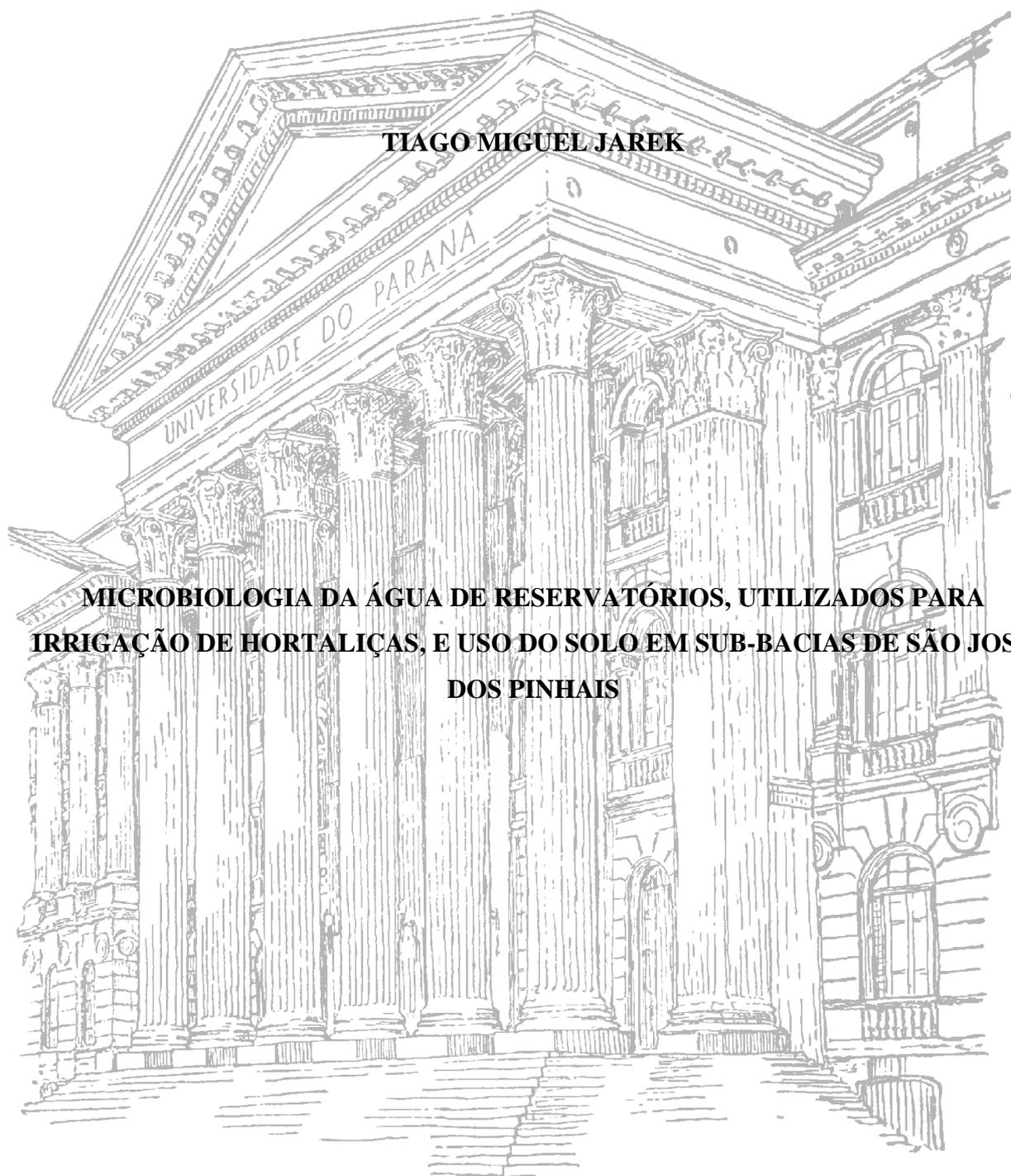


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

TIAGO MIGUEL JAREK

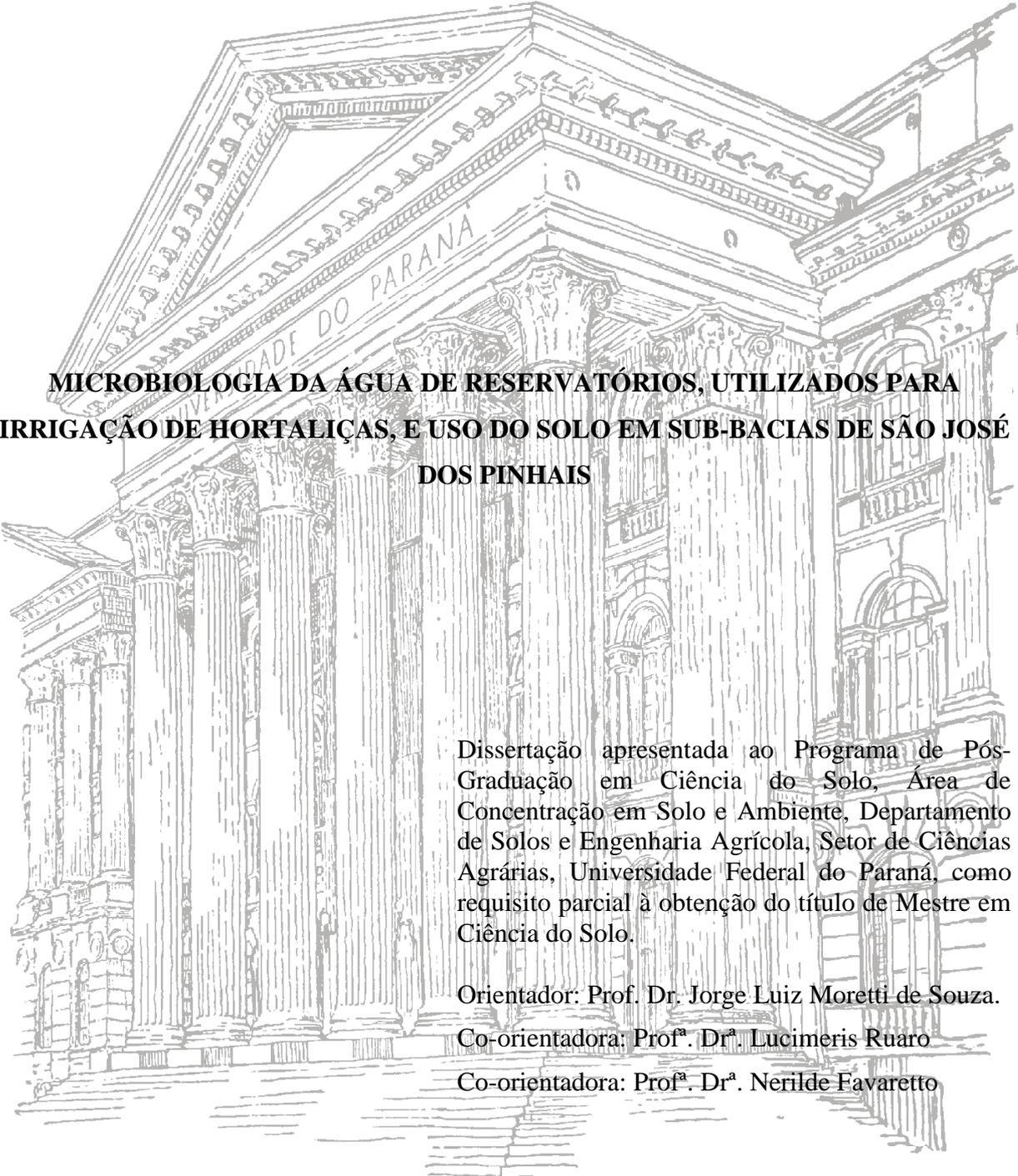
**MICROBIOLOGIA DA ÁGUA DE RESERVATÓRIOS, UTILIZADOS PARA
IRRIGAÇÃO DE HORTALIÇAS, E USO DO SOLO EM SUB-BACIAS DE SÃO JOSÉ
DOS PINHAIS**



CURITIBA

2014

TIAGO MIGUEL JAREK



**MICROBIOLOGIA DA ÁGUA DE RESERVATÓRIOS, UTILIZADOS PARA
IRRIGAÇÃO DE HORTALIÇAS, E USO DO SOLO EM SUB-BACIAS DE SÃO JOSÉ
DOS PINHAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Área de Concentração em Solo e Ambiente, Departamento de Solos e Engenharia Agrícola, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência do Solo.

Orientador: Prof. Dr. Jorge Luiz Moretti de Souza.

Co-orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Lucimeris Ruaro

Co-orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Nerilde Favaretto

CURITIBA

2014



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
 SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
 PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO
 Mestrado e Doutorado



PARECER

A Banca Examinadora designada para avaliar a defesa da Dissertação de Mestrado de **TIAGO MIGUEL JAREK**, intitulada: **Microbiologia da água de reservatórios utilizados para irrigação de hortaliças e uso do solo em sub-bacias de São José dos Pinhais**, do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, após análise do texto e arguição do candidato, emitem parecer pela **“APROVAÇÃO”** da referida Dissertação. O candidato atende assim um dos requisitos para a obtenção do título de **Mestre em Ciência do Solo - Área de Concentração Solo e Ambiente**.

Secretaria do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, em Curitiba, 24 de fevereiro de 2014.

Prof. Dr. Jorge Luiz Moretti de Souza, Presidente

Prof. Dr. Agenor Maccari, Iº. Examinador

Profª. Drª. Lucimeris Ruaro, IIº. Examinador

Profª. Drª. Nerilde Favaretto, IIIº. Examinador

DEDICATÓRIA

Aos Professores, Mestres, e Cientistas que através de suas aulas, livros, teorias, ou até mesmo pelas suas histórias de vida, compartilharam o saber que adquiriram e incentivaram-me na busca pelo conhecimento.

AGRADECIMENTOS

- Agradeço a Deus, fonte maior de todo aprendizado.
- A minha mãe Joana Perantoni Jarek, professora das principais lições que aprendi, e toda minha família por sempre estarem ao meu lado, nas conquistas e dificuldades.
- Ao Programa de Pós Graduação em Ciência do Solo pela oportunidade de realizar este trabalho e cursar o mestrado.
- Ao meu orientador Prof. Jorge Luiz Moretti de Souza pela confiança depositada desde o início, ensinamentos e companheirismo. Pela concepção do projeto, e em especial pela dedicação para a elaboração e escrita da dissertação.
- A minha co-orientadora Prof^a Lucimeris Ruaro pela amizade, ensinamentos, incentivo e confiança depositada, em especial por possibilitar o uso do Laboratório de Patologia de Sementes de forma plena.
- A minha co-orientadora Prof^a Nerilde Favaretto pela dedicação e ajuda desde o início do projeto, ensinamentos e orientação nas análises.
- Ao Prof. Luiz Cláudio de Paula Souza, pela elaboração dos mapas de uso do solo e processamento das cartas aerofotogramétricas.
- A minha amiga e companheira “Sah” que esteve sempre comigo, seja nos momentos de angústia como quando roubaram o computador com todo o trabalho dentro, na coleta de amostras que não estava programada no sábado, ou na alegria das flores que encontrei pelo caminho.
- Aos colegas, cujos nomes são muitos, por toda ajuda e partilha na caminhada, seja naquela análise de fósforo que se arrastava semana adentro ou nos trabalhos das disciplinas, até aquela dica simples de uma análise no “R”.
- Aos funcionários do Departamento de Solos e Engenharia Agrícola e do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo.
- Aos proprietários dos reservatórios Jacinta Gribogi Jarek, José Ferreira dos Santos, João Jarek e Família Scrobote, por permitirem a realização deste estudo.
- Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos.
- Ao Simepar pelo fornecimento de dados meteorológicos para a área em estudo.
- Enfim, por toda palavra no caminho que me ajudou a ouvir mais, por toda mão que se estendeu para dar apoio. Muito Obrigado.

SUMÁRIO

MICROBIOLOGIA DA ÁGUA DE RESERVATÓRIOS, UTILIZADOS PARA IRRIGAÇÃO DE HORTALIÇAS, E USO DO SOLO EM SUB-BACIAS DE SÃO JOSÉ DOS PINHAIS	vii
RESUMO GERAL	vii
GENERAL ABSTRACT	ix
INTRODUÇÃO GERAL	1
LITERATURA CITADA	3
CAPÍTULO 1 – ALTERAÇÕES DE COMUNIDADES MICROBIANAS EM ÁGUA DE RESERVATÓRIOS NATURAIS EM DIFERENTES PERÍODOS DO DIA	5
RESUMO	5
ABSTRACT	6
1.1 INTRODUÇÃO	7
1.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	8
1.2.1 Área de Estudo	8
1.2.2 Amostragem e análises	9
1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	10
1.4 CONCLUSÃO	14
1.5 LITERATURA CITADA	15
CAPÍTULO 2 – QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA DE RESERVATÓRIOS UTILIZADOS PARA IRRIGAÇÃO DE HORTALIÇAS EM SÃO JOSÉ DOS PINHAIS, PARANÁ.....	17
RESUMO	17
ABSTRACT	18
2.1 INTRODUÇÃO	19
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	20
2.2.1 Caracterização do local de estudo.....	20
2.2.2 Medidas e análises físicas, microbiológicas e químicas	21
2.2.3 Análise estatística	22
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
2.3.1 Classificação e uso do solo nas sub-bacias.....	22
2.3.2 Qualidade microbiológica e físico-química da água nos reservatórios e nascente.....	24
2.4 CONCLUSÕES	31
2.5 LITERATURA CITADA	32
3. CONCLUSÃO GERAL	34
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	34
ANEXO 1 – PERFIS DE SOLO DESCRITOS NO LOCAL DO ESTUDO	35

MICROBIOLOGIA DA ÁGUA DE RESERVATÓRIOS, UTILIZADOS PARA IRRIGAÇÃO DE HORTALIÇAS, E USO DO SOLO EM SUB-BACIAS DE SÃO JOSÉ DOS PINHAIS

Autor: Eng. Agr. Tiago Miguel Jarek

Orientador: Prof. Dr. Jorge Luiz Moretti de Souza

Co-orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Lucimeris Ruaro

Co-orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Nerilde Favaretto

RESUMO GERAL

O cultivo de hortaliças necessita de irrigação, sendo importante a realização de estudos que permitam caracterizar como se encontra a qualidade da água utilizada. A água de irrigação é um importante meio de disseminação de microrganismos, como bactérias que podem prejudicar a saúde dos consumidores. Teve-se por objetivo no presente trabalho relacionar a população bacteriana da água de irrigação, em uma região produtora de hortaliças, com fatores ambientais como pluviosidade, temperatura e insolação, e também com o uso do solo no entorno dos reservatórios, a fim de evidenciar condições que permitam melhor qualidade, manejo e conservação da água em reservatórios. As análises e resultados obtidos no presente trabalho foram organizados e apresentados em dois capítulos: Capítulo 1 – Alterações de comunidades microbianas em água de reservatórios naturais em diferentes períodos do dia; e, Capítulo 2 – Qualidade microbiológica da água de reservatórios utilizados para irrigação de hortaliças em São José dos Pinhais, Paraná. No Capítulo 1 foi analisada especificamente a influência de fatores ambientais como temperatura, insolação e precipitação em dois reservatórios em São José dos Pinhais. A metodologia consistiu em amostrar dois reservatórios das 6:40 h da manhã até às 16:40 h, a cada duas horas, nos meses de julho a outubro de 2012. Antes de 24 horas após a coleta, as amostras foram analisadas quanto ao número de unidades formadoras de colônias (UFC) por mL de bactérias heterotróficas. Os resultados indicaram diferenças significativas para o horário de amostragem ao nível de 5% de significância, ocorrendo pontos de mínima população na parte da manhã e máxima no período da tarde, para três dos quatro meses analisados. No Capítulo 2, os reservatórios tiveram amostras de água analisadas quanto ao nível de coliformes totais, fecais, condutividade, sólidos totais, fósforo solúvel reativo, pH e turbidez, sendo os resultados comparados com o uso do solo próximo aos reservatórios. A análise de coliformes foi

realizada com o método dos tubos múltiplos. O procedimento estatístico consistiu em análise de variância e teste de médias, análise de componentes principais, análise de regressão e árvore de probabilidades. Ocorreram diferenças significativas ao nível de 5% de significância para os reservatórios nos parâmetros coliformes termotolerantes, condutividade, turbidez e fósforo solúvel reativo. Na análise de componentes principais a CP1 explicou 32,9% e a CP2 21,6%, mostrando que as variáveis coliformes totais e termotolerantes, sólidos totais e precipitação acumulada de sete dias antes da coleta estão melhores relacionadas. Em relação à resolução 357 de março de 2005 (CONAMA) apenas um dos reservatórios ficou de acordo com o limite máximo de 200 coliformes termotolerantes por 100 mL em 80% das amostras (6 amostras no mínimo). A probabilidade de contaminação aumenta nos reservatórios à medida que se aumenta a probabilidade de uso do solo e da precipitação ocorrida até sete dias antes da coleta ser maior que 43 mm. Principalmente nos meses em que ocorreram precipitações mais intensas antes da amostragem, verificou-se que as condições que permitem o melhor manejo e conservação da água para irrigação de hortaliças ocorrem em reservatórios protegidos pela mata ciliar e possuem menor uso do solo em sua sub-bacia.

