	24,2
C4	-*		-		1,28		-		-		-		-		-	-
M1	-		-		0,56		-		-		-		-		-	-
M2	-		-		0,68		-		-		-		-		-	-
M3	67,35		32,65		3,04		0,99		42,1		8,0		5,2		418,0	79,6
M4	-		-		1,60		-		-		-		-		-	-
G1	74,45		25,55		3,56		0,91		41,4		7,4		5,6		376,3	66,9
Primavera																
C1	79,85		20,15		2,76		0,56		37,7		5,5		6,9		209,8	30,4
C2	73,65		26,35		2,65		0,70		38,7		5,7		6,8		270,3	39,7
C3	81,23		18,77		0,88		0,17		38,4		5,3		7,2		63,4	8,8
C4	76,25		23,75		0,75		0,18		41,7		7,2		5,8		74,2	12,7
M1	81,42		18,58		0,63		0,12		41,4		7,0		5,9		48,5	8,2
M2	84,45		15,55		0,71		0,11		41,8		5,8		7,2		46,1	6,4
M3	72,66		27,34		0,93		0,25		41,0		7,3		5,6		104,2	18,6
M4	63,19		36,81		0,68		0,25		44,6		8,1		5,5		111,5	20,4
G1	80,93		19,07		1,11		0,21		39,9		5,8		6,9		84,4	12,2

Fonte: Autor.

* Pontos sem apresentação de valores são indicativos de amostra insuficiente.

Ao eliminar a presença do material mineral, as diferenças nas concentrações de C orgânico (36,0 a 43,7% no outono e 37,7 a 44,6% na primavera) e N orgânico (6,4 a 8,0% no outono e 5,3 a 8,1 % na primavera) entre os biofilmes coletados em locais diferentes tornaram-se muito pequenas. Os biofilmes coletados no outono possuem maiores teores de N e, conseqüentemente menor relação C/N, comparativamente àqueles amostrados na primavera. Assim, nos biofilmes, a matéria orgânica contém menos de 50% de C orgânico em todas as amostras e nas duas estações. No solo, essa porcentagem é bem maior, pois considera-se que a matéria orgânica contém cerca de 58% de carbono, em relação à massa total (NELSON; SOMMERS, 1982), sendo que a biomassa microbiana (bactéria, fungos e microfauna) participa com 2 a 5% de C desse percentual (GAMA-RODRIGUES, 1999). As baixas porcentagens de carbono orgânico no biofilme podem ser explicadas pelo fato de que o restante da matéria orgânica é constituído por outros elementos, principalmente N, enxofre (S), P e silício (Si), este último proveniente das diatomáceas.

Os dados mostram ainda, que a densidade orgânica de biofilme sobre as rochas influencia diretamente na quantidade real de biofilme presente, expressa em mg de C por m² e mg de N por m², sendo que as diferenças entre os pontos e entre as estações são expressivas. Percebe-se que nos pontos C1 (FLONA) e C2 (barragem Capingui) o crescimento dos biofilmes é mais estável e constante no tempo, visto que são áreas com menor influência da ação antrópica e com pouca variação no nível do rio, respectivamente, quando comparadas com as demais. Na primavera, as maiores quantidades de biofilme e compostos orgânicos estão nesses ambientes (209,8 e 270,3 mg C m⁻²; 30,4 e 39,7 mg N m⁻², nos pontos C1 e C2, respectivamente), visto que apresentam condições mais adequadas (presença da mata ciliar, pouca interferência antrópica, pouca variação no nível do rio) para o desenvolvimento das comunidades de microrganismos. Segundo o Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (2011), a FLONA é ambientalmente protegida, sendo que um dos seus principais objetivos é a proteção das fontes de água e de outros recursos hídricos. Porém, conforme Sá e Gerhardt (2016), a fragmentação da superfície da FLONA, resultante da impossibilidade de compra de todas as áreas de interesse para a formação de uma zona de proteção eficaz, resultou em dificuldades para o estabelecimento da zona de amortecimento ambiental eficiente, reduzindo a proteção da floresta diante das pressões antrópicas circundantes.

No ponto de agricultura – C3 (63,4 mg C m⁻² e 8,8 mg N m⁻²) e exutório Capingui - C4 (74,2 mg C m⁻² e 12,7 mg N m⁻²), na sub-bacia do Rio Capingui e montante Marau Animal - M1 (48,5 mg C m⁻² e 8,2 mg N m⁻²) e montante Marau Grãos - M2 (46,1 mg C m⁻² e 6,4 mg N m⁻²), na sub-bacia do Arroio Marau, a quantidade de C e N é muito semelhante, porém as rochas

não possuem grande quantidade de biofilme aderido (Tabela 6). Isso ocorreu porque esses pontos representam ambientes antropizados, com desenvolvimento da agricultura intensiva (principalmente soja e milho) e criação de animais. Apesar dos biofilmes possuírem caráter protetor aos microrganismos (CAIXETA et al., 2012), o uso e manejo do solo fragilizam essa proteção e as perturbações ambientais podem refletir na quantidade e na composição dos biofilmes. Essas variações devido à ação antrópica, associadas a maior exposição das rochas ao sol, às mudanças na vazão, às mudanças na disponibilidade de nutrientes, entre outras, não são favoráveis ao desenvolvimento dos biofilmes. Assim, a partir do estabelecimento de comunidades de biofilmes maduros, alterações no volume e na extensão do biofilme são resultantes da interação entre o biofilme e o meio ambiente (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017).

Nos pontos M3 (104,2 mg C m⁻² e 18,6 mg N m⁻²) e M4 (111,5 mg C m⁻² e 20,4 mg N m⁻²), a quantidade de C e N foi levemente superior às áreas agrícolas, devido à entrada de resíduos urbanos. O ponto M3 representa a parte urbana da sub-bacia do Arroio Marau e recebe os efluentes da cidade de Marau, a qual não possui sistema de tratamento de esgoto e, mesmo que no plano diretor da cidade exista a obrigatoriedade da presença de fossas, a prática de esgotos clandestinos é evidente. Isso faz com que parte dos resíduos orgânicos da cidade sejam desaguados nos rios e acumulem nos biofilmes epilíticos, formando camadas mais espessas de biofilme, quando comparadas com os demais locais de amostragem. Este fato também foi observado em outros corpos hídricos localizados dentro da cidade de Marau (os quais não estão incluídos neste estudo). A contaminação dos biofilmes neste ponto pela poluição oriunda da cidade foi discutida por Bastos (2017) e Bastos et al. (2018), onde os autores conseguiram, através do uso de biofilmes, confirmar os efeitos da presença da cidade na qualidade dos organismos presentes nesses mesmos pontos de amostragem (ex.: resistência bacteriana e presença de medicamentos diversos). O ponto G1, que representa a confluência entre as duas sub-bacias monitoradas, devido a mistura das águas dos dois rios, diminui os efeitos da cidade sobre os biofilmes e suas características se assemelham às aquelas de locais relativamente alterados antropicamente (ex: pontos C3 e C4), sendo que a quantidade de biofilme é inferior aos pontos M3 e M4 (84,4 mg C m⁻² e 12,2 mg N m⁻²).

No outono, os pontos C1 e C2 também apresentam grandes quantidades de C e N nos biofilmes aderidos às rochas, sendo superiores às da primavera (339,1 e 315,0 mg C m⁻²; 54,1 e 48,8 mg N m⁻², para os pontos C1 e C2, respectivamente), enfatizando a importância da proteção fornecida pela floresta sobre a qualidade dos cursos hídricos. Os valores de C e N no ponto C3 (136,2 mg C m⁻² e 24,3 mg N m⁻²) novamente indicam que as atividades agrícolas

ocasionam alterações nos biofilmes, reduzindo em 59,8% e 55,1% a quantidade de colônias aderidas, em termos de C e N, respectivamente, e em comparação com a FLONA. Por outro lado, em comparação com a primavera, a quantidade de biofilme no ponto C3 aumentou em 53,5% e 63,6%, em termos de C e N, respectivamente. A semeadura do milho e da soja (> 95% da área cultivada) inicia em setembro, sendo que a aplicação de fertilizantes e de agrotóxicos inicia nesse período ou antes, continuando até a plena floração. Além das doses e frequências agronômicas de aplicações desses insumos serem elevadas, os agricultores usam do “princípio da precaução agronômica” estimulados pelas indústrias de agroquímicos, resultando em quantidades assustadoras de agrotóxicos, de nutrientes e até de medicamentos veterinários. Em consequência, todos esses produtos e seus metabólitos serão transferidos para os rios (GIROTTO et al., 2010; FERNANDES et al., 2017). No final do verão e início do outono as aplicações de produtos químicos se reduzem drasticamente e, conseqüentemente, os biofilmes podem responder de forma diferente no ecossistema aquático. Isso influencia na quantidade de nutrientes, como P (ZAFAR et al., 2016), N, matéria orgânica e contaminantes, tais como agrotóxicos (CASTRO LIMA, 2017) e medicamentos (BASTOS et al., 2018) transportados até os corpos d’água e bioacumulados nos biofilmes epilíticos.

Na cidade de Marau ocorre aumento significativo na densidade orgânica ($0,99 \text{ g m}^{-2}$) e na quantidade de biofilmes ($418,0 \text{ mg C m}^{-2}$ e $79,6 \text{ mg N m}^{-2}$), assim como no ponto G1 ($376,3 \text{ mg C m}^{-2}$ e $66,9 \text{ mg N m}^{-2}$), onde a água é mais estagnada. Esse aumento foi tão grande que ultrapassou os valores encontrados para as áreas naturais. Essas mudanças no ambiente podem ter repercussões na quantidade e no funcionamento de biofilmes e até mesmo nos processos ecossistêmicos (BIER et al., 2015; FAURE; BONIN; DURAN, 2015; ZHANG et al., 2015; BATTIN et al., 2016).

Outro fator de classificação dos biofilmes epilíticos é a coloração. Quanto mais verde a coloração das amostras de biofilmes, por exemplo, maior será a quantidade de algas e mais espessa será a camada de biofilme (SVETLIČIĆ et al., 2013). A Tabela 7 exhibe a identificação das cores dos biofilmes de acordo com o Sistema Munsell de Cores, realizada após liofilização dos biofilmes epilíticos. Praticamente todas as amostras (com exceção da C1 e C3 no outono) apresentam matiz 10YR, diferenciando-se na tonalidade da cor (valor), a qual variou entre 3 e 4, e na saturação da cor (croma), a qual variou de 2 a 4. Dessa forma, a cor das amostras não é um parâmetro adequado para visualização de diferenças entre os biofilmes epilíticos.

Tabela 7 – Identificação das cores dos biofilmes conforme Sistema Munsell de Cores

Pontos de coleta	Outono	Primavera
C1	5Y 4/4	10YR 4/4
C2	10YR 3/3	10YR 4/3
C3	7,5YR 3/2	10YR 4/3
C4	10YR 3/3	10YR 3/2
M1	10YR 4/3	10YR 4/4
M2	10YR 4/4	10YR 4/4
M3	10YR 4/3	10YR 4/3
M4	10YR 3/3	10YR 3/3
G1	10YR 4/4	10YR 3/3

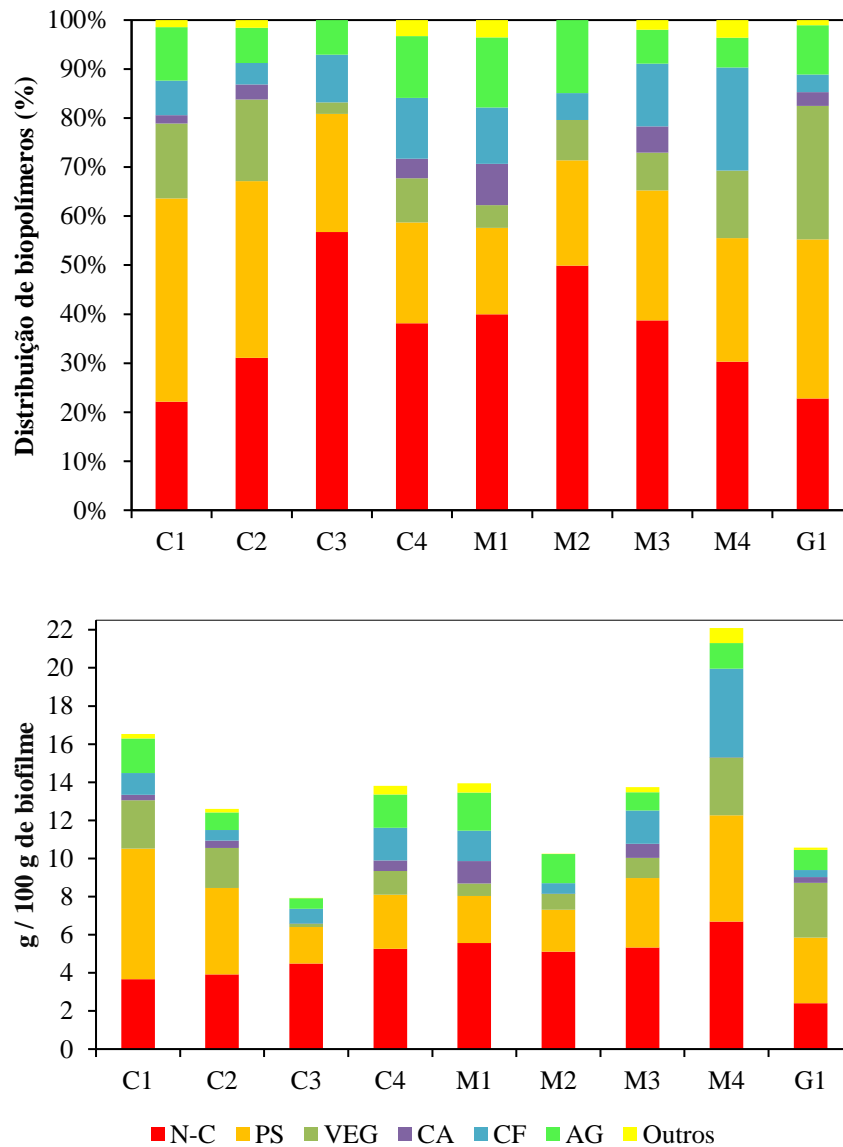
Fonte: Autor.

6.1.3.2 Distribuição relativa de biopolímeros

Os biofilmes podem apresentar diferenças nos seus constituintes orgânicos. Assim, a distribuição de biopolímeros e a massa de C em 100 g de biofilme (Figura 21) foram determinados a fim de verificar essas diferenças e encontrar possível relação entre a composição dos biofilmes e o uso e manejo do solo pela ação antrópica. As diferenças na natureza da matéria orgânica entre as amostras de biofilmes são demonstradas pelas análises de PI-CG/EM, as quais podem fornecer informações úteis sobre a origem dos fragmentos (JULIEN et al., 2014).

As distribuições relativas de biopolímeros variaram bastante ao longo das sub-bacias. Assim, essa distribuição foi composta de 22,13 a 56,77% de compostos contendo N; 17,66 a 41,50% de polissacarídeos; 2,35 a 27,20 de vegetais (compostos contendo lignina); 0 a 8,40% de compostos aromáticos; 3,57 a 21,04% de compostos fenólicos; 6,07 a 14,89% de ácidos graxos (lipídios) e 0 a 3,59% de outros compostos orgânicos (Figura 21). Por outro lado, considerando a distribuição de biopolímeros relativo a massa de carbono em 100 g de biofilme, constata-se que o biofilme amostrado no ponto M4 apresenta as maiores porcentagens de compostos contendo N, vegetais, compostos fenólicos e outros compostos orgânicos.

Figura 21 – Composição orgânica dos biofilmes na BHRG: distribuição relativa de biopolímeros (superior); (b) massa de C em 100 g de biofilme (inferior)



Fonte: Autor.

C-N: compostos contendo N; PS: polissacarídeos; VEG: vegetais; CA: compostos aromáticos; CF: compostos fenólicos; AG: ácidos graxos.

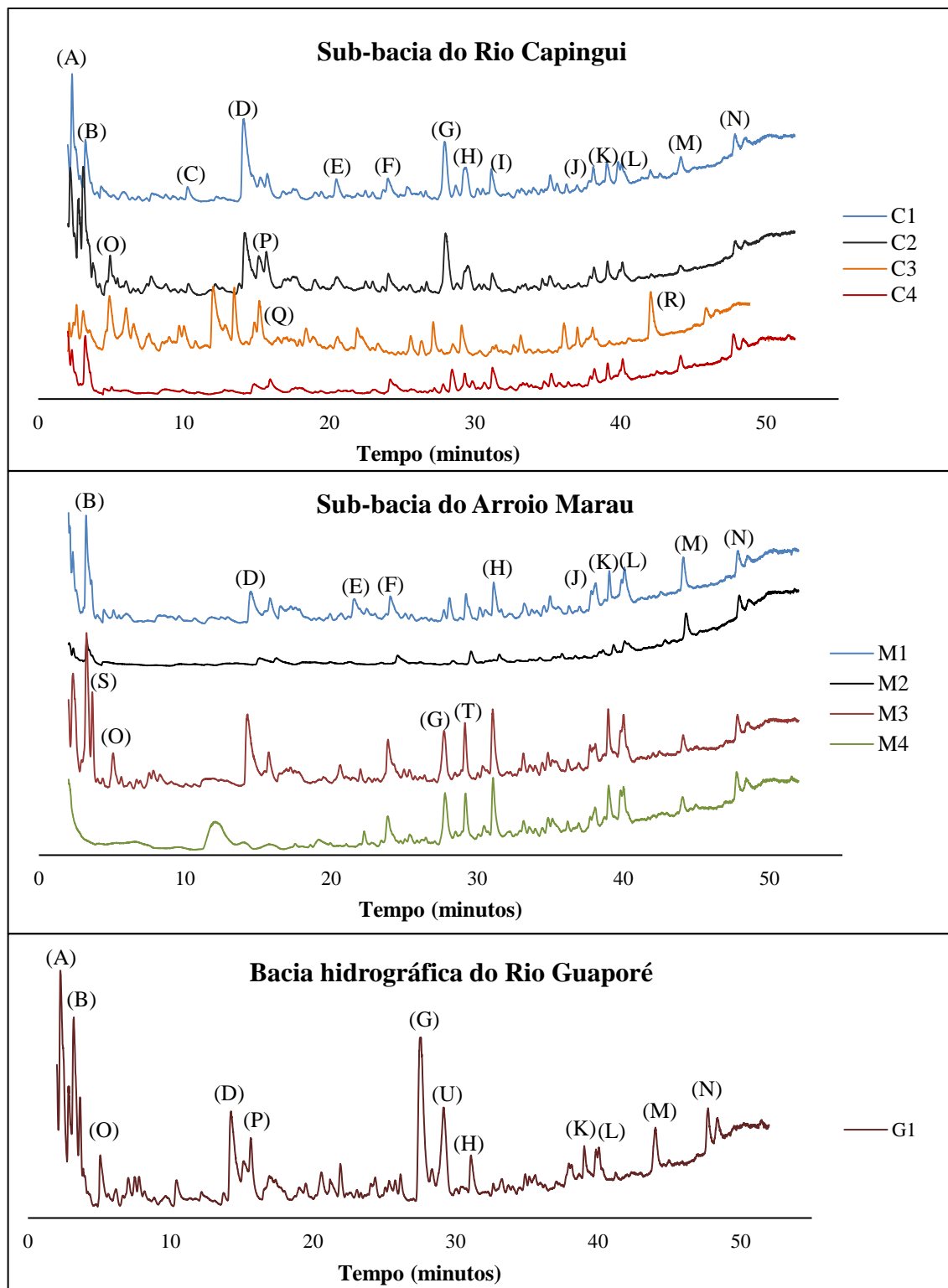
Os pirocromatogramas para as amostras de biofilmes coletadas no outono estão apresentados na Figura 22, com a identificação dos principais fragmentos. Os principais fragmentos identificados foram: (A) 3-metil butanal (PS); (B) Acetonitrila (C-N); (C) 1-hidroxi-2-propanona (PS); (D) ácido acético (PS); (E) ácido hexanóico (AG); (F) acetamida (C-N); (G) fitol (VEG); (H) 4-metil fenol (CF); (I) 4-etil fenol (CF); (J) 3-decen-2-ona (outros); (K) indol (C-N); (L) metil indol (C-N); (M) ácido tetradecanóico (AG); (N) ácido

hexadecanóico (AG); (O) 3-metil-butanonitrila (C-N); (P) pirrol (C-N); (Q) metil-pirrol (C-N); (R) decandinitrila (C-N); (S) tolueno (CA); (T) fenol (CF); (U) fitol (VEG).

Os fragmentos observados confirmam a atividade microbiana nos biofilmes devido à presença de compostos contendo N (LAURENT, 2013; JULIEN et al., 2014), os quais incluem proteínas, heterociclos, DNA, RNA, entre outros (fragmentos B, F, K, L, O, P, Q e R, identificados na Figura 22). Na sub-bacia do Rio Capingui, os fragmentos de 3-metil-butanonitrila (O) e pirrol (P) encontrados na barragem Capingui confirmam a maior porcentagem desses compostos encontrados no local (31,11%), em relação a FLONA (22,13%). Essa porcentagem aumenta ainda mais na Agricultura – C3 (56,77%) com a presença dos fragmentos de metil-pirrol (Q) e decandinitrila (R). Assim, considera-se que a FLONA (área de floresta) possui uma característica de origem, visto que é uma área protegida e, a partir dela tem-se um enriquecimento, um grande aporte de compostos contendo N, o qual decai novamente no exutório Capingui. Nos cursos hídricos, as características químicas da água sempre tendem a voltar à sua característica original. No exutório Capingui existe o efeito da diluição, visto que a área de captação é maior (267,1 km²) em comparação com C3 (201,4 km²). Na sub-bacia do Arroio Marau tem-se o enriquecimento dos compostos contendo N nos dois pontos a montante da cidade de Marau (M1 e M2), cujas concentrações diminuem, sucessivamente, nos pontos M3, M4 e na confluência (G1). Os pontos M1 e M2 são caracterizados pela produção agrícola intensiva com aplicação de grandes quantidades de dejetos orgânicos nos solos. Nessa região, tem-se uma grande produção de dejetos de aves e de bovinos, os quais são mais ricos em N, quando comparados aos dejetos suínos (KONZEN; ALVARENGA, 2017).

Da mesma forma, a alta porcentagem de polissacarídeos confirma a produção de EPS pelos biofilmes (fragmentos A, C e D). Nos pontos C3 (24,08%), C4 (20,59%), M1 (17,67%) e M2 (21,43%) encontrou-se as menores porcentagens de polissacarídeos, contrariamente ao que foi observado para os compostos contendo N. Estes também foram os pontos que apresentaram menor densidade orgânica e menor quantidade real de biofilme aderido às rochas. Estas informações confirmam que os polissacarídeos estão entre os principais constituintes das substâncias poliméricas extracelulares, determinando inclusive o estágio de desenvolvimento dos biofilmes (JIAO et al., 2010) e os responsáveis por determinar a espessura e a “consistência” da camada de biofilme que se desenvolve sobre as rochas. Conforme Jiao et al. (2010), biofilmes mais espessos e em estágio de desenvolvimento mais avançado apresentam comunidade microbiana mais diversificada, influenciando na produção de polissacarídeos.

Figura 22 – PI-CG/EM das amostras de biofilmes da bacia hidrográfica do Rio Guaporé, RS



Fonte: Autor.

Fragmentos: (A) 3-metil butanal (PS); (B) Acetonitrila (C-N); (C) 1-hidroxi-2-propanona (PS); (D) ácido acético (PS); (E) ácido hexanóico (AG); (F) acetamida (C-N); (G) fitol (VEG); (H) 4-metil fenol (CF); (I) 4-etil fenol (CF); (J) 3-decen-2-ona (outros); (K) indol (C-N); (L) metil indol (C-N); (M) ácido tetradecanóico (AG); (N) ácido hexadecanóico (AG); (O) 3-metil-butanonitrila (C-N); (P) pirrol (C-N); (Q) metil-pirrol (C-N); (R) decandinitrila (C-N); (S) tolueno (CA); (T) fenol (CF); (U) fitol (VEG).

Pode-se também inferir que a produção de polissacarídeos pelos biofilmes e consequente formação das EPS está relacionada com a estabilidade e maior proteção fornecida pelo ambiente. Isso porque as áreas mais protegidas e com menor intensidade de uso da terra (pontos C1 e C2 na sub-bacia do Rio Capingui e ponto G1, pelo efeito da diluição) também apresentaram as maiores concentrações de polissacarídeos. Geralmente, as bactérias respondem por condições ambientais severas liberando EPS da superfície celular bacteriana (através das forças de cisalhamento do ambiente natural) (JIAO et al., 2010; COLICA et al., 2014).

Na sub-bacia do Arroio Marau as maiores porcentagens de compostos fenólicos nos pontos M3 e M4 são explicadas pela presença do fragmento T (fenol, conforme Figura 22). Os compostos fenólicos estão relacionados com as atividades urbanas e também agrícolas, visto que sua origem nas águas e, consequente, acúmulo nos biofilmes pode ser atribuída aos dejetos industriais, hidrólise e oxidação fotoquímica dos agrotóxicos organofosforados e degradação microbiana de herbicidas (ARCHELA et al., 2003). O ponto M4, localizado a 14 km da cidade de Marau integra a poluição de ambas as áreas urbanas e rurais (BASTOS, 2017), acumulando pressões decorrentes da presença da cidade de Marau e de muitos outros empreendimentos habitacionais localizados a jusante da bacia hidrográfica (BASTOS et al., 2018).

Os compostos aromáticos se originam igualmente das atividades urbanas. O ponto M3, caracterizado pela presença da cidade de Marau, apresentou a segunda maior concentração desses compostos (5,38%). O ponto M1 apresentou as maiores concentrações (8,41%) desses compostos e, vários fatores podem estar contribuindo para esse fato. Os compostos aromáticos podem chegar até os corpos d'água através de efluentes domésticos e industriais, aporte atmosférico (através da precipitação de partículas e gases originados da queima de combustíveis fósseis e de madeira), síntese por organismos. Alguns organismos como bactérias, algas e fungos podem produzir compostos aromáticos naturalmente, através de processos biogênicos (CATTER et al., 2007; ROCHA et al., 2008; ANDRADE, 2012).

Nos pontos M1 e M2, localizados a montante da cidade de Marau, o fragmento de ácido tetradecanóico (M) tem maior intensidade, justificando a maior porcentagem de lipídios nesses locais (14,30% e 14,89%, respectivamente). Os compostos orgânicos denominados de vegetais referem-se às cadeias vegetais, oriundas da degradação da clorofila. Assim como para polissacarídeos, as maiores concentrações foram encontradas na confluência (G1), na barragem Capingui (C2) e na FLONA (C1), levando a hipótese de que ambientes “mais limpos” favorecem a atividade de microrganismos que degradam esses pigmentos vegetais, os quais são constituídos por lignina. O ponto G1, na bacia do rio Guaporé, apresentou os maiores teores de vegetais, com a presença do fragmento U (fitol). Nesse ponto, que representa a confluência das

duas bacias, apesar de a faixa de mata ciliar ser pequena, as árvores estão bastante inclinadas sobre as águas. Além disso, devido à grande profundidade do rio no local, as coletas foram realizadas na borda do mesmo, o que aumenta a presença de fragmentos vegetais (folhas, resíduos vegetais) e a presença desses fragmentos na água e impregnando os biofilmes.

Dessa forma, a estrutura dos biofilmes epilíticos é similar entre os pontos, consistindo em uma mistura de polissacarídeos, compostos contendo N, lipídios, cadeias vegetais, compostos aromáticos e fenólicos. Isso porque a matriz biofilme é naturalmente (excluindo a interferência humana) composta por biomoléculas, principalmente polissacarídeos, proteínas e lipídios (LAWRENCE et al., 2012). Porém, a composição dessas biomoléculas em termos quantitativos varia, em virtude da variação da “contaminação” com material mineral e, conseqüente variação dos teores de material orgânico. Além disso, existe a influência estabelecida pelo ambiente em que os microrganismos se desenvolvem, bem como pelos fatores físico-químicos e biológicos que estão agindo sobre esse ambiente (RILLIG, 2005; FEENEY et al., 2006; PALLO, LEMÉE; AMBLÈS, 2011).

Os resultados da análise de componentes principais (ACP) (Tabela 8) para a sub-bacia do Rio Capingui e para a sub-bacia do Arroio Marau demonstram que 69,6% da variância explicada pode ser representada com as duas primeiras componentes. A primeira componente explicou 38,5% da variação total, estando mais bem representada pelos compostos vegetais e polissacarídeos e pelos compostos contendo N, no quadrante oposto. A segunda componente explicou 31,0% da variância, estando melhor representada pelos compostos orgânicos com origem em outros biopolímeros.

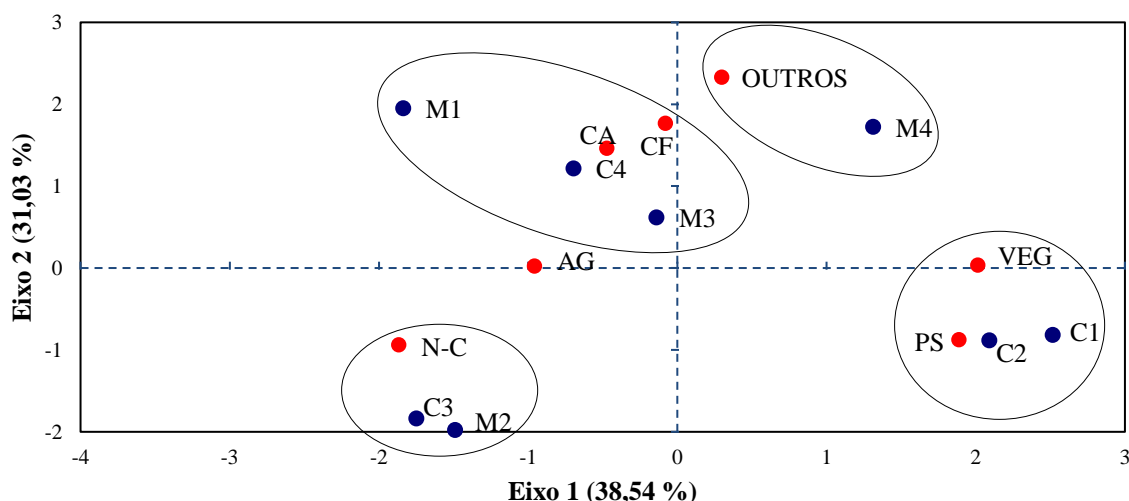
Tabela 8 – Extração de componentes principais para o conjunto de biopolímeros, com as respectivas correlações entre as variáveis e fatores, autovalores e variância acumulada

Biopolímeros	Componente principal 1	Componente principal 2
Compostos contendo N	-0.87	-0.39
Polissacarídeos	0.88	-0.37
Vegetais	0.94	0.01
Compostos aromáticos	-0.22	0.61
Compostos fenólicos	-0.04	0.74
Ácidos graxos	-0.45	0.01
Outros compostos orgânicos	0.14	0.98
Autovalor	2.7	2.2
% da variância total	38.5	31.0
% acumulada	38.5	69.6

Fonte: Autor.

