



BIOINDICADORES COMPLEMENTARES À COLIMETRIA NA ANÁLISE DA QUALIDADE DA ÁGUA: O POTENCIAL DAS LEVEDURAS NO LAGO JUTURNAÍBA/RJ

COMPLEMENTARY BIOINDICATORS TO COLIMETRIC ASSAYS IN THE WATER QUALITY ANALYSIS: THE POTENTIAL OF YEASTS IN JUTURNAÍBA LAKE/BRAZIL

Marcos Tavares Carneiro^a; Dalton Marcondes Silva^a; Thiago Gomes Pavoni Chagas^a; Viviane Zahner^a; Marise Dutra Asensi^a; Allen Norton Hagler^b

^a Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) – Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^b Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) – Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Resumo

Os indicadores microbiológicos de qualidade da água utilizados usualmente não apresentam correlação direta com agentes patogênicos. Deste modo, novos indicadores complementares têm sido propostos. Este estudo teve como objetivo avaliar as características das leveduras como bioindicadores da qualidade da água, sua relação com os parâmetros físico-químicos e microbiológicos, e as relações entre as espécies e os fatores ambientais que favorecem o seu crescimento. O lago de Juturnaíba foi escolhido para basear o estudo devido à sua diversidade tanto morfofisiológica quanto de qualidades de águas. Foram coletadas amostras entre agosto de 2009 e junho de 2010 acompanhando a variação sazonal. As leveduras cultivadas em BILgalci apresentaram boa correlação com a DBO5, correlação fraca com o pH, e suas variações quantitativas refletiram as mudanças sazonais no lago. As leveduras cultivadas em BILglici apresentaram boa correlação com a *Escherichia coli* e com os coliformes totais. Assim, as leveduras isoladas com os meios BIL apresentaram características adequadas a um bioindicador complementar de qualidade da água.

Palavras-chave: leveduras; bioindicadores; qualidade da água; lago Juturnaíba.

Abstract

*Microbiological water quality indicators, usually used, do not show straight correlation with pathogenic agents. Thus, new indicators complementary, have been proposed. This study aimed to evaluate the yeasts characteristics as water quality bioindicators, its relation with the microbiological and physicochemical parameters, and the relations between the species and the environmental factors that improve their growth. The Juturnaiba lake was chosen to bases this study due to its morphophysionomic and water quality diversity. Samples were collected between August 2009 and June 2010 assessing the seasonal variations. The yeasts cultivated in BILgalci showed good correlation with BOD5, weak correlation with pH and its quantitative variations reflected the seasonal changes in the lake. The yeasts cultivated in BILglici showed good correlation with *Escherichia coli* and with total coliforms. Therefore, the yeasts isolated with BIL mediums showed appropriate characteristics for a complementary water quality bioindicator.*

Keywords: yeasts; bioindicators; water quality; Juturnaiba lake

1. INTRODUÇÃO

Até o ano de 2002, em torno de 1,7 milhões de crianças morriam anualmente em função de doenças veiculadas pela água e falta de saneamento adequado (Suk *et al.*, 2003; W.H.O., 2002). Em torno de 748 milhões de pessoas ainda não tinham acesso à água potável no mundo em 2012 (W.H.O., 2014). Agravando este quadro, enquanto as águas de qualidade muito ruim podem sofrer rápida objeção, em função de seu aspecto, as águas de qualidade intermediária representam riscos não perceptíveis aos nossos sentidos, ou não conhecidos por pessoas leigas.

É preciso destacar que o consumo da água propriamente dito não é o único fator que representa risco à saúde. O

contato, ou a ingestão acidental, durante atividades recreacionais, de higienização, desportivas ou laborais pode oferecer risco à saúde também. Nessas atividades, o principal componente biológico de risco à saúde advém de patógenos capazes de infeccionar quando em contato com a pele e mucosas (Medeiros, 2005). Existem muitos outros patógenos, além daqueles de origem fecal, como os dermatófitos, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* (Mendonça-Hagler *et al.*, 2001). Mesmo organismos como as leveduras, cuja patogenicidade dos isolados ambientais é pouco relatada, têm se mostrado resistentes a antimicóticos, o que potencializaria o risco em caso de contato ou ingestão acidental. Medeiros *et al.* (2008) estudaram dois rios (poluídos) e dois lagos (não poluídos)



em Minas Gerais/Brasil. Entre 134 isolados de leveduras analisados, 50% foram resistentes a Itraconazol. Todos os isolados de *Cryptococcus sp.* dos lagos não poluídos eram resistentes a Cetoconazol. Três isolados de *Rhodotorula mucilaginosa* só foram susceptíveis a Anfotericina B. Dois isolados de *Candida krusei* e todos os de *C. tropicalis* foram resistentes a todos os antifúngicos testados.

Em termos de microbiologia, na análise da água têm sido empregados parâmetros como “Bactérias heterotróficas”, que, limitado à eficiência das técnicas atuais de cultivo, busca, de forma conservadora, refletir a concentração (UFC/mL) do grande grupo inespecífico de bactérias não fotossintetizadoras na água. Porém, seu emprego tem diminuído se considerarmos a atual portaria 2914/2011 do Ministério da Saúde do Brasil (Brasil, 2011). Assim, levando-se em conta que – pela mesma portaria – os parâmetros relativos às Cianobactérias têm emprego restrito, pode-se considerar que o monitoramento microbiológico da água para consumo no Brasil, hoje, baseia-se, fundamentalmente, no emprego do coliforme termotolerante *Escherichia coli*. As bactérias do grupo coliforme, amplamente utilizadas como bioindicadoras, há muito têm sido alvo de críticas. A *Escherichia coli*, que chega a representar 95% do grupo em humanos (Filho et Oliveira, 2007), tem sobrevida nas águas naturais menor que muitos patógenos como *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus sp.*, *Streptococcus sp.*, vírus da hepatite A e E; *Adenovirus*, *Helicobacter pilori*, *Legionella pneumophila*, *Cryptosporidium sp.* e *Giardia lamblia* (Barcellosa et Quitério, 2006), e relaciona-se exclusivamente à poluição fecal de animais de sangue quente.

