

UNIVERSIDADE DO VALE DO RIO DOS SINOS - UNISINOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA:  
Diversidade e Manejo de Vida Silvestre

MESTRADO

**ECOLOGIA BACTERIANA EM ÁREAS INUNDADAS DE ARROZAIIS DO RIO  
GRANDE DO SUL**

Caroline Frizzo

São Leopoldo, maio de 2007.

UNIVERSIDADE DO VALE DO RIO DOS SINOS - UNISINOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA:  
Diversidade e Manejo de Vida Silvestre

MESTRADO

**ECOLOGIA BACTERIANA EM ÁREAS INUNDADAS DE ARROZAIIS DO RIO  
GRANDE DO SUL**

Caroline Frizzo

Lidia Mariana Fiuza - Orientadora

Apoio Financeiro: CNPq/CT-Hidro

São Leopoldo, maio de 2007.



## ÍNDICE

|  |       |
|--|-------|
| <b>Dedicatória</b> .....   | 5     |
| <b>Agradecimentos</b> .....  | 6     |
| <b>Resumo</b> .....  | 7     |
| <b>Abstract</b> .....  | 8     |
| <b>Introdução</b> .....  | 9-10  |
| <b>Capítulo 1</b>  |       |
| <b>Artigo: Análise de coliformes totais e fecais em águas utilizadas no sistema de produção orizícola do Rio Grande do Sul</b> ..... | 11    |
| Resumo.....  | 12    |
| Introdução.....  | 13-14 |
| Material e Métodos.....  | 15-16 |
| Amostras de Água.....  | 15    |
| Análise Microbiológica de Qualidade de Água.....   | 15-16 |
| Análise Estatística.....   | 16    |
| Resultados e Discussão.....  | 16-21 |
| Agradecimentos.....  | 21    |
| Referências Bibliográficas.....  | 21-23 |
| <b>Capítulo 2</b>  |       |
| <b>Artigo: Diversidade de bacilos em áreas inundadas de arroz irrigado, em cinco regiões produtoras do Rio Grande do Sul</b> .....   | 24    |
| Resumo.....  | 25    |
| Introdução.....  | 26-27 |
| Material e Métodos.....  | 27-28 |
| Áreas Orizícolas.....  | 27    |
| Coleta de Amostras de Água.....  | 27-28 |
| Isolamento e Multiplicação de Bactérias.....   | 28    |
| Caracterização Bacteriana.....   | 28    |
| Análise Estatística.....   | 29    |
| Resultados e Discussão.....  | 29-35 |
| Frequência de Bactérias em Amostras de Água de Irrigação do Arroz.....   | 29-30 |
| Frequência de Bacilos.....   | 30-31 |
| Diversidade de Bacilos.....  | 31-35 |
| Agradecimentos.....  | 35    |
| Referências Bibliográficas.....  | 36-37 |
| <b>Considerações</b> .....   | 38    |
| <b>Referências Bibliográficas</b> .....  | 39    |

## **DEDICATÓRIA**

*Aos meus pais Julio e Neila e ao meu irmão Daniel, sempre muito presentes, pelo apoio constante e pelas palavras de alegria e força em momentos difíceis.*

*Ao André, meu noivo, pela paciência, compreensão e estímulo nos momentos em que mais precisei para seguir em frente.*

## **AGRADECIMENTOS**

*A DEUS, por manter ao meu lado, meu anjo da guarda com proteção, luz, esperança, persistência, dedicação e saúde para realização deste trabalho.*

*As minhas estagiárias Gabriela, Cátia, Gisele e Marciele que sempre estiveram presentes.*

*A minha orientadora Lidia, pelo aprendizado, incentivo e realização de ótimos trabalhos.*

*Aos meus amigos e amigas que sempre me apoiaram com otimismo.*

*A toda equipe do Laboratório de Microbiologia, em especial a Ana.*

*A Raquel, uma pessoa especial, que compartilhou comigo todos os momentos desta etapa.*

*Aos pesquisadores do Irga, Valmir, Jaime, Carlos e Jose Luiz, pela atenção e realização de coletas e informações.*

*As colegas Aline, Maria Helena e Vanessa, com quem pude compartilhar e trocar conhecimentos.*

*A Coordenação do curso e Secretaria, pela atenção.*

*Ao CNPq/CT-Hidro, pelo apoio financeiro, através de uma bolsa de mestrado concedida ao Programa de Pós-Graduação em Biologia-Unisinos, para realização desta pesquisa.*

## RESUMO

O presente estudo, inserido na Linha de Pesquisa Conservação e Manejo de Ecossistemas e de Vida Silvestre, teve como objetivo avaliar a qualidade da água de irrigação e a diversidade de bacilos em diferentes áreas inundadas de arrozais do Rio Grande do Sul (RS). As amostras de água foram coletadas em cinco regiões produtoras de arroz: Campanha, Litoral Norte, Litoral Sul, Depressão Central e Fronteira Oeste, correspondendo aos municípios: Dom Pedrito, Santo Antônio da Patrulha, Camaquã, Cachoeira do Sul e Uruguaiana, respectivamente. Os ensaios das análises microbiológicas da qualidade da água, isolamento, multiplicação e caracterização das amostras de água foram realizados no Laboratório de Microbiologia da Unisinos. Os resultados obtidos, quanto à análise da qualidade microbiológica da água, revelam que os índices de coliformes totais registrados nas cinco regiões foram mais elevados que os índices de coliformes fecais, os quais, quando presentes nas amostras, foram encontrados em baixas frequências. Na análise quantitativa dos bacilos foi verificada maior frequência de bactérias na fase vegetativa, cujo valor reduziu na fase reprodutiva da cultura do arroz irrigado, sendo identificadas nas referidas amostras 18 espécies de bacilos. O resultado da análise, que compara os índices de diversidade, indica que não há diferença significativa entre os índices das cinco regiões orizícolas ( $F_{2,4}=1,600$ ;  $P>0,05$ ) e entre os canais de irrigação e parcelas de cultivo ( $F_{2,4}=1,392$ ;  $P>0,05$ ). Os gêneros bacterianos mais abundantes registrados nas amostras de água foram *Bacillus*, *Corynebacterium* e *Lactobacillus*. Os dados microbiológicos obtidos na presente pesquisa servirão de subsídio ao conhecimento da microbiota das águas superficiais nas regiões orizícolas do RS e ao manejo do agroecossistema de arroz irrigado.

**Palavras-chave:** Arroz irrigado, diversidade, bactérias, água, coliformes.

## ABSTRACT

This study, within the Research Line Preservation and Management of Ecosystems and Wildlife, aims at the assessment of the quality of the irrigation water, and the bacilli diversity in various flooded areas in rice growing fields in Rio Grande do Sul. (RS). Water samples were collected in five rice-producing areas: Campaign, Northern Littoral, Southern Littoral, Central Depression and Western Border, corresponding to the Dom Pedrito, Santo Antônio da Patrulha, Camaquã, Cachoeira do Sul and Uruguaiana counties, respectively. Trials of microbiological analysis of the water quality, isolation, multiplication and characterization of the water samples were carried out at the Microbiology Laboratory of UNISINOS. The obtained results for the analysis of the water microbiological quality show that the indexes of total coliforms recorded in the five regions were higher than the ones of fecal coliforms which, when present in the samples were found in low frequencies. The bacilli quantitative analysis showed a higher frequency of bacteria in the vegetative phase, of which the value was decreased in the reproduction phase of the paddy rice culture, with the identification of 18 bacilli species in the previously mentioned samples. The analysis result which compares the diversity indexes point to the lack of a significant difference among the indexes for the five rice growing areas ( $F_{2,4}=1,600$ ;  $P>0,05$ ), and between the irrigation channels and the cultivation plots ( $F_{2,4}=1,392$ ;  $P>0,05$ ). The most abundant bacterial genera in the water samples were *Bacillus*, *Corynebacterium*, and *Lactobacillus*. Microbiological data from this research will subsidize the knowledge of the microbiota of the shallow waters in the rice growing areas of RS and the management of the paddy rice agroecosystem, as well.

**Key words: Paddy rice, diversity, bacteria, water, coliforms.**

## INTRODUÇÃO

Os microrganismos podem ser encontrados em diferentes habitats destacando-se o solo, o ar e a água. Estes são importantes na estrutura e funcionamento de ecossistemas aquáticos, sendo pouco conhecida a diversidade existente (GASOL & DUATRE, 2000). Diversas espécies microbianas realizam alterações bioquímicas, reciclando elementos e nutrientes na água, da mesma maneira descrita para o solo (PELCZAR et al., 1996).

Os tipos de microrganismos encontrados em ambientes aquáticos são determinados pelas condições físico-químicas que prevalecem nestes ambientes.

A população microbiana pode apresentar variações conforme o sistema aquático. Os lagos e pântanos apresentam zonas ou camadas características, sendo as zonas limnética e litorânea, consideradas como as mais variadas em relação ao sistema microbiota (PELCZAR et al., 1996). De acordo com esses autores, em um sistema aquático, considerando o número e o tipo de microrganismos, a zona bêntica se destaca como a mais rica. Na superfície da água, a biomassa procariótica dominante é composta por bactérias autotróficas e heterotróficas (KIRCHMAN, 2002).

Considerando os nutrientes disponíveis nos córregos e rios, observa-se que a maioria tem como origem o sistema terrestre circundante. O lançamento de efluentes que não passam por saneamento básico resulta em mananciais contaminados, sofrendo alterações que resultam em degradações aceleradas destes ambientes (RECHE, 2003).

No entanto, estas degradações estão relacionadas principalmente com a influência urbana, industrial, portuária, pecuarista e agrícola (CUNHA et al., 2004), onde destaca-se o arroz (*Oryza sativa* L.) irrigado. Essa cultura, adaptada ao ambiente aquático, é cultivada na região subtropical do Brasil (Rio Grande do Sul e Santa Catarina), no sistema de cultivo em várzea, predominando o uso de irrigação controlada, onde a cultura tem sido manejada com alto nível tecnológico e de rendimento (IRGA, 2005).

No Rio Grande do Sul (RS), a orizicultura representa cerca de 55% da produção nacional (IRGA, 2006), sendo cultivada nas regiões da Campanha, Fronteira Oeste, Depressão Central e Litoral Norte e Litoral Sul. Essas regiões apresentam diferenças, que são importantes para serem levadas em consideração, as quais influenciam nos tratamentos culturais (IRGA, 2006). A orizicultura destaca-se no estado pela sua importância econômica e social. Atualmente, o maior custo da cultura do arroz irrigado é o uso da água, que requer cuidados relacionados ao manejo, visando aumento de produção e de qualidade do produto, com redução do impacto ambiental.

A água necessária à cultura do arroz irrigado deve ser captada das fontes de suprimento (rios, lagoas, barragens e açudes) e conduzida até as fontes consumidoras que são as áreas de cultivo (GOMES et al., 1999). Estes procedimentos assumem um papel importante, tanto para a garantia da produtividade, por meio de um correto manejo da água, quanto para a composição dos custos de produção.

De acordo com GOMES et al. (1999), o manejo da água na cultura do arroz irrigado compreende um conjunto de procedimentos, tanto do ponto de vista econômico, quanto para o crescimento e desenvolvimento das plantas. A captação e distribuição, a necessidade da água para irrigação, o período de submersão do solo, a altura da lâmina de água e a drenagem do solo, são aspectos importantes a serem considerados (GOMES & PAULETTO, 1999).

A cultura do arroz destaca-se como sendo uma das mais exigentes em termos de recursos hídricos. Considerando a importância desse cereal, torna-se importante estudar a qualidade da água utilizada para a irrigação da cultura, bem como a qualidade da água devolvida aos mananciais hídricos após sua utilização (KLOSTERMANN, 2001).

