

BIOMONITORAMENTO DE UM CORPO D'ÁGUA TROPICAL A PARTIR DA DETECÇÃO DE INDICADORES MICROBIANOS DE POLUIÇÃO FECAL E DA IDENTIFICAÇÃO DE MACROINVERTEBRADOS BENTÔNICOS

Luana Queiroz Pilate^{1,2}, Haroldo Lobo¹, Maria Helena Rodrigues Gomes¹, Luiza Pedrosa Guimarães¹, Thiago da Silva Novato¹, Lucas Rieger de Oliveira¹ & Iara Furtado Santiago^{1,2}

Resumo: O biomonitoramento é uma das formas de avaliar ecossistemas aquáticos e de inferir a qualidade da água a partir de dados biológicos. Segundo a legislação, as bactérias do grupo coliforme são os micro-organismos de escolha para avaliar a qualidade da água. Aliado às análises microbiológicas da coluna d'água, as análises da composição de macroinvertebrados bentônicos gera um diagnóstico mais apurado sobre os impactos sofridos, devido à capacidade do sedimento em acumular compostos. O objetivo do presente estudo foi avaliar a qualidade da água e do sedimento do Ribeirão Espírito Santo, utilizando o protocolo de avaliação rápida de habitats e bioindicadores. Foram coletadas amostras de água e sedimento em quatro diferentes pontos ao longo do corpo hídrico. As amostras de água coletadas foram utilizadas para análises microbiológicas e as amostras de sedimento para identificação dos macroinvertebrados presentes. O biomonitoramento foi realizado utilizando-se de análise do impacto pelo protocolo de avaliação rápida, teste colorimétrico pela técnica do Colilert, contagem das possíveis bactérias patogênicas e pela identificação de macroinvertebrados bentônicos. Os resultados mostraram que amostras analisadas em áreas com maior interferência antrópica apresentaram maiores valores de coliformes totais, *E. coli*, maior densidade de diferentes morfotipos de possíveis bactérias patogênicas e maior densidade de macroinvertebrados bioindicadores, reafirmando esta como área impactada.

Palavras-chave: Impacto Ambiental; Monitoramento Ambiental; Micro-organismos; Bentos.

Abstract: Biomonitoring is one way to assess aquatic ecosystems and water quality from biological data. According to legislation, bacteria in the coliform group are the microorganisms of choice for assessing water quality. In addition to the microbiological analyzes of the water column, the analysis of the composition of benthic macroinvertebrates generates a more accurate diagnosis of the impacts suffered, due the capacity of the sediment to accumulate compounds. The objective of the present study was to evaluate the water and sediment quality of Ribeirão Espírito Santo, using the protocol of rapid evaluation of habitats and bioindicators. Water and sediment samples were collected at four different points along the water body. The collected water samples were used for microbiological analysis and the sediment samples to identify macroinvertebrates present. The biomonitoring was carried out using impact analysis by the rapid evaluation protocol, colorimetric test by the Colilert technique, counting of possible pathogenic bacteria and the identification of benthic macroinvertebrates. The results showed that samples analyzed in areas with greater anthropic interference had higher values of total coliforms, *E. coli*, higher density of different morphotypes of possible pathogenic bacteria and higher density of macroinvertebrates bioindicators, reaffirming this as an impacted area.

Key-words: Environmental impact; Environmental monitoring; Microorganisms; Bentos.

Introdução

O crescimento descontrolado da população e a busca por crescimento econômico a todo custo, geram impactos muitas vezes sem reparo ao meio ambiente. O Impacto ambiental pode ser entendido como toda mudança ocorrida, grande ou pequena, positiva ou negativa, ocasionada por uma ação ou atividade, sobre o meio biótico e abiótico (Diniz 2006).

A ocupação irregular de solos e o desmatamento, o lançamento indiscriminado de efluentes domésticos e industriais nos corpos d'água, práticas de mineração, construção de barragens e represas e retificação e desvio do curso natural de rios, são exemplos de atividades corriqueiras e que alteram significativamente ecossistemas aquáticos devido aos diversos impactos gerados ao ambiente e que são agravados muitas das vezes, pela defasagem de legislação e a falta de fiscalização eficiente dos órgãos competentes (Goulart & Callisto, 2003, Arslan *et al.* 2016).

¹Universidade Federal de Juiz de Fora, Rua José Lourenço Kelmer, s/n – Campus Universitário, Bairro São Pedro, CEP- 36036-900, Juiz de Fora, MG, Brasil, ²Autores de correspondência: luana.pilate@engenharia.ufjf.br e iarasant@hotmail.com

Segundo o Artigo 1º da Resolução CONAMA nº 1/1986, Impacto Ambiental é “qualquer alteração das propriedades físicas, químicas e biológicas do meio ambiente, causada por qualquer forma de matéria ou energia resultante das atividades humanas que, direta ou indiretamente, afetam: a saúde, a segurança e o bem-estar da população; as atividades sociais e econômicas; a biota; as condições estéticas e sanitárias do meio ambiente; a qualidade dos recursos ambientais”. O uso de análises que avaliam mudanças de concentrações de parâmetros físicos e químicos é comum em estudos de impactos ambientais em ecossistemas aquáticos (IGAM 2015, CETESB 2016, Arslan *et al.* 2016, Abreu & Cunha, 2017). Este acompanhamento, juntamente com os dados microbiológicos (coliformes totais e fecais), são fundamentais para o enquadramento e a classificação de rios e córregos em concordância com a qualidade da água (CONAMA 357/2005) e os padrões de potabilidade (BRASIL 2011) e balneabilidade humana (CONAMA 274/2000).

O biomonitoramento é um método de observar o impacto de fatores externos no ecossistema e sua evolução ao longo de um período ou entre diferentes localizações, utilizando-se de bioindicadores (Markert *et al.* 1999), que são organismos (ou parte destes) ou comunidades que contenham informações sobre a qualidade de um ambiente (Markert *et al.* 1999). Um bioindicador “ideal” deve apresentar as seguintes características: (a) facilidade de identificação taxonômica; (b) ampla distribuição; (c) baixa mobilidade (para indicações locais); (d) biologia e ecologia bem descrita; (e) abundância numérica; (f) suscetibilidade para experimentos laboratoriais; (g) alta sensibilidade ao agente estressor (Hilty & Merenlender 2000, Li *et al.* 2010).