Falar em qualidade da água implica, necessariamente, falar em indicadores de qualidade (Hagler et al., 1986; Mendonça-Hagler et al., 2001; Rose et Grimes, 2001), pois muitos contaminantes não podem ser detectados ou mensurados por suas propriedades organolépticas. Em outros casos, não podem ser mensurados pela falta de indicadores de qualidade padronizados. Sem formas de identificação (indicadores), um contaminante pode permanecer despercebido, assim como a origem de seus malefícios (Rose et Grimes, 2001). Os métodos químicos, por sua vez, provêm informação sobre a qualidade momentânea da água (Callisto, 2004), e geralmente são caros, o que dificulta o emprego em monitoramento temporal de forma eficiente (Buss et al., 2008).

Segundo Rose et Grimes (2001), para o futuro, esperam-se tecnologias e sistemas de organismos sentinelas integrados *on-line* a sistemas de gerenciamento, os quais poderiam ajustar rapidamente o tratamento da água e disparar alertas de risco à saúde, bem como dar sustentação ao diagnóstico médico, resultando em melhores tratamentos, bem como menores períodos de internação e até em menores perdas humanas. Ainda nesta perspectiva, a balneabilidade da água poderá vir a ser acessada em tempo real. Segundo

estes autores, esses iminentes avanços científicos só serão possíveis se houver investimento em conhecimento básico de microbiologia, tais como ecologia de microrganismos, fisiologia de microrganismos e sistemas bioindicadores. Estes conhecimentos darão suporte e comporão, obrigatoriamente, os sistemas bioinformatizados.

Segundo Hagler (2006), em função da grande distribuição das leveduras, a facilidade de cultivo, o estágio bem desenvolvido da taxonomia destes organismos, e a quantidade de estudos já realizados sobre estes no ambiente, desde os trabalhos clássicos de Cooke et al. (1960), Roth et al. (1962), e Simard (1971), surpreende serem tão pouco utilizadas como indicadores de qualidade ambiental. As comunidades de leveduras estão associadas com o tipo de habitat, e mudanças neste são refletidas na composição das comunidades. Além disto, há espécies cosmopolitas em ambientes aquáticos, sejam limnológicos ou marinhos, como *Debaryomyces hansenii* e seu estado anamórfico *Candida famata*, a qual se beneficia de poder utilizar uma variedade grande de fontes de carbono (Hagler, 1987; Medeiros et al., 2008; Roth et al., 1962). As leveduras *Kluyveromyces aestuarii* e *Candida krusei* são bons exemplos de potenciais indicadores. Enquanto a primeira é comumente encontrada dentro da área de domínio do ecossistema manguezal, com vegetação bem conservada, é ausente nas áreas externas aos manguezais. Por outro lado, *Candida krusei* é reconhecidamente ligada à poluição orgânica e fecal (Hagler, 1987). Um sistema que considere estas duas espécies poderia ser usado para avaliação da conservação e qualidade ambiental deste tipo de ecossistema (Hagler, 2006). Também a espécie *C. lipolytica* (= *Yarrowia lipolytica*) tem sido sugerida com um indicador de poluição relacionada ao petróleo em ambientes marinhos e estuarinos. Ainda segundo Hagler (2006), para que sistemas de monitoramento como estes funcionem, é necessário que se desenvolvam meios de cultivo, ou métodos genéticos moleculares, que possibilitem a detecção e estimativa mais precisas das populações dessas espécies, e uma gama de dados ambientais que permitam correlacionar o estado dessas populações aos níveis de influência antrópica.

Este trabalho teve como objetivo avaliar as características das leveduras como bioindicadores da qualidade da água: sua relação com os parâmetros físico-químicos e microbiológicos, o entendimento das relações entre as espécies e os fatores ambientais que favorecem seu crescimento. Pretendeu-se, também, estudar as correlações entre a incidência de bactérias potencialmente patogênicas na água, que são aquelas que podem estar associadas a problemas de saúde pública, com os parâmetros *E. coli*, coliformes totais, bactérias heterotróficas e leveduras.



2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Caracterização do sítio escolhido para a pesquisa

O Lago de Juturnaíba foi escolhido como modelo para o estudo. Este lago possui três principais afluentes com águas de diferentes qualidades (rios Capivari, Bacaxá e São João). As águas do Juturnaíba não são nem muito poluídas nem muito limpas quando avaliadas através de suas propriedades organolépticas (águas de qualidades intermediárias). O lago apresenta diversidade de condições ambientais, tais como fozes de rios, povoados, terras agrícolas, trechos de águas lânticas, além da proximidade com a cidade de Silva Jardim, em cujo perímetro passa um de seus afluentes (Capivari) e um tributário deste, o Córrego “valão das caixas”. Em função da variação na qualidade de suas águas, o lago constituiu-se em bom modelo para o estudo (Carneiro, 2011).

O Juturnaíba situa-se entre os municípios de Silva Jardim e Araruama/RJ, e pertence à Bacia de drenagem do Rio São João. O Departamento Nacional de Obras e Saneamento (DNOS) construiu, entre 1979 e 1984, um dique-barragem no rio São João, formando um lago maior que o original, e agora tem dimensões de até 4 km de largura por 15 Km de comprimento, perímetro de 85 km e área de 43 Km², com volume final de cerca de 100 milhões de metros cúbicos (Primo *et Völcker*, 2003). No lago, duas estações de tratamento de água com tecnologia convencional captam a água e abastecem a Região dos Lagos/RJ.

Segundo Marinho *et Huszar* (2002), o lago se encontra em região de clima quente e úmido, com estação chuvosa no verão e estiagem no inverno, cujo mês mais frio tem média superior a 18°C. As menores vazões ocorrem entre os meses de junho e outubro, sendo a mais baixa registrada em agosto. A vazão média anual é de 29 m³/s. O tempo de residência médio anual é de 38 dias, o que favorece a concentração de nutrientes, estimulando a proliferação de plantas aquáticas.