A análise da representação gráfica biplot das variáveis originais e das componentes 1 e 2 (Figura 23) permitiu identificar conjuntos de amostras de biofilmes epilíticos com maior ou menor relação com determinadas classes de biopolímeros. Verifica-se que na FLONA e na barragem do Rio Capingui houve elevada relação com os vegetais e com os polissacarídeos, confirmando as maiores concentrações desses biopolímeros encontradas nos dois pontos. Os compostos vegetais reforçam a presença de lignina e, como esse polímero orgânico é uma forma alterada de polissacarídeo, a relação positiva dos vegetais com os polissacarídeos é normal.

Figura 23 – Relação entre a componente principal 1 (eixo 1) e a componente principal 2 (eixo 2), dos biopolímeros e entre os pontos amostrados na bacia hidrográfica do Rio Guaporé – RS



Fonte: Autor.

Os pontos M2 (montante Marau Grãos) e C3 (agricultura) estão relacionados pois apresentaram as concentrações mais elevadas de compostos contendo N, oriundos dos fertilizantes nitrogenados (ureia e fertilizantes orgânicos) aplicados com maior intensidade no solo desses pontos. O ponto M4 (exutório Marau) está relacionado com as maiores concentrações de compostos orgânicos com origem em biopolímeros não detalhados neste estudo. Verifica-se ainda que a montante Marau Animal (M1), o ponto logo após a cidade de Marau (M3) e o exutório do Rio Capingui (C4) apresentaram relação com os compostos fenólicos e com os compostos aromáticos, visto que nesses pontos foram encontradas as maiores concentrações desses dois biopolímeros.

6.1.3.3 Constituintes orgânicos e distribuição dos grupos funcionais

A espectroscopia na região do infravermelho IV é uma técnica de suma importância na análise orgânica qualitativa, na medida em que possibilita a identificação e elucidação estrutural de substâncias orgânicas. As absorções de cada tipo de ligação (N–H, C–H, O–H, C=O, C–O, C–C, C=C, entre outros) são, em geral, encontradas apenas em determinadas regiões do infravermelho vibracional, sendo que uma pequena faixa de absorção pode ser definida para cada tipo de ligação (BARBOSA, 2007). Nos biofilmes epilíticos, cada tipo de ligação e os diferentes grupos funcionais podem ser identificados por bandas de infravermelho características (Figura 24).

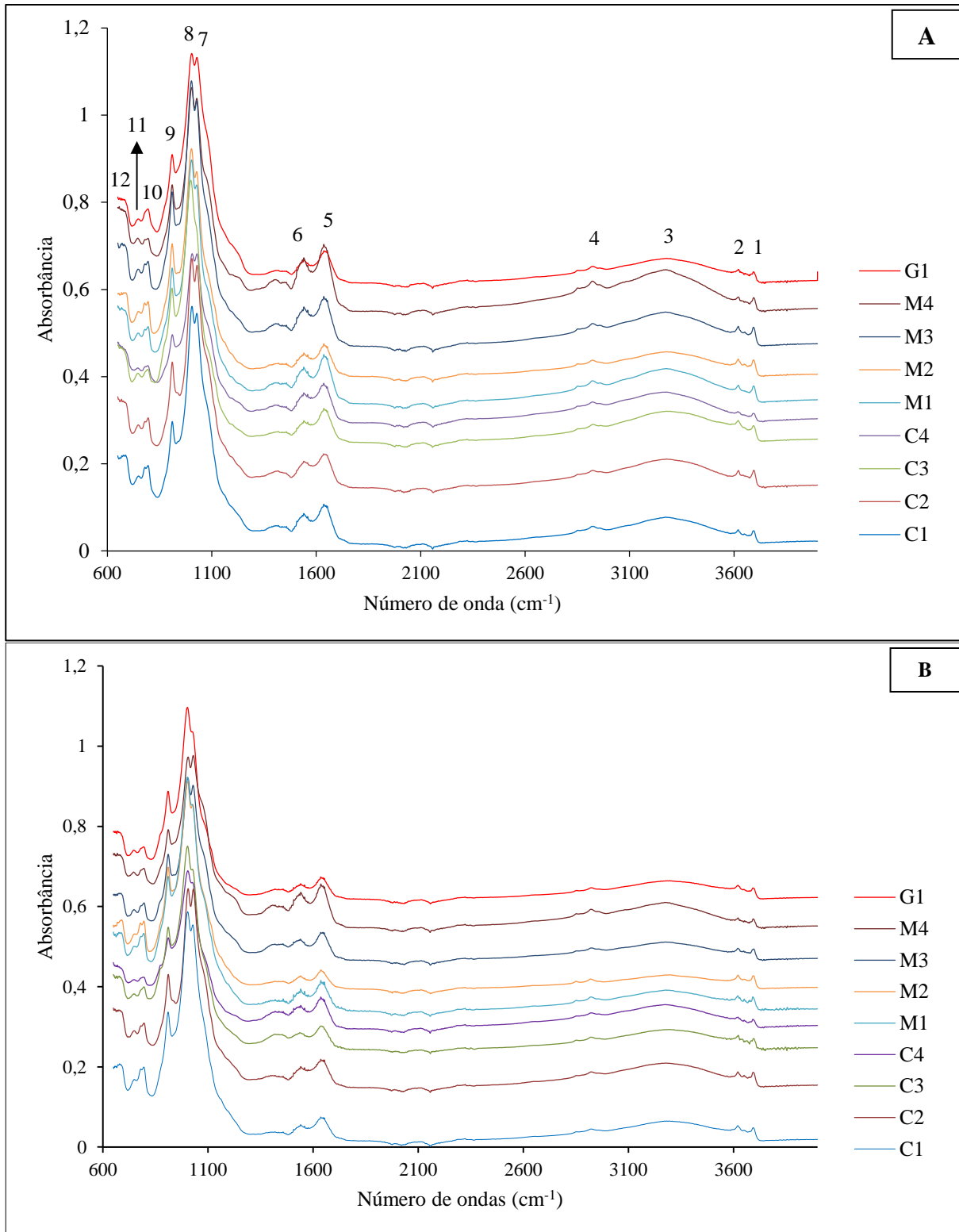
Observou-se 12 características espectrais principais (Tabela 9), identificadas na Figura 24–A, as quais foram agrupadas de acordo com as principais classes de biomacromoléculas. Os espectros extraídos indicam principalmente a presença de polissacarídeos, 1300 a 900 cm^{-1} , bem como de compostos contendo N, de 1700 a 1500 cm^{-1} (VISCARRA ROSSEL; BEHRENS, 2010; SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2015).

Tabela 9 – Características das bandas de absorção detectadas pelo IV

Característica espectral	Número de onda (cm^{-1})	Número de onda da literatura (cm^{-1})	Constituinte do biofilme	Grupo funcional
1	3694	3670-3580 ^a	Compostos fenólicos	O-H
2	3620	3670-3580 ^a	Compostos fenólicos	O-H
3	3276	3278 ^b	Água	O-H
4	2925	2930-2840 ^a	Lipídios	CH ₂
5	1637	1640-1550 ^{a, b, c}	Compostos de N	C=O
6	1541	1640-1550 ^{a, b, c}	Compostos de N	N-H
7	1030	1300-1000 ^{a, b}	Polissacarídeos	C-O
8	1005	1300-1000 ^{a, b}	Polissacarídeos	C-O
9	910	910 ^a	Polissacarídeos	C-H
10	795	900-650 ^{a, c}	Compostos aromáticos	C-H
11	780	900-650 ^{a, c}	Compostos aromáticos	C-H
12	746	900-650 ^{a, c}	Compostos aromáticos	C-H

Fonte: (^aBARBOSA, 2007; ^bVISCARRA ROSSEL; BEHRENS, 2010; ^cSILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2015).

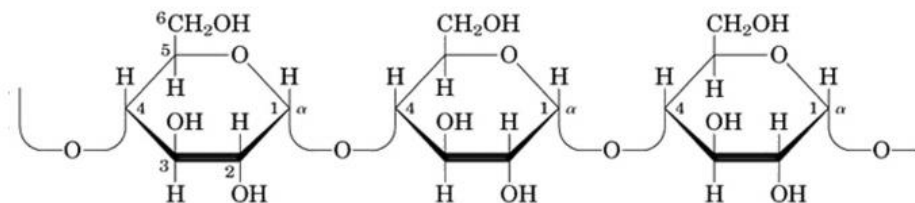
Figura 24 – Espectros de IV obtidos na coleta realizada no outono (A) e na primavera (B)



Fonte: Autor.

Na Figura 24, os polissacarídeos estão identificados pelas bandas em torno de 1030 e 1005 cm^{-1} , que correspondem a vibrações de alongamento C-O-C, típicas de éteres, um grupo de moléculas orgânicas que faz parte da estrutura dos polissacarídeos (Figura 25). Os éteres acíclicos e cíclicos e compostos relacionados como acetais e cetais apresentam uma absorção típica no infravermelho na região de 1300-900 cm^{-1} (BARBOSA, 2007). Já a banda em 1410 cm^{-1} corresponde a grupos hidroxila (OH) ligados ao grupamento $-\text{CH}_2$ dos polissacarídeos (VISCARRA ROSSEL; BEHRENS, 2010), conforme Figura 4 e Figura 25. A diminuição significativa na intensidade dessas bandas corresponde à degradação de carboidratos (grupo do qual os polissacarídeos fazem parte) (FIALHO et al., 2010).

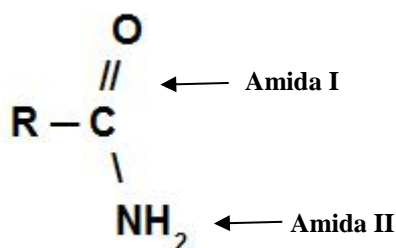
Figura 25 – Estrutura de um polissacarídeo



Fonte: (JUNIOR, 2008).

As bandas de 1637 e 1541 cm^{-1} são atribuídas a amidas primárias: amida I em proteínas e amida II em proteínas, respectivamente (VISCARRA ROSSEL; BEHRENS, 2010; SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2015). As amidas primárias (Figura 26) apresentam um grupo carbonila (C=O) ligado a um grupo NH_2 , podendo ainda apresentar grupos alquila ou arila ligados ao átomo de N. Em todas as amidas, os espectros no IV apresentam uma banda referente ao estiramento da ligação C=O, que é conhecida como banda de amida I (banda 5, da Figura 24). Nos espectros das amidas que apresentam um ou dois átomos de hidrogênio ligados ao nitrogênio são observadas ainda bandas de estiramento e de deformação angular das ligações N-H (banda de amida II, representada pela banda 6 da Figura 24). As bandas de estiramento da ligação C-N são menos importantes, do ponto de vista de identificação dessa classe de compostos (BARBOSA, 2007). A presença de bandas semelhantes para proteínas e polissacarídeos também foi verificada por Comte; Guidaud; Baudu (2006) e por D'Abzac et al. (2010).

Figura 26 – Estrutura de uma amida primária



Fonte: (DIAS, 2018).

Além disso, os espectros revelam bandas tipicamente associadas à porção de hidrocarbonetos alifáticos constituintes de ácidos graxos e lipídios (estiramentos simétrico e assimétrico de CH_3 e CH_2 na região de 2980 a 2800 cm^{-1}), em baixas intensidades de absorvância. Os lipídios são compostos orgânicos insolúveis encontrados em tecidos biológicos, os quais formam a estrutura básica de todas as membranas biológicas. De modo geral, as posições das bandas relativas a esses estiramentos variam pouco, sendo que grupos metila apresentam as absorções de estiramento assimétrico em torno de 2975 - 2950 cm^{-1} , as quais podem facilmente ser distinguidas do estiramento assimétrico de CH_2 que aparece em torno de 2930 - 2920 cm^{-1} (BARBOSA, 2007). A diminuição da intensidade das bandas nessa região, como observado na banda 4 nos pontos C2 e C3 no outono, indica perda de estruturas alifáticas (FIALHO et al., 2010). Estes resultados concordam com os encontrados por Jiao et al. (2010) ao caracterizarem biofilmes de minas ácidas, na Califórnia.

As bandas 10, 11 e 12 referem-se a ligações $=\text{C}-\text{H}$ de compostos aromáticos, visto que as deformações angulares fora do plano de ligações $=\text{C}-\text{H}$ e as vibrações de deformação angular fora do plano próprio do anel resultam em bandas de absorção na região de aproximadamente 900 - 650 cm^{-1} . As bandas 1 e 2 referem-se a bandas de estiramento OH de fenóis (BARBOSA, 2007; SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2015).

Como as substâncias poliméricas extracelulares são misturas de várias biomoléculas, algumas bandas podem estar sobrepostas, inclusive, bandas características de IV podem estar sofrendo interferências. Dessa forma, algumas bandas podem ser atribuídas a diferentes tipos de compostos. A banda larga entre 3000 e 3500 cm^{-1} , por exemplo, pode ser atribuída a vibrações de alongamento tanto de $\text{O}-\text{H}$ dos compostos fenólicos quanto de $\text{N}-\text{H}$. As bandas observadas abaixo de 1000 cm^{-1} (795 , 780 , 746 cm^{-1}) podem pertencer a grupos fosfóricos de DNA e RNA ou a ligações $\text{C}-\text{H}$ de compostos aromáticos. Na banda de amida I em 1650 cm^{-1} também pode haver sobreposição devido a deformação axial de $\text{C}=\text{C}$ de alcenos e devido ao

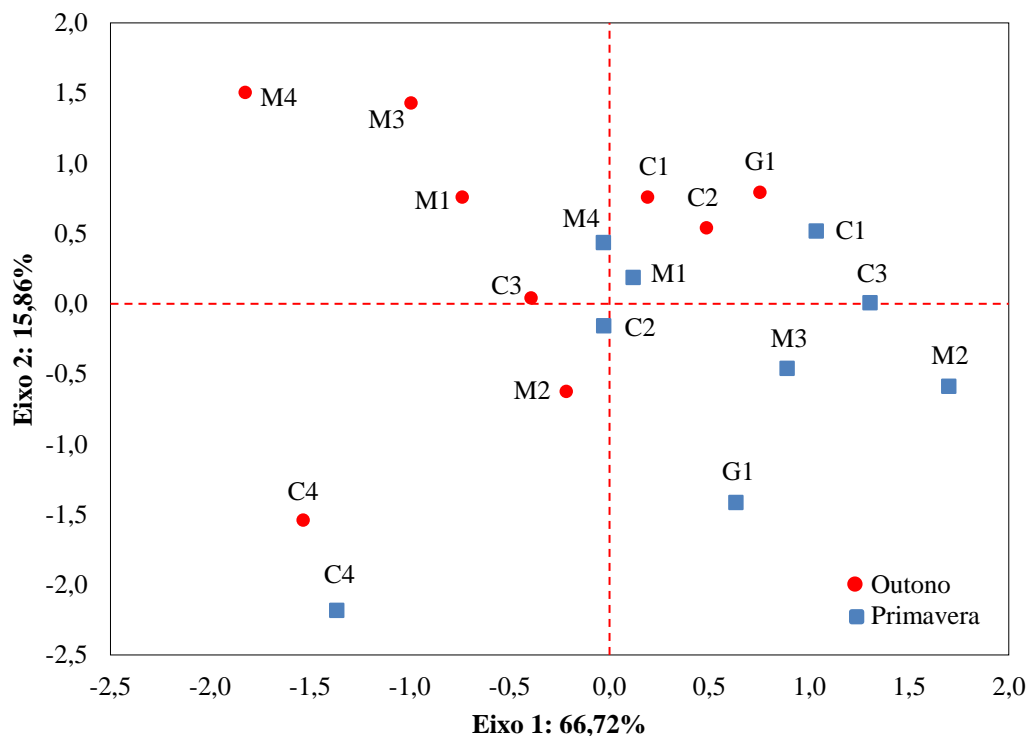
estiramento de ligações C=C de compostos aromáticos (SUN et al., 2009; D'ABZAC et al., 2010; VISCARRA ROSSEL; BEHRENS, 2010; BARBOSA, 2007; SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2015).

Os espectros das amostras de biofilmes são muito similares, tanto em forma quanto em intensidade de absorbância, indicando que a técnica não é discriminante ou não há muita variação na composição dos biofilmes epilíticos em termos qualitativos (Figura 24). Para polissacarídeos, as bandas são muito semelhantes, tanto no outono quanto na primavera e também entre os pontos de coleta. Para proteínas e lipídios, as bandas são relativamente maiores no outono e para praticamente todas as amostras. De acordo com D'Abzac et al. (2010), a interferência entre as bandas não permite quantificar as quantidades de compostos bioquímicos presentes nos biofilmes, porém os espectros de IV revelam uma visão geral dos grupos funcionais presentes. O IV simplesmente identificou os grupos funcionais, porém conforme verificado nas análises de PI-CG/EM, ocorre uma variação significativa na quantidade de cada um dos componentes individuais dos biofilmes.

A ACP foi realizada a partir das absorbâncias e dos números de ondas obtidos nos espectros de IV, entre os pontos amostrados no outono e na primavera. Os resultados da Figura 27 demonstram que as duas primeiras componentes principais representam 82,58% da capacidade de explicação da variação total do conjunto dos dados.

A ACP (Figura 27) englobando a representação gráfica permite identificar conjuntos de amostras de biofilmes epilíticos com características semelhantes às encontradas na PI-CG/EM (Figura 23). No outono, os pontos C1 (FLONA), C2 (barragem Capingui) e G1 (confluência), que para a ACP do IV estão muito próximos e no mesmo quadrante, também foram os pontos que apresentaram as maiores porcentagens de polissacarídeos e vegetais e as menores porcentagens de compostos contendo N. A proximidade dos pontos C3 (agricultura) e M2 (montante Marau Grãos) é explicada pelas maiores concentrações de compostos contendo N. Os biofilmes coletados nos pontos M1 (montante Marau Animal), M3 (cidade de Marau) e M4 (Exutório Marau), na sub-bacia do Arroio Marau, encontram-se no mesmo quadrante e apresentaram as maiores concentrações de compostos fenólicos. Para o ponto C4, no exutório do Rio Capingui, os espectros de IV mostraram-se semelhantes, tanto no outono quanto na primavera. Na primavera verificou-se semelhanças entre os pontos M4, M1 e C2; entre os pontos M3, M2 e G1 e entre os pontos C1 e C3.

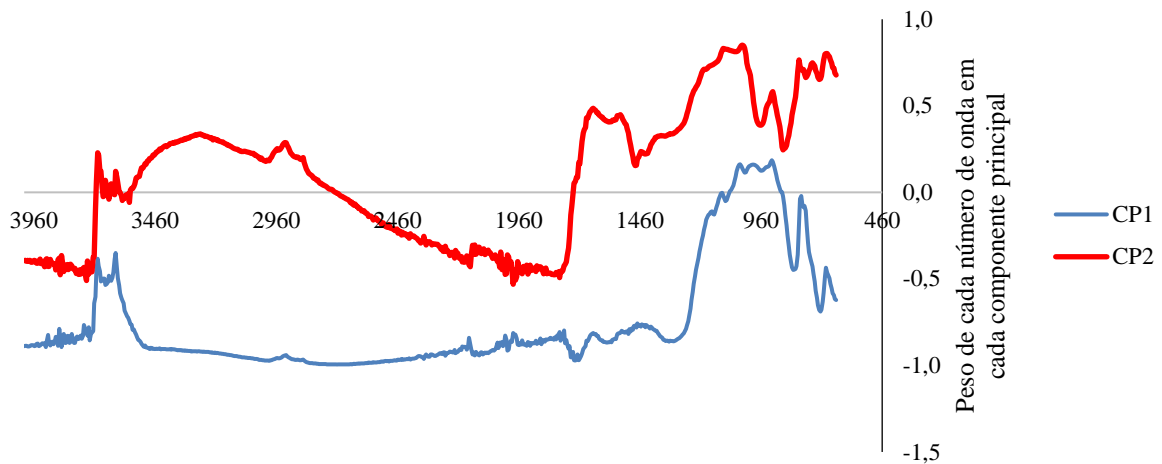
Figura 27 – Relação entre o componente principal 1 (Eixo 1) e o componente principal 2 (Eixo 2) na ACP entre os pontos amostrados no outono e primavera, na bacia hidrográfica do Rio Guaporé – RS



Fonte: Autor.

A Figura 28 é resultado da ACP e representa o peso de cada número de onda em cada uma das duas componentes principais utilizadas. Dessa forma, a análise permitiu selecionar os números de onda mais importantes para diferenciar as amostras (conforme ilustrado na ACP da Figura 27) e forneceu um peso maior, ou seja, quanto mais distante do 0 está o comprimento de onda, maior a sua contribuição para explicar as diferenças entre as amostras. Como as amostras estão separadas pelas maiores bandas, a grande diferença entre os pontos M2 e C4 na primavera, por exemplo (Figura 27), ocorre devido a essas bandas maiores no IV: em 3700 cm^{-1} , em 1000 cm^{-1} e abaixo de 1000 cm^{-1} . Assim, as pequenas variações no IV explicam as diferenças encontradas na PI-CG/EM.

Figura 28 – Peso de cada número de onda em cada componente principal

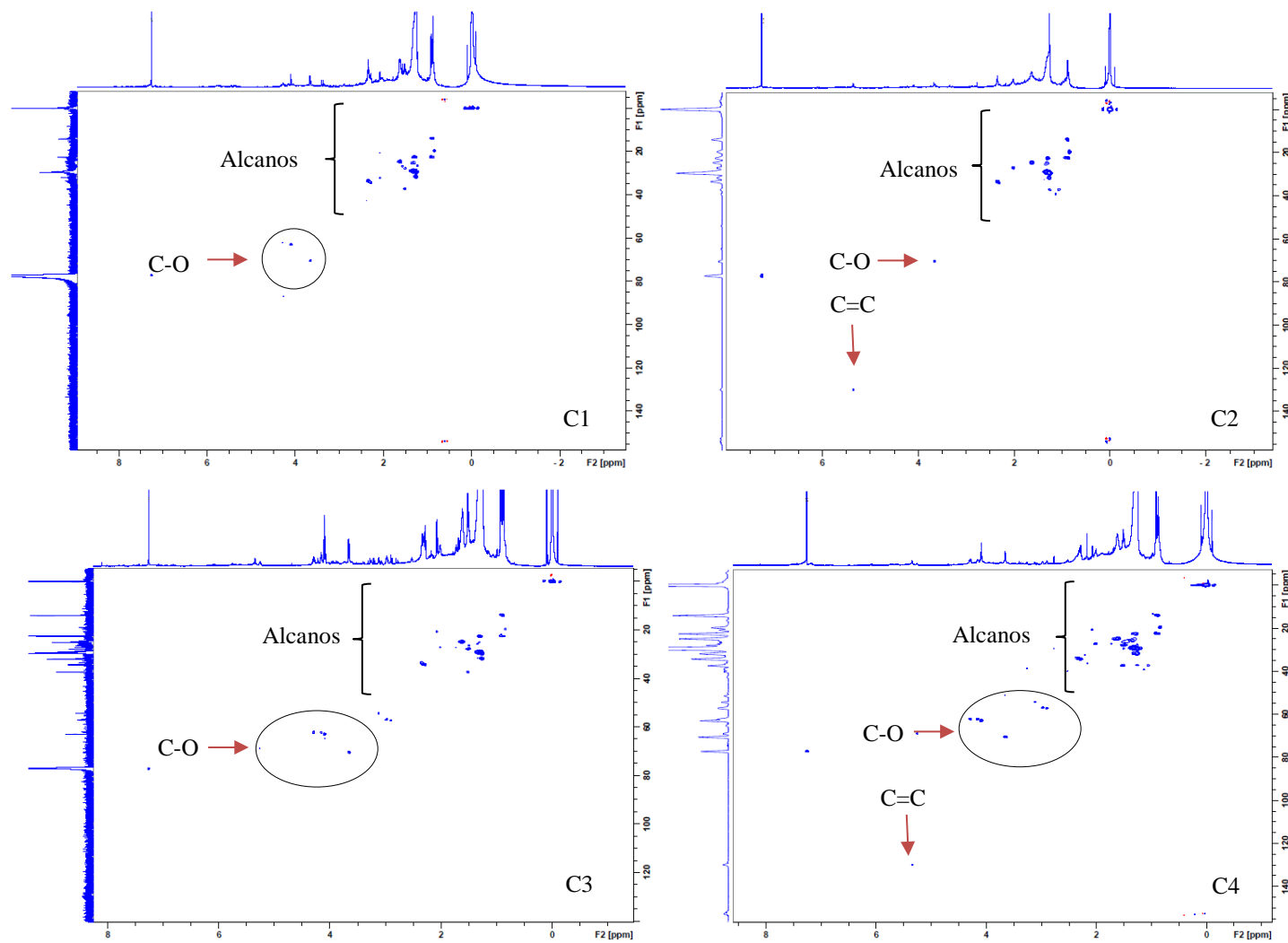


Fonte: Autor.

Assim, os resultados de PI-CG/EM e IV permitiram identificar os três principais constituintes orgânicos dos biofilmes: polissacarídeos, compostos contendo N e lipídios, além dos demais (principalmente compostos orgânicos e fenólicos). Essas informações também foram encontradas por outros autores (BRANDA; FRIEDMAN; KOLTER, 2005; JIAO et al., 2010; LIN et al., 2014; ZHANG et al., 2015), porém os mesmos não estavam estudando biofilmes epilíticos coletados diretamente sobre as rochas de uma bacia hidrográfica rural.

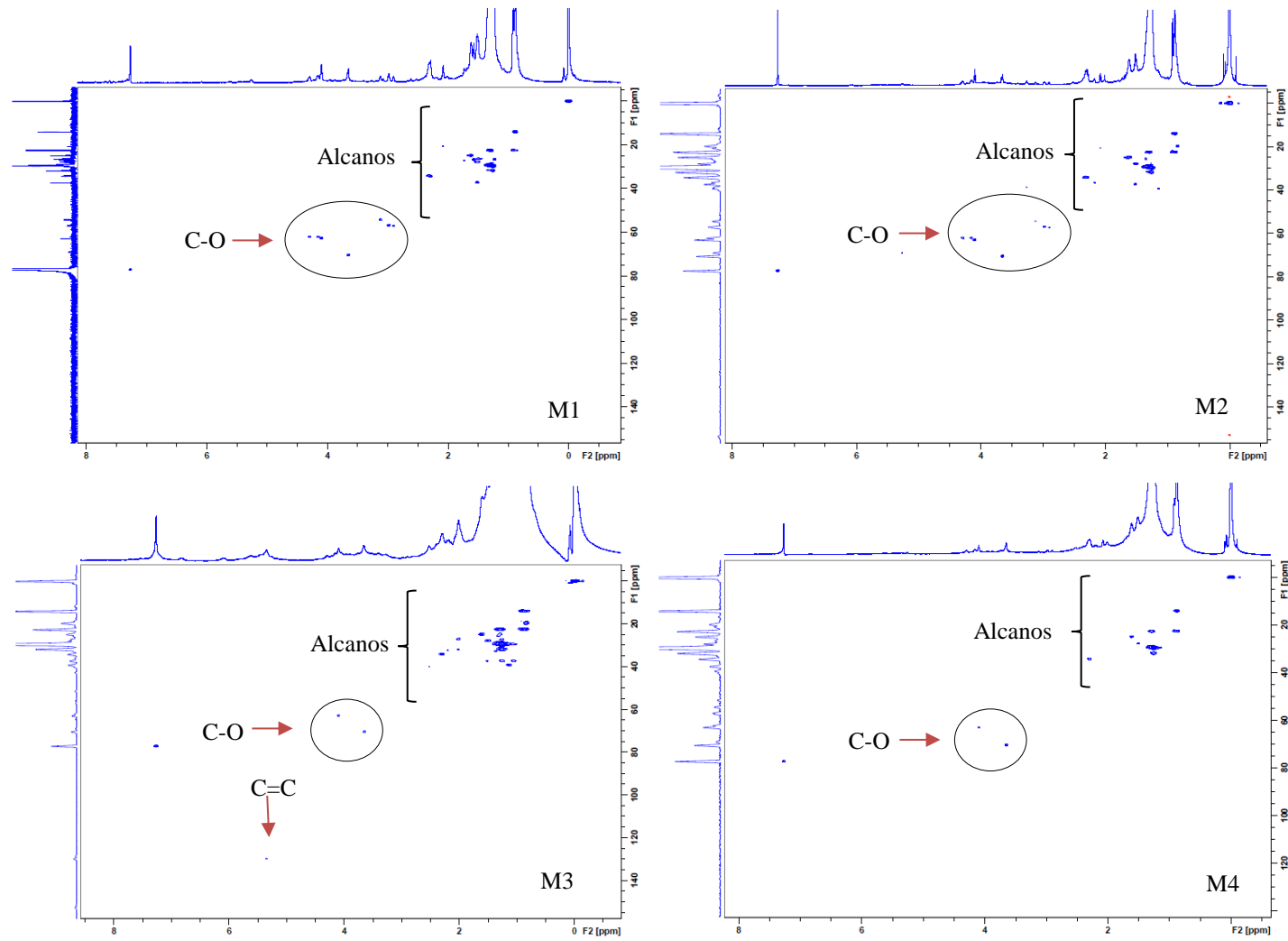
A espectroscopia de RMN, principalmente RMN ^{13}C e RMN ^1H também fornece descrição detalhada dos tipos e abundância de vários grupos funcionais associados à presença de diferentes biomacromoléculas (JIAO et al., 2010). A RMN ^1H fornece informações sobre o número e o ambiente químico (a vizinhança) dos átomos de H em uma molécula, sendo que a faixa de absorção magnética varia, normalmente, de 0 a 14 ppm. Já a RMN ^{13}C permite a distinção dos diferentes átomos de C da molécula, apresentando faixa de absorção magnética entre 0 e 240 ppm. Os espectros de RMN bidimensionais (2D) são gráficos em três dimensões que permitem estabelecer correlações entre C e H diretamente ligados ou vizinhos. A *heteronuclear single quantum correlation* (HSQC) é um experimento 2D utilizado para correlacionar, ou conectar, picos ^1H e ^{13}C para pares C-H diretamente ligados (Figuras 29, 30 e 31). As coordenadas de cada pico observadas no encontro dos espectros (contorno) são os deslocamentos químicos de C e H (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2015).