O uso de coliformes totais e termotolerantes são indispensáveis como parâmetros de qualidade da água pela legislação Brasileira. A Portaria MS nº 2914 (BRASIL 2011), que trata do controle da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, determinam a utilização destes micro-organismos, pois os mesmos são bons organismos indicadores de possível contaminação fecal recente na água e conseqüentemente de seu potencial de transmitir doenças.

Aliado às análises microbianas, a utilização dos macroinvertebrados bentônicos, grupo de invertebrados que habitam o sedimento de ambientes aquáticos, compostos por larvas de insetos, moluscos, crustáceos e anelídeos, com tamanho superior a 0,25mm, como bioindicadores da qualidade de ambientes límnicos é cada vez mais frequente (Balderas *et al.* 2016, Damanik-Ambarita *et al.* 2016). Sabe-se que sua utilização já é aceita como uma importante ferramenta na avaliação da qualidade da água, visto que a identificação destes organismos feita corretamente até o nível de família já é suficiente em determinados casos de avaliação (Junqueira *et al.* 2000, Callisto *et al.* 2001, Carlson *et al.* 2012, Arslan *et al.* 2016, Balderas *et al.* 2016). Agências governamentais de gestão das águas, como a Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB) e o Instituto Mineiro de Gestão das Águas (IGAM), utilizam desta ferramenta no monitoramento da água em seus estados (IGAM 2015, CETESB 2016).

A cidade de Juiz de Fora (MG) apresenta uma população de 516.247 habitantes (densidade demográfica de 359,59 hab/km²), sendo a quarta maior cidade do Estado de Minas Gerais, segundo o último censo do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE 2010). Sedia grandes empreendimentos com diversas atividades industriais como montagem de veículos, metalurgias, química, celulose, entre outras, sendo o bairro Distrito Industrial uma região destinada ao adensamento de fábricas e usinas, como estabelecido na Lei nº 6910/1986, que estabelece o uso e ocupação do solo da cidade (PJF 1986).

Um dos principais abastecedores de água do município é o Ribeirão Espírito Santo, localizado na região Noroeste da cidade, cortando o bairro Distrito Industrial. Enquadrado na classe 1 (COPAM 1996), é responsável por abastecer 40% da população de Juiz de Fora, produzindo cerca de 620 L/s de água tratada, sendo esse seu principal uso. Em segundo lugar está o uso industrial e por último, com menor aproveitamento hídrico, as atividades de

irrigação de pequenas culturas e agropecuárias, pouco expressivas na região (CESAMA 2017). A microbacia do Ribeirão Espírito Santo (BHRES) possui uma área de drenagem de 151,49 km². Atualmente a bacia é ocupada por áreas de pastagens, áreas de regeneração da vegetação arbórea, estradas, granjamentos, silvicultura e expansão do Distrito Industrial da cidade (Faria *et al.* 2003, Pinto *et al.* 2016).

Devido à importância do Ribeirão Espírito Santo como abastecedor da cidade de Juiz de Fora e a captação de seus recursos hídricos serem próximo ao pólo industrial do município, é necessário um constante monitoramento de suas águas para garantir sua viabilidade para seus usos previstos. Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade da água e do sedimento de fundo do Ribeirão Espírito Santo, utilizando como ferramentas o protocolo de avaliação rápida de habitats (Callisto *et al.* 2002), as análises microbiológicas de coliformes e isolamento de possíveis bactérias patogênicas e a identificação macroinvertebrados bentônicos.

Material e Métodos

Caracterização da área de estudo

As amostras foram coletas em quatro localidades amostrais do Ribeirão Espírito Santo (P1, P2, P3 e P4), situadas no trecho do Distrito Industrial, na cidade de Juiz de Fora- MG (Figura 1). As coletas foram realizadas em outubro de 2015, período de poucas precipitações.

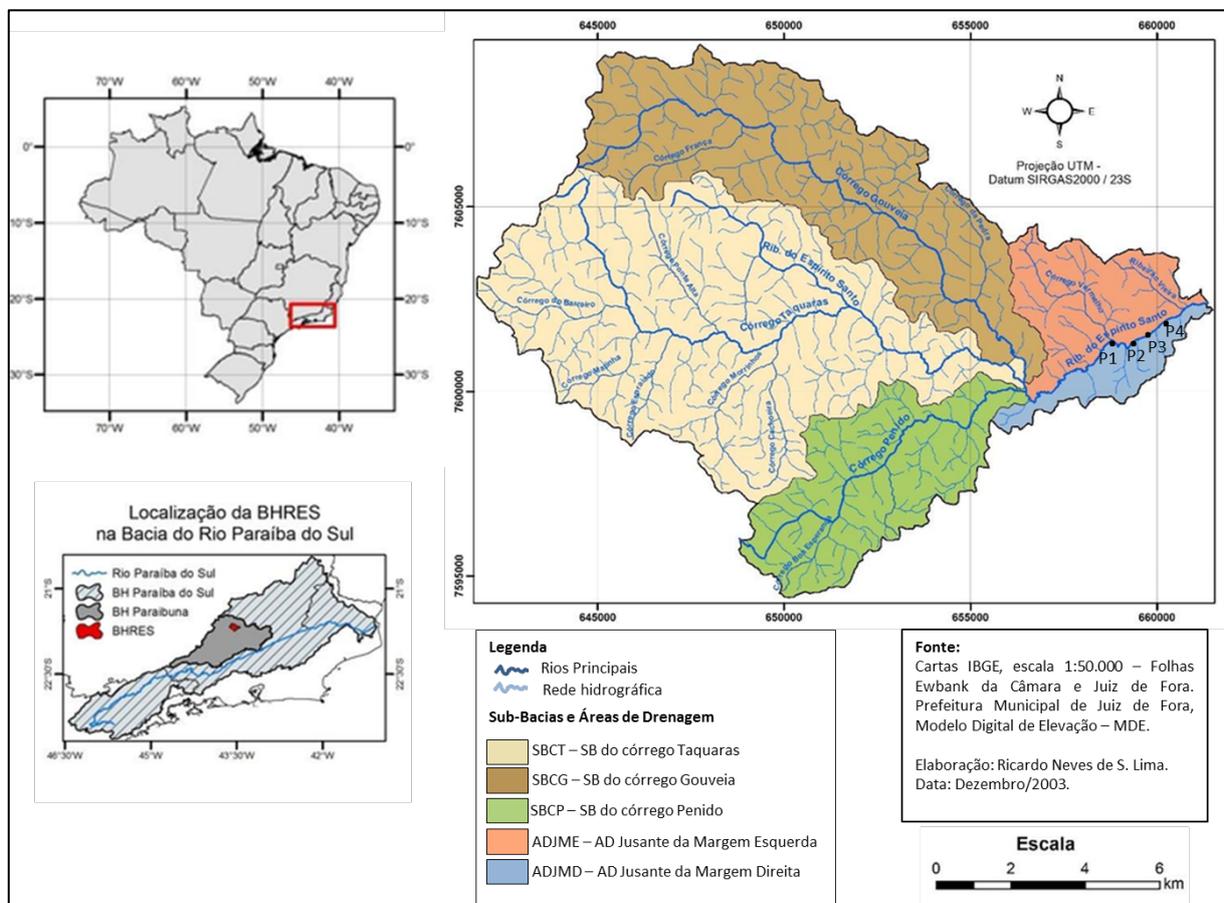


Figura 1. Localização dos pontos amostrais situados no Ribeirão Espírito Santo em Juiz de Fora- MG (Adaptado de Pinto *et al.* 2014 e Pinto *et al.* 2016).