Palavras-chave: Coliformes, Amostragem de água, Água de irrigação.

MICROBIOLOGY WATER OF RESERVOIRS USED FOR IRRIGATION IN VEGETABLES, AND LAND USE OF SUB WATERSHEDS IN SÃO JOSÉ DOS PINHAIS - PARANÁ STATE.

Author: Eng. Agr. Tiago Miguel Jarek

Advisor: Prof. Jorge Luiz Moretti de Souza

Co-advisor: Prof. Lucimeris Ruaro

Co-advisor: Prof. Nerilde Favaretto

GENERAL ABSTRACT

In vegetable crops irrigation is needed, it is important to undertake studies in the region that is how to characterize the quality of water used. Irrigation water is an important way of dissemination of microorganisms such as bacteria, that can harm the health of consumers. The objective this study was relate the bacterial population of the irrigation water, in a region producing vegetables with environmental factors such as rainfall, temperature and insolation, and also with the land use surrounding the reservoirs in order to highlight conditions enabling better quality, management and conservation of water in reservoirs. The analysis and results in the present study were organized and showed in two chapters: Chapter 1– Changes of microbial communities in natural water reservoirs at different periods of the day; and, Chapter 2 – Water microbiological quality in reservoirs used for vegetable irrigation in São José dos Pinhais, Parana State. In Chapter 1 has been specifically examined the influence of environmental factors such as temperature, insolation and rainfall in two reservoirs in São José dos Pinhais. The methodology consisted of sample in two reservoirs from 6:40 a.m. to 16:40 p.m., every two hours in the months of July at October 2012. Within 24 hours after collection the samples were analysed for the number of colony forming units (CFU) per mL of heterotrophic bacteria. The results indicated significant differences for the time sampling the 5% level of significance, occurring point minimum population in the morning and the maximum point in the afternoon for August, September and October. In Chapter 2, the reservoirs water samples were analyzed for levels of total coliforms, fecal coliform, conductivity, total dissolved solids, soluble reactive phosphorus, pH and turbidity, and the results were compared with the use soil near the reservoirs. Coliform analysis was performed by the multiple tube method. Statistical procedures consisted of analysis of variance and test average, principal component analysis, regression analysis and tree probabilities. Significant

differences were found in the 5% level for reservoirs to parameter of fecal coliform, conductivity, turbidity and reactive soluble phosphorus. In Principal component analysis the CP1 explained 32,9% and the CP2 21,6%, displaying the variables total coliform, fecal coliform, total solids and accumulated rainfall 7 days prior to collection are best related. In relation to Resolution 357 of March 2005 (CONAMA) only one of reservoirs are in line with the maximum limit of 200 fecal coliform per 100 mL in 80% of samples (six samples minimum). Contamination probability increase as the reservoirs will increase the probability of land use and precipitation occurred up to seven days before the collection is greather than 43 mm. Especially in the months with more severe precipitation prior to sampling, it was found that the conditions that allow better management and conservation of water in reservoirs for irrigation of vegetables occurred in reservoirs that are protected by riparian vegetation and lower land use in its sub-basin.

Keywords: Coliform, Sampling water, water irrigation.

INTRODUÇÃO GERAL

O valor da produção de hortaliças no Estado Paraná alcançou aproximadamente 2,48 bilhões de reais em 2012 (SEAB, 2014). A Região Metropolitana de Curitiba (RMC) compreende 29 municípios (COMEC, 2011) e é responsável por grande parte dessa produção (34% aproximadamente). São José dos Pinhais é um dos maiores produtores de hortaliças da RMC, atingindo valor bruto da produção de aproximadamente 216 milhões de reais em 2012. Grande parte dos produtores de hortaliças em São José dos Pinhais utiliza irrigação no processo produtivo, principalmente na cultura da Alface, cuja produção foi de 13,7 milhões de reais em 2012 (SEAB, 2014).

As águas de irrigação podem ser responsáveis pela disseminação de bactérias patogênicas como *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Staphylococcus aureus*, entre outras, as quais provocam doenças entéricas (Silva et al., 2010). Hortaliças consumidas cruas, como a alface, quando contaminadas com bactérias termotolerantes, como a *Salmonella bredney*, podem resultar toxinfecções atingindo grande número de pessoas (Bonilha & Falcão, 1994). Em hortaliças consumidas cruas ou frutos que se desenvolvem rentes ao solo, a Resolução 357 de março de 2005 (CONAMA) determina o limite máximo de 200 coliformes termotolerantes por 100 mL de água de irrigação, em 80% das amostras (seis amostras no mínimo) coletadas bimestralmente.

A contaminação das águas de irrigação com coliformes termotolerantes não necessariamente está relacionada à presença de material de origem fecal, pois os gêneros *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter* e *Aeromonas* são freqüentemente relatados em águas livres de contaminação antrópica (Reche et al., 2010).

A agricultura e a pecuária, devido ao uso inadequado do solo, em desacordo com a capacidade de uso e aptidão agrícola das terras, é responsável pela contaminação de águas superficiais devido aos processos erosivos e lixiviação de poluentes decorrentes de manejo não-sustentável (Carvalho et al., 2000; Gonçalves et al., 2005; Zeilhofer et al., 2006).

A água é recurso natural fundamental para manutenção da vida no planeta e boa parte do montante existente não está disponível para o consumo. Devido à sua escassez, principalmente em qualidade, é crescente a preocupação com a preservação dos recursos hídricos, o que tem motivado a realização de diversos estudos buscando avaliar a qualidade da água relacionada ao meio ambiente (Carvalho et al., 2000; Gonçalves et al., 2005; Zeilhofer et al., 2006).

Existem muitos estudos sobre a qualidade da água, visto que o tema é bastante complexo e a mesma serve para diferentes finalidades (sanitária, ambiental, piscicultura, irrigação, entre outras). A qualidade da água pode ser avaliada por meio de diversos indicadores como temperatura, pH, presença de nutrientes (fósforo e nitrogênio), coliformes e *Escherichia coli*, matéria orgânica dissolvida, demanda química de oxigênio, oxigênio dissolvido e demanda bioquímica de oxigênio (APHA, 1992; Silva et al., 2010; Karrasch, et al., 2011).

Análises microbiológicas da água são facilmente influenciadas por diversos fatores reduzindo ou aumentando a população dos microorganismos. Entre eles podem ser citados: oxigênio dissolvido, pH, temperatura, teor de nutrientes, radiação, entre outros (Reche et al., 2010). Também existem estudos demonstrando que alguns destes parâmetros podem variar ao longo do dia devido à atividade fotossintética do fitoplâncton. Mercante (2011) estudando a variação diária do pH e oxigênio dissolvido encontrou valores máximos de pH entre 12:00 h e 18:00 h. Sabe-se que a grande maioria das bactérias tem sua sobrevivência e proliferação favorecida em pH próximo a neutralidade. Segundo Reche et al. (2010) o oxigênio dissolvido é um fator que influencia a microbiologia da água, correlacionando-se de forma negativa com a população de bactérias heterotróficas. Mercante (2011) encontrou valores mais elevados de oxigênio dissolvido por volta das 14:00 h.

Teve-se por objetivo no presente trabalho relacionar a população bacteriana da água de irrigação, em uma região produtora de hortaliças, com fatores ambientais como pluviosidade, temperatura e insolação, e também com o uso do solo no entorno dos reservatórios, a fim de evidenciar condições que permitam melhor qualidade, manejo e conservação da água em reservatórios.

As análises e resultados obtidos no presente trabalho foram organizados e apresentados em dois capítulos, quais sejam:

Capítulo 1 – Alterações de comunidades microbianas em água de reservatórios naturais em diferentes períodos do dia; e,

Capítulo 2 – Qualidade microbiológica da água de reservatórios utilizados para irrigação de hortaliças em São José dos Pinhais, Paraná.

LITERATURA CITADA

APHA (American Public Health Association), *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 18 ed. Washington, D. C.: APHA/American Water Works Association/Water Pollution Control Federation, 1992. 937 p.

BONILHA P.R.M; FALCÃO D.P. Ocorrência de enteropatógenos em alfaces e suas águas de irrigação. *Alim Nutr*, v. 5, p. 87-97, 1994.

CARVALHO, A.R.; SCHLITTLER, F.H.M.; TORNISIELO, V. L.; Relação da Atividade Agropecuária com parâmetros físicos químicos da água. *Quí. Nova*, v. 23 n. 5, p. 618-622, 2000.

CONAMA, Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 357 de 17 de março de 2005. Estabelece a classificação das águas doces, salobras e salinas. Diário oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 17 de março, 2005.

COMEC, Coordenação da Região Metropolitana de Curitiba. Municípios da Região Metropolitana de Curitiba. Disponível em: <http://www.comec.pr.gov.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=89>, acesso em 23/02/2014.

GONÇALVES, C.S.; RHEINHEIMER, J.B.R.P.; KIST, S.L. Qualidade da água numa microbacia hidrográfica de cabeceira situada em região produtora de fumo. *Rev. Bras. de Eng. Agríc. e Ambiental*, v. 9, n. 3, p. 391-399, 2005.

KARRASCH, B; WOELFL, S; URRUTIA, R; GONZÁLEZ, J; VALDOVINOS, C; CID, H PARRA, O. Ecomicrobiology and microbial assimilative capacity of the oligotrophic Andean Lake Laja, Chile. *Rev. Chil. de Hist. natural*, v. 84, p. 433-450, 2011.

MERCANTE, C.T.J.; CARMO, C.F. do; RODRIGUES, C.J.; OSTI, J.A.S.; MAINARDES PINTO, C.S.; VAZ-DOS-SANTOS, A.M.; TUCCI, A.; DI GENARO, A.C. Limnologia de viveiros de criação de Tilápias do Nilo: Avaliação diurna visando boas práticas de manejo. *Bol. Inst. Pesca*, v. 37, n. 1, p. 73-84, 2011.

RECHE, M.H.L.R.; PITTOL, M. & FIUZA, L. M.; Bactérias e bioindicadores de qualidade de águas de ecossistemas orizícolas da Região Sul do Brasil. *Oecol. Aust.*, v. 14, n. 2, p. 452-463, 2010.

SEAB, Secretaria da agricultura e do abastecimento do Paraná. Valor bruto da produção agropecuária. Disponível em: <http://www.agricultura.pr.gov.br/>, acesso em 23/02/2014.

SILVA, P.I.A.P; CARVALHO, J.S; MOURA-COSTA, L.F.; DOMINGUEZ, G.F.; CARVALHO, M.R.B.; ORGE, M.D.; VALE, V.L.C. Condições sanitárias e ambientais das águas de irrigação de hortas e de *Lactuca sativa* (alface) nas cidades de Catu e Alagoinhas – Bahia, Brazil. R. Ci. Méd. biol, v. 9, n. 3, p. 194-199, 2010.

ZEILHOFER, P.; RONDON LIMA, E.B.N.; ROSA LIMA, G.A. Spatial patterns of water quality in the Cuiabá river basin, Central Brazil. Env. Monit. and Assessment, v. 123, p. 41-62, 2006.

CAPÍTULO 1 – ALTERAÇÕES DE COMUNIDADES MICROBIANAS EM ÁGUA DE RESERVATÓRIOS NATURAIS EM DIFERENTES PERÍODOS DO DIA

RESUMO

Há uma preocupação freqüente com a qualidade microbiológica da água e pesquisas sobre contaminação relacionadas com coliformes são muito importantes, devido às conseqüências que a ingestão de alguns gêneros de bactérias como *Escherichia*, *Klebsiella*, *Samonella*, entre outros, podem causar à saúde das pessoas. A população de bactérias é um importante indicador da qualidade microbiológica da água e seu metabolismo é afetado por vários fatores. Teve-se por objetivo no presente trabalho avaliar as alterações microbiológicas da água utilizada para irrigação, proveniente e amostrada em reservatórios naturais, devido ao horário de amostragem. As amostras foram coletadas entre julho e outubro de 2012 em dois reservatórios. As coletas ocorreram entre 6:40 h e 17:05 h, sendo realizadas a cada duas horas. A contagem das unidades formadoras de colônia (UFC) foi feita com o método "drop plate" em meio 523 de Kado & Heskett. Os resultados indicaram diferença significativa entre às horas de amostragem para os meses de agosto, setembro e outubro. O mês de outubro apresentou menor coeficiente de variação e os dois reservatórios analisados, embora sejam independentes e sem nenhuma relação hídrica, obtiveram variação similar da população de bactérias, com um ponto de mínimo próximo às 10:00 h e o ponto máximo às 17:00 h. No período da manhã ocorreu redução da população de bactérias, e nos horários entre 10:40 h e 11:05 h encontrou-se o menor valor do dia para os meses de Agosto e Outubro. No meio da tarde, a temperatura da água teve elevação de aproximadamente 4 °C, que é favorável à multiplicação das bactérias, momento em que o pH também já se elevou devido à atividade fotossintética do fitoplâncton, beneficiando as bactérias. Assim, uma amostra coletada entre 10:40 h e 11:05 h correspondeu a 17500 unidades formadoras de colônia em 100 mL (UFC (100 mL)⁻¹); porém o mesmo reservatório contabilizou população de 40833 CFU (100 mL)⁻¹ entre 6:40 h e 7:05 h. A população mínima de bactérias ocorre no período da manhã e a máxima no período da tarde, e para o mesmo dia e reservatório, pode alcançar variação de até 100%. A população de bactérias se altera ao longo do dia na água de irrigação de reservatórios naturais, sendo influenciada por fatores ambientais.

