ESTUDO PRELIMINAR DA MICROFLORA BACTERIANA DA ÁGUA SUBTERRÂNEA DO ARQUIPÉLAGO DOS AÇORES

Lídia FLOR[(1)], Adelaide LOBO[(2)], Marco ROSA[(3)], Aida POUPINO[(3)]

RESUMO

O estudo da microflora natural das águas subterrâneas tem-se revelado da maior importância para a caracterização das mesmas águas e observação das modificações resultantes da actividade humana.

O estudo da microflora das águas subterrâneas do Arquipélago dos Açores iniciou-se com o isolamento de espécies bacterianas que proliferaram nos meios de cultura de m-Endo agar LES e m-FC agar, usados no controlo de qualidade da água para consumo humano.

As espécies isoladas foram: *Aeromonas hydrophila, Aeromonas salmonicida, Aeromonas sobria, Alcaligenes calcoalceticus, Alcaligenes faecalis Chomobacterium violaceum, Enterobacter aerogenes, Enterobacter agglomerans, Enterobacter cloacae, Escherichia coli, Flavobacterium odoratum, Hafnia alvei, Klebsiella pneumoniae, Klebsiella oxytoca, Pasteurella haemolytica, Proteus mirabilis, Proteus vulgaris, Providencia rettgeri, Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas cepacia, Pseudomonas fluorescens, Pseudomonas luteola, Pseudomonas paucimobilis, Pseudomonas putida, Serratia liquefaciens, Serratia marcescens, Serratia odorifera, Serratia plymuthica, Víbrio, algynolyticus, Víbrio fluvialis, Víbrio metschnikovii, Víbrio parahaemoliticus, Xanthomonas maltophila* e *Yersinia enterocolitica.*

Foram efectuadas colheitas em aquíferos sub-superficiais, aquíferos profundos e aquíferos costeiros. Os aquíferos sub-superficiais foram aqueles que apresentaram maior número de espécies bacterianas e maior percentagem de bactérias indicadoras de origem fecal.

Palavras-chave: Arquipélago dos Açores, aquíferos, microflora bacteriana, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Enterobacter*, *Providencia*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Escherichia coli*, *Proteus*, *Serratia*, *Vibrio*, *Xanthomonas*, *Yersinia enterocolítia*.

(1)-Licenciada, Técnica Superior dos Serviços Agrários da Secretaria Regional da Agricultura e Pescas da Região Autónoma dos Açores. Tel (351) (95) 24052, Fax (351) (95) 24054.

(2)-Doutorada, Professora Auxiliar do Departamento de Ciências Agrárias da Universidade dos Açores Terra Chã, 9700 Angra do Heroísmo,,Tel. (351) (95) 32735, Fax (351) (95) 32748, Mail alobo@dca.uac.pt

(3)-Técnicos adjuntos do Departamento de Ciências Agrárias da Universidade dos AçoresTerra Chã, 9700 Angra do Heroísmo,Tel. (351) (95) 32735, Fax (351) (95) 32748, Mail alobo@dca.uac.pt

1-INTRODUÇÃO

A influência do pastoreio livre sobre a qualidade da água subterrânea usada para consumo humano tem sido um dos aspectos estudados em países desenvolvidos com o objectivo de conhecer a flora microbiana e verificar a sua evolução, LOBO (1993), HOWELL et al. (1995), PASQUARELL et al. (1995). No Arquipélago dos Açores, a influência do pastoreio livre permanente sobre as características microbiológicas da água subterrânea, a principal origem de água para consumo humano, é notória, LOBO (1987), LOBO (1993).

Considerando que as origens de água subterrânea, no Arquipélago, se encontram a cotas inferiores às das zonas usadas permanentemente para pastoreio livre de gado bovino e que as formações geológicas são constituidas por basaltos muito fracturados e piroclastos muito desagregados, os aquíferos são extremamente vulneráveis à influência da poluição difusa, LOBO (1996).

Resultante desta situação ambiental, o estudo da microflora bacteriana das águas subterrâneas teve, como primeiro objectivo, a detecção e identificação de espécies da família das *Enterobacteriaceae* e do género *Pseudomonas*. Foram ainda identificadas espécies dos géneros *Aeromonas*, *Chromobacterium*, *Flavobacterium*, *Vibrio* e *Xanthomonas*.