2.2. Coleta de amostras

Foram coletadas 35 amostras de água no lago, em seus afluentes e em uma nascente. As coletas foram feitas em diferentes estações do ano: em agosto (6 amostras) e setembro (6) de 2009, e em fevereiro (8), abril (7) e junho (8) de 2010.

2.2.1. Descrição dos pontos de coleta

Foram coletadas amostras de 8 pontos. Estes pontos foram escolhidos em avaliação prévia, quando se buscou pontos sob diferentes condições ambientais como fozes de rios (pontos 1, 2 e 3), proximidade a povoados (ponto 5), áreas de águas lânticas (ponto 4), o meio do lago (ponto 6),

além de pontos-controle positivo (ponto 7) e negativo de poluição (ponto 8).

O **primeiro** ponto foi situado no Rio Capivari, (22°38'29.29"S e 42°23'46.40"O). Neste local, as águas apresentaram coloração escura e cheiro forte. O **segundo** ponto foi situado na foz do Rio Bacaxá (22°41'07.07"S e 42°19'53.68"O). O rio percorre extensas áreas agropastoris. A foz é caracterizada por densa vegetação de macrófitas. A água tem odor objetável, semelhante ao de esgoto doméstico, embora não se apresente escura. O **terceiro** ficou situado na foz do Rio São João, onde deságua no Juturnaíba, junto à Reserva Ecológica de Poço das Antas (22°35'25.13"S e 42°16'34.58"O), após o rio percorrer áreas agropastoris. Esta foz situa-se entre margens densamente vegetadas por macrófitas e gramíneas terrestres. A aparência é boa e sem cheiros. O **quarto** ponto fica próximo à estrada da barragem que formou o lago (22°37'15.20"S e 42°15'46.60"O), onde o represamento levou à inundação de áreas entre morros, e onde as águas têm menor mobilidade (lânticas). Ali ocorrem intensas florações de algas de pigmentação verde. O **quinto** ponto é rodeado pela comunidade de Juturnaíba (22°37'06.78"S e 42°18'15.05"O) e fica a 50 metros do ponto de saída dos barcos dos pescadores. Ali são despejados restos de peixes não comercializados. O aspecto local é de água poluída, escura ou esverdeada, por ocasião de florações algais. O **sexto** ponto de coleta ficou próximo à estação de tratamento de água da “Águas de Juturnaíba”(22°38'07.21"S e 42°18'00.18"O), no meio do lago. Não se percebe cheiros ou poluição evidente mas, ocasionalmente, observam-se florações algais. O **sétimo** ponto situou-se no Córrego “valão das caixas”, afluente do Rio Capivari. O ponto é situado dentro do perímetro urbano da Cidade, onde se observam canalizações para lançamentos de efluentes domésticos. Foi escolhido como ponto-controle positivo de poluição. O **oitavo** ponto ficou na saída da Mata do boqueirão (22°36'06.21"S e 42°23'40.48"O), onde não há nenhuma residência, apresenta águas sem odores e aparência cristalina, e constituiu um controle negativo de poluição.

2.3 Análise das amostras

No momento da coleta da água, foram aferidos, com uma sonda multiparamétrica (Hanna Instruments modelo HI 9828), os parâmetros: Temperatura da água, pH, Concentração de Oxigênio Dissolvido, Saturação de Oxigênio Dissolvido, Potencial de Oxi-redução, Condutividade e Salinidade. As amostras foram mantidas em solução de água e gelo até chegarem ao laboratório, sendo analisadas em seguida.

No laboratório foram analisados a DBO₅ e diversos parâmetros biológicos apresentados a seguir:



– Análise de coliformes totais e *E. coli*, para os quais foi utilizado um volume de 100 mL/amostra, inoculados em *Kits* de quantificação COLILLERT-18.

– Análise de *Pseudomonas aeruginosa*: foram semeados 100 µL da amostra no meio de Agar Cetrimide. Foi feita a incubação por 18h e, no dia seguinte, a observação e contagem de colônias de coloração esverdeada, sugestivas de *P. aeruginosas*. As colônias foram replicadas para confirmação bioquímica.

– Análise de Enterobactérias e bactérias heterotróficas: foram semeados 100 µL da amostra de água nos meios Agar Nutriente, Agar Eosina-azul de metileno e Agar Bile Esculina, acrescido de Azida sódica a 0,025%. Foi feita a incubação por 18h a 37°C, com observação e contagem no dia seguinte. As colônias foram replicadas para identificação bioquímica.

A partir dos isolamentos de bactérias potencialmente patogênicas (BPP) de cada amostra, formou-se o TBPP, Total de espécies de Bactérias Potencialmente Patogênicas, encontradas por amostra, dentre aquelas que foram pesquisadas: *Stenotrophomonas-Maltophilia*, *Staphylococcus aureus*, *Serratia Spp.*, *Serratia liquefaciens*, *Proteus mirabilis*, *Pantoea agglomerans*, *P. agglomerans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Enterococcus sp.*, *Enterobacter sp.*, *Enterobacter gergoviae*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Cromobacterium violáceo*.

– Análise de leveduras: 1 e 10 mL de cada amostra foram filtrados em membrana Millipore 0,8µm, e incubadas em meios BIL: BILglicose e BILgalactose, conforme descrito abaixo:

Base para isolamento de leveduras – BIL: meio de enriquecimento baseado no meio MLA – Aquatic Yeast Medium – (Carvalho 2007; Garcia 2007; Hagler *et al.*, 1986,): extrato de levedura (0,5); (NH₄)₂ SO₄ (0,1); NaH₂PO₄ (0,2), MgSO₄ (0,01); KCl (0,04); cloranfenicol (0,04); amoxicilina (0,05). Ajustar o pH p 5,5.

Para constituir o meio BILglicose, acrescenta-se, à base BIL, 0,5% de glicose. A constituição do meio BILgalactose não contém glicose mas, sim, acrescenta-se 0,5% de Galactose e reduz-se a concentração de extrato de levedura para 0,1%.