Palavras-chave: Coliformes, Amostragem de água, Variação diária.

CHAPTER 1 – CHANGES IN MICROBIAL COMMUNITIES IN NATURAL WATER RESERVOIRS IN DIFFERENT PERIODS OF THE DAY

ABSTRACT

There is a frequent concern with microbiological water quality and contamination research related coliforms are very important because of the consequences that the intake of some genera of bacteria such as *Escherichia*, *Kleibsiella*, *Salmonella*, among other, can cause to peoples's health. The bacteria population is an important indicator of microbiological water quality and your metabolism is affected by several factors. The objective this study was evaluates the changes in microbial communities of water in natural reservoirs due time of sampling. The samples were collected between July and October 2012 in two reservoirs. Sampling occurred between 6:40 a.m. until 5:05 p.m., being held two hours. The counting of colony forming units (CFU) was taken by the “*drop plate*” method in the broth 523 of Kado & Heskett. The results indicated significant difference between the hours of sampling for the months of August, September and October. October showed a lower variation coefficient and Reservoirs “A” and “B”, although two independent reservoirs with no water ratio, achieved a similar population variance of bacteria, with a minimum point around at 10:00 a.m. and maximal point at 5:00 p.m. In the morning there was a reduction of the bacterial population, and at times between 10:40 a.m. and 11:05 a.m. was found the lowest value of the day for months of August and October. In the afternoon, the water temperature was elevated approximately 4 °C, which is favorable to the multiplication of bacteria, when the pH has also increased due to photosynthetic activity of phytoplankton, bacteria benefit. Thus, a sample collected between 10:40 and 11:05 a.m. corresponded to 17500 colony formation units in 100 mL (CFU (100mL)⁻¹), but the same reservoir recorded a population of 40833 CFU (100mL)⁻¹ between 6:40 and 7:05 a.m. The minimum population of bacteria occurs in the morning and maximum in the afternoon, and for the same day and the reservoir can reach a range of about 100%. The bacterial population changes during the day in the natural reservoir of water, and influenced by environmental factors.

Key-words: Coliform, water sample, daily variation.

1.1 INTRODUÇÃO

A água é recurso fundamental para a sociedade e pode ser destinada ao abastecimento para consumo humano, dessedentação de animais, recreação, irrigação, piscicultura e também possui função ecológica para manutenção de comunidades aquáticas. Dessa forma, a qualidade da água precisa ser regulamentada e avaliada por meios eficazes a fim de garantir o bem-estar humano e o equilíbrio ecológico (CONAMA, 2005).

A água para consumo humano pode ser a origem de infecções entéricas de veiculação hídrica, sendo as análises de coliformes totais e termotolerantes as principais análises microbiológicas comumente utilizadas. Alguns estudos vêm revelando a contaminação de águas superficiais e subterrâneas e suas possíveis implicações à saúde pública, principalmente em crianças e idosos (Sisinno & Moreira, 1996; D'águila et al., 2000; Freitas et al., 2001).

A irrigação é necessária para a produção de diversos cultivos, incluindo hortaliças. Há uma preocupação freqüente com a qualidade microbiológica dessa água, e pesquisas relacionadas com a contaminação por coliformes são muito importantes, devido às conseqüências que a ingestão de alguns gêneros de bactérias como *Escherichia*, *Klebsiella*, *Samonella*, entre outras, podem causar à saúde das pessoas (Bonilha & Falcão, 1994; Silva et al., 2010; Torres et al., 2011).

A água pode ser destinada à criação de animais aquáticos para consumo humano e, neste caso, a qualidade do produto final está condicionada ao ambiente de produção. Na criação de tilápias, o nível de oxigênio dissolvido pode resultar na morte dos peixes (Mercante, 2011). No cultivo de ostras a contaminação com coliformes e *Escherichia coli* pode resultar em doenças para os consumidores, devendo-se atentar para sua possível contaminação (Vieira et al., 2008).

A população de microorganismos na água, de modo geral, é muito sensível a fatores externos, podendo ser alterado em função do pH, oxigênio dissolvido, nutrientes solúveis como fósforo e nitrogênio, radiação, temperatura, entre outros (Reche & Fiuza, 2005; Andraus, 2006; Sousa, 2008; Reche et al., 2010). Devido à influência dos fatores externos, é comum encontrar grande variabilidade nas análises microbiológicas, sendo necessária muitas vezes a transformação numérica dos dados por meio matemático para melhorar o entendimento da distribuição dos mesmos (APHA, 1992; Oliveira et al., 2008).

A presença de microalgas em reservatórios é um fator importante, pois sabe-se que a fotossíntese altera os níveis de oxigênio e dióxido de carbono, resultando em diferentes

valores de pH. A temperatura e radiação solar são mais elevadas entre 11:00 h e 14:00 h, resultando em maior pH e oxigênio dissolvido (Mercante, 2011). Pesquisas sobre coliformes em reservatórios de irrigação desconsideram a influência deste processo diário da população de bactérias (Bonilha & Falcão, 1994; Silva et al., 2010; Torres et al., 2011).

As bactérias são fortemente influenciadas pelo pH para as funções de sobrevivência e reprodução, sendo considerado um fator importante na manipulação e cultivo de bactérias (Romeiro, 2001). A *E. coli*, importante bactéria indicadora de contaminação, é muito influenciada pelo pH, sendo favorecida quando este se encontra em torno de cinco (Vieira, 2008).

O sol emite radiação que é prejudicial à integridade da célula bacteriana (Romeiro, 2005; Sousa, 2008). A mortalidade de bactérias será tanto maior quanto maior for o tempo de exposição, por conseguinte, nas primeiras horas da manhã deve haver condição mais favorável para a sobrevivência das mesmas.

Análises microbiológicas (dentre elas as análises de coliformes) em programas de monitoramento ou simplesmente de avaliação pontual da qualidade da água, desconsideram a influência do horário de amostragem na população de bactérias (Bonilha & Falcão, 1994; Silva et al., 2010; Torres et al., 2011). No entanto, considerando que a variação diária de fatores vai influenciar o resultado final, bem como a interpretação dos resultados, deve-se escolher com critério o horário de coleta da amostra de água em reservatórios naturais.

Teve-se por objetivo no presente trabalho estudar e avaliar as alterações em análises microbiológicas da água de reservatórios naturais, devido à hora de amostragem.

1.2 MATERIAL E MÉTODOS

1.2.1 Área de Estudo

A cidade de São José dos Pinhais é um importante fornecedor de hortaliças para a população da região, sendo a irrigação necessária para o sucesso da produção. Segundo classificação de Köppen o clima da região é subtropical (Cfb), tendo verões amenos e ocorrência de geada, sem estação seca. O cultivo de hortaliças ocorre durante todo o ano, havendo movimentação intensa do solo.

O local estudado situa-se entre as coordenadas UTM 688472 E e 7168082 S, à 910 m altitude. As amostras de água foram realizadas em dois reservatórios: o "Reservatório A" não

é utilizado para irrigação, se caracteriza por apresentar baixa vazão e, devido a isso, ocorre maior crescimento de algas; e, o "Reservatório B" tem maior vazão, ocorre menor proliferação de algas. Os dois reservatórios não são afetados por outras propriedades rurais, afluentes ou descargas de poluentes a montante.

1.2.2 Amostragem e análises

As amostras de água foram coletadas em julho, agosto, setembro e outubro de 2012, entre 6:40 h e 16:40 h, com intervalo de duas horas entre amostras e 25 minutos entre reservatórios, em ambos os reservatórios. A água foi coletada sempre no mesmo ponto com garrafas de vidro esterilizadas (121 °C, 1 atm, 20 minutos), com volume de 250 mL. Durante o transporte os frascos foram armazenados em pé e refrigerados com gelo retornável.

No momento da coleta das amostras de água foram medidos a temperatura do ambiente e da água dos reservatórios, sendo utilizados Termohigrômetro digital e termômetro de bulbo (Incoterm ®), respectivamente. A vazão foi mensurada com cronômetro e balde graduado.

As análises microbiológicas para os meses de julho a outubro de 2012 consistiram na contagem de Unidades formadoras de colônias (UFC) por mL de bactérias heterotróficas. No ano seguinte foi feita análise do NMP/100 mL de coliformes totais e bactérias heterotróficas para as mesmas amostras, a fim de verificar a correlação entre os dois grupos de bactérias.

As análises em laboratório mantiveram o mesmo intervalo da coleta, para reduzir a interferência de armazenamento. As diluições foram feitas em água fosfatada (APHA, 1992) antes de semear a amostra no meio de cultura em triplicata. A diluição em 1:10, 1:100, 1:1000 partes foi realizada em câmara de fluxo laminar, depois das garrafas serem agitadas vigorosamente por 25 vezes.

A contagem de UFC foi feita com o método "*drop plate*" (Romeiro, 2001), à temperatura de 28 °C no meio 523 de Kado & Heskett (1970), o qual é composto por sacarose, peptona, extrato de levedura, ágar e sais. Após 24 h de incubação em 28 °C foi realizada a primeira contagem e, depois de 48 h, procedeu-se nova contagem. Os coliformes totais foram determinados com a técnica de tubos múltiplos, em caldo Lauril Triptose (composto por triptose, lactose e sais) e caldo lactose bile verde brilhante (composto por lactose, bile, peptona e verde brilhante), ambos incubados a 35 °C (APHA, 1992).

A turbidez foi medida em laboratório com turbidímetro (Quimis ® Q-279PiR-RTB), com o método nefilométrico. Os sólidos totais secos a 103-105 °C foram determinados secando um volume de aproximadamente 40 mL das amostras sem filtrar, em béckers, até evaporação completa da água, fazendo a pesagem antes e depois da secagem. A condutividade também foi determinada em laboratório, junto com a turbidez e sólidos totais, sendo medida com o conductímetro (Schott ® Handylab LF1), em microsiemens cm^{-1} . O pH foi medido em laboratório, depois de alguns dias, durante o qual as amostras foram mantidas refrigeradas. O fósforo solúvel foi determinado com o método do ácido ascórbico como indicado por APHA (1992).

O delineamento experimental adotado foi em blocos com repetições (quatro para cada diluição), sendo cada reservatório considerado um bloco, por estarem sujeitos às mesmas variações ambientais, mas serem unidades amostrais independentes. Cada mês foi analisado individualmente testando-se apenas o horário amostrado. As medidas foram previamente testadas para homogeneidade das variâncias (teste de Bartlett), que indicou a necessidade de transformação dos dados para $\log(n + 1)$. A análise estatística foi realizada no *software* Assistat, versão 7.7, e as médias submetidas ao teste de Tukey a 5% de significância.

1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados indicaram diferença significativa para o número de UFC mL^{-1} de bactérias heterotróficas entre as horas de amostragem (Tabela 1.1) para agosto, setembro e outubro. Julho teve alto coeficiente de variação (33,25%), razão pela qual não ocorreu diferença estatística. As análises realizadas em outubro apresentaram coeficiente de variação menor, e os Reservatórios “A” e “B” tiveram variação similar da população bacteriana, com pontos de mínima próximo às 10:00 h e máxima às 17:00 h (Figura 1.1).

O número de unidades formadoras de colônias de bactérias heterotróficas analisadas com o método “*drop plate*” teve alta correlação ($R^2 = 0,989$) na análise de regressão linear com coliformes totais, analisados com o método de tubos múltiplos (Figura 1.2), em amostras de cinco meses no ano de 2013. A tendência linear e alta correlação entre os dois parâmetros era esperada, pois a diferença entre os métodos de análise deve-se basicamente à relação dos ingredientes dos meios de cultura e a temperatura de incubação. As análises de coliformes totais, termotolerantes e a contagem de bactérias heterotróficas são parâmetros comumente utilizados para medir a qualidade microbiológica da água, sendo indicadas pela legislação que

dispõe sobre o assunto (CONAMA, 2005; Brasil, 2011). Desta forma, fica evidente que estudos envolvendo análises de coliformes em águas de reservatórios naturais deverão levar em consideração o período do dia para a coleta de amostras, devido às diferenças significativas observadas nos resultados.

Tabela 1.1. Bactérias heterotróficas (número médio de unidades formadoras de colônias por mL) em diferentes meses e horários de amostragem, em dois reservatórios de água localizados em São José dos Pinhais, Paraná.

Hora (h)	Número médio de bactérias heterotróficas formadoras de colônia (UFC mL ⁻¹)			
	Meses			
	Julho *	Agosto *	Setembro *	Outubro *
06:40	1640 a	355 bc	718 a	342 a
08:40	657 a	463 ab	451 ab	230 ab
10:40	610 a	356 c	505 ab	193 b
12:40	655 a	596 ab	391 ab	222 ab
14:40	459 a	695 a	703 a	328 ab
16:40	778 a	407 ab	372 b	348 a
Coef. Var.%	33,25	15,22	17,17	15,04

* Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

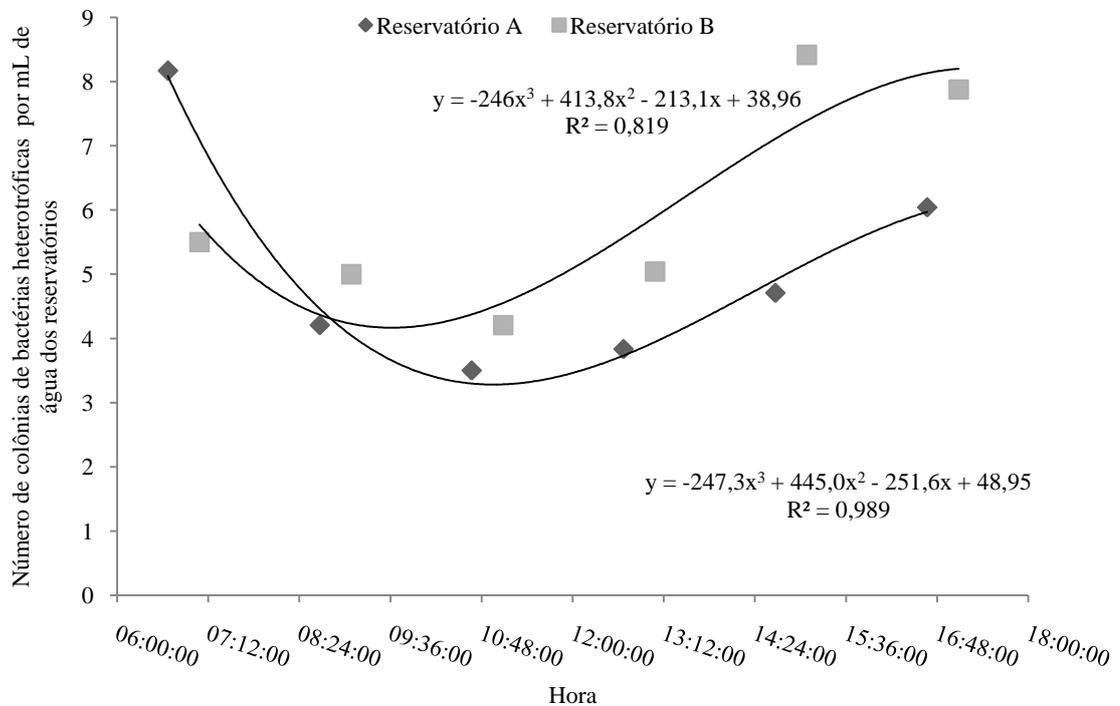


Figura 1.1 – Tendência diária da contagem do número de colônias por microgota de bactérias heterotróficas, ao longo do dia 20 de outubro, em dois reservatórios de São José dos Pinhais.