Como a maioria dos aquíferos usados são subsuperficiais, MENEZES, (1987), resultado da formação de andossolos ferruginosos, MADRUGA (1986), 78,4% das origens estudadas encontravam-se neste tipo de aquíferos, sendo as restantes furos ou nascentes muito profundas.

2-MATERIAIS E MÉTODOS

2.1-Equipamento

Estufas de incubação para 37°C±0,5°C, 44°C±0,5°C e 42°C±0,5°C
Rampa de filtração em aço inox de seis lugares
Membranas filtrantes de 47 mm de diâmetro e 0,45 m de poro da Gelman
Membranas filtrantes de 47 mm de diâmetro e 0,22 m de poro

2.2-Meios de cultura

Meio de m-Endo agar-LES, Difco
Meio de m-FC agar, Difco
Meio de MacConkey agar, Difco
Meio de Pseudomonas agar base, adicionado de ácido naxilídico, Oxoid
Meio dePseudomonas agar, Difco
Meio de BHI agar, Difco
Corantes para coloração de Gram, Merck
N,N,N´,N´-tetrametil-p-fenilenodiamina p.a., Merck
API 20E
API 20 NE
Reagentes para API 20 E e 20 NE

2.3-Método da Membrana Filtrante

De cada amostra de água filtrou-se 100 ml, por membrana filtrante de 47 mm de diâmetro e 0,45 m de poro, para respectivamente o meio de m-Endo agar LES e mFC-agar. Procedeu-se à incubação por 48 h, respectivamente às temperaturas de 37°C±0,5°C e 44°C±0,5°C. Cada colónia obtida, em cada um dos meios, foi isolada por repicagem para meio de MacConkey agar e incubada durante 18 h a 37°C±0,5°C. Cada colónia bem isolada foi enriquecida por repicagem em meio de BHI agar. A partir de cada colónia pura enriquecida procedeu-se à coloração de Gram e ao teste da oxidase. Um resultado de Gram negativo, oxidase negativa levou à aplicação dos testes em galeria API 20 E a partir de uma suspensão em soluto de Ringer obtida do meio de BHI agar.

De cada amostra de água filtrou-se 100 ml, por membrana filtrante de 47 mm de diâmetro e 0,22 m de poro para meio de Pseudomonas agar base adicionado de ácido naxilídico. Cada uma das colónias obtidas foi purificada por repicagem em meio de Pseudomonas agar da Difco e incubada durante 18 h a 37°C±0,5°C.

Cada colónia bem isolada foi enriquecida por repicagem em meio de BHI agar. A partir de cada colónia pura enriquecida procedeu-se à coloração de Gram e ao teste da oxidase. Um resultado de Gram negativo, oxidase positiva levou à aplicação dos testes em galeria API 20 NE a partir de uma suspensão em soluto de Ringer obtida do meio de BHI agar.

3-AMOSTRAGEM

As amostras foram efectuadas entre Janeiro de 1994 e Junho 1997, na água subterrânea das ilhas Terceira, S. Jorge, Flores, Corvo, Pico e Graciosa, num total de 900 amostras. Desta totalidade 192 respeitavam a água de furos efectuados no aquífero costeiro e duas em aquíferos profundos.

4-RESULTADOS

Em 39,3% das 192 amostras de água subterrânea do aquífero costeiro foram encontradas as espécies microbianas indicadas no Quadro 1. Nos restantes 60,7% destas amostras não foram encontradas quaisquer bactérias das espécies estudadas.

Quadro 1
Principais espécies bacterianas, expressas em percentagem, encontradas nos aquíferos costeiros das ilhas do Pico, S. Jorge, Graciosa e Terceira, do Arquipélago dos Açores

Espécie bacteriana	*Percentagem*
Hafnia alvei	74,1
Aeromonas hydrophila	12,9
Serratia marcencens	10,4
Escherichia coli	2,6

As 30 amostras dos dois aquíferos profundos, localizados na Ilha Terceira, apresentaram apenas *Hafnia alvei* numa percentagem de 4%.