3. RESULTADOS

Na Tabela 1, estão apresentados os resultados brutos, obtidos durante a pesquisa. As águas do complexo hídrico de Juturnaíba apresentaram contagens de coliformes totais que chegaram a 10³ NMP/100 mL nos pontos 1 e (inesperadamente) no ponto 8 (provavelmente oriundos da fauna local), o pretense ponto de controle negativo, e até 10⁴ NMP/100 mL no ponto 7 (o controle positivo de poluição). As contagens de *E. coli* tiveram médias maiores

nos pontos 1 e 7 (tabela 2), como esperado em função de apresentarem poluição fecal evidente (ponto 1: cor da água, ponto 7: canalizações de esgoto aparentes), mas, no ponto 2, onde havia cheiro característico de esgoto, tais contagens foram sempre menores que 1000 NMP/100 mL (Tabela 1).

As leveduras tiveram um pico de isolamento nas coletas de agosto no ponto 3 (meio BILglicose) e setembro, nos pontos 1 e 4 (meio BILgalcose), em ambos os casos coincidindo com o período seco. Os outros pontos também apresentaram contagens expressivas, por volta de 5000 UFC/100 mL. Após agosto/setembro 2009, as contagens caíram em fevereiro, coincidindo com as chuvas intensas no início de 2010 (Figura 4).

Com relação às características físico-químicas, a DBO₅ variou de 3 mg/L no ponto 8 a mais de 50 mg/L no ponto 5. As concentrações relativamente altas de Oxigênio, concomitante aos valores também altos de DBO₅, possivelmente se relacionam às florações frequentes observadas no ponto 5, e eventuais no ponto 6 (notadamente em junho/2010), frequentes no ponto 4, e à exuberância da vegetação de macrófitas no ponto 2. Em setembro/2009, todos os pontos apresentaram altas concentrações de Oxigênio, coincidindo com chuva moderada e persistente. O número ou Total de diferentes espécies de Bactérias Potencialmente Patogênicas (TBPP) foi maior que zero em todas as amostras, embora em junho/2010 tenha sido encontrado apenas um *táxon* por ponto, exceto no ponto 7, onde foram encontrados 3 *taxa*.

O TBPP não se relacionou estatisticamente com nenhum ponto, mas houve diferença sazonal, com média de 4,15 TBPP em agosto/2009 e setembro/2009, 3,25 em fevereiro/2010, 2,3 em abril/2010 e 1,25 em junho/2010. Este último coincidiu com o período de florações mais intensas e generalizadas no lago, sobretudo nos pontos 3, 4, 5 e 6. A TBPP também não se correlacionou com a colimetria. O cálculo do R² visto na Figura 1 evidenciou que não houve correlação importante entre estas duas variáveis (R²≅ 0,1775).

A Tabela 2 mostra as médias geométricas das contagens UFC/100mL de leveduras isoladas em membrana filtrante (MF), com os meios BILglicose, BILgalcose e de NMP de coliformes totais, *E. coli* e *Pseudomonas sp.*, ao longo do estudo e em cada ponto de coleta. Mostra também as médias aritméticas das variáveis físico-químicas. A maioria dos parâmetros refletiu a diferença de qualidade da água entre os pontos de controle positivo e negativo de poluição (7 e 8, respectivamente). As contagens de leveduras refletiram tal diferença mais acentuadamente, com quantitativos mais expressivos e com amplitudes maiores que os indicadores tradicionais, coliformes totais e *E. coli*.



Abri P7	4,00 x10 ³	5,12 x10 ³	1,01x10 ⁴	8,1 x 10 ¹	70	2	28,98	4,57
Abri P8	1,00 x10 ²	<1	2,92x10 ³	4,1 x 10 ¹	0	5	4,63	7,74
Jun P1	1,63 x10 ³	4,00 x10 ²	4,43x10 ³	2,00 x10 ²	10	1	9,67	8,67
Jun P2	8,14 x10 ²	1,00 x10 ³	1,89x10 ²	1,0 x10 ¹	0	1	48,25	8,29
Jun P3	2,10 x10 ³	9, x10 ²	7,4x10 ¹	1,0 x10 ¹	0	1	17,64	7,43
Jun P4	1,00 x10 ²	1,00 x10 ²	1,0x10 ¹	< 10	0	1	34,64	8,01
Jun P5	3,00 x10 ²	1,00 x10 ²	1,0x10 ¹	< 10	0	1	54,77	9,56
Jun P6	<1	<1	< 10	< 10	0	1	33,83	8,67
Jun P7*	6,00 x10 ³	4,70 x10 ³	1,01x10 ⁴	5,00 x10 ²	0	3	43,86	5,64
Jun P8*	2,00 x10 ²	<1	4,0x10 ¹	< 10	0	1	3,16	9,03

(na) não analisado () valores médios de 3 sub-amostras.

Fonte: Os autores (2015)

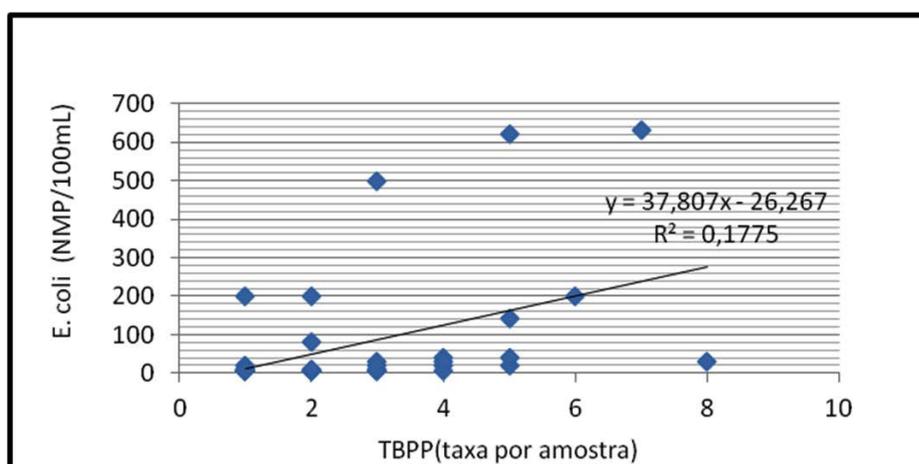


Figura 1. Correlação entre o Total de espécies de bactérias Potencialmente Patogênicas (TBPP) e o NMP de *E. coli*. Para elaboração da figura 1, foram atribuídos os valores de 5 às amostras com NMP indicado na Tabela 1 como <10.