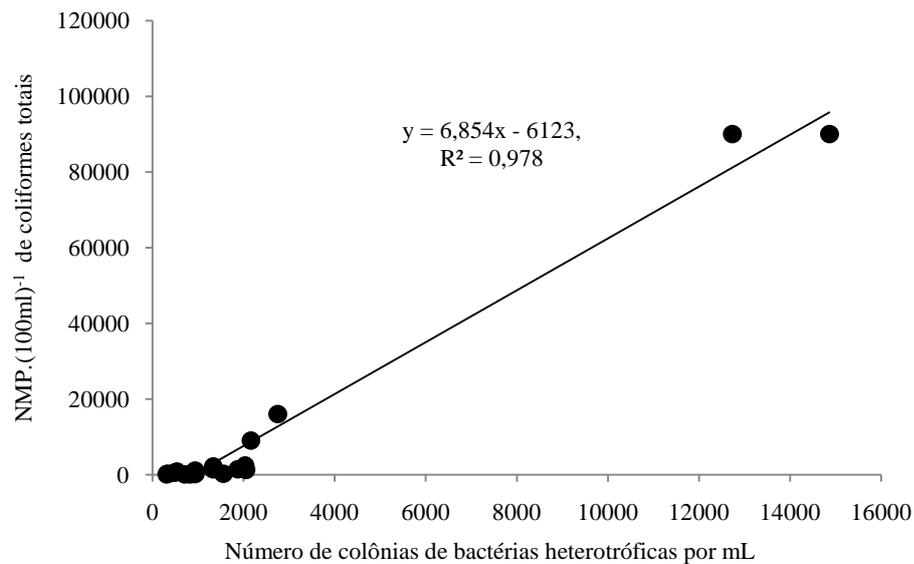


Figura 1.2 – Regressão linear e correlação entre NMP (100mL)⁻¹ de coliformes totais *versus* contagem total de bactérias heterotróficas em amostras de reservatórios, para o período de seis meses de análise.

A variação da população de bactérias ocorre devido a muitos fatores. Algumas pesquisas indicaram que a população sofre alterações influenciadas pela estação do ano, temperatura, oxigênio dissolvido, condutividade, marés em estudos de balneabilidade, matéria orgânica particulada, chuvas e interações tróficas (Andraus, 2006; Vieira et al., 2008; Reche et al., 2010). Durante todo o dia alguns fatores mudam. O pH da água, por exemplo, é influenciado pelo processo de fotossíntese das algas verdes, alterando a dinâmica dos gases O₂ e CO₂ (Mercante et al., 2011). As mudanças associadas à temperatura e radiação contribuem para as alterações na população de bactérias que diferem conforme a hora amostrada (Tabelas 1.1).

As bactérias geralmente têm um período de geração muito rápido. A *Escherichia coli*, por exemplo, se multiplica em 21 minutos, resultando em aumento rápido da população, limitando-se somente quando às condições do meio de crescimento ficam desfavoráveis. Internamente a célula bacteriana tem o pH ajustado em torno do neutro, no entanto, sua sobrevivência ocorre em diferentes níveis de acidez. A *E. coli*, por exemplo, tem sobrevivência favorecida em torno de pH cinco (Vieira et al., 2008). O pH é uma escala logarítmica e alterações de seu valor na água dos reservatórios durante o dia chegam próximo a um ponto, como pode ser observado no Reservatório “A”, no dia 20 de outubro (valor 6,6 pela manhã e 7,57 no período da tarde). Alterações nessa escala representam 10 vezes mais

acidez ou basicidade, impondo a necessidade das bactérias adaptarem-se rapidamente (Romeiro, 2005).

A grande diversidade de bactérias deve-se à sua capacidade de adaptação, que está ligada ao sistema enzimático que possuem. As enzimas são extremamente dependentes da temperatura para funcionarem corretamente (Romeiro, 2005). A temperatura média da água no presente trabalho teve variação diária de 4,3 °C, sendo a menor às 7:00 h da manhã e a maior às 15:00 h.

A temperatura é responsável pela taxa de crescimento da população de bactérias, sendo possível estabelecer uma função que descreva a relação entre as duas variáveis (Zwietering et al., 1991). No presente trabalho, observou-se que a temperatura tem um ponto mínimo nas primeiras horas da manhã, aumentando até um ponto máximo no meio da tarde. No entanto, não se pode atribuir que a população de bactérias aumenta somente devido à temperatura, pois nas primeiras horas da manhã ela é tão alta quanto no ponto máximo da tarde (Figura 1.1). A temperatura da água em outubro foi maior porque as noites são mais quentes e a variação entre a temperatura da água e o ambiente é menor (Tabela 1.2).

Tabela 1.2. Valores médios de precipitação, vazão, pH, turbidez, condutividade, fósforo solúvel reativo, temperatura da água e do meio ambiente, em julho, agosto, setembro e outubro de 2012.

Parâmetro	Unidade	Meses			
		Julho	Agosto	Setembro	Outubro
Precipitação	Mm	106	31,2	60	37,6
Vazão	m ³ .h ⁻¹	0,52	0,47	0,34	0,25
Ph	----	6,6	6,8	7,2	7,1
Turbidez	NTU	5,7	9,0	9,5	7,3
Sólidos totais	mg mL ⁻¹	0,12	0,24	0,12	0,12
Condutividade	µS cm	81,5	83,5	89,2	89,2
Temperatura da água	°C	14,9	16,4	17,5	19,1
Temperatura do ambiente	°C	20,7	18,1	17,6	19,5
Fósforo solúvel reativo*	µg L ⁻¹	27,1	36,1	30,38	21,98

* Dados relativos apenas ao Reservatório "A". As concentrações de P solúvel no Reservatório "B" foram menores que o mínimo detectável com o método do ácido ascórbico.

A tendência da diminuição da população de bactérias no início da manhã pode ser reflexo da exposição à radiação solar, que é prejudicial às bactérias e sua integridade celular (Romeiro, 2005). Nesse momento o pH também é menor, porque o plâncton ainda não começou a realizar fotossíntese em alta intensidade (Mercante et al., 2011). Porém, esta condição não é favorável em relação à situação noturna. No meio da tarde, embora a radiação continue, a temperatura da água já obteve elevação em torno de 4 °C, o que é favorável à

multiplicação bacteriana. O pH nesse horário também já sofreu elevação sendo benéfico às bactérias.

O resultado prático do presente estudo evidencia, por exemplo, que uma amostra coletada às 10:40 h apresentou 17500 unidades formadoras de colônia em 100 mL (CFU (100 mL)⁻¹). O mesmo reservatório apresentou população de 40833 UFC (100 mL)⁻¹ às 6:40 h da manhã, revelando grande diferença entre a hora coletada das amostras.

Houve redução na vazão dos reservatórios no período de julho a outubro. A diminuição foi resultado da baixa precipitação mensal (Tabela 1.2). Os sólidos totais tiveram aumento em agosto (Tabela 1.2), sendo reflexo do maior volume de material em suspensão, como algas e microalgas, que tem correlação positiva com a turbidez (Oliveira et al., 2008).

Setembro e outubro apresentaram pequeno aumento da condutividade, acompanhada por redução de precipitação e vazão (Tabela 1.2). A precipitação está diretamente relacionada com a maior presença de coliformes em análises de água, pela capacidade que o escoamento superficial tem de carrear poluentes (Vieira et al., 2008). Nas análises observou-se no mês de julho que o número de bactérias heterotróficas foi maior, coincidindo como o mesmo mês em que ocorreu a maior precipitação. A temperatura da água aumentou ao longo dos meses, refletindo o final do inverno e início da primavera. A temperatura média do ambiente não se elevou devido à grande variação diária, com valores baixos pela manhã e altos durante a tarde.

O fósforo reativo solúvel apresentou maior valor no Reservatório “A”, indicando médias que variaram entre 21,98 µg L⁻¹, em outubro, a 36,1 µg L⁻¹, em agosto. O Reservatório “B” apresentou valores baixos (< 10 µg L⁻¹) e não puderam ser detectados pelo método do ácido ascórbico. O fósforo em microorganismos desempenha importante função vital, sendo frequentemente adicionado por meio de sais aos meios para cultivo de bactérias em laboratório (Romeiro, 2001). No entanto, não foi encontrada relação entre o fósforo reativo solúvel e o número de UFC.mL⁻¹ de bactérias heterotróficas.

1.4 CONCLUSÃO

A população de bactérias heterotróficas possui alta correlação com coliformes totais, e se altera ao longo do dia na água de reservatórios naturais devido à hora de amostragem. A população mínima de bactérias ocorre no período da manhã e a máxima no período da tarde. A maior amplitude populacional de bactérias para o mesmo dia e reservatório pode alcançar 23333 UFC (mL)⁻¹, com variação de aproximadamente 100%.

1.5 LITERATURA CITADA

ANDRAUS, S. Aspectos microbiológicos da qualidade sanitária das águas do mar e areias das praias de Matinhos, Caiobá e Guaratuba – PR. [Dissertação]. [Curitiba]: Universidade Federal do Paraná, p. 124, 2006.

APHA (American Public Health Association), *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 18 ed. Washington, D. C.: APHA/American Water Works Association/Water Pollution Control Federation, 1992. 937 p.

BONILHA P.R.M; FALCÃO D.P. Ocorrência de enteropatógenos em alfaces e suas águas de irrigação. *Alim Nutr*, v. 5, p. 87-97, 1994.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria N° 2.914 de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Diário oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 14 de dezembro de 2011.

CONAMA, Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução n° 357 de 17 de março de 2005. Estabelece a classificação das águas doces, salobras e salinas. Diário oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 17 de março, 2005.

D'ÁGUILA, P.S; ROQUE, O.C da C; MIRANDA, C.A.S; FERREIRA, A.P. Avaliação da qualidade da água para abastecimento público do Município de Nova Iguaçu. *R. Cad. Saúde Públ.*, v. 16, n. 3, p. 791-798, 2000.

FREITAS, M.B. de; BRILHANTE, O.M; ALMEIDA, L.M. de Importância da análise de água para a saúde pública em duas regiões do Estado do Rio de Janeiro: enfoque para coliformes fecais, nitrato e alumínio.

KADO C.I; HESKETT M.G. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. *Phytopath*, v. 60, p. 969-979, 1970.

MERCANTE C.T.J; DI GENARO A.C; Limnologia de viveiros de criação de Tilápias do Nilo: Avaliação diurna visando boas práticas de manejo. *Bol Inst Pesca*, v. 37, n. 1, p. 73-84, 2011.

OLIVEIRA L.C. de; GOMES B.M; UMGARTNER G; SEBASTIEN N.Y. Variação espacial e temporal dos fatores limnológicos em riachos da microbacia do rio São Francisco verdadeiro. *Eng Agríc.*, v. 28, p. 770-781, 2008

RECHE M.H.L.R; PITTOL M; FIUZA L.M; Bactérias e bioindicadores de qualidade de águas de ecossistemas orizícolas da Região Sul do Brasil. *Oecol Aust.*, v. 14, n. 2, p. 452-463, 2010.

RECHE M.H.L.R; FIUZA L.M. Bacterial diversity in rice-field water in Rio Grande do Sul. *Braz Jour of microbiology*, v. 36, p. 253-257, 2005.

ROMEIRO R. da S. Métodos em bacteriologia de plantas. 1 ed. Viçosa: Editora UFV, 2001. 279p.

ROMEIRO R. da S. Bactérias Fitopatogênicas. 2 ed. Viçosa: Editora UFV, 2005; 417 p.

SILVA, P.I.A.P; CARVALHO, J.S; MOURA-COSTA, L.F.; DOMINGUEZ, G.F.; CARVALHO, M.R.B.; ORGE, M.D.; VALE, V.L.C. Condições sanitárias e ambientais das águas de irrigação de hortas e de *Lactuca sativa* (alface) nas cidades de Catu e Alagoinhas – Bahia, Brazil. *R. Ci. Méd. biol*, v. 9, n. 3, p. 194-199, 2010.

SISINNO, C.L.S; MOREIRA, J.C. Avaliação da contaminação e poluição ambiental na área de influência do aterro controlado do Morro do Céu, Niterói, Brasil. *R. Cad. Saúde Públ.*, v. 12, n. 4, p. 515-523, 1996.

SOUSA S.A.G.T. de Modelo matemático de mortalidade de bactérias coliformes em águas costeiras. [Dissertação]. [Lisboa]: Universidade Nova de Lisboa, 80 p, 2008.

TORRES J.L.R; PEREIRA, M.G; OLIVEIRA, F.A. de; PAIVA, J. de; CORNÉLIO, E. de P; FERNANDES, F. S. Análise das características quantitativas e qualitativas da microbacia do córrego Barreiro, Afluente do Rio Uberaba. *Rev. Árvore*, v. 35, n. 4, p. 931-939, 2011.

VIEIRA R.H.S dos; ATAYDE M.A; CARVALHO E.M.R. de; CARVALHO F.T.C. de; FONTELES FILHO A.A. Contaminação fecal da ostra *Crassostrea rhizophorae* e da água de cultivo do estuário do Rio Pacoti (Eusébio, Estado do Ceará): Isolamento e identificação de *Escherichia coli* e sua susceptibilidade a diferentes antimicrobianos. *Braz J Vet Res Anim. Sci.*, v. 45, n. 3, p. 180-189, 2008.

ZWIETERING M.H; KOOS J.T. de; HASENACK J.C. de; WITT; K'VAN'T RIET. Modeling of bacterial growth as a function of temperature. *Appl Environ Microbiol.*, v. 57, n. 4, p. 1094-1101, 1991.

CAPÍTULO 2 – QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA DE RESERVATÓRIOS UTILIZADOS PARA IRRIGAÇÃO DE HORTALIÇAS EM SÃO JOSÉ DOS PINHAIS, PARANÁ.