A análise da água, no cultivo do arroz irrigado, deve considerar alguns indicadores de sua qualidade, como a presença de coliformes, entre outros fatores, que determinam seu grau de contaminação e a possibilidade de ser utilizada para abastecimento público. Atualmente, os microrganismos vêm sendo utilizados como bioindicadores para monitorar a recuperação de habitats (HAINES et al., 2002).

O objetivo da presente pesquisa foi determinar a riqueza e abundância de bacilos presentes em amostras de água, coletadas em cinco regiões orizícolas do Rio Grande do Sul, além de avaliar a qualidade microbiológica da água no canal de irrigação e nas parcelas de cultivo do arroz nas fases vegetativa e reprodutiva da cultura. Os resultados obtidos serão apresentados na forma de artigos científicos, sendo esses:

**Capítulo 1:** Artigo de pesquisa: Análise de coliformes totais e fecais em águas utilizadas no sistema de produção orizícola do Rio Grande do Sul.

**Capítulo 2:** Artigo de pesquisa: Diversidade de bacilos em áreas inundadas de arroz irrigado, em cinco regiões produtoras do Rio Grande do Sul.

## **Capítulo 1**

### **ANÁLISE DE COLIFORMES TOTAIS E FECAIS EM ÁGUAS UTILIZADAS NO SISTEMA DE PRODUÇÃO ORIZÍCOLA DO RIO GRANDE DO SUL**

# ANÁLISE DE COLIFORMES TOTAIS E FECAIS EM ÁGUAS UTILIZADAS NO SISTEMA DE PRODUÇÃO ORIZÍCOLA DO RIO GRANDE DO SUL

Caroline Frizzo; Lidia M. Fiuza\*

Laboratório de Microbiologia, Universidade do Vale do Rio dos Sinos, São Leopoldo, RS, Brasil

---

## Resumo

Os coliformes totais e fecais são bioindicadores de impacto ambiental causado por ação antrópica, sendo considerados indicadores de qualidade microbiológica da água. Na cultura do arroz irrigado, onde é necessário o uso da água, devem-se ter cuidados relacionados ao manejo, visando aumento de produção e qualidade do produto, com redução do impacto ambiental. O objetivo da pesquisa foi avaliar a qualidade microbiológica da água de irrigação, em cinco regiões orizícolas do Rio Grande do Sul, nas fases vegetativa e reprodutiva. As amostras de água foram submetidas à análise da qualidade microbiológica, sendo adotado o método de indicadores de poluição que estabelece simultaneamente a concentração de coliformes fecais e totais, através da análise bioquímica pelo método *Colilert*<sup>®</sup> (IDEXX). Os resultados mostram que os índices de coliformes totais e fecais nas parcelas de arroz, de todas as regiões produtoras do Rio Grande do Sul avaliadas no presente estudo, foram inferiores na fase reprodutiva da cultura quando comparados a sua fase vegetativa. O canal de irrigação apresentou baixos índices de coliformes fecais, no entanto, a presença de coliformes totais mostrou-se mais elevada. Os dados apresentados demonstram que a orizicultura pode alterar a qualidade microbiológica da água presente nas parcelas, devido ao seu potencial de ciclagem de nutrientes, fazendo com que a água de drenagem apresente menor quantidade de agentes microbianos contaminantes.

**Palavras-chave:** Água, arroz irrigado, coliformes totais e fecais.

---

\*Corresponding Author. Mailing address: Laboratório de Microbiologia, Universidade do Vale do Rio dos Sinos, Av. Unisinos, 950. 93001-970, São Leopoldo, RS, Brasil. Fax: (+5551) 3591-1100, E-mail: carolinefrizzo@bol.com.br, fiuza@unisinos.br.

## Introdução

Os coliformes totais e fecais são bioindicadores de impacto ambiental causado por ação antrópica. Essas bactérias são consideradas indicadoras de qualidade microbiológica de água e alimentos, sendo a *Escherichia coli* usada como indicadora da contaminação fecal, encontrada, principalmente, no intestino de seres humanos e animais de sangue quente (23). Essa espécie bacteriana tem grande relevância na microbiologia médica devido às doenças diarréicas de veiculação hídrica que podem ser causadas pelas condições de saneamento básico inadequadas e pela baixa qualidade da água para consumo. Estas doenças têm sido responsáveis por vários surtos epidêmicos e por elevadas taxas de mortalidade infantil relacionadas à água de consumo humano (7). Estima-se que morrem mais de cinco milhões de pessoas anualmente de doenças provenientes de microrganismos patógenos presentes na água (12).

*E. coli* é a espécie mais freqüente entre coliformes fecais obtidos de amostras de água. Embora muitas cepas de *E. coli* não sejam patogênicas, outras, como por exemplo, *E. coli* O157:H7, atribui sérios riscos à saúde humana, a qual foi identificada em 1982 como o primeiro patógeno enterohemorrágico humano (19) e tem sido encontrada assintomaticamente em mamíferos, aves domésticas e silvestres (25).

A presença de microrganismos patógenos na água para consumo, irrigação e recreação é considerada uma das fontes que atribui riscos à saúde humana. O conjunto de animais domésticos de uma área agrícola refere-se muitas vezes a uma das maiores fontes de microrganismos patógenos na superfície e no solo de sistemas aquáticos (16). Para estimar a persistência e o destino de enterobactérias no ambiente é necessário a utilização de organismos indicadores de origem entérica, sendo este, um procedimento que apresenta gastos e algumas dificuldades (4).

A identificação das fontes de contaminação fecal é de alta importância para se compreender melhor o potencial de risco à saúde e para se atenuar a fonte de poluição (24). Esgotos têm sido considerados uma das maiores fontes de microrganismos patogênicos encontrados em ecossistemas aquáticos, onde ocorrem com elevada freqüência as bactérias: *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Legionella* sp., *Vibrio* sp., *Aeromonas hydrophila*. Por esta razão, fontes de água que ultrapassam os limites estabelecidos de contaminação devem ser devidamente tratadas, antes de seu lançamento em corpos hídricos receptores, a fim de reduzir a disseminação de agentes causais de doenças veiculadas às águas contaminadas, evitando a poluição de recursos hídricos superficiais e subterrâneos, diminuindo assim a demanda bioquímica de oxigênio (DBO) (26).

Os recursos hídricos, superficiais e subterrâneos, estão sofrendo as conseqüências relacionadas às diversas atividades desenvolvidas de forma intensiva nas bacias hidrográficas, sendo assim alteradas a quantidade e qualidade da água (31). Devido à dificuldade de obtenção de recursos hídricos de boa qualidade, ocasionados pelo aumento da produção de despejos domésticos e industriais, vêm sendo utilizadas para irrigação, águas que apresentam qualidade comprometida pela poluição. Os limites de contaminação estabelecidos sugerem a avaliação da qualidade da água antes de ser utilizada para irrigação (2), sendo que determinadas cepas virulentas, onde se destacam as espécies *E. coli* e *Cryptosporidium parvum*, estão associados à perda de produtos agrícolas, impossibilitados de comercialização para consumo, *in natura* (20).

O arroz é cultivado majoritariamente no Brasil em ecossistemas de várzeas, sendo uma gramínea anual classificada no grupo de plantas C-3 e adaptada ao ambiente aquático. Nesse sistema de cultivo, predomina o uso de irrigação controlada, ocupando cerca de um milhão de hectares na região subtropical (Rio Grande do Sul e Santa Catarina), onde a cultura tem sido manejada com alto nível tecnológico e de rendimento (15).

Devido à necessidade da utilização de recursos hídricos para o desenvolvimento desta cultura, as fontes de água de irrigação devem ser captadas de rios, barragens, lagoas ou açudes (11). Para garantir a produtividade, qualidade do produto e redução do impacto ambiental, juntamente com baixos custos de produção, os procedimentos relacionados ao manejo da água são importantes e devem ser considerados (10).

Nesse contexto, é importante ressaltar que o cultivo do arroz irrigado, por submersão no solo, necessita em torno de 2000 litros de água para produzir um quilo de grãos com casca, estando entre as culturas mais exigentes em termos de recursos hídricos. Considerando a importância desse cereal na alimentação humana e a quantidade de água utilizada na sua produção, torna-se importante estudar a qualidade da água utilizada na irrigação da cultura, bem como a qualidade da água devolvida aos mananciais hídricos após sua utilização (18), visando a possibilidade de reutilização deste recurso, em melhores condições higiênicas.

O objetivo da presente pesquisa foi avaliar a qualidade microbiológica da água de irrigação, em cinco regiões orizícolas do Rio Grande do Sul, nas fases vegetativa e reprodutiva, determinando a importância da orizicultura de várzea na alteração populacional das bactérias patogênicas presentes na água de irrigação.

## **Material e Métodos**

### **Amostras de Água**

As amostras de água foram coletadas em açudes, em triplicata, entre outubro de 2005 e maio de 2006, em áreas correspondentes a um hectare, para cada uma das cinco regiões produtoras de arroz irrigado do RS: Campanha, Litoral Norte, Litoral Sul, Depressão Central e Fronteira Oeste, as quais correspondem aos seguintes municípios: Dom Pedrito, Santo Antônio da Patrulha, Camaquã, Cachoeira do Sul e Uruguaiana, respectivamente. Para cada região foram estabelecidos três pontos de coleta aleatórios, determinados através de sorteios, no canal de irrigação e nas parcelas de arroz. Cada amostra correspondeu a 100 mL de água, representando a mistura de 10 sub-amostras de 10mL, acondicionadas em frascos esterilizados e conservados a 4° C. Durante o ciclo da cultura, foram efetuadas duas coletas, uma na fase vegetativa (novembro/dezembro de 2005) e outra na fase reprodutiva (março de 2006).

### **Análise Microbiológica de Qualidade de Água**

As amostras de água foram submetidas à análise da qualidade microbiológica, sendo adotado o método de indicadores de poluição que estabelece simultaneamente a concentração de coliformes fecais e totais. A concentração de coliformes é expressa em NMP/100mL (Número Mais Provável em 100mL) da amostra de água. De acordo com a WHO (32), amostras de água que apresentarem valores acima de 1000 UFC, em 100mL de concentração de coliformes, podem ser usadas apenas para culturas forrageiras e cereais. A quantidade de contaminação foi determinada, através da análise bioquímica, pelo método *Colilert*® (IDEXX), que usa a tecnologia do substrato definido (Defined Substrate Technology – DST). Os nutrientes indicadores (ONPG e MUG) são as principais fontes de carbono do sistema *Colilert*®, os quais são metabolizados pelas enzimas β-D-Galactosidase e β-D-Glucuronidase, identificando os coliformes e a *E. coli*, respectivamente. Em cabine de segurança biológica classe 1, para cada amostra, foram efetuadas cinco diluições em solução salina ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  e  $10^{-5}$ ), sendo a última diluição  $10^{-5}$  aplicada no sistema *Colilert*®. Em seguida, a suspensão foi totalmente homogeneizada, sendo 100 mL aplicados em 97 (48/49) poços da cartela do sistema *Quanti-Tray/2000*®. Esse material foi lacrado e acondicionado em estufa bacteriológica, a 37°C, por 24h. Durante o desenvolvimento dos coliformes em presença de ONPG e síntese de β-D-Galactosidase há uma alteração do meio de incolor para amarelo. Já o crescimento de *E. coli* em presença de MUG e síntese de β-D-Glucuronidase revela a emissão

de fluorescência, em presença de luz ultravioleta (365nm). Os dados são obtidos através da quantificação dos poços revelados em amarelo para coliformes totais, sendo a revelação dos coliformes fecais efetuada pela emissão de fluorescência, cujos resultados são convertidos em número mais provável em 100 mililitros de água (NMP/100mL), com o auxílio da tabela de número mais provável *Quanti-Tray*<sup>®</sup>, fornecida pelo sistema *Colilert*<sup>®</sup> (3). O método *Colilert*<sup>®</sup> foi utilizado nessa pesquisa devido à alta sensibilidade e especificidade (1).