Fonte: Os autores (2015)

A média do número UFC de leveduras obtidas no meio Bilgalci em membrana foi 348 vezes maior no ponto controle positivo de poluição comparado ao negativo. Este, o ponto 7, obteve os piores resultados de qualidade em quase todos os parâmetros, à exceção de DBO₅, *E. coli* e *Pseudomonas sp.* Os indicadores de poluição fecal recente (*E. coli*) foram, na média, maiores nos pontos 1 e 7. As *Pseudomonas sp.*, inversamente, foram mais abundantes nos pontos onde o tempo de residência é, sabidamente, maior: dentro do lago, principalmente no ponto 4, e secundariamente também no ponto 3 (foz do Rio São João), além do ponto 6, no meio do lago. Por outro lado, nos pontos 1 e 7 (rios com poluição fecal recente) além do ponto 8 (tempo de residência baixo), as *Pseudomonas sp.* foram encontradas em menores quantidades.

A média de matéria orgânica, medida em DBO₅, foi maior nos pontos 2, 5 e 7. O ponto 8 foi o único a apresentar média de DBO₅ abaixo de 5 mg/L. A Figura 2 mostra a correlação entre as médias por ponto da DBO₅ e as contagens de leveduras isoladas no meio Bilgalci/MF ($R^2 \cong 0,877$), para o qual não se computaram as médias dos pontos 2 e 5, entendidos como discrepantes. Esses pontos apresentaram valores reduzidos de leveduras isoladas em Bilgalci/MF e de *E. Coli* comparados ao valor da DBO₅. As contagens de leveduras isoladas em Bilgalci/MF mostraram fraca correlação negativa com o pH (Figura 3).

As contagens de leveduras isoladas em meio Bilglici se correlacionaram ($R^2 \cong 0,7906$) às de *E. coli* (Figura 5), assim como as isoladas em Bilgalci com Coliformes totais ($R^2 \cong 0,9275$). Estas correlações estão diretamente influenciadas pelos pontos 1 e 7 os mais poluídos por esgotos (Tabela 2).



Nos meses de Agosto e setembro/2009 (Fig. 7), foram obtidos os valores mais elevados de contagem de leveduras, isoladas em meio BILglicí/MF, chegando a 10^4 (Fig 2), um número alto para este tipo de bioindicador, e que seria esperado em um ambiente eutrofizado. Essas contagens de leveduras no

ponto 2 pareceram mais ligadas à matéria orgânica (DBO_5), natural do lago, que ao esgoto. Pois, embora essa matéria orgânica pudesse ter sido originada em esgotos (ver seção 2.2.1.), isto não foi evidenciado na colimetria (Tabela 2).

Tabela 2. A figura mostra, em cada ponto ao longo do estudo, as médias geométricas das contagens UFC/100 mL de leveduras crescidas nos meios BILglicí, BILgalcí, *Pseudomonas* sp. e Bactérias heterotróficas, e Número mais provável (NMP/100mL) de coliformes totais e *E. coli*. Mostra também as médias aritméticas das variáveis físico-químicas.

Pontocoleta	Leveduras *1	Leveduras *2	Colif. Totais	<i>E. coli</i>	<i>Pseudomonas</i> sp.	Bactéria Heterot.	pH	DBO_5 (mg/L)	OD (mg/L)
p1	1324	764	3968	199	19	91	6,8	13,6	7,6
p2	1031	1224	281	12	41	79	6,8	33,8	7,3
p3	666	3708	135	19	94	91	6,3	20,6	6,3
p4	419	505	15	5	120	77	6,9	19,8	7,0
p5	283	468	48	8	41	66	7,2	28,6	8,1
p6	336	332	9	6	63	61	7,2	16,8	7,9
p7	4017	5523	8898	270	2	457	6,6	28,4	4,4
p8	202	15,9	203	11	3	212	7,1	4,5	6,7

*1 – Leveduras isoladas em meio BILglicí *2 – Leveduras isoladas em meio BILgalcí.

Fonte: Os autores (2015)

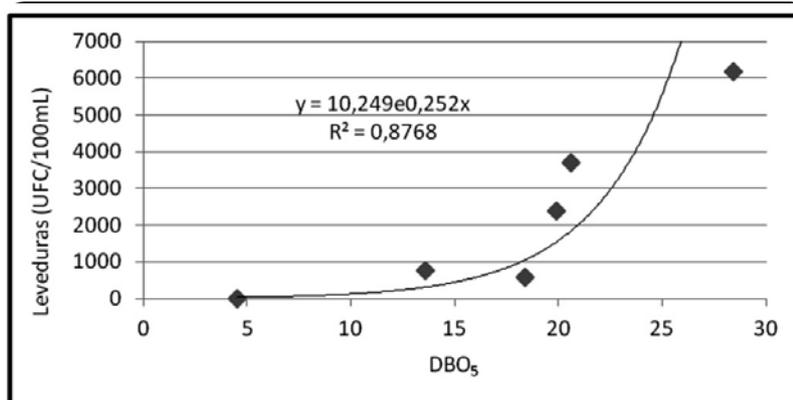


Figura 2. Correlação exponencial entre as médias, por ponto de coleta, de DBO_5 e leveduras (em meio BILgalcí/MF), excluídos os pontos 2 e 5.