RESUMO

São José dos Pinhais pertence à região metropolitana de Curitiba, grande pólo produtor de hortaliças, a qual utiliza predominantemente irrigação do tipo aspersão. A água de irrigação pode ser responsável pela disseminação de bactérias patogênicas do grupo coliformes. O uso do solo fora da sua aptidão agrícola e a pouca cobertura vegetal na sub-bacia prejudicam a qualidade da água. Teve-se por objetivo no presente trabalho relacionar a qualidade microbiológica da água de irrigação com o uso do solo. As coletas ocorreram mensalmente no ano de 2013, em São José dos Pinhais-PR, em dois reservatórios e uma nascente preservada, sempre no mesmo horário. Após a coleta as amostras foram refrigeradas em caixas de isopor e posteriormente procedeu-se as análises de coliformes totais e termotolerantes. Os resultados foram comparados em análises de componentes principais e o reflexo do uso do solo analisado em árvores de probabilidade. Devido aos processos erosivos na sub-bacia, encontrou-se alta correlação entre precipitação acumulada de sete dias, antes da coleta nos reservatórios, e os grupos de bactérias estudados. A probabilidade dos coliformes termotolerantes estarem acima do permitido pela legislação aumenta com o uso do solo e precipitação acumulada de sete dias (maior que 43 mm), ocorrida antes da coleta das amostras. Apenas um dos reservatórios estudados está de acordo com a legislação para ser utilizada para irrigação de hortaliças que são consumidas cruas.

Palavras-chave: Coliformes, sub-bacia, uso do solo.

CHAPTER 2 – MICROBIOLOGICAL QUALITY OF WATER IN RESERVOIRS USED FOR VEGETABLE IRRIGATION IN SÃO JOSÉ DOS PINHAIS, PARANA STATE.

ABSTRACT

São José dos Pinhais city belongs to the metropolitan region of Curitiba, large vegetable production center, which uses predominantly irrigation sprinkler type. Irrigation water may be responsible for the spread of pathogenic bacteria of the coliform group. Land use outside its agricultural potential and low vegetation cover in the sub-basin, impair water quality. The objective this study was to relate the microbiological quality of irrigation water with land use. Sampling occurred monthly in 2013 in São José dos Pinhais-PR in two reservoirs and a nascent preserved, always at the same time. After collecting the samples were chilled in styrofoam boxes and then proceeded to the analysis of total coliforms and thermotolerant. The results were compared with principal component analysis, and reflection of land use was analyzed in probability trees. Found a high correlation between cumulative rainfall, seven days before collection, and groups of bacteria studied due to erosion processes in the sub-basin. The fecal coliform probability was above those permitted in law, increases with the use of soil and accumulated rainfall seven days prior to collection above 43 mm. Only one of the reservoirs is in accordance with the law to be used for vegetables irrigation that are eaten raw.

Key-words: Coliform, sub-watershed, land use.

2.1 INTRODUÇÃO

O valor da produção de hortaliças no Estado do Paraná alcançou aproximadamente 2,48 bilhões de reais em 2012 (SEAB, 2014). A Região Metropolitana de Curitiba (RMC) compreende 29 municípios (COMEC, 2011) e é responsável por grande parte da produção (34% aproximadamente). São José dos Pinhais é um dos maiores produtores de hortaliças da RMC, atingindo valor bruto da produção de aproximadamente 216 milhões de reais em 2012. O processo produtivo de hortaliças necessita freqüentes irrigações, principalmente em culturas como alface, cuja produção no município em 2012 foi de 13,7 milhões de reais (SEAB, 2014), sendo a irrigação por aspersão o sistema mais utilizado para esta hortaliça no município.

O uso do solo em desacordo com sua aptidão agrícola e a ausência de cobertura vegetal e mata ciliar, na bacia de drenagem dos corpos de água superficiais, pioram a qualidade da água devido às contaminações difusas (Carvalho et al., 2000; Gonçalves et al., 2005; Zeilhofer et al., 2006). As contaminações estão relacionadas com o tipo de uso da microbacia. Em áreas que predominam o uso com lavouras a contaminação com nutrientes está associada à sazonalidade e tipo das adubações realizadas, devido ao escoamento superficial (Gonçalves et al., 2005; Oliveira et. al., 2008). Sabe-se que o preparo do solo para o cultivo de hortaliças na região de São José dos Pinhais ocorre predominantemente com o uso de enxada rotativa, que associada ao relevo suave ondulado das áreas de cultivo, favorece sobremaneira os processos erosivos. O manejo intensivo do solo várias vezes ao ano diminui a estabilidade de agregados, resultando no aumento da erosão e transporte de poluentes associados aos sedimentos até os corpos d'água (Gonçalves et al., 2005).

O preparo intenso do solo associado à prática da irrigação contribui para a redução dos teores de argila nos horizontes superficiais. Um manejo assim, geralmente promove a eluviação de argila para os sub-horizontes, alterando as propriedades físicas, prejudicando a infiltração de água no solo e favorecendo a erosão. Particularmente em ARGISSOLOS, no Estado da Bahia, Santos & Ribeiro (2000) constataram aumento do gradiente textural proporcionalmente à movimentação do solo e uso da água de irrigação.

Diversos trabalhos constataram que águas de irrigação, principalmente na cultura da Alface, estariam inadequadas microbiologicamente devido à alta concentração de coliformes totais, termotolerantes e *Escherichia coli* (Bonilha & Falcão, 1994; Silva et al., 2010). A resolução 357 de 2005 (CONAMA) estabelece as seguintes condições para águas

classificadas na classe I, destinadas à irrigação de hortaliças que são consumidas cruas, ou frutos que se desenvolvem rentes ao solo: a) As águas de irrigação não devem ultrapassar o limite máximo de 200 coliformes termotolerantes por 100 mL, em 80% das amostras (seis amostras no mínimo); b) A turbidez não pode ultrapassar 40 NTU; c) Os sólidos totais dissolvidos devem ser inferiores a $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$; e, d) O pH deverá ficar entre 6,0 e 9,0.

Coliformes termotolerantes além de estarem presentes em fezes de animais homeotérmicos também podem ser encontradas em solo, plantas e outras matrizes ambientais não contaminadas (CONAMA, 2005). Dessa forma, pode-se encontrar bactérias desse grupo mesmo em áreas não contaminadas por material de origem fecal.

Teve-se por objetivo no presente trabalho relacionar a qualidade microbiológica da água de irrigação com o uso do solo e precipitação, em uma região produtora de hortaliças de São José dos Pinhais, Paraná.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Caracterização do local de estudo

O presente trabalho foi realizado na Colônia Murici, situada no município de São José dos Pinhais, Paraná, nas coordenadas $25^{\circ} 35'$ de latitude Sul, $49^{\circ} 07'$ de longitude Oeste e 933 m de altitude. Segundo a classificação de Koppen a região possui clima tipo Cfb, com verões amenos e ocorrência de geada, apresentando precipitação média anual entre 1600 e 1800 mm, sem estação seca (IAPAR, 2014).

A região é grande produtora de hortaliças e as amostras foram coletadas em dois reservatórios, sendo um com menor uso do solo (Reservatório “B”) e outro com maior uso (Reservatório “C”), e uma nascente preservada como testemunha (Nascente). As sub-bacias de cada um dos pontos de coleta estão separadas pelo mesmo divisor de águas, que foi escolhido para evitar a interferência de outros fatores e propiciar o menor intervalo de tempo possível entre a coleta de um ponto e outro (Figura 2.1). As análises foram realizadas no ano de 2013, com amostragem mensal realizada sempre no mesmo horário. Devido ao horário de verão nos meses de janeiro, outubro, novembro e dezembro a coleta foi atrasada em uma hora.

A classificação do solo foi realizada seguindo a metodologia do Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (EMBRAPA, 2006) e Manual Técnico de Pedologia (IBGE, 2007). As

observações e amostras de solo foram retiradas em dois perfis abertos no local de estudo, e incluiu a descrição morfológica, análise química e granulométrica.

Para elaboração dos mapas com o uso do solo nas sub-bacias foram utilizadas cartas de levantamento aerofotogramétrico, escala 1:20000, disponíveis na COMEC (Sistema Estadual de Planejamento – Coordenação da Região Metropolitana de Curitiba). As coordenadas geográficas dos pontos de coleta foram registradas com uso de aparelho GPS no próprio local. O processamento das informações foi realizado no *software* Idrisi.

2.2.2 Medidas e análises físicas, microbiológicas e químicas

No momento da coleta das amostras de água foram medidas a temperatura da água e pH com o peagâmetro (Lutron PH-206[®]), e a temperatura do ambiente e umidade relativa com termohigrômetro digital (Inconterm[®]). A vazão dos reservatórios foi medida de duas formas: a) Diretamente na saída do reservatório, com o auxílio de um balde de 10 L e cronômetro, para o Reservatório “B” e Nascente; e, b) Método do flutuador para o Reservatório “C”, sendo a vazão calculada com a equação universal. A precipitação foi medida com um pluviômetro tipo cunha, instalado próximo aos locais de coleta. Na sub-bacia da Nascente foi instalado um pequeno vertedor retangular, sem contração lateral de lâmina livre, para facilitar a coleta e mensuração da vazão.

A turbidez foi medida em laboratório com turbidímetro (Quimis ® Q-279PiR-RTB), com o método nefelométrico. Os sólidos totais secos a 103-105 °C foram determinados secando um volume de aproximadamente 40 mL das amostras de água sem filtrar, em béckers, até evaporação completa da água, fazendo a pesagem antes e depois da secagem. A condutividade foi medida com o conductímetro (Schott ® Handylab LF1), diretamente nos frascos das amostras, em microsiemens cm⁻¹.

As análises de Coliformes totais e termotolerantes foram realizadas com o método dos tubos múltiplos, utilizando Caldo Lauril triptose e Lactose Bile Verde Brilhante, para coliformes totais (incubação 35°C), e Caldo EC, para termotolerantes (incubação 45° C) (APHA, 1992). A bactéria *Escherichia coli* foi analisada com o teste de Indol, inoculando tubos com caldo à base de triptose, com uma alçada dos tubos que foram positivos para coliformes termotolerantes, sendo incubados a 35 °C por 24 horas. As análises microbiológicas iniciaram em período inferior a 24 horas após a coleta.

Para as análises de fósforo reativo solúvel as amostras foram congeladas durante o período de amostragem. Posteriormente, foram descongeladas cerca de 24 horas antes da análise e filtradas em malha de 0,45 µm. O fósforo solúvel reativo foi analisado com o método do ácido ascórbico e, após calibração da curva padrão, as amostras foram lidas em espectrofotômetro (APHA, 1992).

2.2.3 Análise estatística

As análises estatísticas dos dados obtidos consistiram dos seguintes procedimentos: a) Inicialmente a análise de componentes principais foi realizada no *software* estatístico R com 13 variáveis: Bactérias pectolíticas, Coliformes totais; Coliformes termotolerantes, Condutividade, Fósforo solúvel reativo, pH, Precipitação, Sólidos totais, Temperatura da água, Temperatura ambiente, Turbidez, Umidade Relativa e Vazão, sendo posteriormente retiradas as variáveis menos significativas; b) O reflexo do uso do solo foi analisado por estatística não paramétrica, do tipo árvore de probabilidades, considerando três eventos: precipitação antes da coleta, coliformes termotolerantes, e, uso do solo; e, c) O teste de tukey (5% de significância) e ANOVA foram realizados no *software* estatístico Assistat 7.7, e foram utilizados para analisar os dados entre reservatórios, considerando as variáveis: Bactérias pectolíticas, Coliformes totais, Coliformes termotolerantes, Condutividade, Fósforo solúvel reativo, pH, Sólidos totais e Turbidez.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 Classificação e uso do solo nas sub-bacias.

A área de estudo encontra-se sobre ARGISSOLO AMARELO Distrófico abrupto, conforme classificação realizada nos dois perfis abertos e descritos no local de estudo. Devido às propriedades físicas do solo de mudança textural abrupta, a área apresenta baixa infiltração da água e maior propensão à erosão superficial (Santos & Ribeiro, 2000). As áreas das sub-bacias com seus respectivos percentuais de uso com agricultura encontram-se na Tabela 2.1.

A sub-bacia da Nascente tem maior recobrimento com vegetação nativa, pastagem ou campo (75,2%) e encontra-se melhor preservada (Figura 2.1). A área de contribuição do Reservatório “B” apresenta-se bem preservada com 65,1% de mata. A sub-bacia do Reservatório “C” tem maior área (14,92 ha), sendo a maior parte utilizada para agricultura

(7,76 ha). As lavouras encontram-se próximas ao Reservatório “C” e apenas 1,86 ha estão cobertos com mata. O restante da área encontra-se com outros usos.

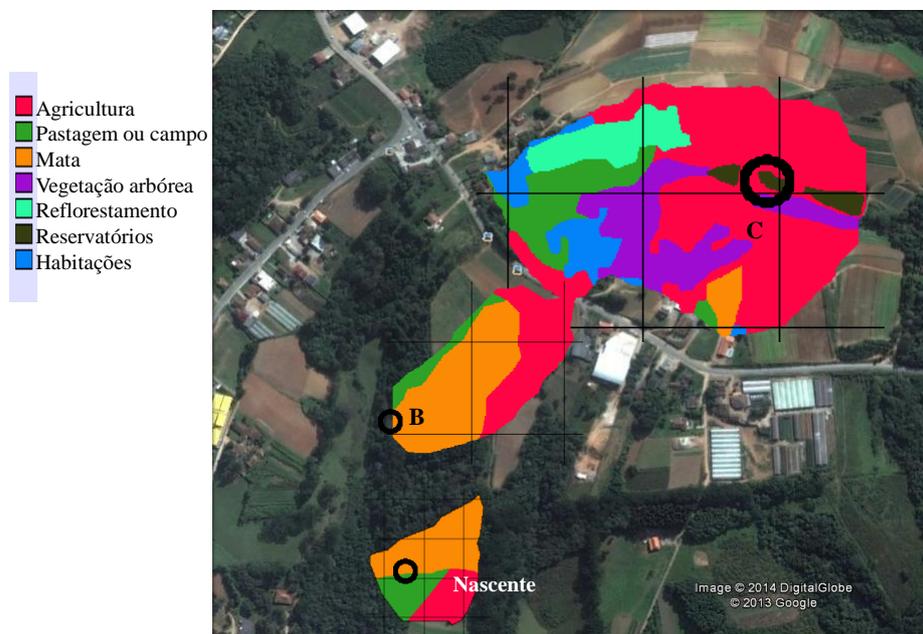


Figura 2.1 – Localização dos Reservatórios “B” e “C” e da nascente, nas sub-bacias estudadas em São José dos Pinhais, e respectivos usos do solo sobrepostos em imagem de satélite.

Tabela 2.1. Localização das áreas das sub-bacias em São José dos Pinhais, tipo de uso do solo e respectiva área ocupada.

Local	Coordenadas*	Área total (ha)	Uso do solo (ha)				
			Agricultura	Mata	Pastagem	Habitações	Outros
Nascente	0688511 E e 7167909 N	1,48	0,37	0,80	0,31	0,0	0,0
Reservatório “B”	0688472 E e 7168082 N	2,15	0,75	1,23	0,18	0,0	0,0
Reservatório “C”	0689027 E e 7168399 N	14,92	7,76	4,09	1,57	1,09	0,41

* E – Leste e N – Norte.