### **Análise Estatística**

Os dados de qualidade microbiológica da água foram avaliados entre as cinco regiões produtoras de arroz, as fases da cultura e os pontos de irrigação. Os parâmetros avaliados corresponderam à quantificação de coliformes totais e fecais, cujos valores foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e as médias comparadas por Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o Programa Microsoft Systat 11 (33).

## **Resultados e Discussão**

### **Qualidade Microbiológica das Amostras de Água**

Os dados apresentados nas Tabelas 1 e 2 correspondem, respectivamente, as médias dos índices de coliformes totais e fecais presentes na água dos canais de irrigação e das parcelas de arroz, nas diferentes regiões produtoras do Rio Grande do Sul. Esses valores das parcelas de cultivo correspondem às bactérias presentes nas amostras coletadas, nas fases vegetativa (logo após a irrigação da área de cultivo) e reprodutiva (antes da drenagem das áreas), nas regiões produtoras de arroz: Campanha, Litoral Norte, Litoral Sul, Depressão Central e Fronteira Oeste.

**Tabela 1** – Média dos índices de coliformes totais presentes em amostras de água do canal de irrigação e das parcelas, nas duas fases do ciclo da cultura, nas cinco regiões produtoras de arroz irrigado do RS (2005/06).

| Amostras de Água<br>Regiões | Canal de irrigação<br>(NMPx10 <sup>5</sup> /100mL) |      | Parcela de cultivo<br>(NMPx10 <sup>5</sup> /100mL) |       |                |      |
|-----------------------------|--|------|--|-------|----------------|------|
|                             |  |      | F <sub>1</sub>                                     |       | F <sub>2</sub> |      |
|                             | $\bar{x}$  | s    | $\bar{x}$  | s     | $\bar{x}$      | s    |
| Campanha                    | 12,92  | 8,15 | 79,5   | 19,86 | 0,66           | 1,15 |
| Litoral Norte               | 0  | 0    | 3,43   | 3,15  | 0              | 0    |
| Litoral Sul                 | 2,22   | 1,7  | 8,33   | 4,71  | 0              | 0    |
| Depressão Central           | 0,85   | 1,1  | 4,13   | 2,76  | 4,86           | 1,63 |
| Fronteira Oeste             | 2,42   | 1,68 | 0  | 0     | 0              | 0    |

NMP (Número Mais Provável/ 100 mL da amostra de água); F<sub>1</sub> (Fase Vegetativa); F<sub>2</sub> (Fase Reprodutiva);  $\bar{x}$  (média); s (Desvio Padrão)

**Tabela 2** – Média dos índices de coliformes fecais presentes em amostras de água do canal de irrigação e das parcelas, nas duas fases do ciclo da cultura, nas cinco regiões produtoras de arroz irrigado do RS (2005/06).

| Amostras de Água<br>Regiões | Canal de irrigação<br>(NMPx10 <sup>5</sup> /100mL) |      | Parcela de cultivo<br>(NMPx10 <sup>5</sup> /100mL) |     |                |   |
|-----------------------------|--|------|--|-----|----------------|---|
|                             |  |      | F <sub>1</sub>                                     |     | F <sub>2</sub> |   |
|                             | $\bar{x}$  | s    | $\bar{x}$  | s   | $\bar{x}$      | s |
| Campanha                    | 0,17   | 0,29 | 2,03   | 2,1 | 0              | 0 |
| Litoral Norte               | 0  | 0    | 0  | 0   | 0              | 0 |
| Litoral Sul                 | 0,17   | 0,29 | 0,66   | 0   | 0              | 0 |
| Depressão Central           | 0  | 0    | 0  | 0   | 0              | 0 |
| Fronteira Oeste             | 0,5  | 0,5  | 0  | 0   | 0              | 0 |

NMP (Número Mais Provável/ 100 mL da amostra de água); F<sub>1</sub> (Fase Vegetativa); F<sub>2</sub> (Fase Reprodutiva);  $\bar{x}$  (média); s (Desvio Padrão)

Os índices de coliformes totais e fecais foram comparados entre as cinco regiões, tanto nas amostras de água coletadas nos canais de irrigação, quanto nas parcelas de arroz. Os coliformes totais encontrados no canal de irrigação (Fig. 1A) apresentaram diferença significativa entre as cinco regiões ( $F_{4,10} = 5.647$ ;  $P < 0.05$ ), sendo os índices da região da Campanha os mais elevados, diferindo significativamente das demais regiões. Com relação aos coliformes fecais dos canais de irrigação (Fig. 1C), não houve diferença significativa entre as regiões ( $F_{4,10} = 1.500$ ;  $P > 0.05$ ).

Nas parcelas de arroz, os índices de coliformes totais (Fig. 1B) foram significativamente diferentes entre as cinco regiões produtoras ( $F_{4,10} = 15.788$ ;  $P < 0.05$ ), sendo também os índices da Campanha os mais elevados, os quais diferiram das outras regiões de forma relevante. No entanto, os coliformes fecais das parcelas de arroz (Fig. 1D), não mostraram diferença significativa ( $F_{4,10} = 2.580$ ;  $P > 0.05$ ).

Os dados desta pesquisa estão de acordo com os resultados encontrados por Santana et al. (27), considerando a presença de coliformes totais, um indicador de qualidade microbiológica, não significando necessariamente contaminação fecal. No entanto, quando for encontrada a bactéria *E. coli*, considerada coliforme fecal, na amostra, assegura-se a presença de enteropatógenos. Nesse contexto, os dados apresentados por Stickler (29) revelam que a presença de coliformes totais, na ausência de *E. coli*, pode indicar que a fonte de irrigação está sendo contaminada por águas superficiais e nesse caso a detecção de enterococos indica contaminação de origem fecal.

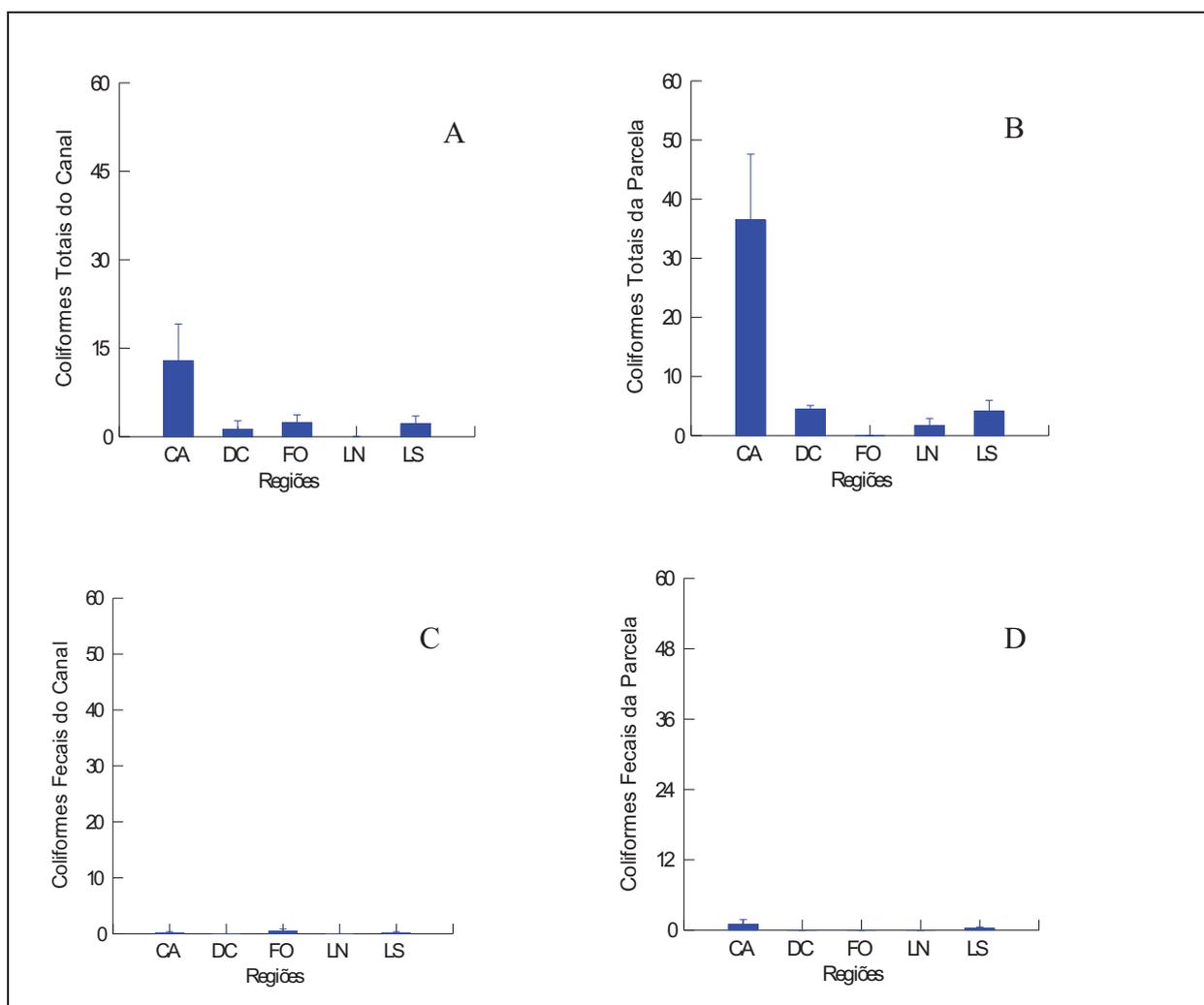


Figura 1 – Coliformes totais e fecais das amostras de água, dos canais de irrigação e das parcelas de arroz, nas cinco regiões produtoras do Rio Grande do Sul. CA: Campanha, DC: Depressão Central, FO: Fronteira Oeste, LN: Litoral Norte, LS: Litoral Sul.

Os índices de coliformes totais não apresentaram diferença significativa entre os pontos de coleta, canal de irrigação e a parcela de arroz nas regiões da Campanha ( $F_{1,4} = 5.972$ ;  $P > 0.05$ ), no Litoral Norte ( $F_{1,4} = 3.556$ ;  $P > 0.05$ ), no Litoral Sul ( $F_{1,4} = 1.358$ ;  $P > 0.05$ ) e na Fronteira Oeste ( $F_{1,4} = 6.244$ ;  $P > 0.05$ ). Somente na Depressão Central, a diferença avaliada mostra significância ( $F_{1,4} = 22.709$ ;  $P < 0.05$ ), onde os índices registrados no canal de irrigação são menores que os da parcela de arroz.

Esses índices registrados na Depressão Central podem ser explicados através de estudos sobre agentes patógenos que influenciam na qualidade microbiológica de águas. Diversos trabalhos de pesquisa (9, 13, 30) relatam um aumento do índice de coliformes durante os meses de verão relacionados a qualidade de água doce, contaminação bacteriana de águas próximas às áreas das propriedades rurais e ainda de águas que recebem despejos sanitários. Isso possivelmente se atribui a inúmeros fatores, como: aumento e distribuição de animais das fazendas, aumento das atividades agrícolas, incluindo a aplicação de adubo para produção (12). O nível mais elevado de coliformes fecais em locais agrícolas pode ocorrer devido à presença de animais domésticos defecando próximo à superfície da água, aplicação de adubo no solo que escoam para a superfície da água e líquidos efluentes entrando nestas águas, proveniente da criação de animais ou de despejos domésticos (5, 30). Esses dados apresentados por outros autores corroboram os resultados da presente pesquisa, quanto aos coliformes totais encontrados nas cinco regiões de plantio de arroz irrigado no RS, as quais podem estar tendo influência de fatores como os tratamentos fitossanitários utilizados nas lavouras de arroz e a presença de animais domésticos presentes nas proximidades destas áreas agrícolas.