Fonte: Os autores (2015)

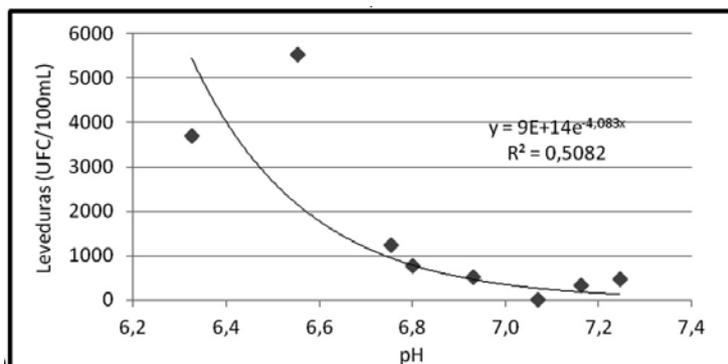


Figura 3. Correlação entre médias de leveduras em BILgalcí e pH, por ponto.

Fonte: Os autores (2015).

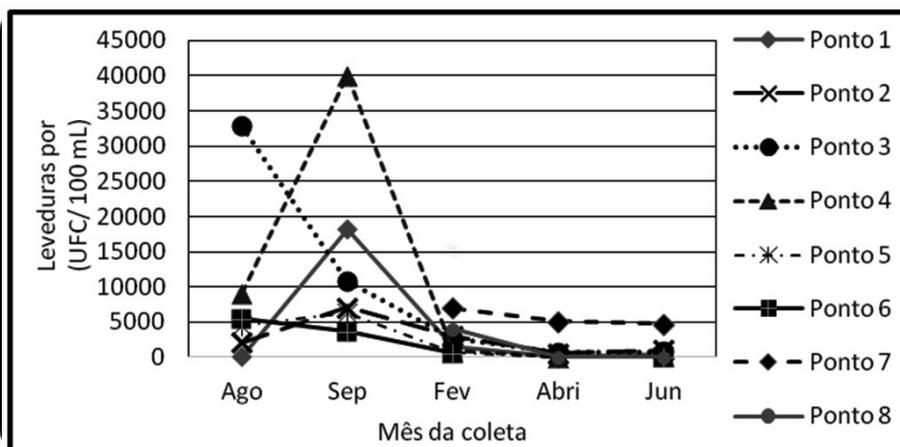


Figura 4. Evolução temporal das contagens de leveduras em Bilglici por ponto e coleta (Agosto/2009 a Junho/2010).

Fonte: Os autores (2015)

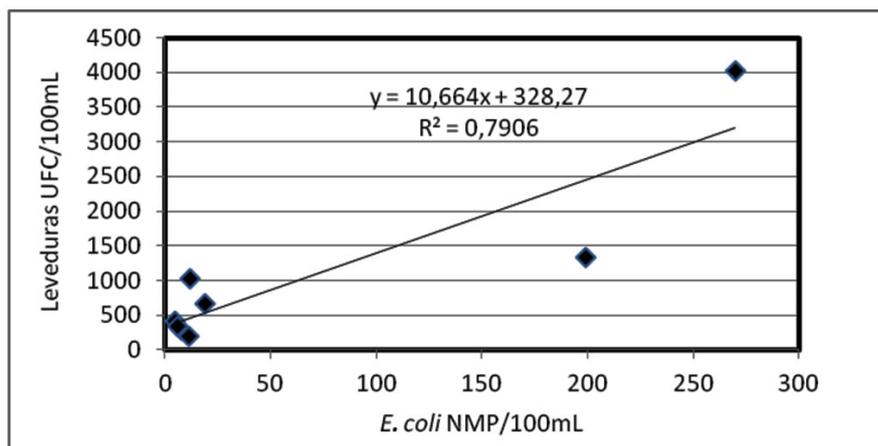


Figura 5. Correlação entre leveduras isoladas em Bilglici e *E. coli*

Fonte: Os autores (2015)

4. DISCUSSÃO

A intensificação das atividades antrópicas impacta os mananciais aquáticos e leva à contínua e crescente necessidade de monitoramento e gerenciamento (Brandão *et al.* 2010; Esteves, 1998; Mcallister *et al.* 1997), o que requer, entre outras coisas, um sistema de bioindicadores que confira informações mais seguras à vigilância ambiental e à população (Hagler, 2006; Mendonça-Hagler *et al.*, 2001; Petrucio *et al.*, 2005; Rose et Grimes, 2001).

Como observado por Filho (1988), as águas de mananciais bem conservados, devido ao seu aspecto cristalino, são geralmente consideradas próprias para consumo pela população, de tal forma que não é raro alguém utilizá-las diretamente para o consumo, durante uma caminhada ou excursão, o que, por vezes, pode significar risco à saúde. A maior carência de informação também não é sobre as águas mais poluídas, pois, para estas, os sentidos do olfato e da visão podem ser suficientes para causar objeção ao banho

e a outros contatos primários. Portanto, seriam as águas de qualidade intermediárias que poderiam representar riscos não perceptíveis aos nossos sentidos, ou não conhecidos por pessoas leigas. Em ambos os casos, a existência de informação pode representar diferença significativa na incidência de doenças infecciosas veiculadas pela água (Rose et Grimes, 2001, W.H.O., 2000).

Durante este estudo, o NMP de *Escherichia coli* nas amostras do lago não ultrapassou a ordem de grandeza de 10^2 NMP/100 mL (Tabela 1), o que atenderia ao padrão de balneabilidade estabelecido pela CONAMA 274/00, caracterizando, no mínimo, aquelas águas como “satisfatórias”, embora não tenhamos “analisado um conjunto de amostras obtidas em cada uma das cinco semanas anteriores” como preconiza a norma. No mesmo período, o total de bactérias potencialmente patogênicas (TBPP) chegou até 8 taxa (Tabela 1). A existência destas bactérias, concomitantemente à baixa colimetria no lago, reforça a necessidade de indicadores complementares aos



tradicionais (Rose *et* Grimes, 2001). Foram encontradas *Pseudomonas* sp. em quantidade igual ou superior a 500 UFC/100 mL nos pontos 3 e 4 (Agosto/2009 e Fevereiro e Abril 2010) e ponto 6 (Agosto/2009) concomitantemente às NMPs de *E. coli* abaixo de 100 NMP/100 mL (Tabela 1). Chagas *et al.* (2012) submeteram essas *Pseudomonas* sp. (confirmadas como *P. aeruginosa*) a testes em que apresentaram taxas de resistência significativas a diversos antibióticos, entre os quais a Amicacina (98%), Aztreonam (38%) e a Ciprofloxacina (10%).