Figura 29 – Espectros 2D de HSQC de carbono e hidrogênio para biofilmes da sub-bacia do Rio Capingui



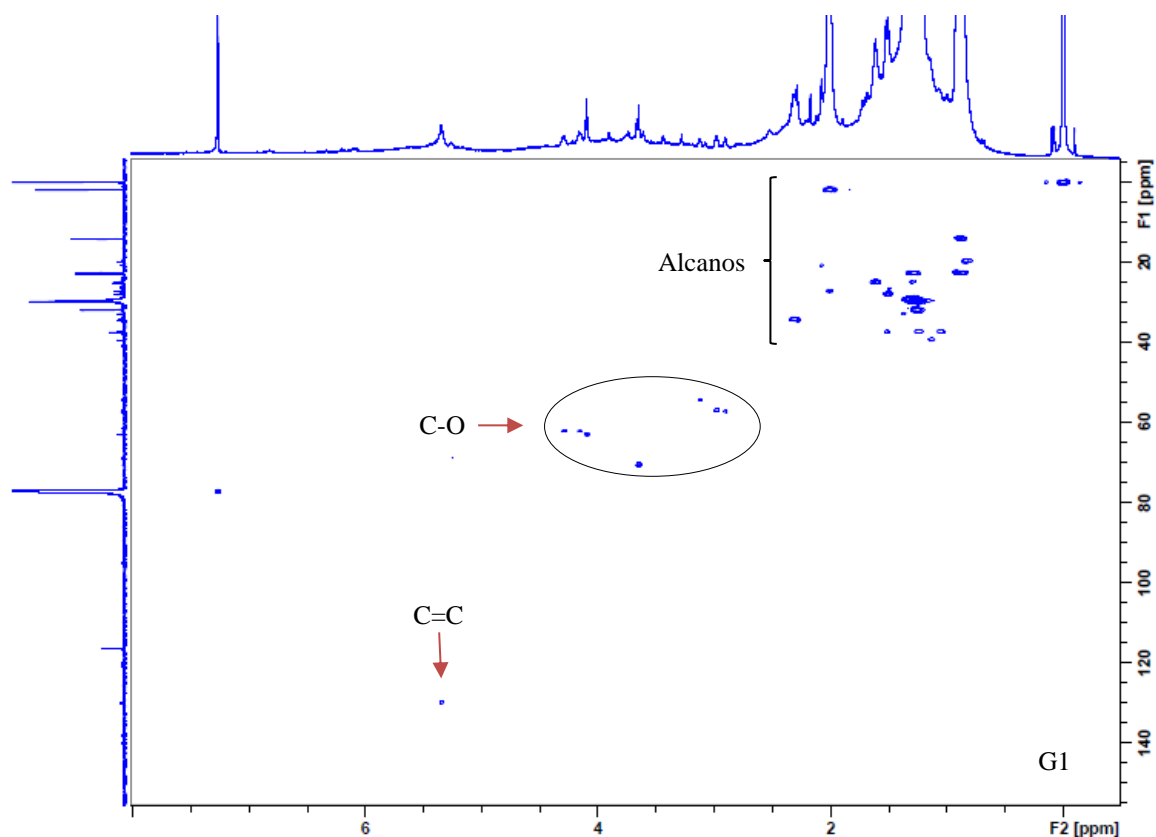
Fonte: Autor.

Figura 30 – Espectros 2D de HSQC de carbono e hidrogênio para biofilmes da sub-bacia do Arroio Marau



Fonte: Autor.

Figura 31 – Espectro 2D de HSQC de carbono e hidrogênio para biofilmes do curso principal do Rio Guaporé



Fonte: Autor.

Devido à complexidade da matriz de biofilmes foi difícil encontrar uma metodologia capaz de permitir a visualização dos espectros e dos respectivos picos de grupos funcionais, com o mínimo de interferência. Dessa forma, optou-se pelos espectros 2D, no estado sólido e, por observar o comportamento do ^{13}C nestes, visto que os espectros de RMN ^{13}C unidimensionais não permitiram uma interpretação adequada. O cruzamento em 77 ppm (para ^{13}C) e 7,26 ppm (para ^1H) corresponde aos deslocamentos químicos do solvente clorofórmio (CDCl_3).

Como existem variações na estrutura eletrônica local, ^{13}C em diferentes grupos funcionais ressona em diferentes frequências. Assim, os deslocamentos químicos foram usados para identificar os componentes químicos. Os hidrocarbonetos que constituem os lipídios tipicamente ressonam na faixa de frequência de 0 a 40 ppm, ao passo que ligações de oxigênio ligado a carbono (C-O, CH-O, $\text{CH}_2\text{-O}$ e $\text{CH}_3\text{-O}$) ressonam entre 45 e 60 ppm. Álcoois ($-\text{CH}_2\text{OH}$) de carboidratos ressonam em uma faixa de frequências de 60 a 90 ppm, enquanto o carbono glicosídico (carbono anomérico que está ligado ao oxigênio do álcool) dos

polissacarídeos ressona em frequências entre 95 e 106 ppm (FIALHO et al., 2010; JIAO et al., 2010).

Os espectros 2D de HSQC revelam algumas semelhanças na abundância relativa e na composição das biomacromoléculas presentes nos biofilmes (Tabela 10). Em todos pode-se observar os cruzamentos nas frequências entre 0 e 50 ppm (para ^{13}C , em F1) e entre 0 e 2 ppm (para ^1H , em F2), os quais caracterizam as estruturas lipídicas. Os mesmos indicam predominância de hidrocarbonetos de cadeia longa, como os ácidos tetradecanóico e hexadecanóico encontrados nos fragmentos da análise de PI-CG/EM (Figura 22). Nessas faixas de frequência, os cruzamentos dos espectros de HSQC indicam ligações C-H de grupamentos - CH_3 , - CH_2 e - CH de alcanos (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2015). Os lipídios são biomoléculas orgânicas compostas principalmente por hidrogênio, oxigênio e carbono, além de fósforo. Eles podem ser classificados, de acordo com sua estrutura química, em hidrolisáveis (possuem ligações éster) e não hidrolisáveis (não possuem ligações éster), conforme Figura 32.

A ligação C-O dos ésteres pode ser visualizada nos espectros de todas as amostras, em torno de 60 ppm, variável de acordo com o efeito do substituinte, porém com maior intensidade nos pontos C3 (agricultura), C4 (exutório Capingui), M1 (montante Marau Animal), M2 (montante Marau Grãos) e M4 (exutório Marau). Já a ligação C=O (cujo sinal ocorre em torno de 170 ppm) apresentou baixa intensidade e não pode ser visualizada, provavelmente pelo fato de os lipídios constituintes dos biofilmes epilíticos possuírem baixa solubilidade no solvente extrator utilizado, metanol.

Tabela 10 – Características dos deslocamentos de C e H detectados pela RMN - HSQC

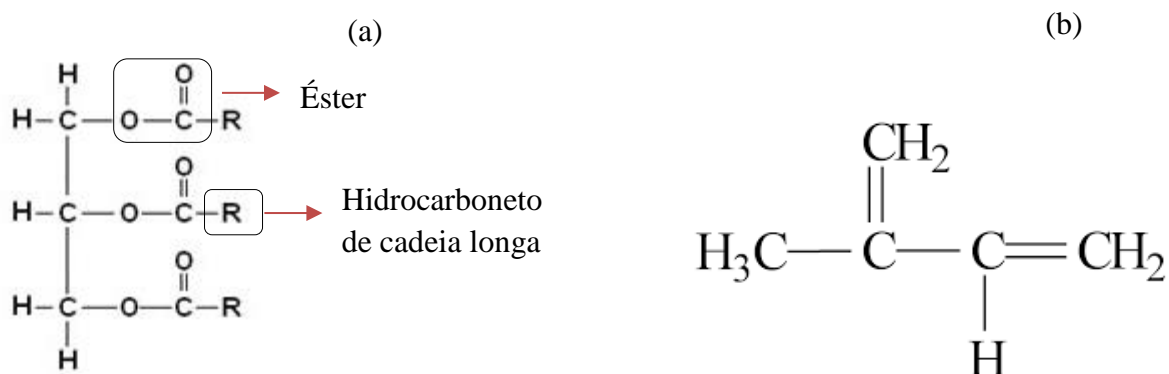
Deslocamento C (ppm)	Deslocamento H (ppm)	Constituinte do biofilme	Grupo funcional
0 a 50	0 a 2	Lipídios	Alcanos (C-H)
50 a 60	> 4	Lipídios	Éster (C-O)
50 a 60	3,2 a 3,8	Polissacarídeos	Éter (C-O)
60 a 70	3,5 a 4	Polissacarídeos	Álcool (CH_2OH)
129	5,3	Lipídios, polissacarídeos, compostos contendo N, compostos aromáticos	Alcenos (C=C)

Fonte: Autor.

Os éteres (ligação C-O-C), grupo funcional que faz parte da estrutura dos polissacarídeos, também ressonam entre 50 e 60 ppm. Os mesmos podem ser diferenciados a

partir da observação do espectro de RMN ^1H , visto que a ligação C-O de éteres geralmente apresenta deslocamento químico inferior a 4,0 ppm (3,2 a 3,8 ppm), ao passo que a ligação C-O de ésteres possui deslocamentos superiores a 4,0 ppm. Nas ligações C-O, os hidrogênios nos carbonos ligados ao oxigênio são desblindados devido à eletronegatividade do oxigênio (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2015). Assim, pode-se afirmar que existem diferenças entre as amostras, visto que os pontos C1, C2, M3 e M4 não apresentam cruzamentos relacionados ao grupo funcional éter, sendo que no ponto C2, localizado na barragem do Rio Capingui também não foi possível visualizar o grupo éster. Os pontos C3, C4, M1 e M2 apresentaram tanto cruzamentos de éster quanto de éter.

Figura 32 – Estrutura dos lipídios



Fonte: (LEAL, 2018).

(a) Lipídio hidrolisável. (b) Lipídio não hidrolisável.

Na região de frequência de álcoois (65 a 90 ppm) dos carboidratos (dos quais os polissacarídeos fazem parte) observa-se que há picos significativos para todos os biofilmes. Em todas as amostras de biofilmes é possível visualizar o cruzamento ^{13}C - ^1H em torno de 60-70 ppm e 3,5-4 ppm, respectivamente, indicativo de $-\text{CH}_2$ ligado a oxigênio, ou seja, $-\text{CH}_2\text{OH}$ (conforme Figuras 29, 30 e 31). Carbonos glicosídicos de polissacarídeos não foram visualizados em nenhuma das amostras. Essas diferenças nas características espectrais podem ser explicadas por diferenças significativas na distribuição de monômeros de açúcares dentro dos polissacarídeos (JIAO et al., 2010). Os grupos C=O e C-N de amidas também não puderam ser visualizados, o que indica que os sinais relativos a esses grupos funcionais podem estar em baixa proporção.

Nos pontos C2 (barragem Capingui), C4 (exutório Capingui), M3 (cidade Marau) e G1 (confluência) foram observados sinais de C=C de alcenos nos deslocamentos de 129 ppm para

^{13}C e 5,3 ppm para ^1H (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2015). Os alcenos são hidrocarbonetos alifáticos insaturados que possuem, em sua molécula, uma ligação dupla entre os átomos de carbono e estão presentes na constituição dos biofilmes epilíticos, visto que fazem parte da estrutura de alguns lipídios. Além disso, esses hidrocarbonetos podem estar presentes nos fragmentos de polissacarídeos, nos compostos contendo N e ligados ao benzeno dos compostos aromáticos.

6.1.3.4 Comparação das técnicas espectrométricas

A PI-CG/EM é uma técnica utilizada para determinar a estrutura de macromoléculas com base na sua decomposição química sob a ação do calor. A mesma permite identificar, a nível molecular, os principais componentes orgânicos de matrizes complexas, a partir de pequena quantidade de amostra (PEDROZA, 2011). Nos biofilmes epilíticos, as análises de pirólise mostraram a existência de fragmentos de compostos contendo N (22,13 a 56,77%), polissacarídeos (17,66 a 41,50%), lipídios (6,07 a 14,89%), lignina, oriunda dos vegetais (2,35 a 27,20%), compostos aromáticos (0 a 8,40%), compostos fenólicos (3,57 a 21,04%), além de outros compostos orgânicos (0 a 3,59%). Dentre os fragmentos derivados de compostos contendo N (proteínas, heterociclos, DNA, RNA), os principais compostos identificados foram acetonitrila, acetamida, indol, metil indol, 3-metil-butanonitrila, pirrol, metil-pirrol e decandinitrila, confirmando atividade microbiana nos biofilmes. Da mesma forma, a alta porcentagem de polissacarídeos confirmou a produção de substâncias poliméricas extracelulares pelos biofilmes, devido a presença dos compostos 3-metil butanal, 1-hidroxi-2-propanona e ácido acético.

A radiação IV causa alteração nos modos rotacionais e vibracionais das moléculas. Assim, o espectro na região de 4000 a 400 cm^{-1} , que é a região mais importante do ponto de vista da caracterização de compostos orgânicos, apresenta várias bandas de absorção, características de grupos funcionais e ligações específicas (BARBOSA, 2007). Nos biofilmes as análises de IV mostraram a presença de 12 características espectrais principais agrupadas em algumas classes de biopolímeros. Os polissacarídeos foram identificados pelas bandas em torno de 1030 e 1005 cm^{-1} , correspondentes a vibrações de alongamento C-O-C, típicas de éteres e pela banda em 1410 cm^{-1} corresponde a grupos hidroxila (OH) ligados ao grupamento $-\text{CH}_2$. As amidas, grupo funcional presente na estrutura das proteínas, foram identificadas pelas bandas em 1637 e 1541 cm^{-1} , atribuídas a amida I (estiramento da ligação C=O) e amida II (deformação angular das ligações N-H), respectivamente. Os espectros revelaram ainda bandas

tipicamente associadas à porção de hidrocarbonetos alifáticos constituintes de ácidos graxos e lipídios, na região de 2925 cm^{-1} , além de bandas características de compostos fenólicos (bandas de OH em 3694 e 3620 cm^{-1}) e compostos aromáticos (deformações angulares fora do plano de ligações $=\text{C-H}$ em 795 , 780 e 746 cm^{-1}).

A espectroscopia de RMN é muito utilizada para elucidar a estrutura de espécies orgânicas (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2015). Nos biofilmes epilíticos, a ressonância magnética nuclear em 2D (HSQC) permitiu a identificação de hidrocarbonetos de cadeia longa, que fazem parte da estrutura dos lipídios. Os mesmos foram visualizados nos cruzamentos indicativos de ligações C-H de grupamentos $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2$ e $-\text{CH}$ de alcanos, nas frequências entre 0 e 50 ppm (para ^{13}C) e entre 0 e 2 ppm (para ^1H). Além disso, a ligação C-O do grupo funcional éster dos lipídios pode ser visualizada em torno de 60 ppm na RMN ^{13}C . Ligações C-O-C de éteres, constituintes de polissacarídeos ressonaram entre 50 e 60 ppm (para ^{13}C) e entre 3,2 e 3,8 ppm (para ^1H). Para os polissacarídeos, foi possível visualizar ainda o cruzamento $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ em torno de 60-70 ppm e 3,5-4 ppm, respectivamente, indicativo de $-\text{CH}_2$ ligado a oxigênio, ou seja, $-\text{CH}_2\text{OH}$. Os alcenos, presentes na estrutura de lipídios, polissacarídeos e proteínas foram identificados nos deslocamentos de 129 ppm para ^{13}C e 5,3 ppm para ^1H .

Assim, as três técnicas possuem princípios diferentes, mas sinalizam para composições similares dos biofilmes epilíticos. Pela ACP, o IV diferenciou melhor as variações do que a PI-CG/EM. As análises de PI-CG/EM e de IV com a técnica de RMN indicaram que os biofilmes carregam grandes quantidades de polissacarídeos, proteínas, cadeias gordurosas e estruturas aromáticas que podem interagir e adsorver outras moléculas (ZHANG et al., 2015). Os resultados encontrados reforçam a natureza bioquímica complexa das comunidades de biofilmes, que pode ser influenciada por vários fatores intrínsecos e extrínsecos (JIAO et al., 2010).

6.1.4 Conclusões

- (a) Ambientes antropizados, principalmente com desenvolvimento da agricultura intensiva tendem a apresentar menor quantidade de biofilme aderido às rochas quando comparados com ambientes protegidos como as florestas.
- (b) As concentrações de carbono orgânico e nitrogênio orgânico mostraram-se pouco variáveis dentro da biomassa dos biofilmes epilíticos, porém ocorreu enriquecimento de N orgânico nos biofilmes durante o outono.

- (c) As técnicas de PI-CG/EM, IV com ATR e RMN 2D sinalizam para composições similares dos biofilmes epilíticos. Ambas demonstraram que os biofilmes epilíticos são constituídos por polissacarídeos, proteínas, lipídios e estruturas aromáticas que podem interagir e adsorver outras moléculas. A composição dessas biomoléculas em termos quantitativos varia em virtude da variação da contaminação com material mineral e, conseqüente variação dos teores de matéria orgânica. As técnicas espectrométricas utilizadas possibilitaram aprofundar a investigação sobre a constituição química dos biofilmes epilíticos.
- (d) Os compostos vegetais e os polissacarídeos apresentaram relação significativa e positiva com os pontos da FLONA e da barragem do Rio Capingui. O ponto à montante da cidade de Marau Grãos e o ponto com agricultura intensiva na sub-bacia do Rio Capingui estão relacionados pois apresentaram concentrações mais elevadas de compostos contendo N. Os pontos a montante da cidade de Marau (agrícola e animal), imediatamente após a cidade de Marau e no exutório do Rio Capingui apresentaram relação com os compostos fenólicos e com os compostos aromáticos.
- (e) A composição química da fração orgânica dos biofilmes epilíticos foi determinada a partir de técnicas espectrométricas, possibilitando a caracterização dessas comunidades.
- (f) As diferentes ações antrópicas desenvolvidas nas bacias hidrográficas rurais, principalmente a agricultura e as áreas urbanas, agregam constituintes orgânicos à estrutura dos biofilmes epilíticos.

6.2 CARACTERIZAÇÃO DA COMPOSIÇÃO MINERAL DE BIOFILMES EPILÍTICOS DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO GUAPORÉ

6.2.1 Introdução

Nos ambientes aquáticos, as células microbianas crescem em associação com as superfícies das rochas, levando à formação de biofilmes epilíticos. Os biofilmes epilíticos podem ser descritos como comunidades de microrganismos compostas primariamente por células microbianas (principalmente bactérias, mas também por fungos, protozoários e algas), substâncias poliméricas extracelulares (EPS) oriundas do próprio metabolismo dos microrganismos e materiais inorgânicos (FLEMMING; NEU; WOZNIAK, 2007). Os biofilmes adsorvem e transformam substâncias orgânicas e nutrientes na matriz, assim como acumulam substâncias que, no fluxo de água, seriam altamente diluídas, como carbono orgânico dissolvido, metais e contaminantes (FLEMMING; WINGENDER, 2010). Eles podem apresentar sinais iniciais de mudanças no meio ambiente, com alterações em sua estrutura e função (SABATER et al., 2007).

Na natureza, a variabilidade do ambiente aquático pode exercer controle sobre os processos ecológicos dos biofilmes (LAURENT, 2013) e variar a sua composição no espaço. Assim, o primeiro fator que afeta a constituição mineral dos biofilmes epilíticos é a origem das rochas, visto que estas diferem entre si quanto à sua composição mineralógica, textura e estrutura. A composição mineralógica trata da presença dos minerais essenciais e também determina a composição química da rocha, como somatório da composição química dos minerais que a compõe (FONTES, 2015). As rochas vulcânicas ácidas possuem grande quantidade de sílica (SiO_2), sendo constituídas por mais de 65% de SiO_2 , e também são ricas em alumínio. Essas rochas ácidas são mais claras por apresentarem maior proporção de minerais félsicos, como riodacitos, granitos, riolitos e dacitos félsicos. As rochas vulcânicas básicas possuem menor conteúdo de sílica apresentando teores de SiO_2 entre 45 e 52% e maior quantidade de ferro e magnésio. Essas rochas possuem coloração escura pois são ricas em minerais máficos, como basaltos (uma das rochas mais abundantes na crosta terrestre) e fenobasaltos (FONTES, 2015). Essa heterogeneidade do substrato pode ocasionar variações na constituição mineral dos biofilmes epilíticos.

A constituição mineral dos biofilmes também pode ser afetada pelo grau de intemperização das rochas, visto que as rochas, que possuem os minerais como suas unidades constituintes, são a base fundamental sobre as quais se vai desenvolver o processo de

intemperismo (FONTES, 2015). Dependendo de sua origem, as rochas podem apresentar porosidades e capacidades de dissolução distintas. Esses fatores caracterizam diferentes permeabilidades e possibilidades de aderência dos biofilmes epilíticos, de acordo com a fragilidade das rochas (BATTIN et al., 2016). Os processos mais frequentes de intemperismo na formação de minerais secundários são o intemperismo físico e o intemperismo químico. O intemperismo físico atua através da desagregação física dos minerais primários em tamanhos menores (FONTES, 2015), com posterior deposição desses minerais (tamanho das frações areia e silte) (PIRES, LACERDA, 2015), os quais podem ser adsorvidos nos grupos funcionais dos biofilmes epilíticos (JULIEN et al., 2014). O intemperismo químico atua através de alterações químicas nos minerais primários, com a transformação destes em minerais secundários. Assim, reações de dissolução dos minerais primários podem ocasionar a neoformação (bioformação) de novos minerais nos espaços porosos livres dos biofilmes. Os minerais neoformados originam-se a partir da recombinação de íons durante a reação de intemperismo e podem apresentar características distintas dos minerais de origem (FURQUIM et al., 2010). A participação de microrganismos nos processos de intemperismo dos minerais presentes nos biofilmes afirma a interação entre a biota e a matriz mineralógica na formação dessas comunidades (PIRES; LACERDA, 2015) epilíticas.

O terceiro fator responsável pelas possíveis alterações na constituição mineral dos biofilmes refere-se ao transporte e deposição de sedimentos. As bacias hidrográficas podem abranger diversas condições climáticas, hidrológicas, geológicas e topográficas resultando em solos com formação e composição distinta. Além disso, tanto cidades quanto áreas agrícolas e com criação de animais podem ser encontradas ao longo dos rios, resultando na distribuição espacial e intensidade diferente das ações antropicas em toda a extensão de uma bacia hidrográfica (SHAO; TANG; ZHANG, 2006; CASTRO LIMA, 2017; BASTOS et al., 2018). Essas variações podem refletir na composição mineral e granulométrica dos biofilmes. Devido ao escoamento superficial, os sedimentos e materiais rurais e urbanos podem alcançar os cursos hídricos e, dependendo da vazão do rio e do tamanho das partículas, sedimentam mais ou menos próximos da fonte mineral (KOCHEM, 2014). Assim, entram em contato com os biofilmes, visto que estes possuem estrutura porosa altamente hidratada, mas também filtrante, responsável pelo fornecimento de nutrientes e pela remoção de substâncias tóxicas oriundas do metabolismo (CAPELLETTI, 2006).

Como os biofilmes estão inclusos na maior parte dos elementos biológicos envolvidos na transferência de energia e matéria no rio, alterações na composição dessas comunidades podem indicar mudanças temporárias ou irreversíveis no ambiente aquático como, por exemplo,

diminuição da diversidade e formação de comunidades biológicas compostas por espécies tolerantes às novas condições. Além disso, pode-se evidenciar o efeito geral sobre a biodiversidade do rio (SABATER et al., 2016a) assim como a interferência em processos de adsorção de contaminantes. Nesse sentido, o objetivo do presente trabalho foi conhecer a composição química da fração mineral dos biofilmes epilíticos e identificar as características granulométricas e mineralógicas capazes de diferenciar ambientes com diferentes ações antrópicas. Além disso, buscou-se avaliar o efeito dos atributos da paisagem na composição dos biofilmes epilíticos.

6.2.2 Material e Métodos

6.2.2.1 Amostragem

A coleta de amostras de biofilmes epilíticos na rede fluvial do Rio Guaporé foi realizada no outono de 2016 entre os dias 26, 27 e 28 de maio e na primavera de 2016 entre os dias 12, 13 e 14 de novembro. Foram selecionados nove pontos distribuídos ao longo da sub-bacia hidrográfica do Rio Capingui (BHRC: C1, C2, C3 e C4), da sub-bacia hidrográfica do Arroio Marau (BHAM: M1, M2, M3 e M4) e no curso principal da bacia hidrográfica do Rio Guaporé (BHRG: G1), após a confluência das duas sub-bacias. Segue a descrição de cada ponto conforme Castro Lima (2017) e sua localização (Figura 33).

- C1 - FLONA: ponto localizado na Floresta Nacional de Passo Fundo – FLONA, que é uma Unidade Federal de Conservação com 1300 hectares, criada na década de 1940, incluindo 450 hectares de floresta nativa pertencente ao bioma Mata Atlântica. Este ponto foi considerado como amostra de controle do experimento devido à baixa ação antrópica nessa área. Porém, cabe ressaltar que as águas de outros rios (Tingatu, Cachoeirinha, Capingui e Rio Branco) possuem influência direta sobre a FLONA. Este local de amostragem está situado no Córrego João de Barro, classificado como rio de 1ª ordem afluente do Rio Capingui. O ponto possui uma área de captação de 1,3 km², sendo que a mesma é recoberta por Araucárias (*Araucaria angustifolia* Kuntze), Eucalipto (*Eucalyptus* sp), Pinus (*Pinus elliotti* Engelm), Floresta Ombrófila e Mista. Apesar da não existência de lavouras nessa área, estradas não pavimentadas perpassam a área de captação, conectando as áreas de lavoura do entorno da FLONA com o Córrego João de Barro. Esse fato possibilita a

contaminação das águas com agrotóxicos (CASTRO LIMA, 2017) e medicamentos veterinários (BASTOS, 2017).

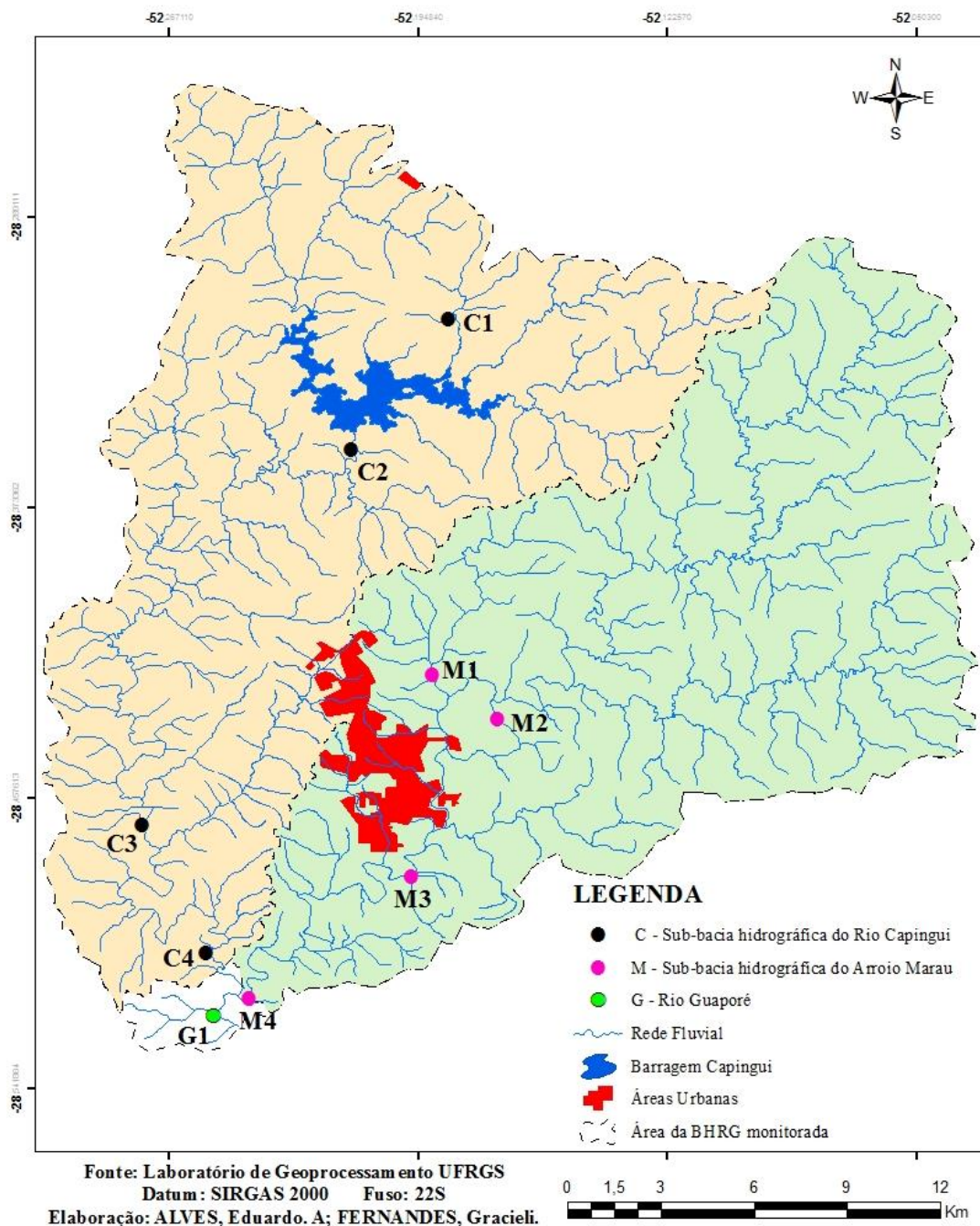
- C2 – BARRAGEM CAPINGUI: ponto localizado 600 m a jusante do vertedouro da barragem do Rio Capingui. O ponto possui área de captação de 123 km² e o barramento limita o fluxo de água e sedimento em aproximadamente 95% da área antes de fluir para o ponto C2. A mata ciliar é restrita entre 15 e 60 m de largura, sendo margeada pelas lavouras manejadas em sistema plantio direto (SPD). As lavouras de soja e de milho na primavera/verão e da aveia e do trigo no outono/inverno ocupam 64% da área. Nessa região o criatório de aves e suínos é inexpressivo, porém tem-se a presença dos bovinos, embora de forma limitada. As estradas presentes nessa região canalizam o escoamento superficial diretamente para a rede fluvial. Atualmente, a barragem do Capingui é usada apenas para recreação e apresenta crescente aumento da ocupação humana no seu entorno, sem rede de coleta de resíduos, resultando em liberação de águas residuais diretamente na barragem.
- C3 - AGRICULTURA: compreende o segundo ponto amostrado no Rio Capingui e está situado a 17 km da barragem do Rio Capingui. A bacia de captação desse ponto corresponde a 201 km². Ao longo desse rio a mata ciliar possui comprimento de 15 m nas duas margens, sendo que não é possível visualizar zonas de amortecimento nas linhas de drenagem. As lavouras ocupam 69% da área e são manejadas em SPD com soja/milho na primavera/verão e aveia/trigo no outono/inverno. Nessa região, o cultivo do milho é mais acentuado do que nos demais pontos do Rio Capingui. Além disso, destaca-se a criação de aves e suínos em sistemas integrados e a criação de bovinos. Neste ponto, observa-se ampla rede de sistemas de drenagem das áreas de várzeas e a presença de processos erosivos em sulcos, canalizando as águas e sedimentos para o Rio Capingui e seus afluentes.
- C4 – EXUTÓRIO CAPINGUI: ponto localizado no exutório do Rio Capingui, situado a 26 km da barragem e integrando área de 267 km². As lavouras ocupam 71% da área e a mata ciliar mantém-se restrita a 15 m de comprimento. O sistema de cultivo é semelhante ao do ponto C3, porém os sistemas de drenagem são menos perceptíveis. A criação animal possui menor expressividade que o ponto C3 e está voltada para a avicultura e a bovinocultura.
- M1 – MONTANTE MARAU ANIMAL: ponto situado à montante do perímetro urbano do município de Marau no Arroio Cestiado, afluente da margem oeste do

Arroio Marau. Esse ponto tem 13,4 km² de área de captação, sendo que a distância entre o rio e as lavouras é restrita à presença de 15 m de mata ciliar em ambas as margens. A produção da soja e do milho é realizada na primavera/verão em SPD e em sucessão no outono/inverno é realizado o plantio da aveia/azevém para formação de pastagem para os bovinos leiteiros. A atividade agropecuária é desenvolvida em 72% da área, sendo que os sistemas de criação estão voltados para a produção de bovinos leiteiros, suínos e criação de aves em sistema integrado.