Os coliformes totais comparados entre as duas fases da cultura, dentro da parcela de arroz irrigado, apresentam diferença significativa na Campanha ( $F_{1,4} = 47.068$ ;  $P < 0.05$ ) e no Litoral Sul ( $F_{1,4} = 9.408$ ;  $P < 0.05$ ). Nessas regiões, os índices diminuem de forma relevante da fase vegetativa para a fase reprodutiva. No entanto, nas regiões da Depressão Central ( $F_{1,4} = 0.157$ ;  $P > 0.05$ ), e Litoral Norte ( $F_{1,4} = 3.556$ ;  $P > 0.05$ ), os valores de coliformes totais não foram significativamente diferentes. Na região da Fronteira Oeste, nas duas fases da cultura, não foi registrada a presença de coliformes totais. Tem-se evidenciado que a lavoura de arroz irrigado pode atuar como filtro biológico, retirando nutrientes do meio hídrico eutrofizado, através da sua utilização pelas plantas, diminuindo assim a concentração de nutrientes na água de drenagem, em comparação com a água que entra na lavoura (8).

Quanto aos coliformes fecais, quando comparados os pontos de coleta, não foram significativamente diferentes na Campanha, ( $F_{1,4} = 1.911$ ;  $P > 0.05$ ), Litoral Sul ( $F_{1,4} = 0.500$ ;

$P > 0.05$ ) e na Fronteira Oeste ( $F_{1,4} = 3.000$ ;  $P > 0.05$ ). No Litoral Norte e Depressão Central, não houve presença de coliformes fecais. Os dados referentes aos índices de coliformes fecais comparados, entre as duas fases, vegetativa e reprodutiva, constataram que a diferença não apresentou significância na região da Campanha ( $F_{1,4} = 2.951$ ;  $P > 0.05$ ) e Litoral Sul ( $F_{1,4} = 4.000$ ;  $P > 0.05$ ). Nas demais regiões, Litoral Norte, Depressão Central e Fronteira Oeste, não foram registrados coliformes fecais, em 100mL da amostra de água. Esses dados demonstram que a água utilizada na irrigação não está sofrendo influência de agentes causadores de contaminação microbiana, refletindo na boa qualidade da água usada para irrigação da cultura do arroz. Nesse sentido, os resultados apresentados por Hyland et al. (14), mostram que a água com baixos índices de coliformes fecais e *E. coli*, nas áreas próximas as nascentes dos rios, localizados no sul do Canadá, estão relacionadas aos baixos índices de microrganismos contaminantes.

Nesse contexto, deve-se destacar que a espécie *E. coli* pode produzir enterotoxinas e outros fatores de virulência, sendo um patógeno humano de grande importância. Por outro lado, competidores estão presentes no ambiente aquático e existe um rápido declínio na contagem desta enterobactéria, presumivelmente devido à inabilidade deste competir com sucesso por nutrientes com outras bactérias presente no referido ambiente (21).

Em ecossistemas aquáticos, os decréscimos de coliformes fecais e *E. coli*, estão associados aos fenômenos naturais do processo de autodepuração, onde ocorre remoção ou eliminação das bactérias indicadoras de contaminação fecal e, em consequência de algumas enterobactérias, em função dos processos físicos, químicos e biológicos associados à autodepuração, dentre os quais destacam-se a sedimentação, a competição, a ação lítica de bacteriófagos específicos e o efeito sinérgico da radiação solar, junto aos elevados valores de pH e de oxigênio dissolvido (6, 17).

De acordo com as recomendações da WHO (32), para irrigação irrestrita a concentração de coliformes fecais deve ser menor que 1000 UFC em 100 mL, sendo assim, água utilizada para irrigação que apresentar valores acima de 1000 UFC em 100 mL de concentração de coliformes fecais, pode ser usada apenas para culturas forrageiras e cereais, como a orizicultura avaliada no presente estudo, alertando os agricultores que estarão em contato com a água contaminada, os quais devem ter cuidados especiais (22).

A água utilizada para irrigação da cultura do arroz, no sistema de várzea pode ser captada de diversas fontes, como: açudes, barragens, lagoas, rios, entre outras. Os autores, Furtado e Luca (8), evidenciam que a densidade de coliformes totais e fecais nas águas provenientes de rios é maior, quando comparada à água da irrigação encontrada junto às áreas de plantio de arroz, onde o sistema de plantio direto foi o que apresentou menor densidade

bacteriana. Esses autores relatam que nas parcelas de arroz, onde a lâmina de água é de baixa profundidade, a radiação solar penetra fortemente na água provocando um efeito antimicrobiano, contribuindo na redução das populações de microrganismos sensíveis à radiação ultravioleta.

O conjunto de dados obtidos na presente pesquisa mostra que os índices de coliformes totais e fecais nas parcelas de arroz, de todas as regiões produtoras do Rio Grande do Sul, foram inferiores na fase reprodutiva da cultura do arroz quando comparados a sua fase vegetativa. O canal de irrigação apresentou baixos índices de coliformes fecais, no entanto, a presença de coliformes totais mostrou-se mais elevada. Os dados apresentados demonstram que a cultura orizícola pode alterar a qualidade microbiológica da água presente nas parcelas, devido ao seu potencial de ciclagem de nutrientes, fazendo com que a água de drenagem apresente menor quantidade de agentes bacterianos patogênicos.

Nesse sentido, os dados de pesquisa devem ser transferidos aos produtores de arroz do RS, mostrando as formas de melhorar o cultivo e a safra dos produtos, além de indicar a forma de monitorar a qualidade da água utilizada na irrigação como Simões et al. (28) indica para outros produtos agrícolas.

### **Agradecimentos**

Os autores agradecem o apoio da equipe técnica do EEA/IRGA, especialmente ao MSc. Jaime Vargas de Oliveira e ao Sr. Jose Luiz Rosa dos Santos. Essa pesquisa foi realizada com o apoio financeiro do CNPq/ CTHidro, através da concessão da bolsa de mestrado, ao PPG em Biologia da Unisinos.

### **Referências Bibliográficas**

1. Alves, N.C.; Odorizzi, A.C.; Goulart, F.C. Análise Microbiológica de Águas Minerais e de Água potável de Abastecimento, Marília, SP. *Revista de Saúde Pública*. v.36, n.6, p. 749-751, 2002.
2. Ayers, R.S.; Westcot, D.W. A qualidade da água na agricultura. Campina Grande: UFPB, 1991, 217p.
3. Clesceri, L.S.; Greenberg, A.E.; Eaton, A.D. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. APHA-AWWA-WPCF. 20<sup>th</sup> Edition, 1998. 9060 p. (A e B) 9223 (B).
4. Crane, S.R.; Westerman, P.W.; Overcash, M.R. Die-off of fecal indicator organisms following land application of poultry manure. *J. Environ. Qual.* 9:531-537, 1981.

5. Crowther, J.; Kay, D.; Wyer M.D. Fecal-indicator concentrations in waters draining lowland pastoral catchments in the UK: relationships with land use and farming practices. *Water Res.* 36: 1725-1734, 2002.
6. Curtis, T.P.; Mara, D.D.; Silva, S.A. Influence of pH, oxygen and humic substances on sunlight to damage fecal coliforms in waste stabilization pond water. *Applied and Environmental Microbiolog.*, v. 58, n.4, p.1335-1343, 1992.
7. Freitas, M.B.; Brilhante, O.M. & Almeida, L.M. 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. *Caderno de Saúde Pública.*, 17: 651-660, 2001.
8. Furtado, R.D. & Luca, S.J. Técnicas de cultivo de arroz irrigado: Relação com a qualidade de água, protozoários e diversidade fitoplanctônica. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental.* v.7, n.1, p. 165-172, 2003.
9. Geldreich, E.E. Pathogenic agents in freshwater resources. *Hydrol. Proc.* 10: 315-333, 1996.
10. Gomes, A. da S.; Pauletto, E.A. Manejo do solo e da água em áreas de várzea. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 1999, 201 p.
11. Gomes, A. da S.; Pauletto, E. A.; Petrini, J. A.; Sousa, R. O. Manejo da água em arroz irrigado: Implicações e Recomendações Técnicas. In: Gomes, A. da S.; Pauletto, E. A. (ed.). Manejo do solo e da água em áreas de várzea. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 1999, p. 163-200.
12. Hunter, P.R.; Colford, J.M.; Lechevallier, M.W.; Binder, S.; Berger, P.S. Waterborne diseases. *Emerg. Infect. Dis.* 7S: 544-545, 2002.
13. Hunter, C.; MacDonald, A. Seasonal changes in the sanitary bacterial quality of water draining a small upland catchments in Yorkshire Dales. *Water Res.* 25: 447-453, 1991.
14. Hyland, R.; Byrne, J.; Selinger, B.; Graham, T.; Thomas, J.; Townshend, I. and Gannon, V. Spatial and Temporal Distribution of Fecal Indicator Bacteria within the Oldman River Basin of Southern Alberta, Canada. *Water Qual. Res. J. Canada.* v.38 n.1, 15-32, 2003.
15. Irga. Estação Experimental do Arroz. Arroz Irrigado: recomendações técnicas de pesquisa para o Sul do Brasil. IV Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado, XXVI Reunião da Cultura do Arroz Irrigado, Santa Maria, RS. 2005, 159 p.
16. Jamieson, R.C.; Gordon, R.J.; Tattrie, S.C.; Stratton, G.W. Source and Persistence of Fecal Coliform Bacteria in a Rural Watershed. *Water Qual. Res. J. Canada.* 38:33-47, 2003.
17. Kapuscinski, R.B.; Mitchell, R. Solar radiation induces sublethal injury in *Escherichia coli* in sea water. *Applied and Environmental Microbiolog.*, v. 41, p. 670-674, 1981.
18. Klostermann, D. IQUA - Índice de Qualidade de Uso da água, uma Ferramenta de Gestão do Uso de Água. In: II Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado, Porto Alegre: IRGA, 2001. p 784.
19. Kudva, I.T.; Blanch, K.; Hovde, C.J. Analysis of *Escherichia coli* O157:H7 in ovine or bovine manure and manure slurry. *Appl. Environ. Microbiol.* 64:3166-3174, 1998.