Os valores reduzidos de NMP/100 mL de *E. coli* e coliformes totais, encontrados em diversas amostras coletadas, nos pontos 4, 5 e 6, provavelmente estão associadas à diluição dos esgotos e ao tempo de residência média do lago, cerca de 38 dias (Primo *et* Völcker, 2003), superior ao tempo médio de viabilidade de 90% dos coliformes totais em águas doces, que é \leq 58 horas (W.H.O., 2000). A diluição dos esgotos e o decaimento dos coliformes que ocorre nos reservatórios que servem ao consumo, à agricultura e ao lazer resultam na redução das contagens de *E. coli*, mas não, necessariamente, nas contagens de outras bactérias, não restando relação entre estas e os coliformes de origem fecal, conforme observado na Figura 1.

Os dados que salientam mais propriamente o contraste entre a qualidade da água esperada e a observada por meio de análise laboratorial são, principalmente, os da amostra do ponto 8. As águas cristalinas deste ponto são de uma fonte natural na saída de um fragmento florestal, onde não consta população humana, embora, sim, mamíferos, aves e outros animais silvestres. Em abril/2010 (Tabela 1), a DBO₅ (4,63mgO/L) e o OD (7,74 mgO/L) foram próprios de águas não eutróficas. As contagens de *E. coli* (NMP<100/100mL), leveduras em BILgalci (<1 UFC/100mL) e em BILglici (1x10² UFC/100mL) foram baixas. Porém, nesta amostra, chegaram a ser isolados 5 TBPP e 1000 UFC/100mL de *Pseudomonas* sp. e *Enterococcus* sp., com provável origem silvestre.

As contagens de leveduras em meio BILgalci mostraram potencial para bioindicador do grau de eutrofização do corpo hídrico, pois se correlacionaram (figura 2) com a concentração de matéria orgânica (DBO₅), considerando as médias geométricas por ponto. Neste sentido, o pico de isolamentos, principalmente nos pontos 3 e 4 em agosto e setembro de 2009, pode estar ligado à senescência de macrófitas e à concentração de nutrientes durante o período seco nos rios e no lago (figura 4 e seção 2.1). As Leveduras isoladas em ambos os meios correlacionaram-se à colimetria (figura 5). Assim, as leveduras responderam à eutrofização de origens diversas.

5. CONCLUSÃO

As Bactérias Potencialmente Patogênicas (BPP) isoladas no trabalho não foram testadas quanto à sua patogenicidade

ou risco à saúde. Quanto ao potencial como bioindicadoras, no entanto, os dados analisados neste estudo não permitiram estabelecer qualquer correlação entre colimetria e o TBPP (Total de Bactérias Potencialmente Patogênicas). Portanto, com base nestes dados, não se pode inferir qualquer nível de segurança à coletividade em função do uso da colimetria como único indicador microbiológico de qualidade da água.

Por outro lado, o TBPP foi útil para avaliar a *E. coli* como bioindicador de qualidade da água. Um grupo definido de Bactérias potencialmente patogênicas, além de fungos, vírus e protozoários, poderia vir a servir para verificar a eficiência de espécies ou índices que se proponham como parâmetros de qualidade da água.

Nenhum indicador, por si só, neste estudo, pôde indicar a presença dos vários potenciais patógenos presentes nas amostras, fato que confirma a necessidade de que mais bioindicadores sejam incluídos nas normas de qualidade da água, para que sejam complementares entre si.

A correlação entre leveduras (em BILgalactose) e DBO₅, potencializa seu uso em ambientes eutrofizados. A correlação entre leveduras (em BILglicose) e *E. coli*, em águas de baixo pH, e a sua elevada sensibilidade a reduzida concentração de substratos, medido através da DBO₅, como no ponto 8, potencializam sua utilização como parâmetro microbiológico conservador em diversas condições ambientais.

As leveduras, isoladas em meios BIL, apresentaram bom potencial como bioindicadoras complementares de qualidade da água, e podem ser incluídas em sistemas de indicadores para melhor gestão da qualidade da água, requerendo-se mais trabalhos que confirmem esse potencial.

6. REFERÊNCIAS

- BARCELLOSA, C. e QUITÉRIO L. A. D. (2006), "Vigilância ambiental em saúde e sua implantação no Sistema Único de Saúde", *Rev. Saúde Pública*, vol. 40, No.1, pp. 170-177.
- BRANDÃO, L. R., ROSA, C. A., MEDEIROS, A. O. (2010), "Yeast diversity in freshwater ecosystems". *Advances in Environmental Research*, Vol. 5, pp. 1-18.
- BRASIL (2011), Portaria nº 2914 de 12 de dezembro de 2011 do Ministério da Saúde, Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, MS, Brasília.
- BUSS, D. F., OLIVEIRA, R. B., BAPTISTA, D. F. (2008), "Monitoramento biológico de ecossistemas aquáticos continentais", *Oecol. Bras.*, Vol. 12, No.3, pp. 339-345.
- CALLISTO, M., GOULART, M., MEDEIROS, A. O., MORENO, P., ROSA, C. A. (2004), "Diversity assessment of benthic macroinvertebrates, yeasts, and microbiological



indicators along a longitudinal gradient in Serra do Cipó, Brazil”, *Braz. J. Biol.*, Vol. 64, No.4, pp. 743-55.

CARNEIRO, M. T. (2011), Desenvolvimento de meios seletivos para contagem de leveduras em membrana filtrante para monitorar a poluição no Lago Juturnaíba, Rio de Janeiro, Dissertação de Mestrado em Saúde Pública, Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ.

CARVALHO, P.M.B. (2007), Utilização de meios de enriquecimento para a bioprospecção de leveduras, Rio de Janeiro, Tese de Doutorado em Biotecnologia Vegetal, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ.