- M2 – MONTANTE MARAU GRÃOS: ponto situado à montante do perímetro urbano do município de Marau no Arroio Marau, a montante 3,5 km da confluência com Arroio Cestiado, com área de drenagem de 165 km². A mata ciliar está presente nas duas margens, porém em sua maioria não ultrapassa os 15 m de largura. Dentre as atividades agropecuárias destacam-se a criação de aves, a suinocultura e a bovinocultura, o cultivo em SPD da soja e do milho na primavera/verão e da aveia/azevém no outono/inverno. O cultivo da aveia destina-se ao pastejo e, além disso, destacam-se áreas com o plantio de milho para produção de grãos e silagem. Localizado a 3 km deste ponto está o sistema de captação de água, operado pela Corsan, para o abastecimento de 41.059 habitantes (IBGE, 2017) da cidade de Marau. Deste arroio são bombeados até 300 L/s para a estação de tratamento do tipo convencional.
- M3 – CIDADE DE MARAU: ponto localizado no Arroio Marau a 10 km do ponto M2, a jusante da área urbana de Marau, totalizando 227 km² de área drenada. Esse ponto destaca-se por receber o lançamento dos efluentes industriais, pluviais e cloacais da cidade, a qual não possui sistema de tratamento de esgoto, resultando no aumento da poluição do rio decorrente da área urbana. O mesmo ocorre com as descargas oriundas das atividades agropecuárias das áreas localizadas na margem leste e ao norte. Essas atividades agropecuárias se assemelham àquelas representativas do ponto M2.
- M4 – EXUTÓRIO MARAU: ponto localizado no Arroio Marau, a 0,9 km da confluência com o rio Capingui e a 14 km da cidade de Marau. Compreende o exutório dessa bacia hidrográfica e drena 256 km². Às margens deste ponto existem áreas de soja e de milho cultivadas em SPD na primavera /verão, e áreas de aveia no inverno. As principais atividades agrícolas são a criação de gado leiteiro e a criação de aves em sistema integrado.

- G1 - CONFLUÊNCIA: ponto monitorado no Rio Guaporé a 1,2 km a jusante da confluência das sub-bacias do Rio Capingui e do Arroio Marau. Essa área integra as pressões antrópicas das duas sub-bacias hidrográficas, totalizando 542 km². Nas suas margens os sistemas de cultivo e de criatórios são semelhantes àqueles dos pontos C4 e M3, sendo que a área de mata ciliar se mantém com largura de 15 m.

Figura 33 – Mapa de localização dos pontos de amostragem na sub-bacia do Rio Capingui e sub-bacia do Arroio Marau situados na bacia do Rio Guaporé, RS



A amostragem consistiu na coleta e escovação manual do material aderido à fragmentos de rochas submersas, com auxílio de escovas de cerdas de nylon e 0,5 L de água deionizada (Figura 19) (AUBERTHEAU et al., 2017; CHONOVA et al., 2017; BASTOS et al., 2018). Em seguida, o material extraído foi envasado em recipientes de vidro, armazenado em caixas térmicas com gelo e transportado ao laboratório.

Os parâmetros pH, oxigênio dissolvido (OD) e temperatura da água foram analisados nos locais de coleta utilizando um equipamento Multiparameter Meter HI 9829. A velocidade e a profundidade da água foram determinadas utilizando-se um medidor de fluxo de água Flow Probe.

6.2.2.2 Procedimentos analíticos

No Laboratório de Análise de Águas Rurais da Universidade Federal de Santa Maria, as amostras de biofilmes epilíticos foram transferidas para recipientes de poliestireno de alta densidade, armazenadas à -80°C e liofilizadas a -40°C (visando cessar a atividade microbiana e evitar degradação de moléculas). Após liofilização, os biofilmes foram processados com o objetivo de retirar eventuais impurezas (folhas, galhos, invertebrados) e homogeneizadas em grau de ágata a fim de obter uma amostra representativa.

6.2.2.2.1 Granulometria

O procedimento para verificação da distribuição do tamanho de partículas dos biofilmes foi realizado através de três métodos, a fim de visualizar a variação da granulometria com a destruição dos biopolímeros. Primeiramente, as amostras de biofilmes foram dissolvidas em água ultrapura, dispersas em ultrassom e analisadas em granulômetro a laser. A distribuição do tamanho de partículas dos biofilmes foi igualmente analisada através de granulômetro a laser após a oxidação da matéria orgânica com H_2O_2 5% (MUGGLER, PAPE, BUURMAN, 1997), dispersão química com NaCl 1 mol L^{-1} (visando incrementar a repulsão entre partículas) e dispersão física com ultrassom. O terceiro procedimento envolveu a calcinação dos biofilmes (para queima da fração orgânica) em forno mufla, por 2 horas a 550°C , após prévia secagem dos cadinhos e das amostras em estufa a 105°C . Após, procedeu-se à dispersão química com NaCl 1 mol L^{-1} , dispersão física com ultrassom e análise em granulômetro a laser. Como a área superficial específica (ASE) depende em grande parte da distribuição do tamanho de partículas

(FOOLADMAND, 2011; SEPASKHAH; TAFTEH, 2013), estimou-se a ASE a partir da distribuição do tamanho de partículas considerando que as partículas são esféricas e cilíndricas (TIECHER, 2015). Pelo software Beckman Coulter LS 13 320 (versão 5.01) foram calculados os valores da frequência de distribuição das porcentagens dos diâmetros de partículas nos intervalos abaixo de 10% (D10), 50% (D50) e 90% (D90) na curva de distribuição de tamanho.

6.2.2.2.2 Quantificação da composição inorgânica pseudo-total e total por ICP-OES

Para a determinação dos teores pseudo-total dos elementos (Si, Al, Fe, Ti, Mn, Ca, Mg, Ba, Co, Cr, Cu, Zn, K, Na, Ni, Pb e V), as amostras passaram por processo de digestão ácida em microondas de digestão Microwave Accelerated Reaction System Model MARS® com o objetivo de remover os compostos orgânicos presentes, conforme método SW 846-3051 da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos da América (US-EPA). Assim, foram utilizadas 50 mg de biofilme, 2 mL de ácido nítrico concentrado (HNO_3 65% m m⁻¹) e 0,5 mL de ácido clorídrico (HCl), tempo de rampa equivalente a 15 minutos e, 25 minutos para digestão a uma temperatura de 177 °C. As concentrações totais de Si, Al, Fe, Ti, Mn, Ca, Mg, Ba, Co, Cr, Cu, Zn, K, Na, Ni e V foram estimadas a partir de 50 mg de biofilme, 9 mL de HNO_3 concentrado, 3 mL de ácido fluorídrico (HF) e 1 mL de HCl, tempo de rampa equivalente a 15 minutos e, 15 minutos para digestão a temperatura de 177 °C, conforme método SW 846-3052 da US-EPA (1996). Ambas as soluções foram transferidas quantitativamente, com água ultrapura, dos frascos de digestão para balões volumétricos de 50 mL, diluídas com água e filtradas antes da determinação. A quantificação foi realizada por espectrofotometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-OES, Optima 7000 DV), no Laboratório de Química e Fertilidade do Solo da UFSM.

6.2.2.2.3 Caracterização mineralógica por difração de Raio-X

A análise de mineralogia foi realizada apenas na amostra coletada na FLONA a fim de fornecer algumas informações sobre a presença de minerais nos biofilmes. Dos nove pontos de coleta, o ponto C1 é o que recebe menor influência antrópica e, dessa forma, espera-se que seja menos influenciado pelas alterações do ambiente. A análise de mineralogia foi realizada na forma de pó desorientado e na sequência foi realizada na forma de depósito em lâmina orientada, segundo metodologia descrita por Bortoluzzi e Poletto (2006).

A análise na forma de pó desorientado foi realizada a partir das amostras secas a temperatura ambiente e determinadas em difratômetro de raios X, nos ângulos de 2 a $75^\circ 2\theta$. A amostra em depósito orientado foi submetida ao tratamento para remoção da matéria orgânica com H_2O_2 5% a temperatura de 40°C e com reposição da solução de H_2O_2 frequente até o término da efervescência. A amostra foi saturada com CaCl_2 em concentração de 1 mol L^{-1} , a temperatura ambiente, durante 48 horas com agitação ocasional. Após foi realizada a lavagem da argila com água destilada até o resultado negativo para o nitrato de prata. A montagem das lâminas foi realizada a partir da técnica de gotejamento, a qual consiste em diluir 30 mg de argila em 1 mL de água destilada e depositar sobre uma lâmina de vidro (0,2 a 0,4 mm de espessura; 2,5 x 2,5 cm de comprimento e largura), de forma que a solução fique distribuída homogeneamente sobre a superfície do vidro. As amostras foram difratadas na amplitude angular de 2 a $35^\circ 2\theta$, com intervalo de leitura de $0,03^\circ$, com tempo de leitura de 1 s em cada ponto.

As análises foram realizadas no Centro Tecnológico de Pedras, Gemas e Joias do Rio Grande do Sul (CT-Pedras), em Soledade – RS, coordenado pela Universidade de Passo Fundo (UPF). Os difratogramas de raios X foram obtidos utilizando-se um difratômetro a reflexão da marca BRUKER, 2D phaser, operado com radiação Cu-K a 40 kw de voltagem e uma corrente de 20 Ma.

6.2.2.3 Tratamento Estatístico

A relação entre os atributos da paisagem e os ambientais com as concentrações (pseudo-total e total) dos elementos bioacumulados nos biofilmes epilíticos foi avaliada pelo coeficiente de correlação ordinal de Spearman. Para a execução dos procedimentos estatísticos utilizou-se o programa STATISTICA 7.0.

6.2.3 Resultados e Discussão

Os dados serão apresentados e discutidos em 3 tópicos: i) Granulometria dos biofilmes epilíticos; ii) Quantificação dos teores pseudo-total e total dos elementos; iii) Mineralogia dos biofilmes epilíticos.

6.2.3.1 Granulometria dos biofilmes epilíticos

Os biofilmes epilíticos foram submetidos à análise granulométrica após três tratamentos diferentes (biofilmes in natura, após oxidação da matéria orgânica com H₂O₂ e após oxidação da matéria orgânica em mufla), os quais alteraram as concentrações de material orgânico das amostras. Os dados obtidos após oxidação da matéria orgânica com H₂O₂ serão utilizados como modelo para discussão dos resultados (Tabela 11). Verificou-se diminuição nos teores de COT após oxidação da matéria orgânica com H₂O₂, com variação de 41,29% a 87,14% no outono e de 58,80 a 90,74% na primavera.

Tabela 11 – Concentrações de COT antes e depois da oxidação da matéria orgânica dos biofilmes

Amostra	% COT Outono		% oxidado	% COT Primavera		% oxidado
	Antes	Depois		Antes	Depois	
C1	16,54	3,34	79,81	7,64	1,33	82,59
C2	12,60	6,26	50,32	10,26	0,95	90,74
C3	7,92	4,65	41,29	7,19	1,88	73,85
C4	13,80	7,58	45,07	9,94	1,07	89,24
M1	13,95	1,98	85,81	7,73	1,07	86,16
M2	10,23	6,53	63,83	6,46	1,69	73,84
M3	13,75	3,08	77,60	11,18	1,82	83,72
M4	22,09	2,84	87,14	16,42	2,19	86,66
G1	10,57	4,84	54,21	7,67	3,16	58,80

Fonte: Autor.

Os resultados das análises granulométricas são exibidos nas Tabelas 12 e 13, para outono e primavera, respectivamente e para os três métodos adotados. Os mesmos incluem a distribuição do tamanho de partículas (DTP) dos biofilmes epilíticos em três frações: argila (<2 µm), silte (2-53 µm) e areia (>53 µm); os diâmetros: diâmetro médio volumétrico (DMV), D10 (diâmetro que limita a distribuição em 10% do volume total), D50 (diâmetro que divide a distribuição na metade) e D90 (diâmetro que corta a distribuição em 90% do volume total); e a ASE. Para melhor visualização, as Figuras 34, 35 e 36 exibem a alteração da DTP com a destruição dos biopolímeros para biofilmes epilíticos coletados em todos os pontos e na primavera.

Para os biofilmes in natura, percebe-se que tanto no outono quanto na primavera e para todas as amostras, o maior volume de partículas encontra-se na fração silte (2-53 µm), variando de 67,18 (cidade Marau) a 83,44% (confluência) no outono e de 74,04 (exutório Capingui) a

83,05% (FLONA) na primavera. Conseqüentemente, o DMV das partículas também se situa na fração silte, para todas as amostras. Os teores de argila variaram de 4,18 (exutório Marau) a 9,46% (agricultura) no outono e de 5,35 (exutório Marau) a 10,38% (montante Marau Grãos) na primavera. Para a fração areia encontrou-se volumes de partículas variando de 10,44 (confluência) a 28,17% (cidade Marau) no outono e de 9,90 (FLONA) a 19,99% (exutório Capingui) na primavera.

A fração argila nos biofilmes epilíticos in natura foi maior nos pontos C3 (agricultura), na sub-bacia do Rio Capingui e M2 (montante Marau Grãos), na sub-bacia do Arroio Marau, tanto no outono quanto na primavera. A maior quantidade de partículas finas adsorvidas nos biofilmes desses pontos pode favorecer a adsorção de compostos orgânicos, além dos já presentes na estrutura do biofilme (polissacarídeos, compostos contendo N e lipídios) e oriundos do metabolismo dos microrganismos. No estudo anterior, os pontos C3 e M2 apresentaram as maiores porcentagens de compostos contendo N, compostos estes oriundos dos fertilizantes nitrogenados aplicados em grande quantidade nessas duas áreas agrícolas. No ponto C3, principalmente, é visível a presença de canais de escoamento no interior das lavouras, facilitando o transporte dos sedimentos e das partículas de argila, os quais “contaminam” os biofilmes, aumentando a sua ASE e favorecendo a adsorção dos compostos orgânicos presentes em excesso na água (resíduos dos fertilizantes nitrogenados, por exemplo). Por outro lado, os menores teores de argila nos biofilmes in natura foram encontrados nos pontos após a cidade de Marau (M3 e M4).

As diferenças nos teores de argila entre os pontos de coleta podem estar relacionadas à maior ou menor agregação entre as partículas, o que é influenciado pela forma como ocorreu o processo de deposição das mesmas no leito do rio. Cabe salientar que, as partículas granulométricas encontradas podem ser provenientes principalmente de sedimentos das áreas de lavouras e das estradas (TIECHER et al., 2017). Nesse sentido, fatores como intensidade e quantidade de chuvas, declividade do terreno, velocidade e profundidade da água do rio podem exercer influência na granulometria do material erodido. A granulometria do material erodido em suspensão reflete o processo erosivo em operação e a sua capacidade em causar danos aos recursos hídricos, seja pelo assoreamento através dos sedimentos grosseiros ou pelo transporte de poluentes através dos sedimentos finos (KOCHEM, 2014). Maiores teores de argila reportam a uma maior quantidade de sedimentos que chegam até os rios e se acumulam nos biofilmes epilíticos.

Tabela 12 – Resultados da análise granulométrica para o outono na bacia hidrográfica do Rio Guaporé – RS

Pontos	Método	DTP (%)			DMV	Diâmetros (μm)			ASE $\text{m}^2 \text{mL}^{-1}$
		<2 μm	2-53 μm	>53 μm		D10	D50	D90	
C1	In natura	4,90	77,64	17,46	35,38	3,34	21,08	84,49	0,78
	H ₂ O ₂	19,09	76,12	4,79	16,38	1,06	8,74	41,89	3,51
	Mufla	12,62	84,6	2,78	13,54	1,70	8,48	30,82	1,78
C2	In natura	5,81	73,70	20,49	38,72	3,10	22,45	95,37	0,82
	H ₂ O ₂	22,46	76,61	0,93	10,72	1,04	5,52	29,02	3,10
	Mufla	18,82	81,18	0,00	9,64	1,32	6,13	23,49	2,42
C3	In natura	9,46	79,09	11,45	27,17	2,10	14,17	64,07	1,17
	H ₂ O ₂	21,75	73,73	4,52	13,82	1,07	6,62	34,13	2,76
	Mufla	20,92	73,78	5,30	13,67	1,18	6,03	34,04	2,51
C4	In natura	6,61	75,67	17,72	37,81	2,86	17,98	99,43	0,92
	H ₂ O ₂	16,31	69,47	14,22	28,39	1,29	13,28	77,75	2,25
	Mufla	-	-	-	-	-	-	-	-
M1	In natura	7,20	75,68	17,12	33,59	2,59	18,74	81,87	0,97
	H ₂ O ₂	19,42	72,44	8,14	21,71	1,06	12,29	50,69	3,19
	Mufla	-	-	-	-	-	-	-	-
M2	In natura	8,12	69,45	22,43	38,56	2,38	22,61	100,4	1,12
	H ₂ O ₂	22,20	73,51	4,29	12,26	1,21	5,68	33,70	2,83
	Mufla	-	-	-	-	-	-	-	-
M3	In natura	4,65	67,18	28,17	45,82	3,72	28,97	110,0	0,71
	H ₂ O ₂	26,75	73,25	0,00	8,26	0,98	4,60	21,93	3,72
	Mufla	19,98	76,12	3,90	12,64	1,17	6,78	29,72	2,66
M4	In natura	4,18	69,82	26,00	42,21	3,74	27,83	100,6	0,71
	H ₂ O ₂	22,04	75,42	2,54	10,91	1,10	5,42	27,06	3,14
	Mufla	-	-	-	-	-	-	-	-
G1	In natura	6,12	83,44	10,44	26,60	2,99	15,28	59,73	0,93
	H ₂ O ₂	19,90	75,94	4,16	15,24	1,13	7,55	40,58	2,89
	Mufla	6,71	82,78	10,51	26,51	2,96	17,07	59,49	1,07

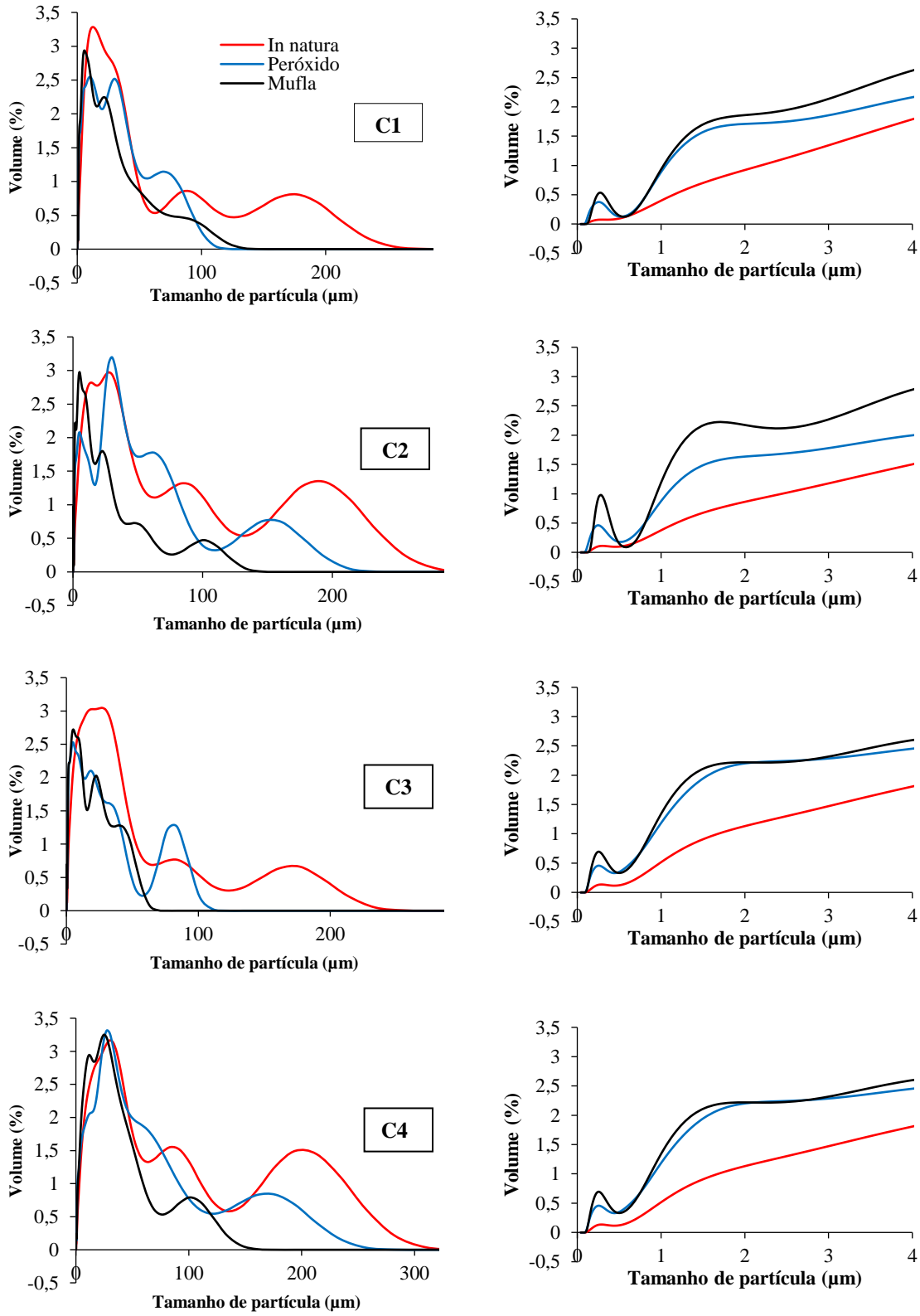
Fonte: Autor.

Tabela 13 – Resultados da análise granulométrica para a primavera na bacia hidrográfica do Rio Guaporé – RS

Pontos	Método	DTP (%)			Diâmetros (μm)				ASE $\text{m}^2 \text{mL}^{-1}$
		<2 μm	2-53 μm	>53 μm	DMV	D10	D50	D90	
C1	In natura	7,05	83,05	9,90	26,20	2,64	13,08	57,09	1,11
	H ₂ O ₂	16,81	77,10	6,09	16,87	1,35	8,73	43,37	2,34
	Mufla	18,08	78,04	3,88	13,76	1,29	6,90	34,03	2,40
C2	In natura	6,90	76,50	16,60	35,77	2,73	16,62	96,39	1,04
	H ₂ O ₂	17,46	70,43	12,11	24,75	1,25	10,10	64,63	2,46
	Mufla	23,87	72,75	3,38	11,87	1,02	5,42	28,86	3,06
C3	In natura	9,23	82,31	8,46	24,19	2,14	13,18	50,84	1,29
	H ₂ O ₂	22,72	72,52	4,76	13,64	1,02	5,92	35,42	2,88
	Mufla	25,77	73,84	0,39	10,12	0,86	5,16	27,93	3,38
C4	In natura	5,97	74,04	19,99	42,05	3,16	20,60	111,5	0,91
	H ₂ O ₂	12,16	72,60	15,24	30,95	1,68	16,88	75,82	1,79
	Mufla	10,38	83,01	6,61	20,73	1,95	12,74	47,37	1,48
M1	In natura	8,26	77,35	14,39	31,72	2,33	13,86	86,25	1,19
	H ₂ O ₂	20,90	72,93	6,17	15,74	1,12	7,12	42,10	2,90
	Mufla	20,08	76,46	3,46	13,22	1,19	6,16	32,11	2,54
M2	In natura	10,38	78,21	11,41	26,03	1,96	10,95	69,67	1,39
	H ₂ O ₂	20,58	73,31	6,11	16,08	1,16	6,92	44,04	2,73
	Mufla	21,84	77,84	0,32	10,11	1,11	5,43	26,44	2,81
M3	In natura	6,63	78,94	14,43	31,39	2,79	18,09	74,16	1,02
	H ₂ O ₂	27,59	68,22	4,19	11,48	0,80	4,82	31,59	3,79
	Mufla	24,53	72,97	2,50	10,54	0,95	5,40	25,01	3,17
M4	In natura	5,35	77,53	17,12	33,90	3,29	20,29	81,12	0,89
	H ₂ O ₂	26,32	66,68	7,00	14,90	0,78	5,55	42,84	3,75
	Mufla	28,69	63,30	8,01	15,11	0,43	5,15	48,40	3,73
G1	In natura	9,49	78,10	12,41	29,54	2,09	12,74	75,69	1,32
	H ₂ O ₂	21,55	71,61	6,84	15,25	1,08	6,10	36,58	2,97
	Mufla	23,83	72,11	4,06	11,54	0,95	5,46	38,74	3,19

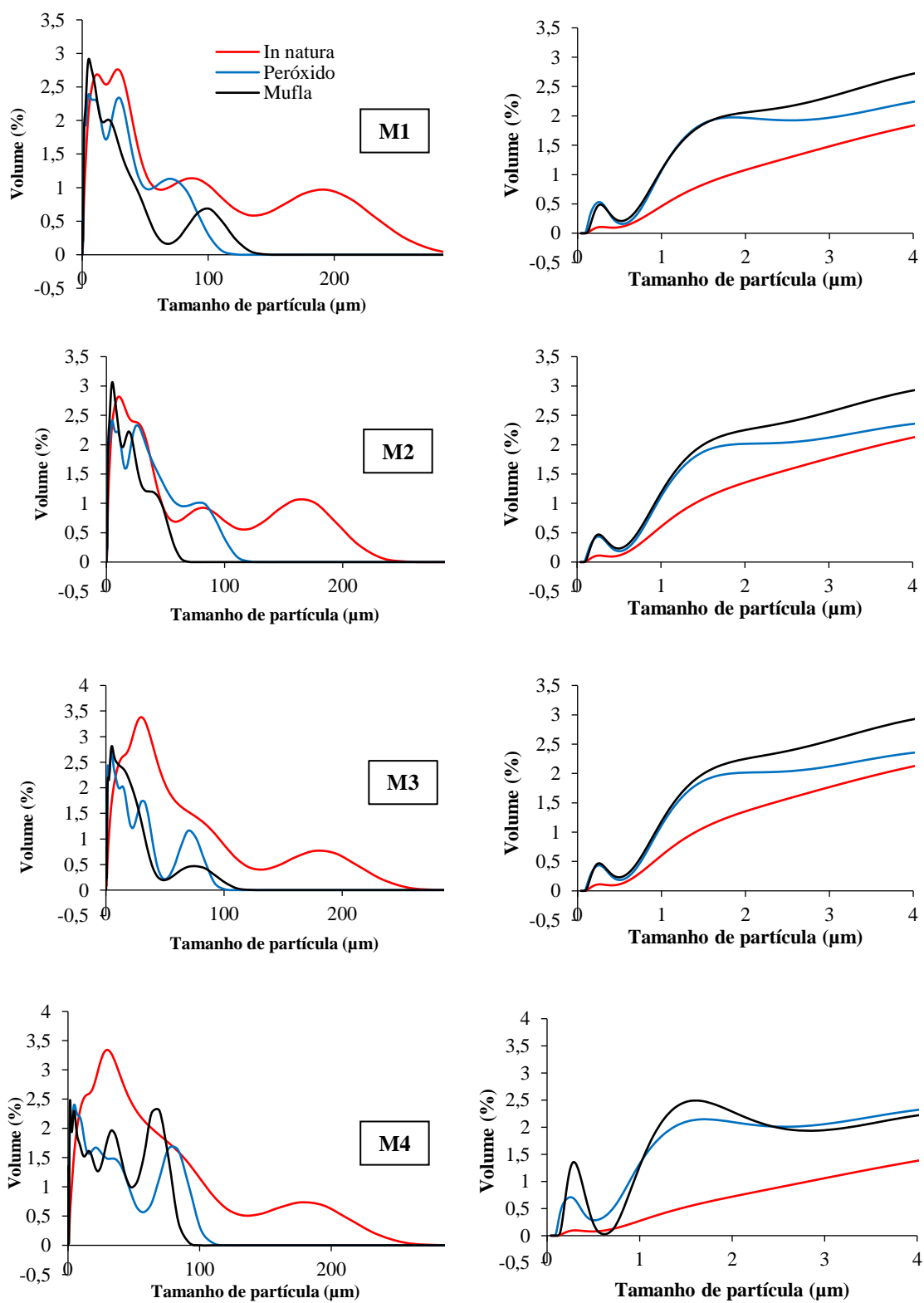
Fonte: Autor.