Nas 678 amostras de água subterrânea obtida a partir de aquíferos subsuperficiais, verificou-se que somente em 3,6% das amostras não se observavam bactérias. Nas restantes amostras o número de espécies bacterianas identificadas foi muito superior, como se mostra no Quadro 2:

Quadro 2

Principais espécies bacterianas, expressas em percentagem, encontradas nos aquíferos subsuperficiais das ilhas do Corvo, Flores, Pico, S. Jorge, Graciosa e Terceira, do Arquipélago dos Açores

Espécie bacteriana	*Percentagem*
Escherichia coli	*53,7*
Outras espécies:	*46.3*
Aeromonas hydrophila	*7,8*
Aeromonas salmonicida	*0,5*
Aeromomas sobria	*3,9*
Alcaligenes calcoaceticus	*0,5*
Alcaligenes faecalis	*1,0*
Chromobacterium violaceum	*2,0*
Enterobacter aerogenes	*2,0*
Enterobacter agglomerans	*2,4*
Enterobacter cloacae	*1,5*
Flavobacterium odoratum	*1,0*
Hafnia alvei	*4,4*
Klebsiella ocytoca	*0,5*
Klebsiella pneumoniae	*2,0*
Proteus mirabilis	*2,0*
Proteus vulgaris	*4,9*
Providencia rettgeri	*0,5*
Pseudomonas aeruginosa	*20,5*
Pseudomonas cepacia	*0,5*
Pseudomonas fluorescens	*1,0*
Pseudomonas luteola	*0,5*
Pseudomonas paucimibilis	*0,5*
Pseudomonas putida	*1,0*
Serratia liquefaciens	*7,8*
Serratia marcencens	*12,7*
Serratia odorifera	*2,0*
Serratia plymuthica	*1,5*
Vibrio algynolyticus	*0,5*
Vibrio fluvialis	*1,0*
Vibrio metschnikovii	*2,4*
Vibrio parahaemoliticus	*2,0*
Xanthomonas maltophila	*0,5*
Yersinia enterocolitica	*1,0*

Verificou-se que 7,7 % das bactéria encontradas nos aquíferos subsuperficiais, nas condições do ensaio, não foi possível identificar pelos API 20 E e API 20 NE.

4-CONCLUSÕES

Nos aquíferos profundos e costeiros a diversidade das bactérias encontradas foi muito inferior ao observado nos aquíferos subsuperficiais. Neste tipo de aquíferos a presença *de Escherichia coli* é predominante. A variabilidade bacteriana encontrada é muitíssimo superior, apresentando-se a *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcencens*, *Serratia liquefaciens* e *Aeromonas hydrophila*, para além da *Escherichia coli*, como as bactérias com maior expressão. A contaminação de origem fecal nos aquíferos subsuperficiais é altamente significativa. A presença de bactérias potencialmente patogénicas como o são a *Escherichia coli*, a *Pseudomonas aeruginosa*, a *Aeromonas hydrophila* e a *Serratia marcencens*, CRUICKHANK e al.1975, mostram o cuidado a ter com o processo de tratamento da água, no Arquipélago dos Açores, já que o processo predominante de tratamento é apenas a desinfecção por cloro gasoso ou hipoclorito de sódio.

4-BIBLIOGRAFIA

CRUICKHANK, R.; DUGUID, J. P.; MARMION, B. P.; SWAIN, C. H. A.- *Microbiologia Médica*. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian, 1975.

LOBO, M.A.-"Qualidade da água de consumo público da Região Autónoma dos Açores. ". *Rev. CEN*". **11**, 1, 1987, pp. 38-45.

LOBO, M.A.- *Contribuição para o estudo microbiológico e físico-químico das águas para consumo humano do Arquipélago dos Açores*. Tese apresentada para doutoramento à Universidade dos Açores. Angra do Heroísmo 1993.

LOBO, M. A.- "Vulnerabilidade de aquíferos subterrâneos em ilhas vulcânicas-Ilha Terceira-Açores". *Revista Indústria da Água*, **19**, Abril/Maio/Junho, 1996, pp. 11-13.

HOWELL, J. M.; COYNE, M. S.; CORNELIUS, P.- "Fecal bacteria in agricultural waters of the bluegrass region of Kentucky". *Journal of Environmental Quality*, **24**, 3, 1995, pp. 411-419.

MADRUGA, J. S.- *Andossolos dos Açores, contributo para o seu estudo*. Departamento de Ciências Agrárias. Universidade dos Açores. Angra do Heroísmo, 1986.

MENESES, J.A.- Poluição difusa. Contributo para o seu estudo nos Açores. Departamento de Ciências Agrárias. Angra do Heroísmo, 1987.

PASQUARELL, G. C.; BOYER, D. G.- "Agricultural impacts on bacterial quality in karst groundwater". *Journal of Environmental Quality*, **24**, 5, 1995, pp. 959-969.