Cada ponto amostral apresenta características específicas, P1 (0658604 m sul e 7601242 m oeste, 23k), está localizado em área rural, próximo ao campo de pastagem, possui as margens do leito do rio com consideráveis erosões. Os demais pontos estão localizados próximos ao meio urbano; sendo P2 (7601945 m sul e 660309 m oeste, 23k) às margens de

uma rodovia movimentada e de intensa interferência antrópica e os pontos 3 – P3 (7602060 m sul e 660593 m leste, 23k) e 4 – P4 (7602172 m sul e 660686 m oeste, 23k) à montante e à jusante, respectivamente, de um lançamento de efluentes do Distrito Industrial da cidade de Juiz de Fora, Minas Gerais - Brasil.

Protocolo de Avaliação Rápida

O Protocolo de Avaliação Rápida teve o intuito de fornecer dados de modo a auxiliar uma avaliação do ambiente de forma global. Consiste em um método fácil e rápido de caracterizar trechos de drenagem e nível de impactos ambientais decorrentes de atividades antrópicas, além da complexidade do habitat e seu nível de conservação. Com seu uso é possível avaliar níveis de erosão e conservação das margens e leito do córrego, além da complexidade de habitats presentes, relacionando-a com características do fluxo da água e ao tipo de substrato existem para o estabelecimento de comunidades aquáticas. (Callisto *et al.* 2002, Neto *et al.* 2016). A avaliação consiste em uma inspeção visual do ambiente que agrega indicadores aos resultados das tradicionais análises físico-químicas e bacteriológicas de qualidade da água (Vargas & Júnior 2012). O Protocolo foi aplicado no entorno dos quatro pontos de coleta, caracterizando suas condições ecológicas segundo uma tabela com 22 parâmetros, sendo que cada parâmetro recebe uma pontuação de acordo com seu grau de conservação. A soma total desta pontuação classifica o trecho em “Normal” (pontuação superior a 60), “Alterado” (pontuação entre 41 e 60) ou “Impactado” (de 0 a 40 pontos).

Análises microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas através da quantificação de coliformes totais e *Escherichia coli* e do isolamento de possíveis bactérias patogênicas a partir de amostras de água. As coletas das amostras foram realizadas em garrafas de vidro estéreis de um litro e posicionadas em profundidade de 15 a 30 cm a favor do curso d'água. Os processamentos das amostras se deram no dia da coleta no Laboratório de Qualidade Ambiental (LAQUA) da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF).

Para determinar o número mais provável de coliformes totais e *E. coli* foi empregado o método cromogênico fluorogênico - COLILERT (IDEXX, U.S.A.) e utilizando as cartelas as Quanti-Tray (IDEXX, U.S.A.) segundo Medeiros *et al.* (2012). Devido às condições de turbidez da água em alguns pontos, todas as amostras coletadas para a quantificação de coliformes foram diluídas em 50%, de água destilada estéril, incubadas por 24 horas a 37 °C e o resultado final corrigido levando em consideração a diluição. As densidades foram dadas por meio do número de cavidades positivas e valores determinados pela tabela específica de Número Mais Provável (NMP).

Para o isolamento das possíveis bactérias patogênicas foram realizadas três filtrações de 100mL por ponto de coleta, sendo a primeira filtração na concentração de 100% e as duas seguintes diluídas na concentração de 50%. As amostras de água foram filtradas através de membranas de nitrocelulose estéreis (0,45 µm de poro e 45 nm de diâmetro) utilizando um aparato de filtração, com auxílio de uma bomba de vácuo. Posteriormente, as membranas foram colocadas na superfície do meio de cultura ágar Brain Heart Infusion (BHI), sendo as placas incubadas a 37 °C por três dias a uma semana, afim de se isolar bactérias potencialmente patogênicas. Ao longo do período de incubação as bactérias foram contadas e essas contagens foram expressas em unidades formadoras de colônias por 100mL (UFC/100mL). A partir de cada placa incubada um representante de cada morfotipos foi isolado para possível agrupamento dos isolados de cada ponto amostrado por características macromorfológicas e por coloração de Gram.

Análise dos Macroinvertebrados Bentônicos

A coleta dos macroinvertebrados foi realizada com draga de Pertersen (0,0189m²) nos quatro pontos de análise do ribeirão. Foram obtidas três amostras em cada ponto, sendo uma na margem direita, uma na margem esquerda e uma no centro do curso d'água, para efeito das análises, as três amostras de cada ponto amostral foram analisadas conjuntamente, e os dados estão apresentados como sendo do ponto amostral referente. O sedimento coletado foi lavado em peneira de malha 0,21 mm na margem, utilizando água do próprio ribeirão, retirando-se, assim, o excesso de lama. As amostras foram dispostas em sacos plásticos identificados, preenchidos com álcool 70% para fixar e conservar os macroinvertebrados, e transportadas até o Laboratório de Qualidade Ambiental (LAQUA). No LAQUA, as amostras foram triadas com auxílio de uma caixa de luz, e os organismos encontrados foram identificados até o menor nível taxonômico possível utilizando chaves taxonômicas específicas (Brinkhurst & Marchese 1989, Mugnai 2010, Trivinho-Strixino 2011). Após identificação e contagem, os organismos foram depositados (em via úmida, com álcool 70%) na coleção de invertebrados bentônicos do Laboratório de Invertebrados Bentônicos da UFJF.

Análise dos dados através de Índices Ecológicos

Para análise da comunidade de macroinvertebrados, foram calculados os índices de Riqueza (S), Abundância (total e relativa), Equitabilidade ou Uniformidade (J), e índices de diversidade de Shannon - Wiener (H'; base *e*) e dominância de Simpson (D). Os índices foram calculados utilizando o software livre Past®.