Figura 34 – Alteração da granulometria com a destruição dos biopolímeros para biofilmes da sub-bacia do Rio Capingui, normal (esquerda) e ampliado (direita), na estação primavera



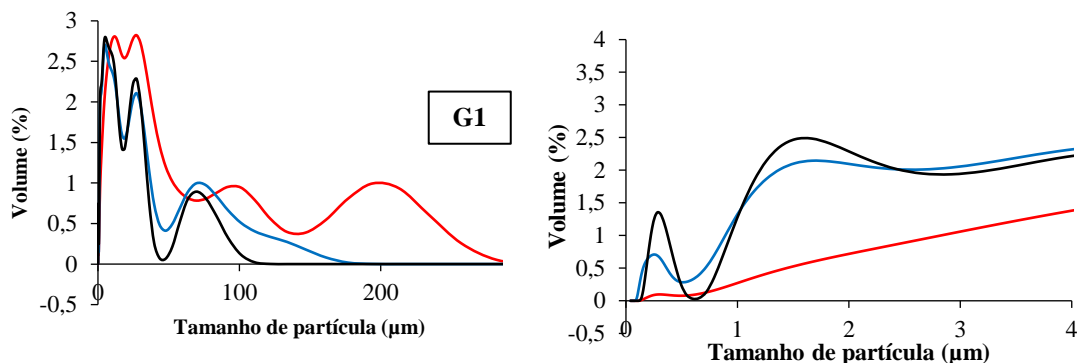
Fonte: Autor.

Figura 35 – Alteração da granulometria com a destruição dos biopolímeros para biofilmes da sub-bacia do Arroio Marau, normal (esquerda) e ampliada (direita), na estação primavera



Fonte: Autor.

Figura 36 – Alteração da granulometria com a destruição dos biopolímeros para biofilmes do curso principal do Rio Guaporé, normal (esquerda) e ampliado (direita), na estação primavera



Fonte: Autor.

A oxidação de parte da matéria orgânica dos biofilmes epilíticos aumentou a porcentagem de partículas na fração argila, com conseqüente redução do teor de areia, como pode ser observado nas Tabelas 12 e 13 e nas Figuras 34, 35 e 36. Nos biofilmes submetidos a oxidação com H_2O_2 , o volume de partículas na fração argila variou de 16,31 (exutório Capingui, ponto C4) a 26,75% (cidade Marau, ponto M3), no outono e de 12,16 (exutório Capingui, ponto C4) a 27,59% (cidade Marau, ponto M3) na primavera. Para o volume de partículas na fração areia observou-se variação de 0 (ponto M3) a 14,22% (ponto C4), no outono e de 4,19 (ponto M3) a 15,24% (ponto C4) na primavera. A fração orgânica dos biofilmes epilíticos forma biopolímeros com a argila, visto que, grande quantidade de partículas dentro dos biofilmes, com diâmetro equivalente à fração argila do solo, foi extraída somente após oxidação da matéria orgânica. Isso evidencia que a fração argila presente nos biofilmes possui forte interação físico-química com o material orgânico, inclusive por ligações organominerais estáveis. As substâncias orgânicas podem ligar-se à fração coloidal mineral adsorvida nos biofilmes epilíticos (argila) através de diversas formas, principalmente pela formação de pontes metálicas com cátions polivalentes devido à sua estabilidade. Essa ligação dos cátions polivalentes pode ocorrer com diferentes partículas de argila simultaneamente (PÉREZ, 2018).

A porcentagem de COT oxidado variou entre as amostras de biofilmes epilíticos (Tabela 11), visto que a proteção física da matéria orgânica está relacionada com a interação organomineral. Quanto mais intensa for a interação, maior é a possibilidade de formação de microagregados (de tamanho silte ou areia), cuja estabilidade protege fisicamente o material orgânico (DICK et al., 2009). As menores porcentagens de destruição do material orgânico observadas na barragem Capingui – C2 (50,32%), agricultura – C3 (41,29%) e exutório

Capingui – C4 (45,07%) no outono (Tabela 10), praticamente não impactaram na porcentagem da fração argila após oxidação com H_2O_2 , visto que as diferenças entre esses três pontos no outono e na primavera (percentual de oxidação de 90,74%, 73,85% e 89,24%, nos pontos C2, C3 e C4, respectivamente) são mínimas (Tabela 12 e 13). A diferença no teor de argila entre os pontos do outono também não é expressiva, indicando que, mesmo nos biofilmes com baixo percentual de oxidação foi possível extrair a argila dos complexos organominerais.

Após a queima da matéria orgânica com H_2O_2 , os pontos à jusante da cidade de Marau (M3 e M4, os quais apresentaram menor proporção de partículas na fração argila dos biofilmes in natura) passaram a apresentar as maiores proporções de argila. Como verificado no estudo anterior (caracterização orgânica dos biofilmes epilíticos), os teores de material orgânico são maiores nos pontos M3 e M4, em comparação com os demais, o que favoreceu a formação de complexos organominerais entre a matéria orgânica e a argila. Com a oxidação do material orgânico há ruptura dos microagregados, de forma que maiores teores puderam ser detectados na fração argila dos biofilmes epilíticos. Além disso, nesses dois pontos os biofilmes podem apresentar uma maior quantidade de agregados e interações físico-químicas mais fortes, o que confere maior proteção para a argila nos biofilmes in natura.

O silte representa a maior fração granulométrica para todas as amostras de biofilmes, independente do tratamento utilizado, visto que é transportado com maior facilidade pelas enxurradas até os canais de drenagem. Dessa forma, a maior parte da “contaminação” mineral dos biofilmes epilíticos é representada por partículas que possuem diâmetro de silte. Isso indica que o processo de transporte de sedimentos erodidos envolve a classe naturalmente mais erodível. Além disso, existem forças (de adesão e coesão) que atuam sobre as partículas, que as mantêm em suspensão ou no fundo do rio ou adsorvidas nos biofilmes das rochas, as quais são função do tamanho, peso e forma da partícula, do regime de escoamento e da velocidade da corrente da água (MAIER, 2013).

A partir das Figuras 34, 35 e 36, pode-se inferir que, para praticamente todos os pontos, a proporção de partículas dos biofilmes oxidados torna-se menor do que nos biofilmes in natura em tamanhos de partículas inferiores a 10 μm . Para tamanhos de partícula maiores que 10 μm observa-se atendência de maiores volumes de partículas nos biofilmes in natura, porém com algumas flutuações, conforme há o aumento da granulometria.

Comparando os dados granulométricos dos biofilmes epilíticos obtidos após a oxidação via úmida com H_2O_2 e após a oxidação via seca, mufla, pode-se observar que os valores encontrados são relativamente semelhantes, principalmente para silte e argila. As maiores diferenças foram encontradas na fração $>53 \mu m$. Segundo Sato (2013), o aquecimento em mufla

a 550 °C pode ocasionar uma superestimação dos teores de material orgânico devido a perda de massa que corresponde à perda de água de constituição de hidróxidos metálicos (Fe, Al, Mn e outros), por isso os valores encontrados via combustão seca são discretamente maiores.

No outono, para todas as amostras in natura, a D50 encontra-se com diâmetro menor que 30 µm, variando de 14,17 µm (na área agrícola da sub-bacia do Rio Capingui, ponto C3) a 28,97 µm (na área urbana da sub-bacia do Arroio Marau, ponto M3) (Tabela 11). Após oxidação da matéria orgânica, utilizando tanto H₂O₂ ou a mufla, os valores de D50 (e também D10 e D90) reduziram expressivamente. Nas amostras oxidadas com H₂O₂, 50% da amostra encontra-se com diâmetro menor que 15 µm, variando de 4,60 µm, no ponto M3 a 13,28 µm no ponto C4, exutório do Rio Capingui. Na oxidação via mufla, os valores de D50 variaram de 6,03 µm (ponto C3) a 17,01 µm (ponto G1, localizado na confluência das duas sub-bacias). Os resultados demonstram que após a oxidação da matéria orgânica, a proporção de partículas com diâmetro menor que 2 µm aumenta, confirmando a existência de interações organominerais na matriz biofilme.

Na primavera, observou-se tendência semelhante, porém a porcentagem de partículas com menor granulometria é maior, provavelmente devido ao maior uso do solo nesse período na bacia. Nos biofilmes in natura, 50% da amostra encontra-se na distribuição de diâmetro menor que 25 µm, variando de 10,95 µm (ponto M2) a 20,60 µm (ponto C4). Para os biofilmes oxidados com H₂O₂, 50% da amostra também se encontra na distribuição de diâmetro menor que 20 µm, porém com variação de 4,82 µm, no ponto M3 a 16,88 µm no ponto C4. Nas amostras submetidas a oxidação via seca, os valores de D50 variaram de 5,15 µm (ponto M4) a 12,74 µm (ponto C4).

A ASE dos biofilmes epilíticos aumentou após a oxidação da matéria orgânica, em ambos os métodos utilizados. Esse aumento é o resultado da redução do efeito aglomerante da matéria orgânica na superfície da argila, visto que a matéria orgânica foi removida e os aglomerados de argila foram separados, aumentando expressivamente a área superficial específica (MELO et al., 2010; MELO; CASTILHOS; PINTO, 2016). Assim, nas Tabelas 12 e 13, observa-se que para todas as amostras, nas duas estações e para os três tratamentos, quanto maior o volume de argila, maior a ASE dos biofilmes epilíticos.

6.2.3.2 *Quantificação dos teores pseudo-total e total dos elementos*

A composição elementar dos biofilmes epilíticos foi determinada por dois métodos de extração química. O primeiro método foi a extração com ácido nítrico e ácido clorídrico (pseudo-total), que possibilitou a oxidação da matéria orgânica e a liberação dos metais ligados aos óxidos e a outros minerais, com exceção dos minerais silicatados, devido a corrosão no entorno das partículas (US-EPA, 2007). Assim, nesse extrato também são encontrados os metais presentes na matéria orgânica. Quanto ao segundo método, nas concentrações de elementos totais considera-se que ocorreu a dissolução dos silicatos, o que proporciona um aumento significativo nos teores de Si, alumínio (Al), Fe e Ti (titânio), elementos marcadores de silicatos.

Parte dos elementos encontrados nos biofilmes podem ser considerados exógenos visto que, não fazem parte da estrutura da comunidade epilítica. Eles chegam até as águas dos rios devido às ações antrópicas agrícolas (aplicação de fertilizantes orgânicos e minerais nas lavouras) e urbanas (lançamento de efluentes não tratados nos cursos d'água) e são adsorvidos nos biofilmes epilíticos. No entanto, esses elementos não irão ocasionar a morte ou infecção dos microrganismos. A Tabela 14 exhibe os teores pseudo-totais de elementos para biofilmes epilíticos coletados no outono e na primavera.

Nos biofilmes da FLONA, coletados no outono e na primavera, encontrou-se as menores concentrações de Fe (34,59 e 35,61 mg g⁻¹), Mn (6,90 e 3,73 mg g⁻¹), Ca (0,75 e 0,50 mg g⁻¹), Mg (2,22 e 1,79 mg g⁻¹), Cu (0,04 e 0,03 mg g⁻¹), Ba (0,88 e 0,62 mg g⁻¹), Co (0,06 e 0,04 mg g⁻¹), Cr (0,02 e 0,02 mg g⁻¹), Cu (0,04 e 0,03 mg g⁻¹) e Ni (0,03 e 0,00 mg g⁻¹), respectivamente. Esses valores refletem o efeito da presença da floresta nativa e menor pressão antrópica nos biofilmes amostrados nas rochas presentes nas águas do ponto C1. O resultado dessa menor interferência humana está na manutenção da qualidade da água, redução do volume de sedimentos disponíveis por erosão e movimentos de massa, controlando a disponibilidade de alguns elementos químicos e reduzindo sua presença no meio ambiente (BACELLAR, 2005).

Tabela 14 – Teores pseudo-totais dos elementos analisados nos biofilmes epilíticos da bacia hidrográfica do Rio Guaporé, RS

Pontos	Si	Al	Fe	Ti	Mn	Ca	Mg	Ba	Co	Cr	Cu	Zn	K	Na	Ni	Pb	V
mg g ⁻¹ de biofilme																	
Outono																	
C1	0,36	23,92	34,59	2,49	6,90	0,75	2,22	0,88	0,06	0,02	0,04	0,19	2,90	0,67	0,03	0,04	0,07
C2	0,25	30,42	44,12	2,55	54,40	0,81	2,46	5,37	0,08	0,03	0,05	0,10	3,41	0,65	0,03	0,08	0,09
C3	0,32	40,85	74,56	5,76	41,40	0,88	5,45	1,88	0,39	0,03	0,21	0,15	2,79	0,75	0,04	0,03	0,25
C4	0,21	18,21	65,23	3,65	59,78	1,19	3,09	5,72	0,36	0,04	0,16	0,23	4,00	0,69	0,08	0,03	0,25
M1	0,28	29,29	49,39	4,46	50,83	0,98	3,08	3,77	0,23	0,04	0,10	0,26	4,00	0,95	0,04	0,04	0,18
M2	0,33	32,65	47,67	4,93	26,63	0,85	2,97	2,09	0,12	0,03	0,08	0,24	3,51	0,93	0,04	0,04	0,14
M3	0,33	40,29	47,94	4,52	26,11	0,86	3,53	1,63	0,12	0,06	0,09	0,18	4,42	0,79	0,03	0,04	0,16
M4	0,31	28,79	38,08	2,58	29,69	0,89	3,06	1,68	0,17	0,04	0,08	0,22	5,43	0,94	0,04	0,03	0,13
G1	0,34	30,28	77,06	7,90	13,55	0,79	3,31	0,99	0,16	0,03	0,16	0,17	4,47	0,74	0,04	0,02	0,31
Primavera																	
C1	0,51	22,09	35,61	3,78	3,73	0,50	1,79	0,62	0,04	0,02	0,03	0,13	2,26	0,69	0,00	0,04	0,06
C2	0,45	22,14	73,64	2,17	38,76	0,53	1,80	2,65	0,10	0,03	0,04	0,12	2,84	0,56	0,01	0,04	0,09
C3	0,48	22,48	65,79	5,52	20,01	1,10	5,12	1,09	0,15	0,04	0,15	0,12	2,72	0,73	0,02	0,02	0,22
C4	0,38	19,19	39,69	4,74	55,81	1,24	3,69	3,34	0,25	0,03	0,16	0,18	2,92	0,82	0,04	0,02	0,21
M1	0,44	21,04	53,76	7,09	14,21	0,53	2,70	0,98	0,10	0,02	0,09	0,14	2,92	0,69	0,01	0,03	0,21
M2	0,43	27,96	42,70	5,83	7,12	0,56	2,89	0,62	0,06	0,03	0,06	0,21	2,67	0,67	0,01	0,02	0,13
M3	0,45	25,41	41,73	4,17	18,18	0,88	3,00	0,99	0,11	0,04	0,09	0,12	3,52	0,75	0,02	0,04	0,14
M4	0,39	21,01	38,72	4,05	21,17	1,04	2,93	1,19	0,15	0,03	0,09	0,15	4,29	1,00	0,02	0,02	0,15
G1	0,48	30,49	69,16	7,73	23,87	0,82	3,48	1,01	0,33	0,03	0,20	0,11	1,41	0,68	0,03	0,02	0,29

Fonte: Autor.

Por outro lado, alguns elementos detectados na FLONA apresentaram concentrações muito semelhantes e até superiores aos demais pontos, no material coletado no outono e na primavera, como observado para Al (23,92 e 22,09 mg g⁻¹), Zn (0,19 e 0,13 mg g⁻¹), K (2,90 e 2,26 mg g⁻¹) e Na (0,67 e 0,69 mg g⁻¹). Isso pode ocorrer porque, apesar de o escoamento e o transporte de sedimentos terem origem sobre as áreas sem proteção vegetal, os mesmos são desviados para as áreas de floresta, que possuem maior capacidade de infiltração (CALLEGARO; URSINO, 2017). Além disso, o K é um elemento solúvel e oriundo do processo de reciclagem de nutrientes realizado pelas florestas.

No ponto C3 (agricultura) as lavouras são intensamente manejadas, principalmente para o cultivo de milho e soja e os agricultores aplicam grandes quantidade de fertilizantes minerais e também orgânicos (dejetos de suínos, de bovinos e de aves). Os teores pseudo-totais elevados dos elementos Ca (0,88 e 1,10 mg g⁻¹) e Mg (5,45 e 5,12 mg g⁻¹), tanto no outono quanto na primavera, respectivamente, são resultado desse manejo do solo. O ponto M3 (cidade Marau), que recebe forte influência da presença da cidade e seus efluentes clandestinos apresentou concentrações relativamente elevadas para Al (40,29 e 25,41 mg g⁻¹), Fe (47,94 e 41,73 mg g⁻¹), Si (0,33 e 0,45 mg g⁻¹), Ca (0,86 e 0,88 mg g⁻¹) e Mg (3,53 e 3,00 mg g⁻¹), tanto no outono quanto na primavera. Isso demonstra que o meio urbano é responsável pelo aporte de elementos exógenos que chegam até os rios. Assim, os biofilmes epilíticos podem acumular nutrientes advindos das lavouras e das áreas urbanas, sendo que a magnitude das atividades antrópicas influencia nesse processo de adsorção.

As maiores concentrações de elementos totais (Tabela 15) são representadas por Si, Al e Fe, elementos que formam a base dos argilominerais e dos silicatos do solo e, dessa forma, também estão presentes em maior concentração nos biofilmes epilíticos. O Si também está presente na constituição das diatomáceas, assim, a maior ou menor quantidade de diatomáceas presentes nas comunidades epilíticas pode impactar no teor de Si (VAN-DEN-HOEK; MANN; JAHNS, 1995). Quanto aos teores de Al e Fe, o intemperismo propicia a perda desses elementos para as águas de superfície, principalmente em locais com presença de erosão. Existe uma forte interação entre o manejo dos solos (como a intensidade de cultivo) e o intemperismo dos minerais e a taxa de liberação dos nutrientes na solução do solo (MELO; CASTILHOS; PINTO, 2016). Esse fato pode ser observado no ponto C3, área agrícola na sub-bacia do Rio Capingui, o qual apresentou concentrações médias elevadas de Fe (74,28 e 89,78 mg g⁻¹) e Al (48,98 e 48,01 mg g⁻¹).

Para Al, assim como verificado para as concentrações pseudo-totais, a área urbana do ponto M3 também contribui para a presença desse elemento nos biofilmes (50,40 e 50,46 mg

g^{-1} , no outono e primavera, respectivamente), devido às atividades industriais desenvolvidas próximas ao rio, principalmente relacionadas as indústrias metalomecânicas e aos curtumes da cidade de Marau.

O Ti é um elemento que apresenta elevada resistência ao intemperismo. A sua quantidade relativa na amostra, comparativamente a outras, pode explicar se os minerais são mais ou menos intemperizados. As maiores concentrações desse elemento foram encontradas no ponto G1 (24,76 e 23,61 mg g^{-1}), confluência entre a sub-bacia do Rio Capingui e a sub-bacia do Arroio Marau. Além disso, o ponto G1 está localizado na *Fácies* Gramado, sobre rochas vulcânicas básicas, as quais são constituídas principalmente por basaltos (FONTES, 2015) e caracterizadas por altos teores de Fe e Mg. Esses fatores determinaram os teores mais elevados de Fe (79,79 mg g^{-1} no outono e 85,66 mg g^{-1} na primavera) e Mg (4,72 mg g^{-1} no outono e 6,46 mg g^{-1} na primavera) acumulados nos biofilmes epilíticos da confluência.

Os elementos cálcio (Ca) e magnésio (Mg) estão presentes em maior concentração nas áreas onde a agricultura é mais expressiva, principalmente nos pontos C3 (1,36 e 2,96 mg g^{-1} de Ca; 8,13 e 13,28 mg g^{-1} de Mg, no outono e primavera, respectivamente) e C4 (1,50 e 3,72 mg g^{-1} de Ca; 5,41 e 12,35 mg g^{-1} de Mg), localizados na sub-bacia do Capingui. O cálcio e o magnésio constituem aporte das culturas e também podem ser oriundos de aplicações de calcário para correção da acidez do solo. Quanto às concentrações de potássio (K), além dos pontos C3 e C4, observou-se concentrações mais elevadas nos pontos M1, M2 e G1, principalmente na primavera (21,55 mg g^{-1} para M1, 20,20 mg g^{-1} para M2 e 13,59 mg g^{-1} para G1). A presença dos altos teores de K nos biofilmes tem como origem os fertilizantes potássicos aplicados nas áreas de lavoura. Por outro lado, com o envelhecimento dos solos, o intemperismo químico dos minerais primários e a lixiviação de nutrientes resultam na redução contínua da reserva de Ca, Mg e K (MELO; CASTILHOS; PINTO, 2016). Os processos erosivos permitem que esses nutrientes sejam transportados até as águas e acumulem-se nas comunidades de biofilmes epilíticos nelas submersos.

Tabela 15 – Teores totais dos elementos analisados nos biofilmes epilíticos da bacia hidrográfica do Rio Guaporé, RS

Pontos	Si	Al	Fe	Ti	Mn	Ca	Mg	Ba	Co	Cr	Cu	Zn	K	Na	Ni	V
mg g ⁻¹ de biofilme																
Outono																
C1	44,48	35,69	32,51	11,04	6,83	0,75	2,88	0,94	0,06	0,03	0,04	0,17	7,88	1,82	0,00	0,08
C2	38,79	40,28	39,86	11,01	40,89	0,89	2,68	5,53	0,09	0,04	0,06	0,13	6,39	1,25	0,00	0,10
C3	43,40	48,98	74,28	20,11	39,10	1,36	8,13	2,03	0,44	0,04	0,24	0,16	13,59	3,27	0,01	0,36
C4	35,00	31,32	67,88	17,32	41,01	1,50	5,41	6,00	0,40	0,05	0,22	0,24	9,41	2,32	0,05	0,35
M1	38,04	41,16	49,07	14,34	41,02	1,33	4,77	3,95	0,25	0,04	0,12	0,28	10,73	2,85	0,01	0,22
M2	50,40	48,05	48,89	18,79	27,53	1,13	4,69	2,24	0,14	0,04	0,09	0,26	10,94	2,97	0,00	0,18
M3	44,35	50,40	49,34	16,78	27,01	1,11	5,27	1,80	0,13	0,07	0,10	0,15	8,58	2,31	0,00	0,20
M4	28,47	35,76	37,90	8,76	31,86	0,92	3,80	1,82	0,19	0,05	0,09	0,20	7,62	2,07	0,01	0,14
G1	48,81	45,67	79,79	24,76	15,19	0,95	4,72	1,13	0,19	0,04	0,22	0,12	15,70	2,87	0,01	0,42
Primavera																
C1	69,90	50,69	46,12	18,34	4,49	0,93	3,31	0,93	0,06	0,03	0,04	0,14	15,07	4,06	0,00	0,10
C2	46,96	42,17	84,02	11,43	39,37	1,12	2,60	3,25	0,12	0,04	0,06	0,14	6,68	1,65	0,00	0,13
C3	45,80	48,01	89,78	17,14	22,92	2,96	13,28	1,60	0,21	0,06	0,20	0,14	9,80	4,69	0,01	0,34
C4	45,73	38,96	58,92	15,63	41,43	3,72	12,35	4,11	0,32	0,04	0,21	0,19	8,98	6,10	0,04	0,31
M1	60,16	47,08	68,61	20,25	16,25	1,59	5,31	1,31	0,13	0,04	0,13	0,19	21,55	6,06	0,00	0,30
M2	68,81	56,51	61,40	21,91	8,58	1,57	6,04	0,94	0,08	0,04	0,09	0,17	20,20	5,70	0,00	0,21
M3	54,67	50,46	55,62	17,02	20,38	1,89	6,01	1,20	0,14	0,06	0,12	0,17	11,48	4,38	0,01	0,21
M4	42,03	34,80	45,79	11,90	23,11	1,98	4,93	1,43	0,18	0,04	0,11	0,16	9,47	3,69	0,01	0,20
G1	53,61	53,89	85,66	23,61	28,38	1,57	6,46	1,29	0,42	0,05	0,26	0,13	13,59	3,55	0,02	0,41

Fonte: Autor.

Os maiores teores de Zn e sódio (Na) total encontrados na montante Marau Animal (0,28 e 0,19 mg g⁻¹ de Zn; 2,85 e 6,06 mg g⁻¹ de Na) e montante Marau Grãos (0,26 e 0,17 mg g⁻¹ de Zn; 2,97 e 5,70 mg g⁻¹ de Na, para outono e primavera, respectivamente) estão relacionados com as aplicações de dejetos advindos da suinocultura, bovinocultura e avicultura nas lavouras. Altos teores de Cu também podem ser oriundos dos dejetos animais, principalmente da suinocultura. O uso de dejetos animais é uma alternativa interessante para diminuir a quantidade de insumos externos. Contudo, dejetos líquidos de suínos e cama de aves possuem concentrações de nutrientes, inclusive metais como Cu e Zn, que são desbalanceadas com as necessidades das culturas. Dessa forma, o uso frequente e em altas doses dos dejetos animais pode aumentar as concentrações desses elementos na água e bioacumulados nos biofilmes epilíticos (LOURENZI et al., 2017).

Para eliminar a influência da fração orgânica dos biofilmes epilíticos sobre os teores pseudo-totais e totais dos elementos, determinou-se essas variáveis levando em consideração apenas a porcentagem de minerais (Tabela 6). Os resultados estão apresentados nas Tabelas 16 e 17.

Eliminando a influência da fração orgânica dos teores pseudo-totais dos elementos, ocorre enriquecimento de alguns elementos nas áreas com maior antropização, tanto nas áreas com agricultura intensiva quanto nas áreas com influência urbana, quando comparadas com o ponto C1, localizado na FLONA. Essa característica pode ser observada principalmente no outono e para os elementos: Al (38,49; 52,35 e 59,82 mg g⁻¹); Fe (55,66; 95,55 e 71,18 mg g⁻¹); Ti (4,01; 7,38 e 6,71 mg g⁻¹); Mg (3,57; 6,98 e 5,24 mg g⁻¹); Co (0,10; 0,50 e 0,18 mg g⁻¹); Cr (0,03; 0,04 e 0,09 mg g⁻¹); Cu (0,06, 0,27 e 0,13 mg g⁻¹) e V (0,11; 0,32 e 0,24 mg g⁻¹), correspondendo aos pontos C1, C3 (ponto agrícola) e M3 (área urbana), respectivamente.

Para Ca obteve-se valores muito semelhantes entre os pontos no outono, porém valores elevados nos pontos C3 (1,35 mg g⁻¹), C4 (1,63 mg g⁻¹), M3 (1,21 mg g⁻¹), M4 (1,65 mg g⁻¹) e G1 (1,10 mg g⁻¹), na primavera. Os elementos Ca e Mg adsorvidos nos biofilmes são oriundos principalmente do calcário aplicado nas lavouras para correção da acidez do solo.

Tabela 16 – Teores de elementos pseudo-totais relacionados à fração mineral de biofilmes epilíticos da bacia hidrográfica do Rio Guaporé, RS

Pontos	Si	Al	Fe	Ti	Mn	Ca	Mg	Ba	Co	Cr	Cu	Zn	K	Na	Ni	Pb	V
mg g ⁻¹ de biofilme fase mineral																	
Outono																	
C1	0,58	38,49	55,66	4,01	11,10	1,21	3,57	1,42	0,10	0,03	0,06	0,31	4,67	1,08	0,05	0,06	0,11
C2	0,36	43,61	63,25	3,66	77,98	1,16	3,53	7,70	0,11	0,04	0,07	0,14	4,89	0,93	0,04	0,11	0,13
C3	0,41	52,35	95,55	7,38	53,06	1,13	6,98	2,41	0,50	0,04	0,27	0,19	3,58	0,96	0,05	0,04	0,32
C4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M3	0,49	59,82	71,18	6,71	38,77	1,28	5,24	2,42	0,18	0,09	0,13	0,27	6,56	1,17	0,04	0,06	0,24
M4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G1	0,46	40,67	103,51	10,61	18,20	1,06	4,45	1,33	0,21	0,04	0,21	0,23	6,00	0,99	0,05	0,03	0,42
Primavera																	
C1	0,64	27,66	44,60	4,73	4,67	0,63	2,24	0,78	0,05	0,03	0,04	0,16	2,83	0,86	0,00	0,05	0,08
C2	0,61	30,06	99,99	2,95	52,63	0,72	2,44	3,60	0,14	0,04	0,05	0,16	3,86	0,76	0,01	0,05	0,12
C3	0,59	27,67	80,99	6,80	24,63	1,35	6,30	1,34	0,18	0,05	0,18	0,15	3,35	0,90	0,02	0,02	0,27
C4	0,50	25,17	52,05	6,22	73,19	1,63	4,84	4,38	0,33	0,04	0,21	0,24	3,83	1,08	0,05	0,03	0,28
M1	0,54	25,84	66,03	8,71	17,45	0,65	3,32	1,20	0,12	0,02	0,11	0,17	3,59	0,85	0,01	0,04	0,26
M2	0,51	33,11	50,56	6,90	8,43	0,66	3,42	0,73	0,07	0,04	0,07	0,25	3,16	0,79	0,01	0,02	0,15
M3	0,62	34,97	57,43	5,74	25,02	1,21	4,13	1,36	0,15	0,06	0,12	0,17	4,84	1,03	0,03	0,06	0,19
M4	0,62	33,25	61,28	6,41	33,50	1,65	4,64	1,88	0,24	0,05	0,14	0,24	6,79	1,58	0,03	0,03	0,24
G1	0,59	40,95	92,89	10,38	32,06	1,10	4,67	1,36	0,44	0,04	0,27	0,15	1,89	0,91	0,04	0,03	0,39

Fonte: Autor.