A mata ripária atua como filtro impedindo que os sedimentos transportados no escoamento superficial cheguem até os corpos d’água (Oliveira et al., 2008). Os processos erosivos, principalmente em áreas de intensa atividade agrícola e relevo que contribua para o escoamento superficial, são responsáveis pelo transporte de sedimentos e material de origem orgânica que irão contaminar a água (Torres et al., 2011). Nas sub-bacias estudadas, mais de 50% da área se encontra com declividades superiores a 13%.

2.3.2 Qualidade microbiológica e físico-química da água nos reservatórios e nascente

Verificou-se alta correlação ($R = 0,85$) na análise de regressão linear entre a precipitação acumulada de sete dias, antes da coleta, e o número mais provável por 100 mL de amostra ($NMP (100mL)^{-1}$) de coliformes totais (Figura 2.2). Provavelmente, devido ao reflexo dos processos erosivos que contribuem para a contaminação das águas, a precipitação ocorrida sete dias antes das coletas das amostras refletem melhor a situação da qualidade da água do que a vazão. Esta última pode permanecer alta mesmo na ausência de chuvas, devido à capacidade de armazenamento do solo, não tendo necessariamente relação com o escoamento superficial (Figuras 2.3 e 2.4)

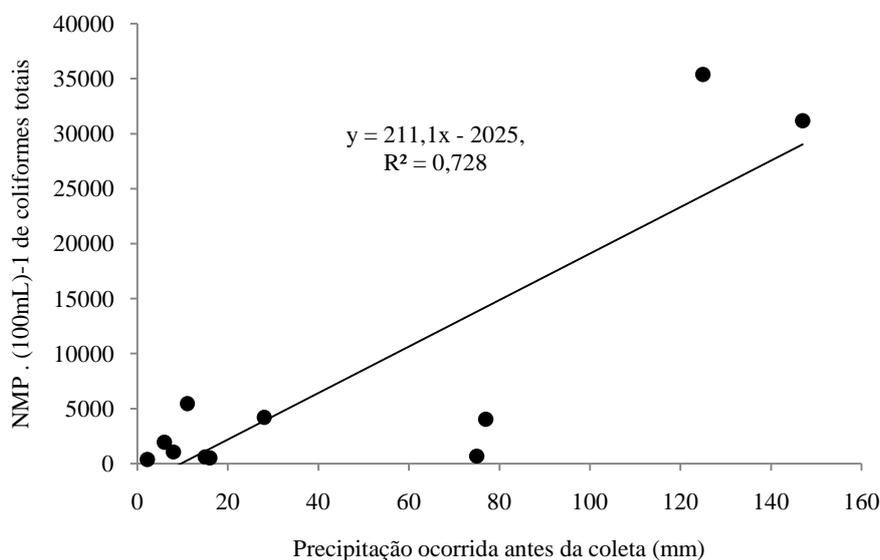


Figura 2.2 – Regressão linear e respectivo coeficiente de determinação, obtido entre a precipitação acumulada de sete dias (antes da coleta) *versus* $NMP (100mL)^{-1}$ de coliformes totais.

Observou-se, nos meses de maior vazão e precipitação ocorrida nos dias antecedentes à coleta, a ocorrência de aumentos no número de coliformes totais e termotolerantes. No Reservatório “C”, situado na sub-bacia com maior uso do solo com agricultura, o aumento no número de coliformes foi mais bem evidenciado do que nos Reservatório “B” e Nascente protegida (Figuras 2.3 e 2.4).

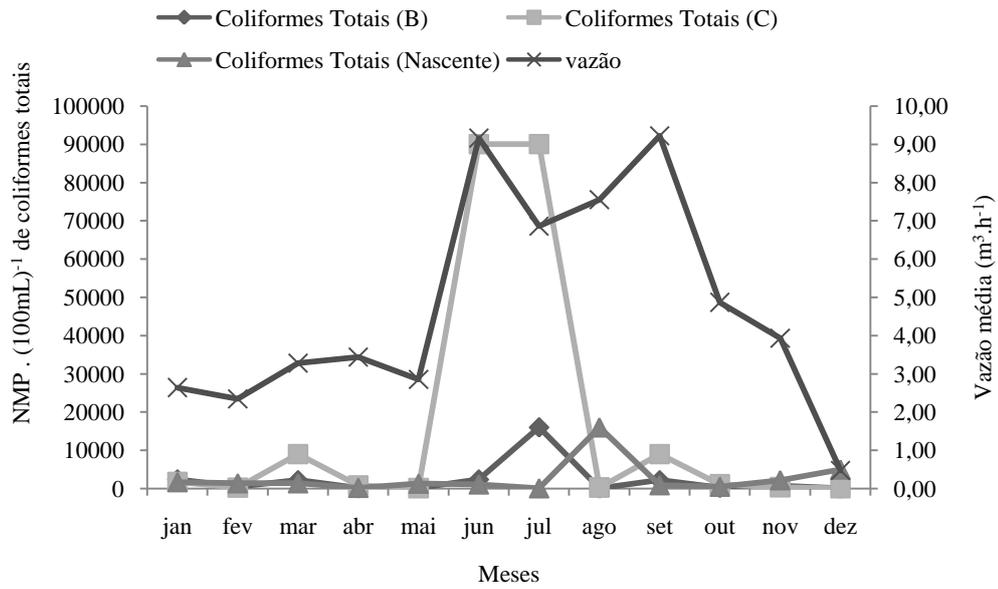


Figura 2.3 – Vazão média dos reservatórios e NMP $(100\text{mL})^{-1}$ de coliformes totais, nos Reservatórios “B” e “C” e Nascente, de janeiro à dezembro de 2013.

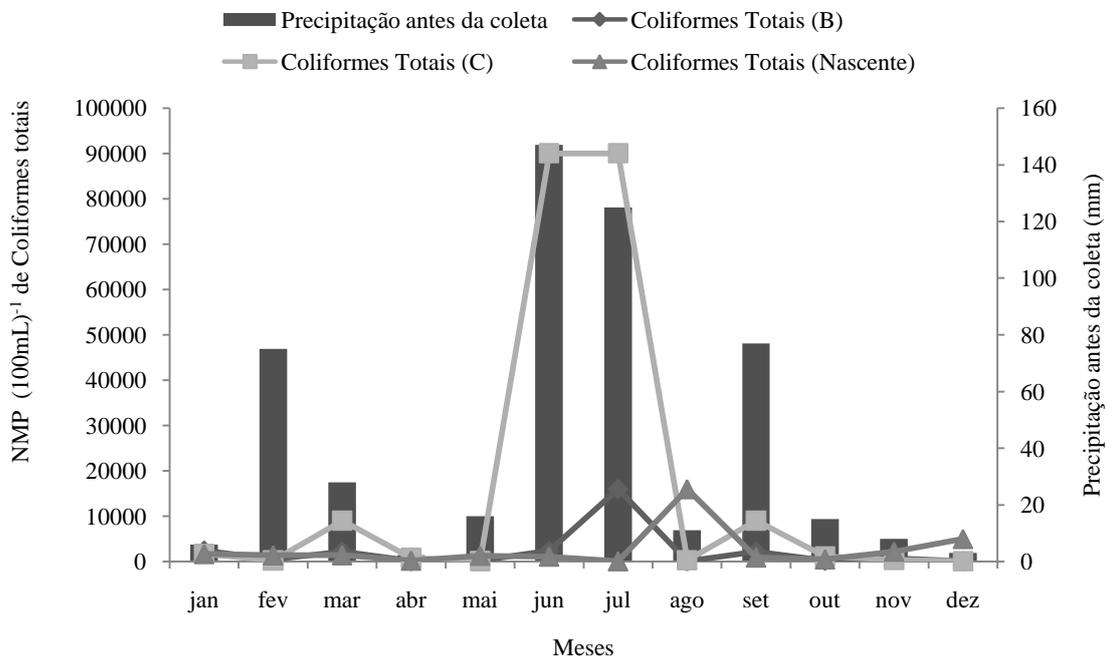


Figura 2.4 – NMP $(100\text{ mL})^{-1}$ de Coliformes totais e precipitação acumulada de sete dias, antes da coleta dos Reservatórios “B” e “C” e Nascente, medida no período de janeiro a dezembro de 2013.

Observou-se também, na matriz de correlação da análise de Componentes Principais, que a vazão, sólidos totais, turbidez e coliformes estão agrupados juntamente com as precipitações mensais e precipitações antes da coleta das amostras (Figura 2.5). As variáveis estão relacionadas da seguinte forma: a) A turbidez reflete a quantidade de material orgânico e inorgânico que está em suspensão na água e, de modo geral, apresenta correlação positiva com sólidos totais (Oliveira et al., 2008); b) As bactérias, de forma geral, quando invadem um novo ecotipo, através do *quorum sensing*, que é um mecanismo de comunicação entre elas, podem assumir as formas planctônica (livre) ou biofilme (colônias). A forma biofilme necessita de substrato para a sua formação (Pasternak, 2009), o qual pode ser qualquer uma das partículas em suspensão na água. Assim, quanto mais partículas em suspensão maior a turbidez, maiores sólidos totais e, conseqüentemente, maior número de bactérias na forma de biofilme; c) As variáveis relacionadas ao ciclo hidrológico (precipitação mensal, precipitação acumulada e vazão) se agrupam devido ao fato de que estão todas relacionadas à chuva; e, d) Com os processos erosivos, devido à ocorrência de chuvas intensas, acontece maior transporte de material suspenso para os corpos d'água, refletindo em maior turbidez, sólidos totais e coliformes totais e termotolerantes, explicando o agrupamento de todas estas variáveis.

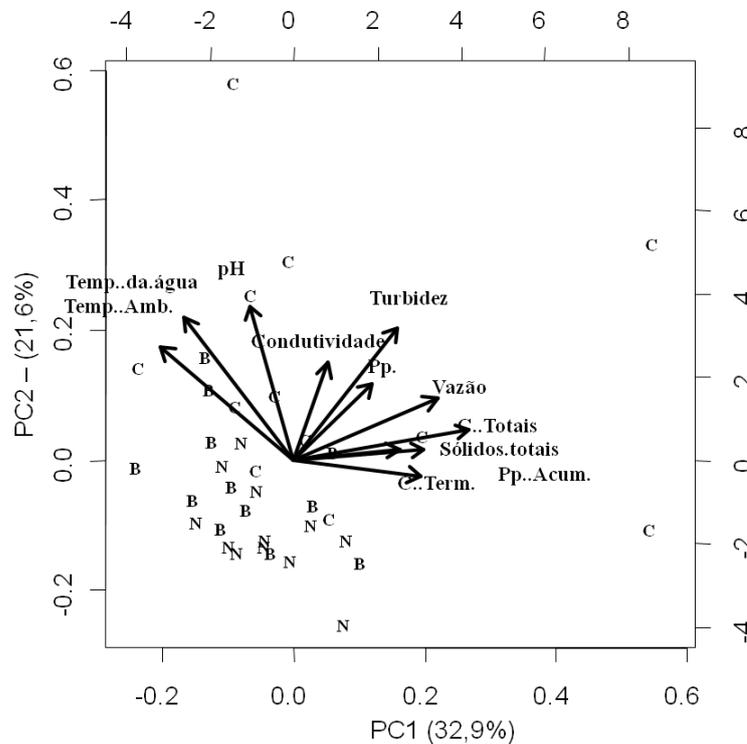
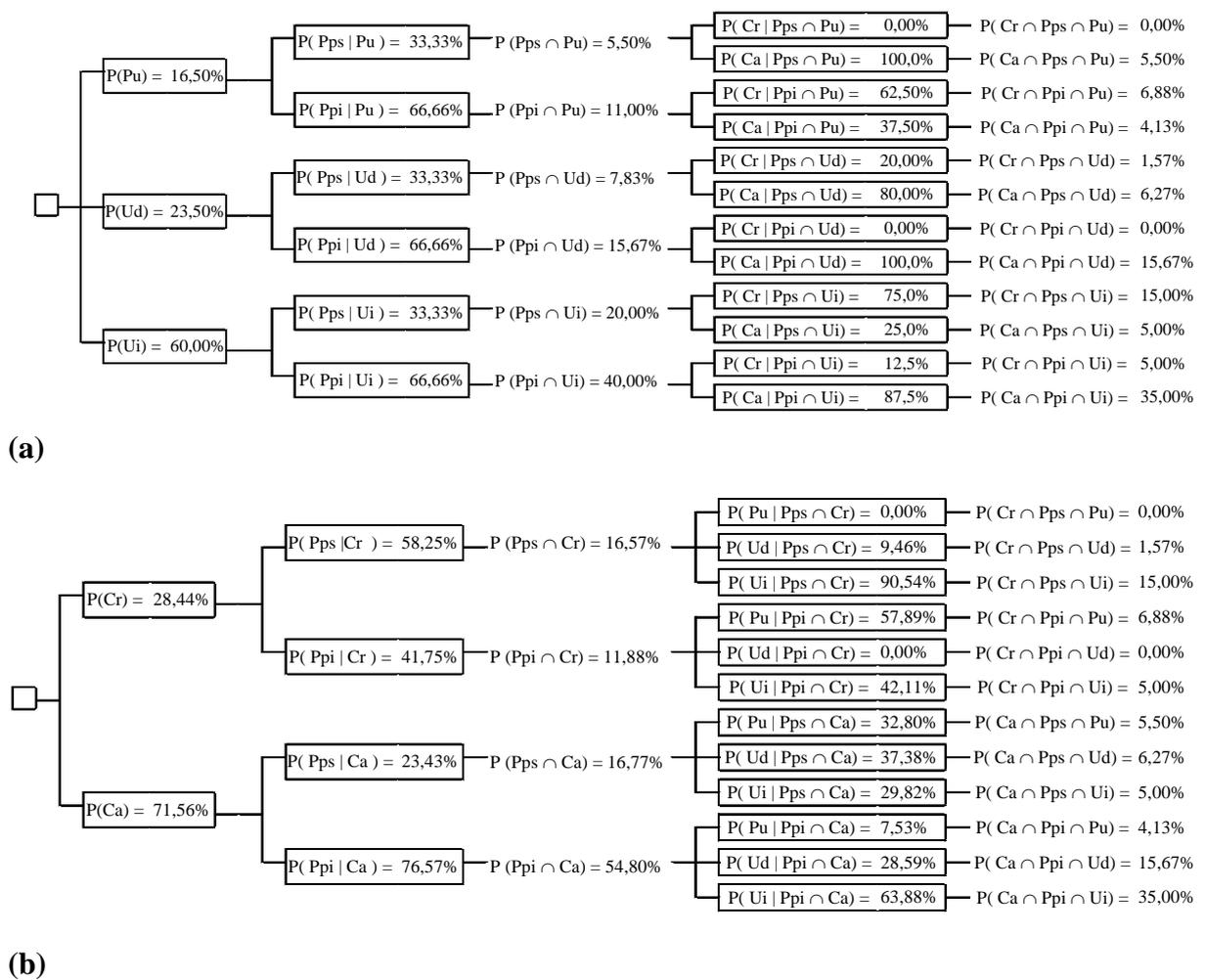


Figura 2.5 – Análise de Componentes Principais, pela matriz de correlação, para as médias das variáveis obtidas nos Reservatórios “B” e “C” e Nascente: temperatura da água e do ambiente ($^{\circ}\text{C}$); pH; condutividade ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$); turbidez (NTU); vazão ($\text{m}^3\cdot\text{h}^{-1}$); coliformes totais e termotolerantes (NMP. $(100\text{ mL})^{-1}$); sólidos totais ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$); e, precipitação total e acumulada (mm).