Além dos índices ecológicos, utilizou-se o índice BMWP (Biological Monitoring Working Party), que considera a sensibilidade de invertebrados à poluição. Para seu cálculo, cada família presente recebe um valor que varia de 1 (para famílias mais resistentes à poluição) a 10 (para famílias menos resistentes à poluição) (Arslan *et al.* 2016). O valor total (soma dos valores de cada família) de cada ponto amostral é comparado a uma faixa pré estabelecida para determinar a qualidade da água: para valores ≥ 81 a água é considerada “excelente”; entre 61-80, “boa”; entre 41-60, “regular”; entre 26-40, “ruim” e ≤ 25 , “péssima” (Junqueira *et al.* 2000).

Resultados e Discussão

Protocolo de Avaliação Rápida

De acordo com os resultados, os pontos P1, P2, P3 e P4 foram considerados trechos “alterados” (Tabela 1). A pontuação calculada para P1 se deve principalmente às alterações relacionadas ao uso da terra para pastagem e a retirada completa da mata ciliar. Estas ações levam a uma desestabilização das margens causando sua erosão. De acordo com Pinto *et al.* (2016), toda a microbacia hidrográfica do Ribeirão Espírito Santo possui uma alta susceptibilidade à erosão, principalmente devido à falta de mata ciliar e ao intenso uso para pastagens e silvicultura na região.

O ponto P2 foi considerado alterado principalmente por causa do descarte irregular de entulhos da construção civil e lixo, levando a alterações da mata ciliar e aumento de erosão nas margens, além da supressão de habitats no fundo dos rios devido ao assoreamento. Mesmo a presença de mata ciliar não é capaz de impedir a erosão das margens neste ponto causada pelo excesso de entulhos observado, que faz com que o curso d'água sofra um leve desvio, devido ao seu barramento parcial, acarretando na formação inicial de meandros, antes inexistentes, no local (Salamuni *et al.* 2004).

A canalização do leito do rio para construção de uma ponte em P3, sobre a qual passa uma rodovia federal movimentada, foi o principal motivo para seu enquadramento em “alterado”. Já a alteração observada no ponto P5 foi devida ao grande despejo de efluentes industriais e domésticos que ocorre na região, levando a um odor fétido e alterações nas margens e fundo do leito.

Há uma acentuada interferência antrópica, nitidamente observada ao longo do curso estudado do Ribeirão Espírito Santo, ocasionando erosão das margens, acúmulo de lixo, falta da mata ciliar, despejos de efluentes, entre outros, gerando grande impacto no ambiente. Vale ressaltar que margens dos cursos d'água são Áreas de Proteção Permanente (APP) e são protegidas pelo Código Florestal Brasileiro, Lei 12651/2012 (Brasil 2012), devendo as matas ciliares serem preservadas.

Tabela 1. Pontuação atribuída para cada parâmetro do Protocolo de Avaliação Rápida analisado para os quatro pontos amostrais do Ribeirão Espírito Santo, Juiz de Fora, MG.

Parâmetro	Pontuação atribuída			
	P1	P2	P3	P4
1. Tipo de ocupação das margens do corpo d'água (principal atividade)	2	2	2	2
2. Erosão próxima e/ou nas margens do rio e assoreamento em seu leito	2	0	0	0
3. Alterações antrópicas	4	0	0	0
4. Cobertura vegetal no leito	4	2	4	4
5. Odor da água	4	4	2	2
6. Oleosidade da água	4	4	2	0
7. Tratamento da água	2	2	2	0
8. Odor do sedimento (fundo)	4	2	3	2
9. Oleosidade do fundo	4	4	4	4
10. Tipo de fundo	4	2	2	2
11. Tipos de fundo	3	2	3	2
12. Extensão de rápidos	3	3	5	2
13. Frequência de rápidos	5	5	5	5
14. Tipos de substrato	0	0	0	0
15. Deposição de lama	0	5	5	3
16. Depósitos sedimentares	0	2	3	2
17. Alterações no canal do rio	5	5	3	5
18. Características do fluxo das águas	3	5	5	5
19. Presença de mata ciliar	0	2	0	0
20. Estabilidade das margens	0	0	0	0
21. Extensão de mata ciliar	0	2	2	2
22. Presença de plantas aquáticas	2	0	3	0
TOTAL	55	53	55	42

Análise microbiológica através da quantificação de coliformes totais e *E. coli*

Os resultados obtidos da quantificação de coliformes através da contagem das placas analisadas (Tabela 2), demonstrou que a maior parte das amostras extrapolaram os valores de leitura, máximo de 1011,2, caracterizando assim a necessidade de uma maior diluição, para se obter maior precisão e eficiência dos valores de contaminação por coliformes totais. Outros trabalhos já demonstraram que ambientes aquáticos que possivelmente recebem esgotos, e material alóctone, apresentam elevadas contagens desses micro-organismos (Rajakumar *et al.* 2008, Brandao *et al.* 2010, Medeiros *et al.* 2012, Abreu & Cunha 2017).

Tabela 2. Valores encontrados de coliformes totais e *E. coli* (NMP/100 mL) em amostras de água do Ribeirão Espírito Santo (Juiz de Fora, MG).

Pontos	Coliformes Totais	<i>Escherichia coli</i>
1	436,00	133,4
2	1011,2*	114,6
3	1011,2*	93,5
4	1011,2*	913,9

*É o limite máximo detectado pelo método COLILERT (IDEXX, U.S.A.)

As análises dos resultados foram baseadas nos limites estabelecido pela Resolução CONAMA nº 274/2000 considerando assim que as condições da água nos pontos 1, 2 e 3

foram enquadradas como excelente para balneabilidade quando comparados apenas com a relação às contagens de *E. coli* (Tabela 1), que permitem até o máximo de 200 *E.coli*/100 mL de amostra. Porém, ao analisar outros critérios como odor, coloração, materiais flutuantes, observamos a não indicação para o contato primário da água. O ponto 4, à jusante do lançamento de efluentes, foi o único ponto que demonstrou altos valores de bactérias *E.coli*, já sendo classificado como impróprio, não sendo indicada para o contato direto com a água.

Barros; Marques & Morais (2015) avaliaram a balneabilidade em quatro praias em Palmas, na capital do Estado do Tocantins, confirmando a necessidade de avaliar as condições microbiológicas sanitárias necessárias às atividades de contato primário, assegurando assim à população. Neste trabalho os autores encontraram valores de acordo com a Resolução CONAMA nº 274/2000 classificando as praias avaliadas como excelente para balneabilidade, outro dado demonstrado foi a diferença na contagem de *E. coli* (1,0 a 7,4 NMP/100 mL) no período de “seca” da região e no período chuvoso, contagem de *E. coli* (35,5 a 1553,1 NMP/100 mL).