Tabela 17 – Teores de elementos totais relacionados à fração mineral de biofilmes epilíticos da bacia hidrográfica do Rio Guaporé, RS

Pontos	Si	Al	Fe	Ti	Mn	Ca	Mg	Ba	Co	Cr	Cu	Zn	K	Na	Ni	V	Si/Al	Si/Al+Fe
mg g ⁻¹ de biofilme fase mineral																		
Outono																		
C1	71,58	57,43	52,32	17,77	10,99	1,21	4,63	1,51	0,10	0,04	0,06	0,27	12,69	2,92	0,00	0,12	1,25	0,65
C2	55,61	57,74	57,14	15,78	58,62	1,28	3,85	7,92	0,12	0,06	0,08	0,19	9,16	1,79	0,00	0,14	0,96	0,48
C3	55,62	62,77	95,19	25,77	50,11	1,74	10,42	2,60	0,56	0,05	0,31	0,20	17,41	4,19	0,01	0,46	0,89	0,35
C4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M3	65,85	74,84	73,26	24,91	40,10	1,65	7,83	2,67	0,20	0,11	0,15	0,22	12,74	3,42	0,00	0,29	0,88	0,44
M4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G1	65,56	61,34	107,17	33,26	20,40	1,27	6,34	1,52	0,26	0,05	0,30	0,16	21,08	3,86	0,01	0,56	1,07	0,39
Primavera																		
C1	87,53	63,48	57,76	22,97	5,63	1,16	4,15	1,17	0,07	0,04	0,05	0,17	18,87	5,08	0,00	0,12	1,38	0,72
C2	63,77	57,26	114,08	15,52	53,45	1,53	3,53	4,41	0,17	0,06	0,08	0,19	9,07	2,24	0,00	0,18	1,11	0,37
C3	56,39	59,10	110,52	21,10	28,22	3,64	16,35	1,97	0,25	0,07	0,24	0,17	12,06	5,78	0,02	0,42	0,95	0,33
C4	59,98	51,09	77,27	20,49	54,33	4,88	16,20	5,39	0,42	0,06	0,28	0,25	11,77	8,00	0,05	0,41	1,17	0,47
M1	73,89	57,83	84,27	24,87	19,96	1,95	6,52	1,61	0,16	0,05	0,15	0,23	26,47	7,44	0,00	0,37	1,28	0,52
M2	81,48	66,91	72,70	25,95	10,16	1,86	7,16	1,11	0,09	0,04	0,10	0,20	23,92	6,75	0,00	0,25	1,22	0,58
M3	75,24	69,44	76,55	23,42	28,04	2,59	8,27	1,65	0,19	0,08	0,17	0,23	15,80	6,02	0,01	0,29	1,08	0,52
M4	66,51	55,08	72,47	18,84	36,57	3,13	7,80	2,26	0,28	0,07	0,17	0,26	14,99	5,84	0,02	0,32	1,21	0,52
G1	66,24	66,59	105,84	29,17	35,07	1,94	7,98	1,60	0,51	0,06	0,33	0,17	16,80	4,39	0,02	0,50	0,99	0,38

Fonte: Autor.

O Cu é proveniente dos esterco animais, que muitas vezes são aplicados em excesso no solo, devido a sua abundância nas propriedades, ocasionando a transferência desse elemento para o meio aquático. Cu e Fe ainda podem ser oriundos da adição de fertilizantes minerais como os fosfatados, nitrogenados e potássicos que trazem em sua matéria prima resíduos ricos em micronutrientes, não inertizados na sua industrialização (CAPOANE et al., 2016). Os elementos vanádio (V), cromo (Cr) e cobalto (Co) adsorvidos nos biofilmes podem ser provenientes tanto dos fertilizantes quanto dos esgotos urbanos.

O ponto C2 (barragem Capingui) apresentou valores elevados, no outono e primavera, respectivamente, para Mn (77,98 e 52,63 mg g⁻¹) e Ba (7,70 e 3,60 mg g⁻¹). Os valores de Mn podem ser compatíveis com as características geológicas das áreas. O Mn pode ter origem na rocha, então seus teores ocorrem em razão do tipo de rocha presente, visto que o leito do rio geralmente contém mais de um tipo de rocha, então a composição mineral dos biofilmes pode variar de acordo com esse fator. A variação também ocorre em função da intensidade da escovação, que pode extrair maior ou menor quantidade de biofilme, o que irá influenciar nos teores de elementos presentes. Assim como o Mn, os elementos Fe, Al e Si também podem ser oriundos da rocha e serem influenciados pelo processo de escovação. Os altos teores de Ba acumulados nos biofilmes desse ponto podem ser oriundos de resíduos da barragem ou da própria geologia da região, que pode naturalmente elevar as concentrações de alguns elementos na água.

Na primavera a confluência concentrou alguns elementos, como Al (40,95 mg g⁻¹), Fe (92,89 mg g⁻¹), Ti (10,38 mg g⁻¹), Co (0,44 mg g⁻¹), Cu (0,27 mg g⁻¹) e V (0,39 mg g⁻¹). Esperava-se efeito de diluição, conforme observado por Bastos et al. (2018), com a ocorrência de medicamentos. Porém, as concentrações desses elementos mostraram-se superiores às dos demais pontos. Isso pode ter ocorrido pois esse ponto possui a maior área de captação (541,7 km²) e a velocidade da água é baixa (0,2 m s⁻¹), o que propicia a adsorção desses elementos nos biofilmes epilíticos.

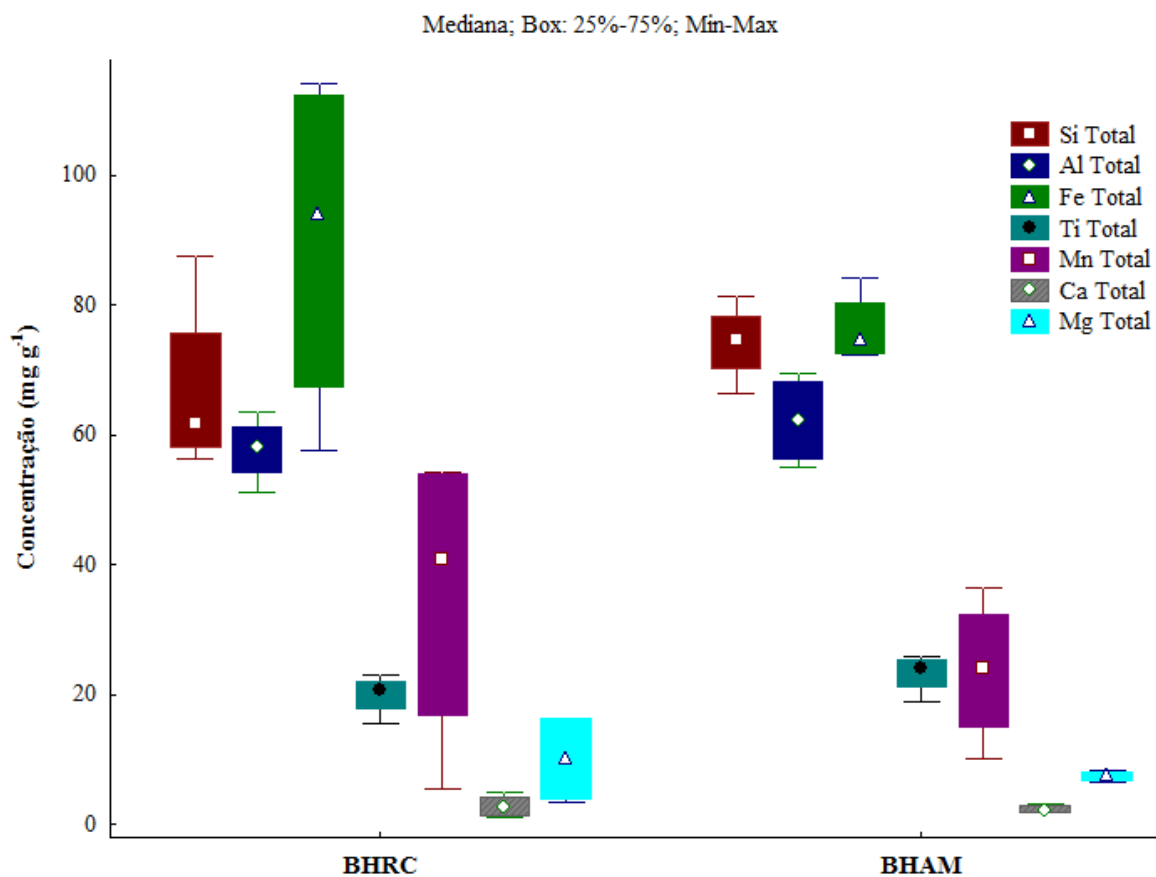
Quanto aos elementos totais (Tabela 17), assim como para os teores pseudo-totais de alguns elementos, no outono e primavera, respectivamente, a FLONA apresentou os menores teores de Fe (52,32 e 57,76 mg g⁻¹), Mn (10,99 e 5,63 mg g⁻¹), Ca (1,21 e 1,16 mg g⁻¹), Ba (1,51 e 1,17 mg g⁻¹), Co (0,10 e 0,07 mg g⁻¹), Cr (0,04 e 0,04 mg g⁻¹), Cu (0,06 e 0,05 mg g⁻¹) e V (0,12 e 0,12 mg g⁻¹), ressaltando a proteção fornecida pela floresta. Os pontos C3 e C4 novamente destacam-se pelos elevados teores de Ca (1,74 e 3,64 mg g⁻¹, para outono e primavera, respectivamente, no ponto C3; 4,88 mg g⁻¹ na primavera, para o ponto C4) e Mg

(10,42 e 16,35 mg g⁻¹, para outono e primavera, respectivamente, no ponto C3; 16,20 mg g⁻¹ na primavera, para o ponto C4).

A cidade de Marau apresentou as maiores concentrações para Al (74,84 e 69,44 mg g⁻¹, no outono e primavera, respectivamente). O aumento da concentração de Al nos biofilmes epilíticos após a cidade de Marau é uma consequência das atividades industriais e domésticas desenvolvidas próximas ao rio. Esse comportamento foi observado por Assmann et al. (2017), ao analisarem a concentração de Al em líquens amostrados em três fragmentos localizados em área urbana, industrial e rural, no município de Erechim, região sul do Brasil. Os autores verificaram que as duas áreas em contato com maior descarga de poluição da cidade foram também as que apresentaram maiores concentrações de Al nos líquens.

Em concordância com a Tabela 17, a Figura 37 exibe o box-plot das concentrações de elementos totais da fração mineral dos biofilmes epilíticos na sub-bacia do Rio Capingui e na sub-bacia do Arroio Marau, para a primavera. A comparação das medianas permite inferir que as mesmas são muito semelhantes para os elementos Al, Ti e Ca entre as duas sub-bacias, porém para Al e Ti as medianas são levemente superior na sub-bacia do Arroio Marau. A sub-bacia do Arroio Marau tende a apresentar maiores concentrações de Si, porém as maiores variações entre os pontos foram observadas na sub-bacia do Rio Capingui. A sub-bacia do Rio Capingui apresenta maiores concentrações de Fe, Mn e Mg e também maior variação entre os pontos. Apesar de ser uma sub-bacia totalmente agrícola, a mesma possui uma área de floresta, onde está localizado o ponto C1, o qual apresentou baixas concentrações de Fe, Mn e Mg acumulados nos biofilmes, em comparação com os demais pontos.

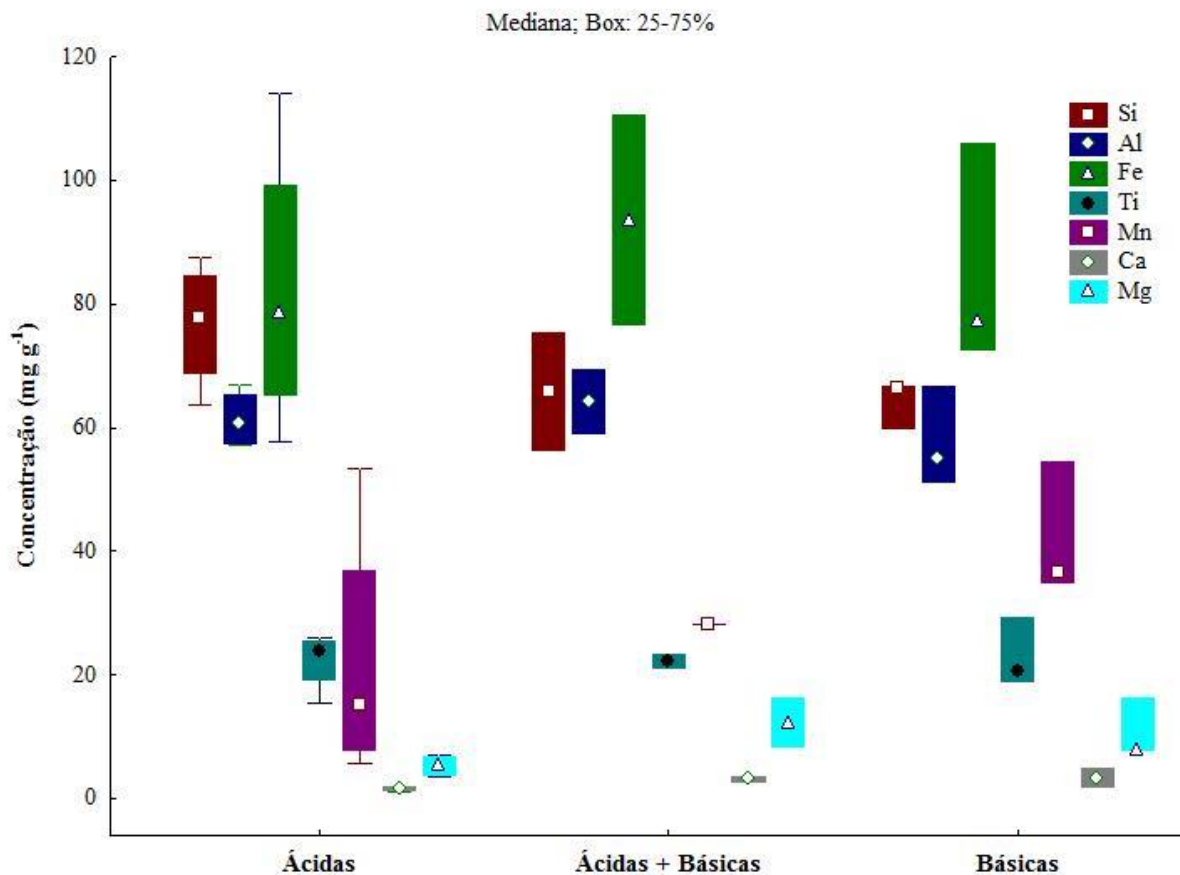
Figura 37 – Box-plot das concentrações de elementos totais da fração mineral dos biofilmes epilíticos na sub-bacia do Rio Capingui (BHRC) e na sub-bacia do Arroio Marau (BHAM), para a primavera



Fonte: Autor.

Como os elementos da fração mineral acumulados nos biofilmes podem ser oriundos do processo erosivo ou de resíduos da própria rocha, buscou-se verificar se o tipo de rocha exerce influência sobre os teores de elementos totais da fração mineral dos biofilmes epilíticos. A Figura 38 exibe o box-plot das concentrações de elementos totais da primavera, comparando pontos sob influência de rochas vulcânicas ácidas, rochas vulcânicas básicas e de ambos os tipos de rochas (conforme mapa litológico da Figura 10). As rochas vulcânicas ácidas predominam nos pontos C1 (FLONA), C2 (barragem Capingui), M1 (montante Marau Animal) e M2 (montante Marau Grãos) e apresentam elevados teores de Si e Al. As rochas vulcânicas básicas ocorrem predominantemente nos pontos C4 (exutório Capingui), M4 (exutório Marau) e G1 (confluência) e caracterizam-se por apresentar maiores teores de Mg e Fe. Nos pontos C3 (agricultura) e M3 (cidade Marau) verifica-se a presença de ambos os tipos de rochas.

Figura 38 – Box-plot das concentrações de elementos totais da fração mineral dos biofilmes epilíticos da primavera, comparando pontos sob influência de rochas vulcânicas ácidas, rochas vulcânicas básicas e de ambos os tipos de rochas



Fonte: Autor.

A comparação das medianas permite inferir que as mesmas são muito semelhantes para os elementos Ca, Mg e Ti, nos três tipos de rochas. As rochas básicas tendem a apresentar teores mais elevados de Mn, porém a maior variação entre os pontos foi observada nas rochas ácidas. A mediana para Fe mostrou-se levemente superior para os pontos com predominância de ambos os tipos de rochas. A mediana para Al é levemente superior para as rochas ácidas + básicas. Para o elemento Si encontrou-se mediana superior nas rochas ácidas. Assim, pode-se afirmar que o tipo de rocha pode influenciar nos teores de Si e Al acumulados nos biofilmes epilíticos. Contudo, como as diferenças entre os tipos de rochas são pequenas, infere-se que a erosão é o principal fator responsável pela adsorção desses elementos nos biofilmes. Os elementos Ca, Mg, Ti, Mn e Fe são oriundos dos processos erosivos e seus teores nos biofilmes são fracamente influenciados pelo material de origem.

As relações Si/Al e Si/Al+Fe podem ser utilizadas para avaliar o grau de intemperismo. Os valores obtidos nos biofilmes epilíticos para a relação Si/Al são menores que 2,0 tanto no

outono quanto na primavera, situando-se entre 0,88 (ponto M3 no outono) e 1,38 (ponto C1 na primavera), o que pode indicar a presença de caulinita (argilomineral 1:1) + gibbsita (óxido de alumínio) (CANELLAS et al., 2000). Os valores encontrados para a relação Si/Al+Fe nos biofilmes também são baixos e variaram de 0,35 (no ponto C3 no outono) a 0,72 (no ponto C1, na primavera). Valores mais elevados para a relação Si/Al são atribuídos aos maiores teores de Si no material de origem e à menor ação da drenagem (GHIDIN et al., 2006). O ponto C1 apresentou a maior relação Si/Al, tanto no outono quanto na primavera, o que indica a predominância de rochas vulcânicas ácidas nesse ponto (com maior teor de SiO₂). Cabe ressaltar que as classes de solos predominantes na área em estudo da bacia do Rio Guaporé são Nitossolo Bruno (pontos C1 e C2) e Latossolo Vermelho (pontos C3, C4, M1, M2, M3, M4 e G1), conforme Figura 14. A mineralogia da fração argila dos Latossolos é bem desenvolvida, apresentando predomínio de caulinita e óxidos e hidróxidos de Fe (hematita, goethita e maghemita) e Al (gibbsita). Os Nitossolos apresentam características químicas mineralógicas semelhantes. Essas informações justificam as baixas relações Si/Al e Si/Al+Fe encontradas para os biofilmes epilíticos, visto que os elementos Si, Al e Fe acumulados nos biofilmes são oriundos principalmente dos processos de erosão do solo e transporte de sedimentos (FINK; PEDRON, 2015).

Para verificar a influência da granulometria (após oxidação da matéria orgânica com H₂O₂) e dos atributos da paisagem sobre os teores de elementos pseudo-totais e totais dos biofilmes epilíticos, realizou-se a Correlação Ordinal de Spearman, para a primavera, conforme Tabela 18 e 19, respectivamente.

Os teores pseudo-totais dos elementos impregnados nos biofilmes apresentaram correlações significativas com a granulometria, área de captação, intensidade de uso da terra e classes de relevo. Os teores de Al e Cr apresentaram correlação positiva com a fração argila, demonstrando que o Al na forma de óxido ou hidróxido está presente na fração argila dos biofilmes. Da mesma forma, o Cr possui grande afinidade com as partículas mais reativas e de maior ASE. Os elementos Al, Mn, Ca, Ba, Co, Cr e K relacionaram-se negativamente com os teores de silte, indicando a não afinidade destes elementos com esta fração mineral. Os elementos Mn e Ba apresentaram relação positiva com o volume de partículas de tamanho areia, a qual é constituída principalmente por quartzo (mineral composto por tetraedros de SiO₂). Ou seja, estes elementos acumulados nos biofilmes são oriundos de sedimentos mais grosseiros. Percebe-se ainda que, quanto maior a área de captação maior é o acúmulo de Mn, Ca, Mg, Co, Cu, Na, Ni e V sobre os biofilmes epilíticos. Isso indica uma tendência à movimentação dos sedimentos, indicando que esses elementos são oriundos do processo erosivo.

Tabela 18 – Correlação Ordinal de Spearman para granulometria, atributos da paisagem e concentrações de elementos pseudo-totais da fração mineral dos biofilmes epilíticos da primavera, na bacia hidrográfica do Rio Guaporé

	Argila	Silte	Areia	Área de captação	Área de floresta	Área de lavoura	0-3%	3-12%	12-20%	20-45%	>45%
Si	0,35	-0,34	-0,37	-0,26	0,32	-0,40	-0,50	-0,51	0,44	0,34	0,41
Al	0,68	-0,60	-0,23	0,45	-0,51	0,24	-0,08	0,08	0,00	0,03	0,82
Fe	0,30	-0,55	0,27	0,22	0,15	-0,25	0,58	0,30	-0,36	-0,26	0,18
Ti	0,28	0,15	-0,05	0,33	-0,54	0,47	-0,03	-0,04	0,19	0,21	0,18
Mn	-0,03	-0,67	0,73	0,65	0,10	-0,07	0,54	0,30	-0,53	-0,20	0,27
Ca	0,40	-0,70	0,28	0,78	-0,14	0,19	0,32	0,16	-0,38	0,00	0,46
Mg	0,33	-0,33	0,07	0,80	-0,19	0,15	0,42	0,24	-0,33	-0,14	0,27
Ba	-0,04	-0,67	0,68	0,58	0,22	-0,18	0,45	0,17	-0,43	-0,12	0,28
Co	0,28	-0,60	0,42	0,93	-0,10	0,02	0,37	0,08	-0,24	0,00	0,55
Cr	0,71	-0,74	-0,28	0,54	-0,30	0,21	0,20	0,27	-0,34	-0,11	0,57
Cu	0,32	-0,38	0,22	0,90	-0,24	0,15	0,29	0,06	-0,14	0,05	0,46
Zn	-0,13	0,08	0,25	0,04	-0,55	0,76	-0,21	0,07	-0,09	0,19	-0,05
K	0,35	-0,70	0,22	0,13	-0,14	0,31	0,03	0,03	-0,22	0,21	0,27
Na	0,38	-0,48	0,10	0,73	-0,17	0,19	-0,26	-0,41	0,22	0,49	0,64
Ni	0,26	-0,54	0,34	0,96	-0,29	0,23	0,25	0,09	-0,21	0,06	0,56
Pb	0,00	-0,20	-0,11	-0,33	0,22	-0,27	-0,40	-0,40	0,37	0,32	0,19
V	0,20	-0,20	0,25	0,75	-0,20	0,15	0,29	0,03	-0,07	0,08	0,27

Fonte: Autor.
 $p < 0.10$

Tabela 19 – Correlação Ordinal de Spearman para granulometria, atributos da paisagem e concentrações de elementos totais da fração mineral dos biofilmes epilíticos da primavera, na bacia hidrográfica do Rio Guaporé

	Argila	Silte	Areia	Área de captação	Área de floresta	Área de lavoura	0-3%	3-12%	12-20%	20-45%	>45%
Si	0,00	0,38	-0,43	-0,48	-0,32	0,29	-0,80	-0,45	0,62	0,44	0,09
Al	0,38	0,15	-0,78	-0,10	-0,47	0,20	-0,30	0,04	0,24	-0,03	0,27
Fe	0,02	-0,25	0,22	0,13	0,22	-0,31	0,80	0,57	-0,57	-0,56	-0,18
Ti	0,17	0,40	-0,43	0,07	-0,58	0,37	-0,33	-0,13	0,41	0,19	0,18
Mn	-0,07	-0,62	0,75	0,63	0,19	-0,14	0,63	0,34	-0,59	-0,27	0,18
Ca	0,32	-0,37	0,12	0,62	-0,19	0,31	0,23	0,06	-0,21	0,14	0,18
Mg	0,38	-0,25	-0,20	0,70	-0,24	0,19	0,24	0,15	-0,19	-0,05	0,27
Ba	-0,05	-0,57	0,57	0,35	0,34	-0,19	0,51	0,22	-0,50	-0,16	0,00
Co	0,28	-0,60	0,42	0,93	-0,10	0,02	0,37	0,08	-0,24	0,00	0,55
Cr	0,80	-0,85	-0,22	0,57	-0,20	0,08	0,24	0,14	-0,22	0,02	0,64
Cu	0,33	-0,37	0,12	0,88	-0,27	0,15	0,29	0,09	-0,14	0,02	0,46
Zn	0,12	-0,30	0,35	0,17	-0,36	0,63	-0,14	-0,10	-0,05	0,41	0,09
K	0,08	0,55	-0,43	-0,37	-0,46	0,42	-0,68	-0,45	0,69	0,51	0,00
Na	-0,08	0,27	0,03	0,10	-0,49	0,70	-0,20	-0,06	0,09	0,31	-0,18
Ni	0,17	-0,43	0,35	0,92	-0,07	0,03	0,22	-0,03	-0,14	0,07	0,48
V	0,30	-0,22	0,13	0,70	-0,19	0,12	0,31	0,04	-0,07	0,06	0,27

Fonte: Autor.
 $p < 0.10$

O Zn apresentou correlação positiva com as áreas de lavoura. Este elemento está presente nas rações fornecidas aos suínos, assim, a presença de Zn nos biofilmes é oriunda das aplicações de dejetos orgânicos nas lavouras e, posterior transporte até os rios. Os elementos Al e Na estão associados com as classes de relevo que apresentam declividade superior a 45%, confirmando o efeito da erosão sobre o acúmulo dos mesmos nos biofilmes.

Os elementos totais impregnados nos biofilmes apresentaram correlações significativas com a granulometria, a área de captação, as áreas de lavoura e com as classes de relevo (Tabela 19). Os teores de Cr apresentaram relação positiva com a argila e negativa com o silte, confirmando a maior afinidade do Cr com as partículas mais reativas e de maior ASE presentes nos biofilmes. Além disso, Mn e Co, assim como nos elementos pseudo-totais, apresentaram relação significativa e negativa com a fração silte. O Al relacionou-se negativamente com a fração areia, visto que esse elemento é constituinte de minerais com menor granulometria. No entanto, a areia apresentou relação positiva com Mn, confirmando o que foi verificado para os teores pseudo-totais de elementos.

As maiores áreas de captação também apresentaram maior acúmulo de Mn, Ca, Mg, Co, Cu, Ni e V sobre os biofilmes epilíticos, indicativo de que o processo erosivo está presente na BHRG, mesmo nas áreas que utilizam SPD. Os elementos Zn e Na relacionaram-se positivamente com as áreas de lavoura, confirmando sua origem nos dejetos orgânicos aplicados. Quanto a declividade, o Fe e o Mn estão associados positivamente com locais de menor declividade (0-3%) enquanto o Si e o K relacionam-se negativamente. Relevos com declividade entre 12 e 20% tendem a facilitar o transporte e deposição de Si e K juntamente com os sedimentos e desfavorecem o acúmulo de Mn nos biofilmes. O elemento Cr está associado com a classe de relevo que apresenta declividade superior a 45%.

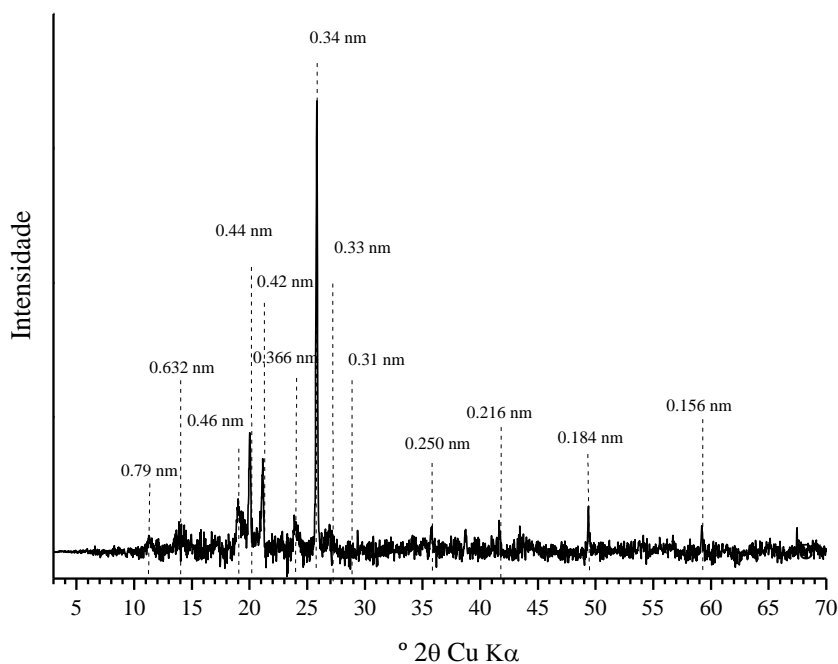
6.2.3.3 Mineralogia dos biofilmes epilíticos

A difratometria de raios-X é a mais utilizada ferramenta para estudo de minerais, particularmente aqueles presentes na fração argila. Ela produz informações detalhadas sobre a estrutura cristalográfica de suas amostras, que podem ser usadas para identificar as fases presentes (RESENDE et al., 2011). Assim, essa técnica também foi aplicada aos biofilmes epilíticos do ponto C1, localizado no interior da FLONA, com o objetivo de obter informações sobre a presença de minerais nos biofilmes epilíticos em ambientes naturais.

O resultado da análise de difratometria de raios-X (DRX) é apresentado na forma de um gráfico, o difratogramas, cujas variáveis são o ângulo 2θ (ângulo de difração dos minerais, as

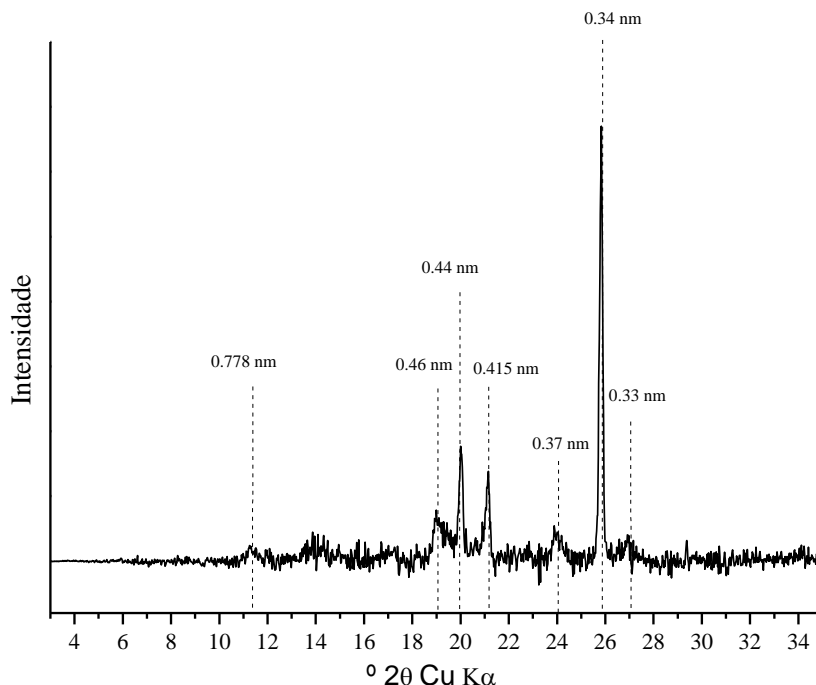
quais representam o espaçamento entre os planos atômicos dos minerais d: a impressão digital dos minerais) versus a intensidade dos picos difratados (eixo vertical, onde também aparece a fonte emissora, $\text{CuK } \alpha$ com $\lambda = 0,15418 \text{ nm}$). As alturas dos picos são proporcionais às intensidades dos efeitos da difração (RESENDE et al., 2011). Assim, a Figura 39 exibe o difratograma obtido a partir da análise mineralógica do biofilme na forma de pó desorientado, ao passo que a Figura 40 demonstra o difratograma obtido a partir da análise de mineralogia do biofilme na forma de depósito em lâmina orientada.