As temperaturas da água e do ambiente não se agruparam com os coliformes (Figura 2.5), concordando com trabalho de Higuti et al. (1998). Dessa forma, no decorrer do ano, mesmo nos meses do inverno, observaram-se altas concentrações de coliformes, não tendo relação com a sazonalidade. A temperatura influenciou significativamente o pH devido aos processos fotossintéticos, em que ocorre consumo de ácido carbônico (HCO_3^-), que é a forma dissolvida do CO_2 (Mercante et al., 2011). No entanto, o pH não alterou a qualidade microbiológica da água.

A $P(\text{Cr} | \text{Pps} \cap \text{Pu}) = 0$, $P(\text{Cr} | \text{Pps} \cap \text{Ud}) = 20,0\%$ e $P(\text{Cr} | \text{Pps} \cap \text{Ui}) = 75\%$, evidenciou que o maior uso do solo associada à Pps (precipitação ocorrida sete dias antes da coleta superior a média de 43 mm) realmente favorece a ocorrência de coliformes termotolerantes acima do permitido (Cr) pela resolução 357 de 2005 (CONAMA) (Figura 2.6a). A árvore de probabilidade do interessado (Figura 2.6b) evidenciou ainda mais a influência do uso intensivo do solo (Ui , Reservatório “C”), sendo a $P(\text{Ui} | \text{Pps} \cap \text{Cr}) = 90,54\%$ para os 16,57% das análises que tiveram $\text{Pps} \cap \text{Cr}$. O uso do solo fora da sua aptidão agrícola é um dos fatores decisivos no processo de contaminação das águas superficiais, influenciada principalmente pelos processos erosivos (Carvalho et al., 2000; Gonçalves et al., 2005; Zeilhofer et al., 2006). Por outro lado, é interessante observar que $P(\text{Cr} | \text{Ppi} \cap \text{Pu}) = 62,5\%$. Segundo a definição de coliformes termotolerantes, essas bactérias além de estarem presentes em fezes de animais homeotérmicos também podem estar presentes em solos, plantas ou outras matrizes ambientais que não estejam contaminadas por material fecal (CONAMA, 2005), explicando a contaminação das águas da Nascente. A maior população bacteriana neste ambiente se deve a grande quantidade de material orgânico depositado pela vegetação e sua decomposição, aumentando a atividade biológica e os níveis de nutrientes disponíveis. Como exemplo, tem-se o teor de fósforo solúvel reativo, que foi superior estatisticamente (5% de significância) aos demais locais (Tabela 2.2). Assim, na situação de ocorrência de Pps verificou-se que os Cr foram maiores para as áreas com maior uso do solo. Na ocorrência de Ppi (precipitação ocorrida sete dias antes da coleta inferior à 43 mm) \cap Cr, a situação não ficou bem definida devido ao pequeno número de eventos ocorridos no período, na área de uso mediano (Ud , Reservatório “B”) e intensivo (Ui , “C”) do solo, sendo $P(\text{Pu} | \text{Ppi} \cap \text{Cr}) = 57,89\%$, $P(\text{Ud} | \text{Ppi} \cap \text{Cr}) = 0,0$ e $P(\text{Ui} | \text{Ppi} \cap \text{Cr}) = 42,11\%$ (Figura 2.6b).



Legenda: Pu – Pouco uso do solo (Nascente); Ud – Uso mediano do solo (Reservatório “B”); Ui – Uso intensivo do solo (Reservatório “C”); Pps – Precipitação de sete dias antes da coleta superior à 43 mm; Ppi – Precipitação de sete dias antes da coleta inferior à 43 mm; Cr – Coliformes termotolerantes acima do permitido; Ca – Coliformes termotolerantes dentro do permitido.

Figura 2.6 – Árvore de probabilidades da natureza (a) e do interessado (b) para a contaminação microbiológica por coliformes termotolerantes, vazão e uso do solo.

Em relação ao enquadramento das águas, de acordo com a legislação, apenas o Reservatório “B” foi aprovado no parâmetro coliforme termotolerante. No item sólidos totais dissolvidos, cujo limite é $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$ (CONAMA, 2005), o valor médio das amostras para sólidos totais foi muito inferior (Tabela 2.2). Para o pH e turbidez os valores médios de cada um dos três locais ficou dentro do permitido (Tabelas 2.2 e 2.3).

Análises de *Escherichia coli* para os meses de setembro, outubro e novembro, com o método de Produção de Indol, indicaram que cerca de 9% dos coliformes termotolerantes encontrados na nascente foram de origem fecal, valor bem inferior ao encontrado nos reservatórios “B” e “C”, para os quais o percentual subiu para 52% e 26%, respectivamente. No Reservatório “C” a maior contaminação ficou relacionada à erosão, visto que as maiores

contaminações foram verificadas nos meses em que ocorreram maiores precipitações antes da coleta (Figuras 2.7 e 2.8), favorecendo para que o valor médio de coliformes termotolerantes nesse reservatório diferisse estatisticamente dos demais, ao nível de 5% de significância (Tabela 2.2).

Embora tenham sido encontrados coliformes termotolerantes em muitas amostras ao longo do ano de 2013, principalmente em períodos chuvosos quando ocorreram precipitações concentradas antes da coleta (Figura 2.8), pode-se considerar que os valores encontrados são relativamente baixos. Amostras de água coletadas no Rio Cangüiri, no período 1993-2003, apresentaram média de 170066 (NMP.100mL⁻¹) coliformes termotolerantes, e mínimo de 8000 (NMP.100mL⁻¹) (Xavier, 2005), valor acima do máximo de 7000 (NMP.100mL⁻¹) encontrado no presente trabalho (Tabela 2.2).

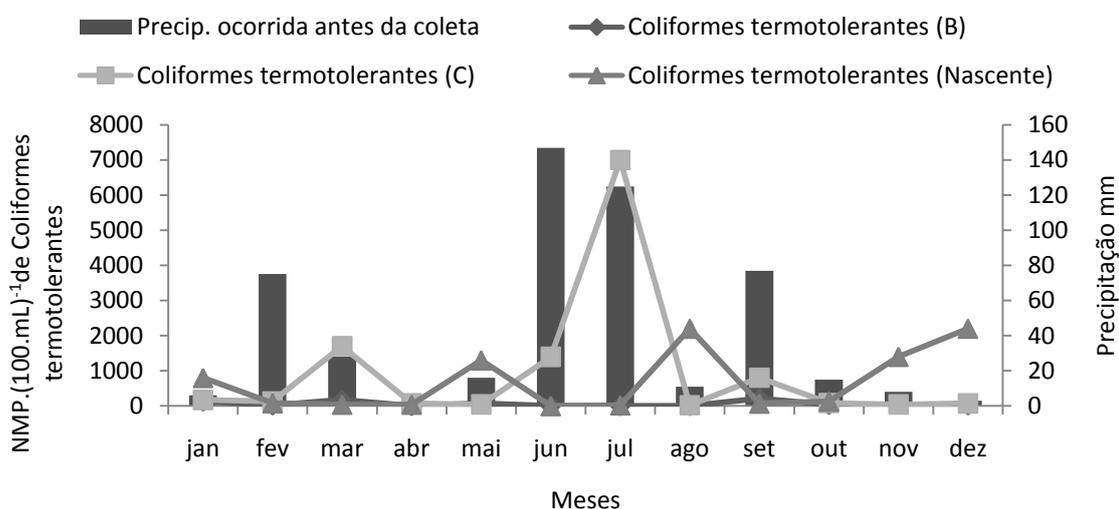


Figura 2.7 – NMP (100 mL)⁻¹ de coliformes termotolerantes e precipitação acumulada, antes da coleta dos Reservatórios “B” e “C” e Nascente, medida entre janeiro e dezembro de 2013.

Tabela 2.2. Medidas de tendência e dispersão das variáveis analisadas nos três locais de coleta no ano de 2013.

Local	Coliformes (NMP (100mL) ⁻¹)		pH	Condutividade ($\mu\text{S.cm}^{-1}$)	Turbidez (NTU)	Sólidos Totais (mg.L ⁻¹)	Fósforo solúvel reativo (mg.L ⁻¹)	Temperatura (°C)		Umidade relativa (%)	Precipitação (mm)		Vazão (m ³ h ⁻¹)
	Totais	Termotolerantes						Água	Ambiente		Mensal	Sete dias**	
----- Nascente -----													
Menor valor	90	0	6,5	8,4	0,8	6,98	0	11,6	4,3	64			0,84
Maior valor	16000	2200	6,95	46	13,5	175	0,0398	19,2	25	82			1,73
Média *	2650 a	690 a	6,75 a	37,3 b	3,92 b	76,66 a	0,0161 a	16,a	16,68 a	73,7 a	115,2	75,6	1,15
----- Reservatório "B" -----													
Menor valor	60	0	6,65	11	1,96	24,39	0	11,4	8,8	65			0,2
Maior valor	16000	210	7,11	52	11	125	0,0158	24,8	28,2	82			1,7
Média *	2254 a	58 b	6,9 a	42,9 b	5,3 b	71,48 a	0,0038 b	17,a	19 a	72,3 a	115,2	75,6	0,9
----- Reservatório "C" -----													
Menor valor	90	20	6,59	13,11	5,8	48,84	0	11,3	4,6	55			0
Maior valor	90000	7000	8,21	78	49,6	170,45	0,017	28,4	29,3	86			24,87
Média *	16898 a	960 a	7,1 a	59,1 a	14,7 a	103,04 a	0,0043 b	19,a	18,0 a	75,6 a	115,2	75,6	12,1
C.V.%	27,29	50,16	14,89	28,16	94,86	51,71	133,15	27,1	36,36	18,53			

(*) Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

(**) Precipitação acumulada de sete dias antes da coleta.

Tabela 2.3 – Enquadramento dos reservatórios “A” e “B” e da nascente, em relação à resolução 357 de 2005 (CONAMA).

Local	Parâmetros analisados			
	Coliformes termotolerantes (NMP (100mL) ⁻¹)	Sólidos totais dissolvidos (mg L ⁻¹)	Turbidez (NTU)	pH
Nascente	Reprovado	Aprovado	Aprovado	Aprovado
Reservatório “B”	Aprovado	Aprovado	Aprovado	Aprovado
Reservatório “C”	Reprovado	Aprovado	Aprovado	Aprovado

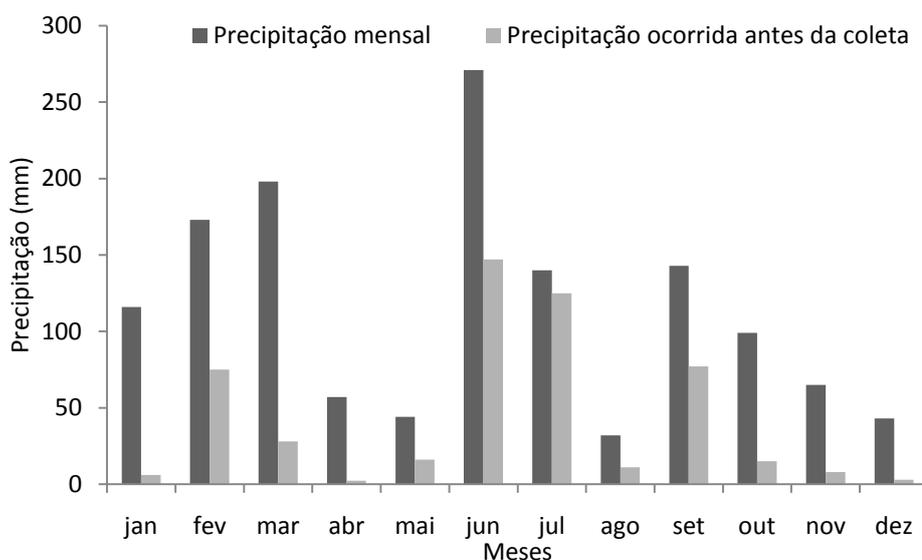


Figura 2.8 – Precipitação mensal e precipitação ocorrida uma semana antes da amostragem, entre janeiro e dezembro de 2013.

2.4 CONCLUSÕES

A contaminação microbiológica da água está relacionada ao maior uso do solo, principalmente em situações quando ocorrem chuvas mais concentradas no período que antecede a amostragem. As probabilidades de ultrapassar o limite permitido pela legislação são de 15% e 0,0 nas sub-bacias do Reservatório “C” e Nascente, respectivamente, em situações que ocorreram precipitações sete dias antes da amostragem, acima da média de 43 mm.

Dos três locais analisados, apenas um ficou de acordo com a resolução 357 de 2005 (CONAMA), no parâmetro coliformes termotolerantes. Nos parâmetros sólidos totais dissolvidos, pH e turbidez, a média para cada um dos três locais ficou dentro do permitido.

2.5 LITERATURA CITADA

APHA (American Public Health Association), *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 18 ed. Washington, D. C.: APHA/American Water Works Association/Water Pollution Control Federation, 1992. 937 p.

BONILHA, P.R.M; FALCÃO, D.P. Ocorrência de enteropatógenos em alfaces e suas águas de irrigação. *Alim. Nutr.*, v. 5, p. 87-97, 1994.

CARVALHO, A.R; SCHLITTLER, F.H.M; TORNISIELO, V.L. Relação da Atividade Agropecuária com parâmetros físicos químicos da água. *Quím. Nova* v. 23, n. 5, p. 618-622, 2000.

COMEC, Coordenação da Região Metropolitana de Curitiba. Municípios da Região Metropolitana de Curitiba. Disponível em: <http://www.comec.pr.gov.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=89>, acesso em 23/02/2014.

CONAMA, Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 357 de 17 de março de 2005. Estabelece a classificação das águas doces, salobras e salinas. Diário oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 17 de março, 2005.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Sistema brasileiro de classificação de solos. 2. ed. Brasília: Embrapa Produção de Informação; 2006. 306 p.

GONÇALVES, C.S; RHEINHEIMER, J.B.RP; KIST, S.L. Qualidade da água numa microbacia hidrográfica de cabeceira situada em região produtora de fumo. *Revevista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 9, n 3, p. 391-399, 2005.

HIGUTI, I.H; MACENA, I.R; MASUNARI, S; BRANCO FILHO, M. de O; BLASKOWISKI, M.M.M; NASCIMENTO, A.J. do. Occurrence of coliforms in water samples of the Perequê and Penedo rivers in Paraná, Brazil. *Braz. Arch. Biol. Technol.*, vol. 41, n. 4, p. 1-5, 1998.

IAPAR. Instituto Agrônômico do Paraná. Agrometeorologia. Disponível em: <http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=677>, acesso em 12/03/2014

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Manual Técnico de Pedologia. 2ª Ed. Rio de Janeiro: IBGE; 2007. 323 p.