Para os demais usos da classe 1, como irrigação de hortaliças, proteção das comunidades aquáticas, entre outros, o COPAM/CERH-MG nº 1/2008, estabelece também um valor máximo de 200 NMP de *E.coli* em 100mL em uma quantidade de amostras pré-estabelecidas, em 80% das amostras analisadas ou pelo menos em seis amostras. Novamente apenas a amostra do ponto 4 estaria em desacordo com a legislação se comparado apenas a determinação de *E. coli*, os demais pontos, 1, 2 e 3 encontram em conformidade com o COPAM, porém, há outras observações, citadas a cima, que não aprova as condições da água avaliada para demais usos sem algum tratamento. As águas destinadas a consumo humano são limitadas a concentração de 0 NMP *E. coli* para cada 100mL segundo a Resolução CONAMA nº 357/2005.

A Portaria MS nº 2914, Art. 31º. determina o monitoramento mensal de *E.coli* no(s) ponto(s) de captação superficial de água e estabelece a realização do monitoramento de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. quando a média geométrica anual de *E. coli* for maior ou igual a 1.000 em 100mL.

A dificuldade de detecção de micro-organismos patogênicos em amostra de água se dá devido aos mesmos, na maioria dos casos, encontrarem-se em pequenas concentrações, diluídos em corpos d'água, sendo necessário assim o uso de bioindicadores para determinar a contaminação (Sperling 2014). As bactérias do grupo coliformes e principalmente *E.coli*, tem sido amplamente usado como bioindicadores em avaliações da qualidade da água. A presença destes, em amostras de água, é um indicativo de contaminação da mesma por fezes humanas ou de animais, uma vez que estas bactérias são encontradas comumente no sistema gastrointestinal destes animais. A presença de alta concentração de *E. coli* pode ser perigosa para a saúde, quando ingerida ou utilizada na preparação de alimentos, ou ainda, em sua higienização (Abreu & Cunha 2017).

A utilização de bioindicadores na piscicultura tem sido de grande importância uma vez que presença de organismos patogênicos em viveiros de produção pode causar contaminação do pescado produzido (Gatti Junior *et al.* 2014). Assunção *et al.* (2017) demonstraram a utilização da quantificação de *E coli* como método para determinar a eficiência de do tratamento das águas de tanques de peixes. A Resolução no 357 do CONAMA (Brasil, 2005), afirma que amostra para águas de classe dois, indicadas para desenvolvimento de aquicultura deve manter quantificação máximo de 1000 NMP de *E. coli* em 100 mL de água.

Isolamento e identificação das bactérias

O número de colônias que apresentaram diferentes morfologias foi contabilizado através de unidades formadoras de colônias (UFC), seguido de isolamento, descrição e agrupado dos diferentes morfotipos. As características observadas para a descrição e diferenciação das colônias foram: textura, cor, superfície, elevação, borda, tamanho e gram.

A densidade de possíveis bactérias patogênicas crescidas no meio BHI e incubadas a 37°C a partir da filtração de 100mL de água em duas diferentes concentrações da amostra por ponto de coleta é demonstrada na tabela 3.

Foram obtidos no total, 30 diferente morfotipos de bactérias nos quatro pontos de coleta, sendo que não houve predominância significativa entre as descrições morfológicas observadas nas colônias isoladas. A presença de colônias morfológicamente similares foi maior entre os pontos P2 e P3; o que encontra de acordo com a similaridade observada na descrição dos parâmetros avaliados no protocolo de avaliação rápida.

O ponto 4 apresentou o maior número de isolados morfológicamente diferentes. Este resultado pode estar relacionado como o maior aporte de nutrientes alóctones neste ponto quando comparado aos demais pontos analisados no corpo hídrico estudado. Segundo Vilanova *et al.* (2002), é normal encontrarmos muitas espécies bacterianas com vários exemplares em água residual rural ou urbana. Oliveira *et al.* (2012) isolaram maior número de bactérias heterotróficas em pontos presentes em áreas impactadas quando comparado ao ponto amostrado na nascente do Arroio Dilúvio.

Tabela 3. Contagens de morfotipos de bactérias (UFC/100mL), por placa analisada, de amostras de água do Ribeirão Espírito Santo (Juiz de Fora, MG).

Ponto	100%	50% A	50% B	Total de Morfotipos
1	4	3	5	6
2	5	5	3	6
3	6	5	6	8
4	10	6	3	10
Total	-	-	-	30

Para obter um eficiente e real monitoramento de patógenos microbianos na água seria necessária uma multiplicidade de métodos, condições e meios de cultura específicos para controlar com sucesso cada tipo ou grupo de micro-organismo patogênico. Neste estudo foi utilizado o crescimento a 37°C como tentativa de selecionar espécies de bactérias potencialmente patogênicas.

Estudos que demonstram a presença de possível micro-organismos patogênicos tornam-se importantes, uma vez que a ausência de bioindicadores microbianos não garante que a água esteja própria para consumo ou para recreação, já que a ausência destes não exclui a possibilidade de existirem patógenos no ambiente (Arnold *et al.* 2013).

Fauna de macroinvertebrados

Foram coletados e identificados um total de 1186 indivíduos, divididos em 6 famílias (Tabela 4). A Tabela 4 mostra a identificação de todos os organismos encontrados em cada ponto e os valores atribuídos a cada uma das famílias utilizadas no índice BMWP, seguido de seu somatório. Apesar dos dados serem de apenas uma coleta, é possível ter um panorama das condições do ambiente, visto que algum dos organismos mais encontrados como os Tubificinae possuem ciclo de vida longo, de mais de seis meses (Oliveira 2013).

Com a identificação dos macroinvertebrados até o nível de família, e atribuindo valores para elas de acordo com a tolerância à poluição de cada uma é possível qualificar a água num grau de que vai de “excelente” a “péssima”. Seguindo o índice BMWP (Junqueira *et al.* 2000), os 4 pontos amostrais obtiveram valores abaixo de 25, o que classifica a qualidade da água como “péssima”. Essa classificação é um reflexo da presença de organismos mais resistentes à poluição orgânica, condizendo com as observações de campo e

o resultado do Protocolo de Avaliação Rápida, visto que todos os quatro pontos apresentam alterações oriundas de atividades antrópicas.