Figura 39 – Difratograma de raios-X da análise mineralógica do biofilme na forma de pó desorientado, obtido no ponto C1 na bacia hidrográfica do Rio Guaporé, RS



Fonte: Autor.

Figura 40 – Difratoograma de raios-X da análise mineralógica do biofilme na forma de depósito em lâmina orientada, obtido no ponto C1 na bacia hidrográfica do Rio Guaporé, RS



Fonte: Autor.

O difratograma de raios-X do biofilme na forma de pó desorientado representa uma subamostra da FLONA na qual não foi realizado nenhum tratamento prévio para queimar a matéria orgânica. Como verificado, a fração orgânica dos biofilmes epilíticos forma complexos com a argila, sendo que essa argila se torna “livre” após oxidação da matéria orgânica. Assim, nesse difratograma, não foi possível identificar argilominerais com menor granulometria, devido à influência da matéria orgânica, inclusive, percebe-se que os picos identificados possuem intensidade muito baixa.

O pico intenso em 0,34 nm e o pico em 0,42 nm (Figura 39) indicam a presença de quartzo, presente na fração grosseira (mineral dominante na fração areia) dos sedimentos aderidos ao biofilme. O pico em 0,33 nm pode indicar a presença de quartzo na fração argila, um material extremamente cristalino, porém isso não pode ser confirmado, devido a baixa intensidade do pico. O pico em 0,44 nm é indicativo da presença de caulinita. A caulinita é produto do intemperismo ácido, onde se prevê u expressiva retirada de sílica e bases do sistema. Os picos em 0,250 nm, 0,216 nm, 0,184 nm e 0,156 nm podem ser indicativos da presença de feldspatos (minerais componentes de vários tipos de rochas, são tectossilicatos de Al em cuja

estrutura aparecem íons como Na, K, Ca e Ba) e/ou óxidos de ferro (goethita e hematita) (RESENDE et al., 2011).

Com a disposição do biofilme em lâmina orientada e procedimento prévio de queima da matéria orgânica (Figura 39), os picos podem ser melhor visualizados. A identificação de minerais pela DRX é justificada pela grande porcentagem de material mineral presente nos biofilmes epilíticos (62,14 a 79,85% para o ponto C1, conforme Tabela 6). Porém, ainda assim, não foi possível visualizar picos de argilominerais 2:1, os quais podem ser identificados em ângulos 2θ inferiores a 14 ou mesmo minerais presentes em grandes quantidades nos solos, como óxidos e a caulinita. De qualquer forma, os resultados do difratograma fornecem duas possibilidades (ou ambas as possibilidades) para a presença dos minerais no biofilme epilítico: i) a presença de minerais da rocha, através do intemperismo promovidos pelos microrganismos ou oriundos dos sedimentos transportados das lavouras e estradas até o rio; ii) a neoformação de minerais nos biofilmes epilíticos, pela influência dos microrganismos (bioformação). A neoformação indica que grande parte dos minerais presentes não estavam no solo, mas foram neoformados no biofilme e contém basicamente Ca e Mg. Assim, torna-se difícil identificar exatamente qual é o tipo de mineral. Outra hipótese é oriunda da escovação das rochas. Grande parte desses minerais pode ter sido escovada da rocha, visto que os minerais vão ficando adsorvidos nos grupos funcionais do biofilme.

Assim como no difratograma do biofilme em pó, na lâmina orientada o pico intenso em 0,34 nm é indicativo da presença de quartzo (constituído basicamente por SiO_2), presente na fração areia. Os picos em 0,44 e 0,415 nm indicam a presença de minerais da rocha associados a minerais contendo Ca e Mg. O pico em 0,44 nm indica também a presença de caulinita. A ocorrência do pico em 0,44 nm e não em 0,715 nm da caulinita é devido a interstratificação com argilominerais 2:1. A confirmação somente ocorre com aquecimento da amostra a 350 °C. Os ruídos, em baixa intensidade, são representativos de minerais neoformados na estrutura do próprio biofilme. O pico visível em 0,778 nm é oriundo da fração argila, provavelmente representa argilominerais interstratificados do solo. A FLONA, onde está localizado o ponto de coleta, compreende a região predominantemente constituída por rochas de composição ácida da Formação Serra Geral, o que explica a presença do quartzo e a alta intensidade desse pico no difratograma, visto que as rochas vulcânicas ácidas são constituídas por mais de 65% de SiO_2 (INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE, 2011; FONTES, 2015).

Pires e Lacerda (2015) ao analisarem biofilmes de manguezais, verificaram que a mineralogia geral para sedimentos e biofilmes revelou a presença de quartzo, micas, feldspato,

mica-vermiculita e anfibólio. Já a mineralogia dos argilominerais revelou a presença de caulinita, illita, esmectita, clorita e camadas mistas irregulares de illita-clorita e illita-esmectita. Dessa forma, para os biofilmes epilíticos deste estudo, maiores tempos de análise das amostras em lâmina orientada também poderiam fornecer difratogramas com picos de argilominerais 2:1.

6.2.4 Conclusões

- a) A distribuição do tamanho de partículas dos biofilmes epilíticos demonstrou que o maior volume de partículas acumuladas nessas comunidades encontra-se no tamanho de silte (2-53 μm), independente da oxidação ou não da matéria orgânica.
- b) Os biofilmes epilíticos bioacumulam quantidades significativas de elementos, principalmente Al, Fe, Mn, Ca e Mg, os quais podem ser oriundos do material de origem ou das atividades antrópicas (agrícolas e/ou urbanas) e posterior transporte por erosão.
- c) A DRX revelou a presença de quartzo e illita, principalmente e a possibilidade de neoformação de minerais nos biofilmes epilíticos.
- d) A composição química mineral dos biofilmes epilíticos foi determinada a partir de técnicas de análise estrutural, granulométrica e espectroscópicas, possibilitando a caracterização dessas comunidades.
- e) As diferentes ações antrópicas desenvolvidas nas bacias hidrográficas rurais, principalmente a agricultura e as áreas urbanas alteram expressivamente a composição mineral dos biofilmes epilíticos.
- f) O biofilme epilítico pode ser uma ferramenta útil para avaliar o impacto da ação antrópica em ambientes aquáticos, inclusive a presença de elementos oriundos dos processos erosivos.

7 CONCLUSÕES GERAIS

Os biofilmes epilíticos formam um consórcio biológico altamente ativo, pronto para utilizar os materiais orgânicos e inorgânicos presentes no meio aquático e, dessa forma, permanecem submetidos às influências dos diferentes fatores ambientais. As substâncias poliméricas extracelulares imobilizam as células e as mantêm em estreita proximidade, permitindo interações intensas, incluindo a comunicação célula-célula e a formação de consórcios sinérgicos. Além disso, as EPS são capazes de reter enzimas extracelulares, permitindo a utilização de materiais do meio ambiente e a transformação destes materiais em nutrientes dissolvidos para uso por algas e bactérias. Assim, tanto a estrutura física do biofilme quanto a plasticidade dos organismos que nele se desenvolvem, garantem e sustentam sua sobrevivência em ambientes agressivos ou em condições ambientais em mudança (FLEMMING; WINGENDER, 2010; SABATER et al., 2016b).

As análises de caracterização dos biofilmes epilíticos indicaram a presença de grupos funcionais reativos na fração orgânica e na fração argila, o que confirma as propriedades coloidais dessas comunidades. A fração orgânica dos biofilmes é constituída basicamente por polissacarídeos, compostos contendo N, lipídios, lignina e compostos aromáticos e fenólicos, os quais apresentam grupos funcionais característicos de álcool, éster, éter e amida, principalmente, responsáveis pela interação e adsorção de outras moléculas, como nutrientes e contaminantes orgânicos e inorgânicos. Assim, os biofilmes possuem composições químicas similares. Os compostos vegetais e os polissacarídeos apresentaram relação significativa e positiva com os pontos da FLONA e da barragem do Rio Capingui. O ponto à montante da cidade de Marau (agrícola) e o ponto com agricultura intensiva na sub-bacia do Rio Capingui estão relacionados pois apresentaram concentrações mais elevadas de compostos contendo N, oriundos dos fertilizantes nitrogenados aplicados no solo.

Nesse sentido, as atividades antrópicas tem contribuído para que compostos orgânicos contendo C e N cheguem até os rios e se acumulem nos biofilmes epilíticos, alterando sua composição natural. Dessa forma, o desenvolvimento das comunidades epilíticas pode ser influenciado pelas alterações que estão ocorrendo no meio e em determinados períodos do ano, inclusive alterações devido a maior ou menor intensidade de uso do solo ou a maior ou menor descarga de efluentes domésticos e industriais.

A fração inorgânica dos biofilmes representa a “contaminação” das comunidades epilíticas por partículas oriundas do processo erosivo. Essas partículas encontram-se principalmente no tamanho de partícula correspondente à fração silte do solo (2-53 μm). Além

disso, grande quantidade de partículas adsorvidas nos biofilmes e que possuem diâmetro equivalente a fração argila do solo foi extraída somente após oxidação da matéria orgânica, visto que a argila forma complexos organominerais estáveis com o material orgânico.

O transporte e deposição de partículas oriundas da erosão do solo ocasionam a adsorção de quantidades significativas de elementos na matriz biofilme, principalmente Al, Fe, Mn, Ca, Mg, Cu e Zn. Na maioria das áreas de cultivo, a erosão do solo é exacerbada pela ausência de estratégias de controle do escoamento mecânico. Além disso, a compactação do solo devido ao trânsito de máquinas agrícolas pesadas diminui a infiltração de água no solo e aumenta o escoamento, facilitando a transferência da camada de solo mais alta, rica em nutrientes para os corpos d'água (MERTEN et al., 2015). Os resultados indicam a conectividade dos processos erosivos com a rede fluvial do Rio Guaporé, fator este responsável pela adsorção de compostos orgânicos e contaminação dos biofilmes epilíticos com elementos e nutrientes das áreas de lavoura (TIECHER et al., 2017).

8 PERSPECTIVAS DE ESTUDOS FUTUROS

i) Realização de novas coletas na BHRG com o objetivo de analisar biologicamente os biofilmes epilíticos e relacionar a ocorrência, diversidade e abundância das diatomáceas epilíticas com o cenário ambiental da bacia, a partir de análises de microscopia óptica e de microscopia eletrônica de varredura;

ii) Aprofundar os estudos sobre mineralogia de biofilmes epilíticos a partir de análises de DRX de amostras de biofilmes e também de amostras de rochas (nas quais os biofilmes estão bioacumulados), a fim de verificar a existência do processo de neoformação de minerais, bem como aumentar o tempo de análise das amostras de biofilmes em lâmina orientada, com o objetivo de obter difratogramas com picos que identifiquem argilominerais 2:1;

iii) Compreender os processos de degradação de agrotóxicos realizados por biofilmes epilíticos, com ênfase no herbicida Glifosato, a partir de estudos de biologia molecular e estrutural dos microrganismos presentes no biofilme.

REFERÊNCIAS

- ANCION, P. Y.; LEAR, G.; DOPHEIDE, A.; LEWIS, G. D. Metal concentration in stream biofilm and sediments and their potential to explain biofilm microbial community structure. **Environmental Pollution**, Nova Zelândia, v. 173, p. 117–124, fev. 2013.
- ANCION, P.; LEAR, G.; NEALE, M.; ROBERTS, K.; LEWIS, G. D. Using biofilm as a novel approach to assess stormwater treatment efficacy. **Water Research**, Nova Zelândia, v. 49, p. 406–415, fev. 2014.
- ANDRADE, M. V. F. **Avaliação do impacto de atividades antrópicas no rio Jaguaribe – o uso de hidrocarbonetos aromáticos como marcadores de fontes**. 2012, 102 p. Dissertação de mestrado em Ciências Marinhas Tropicais - Universidade Federal do Ceará, 2012.
- ARCHELA, E.; CARRARO, A.; FERNANDES, F.; BARROS, O. N. F.; ARCHELA, R. S. Considerações sobre a geração de efluentes líquidos em centros urbanos. **Geografia**, Londrina, v. 12, n. 1, p. 517-525, jan./jun. 2003.
- ARNOT, J. A.; GOBAS, F. A. P. C. A food web bioaccumulation model for organic chemicals in aquatic ecosystems. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 23, n. 10, p. 2343–2355, out. 2004.
- ASSMANN, B. R.; CAPELLESSO, E. S.; DARIVA G. Efeito de borda na concentração de alumínio e chumbo em líquens em área urbana, rural e industrial. **Caderno Meio Ambiente e Sustentabilidade**, v. 10, n. 6, p. 22-36, 2017.
- AUBERTHEAU, E.; STALDER, T.; MONDAMERT, L.; PLOY, M.; DAGOT, C.; LABANOWSKI, J. Impact of wastewater treatment plant discharge on the contamination of river biofilms by pharmaceuticals and antibiotic resistance. **Science of the Total Environment**, Poitiers, v. 579, p. 1387–1398, fev. 2017.
- BACELLAR, L. de A. P. O papel das florestas no regime hidrológico de bacias hidrográficas. **Geo.br**, v. 1, p. 1-39, 2005.
- BARBOSA, L. C. de A. **Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos**. Viçosa: Editora UFV, 2007. 189 p.
- BASTOS, M. C. **Study of the environmental contamination of human and veterinary medicines in the south Brazil**. 2017, 212 f. Tese em cotutela (Doutorado Ciência do Solo) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2017; École Doctorale Gay Lussac da Université de Poitiers, Poitiers, 2017.
- BASTOS, M. C.; SANTOS, D. R. dos.; CASTRO LIMA, J. A. M.; LE GUET, T.; SANTOS, M. A. S. dos.; ZANELLA, R.; AUBERTHEAU, E.; MONDAMERT, L.; CANER, L.; LABANOWSKI, J. Presence of anthropogenic markers in water: a case study of the Guaporé River watershed, Brazil. **CLEAN – Soil, Air, Water**. “Artigo aceito”. Doi:[10.1002 / clen.201700019], 2018.

BATTIN, T. J.; BESEMER, K.; BENGTTSSON, M. M.; ROMANI, A. M.; PACKMANN, A. I. The ecology and biogeochemistry of stream biofilms. **Nature Reviews Microbiology**, Lausanne, v. 14, p. 251-263, mar. 2016.

BATTIN, T. J.; KAPLAN, L. A.; NEWBOLD, D. J.; HANSEN, C. M. E. Contributions of microbial biofilms to ecosystem processes in stream mesocosms. **Nature**, Viena, v. 426, p. 439-442, nov. 2003.

BEECH, W. B.; SUNNER, J. Biocorrosion: towards understanding interactions between biofilms and metals. **Current Opinion in Biotechnology**, v.15, n. 3, p.181-186, jun. 2004.

BEKETOV, M.A.; KEFFORD, B.J.; SCHÄFER, R.B.; LIESS, M. Pesticides reduce regional biodiversity of stream invertebrates. **PNAS**, v. 110, n. 27, p. 11039-11043, jul. 2013.

BERLIOZ-BARBIER, A.; BULETÉ, A.; FABURÉ, J.; GARRIC, J.; CREN-OLIVÉ, C. VULLIET, E. Multiresidue analysis of emerging pollutants in benthic invertebrates by modified microquick-easy-cheap-efficient-rugged-safe extraction and nanoliquid chromatography-nanospray-tandem mass spectrometry analysis. **Journal of Chromatography A**, Villeurbanne, v. 1367, p. 16-32, set. 2014.

BERNIER, S. P.; SURETTE, M. G. Concentration-dependent activity of antibiotics in natural environments. **Frontiers in Microbiology**, v. 4, n. 20, p. 1-14, fev. 2013.

BHUYAN, M. S.; BAKAR, M. A.; AKHTAR, A.; HOSSAIN, M. B.; ALI, M. M.; ISLAM, M. S. Heavy metal contamination in surface water and sediment of the Meghna River, Bangladesh. **Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management**, Chittagong, v. 8, p. 273-279, dez. 2017.

BIER, R. L.; BERNHARDT, E. S.; BOOT, C. M.; GRAHAM, E. B.; HALL, E. K.; LENNON, J. T.; NEMERGUT, D. R.; OSBORNE, B. B.; RUIZ-GONZÁLEZ, C.; SCHIMEL, J. P.; WALDROP, M. P.; WALLENSTEIN, M.D. Linking microbial community structure and microbial processes: an empirical and conceptual overview. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 91, n. 10, p. 1-27, set. 2015.

BOARI, C. A.; ALVES, M. P.; TEBALDI, V. M. R.; SAVIAN, T. V.; PICCOLI, R. H. Formação de biofilme em aço inoxidável por *Aeromonas hydrophila* e *Staphylococcus aureus* usando leite e diferentes condições de cultivo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 4, p. 886-895, out./dez. 2009.

BORTOLUZZI, E. C.; POLETO, C. **Metodologias para estudos de sedimentos: ênfase na proporção e na natureza mineralógica das partículas**. In: POLETO, C.; MERTEN, G. H. (Org.). Qualidade de sedimentos. 1ed. Porto Alegre: ABRH, 2006, v. 1, p. 83-140.

BOXALL, A. B. A. The environmental side effects of medication. **EMBO Reports**, v. 5, n. 12, p. 1110-1116, dez. 2004.

BRANDA, S. S.; FRIEDMAN, L.; KOLTER, R. Biofilms: the matrix revisited. **Trends Microbiology**, Boston, v. 13, n. 1, p. 20-26, jan. 2005.

BRASIL. **Projeto RADAMBRASIL, Folha SH. 22 Porto Alegre e parte das folhas SH. 21 Uruguaiana e SI. 22 Lagoa Mirim:** geologia, geomorfologia, pedologia, vegetação, uso potencial da terra/ Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Rio de Janeiro: IBGE, 1986. 796 p.

BRIANDET, R.; FECHNER, L.; NAÏTALI, M.; DREANNO, C. **Biofilms, quand les microbes s'organisent.** Versailles, França: Quae, 2012, 180 p.

BRUCHET, A.; ROUSSEAU, C.; MALLEVIALLE, J. Pyrolysis-GC-MS for investigating high-molecular-weight THM precursors and other refractory organics. **Journal of American Water Works Association**, v. 82, p. 66–74, 22 nov. 1990.

BUNCH, A. R.; BERNOT, M. J. Distribution of nonprescription pharmaceuticals in central Indiana streams and effects on sediment microbial activity. **Ecotoxicology**, v. 20, p. 97-109, out. 2010.

CAIXETA, D. S.; SCARPA, T. H.; BRUGNERA, D. F.; FREIRE, D. O.; ALVES, E.; ABREU, L. R.; PICCOLI, R. H. Chemical sanitizers to control biofilms formed by two *Pseudomonas* species on stainless steel surface. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 32, n. 1, p. 142-150, jan. 2012.

CALLEGARO, C.; URSINO, N. Connectivity of niches of adaptation affects vegetation structure and density in self-organized (dis-connected) vegetation patterns. **Land Degradation & Development**, jun. 2017. DOI: 10.1002/ldr.2759.

CANELLAS, L. P.; BERNER, P. G.; SILVA, S. G. da.; SILVA, M. B.; SANTOS, G. de A. Frações da matéria orgânica em seis solos de uma topossequência no estado do Rio de Janeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 1, p. 133-143, jan. 2000.

CAPELLETTI, R. V. **Avaliação da atividade de biocidas em biofilmes formados a partir de fluido de corte utilizado na usinagem de metais.** 2006. 97 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2006.

CAPOANE, V.; KROLOW, I. R. C.; SANTOS, D. R. CANALLI, L. B. Composição total elementar do solo de um experimento de longa duração usando espectroscopia total de fluorescência de raios-X. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 9, n. 3, p. 778-792, 2016.

CASÃO JUNIOR, R.; ARAÚJO, A. G.; LLANILLO, R. **No-till agriculture in southern Brazil:** factors that facilitated the evolution of the system and the development of the mechanization of conservation farming. The Food and Agriculture Organization of the United Nations and Instituto Agronômico do Paraná. 2012.

CASTRO LIMA, J. A. M. **Ocorrência de agrotóxicos em águas rurais e bioacumulados em biofilmes epilíticos do Rio Grande do Sul.** 2017, 160 p. Tese de doutorado em Ciência do Solo - Universidade Federal de Santa Maria. 2017.

CATTER, K. M.; CAVALCANTE, R. M.; BARRETO, N. S. E.; SAKER-SAMPAIO, S.; HOFER, E.; VIEIRA, R. H. S. F. Bactérias isoladas de mangues do rio Cocó e do riacho das

Guaribas (CE) e seu potencial na degradação de derivados e constituintes de petróleo. **Geochimica Brasiliensis**, Fortaleza, v. 21, n. 2, p. 140-150, mar. 2007.

CEGELSKY, L. Bottom-up and top-down solid-state NMR approaches for bacterial biofilm matrix composition. **Journal of Magnetic Resonance**, v. 253, p. 91-97, abr. 2015.

CHANG, W. S.; VAN DE MORTEL, M.; NIELSEN, L.; DE GUZMAN, G. N.; LI, X. H.; HALVERSON, L. J. Alginate production by *Pseudomonas putida* creates a hydrated microenvironment and contributes to biofilm architecture and stress tolerance under water-limiting conditions. **Journal of Bacteriology**, v.189, n. 22, p. 8290–8299, jun. 2007.

CHEN, Y-P.; ZHANG, P.; GUO, J-S.; FANG, F.; GAO, X.; LI, C. Functional groups characteristics of EPS in biofilm growing on different carriers. **Chemosphere**, Chongqing, v. 92, p. 633-638, jul. 2013.

CHONOVA, T.; LABANOWSKI, J.; COURNOYER, B.; CHARDON, C.; KECK, F.; LAURENT, E.; MONDAMERT, L.; VASSELON, V.; WIEST, L.; BOUCHEZ, A. River biofilm community changes related to pharmaceutical loads emitted by a wastewater treatment plant. **Environmental Science and Pollution Research**, set. 2017. DOI: 10.1007/s11356-017-0024-0.

COLICA, G.; LI, H.; ROSSI, F.; LI, D.; LIU, Y.; DE PHILIPPIS, R. Microbial secreted exopolysaccharides affect the hydrological behavior of induced biological soil crusts in desert sandy soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 68, p. 62-70, jan. 2014.

COMPERE, C.; BELLON-FONTAINE, M. N.; BERTRAND, P.; COSTA, D.; MARCUS, P.; POLEUNIS, C.; PRADIER, C. M.; RONDOT, B.; WALLS, M. G. Kinetics of conditioning layer formation on stainless steel immersed in seawater. **Biofouling**, v. 17, p. 129-145, 2001.

COMTE, S.; GUIBAUD, G.; BAUDU, M. Biosorption properties of extracellular polymeric substances (EPS) resulting from activated sludge according to their type: soluble or bound. **Process Biochemistry**, Limoges, v. 41, n. 4, p. 815-823, abr. 2006.

CORCOLL, N.; CASELLAS, M.; HUERTA, B.; GUASCH, H.; VICENÇ, A.; RODRÍGUEZ-MOZAZ, S.; SERRA-COMPTÉ, A.; BARCELÓ, D.; SABATER, S. Effects of flow intermittency and pharmaceutical exposure on the structure and metabolism of stream biofilms. **Science of the Total Environment**, v. 503-504, p. 159-170, jan. 2015.

CORSARO, D.; PAGES, G. S.; CATALAN, V.; LORET, J.; GREUB, G. Biodiversity of amoebae and amoeba-associated bacteria in water treatment plants. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 213, p. 158-166, jun. 2010.

COSTERTON, J.; LEWANDOWSKI, Z.; DEBEER, D.; CALDWELL, D.; KORBER, D.; JAMES, G. Biofilms, the customized microniche. **Journal of Bacteriology**, v. 176, n. 8, p. 2137-2142, abr. 1994.

COSTERTON, J. W. Introduction to biofilm. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 11, p. 217-221, mai. 1999.

D'ABZAC, P.; BORDAS, F.; VAN HULLEBUSCH, E.; LENS, P. N.; GUIBAUD, G. Effects of extraction procedures on metal binding properties of extracellular polymeric substances (EPS) from anaerobic granular sludges. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Limoges, v. 80, n. 2, p. 161-168, out. 2010.

DAS, N.; GEETANJALI BASAK, L.; SALAM, J.; ABIGAIL M. E. Applications of biofilms on remediation of pollutants - an overview. **Journal of Microbiology and Biotechnology Research**, v. 2, n. 5, p. 783-790, 2012.

DAVEY, M. E.; O'TOOLE, A. Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 64, n. 4, p. 847-867, dez. 2000.

DIAS, D. L. **Substâncias naturais**. Brasil Escola, 2018. Disponível em <<http://brasilecola.uol.com.br/quimica/substancias-naturais.htm>>. Acesso em: 10 fev. 2018.

DICK, D. P.; NOVOTNY, E. H.; DIECKOW, J.; BAYER, C. **Química da matéria orgânica do solo**. In: MELO, V. F.; ALLEONI, L. R. F. Química e mineralogia do solo. Parte II – Aplicações. SBCS: Viçosa - MG, 2009. 685 p.

DIDONÉ, E. J.; MINELLA, J. P. G.; REICHERT, J. M.; MERTEN, G. H.; DALBIANCO, L.; BARROS, C. A. P. DE; RAMON, R. Impact of no-tillage agricultural systems on sediment yield in two large catchments in Southern Brazil. **Journal of Soils and Sediments**, v. 14, n. 7, p. 1287–1297, jul. 2014.

DODDS, W. K.; JONES, J. R.; WELCH, E. B. Suggested classification of stream trophic state: distributions of temperate stream types by chlorophyll, total nitrogen, and phosphorus. **Water Research**, v. 32, n. 5, p. 1455-1462, mar. 1998.

DRURY, W.; STEWART, P.; CHARACKLIS, W. Transport of 1- μ m latex particles in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. **Biotechnology and Bioengineering**, Bozeman, v. 42, n. 1, p. 111-117, jun. 1993.

DUDGEON, D. Prospects for sustaining freshwater biodiversity in the 21st century: linking ecosystem structure and function. **Current Opinion in Environmental Sustainability**, Hong Kong, v. 2, n. 5-6, p. 422–430, dez. 2010.

DUNNE, M. W. Bacterial adhesion: seen any good biofilms lately? **Clinical Microbiology Reviews**, v. 15, n. 2, p. 155-166, abr. 2002.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3. ed. Brasília, DF: Embrapa, 2013. 353 p.

FAURE, D.; BONIN, P.; DURAN, R. Environmental microbiology as a mosaic of explored ecosystems and issues. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 18, set. 2015.

FEENEY, D. S.; HALLETT, P. D.; RODGER, S.; BENGOUGH, A. G.; WHITE, N. A.; YOUNG, I. M. Impact of fungal and bacterial biocides on microbial induced water repellency in arable soil. **Geoderma**, Dundee, v. 135, n. 11, p. 72-80, nov. 2006.

- FERNANDES, G.; TIECHER, T.; PITON, R.; PELLEGRINI, A.; SANTOS, D. R. dos. Impacto da fertilização nitrogenada em pastagens perenes na contaminação dos recursos naturais. **Revista Brasileira de Tecnologia Agropecuária**, Frederico Westphalen, v. 1, n. 1, p. 1-12, jul. 2017.
- FERRIS, F. G.; SCHULTZE, S.; WITLEN, T. C.; FYFE, W. S.; BEVERIDGE, T. J. Metal interactions with microbial biofilms in acidic and neutral pH environments. **Applied and environmental Microbiology**, v. 55, n. 5, p.1249-1257, mai. 1989.
- FIALHO, L. L.; SILVA, W. T. L. da.; MILORI, D. M. B. P.; SIMÕES, M. L.; MARTINETO, L. Characterization of organic matter from composting of different residues by physicochemical and spectroscopic methods. **Bioresource Technology**, São Carlos, v. 101, p. 1927-1934, mar. 2010.
- FINDLAY, S. Stream microbial ecology. **Journal of the North American Benthological Society**, New York, v. 29, p. 170–181, fev. 2010.
- FINK, Jessé Rodrigo; PEDRON, Fabrício de Araújo. Aptidão agrícola dos principais solos das áreas de agricultura familiar do Sul do Brasil. In: TIECHER, Tales. **Manejo e conservação do solo e da água em pequenas propriedades rurais no Sul do Brasil: Contextualizando as atividades agropecuárias e os problemas erosivos**. Frederico Westphalen: Editora URI, 2015. p. 34-52.
- FLEMMING, H. C. Sorption sites in biofilms. **Water Science and Technology**, Garching, v. 32, n. 8, p. 27-33, 1995.
- FLEMMING, H. C.; NEU, T. R.; WOZNIAK, D. J. The EPS matrix: the “house of biofilm cells”. **Journal of Bacteriology**, v. 189, p. 7945–7947, nov. 2007.
- FLEMMING, H. C.; WINGENDER, J. The biofilm matrix. **Nature Reviews Microbiology**, v.8, p.623-633, set. 2010.
- FONTES, M. P. F. **Intemperismo de rochas e minerais**. In: KER, J. C.; CURI, N.; SCHAEFER, C. E. G. R.; VIDAL-TORRADO, P. *Pedologia: Fundamentos*. Viçosa, MG: SBCS, 2015. p. 171-206.
- FOOLADMAND, H. R. Estimating soil specific surface area using the summation of the number of spherical particles and geometric mean particle-size diameter. **African Journal of Agricultural Research**, v. 6, n. 7, p. 1758–1762, abr. 2011.
- FUCHS, S.; HARITOPOULOU, T.; WILHELMI, M. Biofilms in freshwater ecosystems and their use as a pollutant monitor. **Water Science and Technology**, Karlsruhe, v. 34, n. 7-8, p. 137–140, 1996.
- FURQUIM, S. A. C.; BARBIÉRO, L.; GRAHAM, R. C.; NETO, J. P. de Q.; FERREIRA, R. P. D.; FURIAN, S. Neoformation of micas in soils surrounding an alkaline-saline lake of Pantanal wetland, Brazil. **Geoderma**, v. 158, p. 331-342, set. 2010.

GAYLARDE, P. M.; GAYLARDE, C. C. Algae and cyanobacteria on painted buildings in Latin America. **International Biodeterioration & Biodegradation**, Porto Alegre, v. 46, p. 93-97, set. 2000.

GAMA-RODRIGUES, E. F. Biomassa microbiana e ciclagem de nutrientes. In: SANTOS, G. A.; CAMARGO, F. A. (Ed.). **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre: Gênese, 1999, p. 227-243.

GARRETT, T. R.; BHAKOO, M.; ZHANG, Z. Bacterial adhesion and biofilms on surfaces. **Progress in Natural Science**, v. 18, p. 1049-1056, set. 2008.