20. Landry, M.S; Wolfe, M.L. Fecal bacteria contamination of surface waters associated with land application of animal waste. Paper No. 99- 4024. Toronto, Ont., ASAE, 1999.
21. Lim, C.H. & Flint K.P. The effects of nutrients on the survival of *Escherichia coli* in lake water. *Journal of Applied Bacteriology*. 66: 559-569, 1989.
22. Magalhães, N.F.; Ceballos, B.S.O.; Nunes, A.B.A.; Gheyi, H.R. & Konig, A. Principais impactos nas margens do Baixo Rio Bodocongó – PB, decorrentes da irrigação com águas poluídas com esgoto. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*. v. 6, n.1, p. 128-135, 2002.
23. Matner, R.R.; Fox, T.L.; Mciver, D.E.; *et al.* Efficacy of Petrifilm™ *E.coli* Count Plate for *E.coli* and coliform enumeration. *J. Food Prot.*, 53(2): 145-150, 1990.
24. McLellan, L.S. Genetic diversity of *Escherichia coli* isolated from urban rivers and beach water. *Applied and Environmental Microbiology*. 70: 4658-4665, 2004.
25. Mubiru, D.N.; Coyne, M.S.; Grove, J.H.; Mortality of *Escherichia coli* O157:H7 in two soils with different physical and chemical properties. *J. Environ. Qual.* 29:1821-1825, 2000.
26. Oliveira, M. F.; Pilz, E.B.; Bellincanta, G.S.; limberger,N.; Macedo, N.T.; Corção, G.; Germani, J.C. & Sand, S.T.V.D. Avaliação da eficácia do tratamento de esgotos de um sistema de lagoa de estabilização através da identificação de população bacteriana. *Acta Scientiae Veterinariae*. 34(1):31-37, 2006.
27. Santana, A.S.; Silva, S.C.F.L.; Farani, I.O.Jr.; Amaral, C.H.R.; Macedo, V.F. Qualidade Microbiológica de Águas Minerais. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 23: 190-194, 2003.
28. Simões, M.; Pisani, B.; Marques, E.G.L.; Prandi, M.A.G.; Martini, M.H.; Chiarini, P.F.T.; Antunes, J.L.F.; Nogueira, A. P. Higienic-Sanitary Conditions of Vegetables and Irrigation Water from Kitchen Gardens in the Municipality of Campinas, SP. *Brazilian Journal of Microbiology*. (32): 331-333, 2001.
29. Stickler, D. J. The microbiology of bottled natural mineral waters. *J. Royal Soc. Health*. v. 109, p. 118-124, 1989.
30. Tian, Y.Q.; Gong, P.; Radke, J.D.; Scarborough, J. Spatial and temporal modeling of microbial contaminants on grazing farmlands. *J. Environ. Qual.* 31: 860-869, 2002.
31. Tundisi, J.G. Limnologia no Século XXI: Perspectivas e desafios. Conferência de abertura do Congresso Brasileiro de Limnologia, 7. São Carlos SP. 1999, 24p.
32. World Health Organization Health guidelines for the use of wastewater in agriculture and aquaculture. Geneva: WHO.1989, 778p. Technical Report Series
33. Zar, J.H. Bioestatistical Analysis. Prentice-Hall international. New Jersey, 1999, 931p.

## **Capítulo 2**

**DIVERSIDADE DE BACILOS EM ÁREAS INUNDADAS DE ARROZ  
IRRIGADO, EM CINCO REGIÕES PRODUTORAS DO RIO GRANDE DO SUL.**

# **DIVERSIDADE DE BACILOS EM ÁREAS INUNDADAS DE ARROZ IRRIGADO, EM CINCO REGIÕES PRODUTORAS DO RIO GRANDE DO SUL.**

**Caroline Frizzo; Lidia M. Fiuza\***

Laboratório de Microbiologia, Universidade do Vale do Rio dos Sinos, São Leopoldo, RS, Brasil

---

## **Resumo**

As bactérias são muito diversas, habitam diferentes ecossistemas e podem ser encontradas nas mais variadas formas de vida no sistema terrestre. Na superfície da água, encontram-se bactérias autotróficas e heterotróficas. As heterotróficas têm se revelado componente principal em ecossistemas aquáticos, destacando-se como os mais expressivos decompositores de matéria orgânica. No agroecossistema orizícola, a comunidade microbiana e a lâmina de água refletem as condições da fonte de água de irrigação e do solo. A irrigação da cultura do arroz necessita de fontes de água para serem conduzidas até as áreas de cultivo. O objetivo da presente pesquisa foi determinar a diversidade de bacilos presentes em amostras de água de açudes que irrigam lavouras orizícolas de cinco regiões produtoras do Rio Grande do Sul (RS). As amostras de água foram coletadas em açudes, em triplicata, entre outubro de 2005 e maio de 2006, em áreas correspondentes a um hectare para cada região orizícola do RS: Campanha, Litoral Norte, Litoral Sul, Depressão Central e Fronteira Oeste. Os resultados, quanto à abundância de bacilos, indicam que a fase reprodutiva da cultura do arroz apresenta decréscimo do número de bacilos quando comparado à fase vegetativa. Quanto aos índices de diversidade, observa-se que a Depressão Central é a região que apresentou maior diversidade de bacilos, seguida do Litoral Sul, Fronteira Oeste, Campanha e Litoral Norte. Esse índice, registrado nos pontos de coleta, mostra que o canal de irrigação e a fase vegetativa apresentam maior diversidade. Esses dados revelam que o desenvolvimento da cultura influencia as interações dos microrganismos e das plantas nas áreas orizícolas, onde a cultura pode atuar como filtro de microrganismos patógenos e recicladoras de produtos químicos utilizados nas lavouras, proporcionando o decréscimo do impacto ambiental nesses ecossistemas.

**Palavras-chave: Diversidade, bacilos, arroz irrigado.**

---

\*Corresponding Author. Mailing address: Laboratório de Microbiologia, Universidade do Vale do Rio dos Sinos, Av. Unisinos, 950. 93001-970, São Leopoldo, RS, Brasil. Fax: (+5551) 3591-1100, E-mail: carolinefrizzo@bol.com.br, fiuza@unisinos.br

## Introdução

As bactérias são muito diversas, habitam diferentes ecossistemas e podem ser encontradas nas mais variadas formas de vida no sistema terrestre, sendo que, até o momento, cerca de 10% das espécies foram identificadas (10). Atualmente, a microbiota presente em sistemas aquáticos tem sido mais estudada. Na superfície da água, encontram-se bactérias autotróficas e heterotróficas (11). As heterotróficas têm se revelado componente principal em ecossistemas aquáticos (3, 20), destacando-se como os mais expressivos decompositores de matéria orgânica (30). A matéria orgânica está presente em ecossistemas aquáticos, sendo encontrada dissolvida no meio e necessária como fonte de carbono e outros nutrientes para microrganismos aquáticos (6). Bactérias aquáticas, além de serem importantes à decomposição da matéria orgânica têm seu papel fundamental em ciclos biogeoquímicos (28).

A densidade populacional nos ambientes, com eutrofização de nutrientes, é regulada por fatores como, fotoperíodo e temperatura. Desse modo, alguns autores relatam que as variações de temperatura influenciam na distribuição das espécies, incluindo os microrganismos (24).

O lançamento de efluentes na ausência de saneamento básico resulta em fontes contaminadas com mudanças significativas na rápida degradação destes ambientes. A presença de microrganismos tem sido usada como bioindicadores para o monitoramento e restauração de habitats (7). Essas restaurações podem estar relacionadas a comunidade microbiana, agindo como decompositores em habitats degradados, reciclando nutrientes para outros organismos. Conforme Liesack et al. (13), a estrutura e funcionamento de grupos microbianos aeróbios e anaeróbios, presentes no solo, onde há o plantio de arroz irrigado, é fundamental para o crescimento desta gramínea, os quais interagem com as plantas de arroz. Na cultura do arroz irrigado, a biomassa microbiana fornece às plantas nutrientes importantes para o seu desenvolvimento (23).

No agroecossistema orizícola, a comunidade microbiana e a lâmina de água refletem as condições de fonte da água de irrigação e do solo (21). A irrigação da cultura do arroz necessita de fontes de água que deve ser conduzida até as áreas de cultivo. Essa água pode ser captada de rios, lagos, açúdes, barragens, entre outras. Os pesquisadores do IRGA (9) citam como principais fontes de captação de água para irrigação os açúdes e as barragens (48,5%), seguido dos rios (32,1%) e das lagoas (18,8%), além de outras fontes (0,6%).

O arroz é um dos principais cereais cultivados nos cinco continentes, principalmente nas zonas tropicais e temperadas. A cultura do arroz irrigado é economicamente relevante para os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, onde esta tem sido manejada com alto

nível tecnológico e de rendimento. No ano agrícola 2004/05 foram cultivados aproximadamente 1,2 milhões de hectares, refletindo a produção de 60% do arroz consumido no Brasil (15).

No Rio Grande do Sul (RS), a orizicultura representa cerca de 55% da produção nacional de arroz, sendo cultivada em cinco regiões: Campanha, Fronteira Oeste, Depressão Central, Litoral Norte e Litoral Sul. Essas regiões apresentam diferenças quanto à topografia, clima, solo, disponibilidade de água à irrigação, tamanho das lavouras, entre outras (9).

A redução da produtividade orizícola está relacionada à presença de insetos-praga, fitopatógenos e plantas daninhas. Devido a esses agentes prejudiciais, o uso de tratamentos fitossanitários tem sido cada vez mais utilizado pelos produtores, provocando aumento no impacto ambiental (22). Por outro lado, atualmente, um grande custo da cultura do arroz irrigado é o uso da água, a qual deve ser manejada, visando a qualidade do produto e redução do impacto no meio ambiente.

Considerando o equilíbrio dos agroecossistemas orizícolas, o objetivo da presente pesquisa foi determinar a diversidade de bacilos presentes em amostras de água de açudes que irrigam lavouras orizícolas, das cinco regiões produtoras do Rio Grande do Sul.

## **Material e Métodos**

### **Áreas Orizícolas**

A produção de arroz irrigado no Rio Grande do Sul está distribuída em cinco regiões orizícolas: Campanha, Litoral Norte, Litoral Sul, Depressão Central e Fronteira Oeste, as quais são constituídas por diversos municípios. As amostras de água desse estudo foram coletadas nos municípios de Dom Pedrito, Santo Antônio da Patrulha, Camaquã, Cachoeira do Sul e Uruguaiana, as quais representam as respectivas regiões produtoras.

### **Coleta de Amostras de Água**

As amostras de água foram coletadas em açudes, em triplicata, entre outubro de 2005 e maio de 2006, em áreas correspondentes a um hectare para cada região produtora de arroz irrigado do RS. Em cada região, foram estabelecidos três pontos de coleta aleatórios no canal de irrigação e três na parcela de arroz. Cada amostra, correspondeu a 100 mL de água, representando a mistura de 10 sub-amostras, acondicionadas em frascos esterilizados e conservados a 4° C. Durante o ciclo da cultura foram efetuadas duas coletas, uma na fase vegetativa (novembro/dezembro de 2005) e outra na fase reprodutiva (março de 2006).

## **Isolamento e Multiplicação de Bactérias**

As amostras coletadas e catalogadas, de acordo com os dados de cada região orizícola, foram semeadas assepticamente em placas com Ágar Nutriente (16) e mantidas em estufa bacteriológica durante 24 horas a 30°C. As colônias obtidas foram quantificadas, sendo em seguida repicadas em caldo nutriente (16) e conservadas em glicerol, a 10% e 4°C.

### **Caracterização Bacteriana**

A identificação dos bacilos presentes nas amostras de água foi efetuada através de propriedades fisiológicas e bioquímicas (8, 32).

As culturas axênicas foram submetidas ao método de coloração diferencial de Gram, choque térmico e teste de catalase.

Os bacilos oxidadores e fermentadores foram selecionados através de provas bioquímicas, sendo estes diferenciados em fermentadores, e não-fermentadores. A família Enterobacteriaceae, que abrange os bacilos Gram-negativos, não esporulantes e fermentadores, constituída de diversas espécies, foi determinada através de análises bioquímicas com o auxílio do sistema Api® 20E (BioMérieux®). Os bacilos Gram-negativos não esporulantes e não-fermentadores foram identificados utilizando o sistema Api® 20NE (BioMérieux®). Os resultados foram interpretados através do programa de identificação Apiweb™ (1), utilizando a espécie *Escherichia coli* como controle positivo.