Os pontos P2 e P3 foram os locais que tiveram os valores mais elevados de riqueza dentre os locais analisados, sendo P2 com uma riqueza ligeiramente maior (S=11) que P3 (S=10). Comparado com o córrego São Pedro (localizado em Juiz de Fora, MG), enquadrado na mesma classe, observamos uma grande diferença no número de Famílias identificadas por Stephan (2007), S = 26, ressaltando uma baixa riqueza no presente trabalho, de apenas 6 Famílias no total. De acordo com Abílio *et al.* (2007), os grupos de macroinvertebrados bentônicos mais resistentes tendem a se tornar dominantes e os mais sensíveis, raros ou ausentes, explicando assim a abundância de indivíduos de uma mesma Família e baixa riqueza de táxons.

Tabela 4. Abundância total de macroinvertebrados (táxons e por ponto) coletados em quatro pontos amostrais (P1, P2, P3 e P4) no Ribeirão Espírito Santo (Juiz de Fora, MG); pontuação e somatório total para o índice BMWP para as respectivas famílias.

TÁXON	P1	P2	P3	P4	PONTUAÇÃO BMWP
Molusca					
Bivalvia	4	1	19	0	-
Gastropoda					
Physidae	0	7	6	2	3
Planorbidae	0	4	1	0	3
Arthropoda					
Insecta					
Chironomidae					
<i>Aedokritus</i> spp.	0	7	0	0	
<i>Chironomus</i> spp.	0	192	34	439	
Complexo <i>Harnischia</i> spp.	0	0	0	10	
<i>Goeldchironomus</i> spp.	0	38	3	87	
<i>Polypedilum</i> spp.	0	2	10	3	
<i>Pseudochironomus</i> spp.	0	5	1	22	
Ceratopogonidae	7	0	0	0	4
Elmidae	36	0	0	0	5
Gomphidae	1	0	0	0	5
Annelida					
Hirudinea	1	42	4	1	-
Oligochaeta					
Naididae					
<i>Limnodrilus hoffmeisteri</i>	0	1	9	0	
Tubificinae imaturo	1	12	109	0	
Megadrili	1	0	0	0	
Abundância total	51	311	196	564	
Somatório BMWP*	17	9	9	6	

* Os valores do somatório BMWP são referentes à pontuação para cada grupo apresentada na 6ª coluna.

Em P2 e P4, foi observada uma dominância da família Chironomidae da ordem Diptera que se distribui em variados habitats. Nesta família estão incluídas várias espécies consideradas indicadoras de águas contaminadas organicamente, sendo uma importante

ferramenta em programas de biomonitoramento em bacias sob forte pressão de atividades antrópicas, devido a sua diversidade genérica (Marques *et al.* 1999). Essa dominância de Chironomidae nestes pontos amostrais levou a um baixo índice de diversidade (H'), comparado com os demais (Tabela 5).

De acordo com a literatura, o grupo Chironomidae é, normalmente, o mais populoso entre os macroinvertebrados (Marques *et al.* 1999, Pamplin *et al.* 2006, Piedras *et al.* 2006, Souza & Abílio 2006, Pamplin & Rocha 2007, Barbola *et al.* 2011). Este táxon muitas vezes apresenta-se como dominante, tanto em ambientes lênticos, como lóticos, fato que se deve à tolerância de certas espécies a situações extremas como hipóxia (Segundo Di Giovanni *et al.* 1996). Determinados gêneros de Chironomidae, como *Chironomus* por exemplo, podem ser classificados como organismos resistentes à poluição, pois são capazes de colonizar ambientes com baixa concentração de oxigênio. Sendo assim, altas densidades destes gêneros podem evidenciar elevado teor de matéria orgânica no ambiente (Marques *et al.* 1999), o que os tornam eficientes indicadores de degradação ambiental.

Tabela 5. Tabela com os valores dos índices ecológicos calculados para a fauna de macroinvertebrados em 4 pontos amostrais do Ribeirão Espírito Santo (Juiz de Fora, MG). S = riqueza; H' = Diversidade de Shannon (base e); D = Dominância de Simpson; J = Similaridade.

Índice	P1	P2	P3	P4
S	7	11	10	7
H'	1,255	0,775	1,085	0,2139
D	0,4312	0,6248	0,4309	0,9068
J	0,6035	0,4325	0,6056	0,1543

Já P3, apresentou dominância do grupo Oligochaeta, que, assim como os Chironomidae, também são caracterizados por serem tolerantes à poluição orgânica (Fusari & Fonseca-Gessner 2006, Moreno & Callisto 2006).

Conclusão

O presente trabalho faz uma análise da qualidade da água e do sedimento do Ribeirão Espírito Santo a partir de diversas ferramentas (protocolo de avaliação rápida, análise de micro-organismos, análise de macrofauna bentônica, índices ecológicos), sendo que todas confirmam uma degradação da qualidade ambiental do trecho analisado do Ribeirão.

Mesmo com apenas uma coleta, no trecho estudado do Ribeirão Espírito Santo, foi possível observar intensa contaminação da água e poluição ao redor do curso do rio, provenientes do descuido na relação dos seres humanos com o meio ambiente. Esse dado é preocupante, visto que no trecho estudado encontra-se uma estação de captação e tratamento de água para consumo humano, o que evidencia a falta de consciência da população do entorno para com a questão ambiental.

Esse monitoramento será continuado para que se possa fazer uma análise mais abrangente, sazonal, e assim, elaborar um banco de dados sobre a qualidade da água deste importante manancial.

Agradecimentos

Agradecemos ao 4º Batalhão de Bombeiros Militar – Juiz de Fora por ceder o Cabo Demetrius Vasconcelos para nos auxiliar nas coletas. Ao Professor Roberto da Gama Alves, responsável pelo Laboratório de Invertebrados Bentônicos da UFJF pelo empréstimo dos equipamentos de coleta e triagem e ao Professor Luiz Henrique Rosa, responsável pelo Laboratório Microbiologia Polar & Conexões Tropicais da UFMG pelo apoio logístico nas análises microbiológicas. A Pró-Reitoria de Pesquisa da UFJF pela bolsa de Iniciação Científica concedida.