MERCANTE, C.T.J; CARMO, C.F do; RODRIGUES, C.J; OSTI, J.A.S; MAINARDES PINTO, C.S; VAZ-DOS-SANTOS, A.M; TUCCI, A; DI GENARO, A.C. Limnologia de viveiros de criação de Tilápias do Nilo: Avaliação diurna visando boas práticas de manejo. Boletim Instituto da Pesca, v. 37, n. 1, p. 73-84, 2011.

OLIVEIRA, L.C. de; GOMES, B.M; BAUMGARTNER, G; SEBASTIEN, N.Y. Variação espacial e temporal dos fatores limnológicos em riachos da microbacia do Rio São Francisco Verdadeiro. Eng. Agríc, v. 28, n. 4, p. 770-781, 2008.

PASTERNAK, J. Biofilmes: um inimigo (in)visível. Rev. SBCC, Ed. 39, p. 36-38, 2009.

SANTOS, E.E.F; RIBEIRO, M.R. Influência da irrigação e do cultivo nas propriedades de um Latossolo e um Argissolo da Região do Submédio São Francisco: Atributos morfológicos e físicos. R. Bras. Ci. Solo, v. 24, p. 875-884, 2000.

SEAB, Secretaria da agricultura e do abastecimento do Paraná. Valor bruto da produção agropecuária. Disponível em: <http://www.agricultura.pr.gov.br/>, acesso em 23/02/2014.

SILVA, P.I.A.P; CARVALHO, J.S; MOURA-COSTA, L.F; DOMINGUEZ, G.F; águas de irrigação de hortas e de *Lactuca sativa* (alface) nas cidades de Catu e Alagoinhas – Bahia, Brasil. Revista de Ciências Médicas e Biológicas v. 9, n. 3, p. 194-199, 2010.

TORRES J.L.R; PEREIRA, M.G; OLIVEIRA, F.A. de; PAIVA, J. de; CORNÉLIO, E. de P; FERNANDES, F. S. Análise das características quantitativas e qualitativas da microbacia do córrego Barreiro, Afluente do Rio Uberaba. Rev. Árvore, v. 35, n. 4, p. 931-939, 2011.

XAVIER, C. da F. Avaliação da influência do uso e ocupação do solo e de características geomorfológicas sobre a qualidade das águas de dois reservatórios da Região Metropolitana de Curitiba – Paraná. [Dissertação]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, p. 167, 2005.

ZEILHOFER, P; RONDON LIMA, E.B.N; ROSA LIMA, G.A. Spatial patterns of water quality in the Cuiabá river basin, Central Brazil. Environment Monitoring and Assessment, v. 123, p. 41-62, 2006.

3. CONCLUSÃO GERAL

Devido à tendência das variáveis, principalmente nos meses em que ocorreram maiores precipitações antes da amostragem, as condições que permitem o melhor manejo e conservação da água em reservatórios de irrigação de hortaliças ocorrem em reservatórios que estão protegidos pela mata ciliar e possuem menor uso do solo em sua sub-bacia. Para a amostragem dos reservatórios deve-se sempre considerar o horário de coleta, devido à influência que a população bacteriana sofre dos fatores ambientais.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Sugere-se a realização de estudos que quantifiquem a variação diária da população bacteriana, para determinar e verificar de que forma os fatores ambientais interferem isoladamente na dinâmica dos microorganismos.

Quanto ao aprimoramento de estudos visando à comparação do uso do solo nas sub-bacias, sugere-se a amostragem apenas de reservatórios com diferentes níveis de uso, pois embora as nascentes apresentem excelente padrão de preservação, possuem também características que diferem muito dos reservatórios por ser um ambiente lótico.

Foram realizadas análises de bactérias fitopatogênicas do gênero *Pectobacterium* em todas as amostras de água do ano de 2013. Cerca de 20 isolados foram testados quanto à patogenicidade em pimentão (*Capsicum annuum*), não sendo verificada a presença de lesões resultantes da inoculação da bactéria.

ANEXO 1 – PERFIS DE SOLO DESCRITOS NO LOCAL DO ESTUDO

(a) DESCRIÇÃO DO PERFIL n° 1:

- **Data da abertura e descrição do perfil:** 22/08/2013
- **Classificação:** ARGISSOLO AMARELO Distrófico abrupto
- **Localização, coordenadas, município e estado:** Colônia Murici, município de São José dos Pinhais (PR), coordenadas UTM 688494 E e 7167913 S (fuso J22), clima Cfb.
- **Situação, declive, cobertura vegetal:** terço inferior da encosta, face sul, cobertura vegetal atual com reflorestamento (*Pinus sp.*).
- **Altitude:** 900 metros.
- **Litologia, unidade litoestratigráfica e cronologia:** Granitos alcalinos Formação Maciços graníticos da Serra do Mar (Período Proterozóico superior a Cambriano).
- **Material originário:** produto da intemperização dos granitos da Formação Maciços graníticos da Serra do Mar.
- **Pedregosidade:** não pedregoso.
- **Rochosidade:** não rochoso.
- **Relevo local:** suave ondulado.
- **Relevo regional:** suave ondulado e ondulado.
- **EROSÃO:** não aparente.
- **Drenagem:** moderadamente drenado.
- **Vegetação primária:** Floresta Ombrófila Mista.
- **Uso atual:** Reflorestamento (*Pinus sp.*).
- **Descrito e coletado por:** T. M. Jarek.
- **Descrição morfológica:**

A – 0-28 cm; bruno-amarelado escuro (10YR 4/6, úmido); textura média; moderada pequena a média blocos subangulares; poros abundantes e muito finos; muito friável, plástico e ligeiramente pegajoso; transição abrupta e plana.

AB – 28-43 cm; amarelo-brunado (10YR 6/8, úmido); textura média; moderada pequena a média blocos subangulares; poros abundantes e muito finos; muito friável, plástico e ligeiramente pegajoso; transição clara e plana.

B – 43-56 cm; amarelo-avermelhado (7,5YR 6/8, úmido); textura média; fraca pequena a média blocos subangulares; poros comuns e muito finos; muito friável, plástico e ligeiramente pegajoso; transição clara e plana.

C – 56-92 cm; amarelo-avermelhado (7,5YR 7/8, úmido); textura média; fraca média blocos subangulares; poucos poros e muito finos; muito friável, muito plástica e ligeiramente pegajoso; transição difusa e plana.

Raízes: Médias comuns e finas abundantes no horizonte A; finas comuns no horizonte AB; finas poucas no horizonte, B e C.

Tabela A1.1. Análise química dos horizontes do perfil N° 1

Horizonte	---- pH ----		Al ⁺³	H ⁺ +Al ⁺³	Ca ⁺²	Mg ⁺²	K ⁺	SB	T	P	C	V %	m %	Ca/Mg
	CaCl ₂	SMP	----- cmolc dm ⁻³ -----							mg dm ⁻³	g dm ⁻³			
A	4,02	6,00	1,30	5,00	0,2	0,40	0,03	0,63	5,63	30,5	7,8	11	23	0,5
AB	4,19	6,27	1,1	4,00	0,1	0,0	0,03	0,13	4,13	6,8	6,0	3	27	---
B	4,08	6,02	1,7	5,00	0,1	0,0	0,04	0,14	5,14	3,7	4,2	3	33	---
C	4,02	5,83	2,0	5,80	0,1	0,10	0,03	0,23	6,03	2,9	4,2	4	33	1

Tabela A1.2. Análise granulométrica dos horizontes do perfil N° 1

Horizontes	Areia	Silte	Argila	Atividade da Argila	Silte / Argila
	----- g kg ⁻¹ -----			cmolc kg ⁻¹	(adimensional)
A	638	200	163,0	34,53	1,227
AB	675	213	113,0	36,00	1,885
B	563	200	238,0	21,6	0,84
C	550	188	263,0	23	0,715

A Figura A1.1 contem os horizontes característicos do Perfil n° 1.



Figura A1.1 – ARGISSOLO AMARELO Distrófico abruptico.

– **Atributos diagnósticos:** material mineral, Ta, distrófico, Mudança textural abrupta (AB para B), caráter argilúvico.

– **Horizontes diagnósticos:**

- Horizonte diagnóstico superficial: A moderado.

- Horizonte diagnóstico subsuperficial: B textural,

(b) DESCRIÇÃO DO PERFIL n° 2:

– **Data da abertura e descrição do perfil:** 22/08/2013

– **Classificação:** ARGISSOLO AMARELO Distrófico abruptico

– **Localização, coordenadas, município e estado:** Colônia Murici, município de São José dos Pinhais (PR), coordenadas 25° 35' 25.39'' S e 49° 07' 13.41'' O, clima Cfb.

- **Situação, declive, cobertura vegetal:** topo da encosta, cobertura vegetal com culturas anuais.
- **Altitude:** 933 metros.
- **Litologia, unidade litoestratigráfica e cronologia:** Diques de Diabásio e Dioritos da Formação Serra Geral (Período Jurássico-Cretáceo).
- **Material originário:** produto da intemperização do Diabásio e Dioritos da Formação Serra Geral.
- **Pedregosidade:** não pedregoso.
- **Rochosidade:** não rochoso.
- **Relevo local:** plano.
- **Relevo regional:** suave ondulado e ondulado.
- **Erosão:** ligeira a moderada.
- **Drenagem:** acentuadamente drenado.
- **Vegetação primária:** Floresta Ombrófila Mista.
- **Uso atual:** Agricultura
- **Descrito e coletado por:** T. M. Jarek.

– **Descrição morfológica:**

A – 0-31 cm; bruno-avermelhado (5YR 4/3, úmido); textura média; moderada média a grande blocos subangulares; poros abundantes muito finos e finos; firme, muito plástico e pegajoso; transição gradual e plana.

AB – 31-81 cm; bruno-forte (7,5YR 4/6, úmido); textura média; moderadamente forte média à grande blocos subangulares e angulares; poros abundantes muito finos e finos; firme, muito plástico e muito pegajoso; transição gradual e plana.

B1 – 81-145 cm; bruno-forte (7,5YR 5/6, úmido); textura argilosa; moderadamente forte média à grande blocos subangulares e angulares; poros abundantes e muito finos; firme, muito plástico e muito pegajoso; transição clara e plana.

B2 – 145-186 cm; bruno-forte (7,5YR 5/8, úmido); textura argilosa; moderadamente forte média à grande blocos subangulares e angulares; poros comuns muito finos e finos; firme, muito plástico e muito pegajoso; transição clara e plana.

BC – 186-210+ cm; vermelho-amarelado (5YR 5/8, úmido); textura argilosa; moderadamente forte média à grande blocos subangulares e angulares; poros comuns muito finos e finos; friável, muito plástica e pegajoso.

Raízes: Muito finas e finas abundantes no horizonte A; AB e B1; finas comuns nos horizontes B2 e BC.

Tabela A1.3. Análise química dos horizontes do perfil N° 2

Horizonte	----- pH -----		Al ⁺³	H ⁺ +Al ⁺³	Ca ⁺²	Mg ⁺²	K ⁺	SB	T	P	C	V	m	Ca/Mg
	CaCl ₂	SMP	----- cmolc dm ⁻³ -----							mg dm ⁻³	g dm ⁻³	%	%	
A	4,85	6,17	0,1	4,3	3,6	0,10	0,19	3,89	8,19	86,60	21,2	47	1	36
AB	4,91	6,23	0,1	4,3	3,9	1,8	0,27	5,97	10,27	54,7	19,2	58	1	2,2
B1	4,11	5,79	1,3	5,8	0,6	2,0	0,16	2,76	8,56	4,4	9,6	32	15	0,3
B2	4,23	6,05	0,8	5,0	0,3	0,40	0,30	1	6,00	5,8	5,1	17	13	0,8
BC	4,10	5,77	2,0	5,8	0,3	0,2	0,38	0,88	6,88	15,6	3,3	13	29	1,5

Tabela A1.4. Análise granulométrica dos horizontes do perfil N° 2

Horizontes	Areia	Silte	Argila	Atividade da Argila	Silte / Argila
	----- g kg ⁻¹ -----			cmolc kg ⁻¹	(adimensional)
A	438	250	313	26,17	0,80
AB	463	238	300	34,23	0,79
B1	288	138	575	14,89	0,24
B2	263	163	575	10,43	0,28
BC	300	263	438	15,71	0,60

– **Atributos diagnósticos:** material mineral, Tb, distrófico, Mudança textural abrupta (AB para B1), carácter argilúvico, carácter crômico, relação silte/argila de 0,24 e 0,28 nos horizontes B1 e B2 respectivamente.

– **Horizontes diagnósticos:**

- **Horizonte diagnóstico superficial:** A húmico.

- **Horizonte diagnóstico subsuperficial:** B textural.

A Figura A1.2 contem os horizontes característicos do Perfil n° 2.

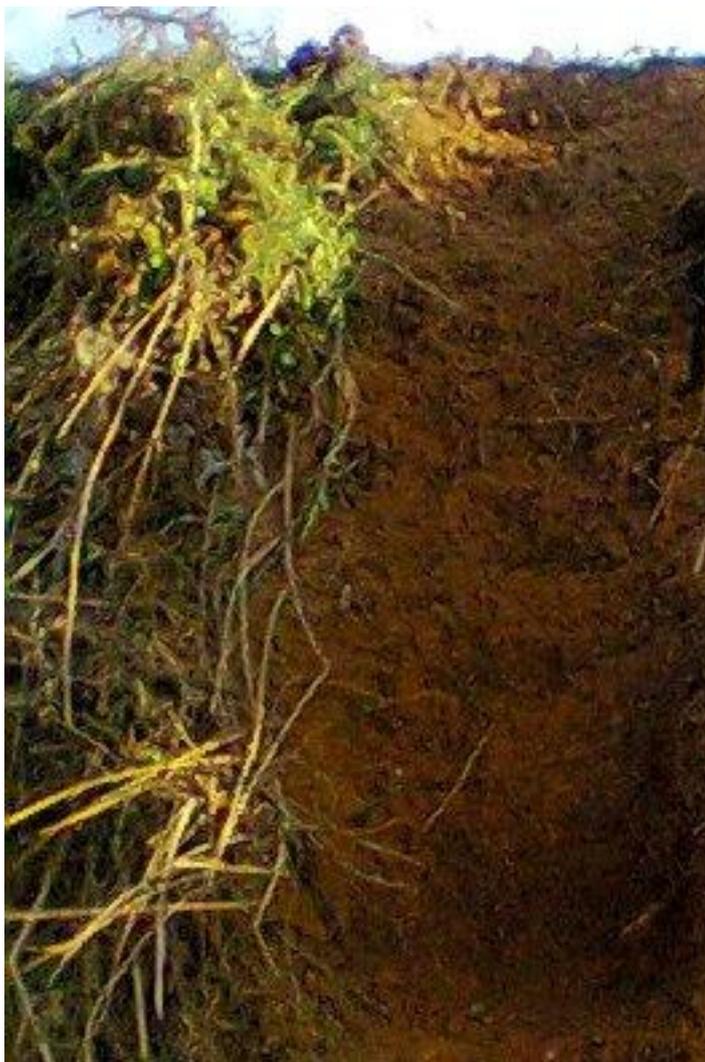


Figura A1.2 – ARGISSOLO AMARELO Distrófico abruptico.