O isolamento das bactérias pertencentes ao gênero *Bacillus* seguiu o método descrito pela Organização Mundial de Saúde (31). Para tanto, 1 mL da amostra de água foi diluído em 9 mL de solução salina estéril e homogeneizado por um minuto. Foi retirada uma alíquota de 1000 µL para o processo de pasteurização (12 min. a 80°C e 5 min. a 4°C) e em seguida 500 µL foram aplicados em placas de Petri contendo Ágar Nutriente. O material foi incubado em estufa bacteriológica, a 30°C durante 24 horas. As colônias crescidas individualmente no meio foram quantificadas com o auxílio de um contador de colônias.

As colônias foram inoculadas em meio seletivo (caldo nutriente, contendo o antibiótico, Penicilina-G ou Estreptomicina) e incubadas a 30°C, durante 24 horas e 180rpm, em shaker. As culturas bacterianas selecionadas na presença dos antibióticos foram analisadas em microscopia de contraste de fase (1000x), objetivando visualizar estruturas morfológicas que caracterizam as espécies *Bacillus thuringiensis* (Bt), *Bacillus cereus* (Bc) e *Bacillus sphaericus* (Bs).

## **Análise Estatística**

Os dados quantitativos, que representam a abundância de bacilos, nas diferentes regiões de arrozais do Rio Grande do Sul, foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e as médias foram comparadas por Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa Microsoft Systat 11 (33).

Para determinar a diversidade de bacilos, foi aplicado o índice de *Shannon's & Weaner's* (19, 25), comparando os índices de diversidade, através da Análise de Variância Fatorial, utilizando o programa Microsoft Systat 11 (33).

## **Resultados e Discussão**

### **Freqüência de Bactérias em Amostras de Água de Irrigação do Arroz**

Os dados da análise quantitativa das Unidades Formadoras de Colônias bacterianas (UFC), que revelam a ocorrência de comunidades bacterianas heterotróficas aeróbias e anaeróbias facultativas, estão ilustrados na Figura 1. Esses dados mostram a freqüência de bactérias aeróbias, sendo os valores referentes aos canais de irrigação (Fig. 1A) mais elevados quando comparados às parcelas de cultivo do arroz irrigado nas regiões da Campanha, Litoral Norte e Fronteira Oeste. Na Depressão Central e no Litoral Sul, a quantidade de UFC aeróbias foi maior nas parcelas de cultivo (Fig. 1B).

Quanto às freqüências de bactérias anaeróbias facultativas, observa-se que apenas a região da Campanha, apresentou valores mais elevados nos canais de irrigação (Fig. 1C). As demais regiões apresentaram maior abundância bacteriana nas parcelas de cultivo do arroz (Fig. 1D).

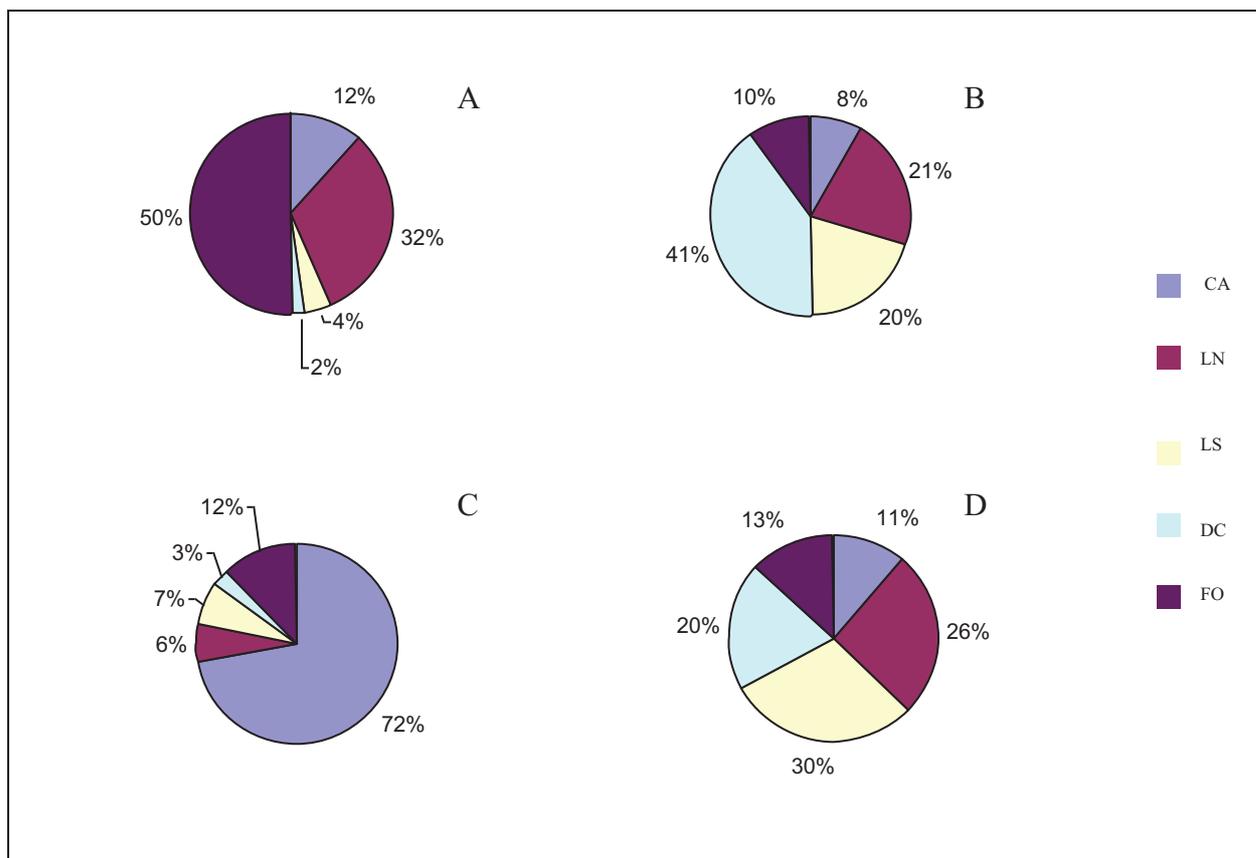


Figura 1 - Abundância de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) de bactérias aeróbias, do canal de irrigação (A) e da parcela de cultivo do arroz (B) e anaeróbias facultativas, do canal de irrigação (C) e da parcela de cultivo do arroz (D), coletadas nas cinco regiões orizícolas do Rio Grande do Sul. CA: Campanha, LN: Litoral Norte, LS: Litoral Sul, DC: Depressão Central, FO: Fronteira Oeste.

### Frequência de Bacilos

Os resultados obtidos quanto à abundância de bacilos revelam que a diferença não foi significativa quando comparados os pontos de coleta, canal de irrigação e parcela de arroz na fase vegetativa ( $F_{1,8}=1,905$ ;  $P>0,05$ ) (Fig. 2A) e na fase reprodutiva ( $F_{1,8}=0,137$ ;  $P>0,05$ ) (Fig. 2B). A diferença também não teve significância quando comparadas as fases da cultura de arroz irrigado na parcela de arroz ( $F_{1,8}=1,051$ ;  $P>0,05$ ) (Fig. 2C).

Nos dados anteriormente descritos observa-se que mesmo não apresentando diferenças significativas, a fase reprodutiva da cultura do arroz apresenta decréscimo do número de bacilos quando comparado com a fase vegetativa (Fig. 2). Esses resultados foram comparados com estudos relacionados a microrganismos do solo, em áreas de plantio de arroz nas Filipinas, onde Reichardt et al. (23) destacam que a orizicultura intensiva pode reduzir ou alterar a biomassa microbiana, diminuindo a disponibilidade de nutrientes. Esses mesmos autores, também relatam a possibilidade da variação da dinâmica de populações de microrganismos que reciclam nutrientes, durante todo o ciclo de crescimento do arroz (23).

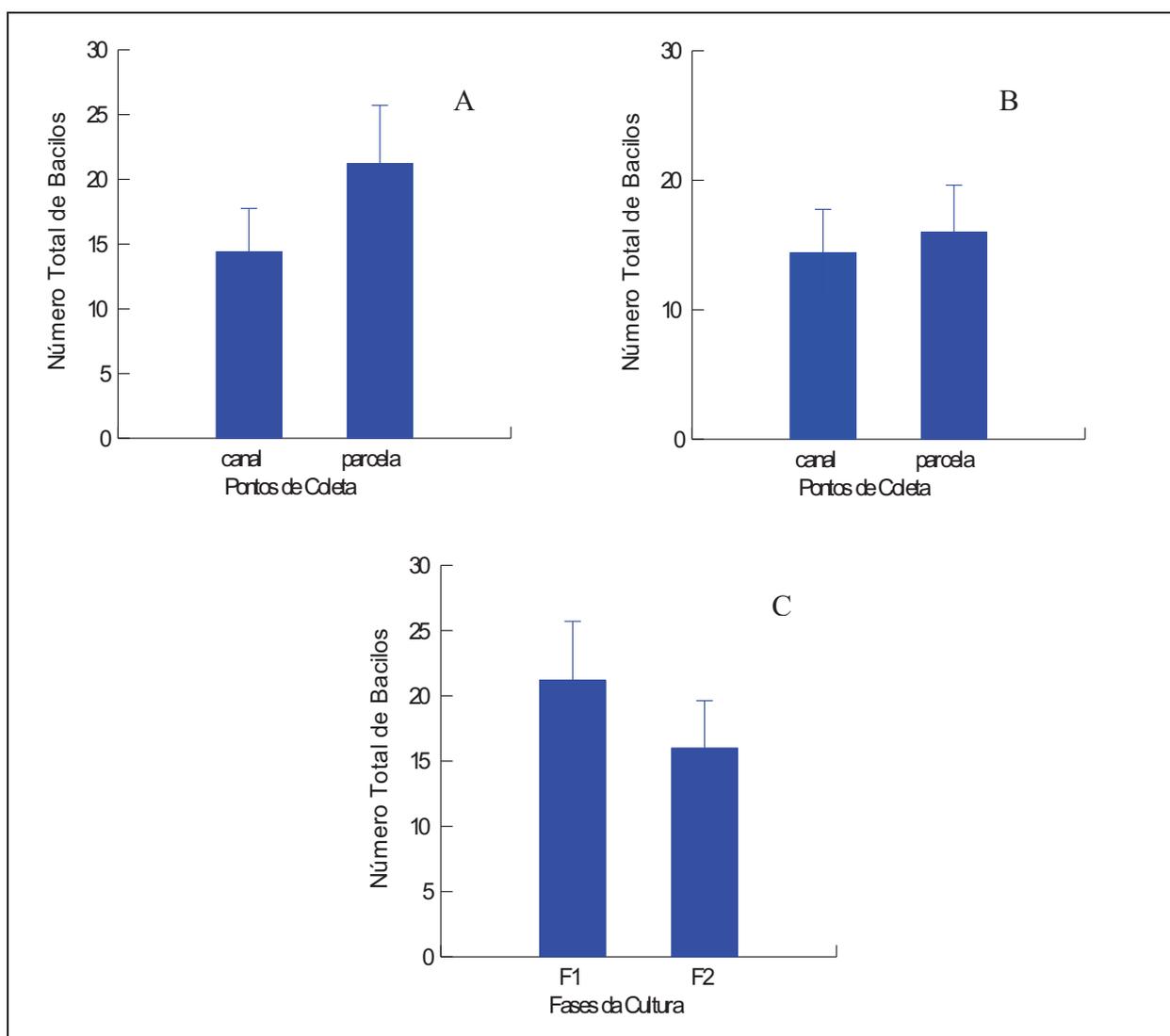


Figura 2- Abundância de bacilos aeróbios e anaeróbios facultativos, nas cinco regiões orizícolas do Rio Grande do Sul, nas fases vegetativa (A) e reprodutiva (B) e nas duas fases da cultura (C). (F1): Fase vegetativa, (F2): Fase reprodutiva.