Referências Bibliográficas

- Abílio FJP, Ruffo TLM, Souza AHFF, Junior ETO, Meireles BN, Santana, ACD (2007) Macroinvertebrados bentônicos como bioindicadores de qualidade ambiental de corpos aquáticos da Caatinga. *Oecologia Brasiliensis* 11(3): 397-409.
- Abreu CHM & Cunha AC (2017) Qualidade da água e índice trófico em rio de ecossistema tropical sob impacto ambiental. *Engenharia Sanitária Ambiental* 22 (1): 45-56.
- Arslan N, Salur A, Kalyoncu H, Mercan D, Barisk B, Odabasi DA (2016) The use of BMWP and ASPT indices for evaluation of water quality according to macroinvertebrates in Küçük Menderes River (Turkey). *Biologia* 71: 49-57.
- Assunção AWA, Gatti Junior P, Almeida RV, Gasparotto Y, Amaral LA (2017) Utilização de macrófitas aquáticas de três diferentes tipos ecológicos para remoção de *Escherichia coli* de efluentes de criação de pacu *Engenharia Sanitária Ambiental* 22 (4): 657-663.
- Balderas ECS, Grac C, Berti-Equille L, Hernandez MAA (2016) Potential application of macroinvertebrates indices in bioassessment of Mexican streams. *Ecological Indicators* 61:558-567.
- Barbola IF, Moraes MFPG, Anazawa TM, Nascimento EA, Sepka ER, Polegatto CM, Milléo J, Schühli GS (2011) Avaliação da comunidade de macroinvertebrados aquáticos como ferramenta para o monitoramento de um reservatório na bacia do rio Pitangui, Paraná, Brasil. *Iheringia, Série Zoologia* 101: 15-23.
- Barros DJ, Marques AK, Morais PB (2015) Avaliação ambiental com base em indicador biológico de balneabilidade no município de Palmas-TO. *Journal of Bioenergy and Food Science* 2 (4): 172-177.
- BRASIL (2011) Ministério da Saúde. Portaria MS nº 2.914. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Publicado no Diário Oficial da União em 14 de dezembro de 2011.
- BRASIL (2012). Lei nº 12.651. Dispõe sobre a proteção da vegetação nativa; altera as Leis nos 6.938, de 31 de agosto de 1981, 9.393, de 19 de dezembro de 1996, e 11.428, de 22 de dezembro de 2006; revoga as Leis nos 4.771, de 15 de setembro de 1965, e 7.754, de 14 de abril de 1989, e a Medida Provisória no 2.166-67, de 24 de agosto de 2001; e dá outras providências. Publicada no Diário Oficial da União em 25 de Maio de 2012.
- Brandao RL, Medeiros AO, Duarte MC, Barbosa AC, Rosa CA (2010) Diversity and antifungal susceptibility of yeasts isolated by multiple-tube fermentation from three freshwater lakes in Brazil. *Journal of Water and Health* 8 (2): 279 – 289.
- Brinkhurst RO, Marchese MR (1989) Guía para la identificación de Oligoquetos acuáticos continentales de Sud y Centroamérica. Asociación de Ciencias Naturales del Litoral: Santa Fe: 207 p.
- Callisto M, Moretti M, Goulart M (2001) Macroinvertebrados Bentônicos como Ferramenta para Avaliar a Saúde de Riachos. *Revista Brasileira de Recursos Hídricos* 6(1), 71-82.
- Callisto M, Ferreira WR, Moreno P, Goulart M, Petrucio M (2002) Aplicação de um protocolo de avaliação rápida da diversidade de habitats em atividades de ensino de pesquisa (MG-RJ). *Acta Limnológica Brasiliensis* 14(1): 91-98.
- Carlson PE, Johnson RK, McKie BG (2012) Optimizing stream bioassessment: habitat, season, and the impacts of land use on benthic macroinvertebrates. *Hydrobiologia* 704: 363-373.
- CESAMA (2017). Ribeirão do Espírito Santo. Disponível em: <<http://www.cesama.com.br/?pagina=resanto>>. Acessado em 19 de abril de 2017.
- CETESB (2016). Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Qualidade das águas superficiais no estado de São Paulo. Parte 1: Águas doces 2015. São Paulo. 406p.
- CONAMA (1986). Resolução CONAMA nº 001. Dispõe sobre as definições, as responsabilidades, os critérios básicos e as diretrizes gerais para uso e implementação da Avaliação de Impacto Ambiental como um dos instrumentos da Política Nacional do Meio Ambiente. Publicado no Diário Oficial da União em 17 de fevereiro de 1986.
- CONAMA (2000). Resolução CONAMA nº 274. Dispõe sobre as definições dos critérios de balneabilidade em águas brasileiras. Publicado no Diário Oficial da União em 25 de Janeiro de 2001.
- CONAMA (2005). Resolução CONAMA nº 357. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Publicado no Diário Oficial da União em 18 de Março de 2005.
- COPAM (1996). Deliberação Normativa COPAM nº 016. Dispõe sobre o enquadramento das águas estaduais da bacia do rio Paraibuna. Publicado no Diário do Executivo de Minas Gerais em 02 de outubro de 1996.
- COPAM/CERH-MG (2008). Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERH-MG N.º 1. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Publicado no Diário Executivo de Minas Gerais em 13 de maio de 2008. Retificado em 20 de maio de 2008.
- Damanik-Ambarita MN, Lock K, Boets P, Everaert, Nguyen THT, Forio MAE, Musonge PLS, Suhareva N, Bennetsen E, Landuyt D, Dominguez-Granda L, Goethals PLM (2016) Ecological water quality analysis of the Guayasriverbasin (Ecuador) base Don macroinvertebrates indices. *Limnologia* 57:27-59.