CHAGAS, T. P. G., GIACOMIN, L. C., CARRAMASCHI, I. N., Cruz, J. G. V., Carneiro, M. T., Silva, D. M., Zahner, V., Asensi, M. D. (2012), Avaliação da susceptibilidade antimicrobiana de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de amostras de água do Lago Juturnaíba/RJ”, XXI Congresso Latinoamericano de Microbiologia-ALAM.

COOKE W.B., PHAFF H.J., MILLER M.W., SHIFRINE M., Knapp E.P. (1960), “Yeasts in polluted water and sewage”, *Mycology*, Vol. 52, pp. 210–30.

ESTEVES, F.A. (1998), Fundamentos de Limnologia, 2 ed., Interciência, Rio de Janeiro, RJ.

FILHO, G. N. S. et OLIVEIRA, V.L. (2007), Microbiologia: manual de aulas práticas. 2 ed., Ed. UFSC, Florianópolis.

FILHO, J. B. S. (1988), Avaliação de coliformes e leveduras como indicadores de poluição aquática em rios da floresta da Tijuca, Rio de Janeiro, Tese de Mestrado em Microbiologia, IMPPG/ UFRJ, Rio de Janeiro.

GARCIA, K.M. (2007), Meios diferenciais para bioprospecção de leveduras endofíticas da bromélia *Neoregelia cruenta*, Dissertação de Mestrado em Biotecnologia Vegetal, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Biotecnologia Vegetal, Rio de Janeiro.

HAGLER A.N, MENDONÇA-HAGLER, L.C., SANTOS, .E.A., FARAGE, S., SILVA, J.B. F., SCHRANK, A., OLIVERIRA. R.B. (1986), «Microbial pollution indicators in Brazilian tropical and subtropical marine surface waters», *The science of the total environmental* , Vol. 58, pp.151-60.

HAGLER, A.N. (2006), “Yeasts as Indicators of Environmental Quality”, em Gábor P. et Rosa C.(ed), *Biodiversity and ecophysiology of yeasts*, Springer Berlin Heidelberg, pp. 515-32.

MARINHO, M. M. et HUSZAR, V. L. M. (2002), “Nutrient availability and physical conditions as controlling factors of phytoplankton composition and biomass in a tropical reservoir (southeastern, Brazil)”, *Arch. Hydrobiol.*, Vol.153, No.3, pp. 443-68.

MARINHO, M. M., HUSZAR, V. L. M., SAMPAIO-PINTO G. (1993), “Estrutura da comunidade fitoplanctônica da Lagoa

de Juturnaíba, Araruama, RJ, Brasil.: Uma comparação entre os períodos anterior e posterior a construção da barragem no Rio São João”, *Rev. Brasil. Biol.*, Vol. 53, No.3, pp. 453-67.

MCALLISTER, D. E., HAMILTON, A. L., HARVEY, B. (1997), “Global freshwater biodiversity: striving for the integrity of freshwater ecosystems”, *Sea Wind*, Vol. 11, No. 3, pp.1-142.

MEDEIROS, A.O., KOHLER, L.M., HAMDAN, J.S., MISSAGIA, B.S., BARBOSA, F.A.R., ROSA, C.A. (2008), “Diversity and antifungal susceptibility of yeasts from tropical freshwater environments in Southeastern Brazil”, *Waterresearch*, Vol. 42, pp. 3921-29.

MENDONÇA-HAGLER, L. C., VIEIRA, R. H. S. F., HAGLER, A.N. (2001), “Microbial quality of water, sediment, fish and shellfish in some Brazilian Coastal regions”, em Faria B. M., Farjalla, V.F., Esteves, F.A. (eds.), *Aquatic Microbial Ecology in Brazil*, Series Oecologia Brasiliensis, Vol. IX, pp. 197-216.

PETRUCIO, M. M., MEDEIROS, A. O., ROSA C. A., BARBOSA, F. A. (2005), “Trophic State and Microorganisms Community of Major Sub-Basins of the Middle Rio Doce Basin, Southeast Brazil”, *Brazilian Archives of Biology and Technology*, Vol. 48, No.4, pp. 625-33.

PRIMO, P. B. S. et VÖLCKER, C.M. (2003), “Bacias Hidrográficas dos rios São João e das Ostras. Águas, terras e conservação ambiental. Rio de Janeiro”, *Escalagrafit* , Vol.1, pp.170.

ROSE, J. B. et GRIMES, D.J. (2001), “Reevaluation of Microbial Water Quality: Powerful New Tools for Detection and Risk Assessment”, *American Academy of Microbiology Washington*.

ROTH, F. J., AHEARN, D. G., FELL, J. W., MEYERS, S. P. Meyer, S. A.(1962), “ Ecology and Taxonomy of Yeasts Isolated from Various Marine Substrates”, *Limnology and Oceanography*, Vol. 7, No. 2, pp. 178-85.

SIMARD, R.E.(1971), “Yeast as an indicator of pollution”, *Marine Pollution Bulletin*, Vol.2, pp.123-125.

SUK, W. A. , RUCHIRAWAT, K. M., BALAKRISHNAN, K., BERGER, M. , CARPENTER, D., DAMSTRA, T., GARBINO, J. P. , KOH, D. , LANDRIGAN, P. J , MAKALINAO, I. , SLY, P. D. , XU, Y. , et ZHENG, B. S.(2003), “Environmental Threats to Children’s Health in Southeast Asia and the Western Pacific”, *Environmental Health Perspectives*, Vol. 111, No.10, pp.1340-1347.

W.H.O. – World Health Organization – (2000). “Monitoring Bathing Waters: Approaches to microbiological monitoring – A Practical Guide to the Design and Implementation of Assessments and Monitoring Programmes”, Jamie Bartram and Gareth Rees(Eds).

W.H.O. – WORLD HEALTH ORGANIZATION – (2002), “The WORLD HEALTH REPORT 2002: Reducing risks,



Promoting Healthy Life”, disponível em: <http://www.who.int/whr/2002/en/>.

W.H.O. – World Health Organization – (2014), Progress on sanitation and drinking-water – update