### Diversidade de Bacilos

Quanto à diversidade de bacilos, nas cinco regiões produtoras de arroz do Rio Grande do Sul, constatou-se que os canais de irrigação da Depressão Central e Fronteira Oeste apresentaram maior número de espécies identificadas, seguidos do Litoral Sul, Litoral Norte e Campanha. Para as parcelas de arroz, nas duas fases de cultivo observa-se a maior diversidade de espécies na fase vegetativa da cultura no Litoral Sul e Fronteira Oeste. Nas regiões da Campanha, Litoral Norte e Depressão Central a diversidade é maior na fase reprodutiva da cultura.

Os índices de diversidade, calculado pelo modelo de *Shannon's & Weaner's* (19, 25), foram comparados através da ANOVA Fatorial que permitiu a comparação dos valores encontrados nas cinco regiões orizícolas (Fig. 3A) e dos pontos de coleta, canal de irrigação e parcela de arroz, nas duas fases do cultivo (Fig. 3B).

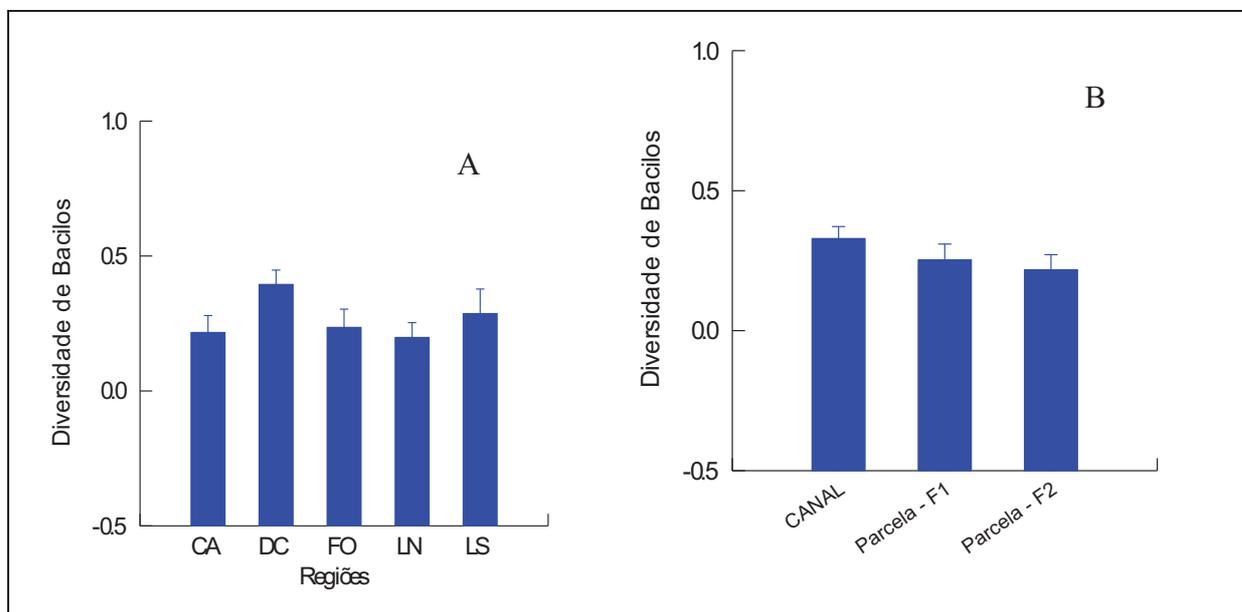


Figura 3- Índice de diversidade de bacilos, nas cinco regiões produtoras de arroz do Rio Grande do Sul (A) e dos pontos de coleta, canal de irrigação e parcela de arroz, nas fases vegetativa e reprodutiva (B) da cultura. CA: Campanha, LN: Litoral Norte, LS: Litoral Sul, DC: Depressão Central, FO: Fronteira Oeste, CANAL: Canal de Irrigação, Parcela - F1: Fase vegetativa, Parcela - F2: Fase reprodutiva.

Os dados ilustrados na Figura 3 mostram que a Depressão Central é a região que apresentou maior diversidade de bacilos, seguida do Litoral Sul, Fronteira Oeste, Campanha e Litoral Norte. Quanto aos índices obtidos nos pontos de coleta, observa-se que o canal de irrigação apresenta maior diversidade, assim como a fase vegetativa da cultura.

Os resultados da presente pesquisa estão de acordo com os dados de diversidade bacteriana estabelecidos por Reche e Fiuza (21) para as áreas orizícolas do RS em 2003.

Na comparação dos índices de diversidade não foi verificada diferença significativa, entre os índices das cinco regiões ( $F_{2,4}=1,600$ ;  $P>0,05$ ) e entre os pontos de coleta ( $F_{2,4}=1,392$ ;  $P>0,05$ ).

A partir da caracterização dos bacilos foram identificadas 18 espécies, das quais seis, foram encontradas tanto nos canais de irrigação quanto nas parcelas de cultivo do arroz, nas duas fases da cultura. As espécies *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter sakazakii*, *Proteus mirabilis*, *Raoultella ornithinolytica*, *Serratia odorifera* e os gêneros *Myroides* sp. e *Pasteurella* sp., não foram constatadas na água do canal de irrigação, somente nas parcelas de

cultivo do arroz. As espécies *Citrobacter freundii* e *Hafnia alvei* só ocorreram no canal de irrigação. As bactérias dos gêneros: *Bacillus*, *Corynebacterium* e *Lactobacillus* foram as mais abundantes, as quais também foram identificadas em condições de anaerobiose facultativa, revelando-se presentes em todas as regiões produtoras de arroz amostradas. Reche & Fiuza (21), em seus estudos, verificaram também a presença dos gêneros *Bacillus* e *Corynebacterium* como sendo os mais freqüentes em amostras de água de irrigação do arroz, seguidos do gênero *Lactobacillus*.

Os gêneros e espécies de bacilos aeróbios e anaeróbios facultativos, identificados nos canais de irrigação e nas parcelas de arroz, das cinco regiões orizícolas, estão representados na Tabela 1.

Tabela 1- Gêneros e espécies de bacilos aeróbios e anaeróbios facultativos identificados em amostras de água do canal de irrigação e na parcela de arroz, nas fases vegetativa e reprodutiva da cultura, em cinco regiões orizícolas do Rio Grande do Sul, no ano agrícola 2005/06.

| Bactérias                         | Número nos canais de irrigação | Número nas parcelas de cultivo |    |
|-----------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|----|
|                                   |                                | F1                             | F2 |
| <i>Aeromonas hydrophila</i>       | 02                             | 0                              | 01 |
| <i>Bacillus cereus</i>            | 01                             | 01                             | 02 |
| <i>Bacillus sphaericus</i>        | 08                             | 06                             | 0  |
| <i>Bacillus</i> sp.               | 104                            | 67                             | 57 |
| <i>Bacillus thuringiensis</i>     | 05                             | 04                             | 03 |
| <i>Brevundimons vesicularis</i>   | 03                             | 0                              | 01 |
| <i>Citrobacter freundii</i>       | 01                             | 0                              | 0  |
| <i>Corynebacterium</i> sp.        | 11                             | 06                             | 08 |
| <i>Enterobacter cloacae</i>       | 0                              | 01                             | 01 |
| <i>Enterobacter sakazakii</i>     | 0                              | 02                             | 0  |
| <i>Hafnia alvei</i>               | 01                             | 0                              | 0  |
| <i>Lactobacillus</i> sp.          | 05                             | 03                             | 05 |
| <i>Myroides</i> sp.               | 0                              | 01                             | 0  |
| <i>Pantoea</i> sp.                | 01                             | 03                             | 01 |
| <i>Pasteurella</i> sp.            | 0                              | 01                             | 01 |
| <i>Proteus mirabilis</i>          | 0                              | 0                              | 01 |
| <i>Raoultella ornithinolytica</i> | 0                              | 02                             | 0  |
| <i>Serratia odorifera</i>         | 0                              | 01                             | 0  |

(F1): Fase vegetativa, (F2): Fase reprodutiva

O gênero *Bacillus*, sendo o mais abundante deste estudo, tem como habitat natural o solo. Devido à resistência de seus esporos e a capacidade de permanecer em latência, podem ser encontrados em uma grande variedade de ambientes, estando amplamente distribuídos na

natureza (27). Algumas espécies de bactérias deste gênero como, *Bacillus cereus*, *Bacillus sphaericus* e *Bacillus thuringiensis*, foram identificadas nas amostras de água de irrigação do arroz. Esta planta, que necessita de água para seu crescimento, deve permanecer com uma lâmina de irrigação de aproximadamente 10 cm, durante todo o ciclo da cultura (2). Nesses sistemas de irrigação há um grande número de partículas de solo em suspensão, facilitando a presença de espécies desse gênero nestes ambientes aquáticos.

Dados de pesquisa revelam que o gênero *Corynebacterium* foi encontrado com maior frequência nos canais de irrigação, já o gênero *Lactobacillus*, ocorreu tanto nos canais quanto nas parcelas de arroz (21). No presente estudo, a presença desses dois gêneros foi freqüente, tanto nos canais de irrigação quanto nas parcelas de arroz.

As enterobactérias habitam o trato gastrointestinal do homem e animais de sangue quente, sendo estes microrganismos também encontrados em ambientes como solo, água e vegetação (17). A presença de 10 espécies bacterianas dessa família, identificadas no presente estudo, principalmente nas amostras de água coletadas nas parcelas de arroz, pode estar relacionada a animais domésticos que freqüentam as áreas de cultivo do arroz, nos períodos de inverno ou devido à presença de animais silvestres nas proximidades dessas áreas (5). Nesse sentido, a quantidade de matéria orgânica de origem fecal, observada no solo desses locais, quando em contato com a água que irriga as lavouras orizícolas, fica em suspensão e contamina o ambiente aquático. O aumento da diversidade de bactérias em ecossistemas aquáticos ocorre, principalmente, devido a contaminação de origem fecal desses ambientes (5).

Nesse grupo bacteriano, as espécies *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter freundii* e o gênero *Pantoea* sp., foram identificados nas amostras de água provenientes de irrigação de arroz (21). A espécie *Serratia odorifera* também foi identificada no presente estudo. Segundo Koneman (12), as bactérias desse gênero são isoladas principalmente de amostras de material clínico.

As enterobactérias, *Myroides* sp., *Enterobacter sakazakii* e *Raoultella ornithinolytica*, identificadas nesse estudo, também foram encontradas por Silva & Nahas (26) em seus estudos relacionados a diversidade bacteriana em amostras de solo. De acordo com Trindade et al. (29), os gêneros *Enterobacter* e *Raoultella* podem ser encontradas em ambientes aquáticos.

As bactérias *Pasteurella* sp. e *Brevundimonas vesicularis*, encontradas nas amostras de água deste estudo, pertencem a gêneros que também foram identificados em outros trabalhos relacionados a comunidade de bactérias presentes em ecossistema aquáticos (21). No caso do gênero *Pantoea* sp., a maior freqüência encontrada foi nas parcelas de cultivo do arroz. A

presença desse gênero foi observada em outros estudos, em que os autores revelam a relação da ocorrência da mesma com a utilização de agroquímicos (21). Possivelmente por esse motivo, é que ocorrem onde há o plantio de arroz, observando que nas parcelas são utilizados tratamentos fitossanitários para o desenvolvimento das plantas, sem a interferência das principais pragas que são os insetos e as plantas daninhas.