- Di Giovanni MV, Goretti E, Tamanti V (1996) Macroinvertebrates in Montedoglio Reservoir, central Italy. *Hydrobiologia* 321:17-28.
- Diniz MF (2006) Impacto Ambiental: visão ética e jurídica. *Themis: Revista da Escola Superior da Magistratura do Estado do Ceará*. 4: 333-400.
- Faria ALL, Silva JX, Goes MHB (2003) Análise ambiental por geoprocessamento em áreas com susceptibilidade à erosão do solo na bacia hidrográfica do ribeirão do Espírito Santo, Juiz de Fora (MG). *Caminhos de Geografia* 4: 50-65.
- Fusari LM, Fonseca-Gessner AA (2006) Environmental assessment of two small reservoirs in southeastern Brazil, using macroinvertebrate community metrics. *Acta Limnologica Brasiliensia* 18:89-99.
- Gatti Junior P, Assunção AWA, Baldin JC, Amaral LA (2014) Microbiological quality of whole and filleted shelf-tilapia. *Aquaculture* 433:196-200.
- Goulart MDC, Callisto M (2003) Bioindicadores de qualidade de água como ferramenta em estudos de impacto ambiental. *Revista da FAPAM* 2(1). Disponível: <http://www.santoangelo.uri.br/~briseidy/P%F3s%20Licenciamento%20Ambiental/bioindicadores%2019.10.2010.pdf>. Acessado em: 08 de maio de 2017.
- Hilty J, Merenlender A (2000) Faunal indicator taxa selection for monitoring ecosystem health. *Biological Conservation* 92: 185-197.
- IBGE (2010) Censo demográfico Características da população e dos domicílios: resultados do universo. Rio de Janeiro: IBGE, 2011. Acompanha 1 CD-ROM. Disponível: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/mg/juiz-de-fora/panorama>>. Acessado em novembro de 2017.
- IGAM (2015). Instituto Mineiro de Gestão das Águas. Qualidade das águas superficiais de Minas Gerais em 2015: resumo executivo. Belo Horizonte. 179p.
- Junqueira MV, Amarante MC, Dias CFS, França ES (2000) Biomonitoramento da qualidade das águas da bacia do Alto Rio das Velhas (MG / Brasil) através de macroinvertebrados. *Acta limnot. Brasi.*, 12:73-87.
- Li L, Zheng B, Liu L (2010) Biomonitoring and Bioindicators Used for River Ecosystems: Definitions, Approaches and Trends. *Procedia Environmental Sciences* 2: 1510-1524.
- LIMA GFC (2015) Educação Ambiental no Brasil: formação, identidades e desafios [livro eletrônico]. Campinas, SP: Papirus, 2015.
- Markert B, Wappelhorst O, Weckert V, Herpin U, Siewers U, Friese K, Breulmann G (1999) The use of bioindicators for monitoring the heavy-metal status of the environment. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 240: 425-429.
- Marques MMGSM; Barbosa FAR, Callisto M. (1999). Distribution and abundance of Chironomidae (Diptera, Insecta) in an impacted watershed in south-east Brazil. *Revista Brasileira de Biologia*, 59(4): 553-561.
- Medeiros AO, Missaglia BS, Brandao RL, Callisto M, Barbosa FA, Rosa CA (2012) Water quality and diversity of yeasts from tropical lakes and rivers from the Rio Doce basin in Southeastern Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology* 43: 1582-1594.
- Moreno P, Callisto M (2006) Bioindicadores como Ferramenta para o Manejo, Gestão e Conservação Ambiental. In: *Sociedade e Sustentabilidade*. Revista da FAPAM, ano 2, no 1, Belo Horizonte, MG, 2006.
- Mugnai R, Nessimian JL, Baptista DF (2010) Manual de Identificação de Macroinvertebrados Aquáticos do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro: Technical Books. 176 p.
- Neto GTR, Júnior MGS, Ucker FE, Lima ML (2016) Aplicação do protocolo de avaliação rápida de impacto ambiental para avaliação do estado de conservação do córrego Caveirinha, Goiânia-GO. *Revista Eletrônica de Educação da Faculdade Araguaia* 10: 26-43.
- Oliveira DV, Silva TC, Zanin JG, Nachtigall G, Medeiros AW, Frazzon APG, Van Der Sand ST (2012) Qualidade da água e identificação de bactérias Gram-Negativas isoladas do Arroio Dilúvio, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. *Evidência* 12 (1): 51-62.
- Pamplin PAZ, Almeida TCM, Rocha O (2006) Composition and distribution of benthic macroinvertebrates in Americana Reservoir, SP, Brazil. *Acta Limnologica Brasiliensia* 18: 121-132.
- Pamplin PAZ, Rocha O (2007) Temporal and bathymetric distribution of benthic macroinvertebrates in the Ponte Nova Reservoir, Tietê river (São Paulo, Brazil). *Acta Limnologica Brasiliensia* 19:439-452.
- Piedras SRN, Bager A, Moraes PRR, Isoldi LA, Ferreira OGL, Heemann C (2006) Macroinvertebrados bentônicos como indicadores de qualidade de água na barragem Santa Bárbara, Pelotas, RS, Brasil. *Ciência Rural* 36: 494-500.
- Pinto VG, (2014) Diagnóstico físico-ambiental como subsídio a identificação de áreas vulneráveis à erosão na bacia hidrográfica do Ribeirão do Espírito Santo, Juiz de Fora (MG), Brasil. *Revista Ambiente & Água* 9: 632-646.
- Pinto VG, Lima RNS, Santos RCP, Ribeiro CSM (2016). Influência do número de classes de vulnerabilidade na determinação da suscetibilidade morfométrica à inundação. *Revista Ambiente & Água* 11: 636-649.
- PJF (1986). Norma Lei nº 6910. Dispõe sobre o uso e ocupação do solo no Município de Juiz de Fora. Publicada em 31 de maio de 1986.

- Rajakumar S, Velmurugan P, Shanthi K, Ayyasamy PM, Lakshmanaperumalsamy P (2006) Prevalence of coliform bacteria in Kodaikanal and Yercaud Lake, Tamilnadu, South India. *Research Journal of Microbiology* 6: 527-533.
- Salamuni E, Ebert HD, Hasui Y (2004) Morfotectônica da Bacia Sedimentar de Curitiba. *Revista Brasileira de Geociências* 34: 469-478.
- Souza AHFF, Abílio FJP (2006) Zoobentos de duas lagoas intermitentes da caatinga paraibana e as influências do ciclo hidrológico. *Revista de Biologia e Ciências da Terra, Suplemento Especial* (1):146-164.
- Sperling MV (2014) Introdução a qualidade das águas e ao tratamento de esgotos. 4.ed., Belo Horizonte: Editora UFMG. 104-105p.
- Stephan, NNC (2007) Distribuição espacial e temporal dos insetos e oligochaeta aquáticos da sub-bacia do córrego São Pedro, Juiz de Fora, Minas Gerais.
- Trivinho-Strixino S. (2011). Larvas de Chironomidae. Guia de Identificação. São Carlos, Depto Hidrobiologia/Lab. Entomologia Aquática/UFSCar.
- Vargas JRA, Júnior PDF (2012) Aplicação de um protocolo de avaliação rápida na caracterização da qualidade ambiental de duas microbacias do rio Guandu, Afonso Cláudio, ES. *Revista Brasileira de Recursos Hídricos* 17: 161-168.
- Vilanova X, Manero A, Cerdà-Cuellar M, Blanch AR (2002) The effect of a sewage treatment plant effluent on the faecal coliforms and enterococci populations of the reception river waters. *Journal of Applied Microbiology* 92: 210-214.