GHIDIN, A. A.; MELO, V. de F.; LIMA, V. C.; LIMA, J. M. J. C. Topossequências de Latossolos originados de rochas basálticas no Paraná. I – Mineralogia da fração argila. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 30, p. 293-306, mar./abr. 2006.

GIROTTO, E.; CERETTA, C. A.; BRUNETTO, G.; SANTOS, D. R. DOS; SILVA, L. S. DA; LOURENZI, C. R.; LORENSINI, F.; VIEIRA, R. C. B.; SCHMATZ, R. Copper and zinc forms and accumulation in soil after successive pig slurry applications. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 34, n. 3, p. 955-965, mai./jun. 2010.

HÄUBLER, S. Biofilm formation by the small colony variant phenotype of *Pseudomonas aeruginosa*. **Environmental Microbiology**, v. 6, n. 6, p. 546- 551, fev. 2004.

HIERNAUX, P. **Contribution de la fraction minérale des eaux au développement et à la structure des biofilms**: Apport des méthodes microscopiques et spectroscopiques. 2005. Tese (Doutorado em Chimie et Microbiologie de l'eau) - Université de Poitiers, Poitiers, 2005.

HUERTA, B.; RODRIGUEZ-MOZAZ, S.; NANNOU, C.; NAKIS, L.; RUHÍ, A.; ACUÑA, V.; SABATER, S.; BARCELO, D. Determination of a broad spectrum of pharmaceuticals and endocrine disruptors in biofilm from a waste water treatment plant-impacted river. **Science of the Total Environment**, Girona, v. 540, p. 241-249, jan. 2016.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2017. Estimativas da população residente para os municípios e para as unidades da federação brasileiros com data de referência em 1º de julho de 2017, IBGE, 2017. Disponível em: <<http://cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?codmun=431180>>. Acesso em: 12 dez. 2017.

INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE. **Plano de Manejo da Floresta Nacional de Passo Fundo**, Florianópolis, dez. 2011. 143 p.

IRIE, Y.; PRESTON, A.; YUK., M. H. Expression of the primary carbohydrate component of the *Bordetella bronchiseptica* biofilm matrix is dependente on growth phase but independent of Bvg regulation. **Journal of Bacteriology**, v. 188, p. 6680-6687, set. 2006.

JIAO, Y.; CODY, G. D.; HARDING, A. K.; WILMES, P.; SCHRENK, M.; WHEELER, K. E.; BANFIELD, J. F.; THELEN, M. P. Characterization of extracellular polymeric substances from acidophilic microbial biofilms. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 76, p. 2916-2922, fev. 2010.

JULIEN, C.; LAURENT, E.; LEGUBE, B.; THOMASSIN, J. H.; MONDAMERT, L.; LABANOWSKI, J. Investigation on the iron-uptake by natural biofilms. **Water Research**, v. 50, p. 212-220, mar. 2014.

JUNIOR, W. E. F. Carboidratos: estrutura, propriedade e funções. **Química Nova na Escola**, n. 29, p. 08-13, ago. 2008.

KAMJUNKE, N.; MAGES, M.; BÜTTNER, O.; MARCUS, H.; WEITERE, M. Relationship between the elemental composition of stream biofilms and water Chemistry - a catchment approach. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 187, p. 432-444, jul. 2015.

KOCHEM, M. L. **Características granulométricas, carbono, nitrogênio e frações de fósforo em sedimentos durante eventos chuva-vazão em bacias hidrográficas no Rio Grande do Sul, Brasil**. 2014. 120 p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2014.

KONZEN, E. A.; ALVARENGA, R. C. **Adubação orgânica**. Agência Embrapa de Informação Tecnológica, 2017. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/milho/arvore/CONTAG01_48_168200511159.html>. Acesso em: 25 jan. 2017.

KÜMMERER, K. Antibiotics in the aquatic environment – A review – Part I. **Chemosphere**, Freiburg, v. 75, n. 4, p. 417–434, abr. 2009.

LAURENT, E. **Evaluation de l'état de contamination des bassins versants par les résidus de médicaments**: Utilisation des biofilms épilithiques comme marqueur d'imprégnation du milieu. 2013. 221f. Tese (Doutorado em Chimie et Microbiologie de l'eau) - Université de Poitiers, Poitiers, 2013.

LAWRENCE, J. R.; DYNES, J. J.; KORBER, D. R.; SWERHONE, G. D. W.; LEPPARD, G. G.; HITCHCOCK, A. P. Monitoring the fate of copper nanoparticles in river biofilms using scanning transmission X-ray microscopy (STXM). **Chemical Geology**, Saskatoon, v. 329, p. 18-25, nov. 2012.

LEAL, L. Terapia da Biologia. **Lipídios**. 2016. Disponível em: <http://terapiadabiologia.blogspot.com.br/2016/04/lipidios.html>. Acesso em: 15 jan. 2018.

LEAR, G.; LEWIS, G. D. Impact of catchment land use on bacterial communities within stream biofilms. **Ecological Indicators**, Auckland, v. 9, n. 5, p. 848–855, set. 2009.

LIMA, L. F.; HABU, S.; GERN, J. C.; NASCIMENTO, B. M.; PARADA, J. L.; NOSEDA, M. D.; GONCALVES, A. G.; NISHA, V. R.; PANDEY, A.; SOCCOL, V. T.; SOCCOL, C.R. Production and characterization of the exopolysaccharides produced by *Agaricus brasiliensis* in submerged fermentation. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 151, p. 283–294, dez. 2008.

LIN, H.; YE, C.; LV, L.; ZHENG, C.R.; ZHANG, S.; ZHENG, L.; ZHAO, Y.; YU, X. Characterization of extracellular polymeric substances in the biofilms of typical bacteria by the sulfur K-edge XANES spectroscopy. **Journal of Environmental Sciences**, v. 26, p. 1763-1768, ago. 2014.

LOURENZI, C. R. et al. Uso de dejetos líquidos de suínos na agricultura familiar: potencial fertilizante e poluidor. In: TIECHER, Tales. **Manejo e conservação do solo e da água em pequenas propriedades rurais no Sul do Brasil**: Impacto das atividades agropecuárias na contaminação do solo e da água. Frederico Westphalen: Editora URI, 2017. p. 77-92.

LUCCHESI, E. G. **Desenvolvimento de sistema de obtenção de biofilmes *in vitro* e avaliação de sua susceptibilidade a biocidas**. 2006, 91 p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2006.

LUQUE-ESPINAR, J. A.; NAVAS, N.; CHICA-OLMO, M.; CANTARERO-MALAGÓN, S.; CHICA-RIVAS, L. Seasonal occurrence and distribution of a group of ECs in the water resources of Granada city metropolitan areas (South of Spain): Pollution of raw drinking water. **Journal of Hydrology**, v. 531, Part 3, p. 612–625, dez. 2015.

MADRUGA, F. V.; REIS, F. A. G. V.; MEDEIROS, G. A.; GIORDANO, L. C. Avaliação da influência do Córrego dos Macacos na qualidade da água do Rio Mogi Guaçu, no município de Mogi Guaçu- SP. **Engenharia Ambiental**, v. 5, n. 2, p. 152-158, ago. 2008.

MAGES, M.; VON TÜMPLING, W. JR.; VAN DER VEEN, A.; BABOROWSKI, M. Elemental determination in natural biofilms of mine drainage water by total reflection X-ray fluorescence spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B**, Magdeburg, v. 61, p. 1146-1152, nov. 2006.

MAIER, C. **Variabilidade intra-evento da origem das fontes de sedimentos em uma bacia hidrográfica rural**. 2013. 124 f. Tese (Doutorado em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2013.

MCDOUGALD, D.; RICE, S. A.; BARRAUD, N.; STEINBERG, P. D.; KJELLEBERG, S. Should we stay or should we go: mechanisms and ecological consequences for biofilm dispersal. **Nature Reviews Microbiology**, v. 10, n. 1, p. 39-50, nov. 2012.

MELO, J. D. D.; COSTA, T. C. de C.; MEDEIROS, A. M. de.; PASKOCIMAS. Effects of thermal and chemical treatments on physical properties of kaolinite. **Ceramics International**, Natal, v. 36, p. 33-38, jan. 2010.

MELO, V. de F.; CASTILHOS, R. M. V.; PINTO, L. F. S. **Reserva mineral do solo**. In: MELO, V. de F.; ALLEONI, L. R. F. Química e Mineralogia do Solo. Parte I – Conceitos básicos. Viçosa, MG: SBCS, 2016. p. 252-332.

MERTEN, G. H.; ARAÚJO, A. G.; BISCAIA, R. C. M.; BARBOSA, G. M. C.; CONTE, O. No-till surface runoff and soil losses in Southern Brazil. **Soil Tillage Research**, Londrina, v. 152, p. 85–93, set. 2015.

MEYBECK, M. The global change of continental aquatic systems: dominant impacts of human activities. **Water Science and Technology**, v. 49, n. 7, p. 73–83, 2004.

MIGUEL, Andréia Lúcia Campos dos Santos Ferreira. **Aplicação da técnica de PCR na pesquisa de bactérias patogênicas em biofilmes de condutas e reservatórios de água do sistema de distribuição da EPAL**. 2007. 106 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biológica) - Instituto Superior Técnico da Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, Portugal, 2007.

MONROE, D. Looking for chinks in the armor of bacterial biofilms. **Plos Biology**, v. 5, n. 11, e307, nov. 2007.

MORIKAWA, M.; KAGIHIRO, S.; HARUKI, M.; TAKANO, K.; BRANDA, S.; KOLTER, R.; KANAYA, S. Biofilm formation by a *Bacillus subtilis* strain that produces gamma-polyglutamate. **Microbiology**, v. 152, p. 2801–2807, set. 2006.

MORIN, S.; DUONG, T. T.; DABRIN, A.; COYNE, A.; HERLORY, O.; BAUDRIMONT, M.; DELMAS, F.; DURRIEU, G.; SCHÄFER, J.; WINTERTON, P.; BLANC, G.; COSTE, M. Long-term survey of heavy-metal pollution, biofilm contamination and diatom community structure in the Riou Mort watershed, South-West France. **Environmental Pollution**, Cestas Cedex, v. 151, p. 532–542, fev. 2008.

MUGGLER, C. C.; PAPE, T.; BUURMAN, P. Laser grain-size determination in soil genetic studies 2. Clay content, clay formation, and aggregation in some Brazilian oxisols. **Soil Science**, v. 162, n. 3, p. 219-228, mar. 1997.

NELSON, D. W.; SOMMERS, L.E. Total carbon, organic carbon and organic matter. In: PAGE, A.L.; MILLER, R.H.; KEENEY, D.R., eds. **Methods of soil analysis: Chemical and microbiological properties**. Part 2. Madison: Soil Science Society of America, 1982. p. 539-579.

OLIVEIRA, M. M. M.; BRUGNERA, D. F.; PICCOLI, R. Y. Biofilmes microbianos na indústria de alimentos: uma revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 69, n.3, p. 277–284, jun. 2010.

OLIVEIRA, P. P.; FREITAS, A. B. de A. X.; VINAGRE, N. K. Produção de biofilme e emulsificação de derivados de petróleo por consórcios bacterianos isolados de manguezal. **Enciclopédia Biosfera**, v. 8, n. 15, p. 2403-2413, jan. 2012.

ONU - Organização das Nações Unidas. **Transformando Nosso Mundo: A Agenda 2030 para o Desenvolvimento Sustentável**. 2015. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/wp-content/uploads/2015/10/agenda2030-pt-br.pdf>. Acesso em 05 set. 2017.

PAERL, H. W.; PINCKNEY, J. L. A mini-review of microbial consortia: their roles in aquatic production and biogeochemical cycling. **Microbial Ecology**, v. 31, n. 6, p. 225-247, mai. 1996.

PALLO, F. J. P.; LEMÉE, L.; AMBLÈS, A. Contribution à l'étude structurale par PY/CG-SM de la matière organique liée aux particules fines (0-50 µm) dans quelques sols sous formations naturelles de longue durée au Burkina Faso. **Biotechnology, Agronomy, Society and Environ**, v. 15, n. 4, p. 553-556, 2011.

PEDROZA, M. M. **Bio-óleo e biogás da degradação termoquímica de lodo de esgoto doméstico em cilindro rotativo**. 2011. 114 f. Tese (Doutorado em Química) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2011.

PELEGRINI, G.; PELLEGRINI, J. B. R.; HILLESHEIM, L. P. **O processo de colonização e a formação das unidades de produção familiares do Sul do Brasil**. In: TIECHER, T. Manejo e conservação do solo e da água em pequenas propriedades rurais no Sul do Brasil: Contextualizando as atividades agropecuárias e os problemas erosivos. Frederico Westphalen: Editora URI, 2015. p. 15-33.

PEREIRA, A. M. P. T.; SILVA, L. J. G.; MEISEL, L. M.; LINO, C. M.; PENA, A. Environmental impact of pharmaceuticals from Portuguese wastewaters: geographical and seasonal occurrence, removal and risk assessment. **Environmental Research**, Coimbra, v. 136, p. 108–119, jan. 2015.

PÉREZ, D. V. **Química na Agricultura**. Sala de Leitura. 2018. Disponível em: <http://web.ccead.puc-rio.br/condigital/mvsl/Sala%20de%20Leitura/conteudos/SL_quimica_na_agricultura.pdf>. Acesso em: 30 jan. 2018.

PESCE, S.; LISSALDE, S.; LAVIEILLE, D.; MARGOUM, C.; MAZZELLA, N.; ROUBEIX, V.; MONTUELLE, B. Evaluation of single and joint toxic effects of diuron and its main metabolites on natural phototrophic biofilms using a pollution-induced community tolerance (PICT) approach. **Aquatic Toxicology**, v. 99, n. 4, p. 492-499, set. 2010.

PESCE, S.; MORIN, S.; LISSALDE, S.; MONTUELLE, B.; MAZZELLA, N. Combining polar organic chemical integrative samplers (POCIS) with toxicity testing to evaluate pesticide mixture effects on natural phototrophic biofilms. **Environmental Pollution**, v. 159, p. 735 – 741, mar. 2011.

PETER, H.; YLLA I.; GUDASZ, C.; ROMANÍ, A. M.; SABATER, S.; TRANVIK, L. J. Multifunctionality and diversity in bacterial biofilms. **Plos One**, v. 6, n. 8, ago. 2011.

PIGGOTT, J. J.; SALIS, R. K.; LEAR, G.; TOWNSEND, C. R.; MATTHAEI, C. D. Climate warming and agricultural stressors interact to determine stream periphyton community composition. **Global Change Biology**, Dunedin, v. 21, p. 206–222, jan. 2015.

PIRES, L. C.; LACERDA, L. D. de. Intemperismo de minerais associados a biofilmes de sedimentos de manguezais. **Arquivos de Ciências do Mar**, Fortaleza, v. 48, n. 1, p. 62-68, 2015.

PRIESTER, J. H.; OLSON, S. G.; WEBB, S. M.; NEU, M. P.; HERSMAN, L. E.; HOLDEN, P. A. Enhanced exopolymer production and chromium stabilization in *Pseudomonas putida* unsaturated biofilms. **Applied Environmental Microbiology**, v. 72, n. 3, p. 1988–1996, mar. 2006.

PROIA, L.; LUPINI, G.; OSORIO, V.; PÉREZ, S.; BARCELÓ, D.; SCHWARTZ, T.; AMALFITANO, S.; FAZI, S.; ROMANÍ, A. M.; SABATER, S. Response of biofilm bacterial communities to antibiotic pollutants in a mediterranean river. **Chemosphere**, v. 92, n. 9, p. 1126–1135, ago. 2013.

RAMALHO FILHO, K. J.; BEEK. **Sistema de avaliação da aptidão agrícola das terras**. 3. Ed. Rio de Janeiro: Embrapa CNPS, 1995, 65 p.

RAMIREZ, A. J.; BRAIN, R. A.; USENKO, S.; MOTTALEB, M. A.; O'DONNELL, J. G.; STAHL, L. L.; WATHEN, J. B.; SNYDER, B. D.; PITT, J. L.; PEREZ-HURTADO, P.; DOBBINS, L. L.; BROOKS, B. W.; CHAMBLISS, C. K. Occurrence of pharmaceuticals and personal care products in fish: results of a national pilot study in the United States. **Environmental Toxicology Chemical**, v. 28, p. 2587–2597, 2009.

RESENDE, M.; CURI, N.; KER, J. C.; REZENDE, S. B. de. **Mineralogia de Solos Brasileiros**. Interpretação e Classificação. 2 ed. Lavras, MG: Editora UFLA, 2011. 206 p.

RILLIG, M. C. A connection between fungal hydrophobins and soil water repellency. **Pedobiologia**, Missoula, v. 49, n. 5, p. 395-399, out. 2005.

RINTA-KANTO, J. M.; LEHTOLA, M. J.; VARTIAINEN, T.; MARTIKAINEN, P. J. Rapid enumeration of virus-like particles in drinking water samples using SYBR green I-staining. **Water Research**, v. 38, p. 2614-2618, mai. 2004.

ROCHA, L. L.; DE AGUIAR, C. R.; CAVALCANTE, R. M.; NASCIMENTO, R. F.; MARTINS, S. C.; SANTAELLA, S. T.; MELO, V. M. Isolation and characterization of phenol-degrading yeasts from an oil refinery wastewater in Brazil. **Mycopathologia**, v. 164, n. 4, p. 183-188, out. 2008.

ROMANÍ, A. M.; FUND, K.; ARTIGAS, J.; SCHWARTZ, T.; SABATER, S.; OBST, U. Relevance of polymeric matrix enzymes during biofilm formation. **Microbial Ecology**, v. 56, p. 427–436, out. 2008.

ROMANÍ, A. M.; GIORGI, A.; ACUÑA, V.; SABATER, S. The influence of substratum type and nutriente supply on biofilm organic matter utilization in streams. **Limnology and Oceanography**, v. 49, n. 5, p. 1713-1721, set. 2004.

ROUBEIX, V.; MAZZELLA, N.; MÉCHIN, B.; COSTE, M.; DELMAS, F. Impact of the herbicide metolachlor on river periphytic diatoms: Experimental comparison of descriptors at different biological organization levels. **Annales de Limnologie**, Cestas Cedex, v. 47, n. 3, p. 239-249, jul. 2011.

RUHÍ, A.; ACUÑA, V.; BARCELÓ, D.; HUERTA, B.; MOR, J.-R.; RODRÍGUEZ-MOZAZ, S.; SABATER, S. Bioaccumulation and trophic magnification of pharmaceuticals and endocrine disruptors in a Mediterranean river food web. **Science Total Environmental**, Catalonia, v. 540, p. 250–259, jan. 2016.

SÁ, D. N. DE; GERHARDT, M. Uma história ambiental da Floresta Nacional de Passo Fundo: a aquisição das terras. **Revista Internacional Interdisciplinar INTERthesis**, v. 13, n. 3, p. 182–202, 2016.

SABATER, S.; BARCELÓ, D.; DE CASTRO-CATALÀ, N.; GINEBREDÀ, A.; KUZMANOVIC, M.; PETROVIC, M.; PICÓ, Y.; PONSATÍ, L.; TORNÉS, E.; MUÑOZ, I. Shared effects of organic microcontaminants and environmental stressors on biofilms and

invertebrates in impaired rivers. **Environmental Pollution**, Girona, v. 210, p. 303-314, mar. 2016a.

SABATER, S.; GUASCH, H.; RICART, M.; ROMANÍ, A.; KLÜNDER, C.; SCHMITT-JANSEN, M. Monitoring the effect of chemicals on biological communities. The biofilm as an interface. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 387, n. 4, p. 1425-1434, fev. 2007.

SABATER, S.; GUASCH, H.; ROMANI, A.; MUÑOZ, I. The effect of biological factors on the efficiency of river biofilms in improving water quality. **Hydrobiologia**, Barcelona, v. 469, p. 149-156, fev. 2002.

SABATER, S.; TIMONER, X.; BORREGO, C.; ACUÑA, V. Stream biofilm responses to flow intermittency: from cells to ecosystems. **Frontiers in Environmental Science**, mar. 2016b. DOI: <http://sci-hub.tw/https://doi.org/10.3389/fenvs.2016.00014>.

SAMEK, O.; AL-MARASHI, J. F. M.; TELLE, H. H. The potential of Raman spectroscopy for the identification of biofilm formation by *Staphylococcus epidermidis*. **Laser Physics Letters**, v. 7, n. 5, p. 378-383, mai. 2010.

SATO, J. H. **Métodos para determinação do carbono orgânico em solos do Cerrado**. 2013. 90 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2013.

SCHNEIDER, S. C.; LINDSTROM, E. A. The periphyton index of trophic status PIT: a new eutrophication metric based on non-diatomaceous benthic algae in Nordic rivers. **Hydrobiologia**, Oslo, v. 665, p. 143-155, mai. 2011.

SCHREINER, V. C.; SZÖCS, E.; BHOWMIK, A. K.; VIJVER, M. G.; SCHÄFER, R. B. Pesticide mixtures in streams of several European countries and the USA. **Science of The Total Environment**, v. 573, p. 680-689, dez. 2016.

SEGNER, H.; SCHMITT-JANSEN, M.; SABATER, S. Assessing the impact of multiple stressors on aquatic biota: the receptor's size matters. **Environmental Science Technology**, v. 48, n. 14, p. 7690-7696, jul. 2014.

SEPASKHAH, A. R.; TAFTEH, A. Pedotransfer function for estimation of soil-specific surface area using soil fractal dimension of improved particle-size distribution. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 59, n. 1, p. 93-103, jan. 2013.

SHAO, M.; TANG, X.; ZHANG, Y.; LI, W. City clusters in China: air and surface water pollution. **Frontiers in Ecology and the Environment**, v. 4, p. 353-361, 2006.

SHENG, G. P.; YU, H. Q.; LI, X. Y. Extracellular polymeric substances (EPS) of microbial aggregates in biological wastewater treatment systems: a review. **Biotechnology Advances**, Hefei, v. 28, p. 882-894, nov./dez. 2010.

SILVA, J. F. **Cenário ambiental da bacia hidrográfica do Arroio Grande a partir das diatomáceas epilíticas e fatores abióticos**. 2014. 85 p. Dissertação (Mestrado em Agrobiologia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2014.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 7. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2006. 530 p.

SINGH, R.; PAUL, D.; JAIN, R. K. Biofilms: implications in bioremediation. **Trends Microbiology**, v. 14, n. 9, p. 389-397, set. 2006.

SOTO, S. M. Role of efflux pumps in the antibiotic resistance of bacteria embedded in a biofilm. **Virulence**, v. 4, n. 3, p. 223-229, abr. 2013.

SOUZA, M. M.; GASTALDINI, M. do C. C.; ARAÚJO, R. K. Probabilidade de atendimento aos padrões de qualidade da água no rio Vacacaí-Mirim, Santa Maria-RS. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, Santa Maria, v. 20, n. 4, p. 1076-1083, out./dez. 2015.

STEINBERGER, R. E.; HOLDEN, P. A. Extracellular DNA in single- and multiple-species unsaturated biofilms. **Applied Environmental Microbiology**, v. 71, n. 9, p. 5404–5410, set. 2005.

STEWART, P. S.; FRANKLIN, M. J. Physiological heterogeneity in biofilms. **Nature Reviews Microbiology**, v. 6, p. 199–210, mar. 2008.

SUN, X. F.; WANG, S. G.; ZHANG, X. M.; CHEN, J. P.; LI, X. M.; GAO, B. Y.; MA, Y. Spectroscopic study of Zn²⁺ and Co²⁺ binding to extracellular polymeric substances (EPS) from aerobic granules. **Journal of Colloid and Interface Science**, Jinan, v. 335, n. 1, p. 11-17, jul. 2009.

SUTHERLAND, I. W. Microbial exopolysaccharides - their role in microbial adhesion in aqueous systems. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 10, n. 2, p. 173-201, 1984.

SUTHERLAND, I. W. The biofilm matrix - an immobilized but dynamic microbial environment. **Trends Microbiology**, v. 9, n. 5, p. 222-227, 2001.

SVETLIČIĆ, V.; ŽUTIĆ, V.; PLETIKAPIĆ, G.; RADIĆ, T. M. Marine polysaccharide networks and diatoms at the nanometric scale. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, p. 20064–20078, out. 2013.

TEUNIS, P.; RUTJES, S.; WESTRELL, T.; DE RODA HUSMAN, A. Characterization of drinking water treatment for virus risk assessment. **Water Research**, v. 43, p. 395-404, fev. 2009.

TIECHER, T. **Fingerprinting sediment sources in agricultural catchments**. 2015. 307 p. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2015.

TIECHER, T.; MINELLA, J. P. G.; CANER, L.; EVRARD, O.; ZAFAR, M.; CAPOANE, V.; LE GALL, M.; SANTOS, D. R. dos. Quantifying land use contributions to suspended sediment in a large cultivated catchment of Southern Brazil (Guaporé River, Rio Grande do Sul). **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 237, p. 95-108, jan. 2017.

TLILI, A.; DORIGO, U.; MONTUELLE, B.; MARGOUM, C.; CARLUER, N.; GOUY, V.; BOUCHEZ, A.; BÉRARD, A. Responses of chronically contaminated biofilms to short

pulses of diuron. An experimental study simulating flooding events in a small river. **Aquatic Toxicology**, v. 87, p. 252-263, mai. 2008.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 12 ed. Artmed Editora Ltda: Porto Alegre, 2017. 865 p.

TRAVAGIN, B. N. F. S. **Estudo da formação de biofilmes de *Listeria monocytogenes* frente a diferentes condições encontradas em laticínios**. 2010. 98 p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos – Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, 2010.

US-EPA – Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos da América. **Method 3051A. Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils, and oils**. Revisado em fevereiro de 2007. Disponível em: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/3051a.pdf>. Acesso em: 07 jan. 2018.

US-EPA – Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos da América. **Method 3052. Microwave assisted acid digestion of siliceous and organically based matrices**. Revisado em dezembro de 1996. Disponível em: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/3052.pdf>. Acesso em: 07 jan. 2018.

VAN-DEN-HOEK, C.; MANN, D. G.; JAHNS, H. M. **Algae an Introduction to Phycology cambridge**: Cambridge University Press. 627 p. 1995.

VERCRAENE-EAIRMAL, M.; LAUGA, B.; SAINT LAURENT, S.; MAZZELLA, N.; BOUTRY, S.; SIMON, M.; KARAMA, S.; DELMAS, F.; DURAN, R. Diuron biotransformation and its effects on biofilm bacterial community structure. **Chemosphere**, v. 81, n. 7, p. 837-843, nov. 2010.

VISCARRA ROSSEL, R. A.; BEHRENS, T. Using data mining to model and interpret soil diffuse reflectance spectra. **Geoderma**, Canberra, v. 158, p. 46–54, ago. 2010.

VON SPERLING, M. **Princípio do tratamento biológico de águas residuárias**. Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos, 3. ed. Belo Horizonte: UFMG/Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2005.

VU, B.; CHEN, M.; CRAWFORD, R. J.; IVANOVA, E. P. Bacterial extracellular polysaccharides involved in biofilm formation. **Molecules**, v. 14, p. 2535-2554, jul. 2009.

WAGNER, M.; IVLEVA, N. P.; HAISCH, C.; NIESSNER, R.; HORN, H. Combined use of confocal laser scanning microscopy (CLSM) and Raman microscopy (RM): investigations on EPS-matrix. **Water Research**, v. 43, n. 1, p. 63–76, jan. 2009.

WANG, T.; ZHENCI, X.; YUNKAI, L.; MINGCHAO, L.; ZHENHUA, W.; HYND, P. Biofilm growth kinetics and nutrient (N/P) adsorption in an urban lake using reclaimed water: A quantitative baseline for ecological health assessment. **Ecological Indicators**, Beijing, v. 71, p. 598-607, dez. 2016.

WATNICK, P.; KOLTER, R. Biofilm, city of microbes. **Journal of Bacteriology**, v. 182, n. 10, p. 2675-2679, mai. 2000.

WEI, X.; FANG, L. C.; CAI, P.; HUANG, Q. Y.; CHEN, H.; LIANG, W.; RONG, X. M. Influence of extracellular polymeric substances (EPS) on Cd adsorption by bacteria. **Environmental Pollution**, Wuhan, v. 159, p. 1369–1374, mai. 2011.

WILLE, K.; BRABANDER, H. F. de; VANHAECKE, L.; WULF, E. de; CAETER, P. VAN; JANSSEN, C. R. Coupled chromatographic and mass-spectrometric techniques for the analysis of emerging pollutants in the aquatic environment. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 35, p. 87–108, mai. 2012.

WUERTZ, S.; OKABE, S.; HAUSNER, M. Microbial communities and their interactions in biofilm systems: an overview. **Water Science Technology**, v. 49, p. 327–336, 2004.

WUERTZ, S.; SPAETH, R.; HINDERBERGER, A.; GRIEBE, T.; FLEMMING, H. C.; WILDERER, P. A. A new method for extraction of extracellular polymeric substances from biofilms and activated sludge suitable for direct quantification of sorbed metals. **Water Science Technology**, v.43, n. 6, p. 25–34, 2001.

ZACHEUS, O. M.; LEHTOLA, M. J.; KORHONEN, L. K.; MARTIKAINEN, P. J. Soft deposits, the key site for microbial growth in drinking water distribution networks. **Water Research**, v. 35, p. 1757-1765, mai. 2001.

ZAFAR, M. **Phosphorus dynamics in sediments from a subtropical catchment with rural and urban pollution**. 2015. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2015.

ZAFAR, M.; TIECHER, T.; CASTRO LIMA, J. A. M. DE; SCHAEFER, G. L.; SANTANNA, M. A.; SANTOS, D. R. dos. Phosphorus seasonal sorption-desorption kinetics in suspended sediment in response to land use and management in the Guaporé catchment, Southern Brazil. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 188, n. 11, p. 643, nov. 2016.

ZHANG, Y.; WANG, F.; ZHU, X.; ZENG, J.; ZHAO, Q.; JIANG, X. Extracellular polymeric substances govern the development of biofilm and mass transfer of polycyclic aromatic hydrocarbons for improved biodegradation. **Bioresource Technology**, v. 193, p. 274-280, out. 2015.

ZHANG, X.; BISHOP, P. L.; KINKLE, B. K. Comparison of extraction methods for quantifying extracellular polymers in biofilms. **Water Science & Technology**, v. 39, n. 7, p. 211-218, 1999.

ZEGLIN, L. Stream microbial diversity responds to environmental changes: review and synthesis of existing research. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, p. 454-467, mai. 2015.

ZIPPEL, B.; NEU, T. R. Characterization of glycoconjugates of extracellular polymeric substances in tufa-associated biofilms by using fluorescence lectin-binding analysis. **Applied Environmental Microbiology**, v. 77, n. 2, p. 505–516, 2011.