O gênero *Pantoea*, juntamente com *Bacillus*, *Enterobacter* e *Pseudomonas*, encontrados nas amostras de água analisadas, estão entre as principais bactérias presentes na espermosfera, onde também observam-se bactérias patogênicas às plantas como *Corynebacterium* sp. e *Pseudomonas* sp. que infectam sementes e outras estruturas vegetais (14).

Conforme Nieto et al. (18), o gênero *Aeromonas* faz parte da microflora intestinal de peixes e também de ambientes aquáticos. A espécie *Aeromonas hydrophila* foi identificada nos canais de irrigação e nas parcelas de cultivo do arroz, na fase reprodutiva da cultura, nas regiões, Campanha e Depressão Central. Segundo Reche e Fiuza (21), a presença dessa espécie pode estar relacionada a quantidade de matéria orgânica no ambiente aquático, cuja bactéria pode causar infecções em peixes, sendo considerada patogêna e oportunista, encontrada na água, pele, brânquias e intestinos de peixes (4).

Considerando a totalidade das espécies que constituem a comunidade de bactérias identificadas no presente estudo, pode-se verificar que essa se assemelha muito com os resultados encontrados por Silva e Nahas (26).

Os resultados obtidos nesse estudo indicam que a diversidade de bactérias encontradas, nas cinco regiões amostradas, não varia significativamente. Por outro lado, o índice é maior nos canais de irrigação, pois esse diminui na presença das plantas, inferindo as interações entre microrganismos e as plantas de arroz. Essas podem atuar como filtro de microrganismos patogênicos e recicladores de produtos químicos utilizados nas lavouras, proporcionando assim o decréscimo do impacto ambiental no agroecossistemas orizícolas.

## **Agradecimentos**

Os autores agradecem o apoio da equipe técnica do EEA/IRGA, especialmente ao MSc. Jaime Vargas de Oliveira e ao Sr. Jose Luiz Rosa dos Santos. Essa pesquisa foi realizada com o apoio financeiro do CNPq/ CTHidro, através da concessão da bolsa de mestrado ao PPG em Biologia da Unisinos.

## Referências Bibliográficas

1. Apiweb<sup>TM</sup>. Disponível em: <https://apiweb.biomerieux.com>. Acesso em 16 abr. 2007.
2. Arroz Irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o sul do Brasil/Sociedade Sul – Brasileira de Arroz Irrigado, (2005); IV Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado, XXVI Reunião da Cultura do Arroz Irrigado. Santa Maria – RS: SOSBAI, 159p.
3. Azam, F, Fenchel, T, Field, JG, Gray, JS, Meyer, LA, Thingstad, TF (1983) The ecological role of water column microbes in the sea. *Mar Ecol Prog Ser* 10: 257-263
4. Barja, JL, Esteves, AT (1988) Patologia em Acuicultura. Espanha: Caicyt.. Enfermidades Bacterianas. 550 p.
5. Cho, J, Kim, S (2000) Increase in bacterial community diversity in subsurface aquifers receiving livestock wastewater input. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66, 956-965.
6. Docherty, KM, Young, KC, Maurice, PA, Bridgham, SD (2006) Dissolved Organic Matter Concentration and Quality Influences upon Structure and Function of Freshwater Microbial Communities. *Microbial Ecology* 52: 378-388
7. Haines, JR, Herrmann, R, Lee, K, Cobanli, S, Blaise, C (2002) Microbial population analysis as a measure of ecosystem restoration. *Biorremed J.* 6(3) 283-296
8. Holt, JG, Krieg, NR, Sneath, PHA, Staley, JT & Williams, ST (1994) *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. William & Wilkins, Baltimore, USA. 787p.
9. IRGA: Instituto Riograndense do Arroz: IRGA conclui o censo das lavouras no RS. (2006) *Lavoura Arrozeira* v.54, n. 439, p. 5
10. Kennedy, AC (1999) Bacterial diversity in agroecosystems. *Agric. Ecosyst. Environ.* 74: 65-76
11. Kirchman, DL (2002) The ecology of Cythophaga-Flavobacteria in aquatic environments. *FEMS Microbiol. Ecol.* 39: 91-100
12. Koneman, EW, Allen, SD, Janda, WM, Schreckenberger, PC (2001) *Diagnóstico Microbiológico*. 5ª edição. MEDSI editora, Rio de Janeiro.
13. Liesack, W, Schnell, S, Revsbech, NP (2000) Microbiology of flooded rice paddies. *FEMS Microbiology Reviews*, 24: 625-645
14. Luz, WC (1998) Ecologia da esferosfera. *In*: Melo, I.S.; Azevedo, J.L. (ed.). *Ecologia Microbiana*. EMBRAPA – CNPMA, Jaguariúna, p. 167 –187.
15. Menezes, VG, Lima, AL, Mariot, CHP, Ramirez, HB (2006) Manejo de plantas daninhas na cultura do arroz irrigado no RS no período de entressafra. *Lavoura Arrozeira* 54: 23-25
16. Moraes, JC, Fontoura, MMC, Benvegnú, SA (1999) *Microbiologia: atividades práticas*. Ed. Pe. Berthier, Passo Fundo. 208p.
17. Murray, PR, Rosenthal, KS, Kobayashi, GS, Pfaller, MA (1998) *Microbiologia Médica*. Guanabara-Koogan, São Paulo, 406p.

18. Nieto, TP, Toranzo, AE, Barja, L (1984) Comparasion between the bacterial floral associated with fingerling rainbow trout cultured in two different hatcheries in the nort west of Spain. *Aquaculture*, v. 42, p. 193-206.
19. Odum, EP (1985) *Ecologia*. Guanabara Koogan S.A, Rio de Janeiro, 434p.
20. Pomeroy, LR (1974) The ocean's food web, a changing paradigm. *Bioscience* 24: 499-504
21. Reche, MHLR, Fiuza, LM (2005) Bacterial Diversity in Rice-Field Water in Rio Grande do Sul. *Brazilian Journal of Microbiology* 36: 253 – 257
22. Reche, MHLR, Fiuza, LM (2005) Distribution and Density of bacteria in Subtropical Flooded Rice Growing Areas in Brazil. *Braz. J. Biol.* 65(3): 503-511
23. Reichart, W, Mascariña, G, Padre, B, Doll, J (1997) Microbial Communities of Continuously Cropped, Irrigated Rice Fields. *Appl. Environ. Microbiol.* 63(1): 233-238
24. Rikhvanov, EG, Varakina, NN, Sozinov, DY, Voinikov, VK (1999) Association of bacteria and yeasts in hot springs. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 4292-4293
25. Shannon, CE, Weaver, W (1949) *The mathematical theory of communication*. University of Illinois Press, Urbana, Illinois, USA., 117p.
26. Silva, P, Nahas, E (2002) Bacterial Diversity in Soli in Response to Different Plants, Phosphate Fertilizers and Liming. *Braz. J. Microbiol.*, 33: 304-310.
27. Sousa, AN, Martins, MLL (2001) Isolation, properties and Kinetics of a thermophilic *Bacillus*. *Braz. J. Microbiol.*, 32: 271-275.
28. Tam, L, Kevan, PG, Trevors, JT (2003) Viable bacterial biomass and functional diversity in fresh and marine waters in the Canadian Arctic. *Polar Biol.* 26: 287-294
29. Tridade, RC, Bonfim, ACR, Resende, MA, (2000) Conjunctival microbial flora of clinically normal persons who work in a hospital environment. *Braz. J. Microbiol.*, 31:12-16.
30. Wetzel, RG (1982) *Limnology*. WB Saunders, Philadelphia.
31. World Organization (1985) Informal consultation on the development of *Bacillus sphaericus* as microbial larvicid. Geneva, UNDP/World Bank WHO Special programmer of research and training in tropical diseases. 24p.
32. Yamaoka- yano, DM & Valarini, PJ (1998) Métodos de Identificação de Bactérias p. 369-419. In.: Melo, I.S. & Azevedo, J.L. (Ed.). *Ecologia Microbiana*. EMBRAPA – CNPMA, Jaguariúna, SP.
33. Zar, JH (1999) *Bioestatistical Analysis*. Prentice-Hall international. New Jersey, 931p.

## **CONSIDERAÇÕES**

O conjunto de dados obtidos na presente pesquisa, refere-se aos resultados de qualidade da água, baseado nos índices de coliformes totais e fecais e na diversidade de bacilos presentes em amostras de água utilizadas na irrigação do arroz de cinco regiões orizícolas do Rio Grande do Sul.

Esses resultados demonstram a importância da orizicultura em ambientes aquáticos, podendo melhorar a qualidade microbiológica da água presente nas parcelas, além de preservar a diversidade dos bacilos presentes nesses ecossistemas aquáticos. Sendo assim, devido ao seu potencial de ciclagem de nutrientes, a água de drenagem de áreas orizícolas apresenta menor quantidade de bactérias patogênicas, sendo a presença da planta em desenvolvimento o fator que explica as mudanças consideráveis no meio aquático em estudo.

A influência das interações entre microrganismos da água e as plantas de arroz nas áreas orizícolas, indicam a possibilidade dessas plantas agirem como filtro de microrganismos patogênicos e recicladores de produtos químicos utilizados nas lavouras, proporcionando o decréscimo do impacto ambiental nesses ecossistemas aquáticos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CUNHA, A.C.; CUNHA, H.F.A.; JÚNIOR, A.C.P.B.; DANIEL, L.A.; SCHULZ, H.E. (2004) Qualidade microbiológica da água em rios de áreas urbanas e periurbanas no baixo Amazonas: o caso do Amapá. *Eng. Sanit. Ambient*, v.9, n.4, p. 322-328

GASOL, M.G. & DUARTE, C.M. (2000) Comparative analyses in aquatic microbial ecology: how far do they go? *FEMS Microbiology Ecology* 31: 99-106.

GOMES, A. da S.; PAULETTO, E.A. (1999) (Ed.) Manejo do solo e da água em áreas de várzea. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 201 p.

GOMES, A. da S.; PAULETTO, E. A.; PETRINI, J. A.; SOUSA, R. O. (1999) Manejo da água em arroz irrigado: Implicações e Recomendações Técnicas. In: GOMES, A. da S.; PAULETTO, E. A. (ed.). Manejo do solo e da água em áreas de várzea. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, p. 163-200.

HAINES, J.R.; HERRMANN, R.; LEE, K.; COBANLI, S.; BLAISE, C. (2002) Microbial population analysis as a measure of ecosystem restoration. *Bireme. J.* 6(3):283-296.

IRGA – Estação Experimental do Arroz. Arroz Irrigado: recomendações técnicas de pesquisa para o Sul do Brasil. IV Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado, XXVI Reunião da Cultura do Arroz Irrigado, Santa Maria, RS. 2005. 159 p.

IRGA: Instituto Riograndense do Arroz: IRGA conclui o censo das lavouras no RS. (2006) *Lavoura Arrozeira* v.54, n. 439, p. 5

KIRCHMAN, D.L., (2002) The ecology of Cythophaga-Flavobacteria in aquatic Environments. *FEMS Microbiology Ecology*, v. 39, p. 91-100.

KLOSTERMANN, D. IQUA - Índice de Qualidade de Uso da água, uma Ferramenta de Gestão do Uso de Água. In: II Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado, Porto Alegre, 2001. *Anais.Porto Alegre: IRGA*, 2001. p 784.

PELCZAR, J.M.; CHAN, E.C.S. & KRIEG, N.R. (1996) *Microbiologia: Conceitos Básicos e Aplicações*. Volume II, Ed. Makron Books, São Paulo, SP. 517 p.

RECHE, M.H.L.R. (2003) Distribuição e Diversidade de Bactérias em Áreas Inundadas de Arrozais do Rio Grande do Sul. *Dissertação de Mestrado*. 45 p.